

Aus der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten,
Diabetologie und Endokrinologie
der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Varianten im COMT-Gen und neue Urinmarker zur Risikoabschätzung der
Entwicklung einer akuten und chronischen Nierenschädigung nach
kardiochirurgischen Eingriffen**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto - von - Guericke - Universität Magdeburg

vorgelegt von **Johanna Kube**
aus **Berlin**
Magdeburg **2017**

Teile der hier vorgestellten Arbeit wurden in folgenden Veröffentlichungen publiziert:

Albert C, Kube J, Haase-Fielitz A, Dittrich A, Schanze D, Zenker M, Kuppe H, Hetzer R, Bellomo R, Mertens PR, Haase M.

Pilot study of association of catechol-O-methyl transferase rs4680 genotypes with acute kidney injury and tubular stress after open heart surgery.

Biomarkers in Medicine. 2014; 8:1227–38.

Kube J, Dittrich A, Mertens PR, Plaß M, Schanze D, Zenker M, Haase-Fielitz A, Haase M.

COMT LL Genotyp prädisponiert zur postoperativen akuten Nierenschädigung in einer australischen und deutschen Kohorte.

Posterabstract, 4. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie, Poster 268, S. 129 (2012).

Bibliographische Beschreibung:

Kube, Johanna:

Varianten im COMT-Gen und neue Urinmarker zur Risikoabschätzung der Entwicklung einer akuten und chronischen Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen. 2017. 87 Bl., 21 Abb., 18 Tab.

Kurzreferat

Ein relevanter Anteil von Patienten* entwickelt nach einem kardiochirurgischen Eingriff eine akute Nierenschädigung. Eine individuelle Vorhersage, welcher Patient betroffen sein wird, ist zum Zeitpunkt des Eingriffs zumeist nicht möglich. Die akute Nierenschädigung geht mit einer erhöhten Morbidität und Letalität einher.

Die Studie untersucht in einer Kohorte von 195 Patienten mit kardiochirurgischem Eingriff einen möglichen Zusammenhang von COMT Genvarianten auf die Häufigkeit und den Schweregrad der postoperativen akuten Nierenschädigung sowie auf den langfristigen Verlauf der Nierenfunktion. Des Weiteren wird die Eignung neuer Urinmarker, NGAL und Midkine, für die frühzeitige Diagnose der akuten Nierenschädigung überprüft sowie der Zusammenhang zwischen COMT Genvarianten, den neuen Urinmarkern und akuten renalen Ereignissen nach kardiochirurgischen Eingriffen evaluiert.

Ein nicht-signifikant höherer Anteil von COMT LL-Trägern entwickelte postoperativ eine akute Nierenschädigung bzw. erhielt eine akute Nierenersatztherapie im Vergleich zu HH- oder HL-Trägern. Im Langzeitverlauf zeigten sich keine Genotyp-bezogenen Unterschiede für den Verlauf der Nierenfunktion nach einem kardiochirurgischen Eingriff. Somit erscheint eine individuelle präoperative Risikoabschätzung für die Entwicklung einer akuten und chronischen Nierenschädigung auf der Basis einer alleinigen COMT Genotyp-Bestimmung nicht möglich zu sein.

NGAL und Midkine erwiesen sich als geeignete Urinmarker zur Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen. Es schien jedoch kein Zusammenhang zwischen der genetischen Prädisposition (auf Basis der COMT Genotypen), den neuen Urinmarkern und der Inzidenz oder dem Schweregrad der akuten Nierenschädigung zu bestehen.

*Sämtliche Personenbezeichnung gelten gleichwohl für beiderlei Geschlecht.

Schlüsselwörter

akute Nierenschädigung, chronische Niereninsuffizienz, COMT, Midkine, Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipocalin (NGAL), kardiochirurgischer Eingriff, akuter Tubulusschaden, rs4680, Val158Met SNP

Meiner Familie gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
TABELLENVERZEICHNIS	9
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	10
1 EINLEITUNG	12
1.1 Die akute Nierenschädigung	12
1.1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren	12
1.1.2 Pathogenese und Komplikationen	13
1.1.3 Nierenfunktionsparameter, Diagnosekriterien und Stadieneinteilung	15
1.1.4 Prävention und Therapie	18
1.2 Präoperative Risikoabschätzung und postoperative Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung	20
1.2.1 Präoperative Risikoabschätzung anhand von adrenergen Polymorphismen	21
1.2.2 Postoperative Frühdiagnose anhand von neuen Urinmarkern	23
1.3 Zielsetzung der Arbeit	25
2 MATERIAL UND METHODEN	27
2.1 Patienten	27
2.1.1 Charakterisierung der Patienten	27
2.1.2 Vorgehensweise bei kardiochirurgischen Eingriffen	27
2.1.3 Renale Endpunkte	28
2.1.4 Datendokumentation	29
2.1.5 Ethikvotum	29
2.2 Methoden	29
2.2.1 Probengewinnung	29
2.2.2 Bestimmung der Varianten im Catechol-O-Methyltransferase-Gen	30
2.2.3 Messung des Serum-Kreatinins und neuer Urinmarker	32
2.2.4 Erhebung des Serum-Kreatinin-Wertes im Langzeitverlauf	35
2.2.5 Fallzahlschätzung	35

2.2.6	Statistische Analysen	36
3	ERGEBNISSE	37
3.1	Charakterisierung der Patienten	37
3.1.1	Demographische Daten, akute renale Endpunkte und Nierenfunktion im Langzeitverlauf	43
3.2	Darstellung der Ergebnisse entsprechend der Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	43
3.2.1	Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und akute renale Endpunkte	45
3.2.2	Neue Urinmarker und akute renale Endpunkte	49
3.2.3	Neue Urinmarker und akute renale Endpunkte gemäß Catechol-O- Methyltransferase-Genvarianten	53
3.2.4	Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und Nierenfunktion im Langzeitverlauf	61
4	DISKUSSION	63
	ZUSAMMENFASSUNG	74
	LITERATURVERZEICHNIS	75
	DANKSAGUNG	84
	EHRENERKLÄRUNG	85
	DARSTELLUNG DES BILDUNGSWEGES	86

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABTS	2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)
AKI	Acute Kidney Injury, akute Nierenschädigung
ANV	Akutes Nierenversagen
AUC	Area Under the Curve
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HLM	Herz-Lungenmaschine
HRP	Horseradish Peroxidase
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
MAD	Mittlerer arterieller Druck
MGB	Minor Groove Binder
NGAL	Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipocalin
NSAID	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, Nicht-steroidale Entzündungshemmer
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion
RIFLE	Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage renal disease
ROC	Receiver Operating Characteristic
RRT	Renal Replacement Therapy, Nierenersatztherapie
SNP	Single Nucleotide Polymorphism, Einzelnukleotid-Polymorphismus
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
U/min	Umdrehungen pro Minute
VAD	Ventricular Assist Device, ventrikuläres Unterstützungssystem

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1	Patientencharakteristika gemäß COMT Genotypen (n=195)	39
Tabelle 2	Intra- und postoperative Patientencharakteristika gemäß COMT Genotypen (n=195)	41
Tabelle 3	Postoperative Ereignisse gemäß COMT Genotypen (n=195)	42
Tabelle 4	Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration ($\mu\text{mol/L}$) gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum maximalen Kreatinin-Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ	44
Tabelle 5	Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration ($\mu\text{mol/L}$) gemäß Status einer chronischen Niereninsuffizienz ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum Kreatinin-Wert der postoperativen Nachbeobachtungsdauer (Median: 5,6 Jahre)	44
Tabelle 6	Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration ($\mu\text{mol/L}$) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum maximalen Kreatinin-Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ	47
Tabelle 7	NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6 und 24h nach Anschluss der HLM	49
Tabelle 8	Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6 und 24h nach Anschluss der HLM	50
Tabelle 9	NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6 und 24h nach Anschluss der HLM	51
Tabelle 10	Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6 und 24h nach Anschluss der HLM	52
Tabelle 11	NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6h nach Anschluss der HLM	54
Tabelle 12	Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6h nach Anschluss der HLM	54
Tabelle 13	Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom	55

	präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM	
Tabelle 14	Relative Anstiege der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM	56
Tabelle 15	Median (25.-75. Perzentile) der NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6h nach Anschluss der HLM	57
Tabelle 16	Median (25.-75. Perzentile) der Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6h nach Anschluss der HLM	58
Tabelle 17	Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM	59
Tabelle 18	Relative Anstiege der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM	60

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1	Diagnosekriterien bzw. Einteilung des Schweregrades der AKI	18
Abbildung 2	Prinzip der Genotypisierung	31
Abbildung 3	Flussdiagramm der Studienkohorte	38
Abbildung 4	Inzidenz der AKI gemäß COMT Genotypen (n=195)	45
Abbildung 5	Schweregrad der AKI gemäß COMT Genotypen (n=195)	46
Abbildung 6	Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration ($\mu\text{mol/L}$) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum maximalen Kreatinin-Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ	47
Abbildung 7	Inzidenz der Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie gemäß COMT Genotypen (n=193)	48
Abbildung 8	Perioperativer Verlauf der NGAL- und Midkine-Konzentrationen im Urin gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI)	49
Abbildung 9	Vorhersagewert der Biomarker für die Entwicklung einer AKI zum Zeitpunkt 6h nach Anschluss der HLM	50
Abbildung 10	Perioperativer Verlauf der NGAL- und Midkine-Konzentrationen im Urin gemäß Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)	51
Abbildung 11	Vorhersagewert der Biomarker für die Notwendigkeit einer akuten Nierenersatztherapie zum Zeitpunkt 6h nach Anschluss der HLM	52
Abbildung 12	Perioperativer Verlauf der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI)	53
Abbildung 13	Perioperativer Verlauf der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI)	54
Abbildung 14	Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach	55

	Anschluss der HLM	
Abbildung 15	Relative Anstiege der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM	56
Abbildung 16	Perioperativer Verlauf der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)	57
Abbildung 17	Perioperativer Verlauf der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)	58
Abbildung 18	Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin vom präoperativen Ausgangswert auf den Wert 6h nach Anschluss der HLM gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)	59
Abbildung 19	Relative Anstiege der Midkine-Konzentrationen im Urin vom präoperativen Ausgangswert auf den Wert 6h nach Anschluss der HLM gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)	60
Abbildung 20	Präoperative Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz gemäß KDIGO aufgeteilt nach COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) (n=105)	61
Abbildung 21	Postoperative Inzidenz der neu entstandenen (de-novo) und verschlechterten chronischen Niereninsuffizienz aufgeteilt nach COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) (n=105)	62

1 EINLEITUNG

1.1 Die akute Nierenschädigung

Die akute Nierenschädigung (acute kidney injury, AKI; früher: akutes Nierenversagen, ANV) ist charakterisiert durch einen plötzlichen Abfall bis hin zum Ausfall der Nierenfunktion. Dies ist durch eine verminderte glomeruläre Filtrationsrate (GFR), gemessen am Anstieg von Nierenretentionswerten im Blutplasma, und eine Reduktion des Harnvolumens gekennzeichnet. Im weiteren Verlauf kann eine Erholung einsetzen oder ein Ausfall der exkretorischen Nierenfunktion bestehen bleiben.

1.1.1 Epidemiologie und Risikofaktoren

Die akute Nierenschädigung ist eine häufig und ernst zu nehmende Komplikation. Die Inzidenzzahlen der akuten Nierenschädigung variieren in der Literatur in Abhängigkeit von der Definition dieser Akuterkrankung zwischen ca. 5-10 % bei hospitalisierten (1,2) und ca. 40 % bei intensivpflichtigen Patienten (3). Die Einleitung einer Nierenersatztherapie (renal replacement therapy, RRT) ist bei ca. 4-15 % der intensivpflichtigen Patienten mit einer akuten Nierenschädigung erforderlich (4,5). Die Letalität dieser Patienten liegt bei ca. 40–60 % (5,6). 41 % der Patienten mit einer akuten Nierenschädigung entwickeln eine chronische Niereninsuffizienz und 10 % bleiben dauerhaft dialysepflichtig (7).

Zu den Hauptverursachern der akuten Nierenschädigung gehören neben der Sepsis, dem kardiogenen Schock, nephrotoxischen Medikamenten und Kontrastmitteln auch komplexe chirurgische Operationen, wie zum Beispiel ein kardiochirurgischer Eingriff unter Einsatz einer Herz-Lungenmaschine (HLM) (5,8). Weltweit werden pro Jahr ca. 2 Millionen kardiochirurgische Eingriffe durchgeführt (9). In Deutschland unterziehen sich seit dem Jahr 2000 jährlich etwa 100.000 Patienten einer kardiochirurgischen Operation (10). Kardiochirurgische Patienten entwickeln in ca. 20-30 % eine akute Nierenschädigung (11,12). Die Inzidenz der akuten Nierenschädigung ist abhängig von der Art des kardiochirurgischen Eingriffs und am höchsten bei einer Kombination von Koronarbypass und Herzklappen-Operation (13). Chertow et al. identifizierten in einer multivariaten Analyse nach Adjustierung für andere Risikofaktoren die nierenersatztherapiepflichtige akute Nierenschädigung als einen starken unabhängigen Risikofaktor für die Letalität kardiochirurgischer Patienten (14).

Das Auftreten einer akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen geht neben den unmittelbaren Folgen auch mit einer erhöhten Langzeitmorbidity und -letalität einher (15,16). Die Langzeitletalität blieb in zwei Kohortenstudien bei Patienten mit postoperativ aufgetretener akuter Nierenschädigung sogar dann erhöht, wenn sich die Nierenfunktion während des stationären Aufenthaltes wieder erholte (15,17).

1.1.2 Pathogenese und Komplikationen

Die Pathogenese der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen mit Verwendung einer Herz-Lungenmaschine ist multifaktoriell bedingt. Klinisch kann die Pathogenese der akuten Nierenschädigung in prä-, intra- und postoperative Ereignisse eingeteilt werden. Allen perioperativen Phasen ist gemein, dass sie durch hämodynamische Veränderungen, nephrotoxische, inflammatorische und andere Schädigungsmechanismen zu einer akuten Läsion des Tubulus oder Endothels und einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate führen können (12).

Kommt es im perioperativen Verlauf zu einem Abfall der renalen Perfusion führt dies zu einer signifikanten renalen Ischämie mit daraus folgender zellulärer Schädigung (12). Zu den Ursachen einer solchen verminderten Perfusion zählen präoperative renale Insulte durch myokardiale Infarkte oder schwere Herzklappenfehler mit links- oder rechtsventrikulärer Funktionsstörung und hypotensive Phasen. Auch der intraoperative Einsatz der Herz-Lungenmaschine ist mit einer ausgeprägten hämodynamischen Instabilität assoziiert, da während des Betriebs der Herz-Lungenmaschine häufig eine systemische Entzündungsreaktion hervorgerufen wird und nur das zu zirkulierende Blutminutenvolumen, nicht aber der Gefäßwiderstand und damit der Blutdruck vorgegeben werden kann. Außerdem kann eine hämodynamische Instabilität im Rahmen der postoperativen intensivmedizinischen Nachbetreuung auftreten (12).

Bei hämodynamischer Instabilität finden gegenregulatorische Mechanismen einschließlich einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems und einer Ausschüttung vasoaktiver Katecholamine statt, um eine adäquate Perfusion der Organe aufrechtzuerhalten. Veränderungen im Katecholaminstoffwechsel mit einem damit einhergehenden dysregulierten Vasomotorentonus können diesen Kompensationsmechanismus beeinflussen und eine regionale Ischämie herbeiführen. Kommt es durch die akute Läsion des Tubulus zu einem Abfall oder Ausfall der Nierenfunktion, hat dies eine Störung des Flüssigkeits- und

Elektrolythaushaltes sowie einen Anstieg harnpflichtiger Substanzen zur Folge. Zu den Hauptkomplikationen der akuten Nierenschädigung gehören Hypervolämie, Hyperkaliämie sowie die metabolische Azidose. Betroffene Patienten leiden neben der akuten Nierenschädigung jedoch häufig zusätzlich an einer Reihe akuter und chronischer, nicht renaler Erkrankungen. Diese bzw. deren Behandlung führen oftmals zu einer Aggravierung der genannten Komplikationen und stellen die ohnehin bereits funktionseingeschränkte Niere vor eine nicht zu bewältigende Aufgabe.

Die Hypervolämie im Rahmen einer akuten Nierenschädigung ist zum Beispiel nicht nur durch die reduzierte Natrium- und Wasserausscheidung der geschädigten Nieren bedingt. Zu einer positiven Volumenbilanz tragen auch die im intensivmedizinischen Setting obligaten Volumenverabreichungen wie Antibiotika, Blutprodukte, parenterale Ernährung und andere intravenös applizierte Medikamente bei. Grams et al. zeigten, dass eine positive Volumenbilanz von Patienten mit einer akuten Nierenschädigung mit einer erhöhten Letalität assoziiert ist (18).

Die häufige und potentiell lebensbedrohliche Hyperkaliämie ist ebenfalls nicht nur auf die akute Nierenschädigung zurückzuführen. Eine Hyperkaliämie tritt vor allem bei anurisch-oligurischen Patienten auf, die sich in einer katabolen Stoffwechsellage befinden oder einen akuten Zellzerfall (durch Tumorlyse, Hämolyse oder Rhabdomyolyse) aufweisen. Zu den Manifestationen einer Hyperkaliämie gehören neben einer Muskelschwäche vor allem lebensbedrohliche kardiale Komplikationen wie Arrhythmien, die bis hin zum Kammerflimmern oder zur Asystolie führen können (19,20).

Die metabolische Azidose ist bedingt durch eine renal eingeschränkte Ausscheidung von Säuren und eine reduzierte Rückresorption von Bikarbonat am proximalen Tubulus. Hämodynamische Instabilitäten und kardiogene Thromboembolien können im perioperativen Verlauf neben der Minderperfusion der Niere auch zu Ischämieereignissen in anderen nicht-renalen Organen führen, was u.a. eine erhöhte Produktion von Laktat zur Folge hat und zu einer Aggravierung der metabolischen Azidose beiträgt.

Obwohl Hypervolämie, Hyperkaliämie und metabolische Azidose konservativ oder mithilfe einer Nierenersatztherapie behandelt werden können, hat die Morbidität und Letalität der akuten Nierenschädigung in den vergangenen Jahren nicht substantiell abgenommen. Eine der möglichen Erklärungen dafür könnte sein, dass die akute Nierenschädigung zu einer Multiorgan dysfunktion beiträgt. Inflammatorische

Kaskaden, Apoptose und oxidativer Stress sind mögliche Mechanismen, die zu einer Dysfunktion von extrarenalen Organen führen (21,22).

Zu den langfristigen Komplikationen der akuten Nierenschädigung zählt u.a. die Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz. In mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass Patienten ohne vorbestehende chronische Niereninsuffizienz nach isolierter akuter Nierenschädigung im Langzeitverlauf häufiger eine chronische Niereninsuffizienz entwickelten als Patienten ohne akute Nierenschädigung. Dies traf sogar auf Patienten zu, deren Nierenfunktion sich bis zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus wieder normalisierte (23,24). Die akute Nierenschädigung scheint nicht vollständig regredient zu sein und strukturelle Schäden an der Niere zu hinterlassen. Insbesondere der tubulointerstitielle Schaden und der vaskuläre Ausfall erzeugen wiederholt Ischämien und Hypoxien, die zu einem Fortschreiten der Schädigung der Niere führen. Weitere durch die akute Nierenschädigung hervorgerufene Komplikationen sind eine Dysregulation der Apoptose, Differenzierungsstörungen der Zellen, abnorme Zellantworten und anhaltende proinflammatorische und profibrotische Prozesse (25). Das Risiko der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz steigt mit höherem Schweregrad der akuten Nierenschädigung und Zunahme der Episoden dieser Erkrankung an (25).

Von Xu et al. wurde an einer kardiochirurgischen Kohorte der Zusammenhang zwischen akuter und chronischer Nierenschädigung untersucht und die akute Nierenschädigung als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz beschrieben (26). Die epidemiologische Bedeutung der chronischen Niereninsuffizienz ist groß. Sie ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und Herzinsuffizienz und beeinflusst somit maßgeblich den Gesundheitszustand chronisch nierenkranker Patienten im Sinne einer erhöhten Morbidität und Letalität (27,28).

1.1.3 Nierenfunktionsparameter, Diagnosekriterien und Stadieneinteilung

In der klinischen Praxis werden zur Darstellung physiologischer und pathophysiologischer Zustände zumeist Biomarker gemessen. Überwiegend handelt es sich hierbei um Laborwerte, deren Konzentration sich durch krankheitsspezifische Einflüsse auf Stoffwechselforgänge verändert. Die derzeit am häufigsten genutzten Parameter zur Diagnose und Einschätzung des Schweregrades der akuten Nierenschädigung sind das Serum-Kreatinin und das Harnvolumen. Diese im

klinischen Alltag etablierten Biomarker weisen deutliche Einschränkungen in der Abbildung der glomerulären Filtrationsrate und der Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung auf.

Das Serum-Kreatinin ist ein Marker der Clearance, der den pathophysiologisch zumeist als Primäreignis geltenden akuten Tubulusschaden nicht direkt nachweisen kann. Serum-Kreatinin erlaubt selbst im steady-state nur eine eingeschränkte Aussage über die glomeruläre Filtrationsrate und somit Funktion der Niere. Bei einer akuten Nierenschädigung trifft die Bedingung des steady-states nicht zu. Die berechnete glomeruläre Filtrationsrate ist somit nicht aussagekräftig. Da die Serum-Kreatinin-Konzentration außerdem von vielen Faktoren beeinflusst wird, die mit der eigentlichen Nierenschädigung in keinem Zusammenhang stehen, kommt es häufig zu einer Fehleinschätzung der Nierenfunktion (29). Einer dieser Faktoren ist eine reduzierte Muskelmasse des Patienten. Kreatinin ist ein Abbauprodukt von Kreatin, einer organischen Säure, die zur Versorgung der Muskeln mit Energie beiträgt. Bei chronisch kranken, malnutrierten und älteren Patienten ist die Kreatinin-Produktion vermindert und Serum-Kreatinin-Werte liegen noch im Normbereich, obwohl eine Nierenschädigung und ein Rückgang der Filtrationsfunktion bereits stattgefunden haben können (29). Ein weiterer Faktor ist die Veränderung der Stoffwechsellage bei schwer kranken Patienten, z.B. bei einer systemischen Entzündungsreaktion, in Richtung einer katabolen Stoffwechsellage, die zu einer Erhöhung der Serum-Kreatinin-Konzentration führt (29). Weiterhin führen die Erhöhung des Körperwasseranteils, z.B. durch Infusionstherapie, und die Verabreichung von Blutprodukten zu falsch niedrigen Serum-Kreatinin-Werten und anderen Serum-Parametern. Daher kann eine akute Nierenschädigung nicht oder erst im Verlauf bei weiter ansteigenden Kreatinin-Werten diagnostiziert werden (29). Ein weiterer Nachteil an der Orientierung am Kreatinin-Wert besteht in seiner geringen Sensitivität. Bis laborchemisch ein Anstieg des Serum-Kreatinins nachzuweisen ist, müssen ca. 50 % der glomerulären Filtrationsrate der Niere verloren gegangen sein (30). Ein diagnostisch relevanter Anstieg des Serum-Kreatinins erfolgt oft erst 24 bis 48 Stunden nach der initialen Schädigung der Niere – es entsteht somit ein Zeitfenster, welches bisher noch nicht für nephroprotektive Maßnahmen genutzt werden kann (30).

Auch der zweite etablierte renale Biomarker, das Harnvolumen, weist für die Beurteilung der akuten Nierenschädigung Limitationen auf, da das Harnvolumen

stark abhängig vom intravasal zirkulierenden Blutvolumen und von Diuretika-Gaben ist, wobei letzteres einen diagnostisch relevanten Abfall der Urinproduktion coupieren kann.

Alternativen für die frühzeitige Diagnostik der akuten Nierenschädigung sind nur schwer im klinischen Alltag umsetzbar. Die Nierenfunktionsszintigrafie ist beispielsweise mit einem hohen Aufwand verbunden und sehr kostenintensiv. Sie bildet nur eine Momentaufnahme der Nierenfunktion ab und ist bei intensivmedizinisch behandelten Patienten aufgrund der ständigen Überwachungspflichtigkeit der Patienten praktisch nicht durchführbar.

Trotz der Einschränkung der Diagnose mittels Serum-Kreatinin und Harnvolumen werden beide Parameter zur Diagnosestellung und Klassifikation des Schweregrades der akuten Nierenschädigung genutzt. Bis vor einigen Jahren gab es über 40 verschiedene Definitionen für die akute Nierenschädigung. Konsensbasierte Kriterien zur Diagnose und Schweregradeinteilung der akuten Nierenschädigung sind heute die RIFLE- (Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease) und die KDIGO- (Kidney Disease Improving Global Outcomes) Diagnosekriterien (**Abbildung 1**). Beide Klassifikationssysteme beziehen dabei das Serum-Kreatinin und das Harnvolumen mit ein (31). Da bereits geringe Serum-Kreatinin-Anstiege mit einer erhöhten Morbidität und Letalität assoziiert sind (32,33), wurde der früher verwendete Begriff „Akutes Nierenversagen“ (ANV) durch den Begriff „Akute Nierenschädigung“ (AKI, Acute Kidney Injury) abgelöst und somit auch frühere Stadien der akuten renalen Schädigung erfasst.

Abbildung 1 Diagnosekriterien bzw. Einteilung des Schweregrades der AKI. Modifiziert nach Bellomo et al. (31) und Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Working Group (34).

Stadium	RIFLE Serum-Kreatinin oder GFR	Stadium	KDIGO Serum-Kreatinin
Risk	1,5-facher Anstieg von Serum-Kreatinin oder GFR-Abfall >25 % innerhalb von sieben Tagen	1	1,5- bis 1,9-facher Anstieg von Serum-Kreatinin innerhalb von sieben Tagen oder Anstieg von Serum-Kreatinin $\geq 0,3$ mg/dl innerhalb von 48 h
Injury	2,0-facher Anstieg von Serum-Kreatinin oder GFR-Abfall >50 %	2	2,0-2,9-facher Anstieg von Serum-Kreatinin
Failure	3,0-facher Anstieg von Serum-Kreatinin oder GFR-Abfall >75 % oder Serum-Kreatinin $\geq 4,0$ mg/dl mit einem akuten Anstieg $\geq 0,5$ mg/dl	3	3,0-facher Anstieg von Serum-Kreatinin oder Serum-Kreatinin $\geq 4,0$ mg/dl oder Einleitung einer Nierenersatztherapie
Loss	vollständiger Verlust der Nierenfunktion >4 Wochen		
End-Stage Renal Disease	vollständiger Verlust der Nierenfunktion >3 Monate		

1.1.4 Prävention und Therapie

Die KDIGO-Leitlinien für die akute Nierenschädigung (34) empfehlen, Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung anhand von individuellen Patientencharakteristika und aktuellen Expositionen zu identifizieren. Identifizierte Patienten sollten regelmäßig durch die Bestimmung von Serum-Kreatinin-Werten und Urinvolumen auf das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung untersucht werden, um eine frühzeitige Diagnose und Therapie gewährleisten zu können. Wenn möglich sollte bei Vorliegen einer akuten Nierenschädigung deren Ursache und Schweregrad ermittelt werden, um reversible Ursachen auszuschalten und die akute Nierenschädigung gemäß des Stadiums therapieren zu können.

Die höchste Relevanz ergibt sich mit unterschiedlichem Evidenzgrad bzw. unterschiedlicher Empfehlungsstärke für die folgenden Maßnahmen:

1. Allgemeine Maßnahmen zur Prävention einer akuten Nierenschädigung
 - Verwendung von isotonischen Kristalloiden anstelle von Kolloiden zur Akutbehandlung eines Volumenbedarfs (KDIGO), Vollelektrolytlösungen sind möglicherweise isotonischer Kochsalzlösung vorzuziehen (35)
 - Vermeidung von Nephrotoxinen wie Aminoglykosiden (KDIGO), hochosmolaren jodhaltigen Kontrastmitteln (KDIGO) oder NSAID (nicht-steroidale Entzündungshemmer) (36)
2. Präoperative Maßnahmen zur Prävention einer akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen
 - Eine elektive Operation sollte bei präoperativ bestehender akuter Nierenschädigung verschoben werden, wenn möglich (37).
 - Präoperative Gabe von Kortikosteroiden: Die präoperative Gabe von Kortikosteroiden kann inflammatorische Schädigungsmechanismen der akuten Nierenschädigung abmildern und somit das Risiko für eine postoperative akute Nierenschädigung mindern (38).
 - Präoperative Gabe von Clonidin: Durch Gabe des Alpha-2-Adrenorezeptor-Agonisten Clonidin kann die Aktivität des sympathischen Nervensystems reduziert und somit eine Verschlechterung der Nierenfunktion minimiert werden (39).
3. Intraoperative Maßnahmen zur Prävention einer akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen
 - Durchführung einer Operation am schlagenden Herzen: Die Operation am schlagenden Herzen kann im Vergleich zu einer Operation unter Zuhilfenahme einer Herz-Lungenmaschine das Risiko für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung senken (40).
 - Präischämische Konditionierung der Niere: Eine präischämische Konditionierung der Niere durch kurzzeitiges wiederholtes Abbinden einer Armarterie erbrachte eine Reduktion des akuten Nierenversagens und senkte den Anteil dialysepflichtiger Patienten (41).
 - Falls technisch möglich, sollte eher eine interventionelle statt operative Klappensanierung durchgeführt werden (42).
4. Postoperative Maßnahmen zur Prävention einer akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen

- Die Einstellung eines mittleren arteriellen Drucks (MAD) von ca. 80-85 mmHg kann bei kreislaufinstabilen Patienten mit vorbestehender arterieller Hypertonie das Risiko für eine akute Nierenschädigung und Nierenersatztherapie senken (43).
- Durchführung einer Protokoll-basierten Behandlung bzgl. der Parameter der Hämodynamik und Oxygenierung (KDIGO)

1.2 Präoperative Risikoabschätzung und postoperative Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung

Eine individuelle präoperative Risikoabschätzung bzw. eine frühe postoperative Diagnosestellung für eine akute Nierenschädigung sind wichtig, um oben aufgeführte Maßnahmen zur Primärprävention (Kapitel 1.1.4) effektiv nutzen zu können und eine postoperative akute Nierenschädigung abmildern oder vermeiden zu können. Laut der aktuellen Empfehlungen der KDIGO Praxisleitlinie von 2012 (34) wird der präoperativen Erkennung von Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine akute Nierenschädigung und der frühzeitigen Diagnose eine hohe Priorität eingeräumt. Operationen können dann entsprechend geplant und eine, soweit möglich, nierenschonende und frühzeitige Behandlung durchgeführt werden. Die individuelle Risikoabschätzung und Frühdiagnose sind in der klinischen Praxis bisher jedoch schwierig zu gewährleisten.

Die in großen epidemiologischen Untersuchungen gelungene Identifizierung einzelner Risikofaktoren für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff, wie ein kombinierter Eingriff an den Koronararterien und den Herzklappen, ein vorbestehender Diabetes mellitus, eine chronische Nieren- oder Herzinsuffizienz oder die Berücksichtigung vorliegender Laborparameter einschließlich des präoperativen Serum-Kreatinin-Wertes, bieten für eine individuelle Nephroprotektion keine ausreichende ärztliche Entscheidungsgrundlage (44-48).

In der Diagnostik, Therapie und Prognose der akuten Nierenschädigung hat sich in den letzten Jahrzehnten nur wenig verändert. Inzidenz, Morbidität und Letalität der akuten Nierenschädigung haben trotz Fortschritten im pathophysiologischen Verständnis renaler Schädigungsabläufe und in der Durchführung kardiochirurgischer Eingriffe nicht entscheidend abgenommen. Präventive Ansätze lieferten zum Teil widersprüchliche Ergebnisse in Hinblick auf die Wirksamkeit nephroprotektiver Maßnahmen. So senkte die präoperative Gabe von Clonidin in

einer Studie das Risiko für eine akute Nierenschädigung (39), in einer anderen nicht (49).

In den letzten Jahren wurde der Nutzen von neuen Markern (wie Neutrophilen Gelatinase-assoziierte Lipocalin (NGAL), Interleukin (IL)-18, kidney injury molecule (KIM)-1 (50)) für eine Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung z.B. nach herzchirurgischen Eingriffen untersucht. Auch hier fanden sich zum Teil widersprüchliche Ergebnisse wobei jeweils nicht geklärt wurde, ob genetische Prädisposition eine Rolle spielt (51).

1.2.1 Präoperative Risikoabschätzung anhand von adrenergen Polymorphismen

Gegenstand aktueller Forschungsbemühungen (52) ist es, Werkzeuge für eine verbesserte präoperative Abschätzung des Risikos für eine postoperative akute Nierenschädigung zu entwickeln. Die prädiktive genetische Diagnostik zur Krankheitsprävention nimmt einen immer größeren Stellenwert ein. Die Bestimmung der genetischen Prädisposition bezüglich einer akuten Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff stellt in Anbetracht der sich rasch fortentwickelnden Analysemethoden eine zielführende und im klinischen Alltag realisierbare Methode dar.

Zahlreiche Studien richteten sich aufgrund der oben beschriebenen pathophysiologischen Rolle des Vasomotorentonus (Kapitel 1.1.2) auf die akute Nierenschädigung unter Durchführung entsprechender genetischer Assoziationsstudien bzw. genomweiter Analysen aus (53-55). Während einer Operation, die unter Zuhilfenahme einer Herz-Lungenmaschine durchgeführt wird, kommt es zu einer Aktivierung des sympathischen Nervensystems und somit einer vermehrten Freisetzung von Katecholaminen in den Blutkreislauf (53). Dazu addieren sich zur perioperativen Kreislaufstabilisierung verabreichte Katecholamine, die ca. zwei Drittel der Patienten innerhalb der ersten 24 Stunden postoperativ über einen Noradrenalinperfusor erhalten (53).

1.2.1.1 Die Catechol-O-Methyltransferase (COMT)

Die ubiquitär vorkommende Catechol-O-Methyltransferase spielt eine entscheidende Rolle beim systemischen und lokal-renalen Abbau dieser Katecholamine. Ein G-zu-A-Polymorphismus (rs4680) im vierten Exon des dazugehörigen COMT-Gens führt zu einer Valin-zu-Methionin-Aminosäure-Substitution im Codon 158. Dies hat eine höhere Thermolabilität und niedrigere („L“, low) gegenüber einer hohen („H“, high),

Enzymaktivität zur Folge. Der COMT HH-Genotyp weist im Gegensatz zum LL-Genotyp eine drei bis vier Mal höhere Enzymaktivität auf (56). Der Polymorphismus im COMT-Gen, der also mit einer niedrigeren Aktivität dieses Enzyms und somit erhöhten Katecholaminwerten im Plasma einhergeht, macht die therapeutische Gabe von Katecholaminen im perioperativen Setting zu einem kontrovers diskutierten Thema, da dauerhaft erhöhte Katecholaminspiegel zu einer Herunterregulation und Desensibilisierung von alpha-Adrenorezeptoren und somit systemischer Vasodilatation, Minderperfusion und Schädigung der Niere führen können (57). Eine renale Vasokonstriktion verschlechtert diese Situation (58). Überdies wird insbesondere bei kardiochirurgischen Eingriffen eine Sympathikusaktivierung und Katecholaminausschüttung beobachtet.

Unter einer Vielzahl bekannter adrenerger genetischer Polymorphismen beschränkte sich eine erste Untersuchung (53) auf den möglichen Zusammenhang zwischen einem funktionell relevanten COMT-Polymorphismus mit beschriebener zentraler Rolle im Katecholaminabbau und dem Verlauf der Nierenfunktion nach kardiochirurgischen Eingriffen. Es wurde hypothetisiert, dass der beschriebene Polymorphismus im COMT-Gen, in Abhängigkeit von der genetisch determinierten COMT-Enzymaktivität, das klinische Outcome von Patienten nach kardiochirurgischen Eingriffen beeinflusst. Haase et al. untersuchten in einer Pilotstudie den möglichen Zusammenhang zwischen COMT Genvarianten und der Inzidenz von renalen Endpunkten und extrakorporalen Nierenersatztherapien nach kardiochirurgischen Eingriffen (53). 25 % der untersuchten 260 kardiochirurgisch operierten Patienten wiesen den für die niedrige (LL)-Enzymform kodierenden COMT Met158-Genotypen auf. Die Katecholaminkonzentrationen waren postoperativ bei den COMT LL-Trägern signifikant höher als bei den HL- und HH-Trägern. Bei den COMT LL-Trägern traten häufiger ein vasodilatatorischer Schock und eine akute Nierenschädigung auf als bei HL- und HH-Trägern. Auch die Notwendigkeit der extrakorporalen Nierenersatztherapie war bei den COMT LL-Trägern häufiger gegeben als bei HL- und HH-Trägern (53). Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass der COMT-Val158Met-Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP, single nucleotide polymorphism) einen Risikofaktor für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen darstellt.

1.2.2 Postoperative Frühdiagnose anhand von neuen Urinmarkern

Neben der präoperativen Risikostratifizierung für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung bedarf es der Etablierung neuerer Biomarker, die eine strukturelle Schädigung oder einen zellulären Stress noch vor dem Funktionsverlust der Nieren anzeigen und somit eine frühzeitigere postoperative Diagnose sowie Therapie der akuten Nierenschädigung ermöglichen. Wichtig ist dies vor allem bei einem für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung prädestinierten Patientenkollektiv, wie intensivpflichtigen Patienten, Patienten nach kardiochirurgischen Eingriffen oder nach Kontrastmittelgabe. Ein fehlender Anstieg der Biomarkerkonzentration kann außerdem bei der Entscheidungsfindung helfen, ob ein Patient in der Notaufnahme auf die Intensivstation aufgenommen werden muss oder ein Patient von der Intensivstation auf Normalstation verlegt bzw. aus dem Krankenhaus entlassen werden kann. Weiterhin könnten Patienten von einem verlängerten hämodynamischen Monitoring und von einem früheren Beginn der extrakorporalen Nierenersatztherapie profitieren. Wünschenswert wäre darüber hinaus, mit Hilfe von Biomarkern Rückschlüsse auf Ursache und Lokalisation der Schädigung ziehen zu können.

Ein klinisch hilfreicher Biomarker sollte möglichst folgende Kriterien erfüllen:

- Er sollte organspezifisch von den geschädigten Zellen ausgehen.
- Der Anstieg sollte proportional zum Grad der Organschädigung sein und frühzeitig nach Eintreten des Schadens auftreten.
- Nach Beendigung der Schädigung sollte die Konzentration wieder abfallen und somit eine Verlaufskontrolle ermöglichen.
- Die laborchemische Messung der Biomarkerkonzentration sollte nicht-invasiv, schnell, zu jeder Zeit und kostengünstig möglich sein.

In ersten Untersuchungen wurden einige neue Marker als potentielle, nicht-invasiv im Blut und im Urin gemessene Frühmarker der akuten Nierenschädigung beschrieben (50,59,60).

1.2.2.1 Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipocalin

Das Neutrophilen Gelatinase-assoziierte Lipocalin (NGAL), auch bezeichnet als Lipocalin-2 oder Siderocalin, gilt, insbesondere bei Nachweis hoher Konzentrationen im Urin, als Marker des akuten Tubulusschadens (64-65). Es handelt sich um ein

Protease-resistentes Transportprotein für lipophile Substanzen, das erstmals in aktivierten neutrophilen Granulozyten nachgewiesen wurde (61) und unter physiologischen Bedingungen in geringen Mengen in vielen Geweben des menschlichen Körpers exprimiert wird. Dazu gehören neben der Niere unter anderem auch die Lunge, die Trachea, der Magen und das Kolon (61). Die Expression des Proteins mit einem Molekulargewicht von ca. 25 kD wird durch geschädigtes Epithel induziert (61). Während NGAL bei gesunden Nieren kaum im Urin oder Plasma nachzuweisen ist, kommt es nach Induktion eines renalen Ischämie-Reperfusionsschadens bzw. nach Inflammation vor allem im Bereich des proximalen und distalen Tubulus zu einer Akkumulation, Sekretion und einem signifikanten Anstieg von NGAL im Urin und auch im Plasma (62). Die Expression von NGAL korreliert hierbei mit der Stärke und der Dauer des nierenschädigenden Einflusses (63). Eine reduzierte GFR trägt zu einer verminderten Clearance von NGAL bei und lässt es weiter im Plasma ansteigen (63). Als NGAL-Siderophoren-Eisenkomplex reguliert es den intrarenalen Eisenstoffwechsel und wirkt proliferations- und epithelialisierungsfördernd (59,66). Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass ein subkutan verabreichter NGAL-Siderophoren-Eisen-Komplex nach renaler Ischämie-Reperfusion die Verschlechterung der renalen Funktion und die Ausbildung morphologischer Schäden fast vollständig aufhob (64,66). Die Eignung von NGAL als Biomarker für die Prädiktion der Dauer und des Schweregrades einer akuten Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff wurde initial in einem pädiatrischen Patientenkollektiv untersucht und beschrieb NGAL als einen frühzeitig ansteigenden Biomarker (62,67,68). In anderen Studien wurde die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf ein Patientenkollektiv fortgeschrittenen Alters überprüft. Hier zeigte sich NGAL als prognostischer und diagnostischer Marker für eine akute Nierenschädigung (63,69).

1.2.2.2 Midkine

Midkine ist ein weiterer zur Diskussion stehender neuer Biomarker zur Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung. Es handelt sich um einen Heparin-bindenden Wachstumsfaktor mit einem Molekulargewicht von ca. 13 kD, der an der Regulation von Zellwachstum, -überleben und -migration sowie antiapoptotischer Aktivität während der Nephrogenese beteiligt ist (60,70). Die Induktion der Expression von Midkine erfolgt in den epithelialen Zellen des proximalen und distalen Tubulus der Niere und wird ebenfalls durch einen Ischämie-Reperfusionsschaden ausgelöst (71).

Midkine ist im Rahmen der ischämischen Nierenschädigung an inflammatorischen Prozessen beteiligt. Nach einem renalen Ischämie-Reperfusionsschaden fördert es die Migration von Neutrophilen und Makrophagen zum tubulointerstitiellen Gewebe der Niere (71,72). Durch die Migration von Leukozyten kommt es zur Schädigung dieses Gewebes (71). Die Unterdrückung von Midkine kann die Migration von inflammatorischen Zellen verhindern und somit den Schweregrad des Schadens reduzieren (71). Sato et al. zeigten anhand von Midkine-knockout Mäusen, dass die Unterdrückung der Migration von Leukozyten nach ischämischen Insulten zu einer reduzierten tubulointerstitiellen Schädigung der Niere führt (73).

Malyszko et al. untersuchten die Eignung von Midkine als Frühmarker einer Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung nach perkutaner Koronarintervention. Sie wiesen einen signifikanten Anstieg von Midkine zwei und vier Stunden nach Intervention und damit eine potentielle Eignung von Midkine als Biomarker einer kontrastmittelinduzierten akuten Nierenschädigung nach (71). Auch im Rahmen kardiochirurgischer Eingriffe und Operationen von abdominellen Aortenaneurysmen wurde Midkine als frühzeitiger und sensitiver Biomarker für die akute Nierenschädigung identifiziert (60,74).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Der mögliche Einfluss von COMT Genvarianten auf den Verlauf der Nierenfunktion nach kardiochirurgischen Eingriffen wurde bisher in keiner unabhängigen Hochrisiko-Patientenkohorte überprüft. Auch die prädiktiven Eigenschaften neuer renaler Biomarker bei Patienten mit akuter Nierenschädigung im Zusammenhang mit Genvarianten für potentielle renale Risiko-Promotorgene wurden bislang nicht untersucht. Ebenso mangelt es bisher an der Untersuchung des Einflusses einer stattgehabten akuten Nierenschädigung bei vorliegenden COMT Genvarianten auf die Langzeitnierenfunktion.

Das erste Ziel der vorliegenden Arbeit (primäre Fragestellung) war es, in einer unabhängigen Kohortenstudie bei Patienten mit einem erhöhten renalen Risiko, den in einer früheren Arbeit (53) gezeigten möglichen Einfluss von COMT Genvarianten auf die Häufigkeit und den Schweregrad der postoperativen akuten Nierenschädigung zu überprüfen (Ergebnisteil 3.2.1).

Das zweite Ziel war die Untersuchung der Eignung neuer Urinmarker für die Vorhersage einer akuten Nierenschädigung in derselben Patientenkohorte. Untersucht wurden hierbei NGAL und Midkine (Ergebnisteil 3.2.2).

Das dritte Ziel war die Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen COMT Genvarianten, Konzentration von neuen renalen Markern im Urin und akuten renalen Ereignissen nach kardiochirurgischen Eingriffen (Ergebnisteil 3.2.3).

Das vierte Ziel war die Untersuchung der Aussagekraft der COMT Genvarianten auf den langfristigen Verlauf der Nierenfunktion nach kardiochirurgischen Eingriffen (Ergebnisteil 3.2.4).

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten

2.1.1 Charakterisierung der Patienten

In die vorliegende Untersuchung wurden Patienten eingeschlossen, die sich im Zeitraum April 2008 bis Juni 2010 im deutschen Herzzentrum Berlin einer elektiven oder dringenden kardiochirurgischen Operation unter Einsatz der Herz-Lungenmaschine unterzogen und ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer postoperativen akuten Nierenschädigung aufwiesen.

Weitere Einschlusskriterien sind im Folgenden aufgeführt:

- Alter über 70 Jahre oder
- vorbestehende Einschränkung der Nierenfunktion (präoperative Serum-Kreatinin-Konzentration $>120 \mu\text{mol/L}$) oder
- New York Heart Association Klasse III/IV oder reduzierte linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF $<35\%$) oder
- Insulin-abhängiger Diabetes mellitus Typ 2 oder
- Herzklappen-Operation, Koronarbypass und Herzklappen-Operation, wiederholter kardiochirurgischer Eingriff

Ausschlusskriterien waren:

- End-stage renal disease (präoperative Serum-Kreatinin-Konzentration $>300 \mu\text{mol/L}$) oder
- durch Blut übertragene Infektionskrankheit oder
- chronische Infektionskrankheit unter Immunsuppression oder
- Glukokortikoidtherapie ($> 10 \text{ mg/Tag}$ Prednisolon oder Äquivalenzdosis) oder
- Notfall-Operation oder
- Operationen ohne Herz-Lungenmaschine oder
- Alter unter 18 Jahre oder
- Teilnehmer in einer anderen konkurrierenden Studie

2.1.2 Vorgehensweise bei kardiochirurgischen Eingriffen

Das klinische Vorgehen während der Operation und während des Aufenthalts der Patienten auf der Intensivstation wurde für den Zweck der Studie nicht verändert. Die Verabreichung von Antibiotika, volatilen Anästhetika, Propofol und anderen Sedativa und Antifibrinolytika und das Volumenmanagement lagen im Ermessen des Anästhesisten und Intensivmediziners und wurden dokumentiert. Zur Analgesie

wurden intraoperativ Fentanyl oder Morphin und postoperativ Paracetamol oder Tramadol verwendet. Antihypertensiva wie ACE-Hemmer wurden präoperativ abgesetzt (gewöhnlich ein Tag vor dem Eingriff). Bei allen Patienten wurde als operativer Zugangsweg die mediane Sternotomie gewählt, ein Herzstillstand mittels kardioplegischer Lösung induziert und die systemische Perfusion über einen extrakorporalen Kreislauf via Herz-Lungenmaschine gewährleistet. Zielwerte des hämodynamischen Managements waren ein mittlerer arterieller Druck von 70 mmHg, ein Herzindex von 2,5 l/min/m², gemessen mittels eines pulmonalarteriellen Katheters, und ein adäquater zentralvenöser Druck. Der intraoperative Herzindex wurde mittels der Herz-Lungenmaschine gemessen und überwacht (2,5 l/min/m²). Die postoperative Verabreichung von Vasopressoren und inotropen Medikamenten wurde stündlich bis zur Entlassung der Patienten von der Intensivstation erfasst.

2.1.3 Renale Endpunkte

2.1.3.1 Definition und Schweregrad der akuten Nierenschädigung und Indikationen für die Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie

Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse der vorgelegten Arbeit mit Ergebnissen einer bereits publizierten Beobachtungsstudie (53) herzustellen und weil sich anhand von Literaturdaten ein Trend für eine höhere Treffsicherheit für die Vorhersage wichtiger klinischer Endpunkte einschließlich Krankenhausletalität nach kardiochirurgischen Eingriffen als für andere AKI-Diagnosekriterien ablesen lässt (75), wurden für die Diagnose 'akute Nierenschädigung' und ihre Schweregradeinteilung die RIFLE-Diagnosekriterien und -Klassifikation verwendet. Die präoperative GFR wurde mit Hilfe der „Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration“ (CKD-EPI)-Formel auf der Basis des präoperativen Serum-Kreatinin-Wertes berechnet (29). Die Einleitung einer postoperativen akuten Nierenersatztherapie wurde gemeinsam durch die Kardiochirurgische Intensivstation und die Abteilung für Nephrologie entschieden und durchgeführt. Mittragende Kriterien für die Einleitung einer Nierenersatztherapie waren: Hypervolämie bei Oligo-Anurie, therapierefraktäre Hyperkaliämie ($K^+ > 6,5$ mmol/L) und therapierefraktäre metabolische Azidose.

2.1.3.2 Definition und Schweregrad der chronischen Niereninsuffizienz

Die Zuordnung der Diagnose bzw. des Stadiums der chronischen Niereninsuffizienz erfolgte gemäß der KDIGO-Klassifikation (34). Die Beurteilung, ob eine neu

entstandene bzw. eine verschlechterte chronische Niereninsuffizienz vorlag, erfolgte anhand des präoperativ erhobenen Serum-Kreatinin-Wertes und des während der Nachbeobachtungsperiode erhobenen Serum-Kreatinin-Wertes.

2.1.4 Datendokumentation

Für die Datenerhebung wurden eigens entworfene Dokumentationsbögen unter Nutzung der elektronischen Patientenakte verwendet. Ebenfalls wurden Patientenfragebögen für die Erfassung der postoperativen Lebensqualität mit Schwerpunkt auf Nierengesundheits-bezogene Aspekte erstellt und die erhobenen Daten entsprechend dokumentiert. Ein Studienmonitoring unter Abgleich der im Krankenhaus erhobenen Daten mit den Quelldaten wurde alle 8 Wochen durch das Koordinierungszentrum für Klinische Studien der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Die Datenübertragung von den Dokumentationsbögen und den Patientenfragebögen in die Studien-Datenbank erfolgte anonymisiert.

Um eine Stichprobenverzerrung zu verhindern, waren Forscher und klinisches Personal gegenüber COMT Genotyp und Urinmarker-Konzentrationen oder klinischem Outcome verblindet. COMT Genotyp und Urinmarkerkonzentrationen der Patienten wurden nach Abschluss der klinischen Dokumentation und der Studiendatendokumentation der Patienten bestimmt.

2.1.5 Ethikvotum

Das positive Votum der zuständigen Ethik-Kommission (ZS EK 11 654/07, Charité Berlin) deckte die Aufklärung der Patienten für die Bestimmung von genetischen Varianten der COMT und von neuen Markern ab. Von den Patienten wurde präoperativ das Einverständnis für die Bestimmung der Varianten im COMT-Gen, die Messung von Urinmarkern und den Nachkontakt zur Nachbeobachtung der Nierenfunktion bis 90 Tage postoperativ eingeholt. Für die Erfassung Nierenfunktions-bezogener Zielgrößen im Rahmen der Langzeitnachbeobachtung bis zu 5 Jahre postoperativ lag ebenfalls ein positives Votum der zuständigen Ethik-Kommission (Nr. 61/14; 2014, Universitätsklinikum Magdeburg) vor.

2.2 Methoden

2.2.1 Probengewinnung

Vor der Operation, direkt nach Anlage eines Gefäßzugangs und sechs und 24 Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an den Blutkreislauf wurden

Blut- und Urinproben abgenommen. Die Proben wurden sofort und unter Kühlung (4 °C) bei 5000 U/min zentrifugiert, in Aliquots abpipettiert und bei -80 °C aufbewahrt.

2.2.2 Bestimmung der Varianten im Catechol-O-Methyltransferase-Gen

2.2.2.1 DNA-Isolierung

Für die DNA-Isolierung wurde die DNA-Extraktionsmaschine chemagic MSM I der Firma Perkin Elmer verwendet. Die DNA wurde mittels des chemagic DNA Blood Kits special (Cat. No.: CMG-763-1) aus jeweils 3 ml Blut extrahiert. Dabei wurde sich an das Protokoll des Herstellers gehalten. Der Gewinn liegt normalerweise bei ca. 50 - 100 µg DNA.

2.2.2.2 Genotypisierung

Bei der Genotypisierungsanalyse handelt es sich um eine Endpunktanalyse zur Bestimmung des Genotyps in unbekanntem Proben. Hierbei wird ein Einzelnukleotid-Polymorphismus differenziert. Die unbekanntem Proben gehören entweder zum homozygoten Genotypen (Allel 1 + Allel 1 bzw. Allel 2 + Allel 2) oder zum heterozygoten Genotypen (Allel 1 + Allel 2).

Für jedes Allel enthält die PCR (Polymerase Chain Reaction) eine spezielle Sonde, die mit einem fluoreszierenden Farbstoff markiert ist. Um die einzelnen Allele differenzieren zu können, enthalten die fluoreszierenden Sonden folgende Komponenten:

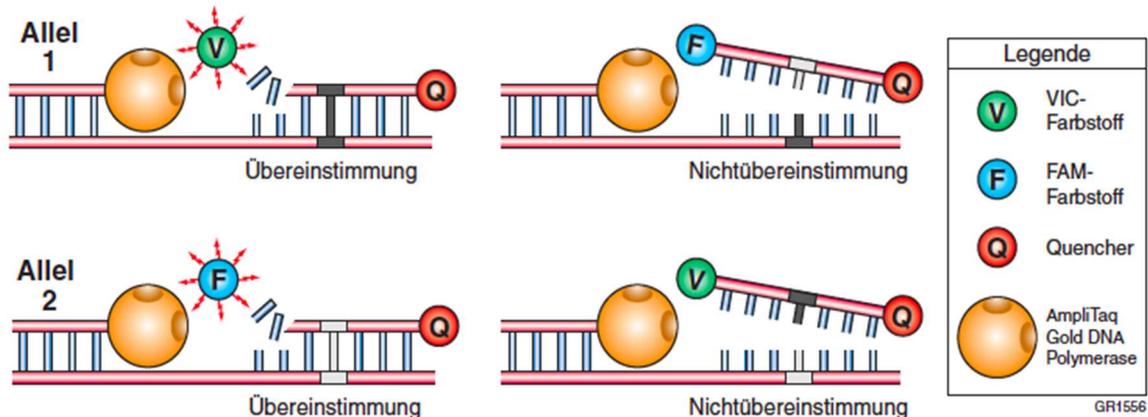
- einen Reporter am 5'-Ende,
- den Farbstoff VIC® am 5'-Ende der Sonde für Allel 1,
- den Farbstoff FAM™ am 5'-Ende der Sonde für Allel 2,
- einen Minor Groove Binder (MGB), wodurch die Schmelztemperatur der Sonden erhöht wird, ohne die Sonden zu verlängern und
- einen nicht fluoreszierenden Quencher (NFQ) am 3'-Ende der Sonde.

Während der PCR bindet jede Sonde zwischen dem Forward- und Reverse-Primer spezifisch an die komplementäre DNA-Sequenz. Eine DNA-Polymerase spaltet nachfolgend alle Sonden, die perfekt mit der Allelfrequenz hybridisieren. Bei dieser Spaltung wird der Reporter vom Quencher entfernt, was die Fluoreszenz des Reporters verstärkt. Das während der PCR-Amplifikation entstehende Fluoreszenzsignal zeigt somit das in der Probe enthaltene Allel an.

Passt eine Sonde nicht perfekt zum Allel, verringert sich die Effizienz der Sondenhybridisierung. Es ist außerdem wahrscheinlich, dass die DNA-Polymerase

die nicht passende Sonde abdrängt, statt sie zu spalten. Es wird dann kein Reporter-Farbstoff freigesetzt (**Abbildung 2**).

Abbildung 2 Prinzip der Genotypisierung (76)



Die möglichen Ergebnisse der Genotypisierungsanalyse sind folgende:

Eine erhebliche Verstärkung des Farbstoffs VIC® zeigt eine Homozygotie für Allel 1.

Eine erhebliche Verstärkung des Farbstoffs FAM™ zeigt eine Homozygotie für Allel 2.

Eine Verstärkung beider Fluoreszenzsignale zeigt eine Heterozygotie.

Die Analyse des COMT Genotyps rs4680 wurde mittels des TaqMan® SNP Genotyping Assays (C_25746809_50; Life Technologies, Carlsbad, California, USA) durchgeführt. Die allelische Diskriminierung (SNP-Genotypisierung) erfolgte anhand eines 10 µl großen Reaktionsvolumens.

Dieses enthielt:

- 10 ng der genomischen DNA,
- 5 µl vom 2x TaqMan® PCR Genotyping Master Mix (Life Technologies) und
- 0,5 µl vom 20x TaqMan® SNP Genotyping Assay Mix mit sequenzspezifischen Forward- und Reverse-Primern für die Amplifizierung des betreffenden SNP sowie zwei MGB-Sonden:
 - eine mit dem Farbstoff VIC® markierte Sonde für den Nachweis der Allel-1-Sequenz und
 - eine mit dem Farbstoff FAM™ markierte Sonde für den Nachweis der Allel-2-Sequenz.

Die PCR-Amplifikation und allelische Diskriminierung mithilfe des Endpunktnachweises der resultierenden Fluoreszenzsignale wurde in 96-well

Mikrotiterplatten mittels eines 7500 Fast-Real-Time-PCR-Systems (Life Technologies) durchgeführt und sich dabei an die Empfehlungen des Herstellers gehalten. Die Analyse erfolgte durch die 7500 Software v2.0.3. Um die Qualität der Genotypisierungen zu gewährleisten, wurden alle Genotypauswertungen von zwei unterschiedlichen Personen, ohne Kenntnisse des Phänotyps, vorgenommen. Hierbei wurde eine Konkordanzrate (Übereinstimmung) von 100 % erreicht. Zusätzlich enthalten alle Genotypisierungen routinemäßig sowohl Positiv- als auch Negativkontrollen. Die Genotypisierungsrate für den COMT Genotypen betrug 97,5 %.

2.2.3 Messung des Serum-Kreatinins und neuer Urinmarker

2.2.3.1 Serum-Kreatinin

Der Serum-Kreatinin-Wert wurde sowohl präoperativ als auch täglich mindestens sieben Tage nach dem kardiochirurgischen Eingriff mit Hilfe der modifizierten, Massenspektrometrie-validierten Jaffé-Methode bestimmt.

2.2.3.2 NGAL

Die NGAL-Konzentration im Urin wurde mittels der automatisierten ARCHITECT® Laborplattform (Abbott Diagnostics, Laboratories, Abbott Park, IL, USA) gemessen. Das Messintervall der ARCHITECT® Laborplattform liegt bei 10 ng/ml bis 1500 ng/ml. Der Assay kann Werte bis zu 6000 ng/ml messen. Der Variationskoeffizient liegt bei <10 %.

2.2.3.3 Midkine

Die quantitative Bestimmung der Midkine-Konzentration im Urin erfolgte mittels eines „human Midkine sandwich ELISA development kits“ (PeproTech, Hamburg, Cat.-No.: 900-K190). Dieser Assay wurde gemäß Herstellerhandbuch durchgeführt und die Konzentration mittels eines TECAN Infinite 200 Spectrophotometers (Tecan Group US, Inc., Durham, NC) gemessen. Dieser ermöglicht eine quantitative Messung von humanem Midkine in einem Bereich von 32-2000 pg/ml.

Das Prinzip des ELISA („Enzyme Linked Immunosorbent Assay“) beruht auf einer Sandwich-ELISA-Technik, bei der zwei Antikörper spezifisch an das Antigen binden:

1. Das zu untersuchende Antigen (z.B. Midkine) bindet nach Zugabe der verdünnten Urinprobe an den an der Mikrotiterplatte gekoppelten Capture-Antikörper. Der

nicht gebundene Anteil der verdünnten Urinprobe wird durch mehrere Waschvorgänge entfernt.

2. Der Nachweis des nun gebundenen Antigens (z.B. Midkine) erfolgt durch einen Detection-Antikörper, der gegen einen anderen Teil des Antigens gerichtet ist und mit einem Enzym (z.B. Avidin-HRP-Konjugat) konjugiert ist. Der nicht gebundene Anteil des Detection-Antikörpers wird durch mehrere Waschvorgänge entfernt.
3. Durch die Zugabe des Substrats (z.B. ABTS) kommt es zu einer Enzym-Substrat-Reaktion mit dem Enzym (Avidin-HRP-Konjugat) des Detection-Antikörpers.
4. Diese Enzym-Substrat-Reaktion führt zu einer Farbreaktion, deren Intensität mittels Photometrie bei einer definierten Wellenlänge gemessen wird.
5. Vor dem Gebrauch des ersten Kits wurden zunächst einzelne Reagenzien rekonstituiert, indem 100 µg des Capture-Antikörper, 100 µg des Detection-Antikörpers und 1 µg des Human-Midkine-Standards jeweils mit 1 ml sterilem H₂O versetzt wurden. Dies ergab Konzentrationen von 100 µg/ml des Capture- und Detection-Antikörpers sowie von 1 µg/ml des Human-Midkine-Standards. Die 60 µl des Avidin-HRP-Konjugats wurden in zehn 6 µl-Aliquots separiert und mit den beiden Antikörpern und dem Human-Midkine-Standard bei -20 °C aufbewahrt.

Für den ELISA-Assay wurden folgende Materialien benötigt:

- ELISA-Microplates (greiner bio-one, Cat.-No. 655101, 96 Well, PS, F-Bottom)
- Parafilm/ Versiegelungsfolien
- Tween20 (ApplieChem, Cat.-No. A4974)
- BSA (PAA, Cat.-No. K45-001)
- ABTS-Substrat (Sigma, Cat.-No. A3219)
- PBS 1X (Phosphate-Buffered Saline) (GIBCO®, Cat.-No. 14190-094)
- Mehrkanalpipette (Eppendorf)
- Dispenser (Eppendorf)
- ELISA-Plate-Reader (TECAN Infinite M200)

Weiterhin wurden folgende Lösungen angesetzt:

- Wasch-Puffer: 0,05 % Tween-20 in PBS
- Block-Puffer: 1 % BSA in PBS
- Diluent: 0,05 % Tween-20, 0,1 % BSA in PBS

- Capture-Antikörper: 1 µg/ml (1:100) in PBS
- Detection-Antikörper: 1 µg/ml (1:100) in Diluent
- Avidin-HRP-Conjugat: 1:2000 in Diluent

Für die Standardreihe wurden zu 998 µl Diluent 2 µl des Standards hinzugefügt. Dies ergab eine Endkonzentration von 2000 pg/ml. Der Standard wurde von 2000 pg/ml auf 31,2 pg/ml verdünnt, indem pro Verdünnung 500 µl Diluent als Basis vorgelegt und jeweils 500 µl der vorherigen Verdünnung hinzugegeben wurden. Als Leerwert wurden 100 µl Diluent verwendet.

1. Am Vorbereitungsstag wurden 100 µl Capture-Antikörper (1 µg/ml) pro Well pipettiert, die Platte mit Parafilm versiegelt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert.
2. Nach ca. 14 Stunden Inkubation wurde der Capture-Antikörper abgenommen und vier Mal mit je 300 µl Waschpuffer gewaschen.
3. Dann wurden 300 µl Blockpuffer pro Well pipettiert und mindestens eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert.
4. Anschließend wurde der Blockpuffer abgenommen und vier Mal mit je 300 µl Waschpuffer gewaschen.
5. Daraufhin wurden 100 µl des Standards bzw. der verdünnten Urinprobe in die Wells pipettiert und mindestens zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.
6. Nach der Inkubation wurde der Standard abgenommen und vier Mal mit je 300 µl Waschpuffer gewaschen.
7. Nun wurden 100 µl des Detection-Antikörpers (1µg/ml) pro Well pipettiert und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.
8. Es erfolgte erneut der viermalige Waschvorgang mit je 300 µl Waschpuffer.
9. Nachdem 100 µl Avidin-HRP-Konjugat (1:2000) pro Well pipettiert wurden, erfolgte eine Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur.
10. Das Avidin-HRP-Konjugat wurde abgenommen und fünf Mal mit je 200 µl Waschpuffer gewaschen.
11. Als letzter Schritt wurden 100 µl ABTS-Substratlösung pro Well pipettiert und sofort ca. 40 Minuten lang in 5-Minuten-Intervallen die Extinktion der Farbänderungen pro Well bei einer Wellenlänge von 405 nm bei einer Referenzwellenlänge von 650 nm am ELISA-Plate-Reader, dem Spektrophotometer, gemessen.

Die Messgröße für ELISA-Ergebnisse war die Optische Dichte (OD).

Durch die Mitführung eines Standards konnte anhand der Auftragung der optischen Dichte (Absorption bei 405 nm) gegen die bekannte Standardkonzentration eine Eichkurve erstellt und damit die Konzentrationen der Probelösungen berechnet werden. Eine zuverlässige Standardkurve (lineare Regression) lag vor, wenn die Extinktion des 0-Standards bei höchstens 0,2 und der höchste Standard nicht über 1,4 lagen.

2.2.4 Erhebung des Serum-Kreatinin-Wertes im Langzeitverlauf

Die Erhebung des Serum-Kreatinin-Wertes im Langzeitverlauf erfolgte durch die telefonische oder schriftliche Abfrage des Patientenfragebogens bei den Patienten oder den jeweiligen Hausärzten. Zur Beurteilung ob eine neu entstandene bzw. eine verschlechterte chronische Niereninsuffizienz vorlag wurde der zuletzt im ‚steady state‘ erhobene Serum-Kreatinin-Wert verwendet. Bei Patienten mit in mehreren Werten dokumentierter, stabiler Nierenfunktion erfolgte die Bestimmung des Medians der Serum-Kreatinin-Werte. Zur Berechnung der medianen Nachbeobachtungsdauer wurde das Jahr des letzten erhobenen Serum-Kreatinin-Wertes verwendet. Die Datenerhebung wurde im Juli 2015 beendet.

2.2.5 Fallzahlschätzung

Basierend auf einer Voruntersuchung der Arbeitsgruppe (Haase et al. JASN 2009, (53)) wurde eine Fallzahlschätzung vorgenommen, um die primäre Fragestellung nach Bestätigung oder Widerlegung des Zusammenhangs zwischen COMT Genvarianten und Inzidenz der akuten Nierenschädigung statistisch gesichert beantworten zu können. In der Voruntersuchung entwickelten 31,3 % der LL-, 18,7 % der HL- und 13,7 % der COMT HH-Träger eine akute Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff. Basierend auf diesen Ergebnissen würden in der aktuellen Untersuchung 327 Patienten benötigt werden, um einen statistisch signifikanten Gruppenunterschied (α 0,05, zweiseitig) für die akute Nierenschädigung entsprechend der Varianten im COMT-Gen (LL vs. HL vs. HH) bei einer Power von 80 % nachzuweisen (nQuery + nTerim 4.0, Statistical Solutions Ltd. 2015). Als Patientenkohorte für die vorliegende Arbeit wurde eine multizentrische Studie mit 350 Patienten verwendet (ClinicalTrials.gov, NCT00672334, (77)). Die Patienten waren als Risikokollektiv für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff definiert.

2.2.6 Statistische Analysen

Die Gruppeneinteilung erfolgte entsprechend der COMT Genvarianten (LL, HL und LL; Drei-Gruppenvergleich) bzw. entsprechend des Status für akute Nierenschädigung (AKI, keine AKI) bzw. für akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie, keine Nierenersatztherapie; Zwei-Gruppenvergleich). Die Genvariantenverteilung wurde mithilfe des Chi-Quadrat-Tests auf das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht untersucht. Alle Daten wurden mittels Histogrammen auf Normalverteilung geprüft. Normalverteilte Werte wurden als Mittelwert +/- Standardabweichung dargestellt. Für den Vergleich linearer Variablen wurde ANOVA (Analysis of Variance) genutzt. Nicht-normalverteilte Werte wurden als Mediane unter Angabe der 25. und 75. Perzentile dargestellt und zum Vergleich der Genvarianten genutzt. Der Zwei-Gruppenvergleich erfolgte anhand des Mann-Whitney U-Tests, der Drei-Gruppenvergleich anhand des Kruskal-Wallis-Tests. Für kategoriale Variablen wurden Gruppenvergleiche mittels des Chi-Quadrat- oder des exakten Fisher-Tests durchgeführt. Ein zweiseitiger p-Wert $<0,05$ galt als statistisch signifikant. Die statistische Analyse wurde mit SPSS für Windows, Version 21.0 (IBM Corp., Armonk, New York, USA) und MedCalc, Version 13.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgium) durchgeführt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Charakterisierung der Patienten

Der Patientenfluss durch die Studie wird in **Abbildung 3** dargestellt. Blutproben zur Bestimmung der COMT Genvarianten und Urinproben für die Messung der Urinmarker lagen nur von den 200 Patienten des deutschen Studienarms der o.g. multizentrischen Studie vor (Kapitel 2.2.5). Bei fünf Patienten konnte aufgrund technischer Probleme oder fragmentierter DNA kein Genotyp bestimmt werden. 195 Patienten mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff wurden demnach in die Studie eingeschlossen. Sie wurden auf den COMT-Val158Met-SNP untersucht und ihre Urinmarker bestimmt.

Die Bestimmung der Urinmarker gelang für NGAL bei 194 Patienten zum Zeitpunkt null Stunden und sechs Stunden sowie 193 Patienten zum Zeitpunkt 24 Stunden und für Midkine bei 188 Patienten zum Zeitpunkt null Stunden, 190 Patienten zum Zeitpunkt sechs Stunden sowie 183 Patienten zum Zeitpunkt 24 Stunden.

Die genetischen Analysen ergaben folgende Verteilung der COMT Genotypen: 45 Patienten (23,1 %) waren Met/Met (LL)-homozygot, 109 (55,9 %) Val/Met (HL)-heterozygot und 41 (21,0 %) Val/Val (HH)-homozygot. Das Verteilungsmuster der COMT Genotypen entsprach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ($p = 0,098$).

COMT LL-, HL- und HH-Träger waren vergleichbar mit Hinblick auf demographische Charakteristika, Komorbiditäten und Medikation (**Tabelle 1**). Zwischen COMT LL-, HL- und HH-Trägern bestand kein signifikanter Unterschied bezüglich Dauer der Operation, intraoperativen hämodynamischen Bedingungen und Interventionen. Postoperative Interventionen, wie die Verabreichung von Infusionen, Vasopressoren und inotropen Substanzen, und das postoperativ gemessene Harnvolumen waren in allen drei COMT Genotypen vergleichbar (**Tabelle 2**). Die COMT Genotypenverteilung von Patienten mit akuter Nierenschädigung, die in der dieser Arbeit zugrundeliegenden multizentrischen Studie Natrium-Bikarbonatinfusion erhielten, war vergleichbar mit der von Patienten, die Natrium-Chloridinfusion erhielten ($p = 0,891$, **Tabelle 2**). Postoperative Ereignisse werden entsprechend der COMT Genotypen in **Tabelle 3** dargestellt.

Abbildung 3 Flussdiagramm der Studienkohorte



Tabelle 1 Patientencharakteristika gemäß COMT Genotypen (n=195)

Variable	COMT LL n=45 (23,1 %)	COMT HL n=109 (55,9 %)	COMT HH n=41 (21,0 %)	p
Alter, Jahre	69 (54,5-73)	68 (61-75)	70 (62,5-76)	0,425
Geschlecht, weiblich, n (%)	9 (20)	32 (29,4)	14 (34,1)	0,319
Body mass index, kg/m ²	26,5 (24,4-29,2)	26,5 (23,7-29,4)	27 (24,0-29,9)	0,925
Insulin-abhängiger Diabetes mellitus, n (%)	1 (2,2)	6 (5,5)	2 (4,9)	0,674
Nicht-Insulin-abhängiger Diabetes mellitus, n (%)	9 (20)	22 (20,2)	6 (14,6)	0,727
Arterielle Hypertonie, n (%)	34 (75,6)	80 (73,4)	34 (82,9)	0,476
Hypercholesterinämie, n (%)	29 (64,4)	68 (62,4)	30 (73,2)	0,463
Chronische obstruktive Lungenerkrankung, n (%)	6 (13,3)	22 (20,2)	3 (7,3)	0,137
Raucher, n (%)	9 (20)	17 (15,6)	5 (12,2)	0,608
Präoperatives Serum-Kreatinin, µmol/L	88,4 (78,7-106,1)	88,4 (77,4-114,9)	86,6 (76,9-102,5)	0,555
Geschätzte GFR, ml/min/1,73 m ² (CKD-EPI)	77,9 (56,9-87,9)	69,2 (51,4-85,9)	69,7 (57,4-83,6)	0,295
Periphere Gefäßerkrankung, n (%)	10 (22,2)	32 (29,4)	10 (24,4)	0,617
Erkrankung der Karotiden, n (%)	3 (6,7)	12 (11)	2 (4,9)	0,424
Vorhofflimmern, n (%)	16 (35,5)	31 (28,5)	11 (26,9)	0,888
Linksventrikuläre Dysfunktion, n (%) ^a	20 (22,2)	24 (22)	5 (12,2)	0,372
Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, %	50 (40-60)	55 (40-60)	55 (40-60)	0,862

<i>Präoperative Medikation</i>				
ACE-Hemmer/AT-II Antagonist, n (%)	24 (53,3)	60 (55)	27 (65,9)	0,422
Betablocker, n (%)	30 (66,7)	82 (75,2)	32 (78,0)	0,431
Calciumkanalblocker, n (%)	17 (37,8)	31 (28,4)	11 (26,8)	0,448
HMG-CoA Reduktase Hemmer, n (%)	27 (60)	58 (53,2)	28 (68,3)	0,237
Diuretika, n (%)	31 (68,9)	64 (58,7)	30 (73,2)	0,193

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) oder die Frequenz (%) an. BMI, body-mass-index; ACE, angiotensin-converting enzyme; AT-II, Angiotensin-II; HMG-CoA, 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA;

^alinksventrikuläre Ejektionsfraktion <35 %

Tabelle 2 Intra- und postoperative Patientencharakteristika gemäß COMT Genotypen (n=195)

Variable	COMT LL n=45 (23,1 %)	COMT HL n=109 (55,9 %)	COMT HH n=41 (21,0 %)	p
<i>Art der Operation</i>				
Koronarbypass, n (%)	8 (17,8)	19 (17,4)	9 (22)	0,810
Herzklappen-Operation, n (%)	19 (42,2)	52 (47,4)	17 (41,5)	0,911
Koronarbypass und Herzklappen-Operation, n (%)	11 (24,4)	32 (29,3)	10 (24,4)	0,744
Operation der thorakalen Aorta, n (%)	5 (11,1)	6 (5,5)	5 (12,2)	0,792
Ventrikuläres Unterstützungssystem (VAD), n (%)	2 (4,4)	0 (0)	0 (0)	0,092
Wiederholungseingriff, n (%)	14 (31,1)	25 (22,9)	11 (26,8)	0,561
Dauer der Herz-Lungenmaschine, min	129 (101-161)	119 (87-148)	121 (98-169)	0,191
<i>Intraoperatives Flüssigkeitsmanagement</i>				
Flüssigkeitszufuhr, ml	1914 (789-2864)	2114 (1139-3289)	2264 (1264-3864)	0,282
Urinausscheidung, ml	1350 (990-2190)	1475 (1040-1950)	1450 (1085-1940)	0,950
Blutkonserven, ml	0 (0-500)	250 (0-500)	0 (0-625)	0,949
Flüssigkeitsverlust über Drainagen, ml	150 (75-250)	100 (50-215)	100 (0-200)	0,192
Flüssigkeitsbilanz, ml	224 (-346-742)	714 (-211-1529)	814 (-166-1704)	0,082
Natrium-Bikarbonat als Studienmedikation, n (%)	23 (51)	52 (47,7)	21 (51,2)	0,891
Furosemid, mg	0 (0-10)	0 (0-20)	0 (0-0)	0,475
Mittlerer arterieller Druck während der HLM, mmHg	36 (30,5-40,5)	34 (30-40,5)	34 (25-38)	0,254

<i>Postoperatives Flüssigkeitsmanagement (0-24 h)</i>				
Flüssigkeitszufuhr, ml	8362 (6807-9634)	7696 (6187-9496)	8512 (6006-10302)	0,613
Ausscheidung über den Urin, ml	5430 (4288-6242)	5080 (4145-6350)	5345 (4610-5919)	0,730
Blutkonserven, ml	500 (0-525)	500 (0-750)	250 (0-875)	0,955
Flüssigkeitsverlust über Drainagen, ml	675 (402-900)	500 (352-770)	500 (350-650)	0,108
Flüssigkeitsbilanz, ml	2868 (2019-3868)	2608 (1520-4013)	2786 (793-4825)	0,811
Furosemid, mg	20 (0-50)	20 (10-40)	20 (0-45)	0,651
Mittlerer arterieller Druck, mmHg	62 (55,5-67,5)	61 (54,5-66)	60 (53,5-67,5)	0,635
Zentraler Venendruck, cmH ₂ O	8 (6-9)	7 (6-9)	7 (6-9,5)	0,752
<i>Medikation bis 2 Tage postoperativ</i>				
Inotrope Substanzen, n (%)	33 (73,3)	75 (68,8)	26 (63,4)	0,612
Vasopressoren, n (%)	34 (75,6)	76 (69,7)	32 (78,0)	0,589
Diuretika, n (%)	33 (73,3)	88 (80,7)	29 (70,7)	0,349

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) oder die Frequenz (%) an.

Tabelle 3 Postoperative Ereignisse gemäß COMT Genotypen (n=195)

Variable	COMT LL	COMT HL	COMT HH	p
	n=45 (23,1 %)	n=109 (55,9 %)	n=41 (21,0 %)	
Krankenhausletalität, n (%)	3 (6,7)	4 (3,7)	5 (12,2)	0,151
Dauer des ITS-Aufenthalts, Stunden	29,0 (23,0-103,5)	28,0 (23,0-96,5)	26,0 (22,0-104,0)	0,543
Dauer des Krankenhausaufenthalts, Tage	24,0 (20,5-40,5)	22,0 (19,0-30,5)	22,0 (18,5-26,0)	0,291

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) oder die Frequenz (%) an.

36 Patienten erhielten einen Koronarbypass und 88 Patienten eine Operation an den Herzklappen (Rekonstruktion oder Ersatz). 53 Patienten unterzogen sich einer kombinierten Operation an den Herzklappen und den Koronararterien. Die Anzahl der Koronararterien-Bypässe lag zwischen 1 und 4. Zwei Patienten erhielten ein ventrikuläres Unterstützungssystem (VAD, ventricular assist device). Bei 16 Patienten erfolgte eine Operation an der thorakalen Aorta mit Ersatz der Aortenklappe.

3.1.1 Demographische Daten, akute renale Endpunkte und Nierenfunktion im Langzeitverlauf

Die Patientenpopulation bestand aus 55 weiblichen (28,2 %) und 140 männlichen (71,8 %) Patienten. Das mittlere Alter der Patienten lag bei 66 Jahren. Die mittlere präoperative GFR lag bei 70,3 ml/min/1,73m².

Von 195 Patienten entwickelten 22 Patienten (11,3 %) eine akute Nierenschädigung definiert nach den RIFLE-Kriterien und 13 von 193 Patienten (6,7 %) benötigten die Einleitung einer postoperativen akuten Nierenersatztherapie.

Bei 146 der 195 Patienten konnte eine Langzeitnachbeobachtung durchgeführt werden. Die mediane Nachbeobachtungsdauer lag bei 5,6 Jahren. 51 Patienten (34,9 %) verstarben bis zum Zeitpunkt der Nachbeobachtung - 12 Patienten (6,2 %) im Krankenhaus, drei Patienten (7,7 %) bis Tag 90 nach der Operation und 36 Patienten (18,5 %) im weiteren Nachbeobachtungszeitraum. Mit 49 Patienten (25,1 %) konnte kein Kontakt aufgenommen werden. Insgesamt konnte von 105 Patienten mindestens ein Serum-Kreatinin-Wert nach Entlassung aus dem Krankenhaus nach stattgehabtem kardiochirurgischem Eingriff erhoben werden. Bei 42 der in der Langzeitnachbeobachtung erfassten 105 Patienten (40,0 %) verschlechterte sich das Stadium der Nierenfunktion gemäß KDIGO, wobei 24 Patienten (22,9 %) eine neue (de-novo) chronische Niereninsuffizienz entwickelten.

3.2 Darstellung der Ergebnisse entsprechend der Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

22 der 195 Patienten (11,3 %) entwickelten eine akute Nierenschädigung. 13 Patienten befanden sich im Stadium 1 (RIFLE-R), fünf im Stadium 2 (RIFLE-I) und vier im Stadium 3 (RIFLE-F). Der mediane Serum-Kreatinin-Anstieg ausgehend vom präoperativen Wert bis zum maximalen Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ lag bei Patienten mit einer akuten Nierenschädigung bei 92,0 µmol/L.

Patienten ohne akute Nierenschädigung zeigten einen medianen Serum-Kreatinin-Anstieg von 8,8 µmol/L ($p = <0,0001$) (**Tabelle 4**). 13 von 193 Patienten (6,7 %) benötigten eine akute Nierenersatztherapie.

Tabelle 4 Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration (µmol/L) gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum maximalen Kreatinin-Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ

Alle Patienten	Patienten mit AKI	Patienten ohne AKI	P
(n=195)	(n=22)	(n=173)	
11,5 (0-26,5)	92,0 (69,2-109,6)	8,8 (0,0-21,2)	<0,0001

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

Im Langzeitverlauf lag der Anteil der Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz bei 48 (45,7 %). 42 Patienten befanden sich im KDIGO Stadium III und 6 Patienten im KDIGO Stadium IV. Der mediane Serum-Kreatinin-Anstieg ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Serum-Kreatinin-Wert im Langzeitverlauf lag bei den Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz bei 28,4 µmol/L. Patienten ohne chronische Niereninsuffizienz zeigten einen medianen Serum-Kreatinin-Anstieg von 0,9 µmol/L ($p = <0,0001$) (**Tabelle 5**).

Tabelle 5 Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration (µmol/L) gemäß Status einer chronischen Niereninsuffizienz ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum Kreatinin-Wert der postoperativen Nachbeobachtungsdauer (Median: 5,6 Jahre)

Alle Patienten	Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz	Patienten ohne chronische Niereninsuffizienz	P
(n=105)	(n=48)	(n=57)	
9,0 (-3,9-27,6)	28,4 (9,0-49,2)	0,9 (-7,0-14,3)	<0,0001

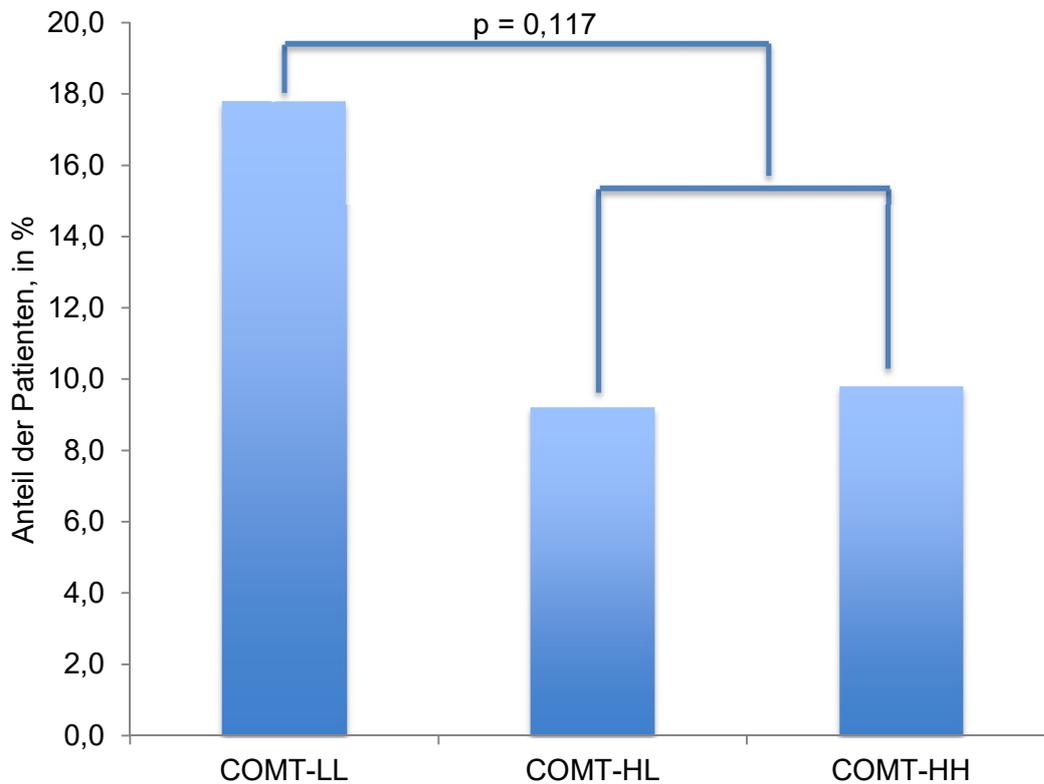
Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

3.2.1 Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und akute renale Endpunkte

3.2.1.1 Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und akute Nierenschädigung

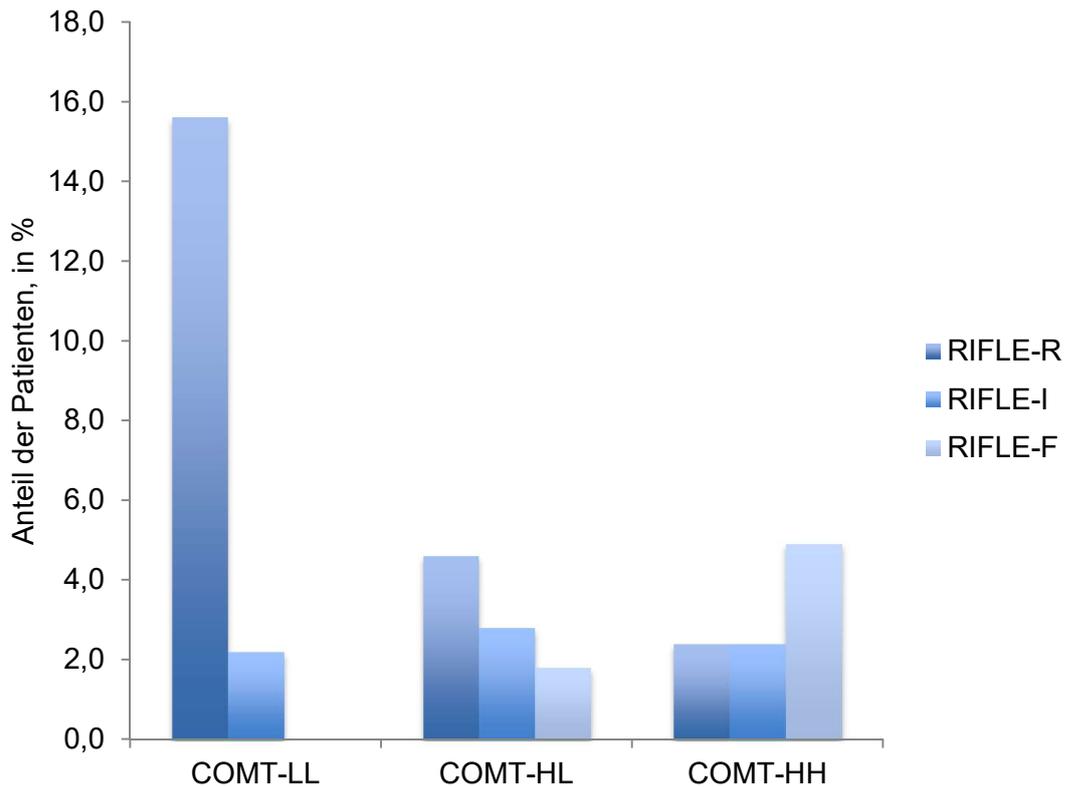
COMT LL-Träger (8/45 [17,8 %]) entwickelten nicht-signifikant häufiger eine akute Nierenschädigung als HL- (10/109 [9,2 %]) und HH-Träger (4/41 [9,8 %]) (2-Gruppenvergleich: $p = 0,117$) (**Abbildung 4**).

Abbildung 4 Inzidenz der AKI gemäß COMT Genotypen (n=195)



Bei Berücksichtigung des Schweregrads der akuten Nierenschädigung zeigten COMT LL-Träger einen geringeren Funktionsverlust der Nierenfunktion als die HL- und HH-Träger. COMT LL-Träger (7/45 [15,6 %]) entwickelten häufiger eine akute Nierenschädigung im RIFLE-R-Stadium als HL- (5/109 [4,6 %]) und HH-Träger (1/41 [2,4 %]) (3-Gruppenvergleich: $p = 0,080$) (**Abbildung 5**).

Abbildung 5 Schweregrad der AKI gemäß COMT Genotypen (n=195)



Dementsprechend zeigten COMT LL-Träger ausgehend vom präoperativen Serum-Kreatinin-Wert bis zum maximalen Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ einen geringeren Serum-Kreatinin-Anstieg als HL- und HH- Träger (3-Gruppenvergleich: $p = 0,187$) (**Abbildung 6, Tabelle 6**).

Abbildung 6 Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration ($\mu\text{mol/L}$) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum maximalen Kreatinin-Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ

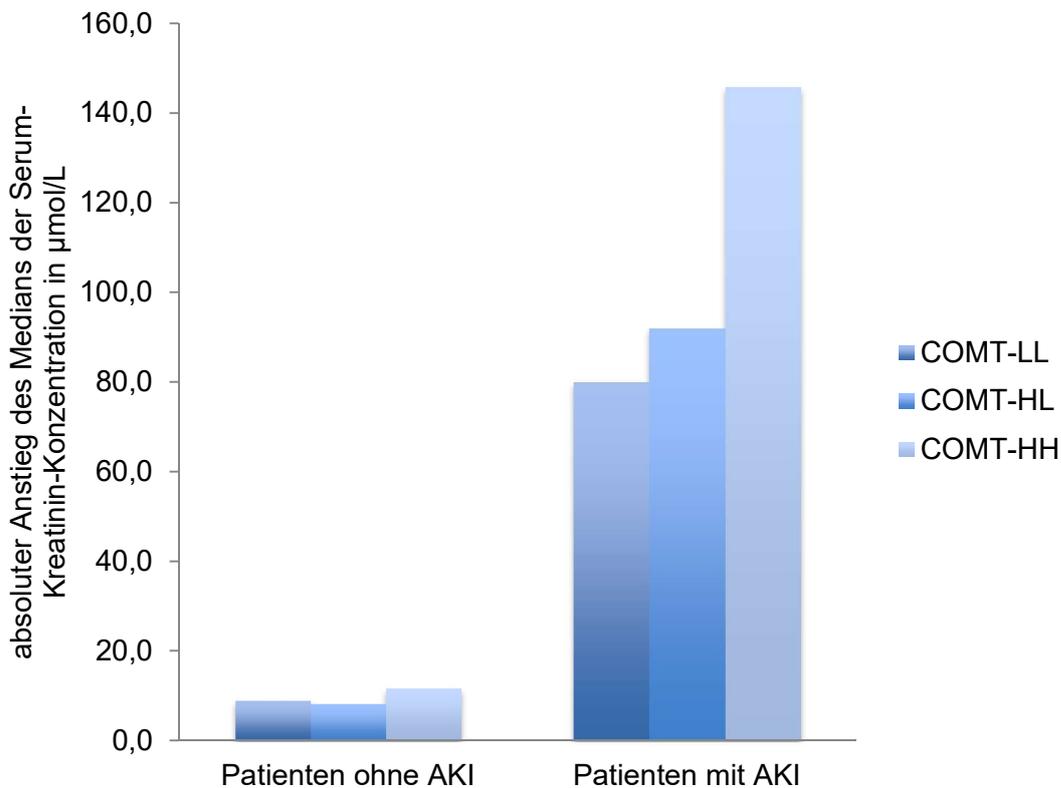


Tabelle 6 Anstieg der Serum-Kreatinin-Konzentration ($\mu\text{mol/L}$) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Kreatinin-Wert bis zum maximalen Kreatinin-Wert innerhalb der ersten sieben Tage postoperativ

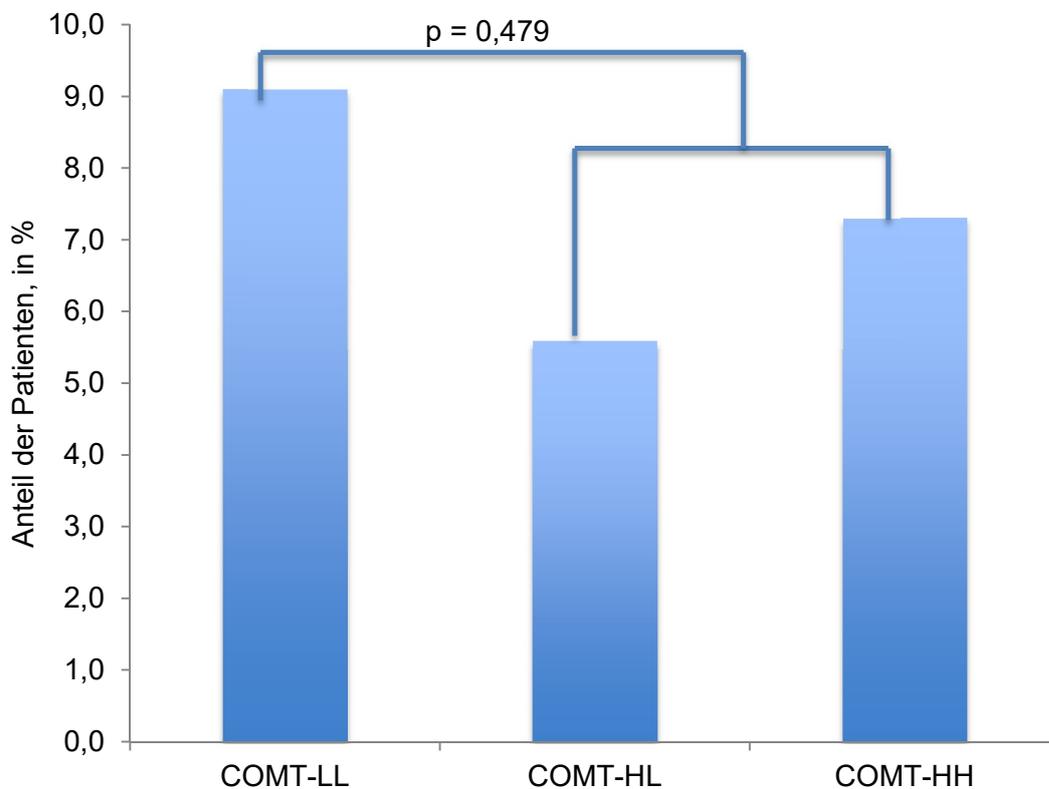
	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit AKI	(n=8)	(n=10)	(n=4)	
	80,0 (55,9-105,2)	92,0 (69,1-122,8)	145,9 (80,0-205,0)	0,187
Patienten ohne AKI	(n=37)	(n=99)	(n=37)	
	8,8 (0-17,7)	8,0 (-0,9-21,2)	11,5 (3,5-23,4)	0,451

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

3.2.1.2 Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie

Bei der Betrachtung der Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie zeigte sich, dass COMT LL- Träger (4/44 [9,1 %]) nicht-signifikant häufiger eine Nierenersatztherapie benötigten als HL- (6/108 [5,6 %]) und HH-Träger (3/41 [7,3 %]) (2-Gruppenvergleich: $p = 0,479$) (**Abbildung 7**).

Abbildung 7 Inzidenz der Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie gemäß COMT Genotypen (n=193)



3.2.2 Neue Urinmarker und akute renale Endpunkte

3.2.2.1 Neue Urinmarker und akute Nierenschädigung

Die Ausgangswerte von NGAL und Midkine waren bei allen Patienten mit und ohne akute Nierenschädigung gleich. NGAL- und Midkine-Konzentrationen zeigten bei den Patienten mit einer akuten Nierenschädigung sechs Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an den Blutkreislauf ihren Höchstwert, während die NGAL- und Midkine-Werte bei Patienten ohne akute Nierenschädigung im Vergleich zum Ausgangswert nahezu unverändert blieben (**Abbildung 8, Tabelle 7 und 8**).

Abbildung 8 Perioperativer Verlauf der NGAL- und Midkine-Konzentrationen im Urin gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI)

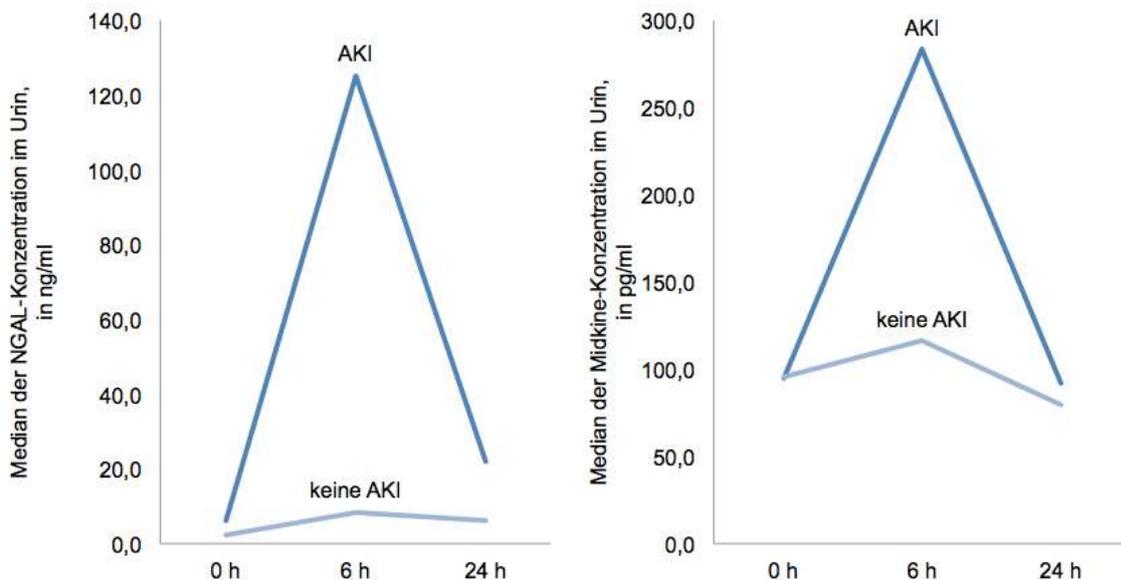


Tabelle 7 NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6 und 24 h nach Anschluss der HLM

	Patienten mit AKI	Patienten ohne AKI	P
6h	125,3 (13,3-405,2)	8,4 (2,1-40,3)	< 0,001
24h	21,9 (8,8-65,6)	6 (0-14,1)	< 0,001

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

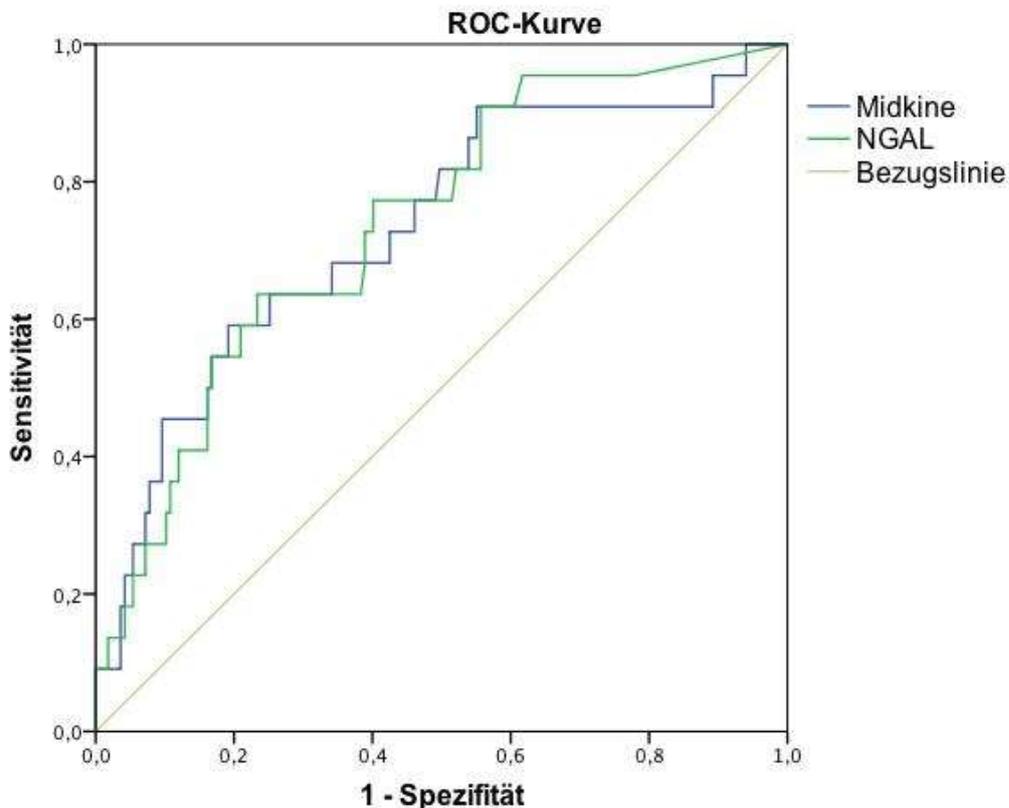
Tabelle 8 Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6 und 24h nach Anschluss der HLM

	Patienten mit AKI	Patienten ohne AKI	P
6h	283,2 (127,1-1690,2)	116,2 (81,3-232,1)	< 0,001
24h	92 (37,3-259,1)	79,6 (52,9-123,0)	0,526

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

Die Wertigkeit von NGAL und Midkine in Bezug auf ihre Vorhersagekraft zum Vorliegen einer akuten Nierenschädigung zum Zeitpunkt von sechs Stunden postoperativ wurde anhand von ROC-Kurven sichtbar gemacht (**Abbildung 9**). Ein AUC-ROC Wert von 0,90-1,0 zeigte einen exzellenten, von 0,80-0,89 einen guten, von 0,70-0,79 einen ausreichenden, von 0,60-0,69 einen schwachen und von 0,50-0,59 einen ungenügenden Nutzen des Biomarkers an (78). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ergaben sich für NGAL und Midkine eine AUC von 0,73.

Abbildung 9 Vorhersagewert der Biomarker für die Entwicklung einer AKI zum Zeitpunkt 6h nach Anschluss der HLM



AUC (95% KI): NGAL: 0,738 (0,63-0,85), p = <0,001; Midkine: 0,731 (0,61-0,85), p = <0,001

3.2.2.2 Neue Urinmarker und Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie

Die Ausgangswerte von NGAL und Midkine waren bei allen Patienten mit und ohne Nierenersatztherapie gleich. NGAL- und Midkine-Konzentrationen erreichten bei den Patienten, die eine Nierenersatztherapie benötigten,wer sechs Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an den Blutkreislauf ihren Höchstwert. Bei Patienten ohne den Bedarf einer akuten Nierenersatztherapie blieben die NGAL- und Midkine-Werte im Vergleich zum Ausgangswert nahezu unverändert (**Abbildung 10, Tabelle 9 und 10**).

Abbildung 10 Perioperativer Verlauf der NGAL- und Midkine-Konzentrationen im Urin gemäß Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)

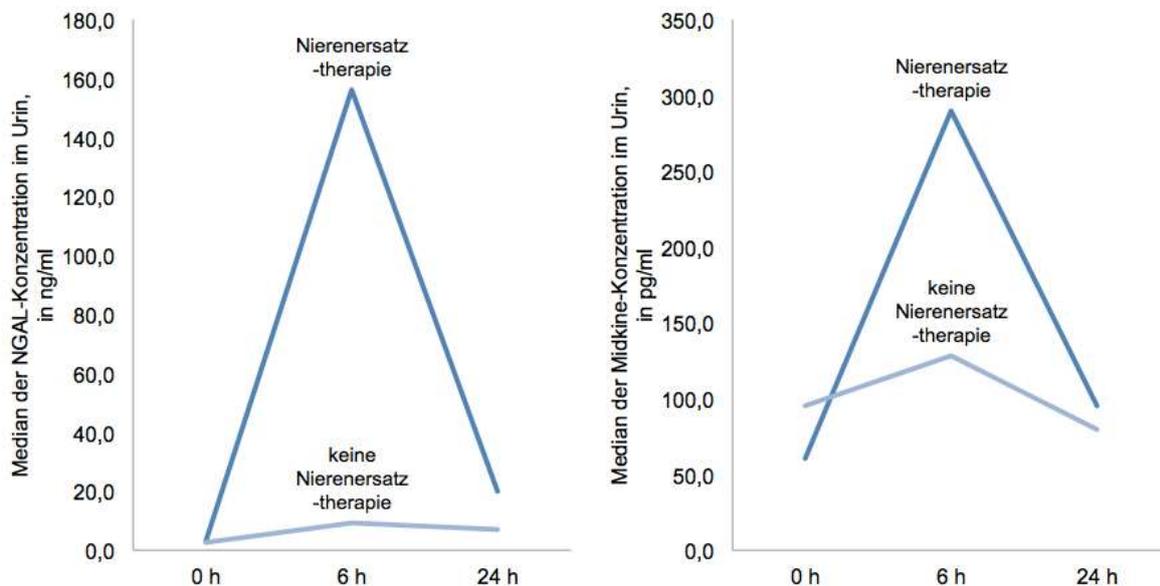


Tabelle 9 NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6 und 24h nach Anschluss der HLM

	Patienten mit Nierenersatztherapie	Patienten ohne Nierenersatztherapie	P
6h	156,2 (26,8-708,3)	9,2 (2,3-40,3)	0,002
24h	19,8 (5,8-77,8)	7,0 (0-15,7)	0,006

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

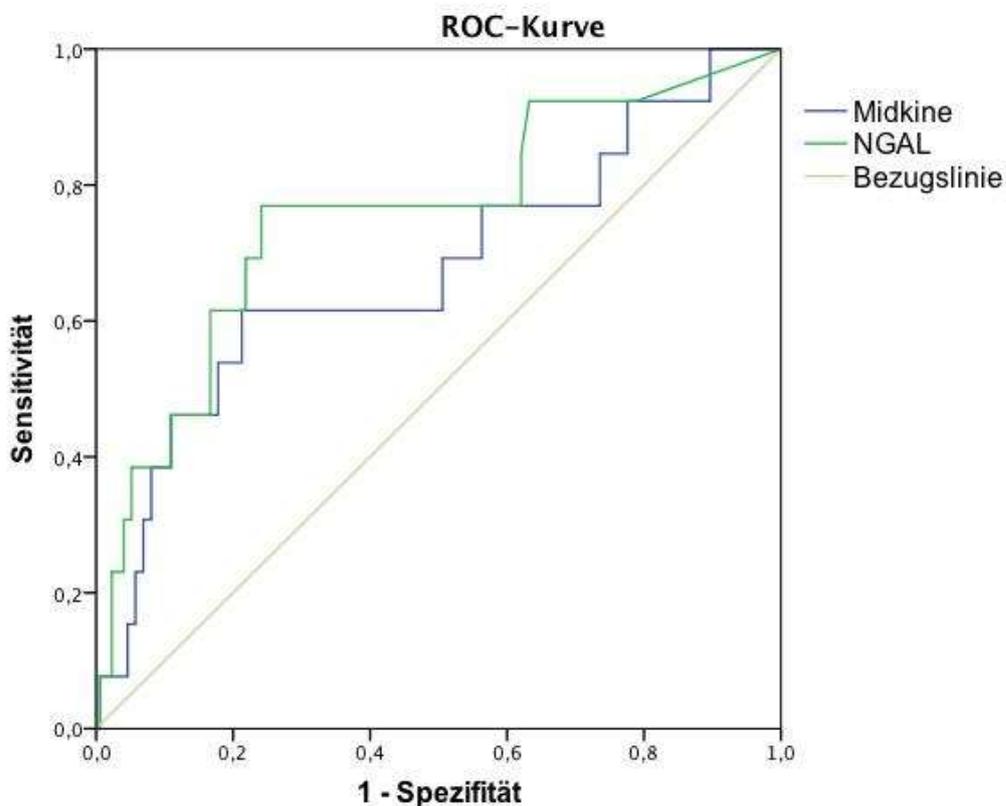
Tabelle 10 Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6 und 24h nach Anschluss der HLM

	Patienten mit Nierenersatztherapie	Patienten ohne Nierenersatztherapie	P
6h	289,8 (98,3-1708,8)	128,5 (83,0-234,3)	0,036
24h	95,4 (44,3-288,0)	79,3 (51,5-125,5)	0,356

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

Die Wertigkeit von NGAL und Midkine, bezogen auf ihre Vorhersagekraft für den Bedarf einer Nierenersatztherapie zum Zeitpunkt sechs Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an den Blutkreislauf, wurde in ROC-Kurven sichtbar gemacht (**Abbildung 11**). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ergab sich für NGAL eine AUC von 0,75 und für Midkine von 0,67.

Abbildung 11 Vorhersagewert der Biomarker für die Notwendigkeit einer akuten Nierenersatztherapie zum Zeitpunkt 6h nach Anschluss der HLM



AUC (95% KI): NGAL: 0,752 (0,60-0,90), p = 0,035; Midkine: 0,676 (0,50-0,85), p = 0,002

3.2.3 Neue Urinmarker und akute renale Endpunkte gemäß Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten

3.2.3.1 Neue Urinmarker und Status für akute Nierenschädigung gemäß Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten

Die Verläufe der Biomarkerkonzentrationen im Urin aufgeteilt nach COMT Genotypen und der Entwicklung einer akuten Nierenschädigung werden in der **Abbildung 12** und der **Abbildung 13** dargestellt.

Trotz einer fast doppelt so großen Inzidenz der akuten Nierenschädigung gemäß den RIFLE-Kriterien in COMT LL-Trägern im Vergleich zu HH-Trägern (**Abbildung 4**, Kapitel 3.2.1.1), war die mediane NGAL-Konzentration der LL-Träger mit einer akuten Nierenschädigung sechs Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an den Blutkreislauf zwölf Mal kleiner als die mediane Konzentration der HH-Träger mit einer akuten Nierenschädigung (2-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,089$) (**Abbildung 12** und **Tabelle 11**).

Abbildung 12 Perioperativer Verlauf der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI)

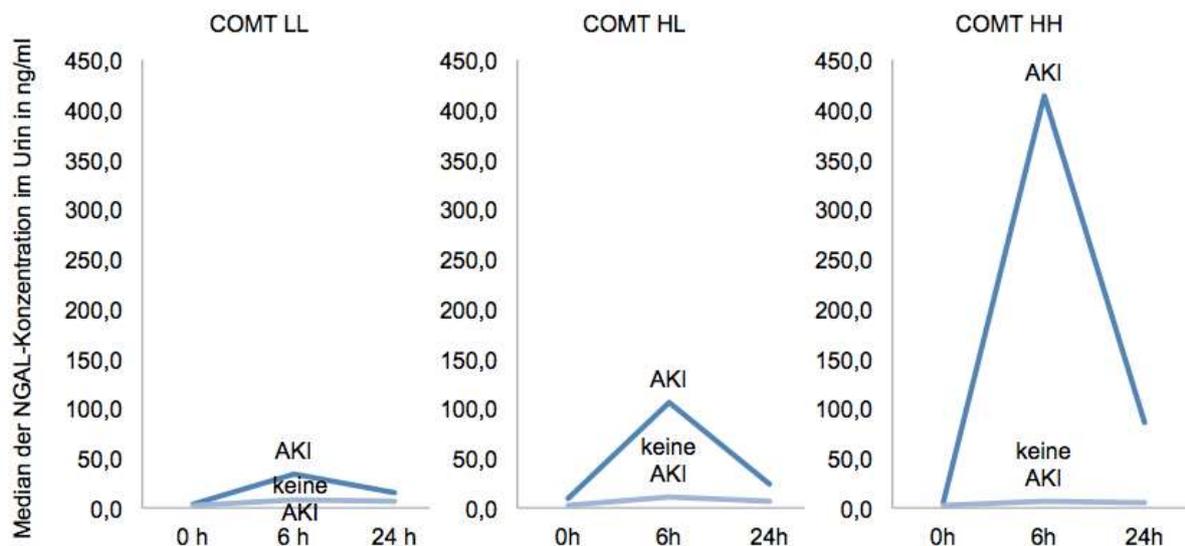


Tabelle 11 NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL (n=8)	COMT HL (n=10)	COMT HH (n=4)	P
Patienten mit AKI	33,6 (9,8-454,9)	105,7 (6,9-274,9)	414,0 (254,0-1151,3)	0,104
Patienten ohne AKI	7,5 (2,5-40,9)	10,7 (2,2-34,0)	6,7 (0,4-44,7)	0,963

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

Ähnlich verhielt sich auch die mediane Midkine-Konzentration. Sie war bei COMT LL-Trägern mit einer akuten Nierenschädigung neun Mal kleiner als die der HH-Träger mit einer akuten Nierenschädigung (2-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: p = 0,062) (**Abbildung 13** und **Tabelle 12**).

Abbildung 13 Perioperativer Verlauf der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI)

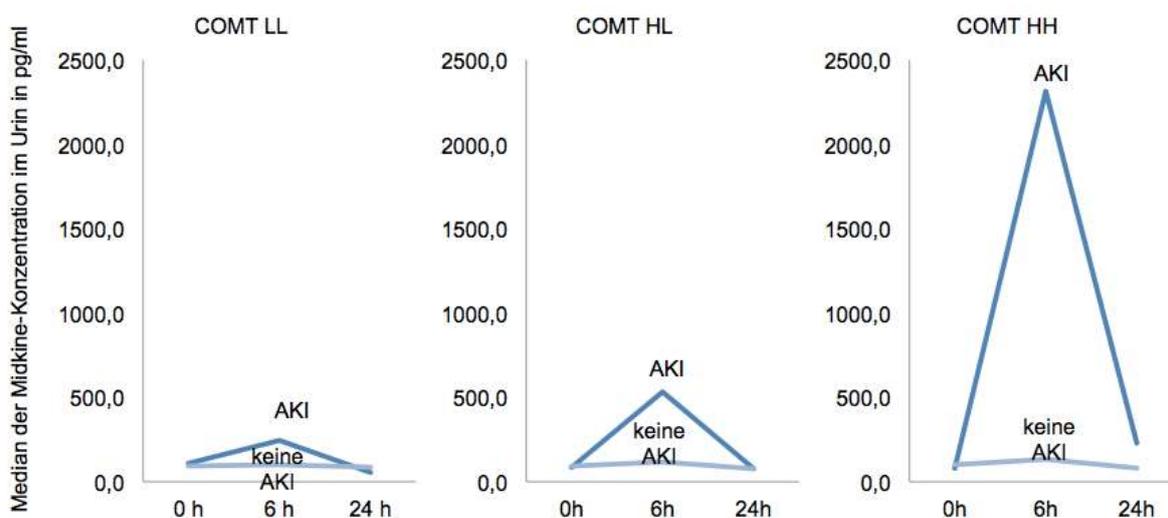


Tabelle 12 Midkine-Konzentration (pg/ml) gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL (n=8)	COMT HL (n=10)	COMT HH (n=4)	P
Patienten mit AKI	243,1 (121,0-286,5)	529,0 (111,0-2465,2)	2318,5 (508,5-4688,7)	0,128
Patienten ohne AKI	102,0 (77,2-232,6)	115,7 (84,8-225,9)	131,8 (75,5-233,5)	0,644

Zahlen zeigen den Median (25.-75. Perzentile) an.

Auch die relativen Anstiege der NGAL-Konzentrationen zeigen, dass diese bei den COMT LL-Trägern mit akuter Nierenschädigung signifikant geringer waren, als die der HL- und HH-Träger mit akuter Nierenschädigung (3-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,045$) (**Abbildung 14** und **Tabelle 13**).

Abbildung 14 Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM

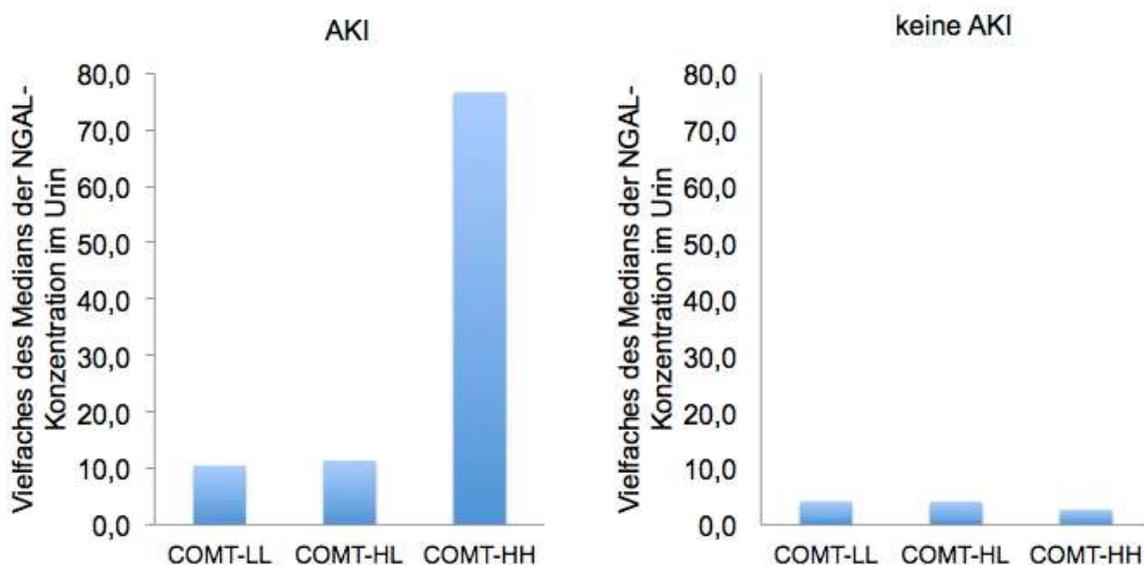


Tabelle 13 Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit AKI	(n=8)	(n=10)	(n=4)	
	10,5	11,3	77,4	0,045
Patienten ohne AKI	(n=37)	(n=99)	(n=37)	
	4,1	4,1	2,7	0,467

Zahlen zeigen das Vielfache des Medians an.

Für die Midkine-Konzentrationen zeigte sich ein ähnliches Muster hinsichtlich ihrer Verteilung entsprechend der COMT Genvarianten mit einem im Gegensatz zu NGAL nicht-signifikanten Gruppenunterschied (3-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,271$) (**Abbildung 15** und **Tabelle 14**).

Abbildung 15 Relative Anstiege der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM

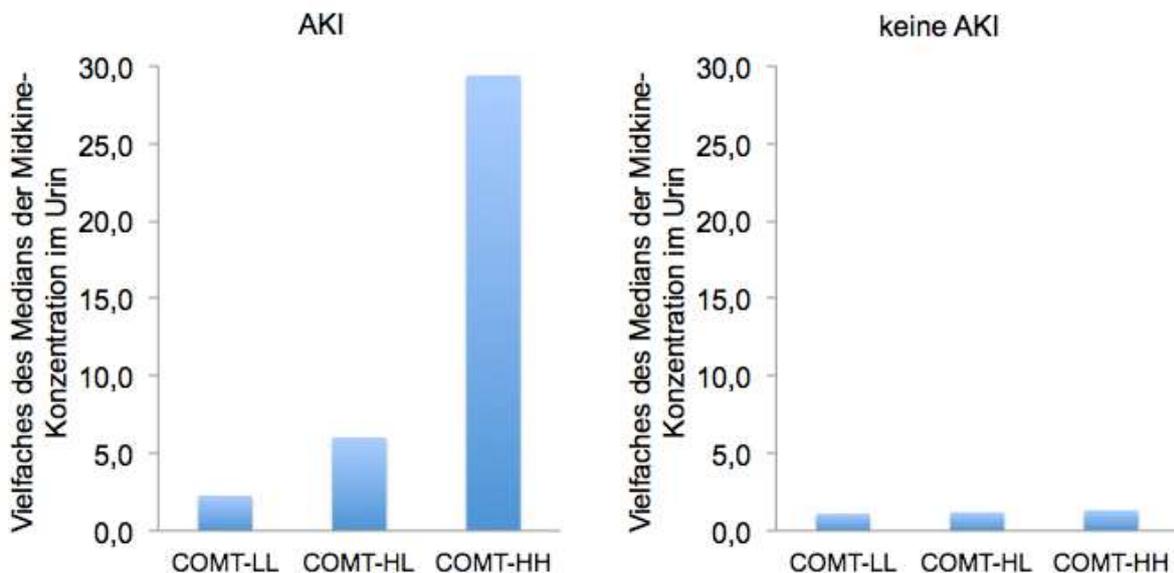


Tabelle 14 Relative Anstiege der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit AKI	(n=8)	(n=10)	(n=4)	
	0,2	6,0	29,4	0,271
Patienten ohne AKI	(n=37)	(n=99)	(n=37)	
	1,1	1,2	1,3	0,285

Zahlen zeigen das Vielfache des Medians an.

3.2.3.2 Neue Urinmarker und Status für akute Nierenersatztherapie gemäß Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten

Der Verlauf der Biomarkerkonzentrationen im Urin aufgeteilt nach COMT Genotypen und der Notwendigkeit für eine Nierenersatztherapie wird in **Abbildung 16** und **Abbildung 17** dargestellt.

Analog zum Endpunkt akute Nierenschädigung benötigten COMT LL-Träger zwar häufiger eine Nierenersatztherapie als HH-Träger. Die mediane NGAL-Konzentration von LL-Trägern mit einer Nierenersatztherapie war jedoch zum Zeitpunkt sechs Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an das Gefäßsystem ca. 1,5-fach geringer als die mediane NGAL-Konzentration von HH-Trägern mit akuter Nierenersatztherapie (2-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,724$) (**Abbildung 16** und **Tabelle 15**).

Abbildung 16 Perioperativer Verlauf der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)

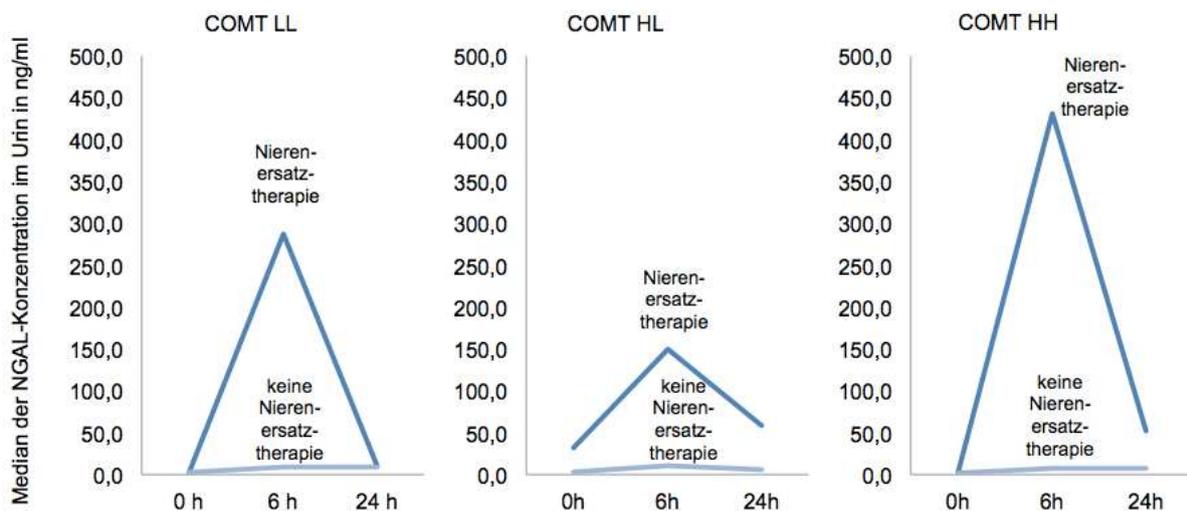


Tabelle 15 Median (25.-75. Perzentile) der NGAL-Konzentration (ng/ml) gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit Nierenersatztherapie	(n=4)	(n=6)	(n=3)	
	287,5 (4,5-805,2)	149,3 (47,6-541,6)	430,2 (49-430,2)	0,879
Patienten ohne Nierenersatztherapie	(n=40)	(n=102)	(n=38)	
	9,2 (2,6-41,4)	10,5 (2,4-30,8)	7,4 (0,5-107,1)	0,999

Zahlen zeigen den Median (25.-50./75. Perzentile) an.

Ähnlich verhielt es sich mit der medianen Midkine-Konzentration. Diese war bei LL-Trägern mit einer Nierenersatztherapie zum Zeitpunkt sechs Stunden nach Anschluss der Herz-Lungenmaschine an das Gefäßsystem 11-fach geringer als die von HH-Trägern mit einer Nierenersatztherapie (2-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,034$) (**Abbildung 17** und **Tabelle 16**).

Abbildung 17 Perioperativer Verlauf der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)

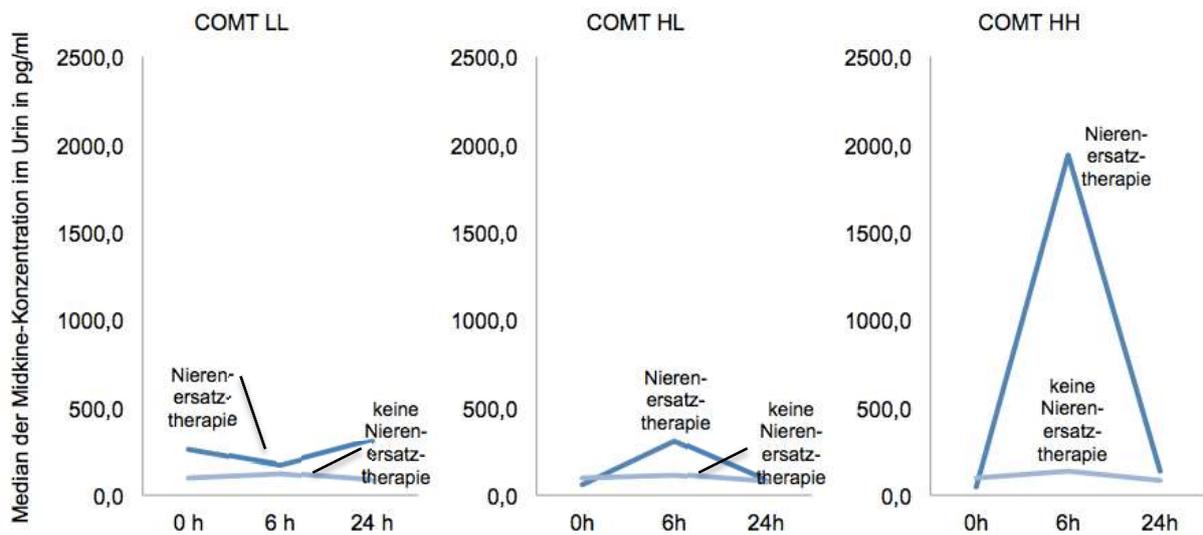


Tabelle 16 Median (25.-75. Perzentile) der Midkine-Konzentration (ng/ml) gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit Nierenersatztherapie	(n=4)	(n=6)	(n=3)	
	170 (60,8-280,9)	306,7 (103,1-1304,5)	1940,3 (1477,3-1940,3)	0,056
Patienten ohne Nierenersatztherapie	(n=40)	(n=102)	(n=38)	
	121,3 (83,1-237,1)	117 (90-237,3)	135,4 (76,5-233,3)	0,967

Zahlen zeigen den Median (25.-50./75. Perzentile) an.

Die relativen Anstiege der NGAL-Konzentrationen waren bei LL-Trägern mit der Notwendigkeit für eine akute postoperative Nierenersatztherapie kleiner als die von HH-Trägern mit Nierenersatztherapie. COMT LL-Träger zeigten einen höheren NGAL-Konzentrations-Anstieg als HL-Träger (3-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,158$) (**Abbildung 18** und **Tabelle 17**).

Abbildung 18 Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin vom präoperativen Ausgangswert auf den Wert 6h nach Anschluss der HLM gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)

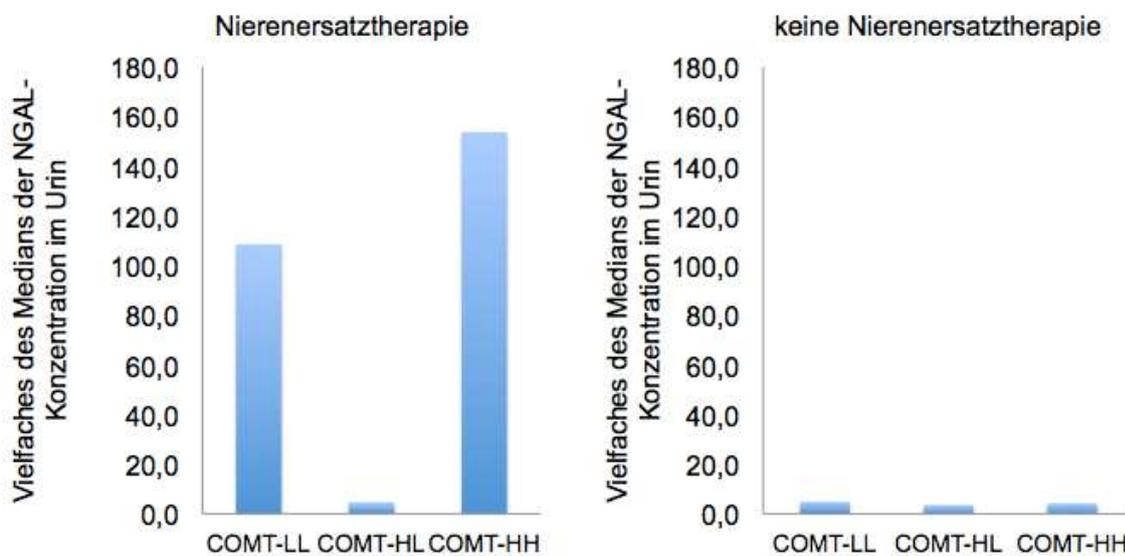


Tabelle 17 Relative Anstiege der NGAL-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit Nierenersatztherapie	(n=4)	(n=6)	(n=3)	
	108,5	4,7	153,6	0,158
Patienten ohne Nierenersatztherapie	(n=40)	(n=102)	(n=38)	
	4,8	3,5	4,2	0,854

Zahlen zeigen das Vielfache des Medians an.

Die relativen Anstiege der Midkine-Konzentration waren bei den LL-Trägern mit einer Nierenersatztherapie am geringsten gefolgt von den HL- und HH-Trägern mit einer Nierenersatztherapie (3-Gruppenvergleich: nach 6 Stunden: $p = 0,063$) (**Abbildung 19** und **Tabelle 18**).

Abbildung 19 Relative Anstiege der Midkine-Konzentrationen im Urin vom präoperativen Ausgangswert auf den Wert 6h nach Anschluss der HLM gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie)

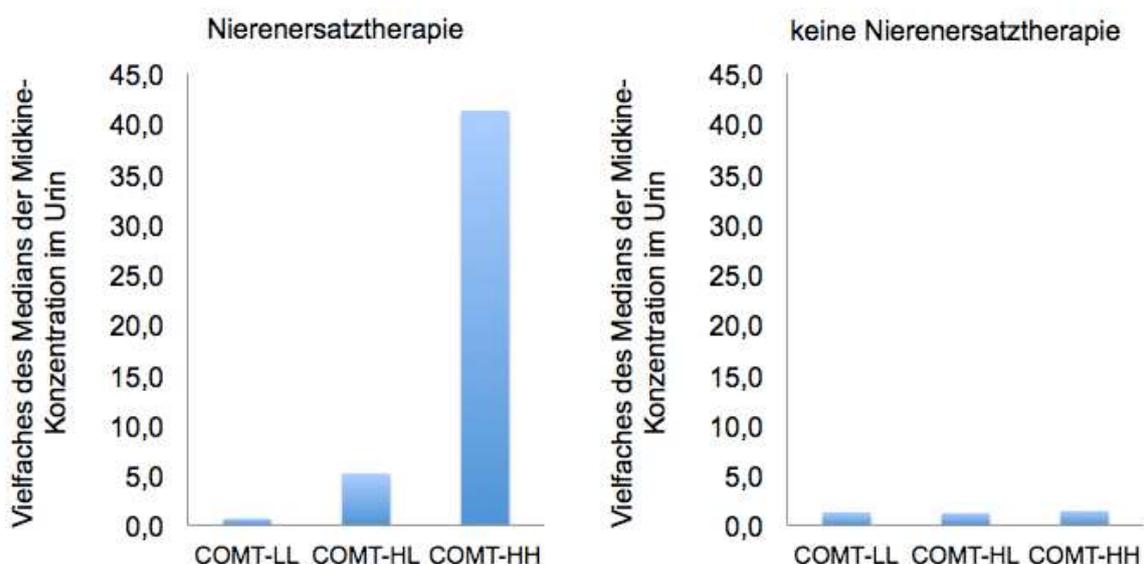


Tabelle 18 Relative Anstiege der Midkine-Konzentration im Urin gemäß COMT Genotypen und Status für eine akute Nierenersatztherapie (Nierenersatztherapie vs. keine Nierenersatztherapie) ausgehend vom präoperativen Wert bis zum Wert 6h nach Anschluss der HLM

	COMT LL	COMT HL	COMT HH	P
Patienten mit Nierenersatztherapie	(n=4)	(n=6)	(n=3)	
	0,7	5,2	41,3	0,063
Patienten ohne Nierenersatztherapie	(n=40)	(n=102)	(n=38)	
	1,3	1,2	1,4	0,162

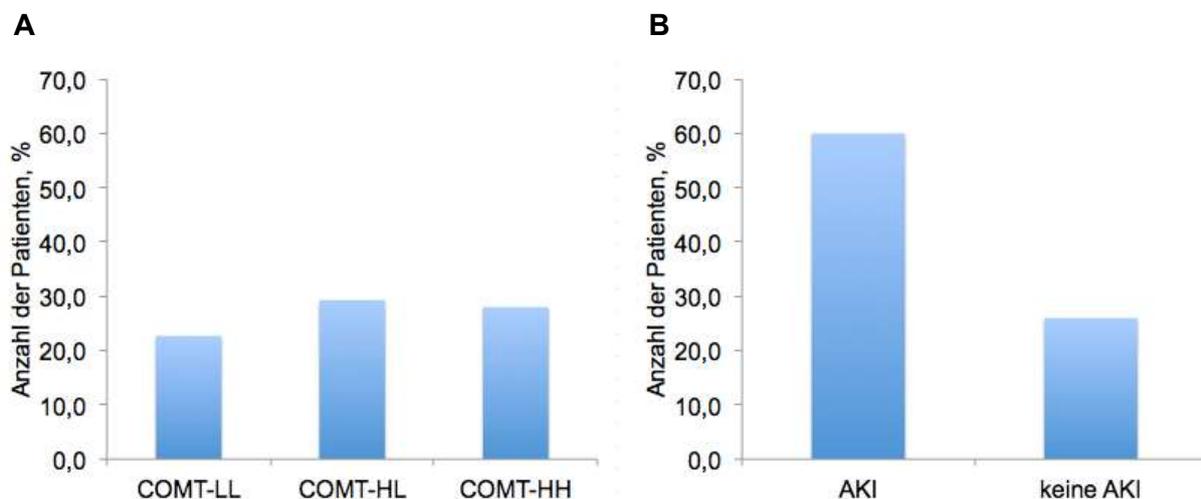
Zahlen zeigen das Vielfache des Medians an.

3.2.4 Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und Nierenfunktion im Langzeitverlauf

Im Langzeitverlauf wurde kein Patient bzw. keine Patientin auf das Vorliegen einer Proteinurie untersucht, so dass das Vorliegen oder Nicht-Vorliegen einer prä- oder postoperativen chronischen Niereninsuffizienz anhand des Kreatininverlaufs bewertet wurde.

Bei 29 der 105 Patienten (27,6 %) lag präoperativ eine chronische Niereninsuffizienz vor, wobei der Anteil an Patienten mit einer vorbestehenden chronischen Niereninsuffizienz über die COMT Genotypen (LL, HL, HH) gleichmäßig verteilt war (3-Gruppenvergleich: $p = 0,840$, **Abbildung 20**). Drei der fünf nachbeobachteten Patienten mit einer akuten Nierenschädigung wiesen präoperativ eine chronische Niereninsuffizienz auf (2-Gruppenvergleich: $p = 0,099$, **Abbildung 20**).

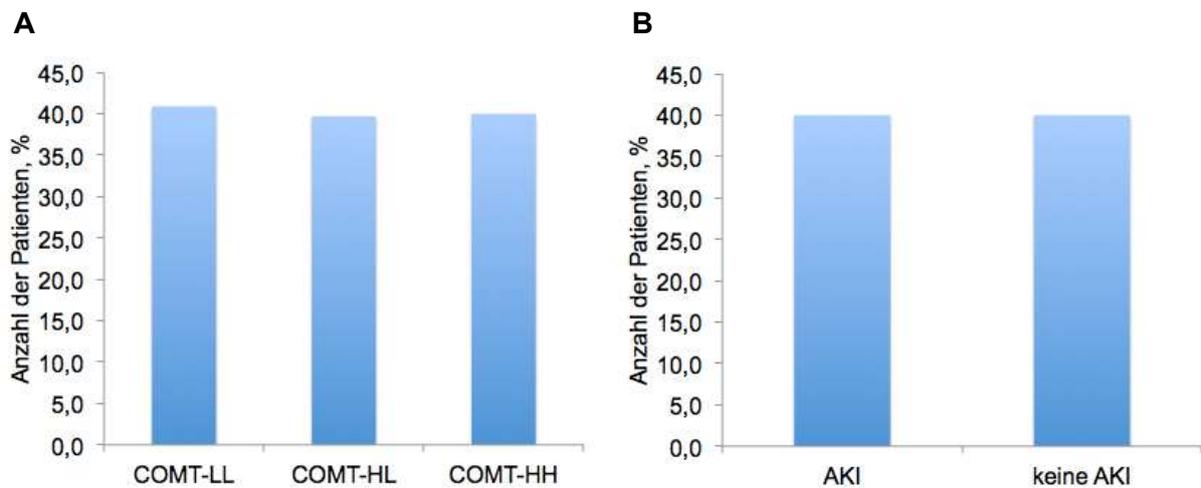
Abbildung 20 Präoperative Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz gemäß KDIGO aufgeteilt nach COMT Genotypen (Abbildung **A**) und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) (Abbildung **B**) (n=105)



Während des Nachbeobachtungszeitraumes lag der Anteil an Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz bei 45,7 % (48/105 Patienten) ohne signifikanten Unterschied bezüglich der COMT Genotypgruppen (3-Gruppenvergleich: $p = 0,977$). Bei insgesamt 40% der Patienten (42/105 Patienten) verschlechterte sich das Stadium der chronischen Niereninsuffizienz, wobei 24 Patienten (22,9 %) eine neue (de-novo) chronische Niereninsuffizienz entwickelten. Zwischen den drei COMT Genotypen zeigten sich keine signifikanten Gruppenunterschiede (3-Gruppenvergleich: $p = 0,995$, **Abbildung 21**). Patienten mit akuter Nierenschädigung

(2/5 Patienten) waren genauso häufig von der Verschlechterung oder Neuentwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz betroffen, wie Patienten ohne akute Nierenschädigung (40/100 Patienten) (2-Gruppenvergleich: $p = 1,000$, **Abbildung 21**).

Abbildung 21 Postoperative Inzidenz der neu entstandenen (de-novo) oder verschlechterten chronischen Niereninsuffizienz aufgeteilt nach COMT Genotypen (**Abbildung A**) und AKI-Status (AKI vs. keine AKI) (**Abbildung B**) (n=105)



4 DISKUSSION

Im vorliegenden, von einer Voruntersuchung (53) unabhängigen Patientenkollektiv, bestehend aus 195 Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine akute Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff, wurde zunächst der Zusammenhang zwischen dem COMT Genotypen und dem Risiko für eine postoperative akute Nierenschädigung bzw. akute Nierenersatztherapie überprüft. Zur näheren Charakterisierung der Nierenschädigung entsprechend des COMT Genotyps wurden die perioperativen Konzentrationen neuer Urinmarker (NGAL und Midkine) bestimmt und der Langzeitverlauf der Nierenfunktion nachbeobachtet.

Entsprechend einer früheren Untersuchung (53), bei der der COMT LL-Genotyp mit einem erhöhten Risiko für eine akute Nierenschädigung im Vergleich zu den HL- und HH-Genotypen assoziierte, wurde die Hypothese überprüft, ob COMT LL-Träger eine höhere Inzidenz für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung und einen höheren Anteil von Patienten mit einer postoperativen akuten Nierenersatztherapie sowie höhere Konzentrationen neuer Urinmarker aufweisen. COMT LL-Träger zeigten einen nicht-signifikant höheren Anteil von Patienten mit einer akuten Nierenschädigung und einer postoperativen akuten Nierenersatztherapie als HH-Träger. COMT LL Träger wiesen jedoch postoperativ geringere Konzentrationen neuer Urinmarker als Hinweis auf einen geringeren akuten renalen Schaden als HH- und HL-Träger auf (79).

Im Rahmen einer postoperativen Langzeitnachbeobachtung wurde COMT Genotypen-bezogen der Verlauf der Nierenfunktion bzw. die Inzidenz und der Schweregrad einer neu entstandenen (de-novo) oder verschlechterten (s. o. unter 3.2.4) chronischen Niereninsuffizienz untersucht. Die Hypothese der vorliegenden Arbeit war, dass COMT LL-Träger langfristig eine schlechtere Nierenfunktion aufweisen als HH- und HL-Träger. Dies war jedoch nicht nachweisbar. Patienten mit akuter Nierenschädigung entwickelten genauso häufig eine de-novo oder verschlechterte chronische Niereninsuffizienz wie Patienten ohne akute Nierenschädigung.

Präoperative Risikoabschätzung renaler Endpunkte nach kardiochirurgischen Eingriffen anhand der Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten

Einordnung der Befunde im Vergleich mit vorhergehenden Studien

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigte hohe Inzidenz, assoziierte Morbidität und Letalität der akuten Nierenschädigung verdeutlicht den dringenden Bedarf für eine zuverlässige und individuelle klinische Risikoabschätzung bei Patienten mit kardiochirurgischen Eingriffen, um eine frühzeitige und effektive Therapie dieser Komplikation zu gewährleisten (34).

Thakar et al. entwickelten und validierten anhand einer Kohorte von 31.677 Patienten einen klinischen Score (Cleveland Clinic Score), der die Inzidenz der nierenersatztherapiepflichtigen akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen präzise vorhersagen soll (45). Während monozentrisch eine hohe Treffsicherheit des Scores beschrieben wurde, zeigten nachfolgende Validierungsstudien einen eingeschränkten prädiktiven Wert (46).

Auf der Suche nach genetischen Risikofaktoren für eine akute Nierenschädigung nach kardiochirurgischem Eingriff unter Zuhilfenahme einer Herz-Lungenmaschine wurden bereits diverse Gene untersucht. Isbir et al. führten bei 248 kardiochirurgischen Patienten eine genomweite Analyse durch und untersuchten die detektieren Polymorphismen auf ihre Assoziation mit einer postoperativen akuten Nierenschädigung. Sie fanden heraus, dass Träger des APO E e4-Allels ein geringeres Risiko für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung aufwiesen als non-APO E e4-Träger (APO E e2- und e3-Träger) (54). Zu einer ähnlichen Schlussfolgerung kamen Chew et al. in ihrer Studie an einer vergleichbaren Patientengruppe (80). Auch Stafford-Smith et al. stießen in ihrer genomweiten Analyse auf zwei möglicherweise mit einer akuten Nierenschädigung assoziierte Genloki (chr3p21.6 und BBS9) (81). Auf der Suche nach zuverlässigen und individuellen Risikostratifizierungsmodellen wurde darüber hinaus ein Polymorphismus in der Promoterregion des TNF- α -Gens (Tumor-Nekrose-Faktor- α) auf eine Assoziation mit höheren postoperativen Serum-Kreatinin-Werten untersucht. Susantitaphong et al. fanden heraus, dass das TNF- α -Gen -380 G/A A-Allel für einen höheren postoperativen Serum-Kreatinin-Anstieg prädestinierte als das G-Allel (82). Weiterhin wurden gemäß des Pathomechanismus der akuten Nierenschädigung Vasomotorentonus-regulierende Gene untersucht, wie z.B. der ACE I/D-Polymorphismus. Das Angiotensin Converting Enzym (ACE) spielt eine

Schlüsselrolle im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und hat somit bedeutenden Einfluss auf den renalen Blutfluss. Insgesamt sechs Studien haben sich mit einem ACE I/D Polymorphismus befasst. Isbir et al. zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem ACE D-Allel und einem häufigeren postoperativen Auftreten einer akuten Nierenschädigung (54). Bei Cheyron et al. assoziierte das ACE I-Allel mit einem erhöhten Risiko der Entwicklung einer akuten Nierenschädigung (83). Die anderen vier Studien konnten keine signifikanten Zusammenhänge finden (84-87).

Haase et al. beschrieben einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem COMT LL-Genotypen, erhöhten Plasmakatecholaminspiegeln und dem gehäuftem Auftreten einer akuten Nierenschädigung und einem vasodilatatorischen Schock im Vergleich zu COMT HL- und HH-Genotyp-Trägern (53). In einer nachfolgenden Assoziationsstudie von Kornek et al. konnte der Einfluss des COMT Genotyps auf den kurzfristigen postoperativen Verlauf der Nierenfunktion nicht bestätigt werden, wobei weder Urinmarker noch perioperative Plasmakatecholaminlevel bestimmt wurden (88).

Interpretation und mögliche klinische Anwendbarkeit der Studienergebnisse

Die Befunde der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Evidenz für die präoperative Bestimmung des COMT Genotyps zur Abschätzung des individuellen Risikos für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung und den Bedarf einer Nierenersatztherapie nach einem kardiochirurgischen Eingriff nicht ausreichend ist. Dennoch zeigte sich erneut ein erhöhtes Risiko für LL-Träger, welches nach Pooling mit den Daten der Pilotstudie (53) das Signifikanzniveau erreichte. Diesem Befund sollte in weiteren Untersuchungen nachgegangen werden, bevor eine klinische Anwendbarkeit der präoperativen COMT-Genotypisierung zur Risikostratifizierung diskutiert werden kann.

Neue Urinmarker zur Vorhersage der akuten Nierenschädigung und der Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie

Einordnung der Befunde im Vergleich mit vorhergehenden Studien

Experimentelle Daten und Ergebnisse klinischer Studien, einschließlich der vorliegenden Arbeit, deuten darauf hin, dass NGAL ein geeigneter Biomarker für die Frühdiagnose und Prognose der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen

Eingriffen sein kann (63,67,69,89). In mehreren Studien zeigte NGAL eine akute Nierenschädigung mehrere Tage früher an als Kreatinin (9,62,90,91). Im Gegensatz dazu konnten andere Studien keinen oder nur einen reduzierten prädiktiven Wert von Urin-NGAL für eine akute Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen zeigen (51,92). Diesbezüglich veröffentlichte Untersuchungen, auch die hier vorliegende Arbeit, unterliegen der Einschränkung, als Goldstandard für die Diagnose der akuten Nierenschädigung Serum-Kreatinin und Diurese – mit all ihren Limitationen (s.o.) – verwendet zu haben. Selbst ein für die Diagnose der akuten Nierenschädigung optimaler Urinmarker kann diese Eigenschaft nicht als AUC-ROC von 1,0 (also optimal) abbilden, wenn Serum-Kreatinin als nicht optimaler Marker der akuten Nierenschädigung für die Diagnose der akuten Nierenschädigung herangezogen wird (93). Mehrere Arbeiten untersuchten daher den für die Risikoabschätzung additiven Effekt von Urinmarkern zusätzlich zu den etablierten Nierenfunktionsparametern (9, 94-96). Hier zeigte sich, dass Urinmarker-positive Patienten eine ähnlich schlechte Prognose (gemessen am Bedarf für eine akute Nierenersatztherapie und an der Krankenhausletalität) hatten wie Kreatininanstieg-positive Patienten bzw. dass Kreatininanstieg- und Urinmarker-negative Patienten die beste und Kreatininanstieg- und Urinmarker-positive Patienten die schlechteste Prognose aufwiesen (94). Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass weitere Einflussfaktoren, wie das Alter der Patienten und damit die Anzahl und der Schweregrad der Komorbiditäten, die zu einer Freisetzung von Urinmarkern auch aus nicht-renalen Organen führen können, den prädiktiven Wert von Biomarkern ebenfalls beeinflussen könnten.

Die Datenlage für Midkine als Frühmarker der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen ist begrenzt. Malyszko et al. testeten Midkine bei Patienten, die sich einer perkutanen Koronarintervention unterzogen und eine Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigung entwickelten (71). Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg von Midkine innerhalb der ersten zwei Stunden bei den Patienten, die im Verlauf eine akute Nierenschädigung entwickelten. Hayashi et al. beschrieben postoperative Midkine-Konzentrationen als einen geeigneten Biomarker zur Detektion einer akuten Nierenschädigung nach einem kardiochirurgischen Eingriff (60). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen Midkine nur bedingt als Marker zur Vorhersage der Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie im untersuchten Patientenkollektiv.

Interpretation und mögliche klinische Anwendbarkeit der Studienergebnisse

Die Befunde der vorliegenden Arbeit bestätigen in der Literatur vorliegende Befunde insofern, dass NGAL und Midkine bereits sechs Stunden nach einem kardiochirurgischen Eingriff als prädiktive Marker für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung und NGAL für die Notwendigkeit der Initiierung einer Nierenersatztherapie eingesetzt werden können (60,97). Der im vorliegenden Patientenkollektiv beobachtete früh postoperative Anstieg sowohl von NGAL als auch Midkine im Urin war in der vorliegenden Arbeit mit einer hinreichenden diagnostischen Sensitivität und Spezifität verbunden. Obwohl die Expression von NGAL und Midkine unter mehreren pathologischen (entzündlichen, toxischen, ischämischen etc.) Bedingungen erhöht sein kann, können erhöhte Urinmarker-Konzentrationen als Zeichen eines akuten Tubulusschadens gewertet werden. Experimente an NGAL- und Midkine-knockout Mausmodellen unterstützen diese Annahme (73,98).

Diese Ergebnisse sollten in weiterführenden Studien im Zusammenhang mit einer gleichzeitig mit der Urinmarkerbestimmung vorgenommenen ärztlichen Risikoeinschätzung und auf einen potentiellen, auf einer Therapieänderung beruhenden Behandlungserfolg untersucht werden, bevor eine Empfehlung für die klinische Anwendung gegeben werden kann.

Einfluss der Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten auf neue Urinmarker und akute renale Endpunkte

Einordnung der Befunde im Vergleich mit vorhergehenden Studien

Erstmals wurde in der vorliegenden Arbeit die Aussagekraft einer genetischen Prädisposition (COMT Genotyp) und im selben Hochrisiko-Patientenkollektiv früh postoperativ bestimmter, neuer Urinmarker (NGAL, Midkine) für die Risikoabschätzung einer akuten Nierenschädigung und die postoperative Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie untersucht.

Interpretation und mögliche klinische Anwendbarkeit der Studienergebnisse

Der Befund einer höheren Inzidenz einer akuten Nierenschädigung bei COMT LL-Trägern bei jedoch niedrigerem Stadium und geringerer Konzentrationen von Urin-NGAL und Urin-Midkine kann als häufig auftretender, milder Nierenfunktionsverlust bei gleichzeitig erhaltener tubulärer Integrität interpretiert werden. Sobald die O-

Methylierung von Aminen abnimmt, steigen systemische und intrazelluläre Konzentrationen von Katecholaminen wie Noradrenalin an und die Desaminierung durch die Monoaminoxidase wird zum Hauptabbauweg von Katecholaminen entlang des proximalen Tubulus (99). Die daraus resultierende erhöhte intrarenale Katecholaminkonzentration kann zum Abfall der exkretorischen Nierenfunktion (gemessen als Kreatinin-Anstieg basierte eGFR) führen, was zumindest teilweise die erhöhte Inzidenz der akuten Nierenschädigung bei niedrigerem Schweregrad bei COMT LL-Trägern erklären könnte (100). Es kann spekuliert werden, dass diese bei COMT LL-Trägern modifiziert ablaufenden adrenergen Regulationsmechanismen nicht an einer akuten tubulären Schädigung, wie sie häufig bei akutem Nierenfunktionsverlust nachweisbar wird, beteiligt zu sein scheinen. Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass Mechanismen, die zum Anstieg der Urinmarker führen, statt spezifisch renale Schäden abzubilden, inflammatorische Prozesse kennzeichnen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen darauf hin, dass bei der Untersuchung von genetischen Risikofaktoren für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung der tubuläre Zellstatus berücksichtigt werden sollte.

Catechol-O-Methyltransferase-Genvarianten und Langzeitnierenfunktion

Einordnung der Befunde im Vergleich mit vorhergehenden Studien

In der vorliegenden Arbeit wurde die Frage nach einem potentiellen Zusammenhang zwischen COMT Genvarianten und dem langfristigen Verlauf der Nierenfunktion nach einem kardiochirurgischen Eingriff erstmals gestellt. Zur Einordnung der Befunde der vorliegenden Arbeit müssen die Ergebnisse weiterer Untersuchungen abgewartet werden.

Interpretation und mögliche klinische Anwendbarkeit der Studienergebnisse

Auch wenn der Anteil an Patienten mit postoperativ im Nachbeobachtungszeitraum neuer (de-novo) bzw. verschlechterter chronischer Niereninsuffizienz über die COMT Genotypen LL, HL und HH ähnlich verteilt waren, spricht das postoperativ häufige Auftreten bzw. der Progress einer chronischen Niereninsuffizienz für die Notwendigkeit einer engmaschigen Nachbeobachtung der Nierenfunktion nach der Entlassung aus dem Krankenhaus.

Methodische Limitationen und Stärken der Untersuchung

Eine Limitation der vorliegenden Arbeit ist die auf Serum-Kreatinin-Werten und Urinvolumen basierende Einschätzung der Nierenfunktion. Durch die Einschränkungen dieser Marker wurden möglicherweise die Diagnose akute Nierenschädigung bzw. chronische Niereninsuffizienz teilweise inkorrekt gestellt und, damit einhergehend, die Aussagekraft der COMT Genotypen bzw. der neuen Urinmarker für diese renalen Endpunkte falsch niedrig berichtet. Abhilfe könnte durch eine szintigrafische Nierenfunktionsbestimmung geschaffen werden. Sie ermöglicht eine Quantifizierung des akuten Nierenfunktionsverlusts, die unabhängig von den in der klinischen Routine etablierten Nierenfunktionsmarkern ist. Sie liefert jedoch ebenfalls nur eine Momentaufnahme der Nierenfunktion im dynamischen Prozess des Funktionsverlusts und der Funktionserholung und ist aufgrund der fehlenden Gerätschaften auf der Intensivstation bei Patienten nach kardiochirurgischen Eingriffen praktisch nicht durchführbar.

Im Rahmen der multizentrischen Studie (77) war die Bestimmung der COMT Genvarianten an allen teilnehmenden Studienzentren geplant. Letztlich lagen entsprechende Blut- und Urinproben nur vom deutschen Studienzentrum vor, so dass die geplante Fallzahl von 350 Patienten nicht erreicht wurde. Bei der Bestimmung des COMT Genotyps in der zu untersuchenden, ursprünglich 200 Patienten umfassenden, Kohorte konnten auf zufälliger Basis 5 Patienten nicht genotypisiert werden. Dies führte dazu, dass drei Patienten, die eine akute Nierenschädigung entwickelt hatten, von der Auswertung ausgeschlossen werden mussten. Ein potentieller, wenn auch unsystematischer Einfluss auf die Studienergebnisse hierdurch ist nicht sicher auszuschließen.

Die Patienten der multizentrischen Studie (77) stammen aus zwei verschiedenen behandelten Gruppen. Die eine Gruppe erhielt Natrium-Bikarbonat, die andere Natrium-Chlorid als Studienmedikation. Die COMT Genotypen waren jedoch hinsichtlich der Studienmedikation vergleichbar.

Aufgrund des von den untersuchten Patienten nicht zur Verfügung stehenden Nierengewebes ist nicht klar, ob Urin-NGAL- bzw. Urin-Midkine-Konzentrationen als Signal für einen akuten Tubulusschaden bzw. tubulären Stress zu werten sind. Die interne Validität der vorliegenden Ergebnisse wird jedoch in ihrer Aussagekraft durch einen ähnlichen Konzentrationsverlauf zweier voneinander unabhängiger Biomarker gestärkt.

Die Konzentration der Urinmarker kann durch weitere, nicht kontrollierte Einflussfaktoren wie Diuretikagabe oder schwankende Urinvolumina beeinflusst worden sein.

Die Durchführung der vorliegenden Untersuchungen an einer kardiochirurgisch behandelten Hochrisiko-Patientenkohorte erfolgte aufgrund der großen klinischen Relevanz kardiochirurgischer Eingriffe für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung. Weiterhin handelt es sich um ein gut validiertes klinisches Modell für die akute Nierenschädigung: Zum einen ist der Zeitpunkt der renalen Schädigung während und nach dem Einsatz der Herz-Lungenmaschine relativ gut eingrenzbar, zum anderen handelt es sich um ein gut charakterisiertes Patientenkollektiv.

Für die NGAL-Messung wurde eine klinische Laborplattform herangezogen, für die von Midkine ein etablierter Laborassay.

Bei der Erhebung der Nierenfunktion im Langzeitverlauf war feststellbar, dass die Patienten während ambulanter oder stationärer Vorstellungen nicht auf das Vorliegen einer Proteinurie untersucht wurden. Daher kann die Inzidenz einer verschlechterten Nierenfunktion bzw. das Vorliegen und der Schweregrad einer chronischen Niereninsuffizienz falsch niedrig bestimmt worden sein.

Vorschläge für künftige wissenschaftliche Fragestellungen und Studien auf diesem Gebiet

Die Suche nach renalen Biomarkern mit hoher Sensitivität und Spezifität für die Vorhersage einer akuten Nierenschädigung sollte unter Verwendung objektiv messbarer Diagnosekriterien fortgesetzt werden. Ziel künftiger Untersuchungen sollte die Konzeption eines mehrdimensionalen Modells unter Einbeziehung klinischer, biochemischer und genetischer Informationen zur Risikoabschätzung einer postoperativen akuten Nierenschädigung und einer verschlechterten bzw. neuen (de-novo) chronischen Niereninsuffizienz sein. Die Wirksamkeit und Effizienz von Marker-gestützten therapeutischen Entscheidungen sollten untersucht werden. Der in der vorliegenden Untersuchung erstmals verfolgte Ansatz einer Kombination genetischer Prädisposition mit dem Nachweis einer akuten Schädigung möglichst spezifischer renaler Kompartimente kann für die Planung zukünftiger genetischer Assoziationsstudien richtungsweisend sein, da es Hinweise für die Notwendigkeit der Unterscheidung funktioneller Phänotypen von strukturellen Phänotypen einer akuten Nierenschädigung gibt (94).

Weiterhin sollte geprüft werden, ob Patienten mit akuter Nierenschädigung systematisch eine ausreichend spezialisierte Nachsorge erhalten, um die langfristige Aufrechterhaltung der Nierenfunktion zu gewährleisten. Hierzu zählt die Klärung der Frage nach Ursachen und Gegenmaßnahmen für die seltene Bestimmung der Urin-Eiweißausscheidung. Weiterführende Untersuchungen müssten klären, ob andere adrenerge oder z.B. inflammatorische Genvarianten eine größere Rolle in Bezug auf die Verschlechterung der Nierenfunktion bzw. die neue (de-novo) chronische Niereninsuffizienz spielen als die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Varianten im COMT-Gen.

Schlussfolgerungen

Im Zentrum der vorliegenden Arbeit stand eine klinische Studie zur Risikoabschätzung der Entwicklung einer akuten Nierenschädigung. Die Untersuchungsergebnisse unterstreichen die klinische Relevanz dieses Krankheitsbildes, aber auch die bislang fehlenden Möglichkeiten zur Erkennung einer Prädisposition und Frühdiagnose, um adäquat und individuell behandeln zu können. Im untersuchten Patientenkollektiv handelte es sich bei der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen um ein häufiges Krankheitsbild mit einer hohen assoziierten Morbidität und Letalität.

Die LL-Variante im COMT-Gen war nicht-signifikant häufiger mit der Entwicklung einer akuten Nierenschädigung und der Einleitung einer akuten Nierenersatztherapie nach kardiochirurgischen Eingriffen assoziiert. Die vorliegende Arbeit konnte die Frage nach COMT LL als potentiell klinisch anwendbaren genetischen Prädispositionsmarker zur Risikoabschätzung für eine postoperative akute Nierenschädigung aufgrund der nicht erreichten, geplanten Fallzahl nicht abschließend beantworten. Die Bestimmung der COMT Genvarianten als klinische Routineuntersuchung in Vorbereitung auf einen kardiochirurgischen Eingriff erscheint derzeit aufgrund der nicht signifikanten und vom Muster für einen kodominanten Erbgang nicht plausiblen Assoziation mit renalen Endpunkten nicht empfehlenswert zu sein.

NGAL und Midkine scheinen aussagekräftige Urinmarker vor Entwicklung einer akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen zu sein und möglicherweise zur Entwicklung neuer Therapieansätze beitragen zu können. Eine Kombination von klinisch-ärztlicher Evaluation und Prädispositionsmarkern mit Urinmarkern bei der Diagnostik einer akuten Nierenschädigung, kann neue Untersuchungsansätze bei kardiochirurgischen Patientenkollektiven eröffnen.

Die Tatsache, dass COMT LL-Träger nicht-signifikant häufiger eine akute Nierenschädigung entwickelten, das Ausmaß der Nierenschädigung gemäß der RIFLE-Klassifikation und der Urinmarkerkonzentrationen bei den betroffenen Patienten jedoch geringer war, weist auf die Notwendigkeit differenzierter Untersuchungen der glomerulären und tubulären Pathophysiologie der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen hin.

Der Nachweis eines hohen Patientenanteils mit deutlicher Verschlechterung der Nierenfunktion mehrere Jahre nach einem kardiochirurgischen Eingriff wirft Fragen nach den zugrundeliegenden Ursachen und möglichen präventiven Ansätzen auf.

ZUSAMMENFASSUNG

Ein relevanter Anteil von Patienten mit kardiochirurgischen Eingriffen entwickelt im postoperativen Verlauf eine akute Nierenschädigung, die mit einer erhöhten Morbidität und Letalität einhergeht.

In großen epidemiologischen Studien wurden zahlreiche mögliche Risikofaktoren für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung und zahlreiche neue Biomarker für die Frühdiagnose einer akuten Nierenschädigung untersucht. Trotz Fortschritten im pathophysiologischen Verständnis haben Inzidenz, Morbidität und Letalität in den letzten Jahrzehnten jedoch nicht entscheidend abgenommen. Eine exakte individuelle präoperative Risikovorhersage ist bislang nicht möglich.

Das Ziel dieser Arbeit war es, 195 Patienten auf den möglichen Einfluss von COMT Genvarianten auf die Häufigkeit und den Schweregrad der postoperativen akuten Nierenschädigung sowie auf den langfristigen Verlauf der Nierenfunktion zu untersuchen. Des Weiteren sollte in demselben Patientenkollektiv die Eignung der Urinmarker NGAL und Midkine für die frühzeitige Diagnose der akuten Nierenschädigung getestet sowie der Zusammenhang zwischen COMT Genvarianten, den neuen Urinmarkern und akuten renalen Ereignissen nach kardiochirurgischen Eingriffen überprüft werden.

22 der 195 (11,3%) Patienten entwickelten eine akute Nierenschädigung. Ein nicht-signifikant höherer Anteil von COMT LL-Trägern entwickelte eine akute Nierenschädigung ($p = 0,117$; LL: 17,8%; HL: 9,2%; HH: 9,8%) bzw. erhielt eine akute Nierenersatztherapie ($p = 0,479$; LL: 9,1%; HL: 5,6%; HH: 7,3%) im Vergleich zu HH- und HL-Trägern. Die Inzidenz einer neu entstandenen bzw. verschlechterten, vorbestehenden chronischen Niereninsuffizienz war im Langzeitverlauf in allen drei COMT Genotypen vergleichbar ($p = 0,995$). Somit erscheint eine individuelle präoperative Risikoabschätzung für die Entwicklung einer akuten und chronischen Nierenschädigung auf der Basis einer alleinigen COMT Genotyp-Bestimmung nicht möglich zu sein. NGAL und Midkine erwiesen sich als geeignete Urinmarker zur Frühdiagnose der akuten Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen. Es schien jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der genetischen Prädisposition, den neuen Urinmarkern und der Inzidenz oder dem Schweregrad der akuten Nierenschädigung zu bestehen (NGAL: $p = 0,089$; Midkine: $p = 0,062$).

LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT. Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. *Am J Med.* 1983;74:243–8.
- (2) Fujii T, Uchino S, Takinami M, Bellomo R. Validation of the kidney disease improving global outcomes criteria for AKI and comparison of three criteria in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(5):848–54.
- (3) Ostermann M, Chang RWS. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med.* 2007;35:1837–43.
- (4) Hoste EJ, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care.* 2006;10(3):R73.
- (5) Uchino S, Kellum J a, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA.* 2005;294(7):813–8.
- (6) Mehta RL, Pascual MT, Soroko S, Savage BR, Himmelfarb J, Ikizler TA, et al. Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: The PICARD experience. *Kidney Int.* 2004;66(4):1613–21.
- (7) Morgera S, Kraft AK, Siebert G, Luft FC, Neumayer HH. Long-term outcomes in acute renal failure patients treated with continuous renal replacement therapies. *Am J Kidney Dis.* 2002;40:275–9.
- (8) Zeng X, McMahon GM, Brunelli SM, Bates DW, Waikar SS. Incidence, outcomes, and comparisons across definitions of AKI in hospitalized individuals. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014;9(1):12–20.
- (9) Parikh CR, Coca SG, Thiessen-Philbrook H, Shlipak MG, Koyner JL, Wang Z, et al. Postoperative Biomarkers Predict Acute Kidney Injury and Poor Outcomes after Adult Cardiac Surgery. *J Am Soc Nephrol.* 2011 Sep;22(9):1748–57.
- (10) Leistungsstatistik der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie. 2014
- (11) Arnaoutakis GJ, Bihorac A, Martin TD, Hess PJ, Klodell CT, Ejaz a A, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury in aortic arch surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007 Dec;134(6):1554–60
- (12) Rosner MH, Okusa MD. Acute kidney injury associated with cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006 Jan;1(1):19–32.
- (13) Gummert JF, Bucerius J, Walther T, Doll N, Falk V, Schmitt D V, et al. Requirement for renal replacement therapy in patients undergoing cardiac surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 Apr;52(2):70–6.

- (14) Chertow GM, Levy EM, Hammermeister KE, Grover F, Daley J. Independent association between acute renal failure and mortality following cardiac surgery. *Am J Med.* 1998 Apr;104(4):343–8.
- (15) Loef BG, Epema AH, Smilde TD, Henning RH, Ebels T, Navis G, et al. Immediate postoperative renal function deterioration in cardiac surgical patients predicts in-hospital mortality and long-term survival. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Jan;16(1):195–200.
- (16) Lok CE, Austin PC, Wang H, Tu JV. Impact of renal insufficiency on short- and long-term outcomes after cardiac surgery. *Am Heart J.* 2004;148(3):430–8.
- (17) Hobson CE, Yavas S, Segal MS, Schold JD, Tribble CG, Layon a. J, et al. Acute kidney injury is associated with increased long-term mortality after cardiothoracic surgery. *Circulation.* 2009;119(18):2444–53.
- (18) Grams ME, Estrella MM, Coresh J, Brower RG, Liu KD. Fluid balance, diuretic use, and mortality in acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(5):966–73.
- (19) Bashour T, Hsu I, Gorfinkel HJ, Wickramesekaran R, Rios JC. Atrioventricular and intraventricular conduction in hyperkalemia. *Am J Cardiol.* 1975;35(2):199–203.
- (20) Mattu A, Brady WJ, Perron AD. Electrocardiographic manifestations of Hyperkalemia. *Am J Emerg Med.* 2002;20(4):314–26.
- (21) Yap SC, Lee HT. Acute kidney injury and extrarenal organ dysfunction: new concepts and experimental evidence. *Anesthesiology.* 2012;116(5):1139–48.
- (22) Grams ME, Rabb H. The distant organ effects of acute kidney injury. *Kidney Int.* 2012;81(10):942–8.
- (23) Lo LJ, Go AS, Chertow GM, McCulloch CE, Fan D, Ordoñez JD, et al. Dialysis-requiring acute renal failure increases the risk of progressive chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2009;76(8):893–9.
- (24) Bucaloiu ID, Kirchner HL, Norfolk ER, Hartle JE, Perkins RM. Increased risk of death and de novo chronic kidney disease following reversible acute kidney injury. *Kidney Int.* 2012;81(5):477–85.
- (25) Chawla LS, Eggers PW, Star R a, Kimmel PL. Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease as Interconnected Syndromes. *N Engl J Med.* 2014;371(1):58–66.
- (26) Xu J-R, Zhu J-M, Jiang J, Ding X-Q, Fang Y, Shen B, et al. Risk Factors for Long-Term Mortality and Progressive Chronic Kidney Disease Associated With Acute Kidney Injury After Cardiac Surgery. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(45):e2025.

- (27) McCullough P a, Soman SS, Shah SS, Smith ST, Marks KR, Yee J, et al. Risks associated with renal dysfunction in patients in the coronary care unit. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(3):679–84.
- (28) Manjunath G, Tighiouart H, Ibrahim H, MacLeod B, Salem DN, Griffith JL, et al. Level of kidney function as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular outcomes in the community. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(1):47–55.
- (29) Bragadottir G, Redfors B, Ricksten S-E. Assessing glomerular filtration rate (GFR) in critically ill patients with acute kidney injury - true GFR versus urinary creatinine clearance and estimating equations. *Crit Care.* 2013 Jun 15;17(3):R108.
- (30) Ronco C, Kellum J a, Haase M. Subclinical AKI is still AKI. *Crit Care.* 2012;16(3):313.
- (31) Bellomo R, Ronco C, Kellum J a, Mehta RL, Palevsky PM. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* 2004 Aug;8(4):R204–12.
- (32) Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M, Bachmann LM, Druml W, Bauer P, et al. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(6):1597–605.
- (33) Thakar CV., Worley S, Arrigain S, Yared JP, Paganini EP. Influence of renal dysfunction on mortality after cardiac surgery: Modifying effect of preoperative renal function. *Kidney Int.* 2005;67(3):1112–9.
- (34) KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International Supplements.* 2013;3(1)
- (35) Bellomo R, Finfer S, Myburgh J. Mortality in patients with hypovolemic shock treated with colloids or crystalloids. *JAMA.* 2014 Mar 12;311(10):1067–8.
- (36) Ungprasert P, Cheungpasitporn W, Crowson CS, Matteson EL. Individual non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of acute kidney injury: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Intern Med.* 2015 Jul 21;26(4):285–91.
- (37) De Geus HR, Ronco C, Haase M, Jacob L, Lewington A, Vincent JL. The cardiac surgery-associated neutrophil gelatinase-associated lipocalin (CSA-NGAL) score: A potential tool to monitor acute tubular damage. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2016 Jun;151(6):1476–81.
- (38) Jacob KA., Leaf DE, Dieleman JM, van Dijk D, Nierich AP, Rosseel PM, et al. Intraoperative High-Dose Dexamethasone and Severe AKI after Cardiac Surgery. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(12):2947-51.

- (39) Kulka PJ, Tryba M, Zenz M. Preoperative alpha2-adrenergic receptor agonists prevent the deterioration of renal function after cardiac surgery: results of a randomized, controlled trial. *Critical care medicine*. 1996 Jun;24(6):947-52.
- (40) Lamy A, Devereaux PJ, Prabhakaran D, et al. Off-pump or on-pump coronary-artery bypass grafting at 30 days. *N Engl J Med* 2012;366:1489-97.
- (41) Zarbock A, Schmidt C, Van Aken H, Wempe C, Martens S, Zahn PK, et al. Effect of Remote Ischemic Preconditioning on Kidney Injury Among High-Risk Patients Undergoing Cardiac Surgery. *JAMA*. 2015;2133–41.
- (42) Bagur R, Webb JG, Nietlispach F, Dumont E, De Larochelière R, Doyle D, et al. Acute kidney injury following transcatheter aortic valve implantation: predictive factors, prognostic value, and comparison with surgical aortic valve replacement. *Eur Heart J*. 2010;31(7):865–74.
- (43) Asfar P, Meziani F, Hamel JF, Grelon F, Megarbane B, Anguel N, et al. High versus low blood-pressure target in patients with septic shock. *N Engl J Med*. 2014;370(17):1583–93.
- (44) Mehta RH, Grab JD, O'Brien SM, Bridges CR, Gammie JS, Haan CK, et al. Bedside tool for predicting the risk of postoperative dialysis in patients undergoing cardiac surgery. *Circulation*. 2006 Nov 21;114(21):2208–16.
- (45) Thakar CV, Arrigain S, Worley S, Yared JP, Paganini EP. A clinical score to predict acute renal failure after cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol*. 2005 Jan;16(1):162–8.
- (46) Heise D, Sundermann D, Braeuer A, Quintel M. Validation of a clinical score to determine the risk of acute renal failure after cardiac surgery. *Eur J Cardiothoracic Surg*. 2010;37(3):710–6.
- (47) Chertow GM, Lazarus JM, Christiansen CL, Cook EF, Hammermeister KE, Grover F, et al. Preoperative Renal Risk Stratification. *Circ*. 1997 Feb 18;95(4):878–84.
- (48) Wijeyesundera DN, Karkouti K, Dupuis JY, Rao V, Chan CT, Granton JT, et al. Derivation and validation of a simplified predictive index for renal replacement therapy after cardiac surgery. *JAMA*. 2007;297(16):1801–9.
- (49) Garg AX, Kurz A, Sessler DI, Cuerden M, Jones M, Tiboni M, et al. Perioperative Aspirin and Clonidine and Risk of Acute Kidney Injury: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*: 2014 Dec 3; 312(21):2254-64
- (50) Thurman JM, Parikh CR. Peeking into the black box: new biomarkers for acute kidney injury. *Kidney Int*. 2008;73(4):379–81.
- (51) Demirtas S, Caliskan A, Karahan O, Yavuz C, Guclu O, Cayir MC, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for acute kidney injury in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Exp Clin Cardiol*. 2013 Jan;18(2):107–9.

- (52) Kellum J, Mehta RL, Levin A, Molitoris B., Warnock DG, Shah SV., et al. Development of a clinical research agenda for acute kidney injury using an international, interdisciplinary, three-step modified delphi process. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(3):887–94.
- (53) Haase M, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Lambert G, Matalanis G, Story D, et al. Decreased catecholamine degradation associates with shock and kidney injury after cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol*. 2009 Jun;20(6):1393–403.
- (54) Isbir SC, Tekeli A, Ergen A, Yilmaz H, Ak K, Civelek A, et al. Genetic polymorphisms contribute to acute kidney injury after coronary artery bypass grafting. *Heart Surg Forum*. 2007;10(6).
- (55) Popov AF, Hinz J, Schulz EG, Schmitto JD, Wiese CH, Quintel M, et al. The eNOS 786C/T polymorphism in cardiac surgical patients with cardiopulmonary bypass is associated with renal dysfunction. *Eur J Cardio-thoracic Surg*. 2009;36(4):651–6.
- (56) Scanlon PD, Raymond FA, Weinshilboum RM. Catechol-O-methyltransferase: thermolabile enzyme in erythrocytes of subjects homozygous for allele for low activity. *Science*. 1979;203:63–5.
- (57) Landry DW, Oliver J a. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med*. 2001;345(8):588–95.
- (58) Haller M, Schelling G. Akutes Nierenversagen Pathophysiologie - klinische Beurteilung - Therapie. *Der Anaesthesist*. 2000 Apr;49(4):349–52.
- (59) Devarajan P, Haase-Fielitz A, Haase M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Changes*. 2012;29(6):997–1003.
- (60) Hayashi H, Sato W, Kosugi T, Nishimura K, Sugiyama D, Asano N, et al. Efficacy of urinary midkine as a biomarker in patients with acute kidney injury. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2016;1–11.
- (61) Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for human acute kidney injury. *Biomark Med*. 2010;4(2):265–80.
- (62) Devarajan P, Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005;365(9466):1231–8.
- (63) Lee SA, Kim JD, Chee HK, Shin JK, Kim JS, Kim YH, et al. Novel Early Predictor of Acute Kidney Injury after Open Heart Surgery under Cardiopulmonary Bypass Using Plasma Neutrophil. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;6516:240–8.
- (64) Barasch J, Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore- iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest*. 2005;115(3):610-21.

- (65) Devarajan P. Identification of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Novel Early Urinary Biomarker for Ischemic Renal Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2003 Oct 1;14(10):2534–43.
- (66) Devarajan P, Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(12):3073–82.
- (67) Devarajan P, Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes MM, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care*. 2007 Jan;11(6):R127.
- (68) Devarajan P, Bennett M, Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Grenier F, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 May;3(3):665–73.
- (69) Haase M, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis*; 2009 Dec;54(6):1012–24.
- (70) Kosugi T, Sato W. Midkine and the kidney: health and diseases. *Nephrol Dial Transplant*. 2011 Dec 13;27(1):16–21.
- (71) Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Koc-Zorawska E, Malyszko JS, Kobus G, Dobrzycki S. Midkine: A Novel and Early Biomarker of Contrast-Induced Acute Kidney Injury in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Interventions. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1–5.
- (72) Sato W, Kadomatsu K, Yuzawa Y, Muramatsu H, Hotta N, Matsuo S, et al. Midkine Is Involved in Neutrophil Infiltration into the Tubulointerstitium in Ischemic Renal Injury. *J Immunol*. 2001 Sep 15;167 (6):3463–9.
- (73) Sato W, Takei Y, Yuzawa Y, Matsuo S, Kadomatsu K, Muramatsu T. Midkine antisense oligodeoxyribonucleotide inhibits renal damage induced by ischemic reperfusion. *Kidney Int*. 2005 Apr;67(4):1330–9.
- (74) Hayashi H, Sato W, Maruyama S, Sugiyama D, Ikematsu S, Nishiwaki K, et al. Urinary midkine as a biomarker of AKI: comparison with three major biomarkers NAG,IL-18, NGAL. *NDT Plus*. 2009;2(Supplement 2):ii1634.
- (75) Englberger L, Suri RM, Li Z, Casey ET, Daly RC, Dearani J a, et al. Clinical accuracy of RIFLE and Acute Kidney Injury Network (AKIN) criteria for acute kidney injury in patients undergoing cardiac surgery. *Crit Care*. 2011;15(1):R16.
- (76) Biosystems A. Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System-Reagenzienhandbuch. 2010;

- (77) Haase M, Haase-Fielitz A, Plass M, Kuppe H, Hetzer R, Hannon C, et al. Prophylactic perioperative sodium bicarbonate to prevent acute kidney injury following open heart surgery: a multicenter double-blinded randomized controlled trial. *PLoS Med.* 2013 Jan;10(4):e1001426.
- (78) Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science.* 1988;240(4857):1285–93.
- (79) J. Kube, A. Dittrich, PR. Mertens, M. Plaß, D. Schanze, M. Zenker, A. Haase-Fielitz MH. COMT LL Genotyp prädisponiert zur postoperativen akuten Nierenschädigung in einer australischen und deutschen Kohorte. Posterabstract. 4. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie. Poster 268, S. 129 (2012)
- (80) Chew ST, Newman MF, White WD, Conlon PJ, Saunders a M, Strittmatter WJ, et al. Preliminary report on the association of apolipoprotein E polymorphisms, with postoperative peak serum creatinine concentrations in cardiac surgical patients. *Anesthesiology.* 2000;93(2):325–31.
- (81) Stafford-Smith M, Li YJ, Mathew JP, MD, MHSc1, Li YW, Ji Y, Phillips-Bute BG, Milano CA, Newmann, Kraus WE, Kertai MD, Shah SH, PEGASUS Investigative Team. Genome-wide association study of acute kidney injury after coronary bypass graft surgery identifies susceptibility loci. *Kidney Int.* 2015;88(4):823–32.
- (82) Susantitaphong P, Perianayagam MC, Tighiouart H, Liangos O, Bonventre J V, Jaber BL. Tumor Necrosis Factor Alpha Promoter Polymorphism and Severity of Acute Kidney Injury. *Nephron Clin Pract.* 2013;123(1-2):67–73.
- (83) Du Cheyron D, Fradin S, Ramakers M, Terzi N, Guillotin D, Bouchet B, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion genetic polymorphism: its impact on renal function in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2008;36(12):3178–83.
- (84) Stafford-Smith M, Podgoreanu M, Swaminathan M, Phillips-Bute B, Mathew JP, Hauser EH, et al. Association of genetic polymorphisms with risk of renal injury after coronary bypass graft surgery. *Am J Kidney Dis.* 2015 Sep 18;45(3):519–30.
- (85) Pedroso JAR, Paskulin D d'Avila, Dias FS, de Franca E, Alho CS. Temporal trends in acute renal dysfunction among critically ill patients according to I/D and -262A > T ACE polymorphisms. *J Bras Nefrol.* 2010;32(2):182–94.
- (86) Dalboni MA, Quinto BM, Grabulosa CC, Narciso R, Monte JC, Durao Jr. M, et al. Tumour necrosis factor-alpha plus interleukin-10 low producer phenotype predicts acute kidney injury and death in intensive care unit patients. *Clin Exp Immunol.* 2013;173(2):242–9.
- (87) McBride WT, Prasad PS, Armstrong M, Patterson C, Gilliland H, Drain A, et al. Cytokine phenotype, genotype, and renal outcomes at cardiac surgery. *Cytokine.* 2013;61(1):275–84.

- (88) Kornek M, Deutsch M-A, Eichhorn S, Lahm H, Wagenpfeil S, Krane M, et al. COMT-Val158Met-polymorphism is not a risk factor for acute kidney injury after cardiac surgery. *Dis Markers*. 2013 Jan;35(2):129–34.
- (89) Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Story D, Matalanis G, Dragun D, et al. Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery--a prospective cohort study. *Crit Care Med*. 2009;37:553–60.
- (90) Tuladhar SM, Püntmann VO, Soni M, Punjabi PP, Bogle RG. Rapid detection of acute kidney injury by plasma and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009;53(3):261–6.
- (91) Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2006;105(3):485–91.
- (92) Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery. *Am J Kidney Dis*. 2008;52(3):425–33.
- (93) Waikar SS, Betensky RA, Emerson SC, Bonventre J V. Imperfect gold standards for kidney injury biomarker evaluation. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(1):13–21.
- (94) Bellomo R, Haase M, Haase-Fielitz A, Devarajan P, Cruz DN, Wagener G, et al. The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: A multicenter pooled analysis of prospective studies. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Apr 26;57(17):1752–61.
- (95) Nickolas TL, Schmidt-Ott KM, Canetta P, Forster C, Singer E, Sise M, et al. Diagnostic and prognostic stratification in the emergency department using urinary biomarkers of nephron damage: A multicenter prospective cohort study. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(3):246–55.
- (96) Somma S Di, Magrini L, Berardinis B De, Marino R, Ferri E, Moscatelli P, et al. Additive value of blood neutrophil gelatinase-associated lipocalin to clinical judgement in acute kidney injury diagnosis and mortality prediction in patients hospitalized from the emergency department. *Crit Care*. 2013;17(1):R29.
- (97) Constantin J-M, Futier E, Perbet S, Roszyk L, Lautrette A, Gillart T, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in adult critically ill patients: a prospective study. *J Crit Care*. 2010;25(1):176.e1–6.
- (98) Barasch J, Paragas N, Qiu A, Zhang Q, Samstein B, Deng S-X, et al. The Ngal reporter mouse detects the response of the kidney to injury in real time. *Nat Med*. 2011 Feb;17(2):216–22.

- (99) Meister B, Bean a J, Aperia a. Catechol-O-methyltransferase mRNA in the kidney and its appearance during ontogeny. *Kidney Int.* 1993;44(4):726–33.
- (100) Wang Y, Berndt TJ, Gross JM, Peterson M a, So MJ, Knox FG. Effect of inhibition of MAO and COMT on intrarenal dopamine and serotonin and on renal function. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001;280(1):R248–54.

DANKSAGUNG

Diese Dissertation konnte nur mit der Unterstützung zahlreicher Personen entstehen. Der größte Dank gebührt Professor Dr. Michael Haase. Außerordentlich engagiert hat er diese Dissertation und mich in den vergangenen Jahren begleitet. Mit meinen Fragen konnte ich mich stets an ihn wenden. Durch neue Ideen und immer konstruktive Kritik hat er diese Arbeit unterstützt und geprägt. Ich danke ihm auch für die stets ausgesprochene Motivation.

Dr. Christian Albert, Dr. Annemarie Albert, Dr. Anja Haase-Fielitz und Dr. Denny Schanze möchte ich an dieser Stelle von Herzen danken. Besonders bei fachlichen, aber auch bei technischen und methodischen Fragen, standen sie mir stets zur Seite.

Ohne die vielen freiwilligen Probanden wäre diese Dissertation nicht zustande gekommen. Auch ihnen gilt mein Dank.

Durch meine Freunde und meine Familie habe ich immer wieder zur nötigen Zielstrebigkeit gefunden. Stellvertretend für die zahlreichen Wegbegleiter möchte ich mich hier besonders bei Dr. Raphael Gukasjan, Denny Fitzner, Max Lüders, Felix Merbach und meinen Eltern bedanken.

Die Promotion wurde durch ein Stipendium der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg im Rahmen der Leistungsorientierten Mittelvergabe gefördert.

EHRENERKLÄRUNG

Ich erkläre, dass ich die an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

„Varianten im COMT-Gen und neue Urinmarker zur Risikoabschätzung der Entwicklung einer akuten und chronischen Nierenschädigung nach kardiochirurgischen Eingriffen“

an der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Diabetologie und Endokrinologie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

mit Unterstützung durch Prof. Dr. med. Michael Haase

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Leipzig, den 4. Oktober 2017

Johanna Kube

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.