Universitätsklinikum Ulm
Zentrum für Innere Medizin
Klinik für Innere Medizin I
Sektion Nephrologie
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Guido Adler
Sektionsleiter: Prof. Dr. med. Frieder Keller

Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA) zur Prophylaxe der Kontrastmittel-induzierten Nephropathie

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Maik Oliver Backes
aus Offenbach

2007

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Frieder Keller

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang König

Tag der Promotion: 24. April 2008

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis 3

Abkürzungsverzeichnis 5

1 Einleitung 7
- 1.1 Die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie . . . 7
  - 1.1.1 Definition . . . 8
  - 1.1.2 Inzidenz . . . 8
  - 1.1.3 Risikofaktoren . . . 8
  - 1.1.4 Pathogenese . . . 9
  - 1.1.5 Prophylaxe . . . 11
  - 1.1.6 Prognose . . . 17
- 1.2 Fragestellung . . . 17

2 Material und Methoden, Patientenkollektiv 18
- 2.1 Studienprotokoll . . . 18
  - 2.1.1 Patientenkollektiv, Einschluss- und Ausschlusskriterien . . . 20
  - 2.1.2 Verumgruppe (MESNA) . . . 22
  - 2.1.3 Plazebogruppe . . . 22
  - 2.1.4 Zeitpunkt der Messungen . . . 22
  - 2.1.5 Schematisches Studienprotokoll . . . 22
  - 2.1.6 Endpunkte . . . 22
  - 2.1.7 Nachuntersuchungen und Kontrollen . . . 22
- 2.2 Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA) . . . 24
- 2.3 Kreatinin im Serum . . . 26
- 2.4 Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate nach der Formel MDRD-2 26
- 2.5 'Comet-Assay' ('single cell gel test') . . . 27
  - 2.5.1 Material . . . 28
  - 2.5.2 Durchführung des 'Comet-Assay' . . . 30
  - 2.5.3 Auswertung des 'Comet-Assay' . . . 32
- 2.6 Statistik . . . 33

3 Ergebnisse 35
- 3.1 Deskriptive Statistik . . . 35
- 3.2 Gruppenvergleich Verum vs. Plazebo . . . 36
- 3.3 Logistische Regressionsanalyse . . . 38

4 Diskussion 44
- 4.1 Prophylaxe der Kontrastmittelnephropathie . . . 45
- 4.2 Definition der Kontrastmittelnephropathie . . . 48
- 4.3 Risikofaktoren der Kontrastmittelnephropathie . . . 49
- 4.4 Freie Sauerstoffradikale in der Genese der Kontrastmittelnephropathie . 51
- 4.5 Nachweis von freien Radikalen mit dem Comet-Assay . . . 52

4.6 Kreatinin als Nierenfunktionsparameter 54
4.7 Schlussfolgerung 56

5 Zusammenfassung **58**

6 Literaturverzeichnis **60**

Danksagung **72**

Lebenslauf **73**

Abkürzungsverzeichnis

A	Ampère
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ANV	akutes Nierenversagen
ANP	atriales natriuretisches Peptid
BMI	Body-Mass-Index
BSA	bovines Serum-Albumin
CI	Konfidenzintervall
dd	zweifach destilliert
Di-MESNA	2,2‘-bis-Ethanolsulfonat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
eGFR	geschätzte glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD-2
FPG	Formamidopyrimidin-DNS-Glycosylase
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HD	Hämodialyse
HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N‘-(2-Ethansulfonsäure)
HF	Hämofiltration
HS	siehe SH
i.v.	intravenös
i.a.	intraarteriell
KN	Kontrastmittelnephropathie
LD_{50}	mittlere letale Dosis
LMA	low melting-Agarose
M	mol/l
MDRD	’modification of diet in renal disease’-Formel

MESNA	Natrium-2-Mercaptoethansulfonat
NAC	N-Acetylcystein
NaCl	Natriumchlorid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NI	Niereninsuffizienz
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
PBS	Phosphat-Buffered-Saline, Pufferlösung
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
RKM	Röntgenkontrastmittel
ROS	reaktive Sauerstoffspezies (radical oxygen species)
SCG	'single cell gel test'
SH	Thiolgruppe
UV	ultraviolett
V	Volt
vs.	versus

1 Einleitung

1.1 Die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie

Untersuchungen mit jodhaltigem Röntgenkontrastmittel (RKM) sind heutzutage bei vielen Indikationen der Goldstandard. Zusätzlich zur Bildgebung bieten viele dieser Methoden die Möglichkeit der sofortigen Intervention, z. B. durch Ballondilatation[1] eines Gefäßes oder Stenteinlage. Durch dieses Eingreifen kann gezielt z. B. der Verlust einer Niere bei Nierenarterienstenose oder die offene Operation (Bypass-Operation der Koronargefäße) vermieden werden.
RKM werden bei verschiedenen radiologischen Verfahren zur Kontrastverstärkung eingesetzt (z. B. bei Angiografie, Computertomografie, Myelografie). Sogenannte positive RKM bewirken dabei eine stärkere Röntgenstrahlenabsorption als das körpereigene Gewebe und somit eine Kontrastverstärkung. Sie enthalten Substanzen mit großer Röntgendichte (Atome mit hoher Ordnungszahl, z. B. Jod oder Barium). Negative RKM, z. B. Gase, bewirken eine schwächere Röntgenstrahlenabsorption.
Die heutzutage verwendeten wasserlöslichen, nichtionischen jodhaltigen RKM (positive RKM) verteilen sich im Extrazellulärraum und werden nur in geringem Maße an Proteine gebunden. Ihre Ausscheidung erfolgt hauptsächlich durch glomeruläre Filtration und ist somit in hohem Maße abhängig von der Nierenfunktion [20, 104]. Dabei korreliert die Eliminationshalbwertzeit mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Bei gesunden Probanden sind nach zwei Stunden annähernd 50 Prozent des injizierten RKM ausgeschieden, bei Patienten mit schwerer Nierenschädigung findet man erst nach 16 bis 84 Stunden 50 % des RKM im Urin [70].

Bei den in steigender Anzahl durchgeführten Untersuchungen mit RKM ist nicht zu vernachlässigen, dass neben dem gewünschten diagnostischen und therapeutischen Nutzen auch Nebenwirkungen zu erwarten sind.
Die am häufigsten auftretende Nebenwirkung im Zusammenhang mit der Gabe von RKM ist eine akute Verschlechterung der Nierenfunktionsparameter (Kreatinin im Serum, Harnstoff im Serum, glomeruläre Filtrationsrate), welche man Kontrastmittel-induzierte Nephropathie oder kurz Kontrastmittelnephropathie (KN) nennt. Diese Komplikation ist schon seit langer Zeit bekannt und reicht in ihrer Ausprägung von einer passageren Erhöhung der Retentionsparameter, bis hin zu einer terminalen Niereninsuffizienz mit der Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie [12, 94, 109, 113].

[1] Die erste Ballondilatation eines Koronargefäßes am Menschen führte Prof. Grüntzig am 16. September 1977 in Zürich durch.

Meistens kommt es im Rahmen einer KN nur zu einem kurzzeitigen Anstieg der Retentionsparameter ohne weitere Folgen [76]. Das Auftreten einer KN führt jedoch bei 7% der Patienten zur Notwendigkeit einer passageren Dialyse oder zu einer terminalen Niereninsuffizienz [41, 57]. Des Weiteren führt das Auftreten einer KN oft zu einem verlängerten Krankenhausaufenthalt mit den damit verbundenen erhöhten Kosten und geht mit erhöhter Morbidität und Mortalität einher [64, 72, 76].
Seltenere Nebenwirkungen bei der Applikation von RKM sind eine durch das enthaltene Jod ausgelöste Hyperthyreose sowie anaphylaktische Reaktionen.

1.1.1 Definition

In der Literatur findet man uneinheitliche Angaben über die Definition der KN. In den meisten Veröffentlichungen wird die KN jedoch als eine akute Verschlechterung der Nierenfunktion mit einem proportionalen Anstieg des Serumkreatinins um mindestens 25% oder einem absoluten Anstieg um 44 μmol/l (= 0,5 mg/dl) innerhalb von 48 Stunden nach Kontrastmittelgabe definiert [11, 12, 28, 85, 94, 109, 115]. Eine KN verläuft in den meisten Fällen nicht-oligurisch. Urinuntersuchungen zeigen oft eine minimale Proteinurie und Tubulusepithelzellen im Sediment, bleiben aber in vielen Fällen auch unauffällig. Die angestiegenen Serum-Kreatininwerte sinken für gewöhnlich innerhalb von 14 Tagen wieder auf das Ausgangsniveau ab [110, 125].

1.1.2 Inzidenz

Auch bezüglich der Inzidenz der KN sind die Literaturangaben nicht einheitlich. Dafür verantwortlich sind die in den verschiedenen Studien unterschiedlichen Definitionen der KN, sowie die in ihren Begleiterkrankungen differierenden Patientenkollektive [84, 85]. Bei Patienten mit bereits vorbestehender Niereninsuffizienz (Serumkreatinin >133 μmol/l = 1,5 mg/dl) kann man von einer Inzidenz von 12-27% ausgehen [11, 16, 85, 94, 110]. Für eine gesunde Normalpopulation ohne Risikofaktoren hingegen, wurde über eine Häufigkeit der KN von lediglich bis zu 3% berichtet [99].
Aufgrund steigender Untersuchungszahlen, zunehmender Anzahl der Patienten mit Nierenerkrankungen, und nicht zuletzt aufgrund des steigenden Alters der Durchschnittsbevölkerung, hat die Inzidenz der KN in den letzten Jahren zugenommen. Die KN ist heute die dritthäufigste Ursache eines stationär erworbenen akuten Nierenversagens (ANV) [2, 47, 85, 87].

1.1.3 Risikofaktoren

Der weitaus wichtigste Risikofaktor für das Auftreten einer KN ist die vorbestehende Niereninsuffizienz [85]. Weitere Risikofaktoren für die Entstehung einer KN sind unter anderem Erkrankungen, welche die Nieren, wenn auch unter Umständen mit-

tels Serumkreatinin noch nicht messbar, schon vor der RKM-Applikation geschädigt haben (Diabetes mellitus, Plasmozytom, Nierenarterienstenose, chronischer Gebrauch von nichtsteroidalen Antirheumatika).
Des Weiteren kann die Kombination von RKM mit nephrotoxischen Substanzen zu einer Funktionseinbuße der Nieren führen [46, 102].
Bei Exsikkose kann es unter Umständen durch die verlängerte Eliminationshalbwertszeit des RKM zu einer Schädigung der Nieren kommen [129].
Eine Studie von Rihan et al. ergab, dass Diabetiker auch mit einem Serumkreatininwert vor der Untersuchung von $< 2{,}0$ mg/dl ein höheres KN-Risiko als Nicht-Diabetiker haben. Laut dieser Studie haben alle Patienten mit einem Serumkreatinin $> 2{,}0$ mg/dl ein erhöhtes Risiko, eine KN zu entwickeln [97].
Bei Kombination mehrerer Risikofaktoren kann man nach Gabe von RKM von einer transienten Erhöhung des Serumkreatinins in 40-90% der Fälle ausgehen [96, 99, 125].
Risikofaktoren für das Auftreten einer KN sind zusammengefasst [21, 33, 85, 94]:

- Diabetes mellitus
- Alter > 60 Jahre
- Dehydratation
- Applikation einer großen Kontrastmittelmenge
- wiederholte Gabe von Kontrastmittel an aufeinanderfolgenden Tagen
- gleichzeitige Verabreichung nephrotoxischer Medikamente (z. B. nichtsteroidale Antirheumatika, Amphotericin, Aminoglykoside, Methotrexat, Cisplatin)
- Dauereinnahme eines Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmers (ACE-Hemmer) bei vorbestehender Niereninsuffizienz
- Herzinsuffizienz (Ejektionsfraktion $< 50\%$)
- dekompensierte Leberzirrhose
- Nierenarterienstenose
- funktionelle Einzelniere
- Plasmozytom

1.1.4 Pathogenese

Die Pathogenese der KN ist multifaktoriell und noch nicht abschließend aufgeklärt. Nach heutigen Erkenntnissen geht man von einer Kombination der im Folgenden dargelegten Mechanismen aus.

Renale Hämodynamik

Nach dem heutigen Forschungsstand führen intrarenale hämodynamische Effekte nach RKM-Applikation zu einer medullären Ischämie und damit zu einer ischämischen Schädigung vor allem der Nierentubuluszellen. Nach der RKM-Applikation kommt es in der Niere zu einer biphasischen Änderung der Hämodynamik. Einer initialen Vasodilatation der arteriellen Gefäße der Niere, und der dadurch bedingten initialen Erhöhung des renalen Blutflusses, folgt eine länger anhaltende Vasokonstriktion der renalen Arterien und Arteriolen. Diese ist für die Ischämie in der Medulla der Niere mit Zellnekrosen und Apoptosen verantwortlich [6, 94, 129].

Mikrozirkulationsstörung

Auf Ebene der Mikrozirkulation nimmt die kapilläre Erythrozytengeschwindigkeit nach der Gabe von RKM deutlich ab, was aus einer durch die RKM bedingten kurzfristigen Zunahme der Blutviskosität und einer gesteigerten Erythrozytenaggregation resultiert [8, 68]. Dadurch verlängert sich die Verweildauer der RKM. Somit verbleibt durch die verlängerte Kontaktzeit des RKM mehr Zeit, um direkte Zellschäden zu verursachen.

Direkte Nephrotoxizität durch freie Sauerstoffradikale

Bereits 1987 fanden Humes et al. Hinweise auf eine direkte Nephrotoxizität von RKM [49]. Verursacher der direkten Nephrotoxizität der RKM sind unter anderem reaktive Sauerstoffspezies[2] (ROS). Sie werden in der Ischämie- und Reperfusionsphase von Endothelzellen, von aktivierten Leukozyten und direkt durch den Einfluss von RKM gebildet, und sind verantwortlich für die Gewebeschädigung vor allem an Nierentubuluszellen [10, 28, 53, 59, 67, 94, 115, 123, 129].
Die durch ROS verursachten Schäden äußern sich in Form von Apoptosen, mitochondrialen Schädigungen und Abhebung der Tubuluszellen von der Basalmembran. In den Tubuluszellen kommt es zu Desoxyribonucleinsäure (DNS)-Einzel- und Doppelstrangbrüchen, alkaliinstabilen DNS-Loci und oxidierten Purin- und Pyrimidin-Basen mit konsekutiver zellulärer Dysfunktion oder Zelluntergang durch Apoptose [74, 75, 127].
Die induzierten Schäden lassen sich vor allem an Zellen nachweisen, welche einer hohen RKM-Dosis ausgesetzt waren, so zum Beispiel den Nierentubuluszellen. Allerdings lassen sich DNS-Schäden auch an kernhaltigen Blutzellen nachweisen [23].
Einen körpereigenen antioxidativen Schutz bieten Substanzen wie z. B. Glutathion [62]. Bereits entstandene DNS-Schäden werden von DNS-Reparaturenzymen beseitigt. Bei hohen Konzentrationen oder länger einwirkender Noxe kann es aber dennoch zu bleibenden DNS-Schäden und Apoptose der geschädigten Zellen kommen [24, 127].

[2] z. B. Superoxidanionen, Hydroxylradikale

1.1.5 Prophylaxe

Neben allgemeinen Maßnahmen, wie der Verabreichung möglichst kleiner RKM-Mengen und dem Meiden von weiteren potenziell nephrotoxischen Substanzen, war es Ziel vieler Studien, die Inzidenz der KN durch präventive Gabe von Medikamenten zu senken.
Aus der Pathogenese der KN ergeben sich Interventionsmöglichkeiten, einerseits in der Verhinderung einer medullären Ischämie, andererseits in der Verminderung der durch ROS vermittelten DNS-Schäden.

Flüssigkeitsgabe / Hydratation

Die einfachste und bisher effektivste Möglichkeit zur Prophylaxe besteht in einer ausreichenden Hydratation des Patienten mit dem Ziel, die Verweildauer und somit die Kontaktzeit des RKM durch gesteigerte Diurese zu verringern. Des Weiteren wird ein Verdünnung des RKM erzielt, sowie eine eventuell bestehende Dehydratation ausgeglichen [34]. Die Flüssigkeit wird meist intravenös verabreicht, da die intravenöse Substitution von isotonischer Natriumchlorid-Lösung (NaCl) einer gesteigerten Trinkmenge zur Prophylaxe der KN überlegen ist [119].
Solomon et al. veröffentlichten 1994 eine Studie, in welcher an 78 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz bei Applikation von RKM im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung der Effekt der alleinigen Infusion von NaCl 0,45% im Vergleich zu NaCl 0,45% mit zusätzlicher Gabe von Furosemid oder Mannitol untersucht wurde. Dabei zeigte sich die Gruppe mit alleiniger NaCl-Infusion den beiden anderen Gruppen als überlegen [109].
In einer Studie aus dem Jahre 2002 konnten Müller et al. in einer Studie an 1620 Patienten, welche sich einer Herzkatheteruntersuchung unterziehen mussten, den Vorteil von isotonischer NaCl-Lösung (0,9%) gegenüber halbisotonischer NaCl-Lösung (0,45%) darlegen. Es wurde um 8 Uhr am Untersuchungstag die Infusion mit 1 ml/kg/Körpergewicht/Stunde begonnen. Während des Eingriffes war die Infusionsgeschwindigkeit abhängig von den Untersuchungsbedingungen. Die Infusion wurde im Anschluss bis zum Folgetag (8 Uhr) mit 1 ml/kg/Körpergewicht/Stunde fortgesetzt [84].
Aufgrund der nicht unerheblichen Volumenbelastung müssen Patienten mit vorbekannter Herzinsuffizienz jedoch unter Abschätzung des individuellen Risikos behandelt werden.

Osmolarität der Röntgenkontrastmittel

Nicht nur die chemische Zusammensetzung, sondern auch die Osmolarität (Anzahl der osmotisch aktiven Teilchen pro Liter Lösung) eines RKM hat Einfluss auf seine nephrotoxische Wirkung.
Erste Fortschritte wurden mit der Entwicklung der niederosmolaren RKM (600 mos-

mol/l), im Vergleich zu den früher verwendeten hochosmolaren RKM (1200 mosmol/l), wie z. B. Diatrizoat gemacht. Bei der Verwendung dieser nichtionischen, niederosmolaren Kontrastmittel wie z. B. Iohexol im Vergleich zu den früher verwendeten ionischen Kontrastmitteln mit hoher Osmolarität ist eine geringere Inzidenz der KN zu erwarten [98].

Neuere, isoosmolare RKM (300 mosmol/l) wie z. B. Iotrolan und Iodixanol verursachen im Vergleich zu den niederosmolaren RKM häufiger eine Erythrozytenaggregation, führen zur Beeinflussung der Mikrozirkulation sowie zu vermindertem renalen Blutfluss [7, 27, 68, 69]. Die höhere Viskosität der isoosmolaren RKM im Vergleich zu den niederosmolaren RKM kann die medulläre Hypoxämie der Niere sogar verstärken. So führt die durch die höhere Viskosität verlängerte renale Passagezeit unter Umständen zu erhöhten intratubulären Drücken, welche die GFR durch Kompression peritubulärer Gefäße weiter herabsetzen können [58, 100, 120].

Studien an Zellkulturen zeigen, dass bei der Verwendung von isoosmolaren RKM sogar eine stärkere DNS-Schädigung als bei den bisher verwendeten niederosmolaren Kontrastmitteln zu erwarten ist (persönliche Mitteilung von Dr. med. Ulla Häussler, Zentrum für Innere Medizin, Klinik für Innere Medizin I, Sektion Nephrologie, Universitätsklinikum Ulm). Erste klinische Studien mit isoosmolaren RKM zeigen, dass deren Verwendung im Vergleich zu niederosmolaren RKM, zu einer Erhöhung der KN-Inzidenz führen kann [69].

Zusammenfassend reduziert die Verwendung von niederosmolaren RKM, im Vergleich zu hochosmolaren RKM, die Inzidenz der KN.

Der Stellenwert der neueren isoosmolaren RKM muss in weiteren klinischen Studien noch geklärt werden [7, 69, 100].

Postinterventionelle Hämodialyse

Die Anwendung der Hämodialyse (HD) zur Prophylaxe der KN beruht auf der Annahme, dass durch die schnellere Elimination des RKM weitere Schäden vermieden werden. Dabei ist aber unklar, ob durch eine längere Verweildauer oder eine höhere Konzentration der RKM überhaupt die Inzidenz der KN und das Ausmaß des Schadens beeinflusst wird.

Durch HD können RKM effektiv aus dem Organismus entfernt werden [80, 117]. Dass dies aber nicht unbedingt einen Benefit für die behandelten Patienten bedeuten muss, zeigt eine Studie aus dem Jahre 2001 von Vogt et al. [121]. Es wurden 113 Patienten mit chronischer, stabiler Niereninsuffizienz (Serumkreatinin $>$ 2,26 mg/dl) untersucht, welche entweder 1ml/kg/h Natriumchloridlösung vor und nach der RKM-Applikation, oder Natriumchloridlösung vor, und eine HD nach der RKM-Applikation erhielten.

Die mit postinterventioneller HD behandelte Gruppe unterschied sich im Vergleich zur

Kontrollgruppe im maximalen Anstieg des Serumkreatinins nicht signifikant. In der Subgruppenanalyse derjenigen Patienten, welche mehr als 150 ml Kontrastmittel erhalten hatten, konnte kein Benefit der HD im Bezug auf die Höhe des Serumkreatinins festgestellt werden. In der Gruppe, welche eine prophylaktische HD nach RKM-Gabe erhalten hatte, mussten sogar mehr Patienten erneut dialysiert werden, oder erlitten eine Verschlechterung der Nierenfunktion (8 vs. 3 Patienten) [121].
Zu einer ähnlichen Feststellung kamen Sterner et al.. Ihre Studie zeigte, dass es durch HD zwar gelingt, den RKM-Spiegel signifikant zu reduzieren, sich jedoch bei der gemessenen Iohexol-Clearance zwischen der mit HD behandelten Gruppe und der Kontrollgruppe kein Unterschied einstellt [112].
Kritikpunkt an den aufgeführten Studien ist jeweils das kleine Patientenkollektiv.
Des Weiteren kann die HD das antioxidative System durch Verlust von ungebundenen, hydrophilen Substanzen wie z. B. Vitamin C oder Bestandteilen der Enzymregulation negativ beeinträchtigen. Während einer HD werden Interleukine sowie Anaphylatoxine produziert, welche die Nicotinamidadenindinukleotidphosphat-Oxidase (NADPH) aktivieren. Die Aktivierung der NADPH-Oxidase führt zu einer Überproduktion von ROS [82]. Andere Auslöser einer Überproduktion von ROS durch Aktivierung der NADPH-Oxidase sind: Blutinkompatibilität des Dialysesystems und Spuren von Endotoxinen im Dialysat [82, 83].
Zusammenfassend kann die postinterventionelle, prophylaktische HD als Routinemaßnahme nicht empfohlen werden [15, 103].

Periinterventionelle Hämofiltration

In einer 2003 veröffentlichten Studie an 114 Hochrisikopatienten mit einem Serumkreatinin von $> 176{,}8$ μmol/l haben Marenzi et al. gezeigt, dass Hämofiltration ein wirksames Verfahren zur Senkung der Inzidenz der KN sein kann [71]. Durch Hämofiltration ist ein hoher Flüssigkeitsumsatz ohne Volumenüberladung des Körpers, und somit scheinbar eine effektive Verdünnung und Elimination der RKM möglich. Des Weiteren vorteilhaft ist eine gewisse hämodynamische Stabilität.
Allerdings muss man auch den erhöhten personellen und finanziellen Aufwand durch die intensivere Überwachung der Patienten bedenken. Des Weiteren besteht ein nicht zu vernachlässigendes Risiko, z. B. bei der Punktion zur Anlage eines Dialysekatheters. Aufgrund der beträchtlich höheren Kosten und des größeren Aufwandes im Vergleich zur bisher effektivsten Prophylaxe, der intravenösen Hydratation, bleibt die Hämofiltration dem Einzelfall vorbehalten und stellt keine Routinemaßnahme zur Prophylaxe der KN dar.

Vasoaktive Substanzen, Diuretika und Osmotherapeutika

Zur Verhinderung einer RKM-induzierten medullären Ischämie wurden verschiedene vasoaktive Substanzen, Furosemid als Diuretikum sowie Mannitol als Osmotherapeutikum untersucht. Zusammenfassend führten die untersuchten Substanzen nur unter ausgesuchten Bedingungen zu einer Reduktion der KN-Inzidenz. Somit ist zum momentanen Zeitpunkt deren Einsatz zur routinemäßigen Prophylaxe nicht zu empfehlen. Eine Übersicht der zur Prophylaxe der KN untersuchten Substanzen zeigt Tabelle 1.1 auf Seite 15.

Antioxidative Substanzen

Die Identifizierung von ROS als weiterem Bestandteil der Pathogenese der KN eröffnete neue Wege der pharmakologischen Intervention. Antioxidative Substanzen rückten in das Interesse der Forschung. Zu der heterogenen Gruppe der antioxidativen Substanzen zählen unter Anderen die Thiolgruppen-haltigen Substanzen Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA) und N-Acetylcystein (NAC) [40, 75, 115].
Aktuelle Studien mit NAC haben gezeigt, dass eine Therapie mit Antioxidantien die Nierenfunktionsstörung nach Applikation von RKM reduzieren kann [73, 115].
NAC reichert sich jedoch nur zu 10% im Urogenitaltrakt an, es wird hauptsächlich hepatisch metabolisiert [105]. MESNA hingegen wird überwiegend renal ausgeschieden (76% innerhalb einer Stunde bei normaler Nierenfunktion) und kumuliert somit am Ort der gewünschten Wirkungsentfaltung [105].

Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA)
Die bekannte Anwendung von MESNA erfolgt zur Prophylaxe der Urotoxizität von Oxazaphosphorinen (Ifosfamid, Cyclophosphamid, Trofosfamid), welche zur antineoplastischen Chemotherapie eingesetzt werden. MESNA bindet den durch die Chemotherapeutika gebildeten Metaboliten Acrolein und vermindert so dessen urotoxische und kanzerogene Wirkung [105].
Durch seine Thiolgruppe weist MESNA einen antioxidativen Effekt auf [40, 75]. Des Weiteren verhindert es das Aufbrauchen der endogenen antioxidativen Glutathionspeicher durch Bereitstellung von Thiolgruppen [51].
Durch Abfangen von ROS vermindert MESNA im Tierversuch eine strukturelle sowie funktionelle Schädigung von Rattennieren bei durch Ischämie induziertem akutem Nierenversagen [75].
MESNA kann als intravenöser Bolus vor der Gabe von RKM appliziert werden und eignet sich dadurch auch zur Behandlung von Notfall-Patienten und für Untersuchungen, welche noch am gleichen Tag durchgeführt werden müssen [40, 75]. Der renale Blutfluss wird durch MESNA nicht beeinflusst [75].

Tabelle 1.1: Vasoaktive Substanzen, Diuretika und Osmotherapeutika in der Prophylaxe der Kontrastmittelnephropathie - Studienübersicht ([1, 32, 35, 48, 52, 54–56, 60, 88, 92, 101, 109, 110, 124])
ANP = atriales natriuretisches Peptid, ANV = akutes Nierenversagen, KN = Kontrastmittelnephropathie, NI = Niereninsuffizienz, RKM = Röntgenkontrastmittel, Pat. = Patienten

Vasoaktive Substanzen		
Dopamin	Weisberg et al. (1993)	Patienten ohne Diabetes profitieren von Dopamin; Diabetiker haben ein höheres Risiko bzgl. des Auftretens einer KN
	Abizaid et al. (1999)	Schädliche Wirkung mit Verlängerung des Verlaufs
	Pereira et al. (2004)	Steigerung der Diurese; die Kreatininclearance wird nicht signifikant beeinflusst
	Lauschke et al. (2006)	'low-dose' Dopamin (2 µg/kg/min) kann die Nierendurchblutung bei Patienten mit ANV verschlechtern
ANP	Kurnik et al. (1990,1998)	Nierendurchblutung steigt; Diabetiker haben ein höheres Risiko bzgl. Inzidenz einer KN
Ca^{2+}-Kanal Blocker	Russo et al. (1990), Neumayer et al. (1989), Khoury et al. (1995)	keine Patienten mit hohem Risiko eingeschlossen; zu kleines Patientenkollektiv; nicht vergleichbare Gruppen
Theophyllin	Erley et al. (1994,1999), Katholi et al. (1995), Abizaid et al. (1999)	eine Verbesserung zur alleinigen Hydratation konnte nicht überzeugend dargestellt werden; in einigen Studien konnten Veränderungen der Nierenfunktion durch RKM verhindert werden
	Huber et al. (2003)	prophylaktische Gabe von 200 mg Theophyllin reduziert die Inzidenz der KN bei Pat. mit chronischer NI
Diuretika / Osmotherapeutika		
Furosemid	Solomon et al. (1994,1998)	Furosemid + Hydratation schlechter als alleinige Hydratation
Mannitol	Solomon et al. (1994,1998)	Mannitol + Hydratation bei Patienten mit NI schlechter als alleinige Hydratation

Wesentlich, im Vergleich zu anderen antioxidativen Substanzen, ist die überwiegend renale Ausscheidung von MESNA und somit die Anreicherung in Niere und Harntrakt. Bei normaler Nierenfunktion sind etwa 90% von MESNA bereits zwei Stunden nach intravenöser Applikation mit dem Urin ausgeschieden.
In einer In-vitro-Studie an menschlichen Nierentubuluszellen (HK-2) konnten Häussler et al. zeigen, dass MESNA einen durch Wasserstoffperoxid induzierten oxidativen DNS-Schaden signifikant reduzieren kann. In einer angeschlossenen Pilot-Studie konnte an 12 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz dargelegt werden, dass MESNA auch in vivo die Inzidenz der KN reduziert [43].

N-Acetylcystein (NAC)
N-Acetylcystein ist als thiolgruppenhaltiges Medikament seit Jahren zur Therapie, beispielsweise bei der Intoxikation mit Paracetamol, im klinischen Einsatz.
Beginnend mit Tepel et al. (2000) wurde NAC zur Prophylaxe der KN untersucht. In der Studie von Tepel et. al zeigte sich bei Applikation von 2x 600 mg NAC pro Tag zusätzlich zur intravenösen Hydratation mit halbisotonischer NaCl-Lösung, eine signifikante Reduktion der KN-Inzidenz in der mit NAC behandelten Gruppe [115].
Dieser Studie folgten weitere, welche die Wirksamkeit von NAC zur Prophylaxe der KN bestätigten [28, 30]. Briguori et al. (2003) fanden heraus, dass die orale Einnahme von 2,4 g (2x 1,2 g) NAC pro Tag wirksamer ist, als die Einnahme von 1,6 g (2x 800 mg) pro Tag [17]. Auch Marenzi et al. (2006) bestätigten den prophylaktischen Effekt von NAC, allerdings erst beim Einsatz von noch höheren Dosen. In dieser Studie wurden 1,2 g NAC als intravenöser Bolus vor der Untersuchung und für weitere 48 Stunden 2,4 g (2x 1,2 g) pro Tag oral verabreicht. Bei den Patienten, welche 1,2 g NAC bei zweimal täglicher Gabe, im Vergleich zur sonst applizierten Menge von zweimal 600 mg erhielten, kam es signifikant seltener zu einem Ansteigen des Serumkreatinins um $> 25\%$ innerhalb von 48 Stunden [73].
Der erst bei höheren Dosen nachweisbare Effekt könnte sich durch die schlechte Anreicherung im Harntrakt erklären.
In einer im Jahre 2003 erschienenen Metaanalyse von Birck et al. führt die Gabe von NAC zusätzlich zur Hydratation zu einer relativen Risikoreduktion von 56%, eine KN zu entwickeln [16].
Es gibt jedoch auch andere Studien, die keinen Vorteil von NAC in Kombination mit intravenöser Hydratation gegenüber alleiniger Hydratation feststellen konnten [29, 38].

Zusammenfassend zeigen sich divergente Ergebnisse bezüglich des prophylaktischen Einsatzes von NAC [116]. Auch ein direkter Nachweis einer Nephroprotektion durch NAC fehlt bisher. Des Weiteren scheint NAC auf noch ungeklärte Weise den Kreatininstoffwechsel zu beeinflussen [45].

1.1.6 Prognose

Obwohl das Auftreten einer KN in vielen Fällen nur einen temporären Anstieg des Kreatinins im Serum ohne bleibende Funktionseinbuße der Nieren bedeutet, so kann deren Auftreten doch zum Beispiel eine temporäre oder permanente extrakorporale Nierenersatztherapie erforderlich machen und im schlimmsten Falle zum Tode führen. Bei Patienten, welche während des Krankenhausaufenthaltes eine KN erleiden, ist die 5-Jahres Sterblichkeit mit 44,6%, im Vergleich zu 14,5 %, bei Patienten ohne KN signifikant erhöht [97].
Das Auftreten einer KN welche eine Dialyse notwendig macht ist selten (<1%), ist jedoch vergesellschaftet mit hoher Krankenhaussterblichkeit (27,5 - 35,7%), schlechter Langzeitprognose sowie verlängertem Krankenhausaufenthalt mit den damit verbundenen höheren Kosten [42, 72, 76].

1.2 Fragestellung

Aufgrund von Voruntersuchungen und der dargelegten Pathogenese der KN ist es wahrscheinlich, dass man die Inzidenz der KN durch prophylaktische Applikation von antioxidativen Substanzen senken kann.
In-vitro-Studien, Tierstudien und eine Pilot-Studie haben gezeigt, dass durch die prophylaktische Applikation von MESNA der durch ROS induzierte DNS-Schaden vermindert, und die Inzidenz der KN gesenkt werden kann. Bisher wurde aber noch in keiner klinischen Studie am Menschen die Wirksamkeit von MESNA im Bezug auf die Prophylaxe der KN untersucht.
Durch die bessere Anreicherung im Harntrakt im Vergleich zu NAC scheint MESNA besonders geeignet, durch ROS vermittelte Schäden, welche einen wichtigen Baustein in der Pathogenese der KN darstellen, zu vermindern.

Zum Beweis der Hypothese, dass die prophylaktische Gabe von MESNA die Inzidenz der KN senkt, wurde die vorliegende doppelblinde, randomisierte und plazebokontrollierten Studie an Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (Serumkreatinin $\geq$ 150 μmol/l) und hohem Risiko bezüglich des Auftretens einer KN durchgeführt. MESNA wurde in einer intravenösen Dosierung von 1600 mg periinterventionell, zusätzlich zur intravenösen Hydratation mit NaCl 0,9%, im Vergleich zu einer alleinigen Hydratation mit NaCl 0,9%, eingesetzt.

2 Material und Methoden, Patientenkollektiv

2.1 Studienprotokoll

Das Studienkonzept wurde der Ethikkommission der Universität Ulm zur Beurteilung vorgelegt und am 11.9.2002 genehmigt.
Das Studiendesign entspricht einer prospektiven, randomisierten und plazebokontrollierten Doppelblindstudie.
Die Zuteilung der Patienten zur Verum- oder Plazebogruppe erfolgte randomisiert durch die Abteilung für medizinische Statistik der Universität Ulm.

Die Patienten wurden im Rahmen der Aufklärung vollständig über das Ziel und das Konzept der Studie, die notwendigen Vor- und Nachuntersuchungen, den Ablauf der Untersuchung sowie über die erhoffte Wirkung und die Risiken der Behandlung aufgeklärt. Die Patienten wurden darüber informiert, dass sie jederzeit ihre Einwilligung zurückziehen können und dass ihre Daten streng vertraulich behandelt werden.
Zur Teilnahme an der Studie musste eine schriftliche Einverständniserklärung vorliegen. Diese beinhaltete die Zustimmung zur intravenösen Applikation der Prüfsubstanz und zu den nötigen Laboruntersuchungen und den damit verbundenen Blutentnahmen.
Die Patienten wurden ausdrücklich darüber informiert, dass neben der Verum-Medikation auch ein Plazebo-Protokoll, in Form der anerkannten Standardprophylaxe, im Studienkonzept enthalten war.
Im Sinne einer Doppelblindstudie, erhielten die Patienten vor Studienabschluss keine Auskunft darüber, welchem Studienarm sie zugeordnet waren.

Um die Fragestellungen der vorliegenden Studie beantworten zu können, wurden von jedem Patienten die folgenden Informationen erhoben:

- persönliche Daten
- Medikamentenanamnese
- relevante Begleiterkrankungen (z. B. arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, koronare Herzkrankheit, arterielle Verschlusskrankheit)
- Ursache der Nierenerkrankung (sofern bekannt)
- Art der Kontrastmitteluntersuchung (Computertomografie, Koronarangiografie, Angiografie)

- Wirkstoff und Menge des verwendeten RKM
- Applikationsart des RKM: intraarteriell (i.a.), intravenös (i.v.)
- Nebenwirkungen / unerwünschte Ereignisse

Im Rahmen der Studie wurden folgende Laborparameter gemessen:

- Hämoglobin
- Natrium, Kalium, Harnstoff im Serum
- Gesamtprotein im Serum
- Albumin
- Proteinurie, Hämaturie, Leukozyturie
- Cholesterin, HDL, LDL im Serum
- HbA1c (bei Diabetikern)
- Nüchtern-Glucose im Serum
- Kreatinin im Serum
  a) vor der RKM-Applikation (Ausgangs-Wert bzw. Baseline-Wert)
  b) 24 und 48 Stunden nach der RKM-Applikation
- Bestimmung der durch ROS verursachten DNS-Schäden im EDTA-Vollblut
  a) vor der RKM-Applikation
  b) unmittelbar nach der RKM-Applikation
- Berechnung der GFR nach der Formel 'modification of diet in renal disease' (MDRD-2)
  a) vor der RKM-Applikation
  b) 24 und 48 Stunden nach der RKM-Applikation

Die Bestimmung der oben aufgeführten Laborparameter, inklusive der ROS, erfolgte durch venöse Blutentnahme.
Die Bestimmung der ROS nach der Untersuchung erfolgte durch Blutentnahme aus dem liegenden Katheter (i.a. oder i.v.), oder durch venöse Blutentnahme.

Begleitmedikation

Die Medikation der Studienpatienten wurde zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses protokolliert. Die Einnahme von potenziell nephrotoxischen Medikamenten wie z. B. nichtsteroidaler Antirheumatika (NSAR) wurde getrennt erfasst.
Die intravasale Anwendung von RKM kann zu einer vorübergehenden Beeinträchtigung der Nierenfunktion führen, die bei Diabetikern, welche Metformin einnehmen, eine Laktatazidose auslösen kann. Deswegen wurden bei Diabetikern, welche Metformin einnehmen mussten, die Gabe von Metformin für mindestens 48 Stunden vor und nach der Untersuchung pausiert.

Röntgenkontrastmittel

Die Entscheidung über das zu verwendende RKM lag in der Verantwortung des entsprechenden Untersuchungsarztes.
Das Kontrastmittel wurde je nach durchgeführter Untersuchung intraarteriell oder intravenös appliziert. Die Applikationsart wurde gesondert dokumentiert.
Bis auf einen Patienten, welcher isoosmolares RKM erhalten hatte, erhielten alle Patienten niederosmolare RKM.
Bei den Untersuchungen kamen die folgenden jodhaltigen RKM zum Einsatz:

- Iopromid (Ultravist, Schering AG), 300 mg Jod/ml, niederosmolar (Osmolalität 610 mosmol/kg Wasser)
- Iomeprol (Imeron, Altana Pharma AG), 350 mg Jod/ml, niederosmolar (Osmolalität 618 mosmol/kg Wasser)
- Iopamidol (Solutrast, Altana Pharma AG), 250 mg Jod/ml, niederosmolar (Osmolalität 515 mosmol/kg Wasser)
- Iodixanol (Visipaque, GE Healthcare Buchler), 320 mg Jod/ml, isoosmolar (290 mosmol/kg Wasser[1])

Eine Übersicht über die verwendeten RKM im Gruppenvergleich ist in Tabelle 3.1 auf Seite 39 zu finden.

2.1.1 Patientenkollektiv, Einschluss- und Ausschlusskriterien

Insgesamt wurden im Zeitraum vom 1.10.2002 bis zum 30.11.2004 106 Patienten der Medizinischen Universitätsklinik Ulm mit einem Mindestalter von 18 Jahren sowie einer über mindestens 6 Monate vorbestehenden stabilen Niereninsuffizienz und einem

[1]Iodixanol (Visipaque) hat in der rein wässrigen Lösung in allen klinisch relevanten Konzentrationen eine geringere Osmolalität als Vollblut. Durch Zusatz von Elektrolyten verhält sich Visipaque zu den normalen Körperflüssigkeiten isotonisch

Serumkreatinin größer $\geq$150 μmol/l (1,7 mg/dl) in die Studie eingeschlossen. Bei diesen Patienten musste während ihres Klinikaufenthaltes entweder eine Koronarangiografie, eine diagnostische und/oder therapeutische Angiografie oder eine Computertomografie mit der Gabe von RKM indiziert sein. Die Indikation zur Untersuchung wurde von der behandelnden Abteilung gestellt und war unabhängig von der Teilnahme an der Studie. Wegen des geplanten Hydratationsregimes musste eine ausreichende intravenöse Flüssigkeitsgabe periinterventionell möglich sein.

Nicht in die Studie aufgenommen wurden folgende Patienten:

- Patienten mit ansteigenden Retentionsparametern oder akutem Nierenversagen
- Patienten, welche bereits im chronischen Dialyseprogramm aufgenommen waren
- Patienten, welche innerhalb von 7 Tagen vor Aufnahme in die Studie bereits RKM erhalten hatten
- Patienten mit bekannter Allergie gegen MESNA
- Patienten, bei denen eine perkutane transluminale Angioplastie (PTA) der Nierenarterien geplant war
- Patienten, welche Dopamin, NAC oder Mannitol während der geplanten Studiendauer erhalten mussten
- schwangere Patientinnen
- Patienten, welche bereits an einer anderen Studie teilnahmen

8 Patienten mussten vor Auflösung der Randomisierung aus der Auswertung genommen werden: Bei 3 Patienten fehlten, aufgrund vorzeitiger Entlassung, die zur Auswertung notwendigen Kreatininwerte nach 48 Stunden. Bei weiteren 2 Patienten wurde die geplante diagnostische Angiografie der Nierenarterien um eine perkutane transluminale Angioplastie (PTA) an den Nierenarterien erweitert [2]. Bei weiteren 2 Patienten wurde anstatt 1600 mg Prüfsubstanz nur 800 mg appliziert. Ein Patient wurde innerhalb des Beobachtungszeitraumes ein weiteres Mal mit RKM untersucht.
Demnach resultieren die vorliegenden Ergebnisse aus den erhobenen Daten von insgesamt 98 Patienten. Eine detaillierte Übersicht über die Patientencharakteristika findet sich im Kapitel 3.1 (Deskriptive Statistik) auf Seite 35 sowie in Tabelle 3.1 auf Seite 39.

[2] da bei dieser Intervention eine Beeinflussung der Nierenfunktionsparameter nicht ausgeschlossen ist wurden diese Patienten aus der Studie ausgeschlossen

2.1.2 Verumgruppe (MESNA)

24 Stunden vor geplanter RKM-Exposition wurde die Gabe von Diuretika pausiert. Die Patienten der Verumgruppe erhielten vor der RKM-Exposition 1000 ml 0,9%-ige NaCl-Infusion i.v.. Die Infusionsgeschwindigkeit variierte je nach verbleibender Zeit bis zur Untersuchung. Fünf Minuten vor der RKM-Exposition wurde die intravenöse Gabe von 1600 mg MESNA in 500 ml 0,9%-iger NaCl-Lösung begonnen und bis zum vollständigen Verbrauch infundiert (etwa 6,5 Stunden bei 80ml/h). Ziel war es, die Infusion während der geplanten Kontrastmittelgabe zu verabreichen, um so die freigesetzten ROS abzufangen. Direkt nach der RKM-Exposition erhielten die Patienten über weitere vier Stunden 500 ml 0,9%-ige NaCl-Lösung i.v. und Furosemid i.v. als Bolus in derselben Dosierung, welche sie schon vor der Untersuchung p.o. erhalten hatten. Patienten, welche kein Furosemid in ihrer Eigenmedikation hatten, erhielten nach der RKM-Applikation einen Bolus Furosemid 20 mg i.v..

2.1.3 Plazebogruppe

Bis auf die Applikation von 500 ml NaCl 0,9% als Plazebomedikation erhielten die Patienten der Plazebogruppe die gleiche Behandlung wie die Patienten der Verumgruppe.

2.1.4 Zeitpunkt der Messungen

Das Serumkreatinin wurde vor der Untersuchung (Ausgangswert) und zu den Zeitpunkten 24 und 48 Stunden nach RKM-Applikation durch venöse Blutentnahme bestimmt. Aus den gemessenen Kreatininwerten wurde die GFR nach der Formel MDRD-2 errechnet. Die DNS-Schädigung wurde mittels 'Comet-Assay' vor und nach der RKM-Applikation aus venösem oder arteriellem EDTA-Vollblut bestimmt.

2.1.5 Schematisches Studienprotokoll

Eine schematische Darstellung des Studienprotokolls zeigt Abbildung 2.1 auf Seite 23.

2.1.6 Endpunkte

Primärer Endpunkt war das Auftreten einer KN durch Anstieg des Serumkreatinins um 44 μmol/l (= 0,5 mg/dl) über den Ausgangswert innerhalb von 48 Stunden nach RKM-Applikation. Sekundäre Endpunkte waren alle klinisch relevanten Nebenwirkungen, einschließlich der Notwendigkeit einer Hämodialyse oder Hämofiltration.

2.1.7 Nachuntersuchungen und Kontrollen

Alle Patienten wurden nach der RKM-Untersuchung mindestens 48 Stunden stationär überwacht. Bei klinischer oder laborchemischer Verschlechterung wurden eventuell zusätzlich notwendige Kontrollen und Untersuchungen (Auskultation der Lunge, Kontrolle der Urinmenge usw.) veranlasst, und die Patienten gegebenenfalls einer Nierenersatztherapie zugeführt.

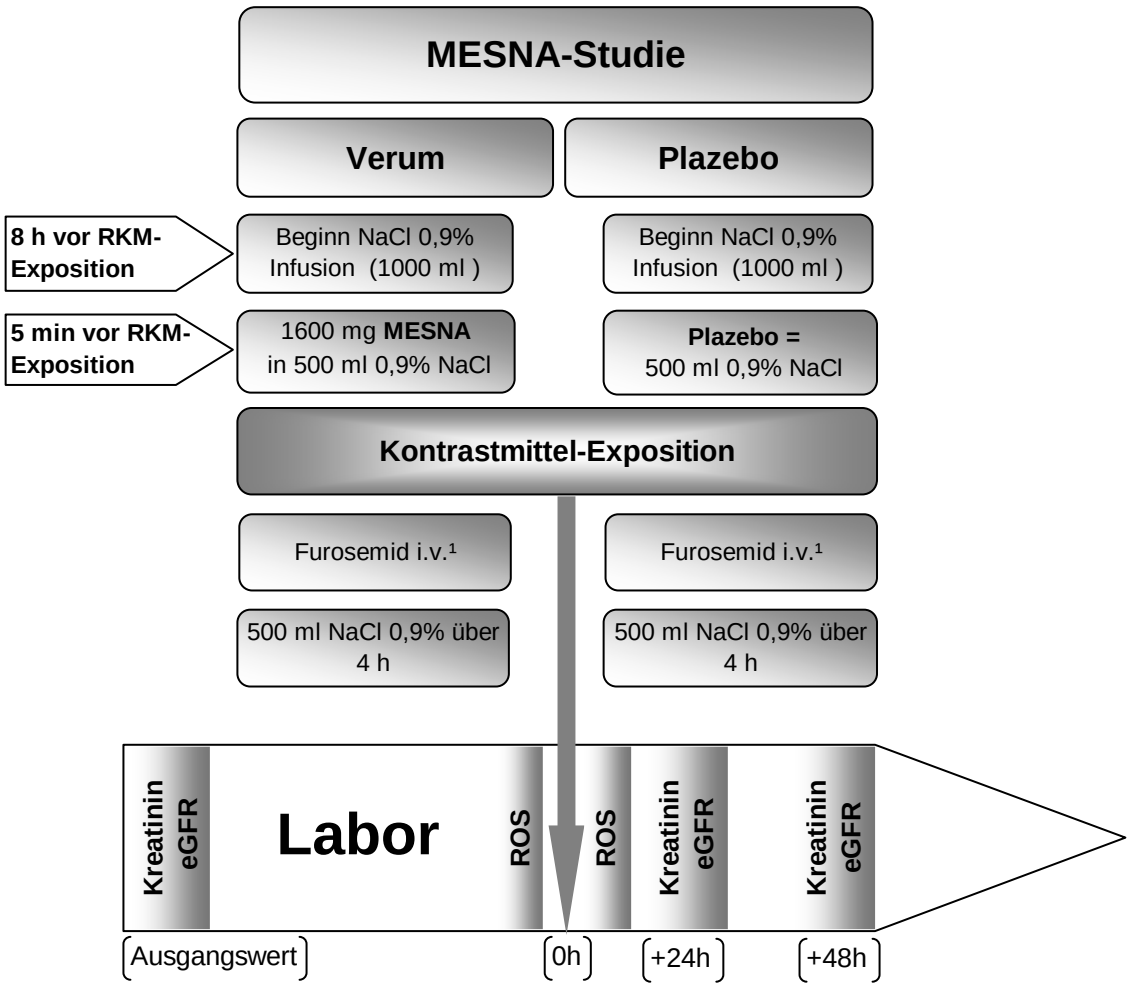


Abbildung 2.1: Schematisches Studienprotokoll - Schematische Darstellung des Studienablaufes mit Messzeitpunkten.
eGFR = nach der vereinfachten Formel 'modification of diet in renal disease' geschätzte glomeruläre Filtrationsrate, MESNA = Natrium-2-Mercaptoethansulfonat, NaCl = Natriumchlorid, RKM = Röntgenkontrastmittel, ROS = reaktive Sauerstoffspezies, [1] = Furosemid i.v. in derselben Dosierung wie in der Eigenmedikation, ansonsten Furosemid 20 mg i.v.

2.2 Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA)

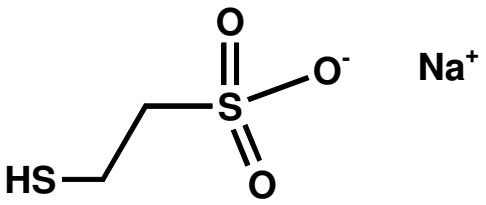


Abbildung 2.2: Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA)

Anwendung und Wirkungsweise

Die bekannte Anwendung von MESNA erfolgt zur Verringerung der Urotoxizität von Oxazaphosphorinen (Ifosfamid, Cyclophosphamid, Trofosfamid), die zur antineoplastischen Chemotherapie eingesetzt werden. MESNA bindet den durch die Chemotherapeutika gebildeten Metaboliten Acrolein und mindert so die urotoxische und kanzerogene Wirkung des Acroleins [105].
Durch die Anwesenheit einer Thiol-Gruppe weist MESNA, wie andere thiolgruppenhaltige Substanzen (z. B. NAC), einen antioxidativen Effekt auf [105].
In der vorliegenden Studie wurde der antioxidative Effekt genutzt, um ROS, welche Nierentubuluszellen schädigen können, abzufangen. Dabei ist der nephroprotektive Effekt von MESNA in Tierstudien bei Applikation 5 Minuten vor Reperfusion bzw. vor dem Entstehen eines Reperfusionsschadens durch ROS am größten [40, 75].

Dosierung

Häussler et al. untersuchten in einer Pilot-Studie 12 Patienten mit einem Serumkreatinin > 203 μmol/l, welche mehr als 150 ml RKM erhalten hatten. Bei Applikation von 800 mg MESNA und zusätzlicher Hydratation mit 0,9%-iger NaCl-Lösung wurde ein Anstieg des Serumkreatinins nach Verabreichung von RKM verhindert. Diese Dosis wurde gut vertragen [43].
Im Tierversuch wurden Dosen bis 180 mg/kg vertragen [75]. Die letale Dosis (LD_{50}) bei Ratten liegt bei 1200 bis 2000 mg/kg [19].
Erfahrung mit der intravenösen Applikation von MESNA liegen bei dessen Anwendung zur Verringerung der Urotoxizität von Oxazaphosphorinen vor. Dabei kommt MESNA bei Erwachsenen üblicherweise in einer Dosis von je 20% der Oxazaphosphorin-Dosierung zu den Zeitpunkten Null (Gabe des Oxazaphosphorins), nach 4 Stunden und

nach 8 Stunden intravenös appliziert zur Anwendung. Somit werden bei Gabe von 40 mg/kg Oxazaphosphorin etwa 8 mg/kg MESNA in drei Gaben intravenös verabreicht. Bei einem Gewicht von 75 kg ergibt das eine Gesamtmenge pro Tag von 1800 mg.
Da Nebenwirkungen erfahrungsgemäß erst ab einer intravenösen Dosierung von 60 mg/kg zu erwarten sind und in der Studie von Häussler et al. bei Applikation von 800 mg keine Nebenwirkungen auftraten, wurde die Dosierung, unter der Vermutung eines dosisabhängigen Effektes, in der vorliegenden Studie auf 1600 mg Gesamtdosis erhöht.

Pharmakokinetik von MESNA

MESNA wird nach oraler wie auch intravenöser Applikation in der Blutbahn relativ rasch zu der nichtreaktiven, dimeren Form Di-MESNA (2,2‘-bis-Ethanolsulfonat) autooxidiert. Durch erneute Reduktion, z. B. in Nierentubuluszellen, und erneute Reabsorption in die Blutbahn stellt sich ein Äquilibrium zwischen MESNA und Di-MESNA ein [39]. In beiden Formen kann das Molekül aufgrund seiner Hydrophilie schlecht passiv durch die lipophilen Zellmembranen diffundieren. Durch die gute Wasserlöslichkeit und die überwiegende Verteilung im Gefäßsystem werden MESNA und Di-MESNA schnell renal durch glomeruläre Filtration ausgeschieden (Plasma-Halbwertzeit 0,36 bis 2,2 Stunden) [31, 105, 108]. Di-MESNA wird von den proximalen Tubuluszellen aufgenommen und durch die intrazelluläre Glutathionreduktase und zytosolische Thioltransferasen wieder zur antioxidativ wirksamen Form MESNA reduziert. Dann wird MESNA wieder in das Gefäßsystem und zum größeren Teil aus den Nierentubuli reabsorbiert [75, 90, 105].
Durch den geschilderten Metabolismus und die überwiegend renale Ausscheidung ist eine hohe Konzentration am gewünschten Wirkungsort zu erwarten. Der renale Blutfluss oder die Osmolarität des Blutes werden bei intravenöser Applikation von MESNA nicht verändert [75, 105].

Nebenwirkungen von MESNA

In seltenen Fällen (0,14%) kann es nach der Gabe von MESNA zu allergischen Reaktionen kommen (Urtikaria, Pruritus, Gesichtsödeme, makuläres Erythem), welche die Gabe von Glucocorticoiden oder Antihistaminika nötig machen können, wodurch die Symptome erfolgreich zu therapieren sind. Bei Patienten mit Allergieanamnese sollte eine prophylaktische antiallergische Medikation in Erwägung gezogen werden. Intravenös im Bolus applizierte MESNA-Dosen von über 60-80 mg/kg Körpergewicht können zu Erbrechen und Diarrhoe führen [105]. Diese Dosen wurden aber in der vorliegenden Studie nicht verwendet.

Bereitstellung und Verabreichung

MESNA (Uromitexan multidose, Baxter GmbH, Halle, Deutschland) kam in der vorliegenden Studie bei intravenöser Gabe in einer Dosierung von 1600 mg, gelöst in 500 ml 0,9%-iger NaCl-Lösung, zur Anwendung. Die Prüfmedikation wurde nach schriftlicher Anforderung für den jeweiligen Probanden hergestellt und, unter Angabe des Patientennamens und einer Identifikationsnummer, der jeweiligen Station anonymisiert zur Verfügung gestellt. Die Zubereitung sowie Bereitstellung erfolgten durch die Klinikapotheke des Universitätsklinikums Ulm.
Die Verabreichung erfolgte als intravenöse Infusion. Ziel war es, die Infusion während der geplanten Kontrastmittelgabe zu verabreichen, um so die im Rahmen der RKM-Applikation freigesetzten ROS abzufangen. Start der Infusion war mindestens 5 Minuten vor der RKM-Applikation mit einer Geschwindigkeit von 80 ml/h. Beendet wurde die Infusion nach vollständigem Verbrauch der Infusionslösung (etwa 6,5 Stunden).

2.3 Kreatinin im Serum

Die Nierenfunktion wurde anhand der Konzentration des Kreatinins im Serum beurteilt. Das Serumkreatinin wurde zu drei Zeitpunkten (Ausgangswert, nach 24 Stunden, nach 48 Stunden) durch venöse Blutentnahme bestimmt. Die Messungen wurden durch die Abteilung für klinische Chemie des Universitätsklinikums Ulm nach der Jaffé-Methode durchgeführt.

2.4 Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate nach der Formel MDRD-2

Zu einer besseren Beurteilung der Nierenfunktion als mit dem Serumkreatinin allein, wurde die GFR nach der Formel 'modification of diet in renal disease' MDRD-2, eine vereinfachte Form der MDRD-Formel, berechnet.

$$eGFR_{MDRD-2} = 186 * [SCr]^{-1,154} * [age]^{-0,203} * [0,742 \text{ if female}] * [1,212 \text{ if black}]$$

Abbildung 2.3: Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate nach der vereinfachten Formel 'modification of diet in renal disease' (MDRD-2)
eGFR = glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD-2, SCr = Kreatinin im Serum (mg/dl), age = Alter in Jahren, if female = nur bei weiblichen Patienten anwenden, if black = nur anwenden, wenn der Patient schwarze Hautfarbe hat

Diese Formel bezieht bei der Abschätzung der GFR das Alter, das Geschlecht, die Hautfarbe und das Kreatinin im Serum ein, und erreicht, insbesondere bei Niereninsuffizienz, eine genauere Abschätzung der GFR als die Formel nach Cockcroft und Gault [81]. Zu beachten ist eine eventuell schlechtere Abschätzung der GFR durch MDRD bei Patienten ohne Niereninsuffizienz [93]. Die Formel verliert durch ihre Vereinfachung zu MDRD-2 keine wesentlichen Qualitäten ihres prädiktiven Charakters [63, 66].

2.5 'Comet-Assay' ('single cell gel test')

Um den Einfluss von ROS auf die Pathogenese der KN zu untersuchen und die durch ROS verursachte DNS-Schädigung nachzuweisen, kam in der vorliegenden Studie der 1984 von Östling und Johannson vorgestellte 'single cell gel test', auch 'Comet-Assay' genannt, zur Anwendung.
Dieser ist eine elektrophoretische Technik, welche es ermöglicht, DNS-Schäden an einzelnen Zellen nachzuweisen [91]. Eine Weiterentwicklung durch Singh führte durch die Verwendung von alkalischen Puffern zu der Möglichkeit, neben DNS-Doppelstrangbrüchen auch DNS-Einzelstrangbrüche detektieren zu können [107].
Bei dieser Technik werden kernhaltige Zellen in Agarose eingebettet und die Zellmembran lysiert, so dass die DNS in freier Form vorliegt. Die DNS wird mittels Elektrophorese in einem elektrischen Feld der Größe nach in Richtung der Anode aufgetrennt. Dabei ist der chromosomale DNS-Haufen bei ungeschädigten Zellen zu groß und kompakt, um als Ganzes im elektrischen Feld zu wandern. Bei der DNS von geschädigten Zellen hingegen, können sich einzelne DNS-Bruchstücke aus dem Kernverband lösen. Dies führt zu einem Auftrennen der Bruchstücke nach ihrer Größe. Unter dem Mikroskop kann dann, z. B. mit dem DNS-Fluoreszenzfarbstoff Ethidiumbromid, die namensgebende DNS-Wanderung ('Kometenschweif') hinter dem Hauptteil der chromosomalen DNS sichtbar gemacht werden (Abbildung 2.4). Der Schädigungsgrad wird hinsichtlich der Größe und Ausdehnung des Schweifes und daraus errechneter Größen bewertet [91, 107].

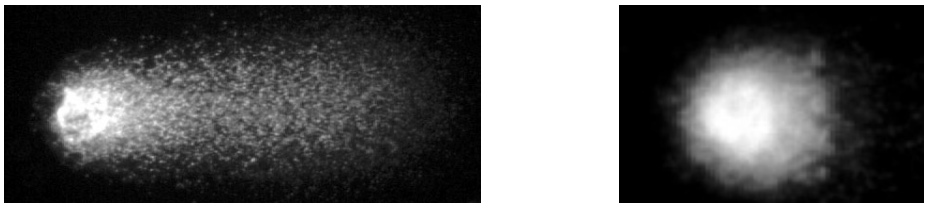


Abbildung 2.4: DNS-Schädigung im 'Comet-Assay'
linkes Bild: starke DNS-Schädigung rechtes Bild: schwache DNS-Schädigung

Mit dem in dieser Studie verwendeten alkalischen Protokoll des Comet-Assay können DNS-Einzel- und Doppelstrangbrüche, sowie alkalilabile Stellen, die nach der Lyse und der anschließenden Denaturierung eine Fragmentierung der DNS hervorrufen, erfasst werden. Zusätzlich zur alkalischen Version des Protokolls kam eine Erweiterung durch den Einsatz der Endonuklease Formamidopyrimidin-DNS-Glycosylase (FPG) zur Anwendung. Dabei werden durch ROS oxidierte Basen markiert und an dieser Stelle der DNS-Strang geschnitten. Dabei wird die Sensitivität bezüglich oxidierter Basen erhöht [23, 26].
Von Vorteil sind der geringe materielle Aufwand und somit die ubiquitäre Verfügbarkeit dieses Verfahrens. Des Weiteren vorteilhaft ist der geringe Zellbedarf zum Nachweis der DNS-Schädigung. Zur Darstellung der durch RKM verursachten DNS-Schädigung wurden in der vorliegenden Studie kernhaltige Zellen aus EDTA-Vollblut vor und nach RKM-Applikation untersucht.

2.5.1 Material

Ausstattung

Objektträger mit Mattrand 76 x 26 mm	Menzel Glaser
Deckgläser 24 x 60 mm	Menzel Glaser
Eppendorfpipetten und Spitzen	
Eppendorfaliquots	
Netzteil Biometra Power Pack P25	Biometra
Elektrophorese-Kammer, Elektrodenabstand 14 cm	BioRad
Fluoreszenz Mikroskop	Zeiss (Oberkochen)
Digitalkamera Canon Powershot G2	Canon Corp.
Bildanalyse-Software Scion Image Beta 4.0.2	Scion Corp.
'Comet-Assay' Makro	[44]

Chemikalien

Agarose	SeaKem (Rochland, USA)
low melting-Agarose (LMA)	Biozym (Hess. Oldendorf)
Bovines Serum-Albumin (BSA)	Sigma (München)
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma (München)
ddH_2O	Apotheke des Universitätsklinikums (Ulm)
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Merck (Darmstadt)
Ethanol 99%-ig	Apotheke des Universitätsklinikums (Ulm)
Ethidiumbromid	Roth (Karlsruhe)
Glycerol 99%-ig	Sigma (München)
N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-Ethansulfonsäure) (HEPES)	Sigma (München)

HCl (konzentriert)	Merck (Darmstadt)
NaCl	Merck (Darmstadt)
NaOH	Merck (Darmstadt)
KCl	Fluka - Buchs (CH)
KOH	Merck (Darmstadt)
Phosphat buffered saline (PBS)	Merck (Darmstadt)
Tris-Puffer	USB - Ohio (USA)
Triton X-100	Sigma (München)
Formamidopyrimidin-DNS-Glycosylase (FPG)[3]	

Lösungen

Lyse-Stammlösung (Inhalt in 1000 ml):

- 2,5 M NaCl
- 100 mM EDTA
- 10 mM Tris-Puffer
- mit NaOH auf pH 10 abgeglichen mit ddH_2O auf 1000 ml aufgefüllt und bei Raumtemperatur gelagert

89 ml Stammlösung sind vor der Benutzung mit 1 ml Triton X-100 und 10 ml DMSO zu vermischen. Diese Lösung wurde 60 Minuten vor dem Gebrauch bei 4°C kaltgestellt.

Elektrophoresepuffer (pH >13):

- 300 mM NaOH / 1 mM EDTA

Stammlösung:

- 10 N NaOH
- 200 mM EDTA

Neutralisationspuffer:

- 0,4 M Tris-Puffer
- mit ddH_2O auf 1000 ml aufgefüllt
- pH-Wert mit HCl auf 7,5 eingestellt
- bei Raumtemperatur gelagert

[3]Dank an Hr. Dr. Collins, Aberdeen für das Überlassen

Färbe-Lösung:

Ethidiumbromid (10-fach konzentrierte Stammlösung: 200μg/ml)
- 10 mg Ethidiumbromid in 50 ml ddH_2O gelöst
- 1-fach konzentrierte Färbe-Lösung 20μg/ml

FPG-Reaktionspuffer:

- 40 mM HEPES
- 0,1 M KCl
- 0,5 mM EDTA
- 0,2 mg/ml BSA
- mit KOH auf pH 8.0 eingestellt

FPG-Stammlösung:

- 2 μl FPG-Lösung (1-fach konzentriert)
- 198 μl ddH_2O
- 20 μl Glycerol 99%

Zur Anwendung wurden 10 μl der FPG-Stammlösung mit 290 μl FPG-Reaktionspuffer versetzt. Davon wurden 50 μl pro Präparat eingesetzt.

2.5.2 Durchführung des 'Comet-Assay'

Die EDTA-Monovetten des entnommenen Blutes wurden direkt nach der Entnahme mit Alufolie ummantelt um weitere, durch ultraviolettes Licht bedingte DNS-Schäden zu vermeiden. Auch die folgenden Verarbeitungsschritte der Präparate fanden unter Lichtschutz statt.

Vorbereitung der Objektträger

Die Objektträger wurden parallel zu dem Mattrand gegenüberliegenden Rand mit einem Diamantstift eingeritzt. Dies gewährleistete einen festeren Halt der Agarose-Grundschicht. Alle Objektträger wurden mit 100%-igem Ethanol gereinigt, mit Bleistift markiert und dann mit einer Schicht 1,5%-iger Agarose überzogen und bei Raumtemperatur getrocknet und gelagert.
Für die spätere Benutzung wurde 0,5%-ige low melting-Agarose (LMA) aufgekocht und zu jeweils 500 μl in Aliquots gefüllt. Diese wurden bis zum Gebrauch bei 4°C im Kühlschrank gelagert. Vor dem Gebrauch wurde die LMA im Thermomixer soweit erhitzt, dass sie sich wieder verflüssigte, und anschließend wieder auf 37 °C heruntergekühlt.

Aufbringen der Zellen

Das entnommene Blut wurde maximal 30 Minuten nach der Entnahme verarbeitet und bis dahin bei 4°C im Kühlschrank gelagert. 120 μl LMA wurden mit 5 μl EDTA-Blut gemischt und auf den wie oben beschrieben vorbereiteten Objektträger aufgebracht. Dieser wurde mit einem Deckglas versehen und zum Aushärten für etwa 30 Sekunden auf Eis gelegt.
Nach dem Aushärten der Agarose wurden die Deckgläser vorsichtig seitlich entfernt und die Präparate in die frisch angesetzte, auf 4°C gekühlte Lyse-Lösung gestellt. Die Präparate wurden für mindestens eine Stunde bei 4°C im Kühlschrank und unter Schutz vor Lichteinwirkung in der Lyse-Lösung belassen.
Bis zur Weiterverarbeitung konnten die Präparate nach diesem Schritt für maximal vier Wochen in der Lyse-Lösung gelagert werden.

Behandlung der Zellen mit FPG

Neben der alkalischen Version des Comet-Assay kam eine Erweiterung durch den Einsatz der Endonuklease FPG zur Anwendung. Durch diese Erweiterung des Comet-Assay wird die Sensitivität bezüglich oxidierter Basen erhöht [23, 26].
Die dafür vorgesehenen Präparate wurden zusätzlich drei mal für je fünf Minuten mit 4°C kaltem FPG-Reaktionspuffer überschichtet. Nach diesem Vorgang wurde der Reaktionspuffer von den Objektträgern entfernt und die Präparate mit 50 μl FPG-Lösung versetzt. Die Präparate wurden, um Austrocknung vorzubeugen, erneut mit einem Deckglas versehen und anschließend für 30 Minuten bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert.

Elektrophorese und Neutralisierung

Die Präparate wurden horizontal in die Elektrophoresekammer eingebracht und kantengleich nebeneinandergelegt. Lücken wurden mit leeren Objektträgern aufgefüllt. Danach wurden sie mit frisch angesetztem und 4°C kaltem Elektrophoresepuffer (pH >13) überschichtet und für 20 Minuten in der auf Eis gelagerten Elektrophoresekammer ruhen gelassen. Dieser Schritt ermöglichte das Entwinden der DNS und das Ausbilden der alkaliinstabilen DNS-Schädigungen.
Die 30-minütige Elektrophorese wurde mit einer Spannung von 24 V und einer Stromstärke von 360 mA durchgeführt. Die Stromstärke wurde durch Zu- oder Abpipettieren von Elektrophoresepuffer eingestellt. Bei einem Elektrodenabstand von 14 cm ergab sich eine Spannung von 1,7 V/cm.
Nach 30 Minuten wurden die Präparate der Elektrophoresekammer entnommen und drei mal für fünf Minuten mit Neutralisationspuffer überschichtet.

Trocknung und Färbung

Zum Trocknen wurden die Präparate für 10 Minuten in 100%-iges Ethanol gestellt und danach bei Raumtemperatur getrocknet.
Um die DNS sichtbar zu machen, wurden die Präparate mit 50 μl 1-fach konzentrierter Ethidiumbromid Lösung (20μg/ml) gefärbt und anschließend mit einem Deckglas bedeckt.

2.5.3 Auswertung des 'Comet-Assay'

Um das Ausmaß des DNS-Schadens zu quantifizieren, wurden die mit Ethidiumbromid gefärbten Präparate bei 400-facher Vergrößerung mit einem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Dieses Mikroskop enthielt einen Anregungsfilter bei einer Wellenlänge von 515-560 nm und einen Sperrfilter bei einer Wellenlänge von 590 nm. Beim Blick durch das Mikroskop ergibt sich für nicht geschädigte Zellen ein kreisrunder Punkt, der die Kern-DNS darstellt. Geschädigte Kern-DNS zieht nach der Elektrophorese einen Schweif hinter sich her, welcher der Kern-DNS entrissene Fragmente darstellt. Siehe Abbildung 2.4 auf Seite 27.

Bildanalyse

Die einzelnen Kern-DNS-Haufen wurden mit einer an das Mikroskop angeschlossenen Digitalkamera (Canon Powershot G2) in einer Auflösung von 1024 x 468 Pixeln aufgenommen. Um die Bilder im Bildanalysesystem einlesen zu können, wurden sie vom JPEG-Format in das TIFF-Format (unkomprimiert) konvertiert. Anschließend wurden sie in das PC-basierte Bildanalysesystem importiert (Scion Image, Scion Corp., Version 4.0.2 Beta). Dieses wurde durch ein Makro um die Fähigkeit zur Bewertung der für den Comet-Assay relevanten DNS-Wanderungsparameter ergänzt [44].
Pro Präparat wurden 50 zufällig ausgewählte Zellen vermessen. Dabei wurden die Randbereiche der Objektträger ausgelassen, weil sich dort die meisten Zellen mit unspezifischer DNS-Wanderung befinden. Offensichtlich mechanisch beschädigte Zellen wurden übersprungen.

Messwerte - Tail-Moment

Zur Beurteilung der DNS-Wanderung wurde in dieser Arbeit der Tail-Moment als Maß der DNS-Schädigung/Wanderung bestimmt. Der Tail-Moment bemisst sich aus der Länge des Schweifes mal der prozentual im Schweif enthaltenen DNS. Die Verwendung des Tail-Moments als Analyseparameter hat den Vorteil der Kombination von Schweiflänge mit darin enthaltener DNS und gibt so die Schädigung der DNS exakter wieder, als die jeweiligen Parameter alleine [44].

2.6 Statistik

Die Größe des erforderlichen Untersuchungskollektives orientierte sich an den Ergebnissen anderer Studien [115].
In der Studie von Tepel et al. war das Verhältnis der Patienten, bei welchen das Serumkreatinin nach RKM-Applikation um mindestens $\geq$ 44 μmol/l innerhalb von 48 Stunden anstieg, in der NAC-Gruppe P(1)=0,02 (2%) zu P(2)=0,20 (20%) in der Plazebogruppe [115]. Daraus resultiert für die vorliegende Studie eine notwendige Stichprobengröße von mindestens 45 Personen je Gruppe. Damit lassen sich für die vorliegende Studie ein vergleichbares Signifikanzniveau von ($\alpha = 0,05$) und eine vergleichbare Power ($1 - \beta$) von 0,80 erreichen. Um eventuelle Ausfälle zu berücksichtigen, wurde die Stichprobengröße auf insgesamt 106 Patienten festgelegt.
Die für die Auswertung notwendigen Patientendaten und Laborergebnisse wurden der Patientenakte entnommen.

Da Patienten erst mit einem Serumkreatinin von $\geq$ 150 μmol/l in die Studie aufgenommen wurden, und somit Kreatininwerte bei Aufnahme von unter 150 μmol/l nicht vorkommen, ist nicht von einer Normalverteilung der Kreatininwerte auszugehen. Dies trifft auch auf die eGFR zu, da diese Formel maßgeblich auf dem Serumkreatinin basiert. Für das Serumkreatinin und die eGFR wurde zum Vergleich der Gruppen der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Das Serumkreatinin und die GFR nach MDRD-2 werden als Median mit dem Interquartilsabstand als Streuungsmaß angegeben ($\tilde{x}$, 25%-Quartile bis 75%-Quartile). Zum statistischen Vergleich der Serumkreatininwerte und der eGFR innerhalb der Gruppe wurde der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben verwendet.
Der Tail-Moment wurde als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung ($\bar{x} \pm SD$) dargestellt und wurde mit dem Student-t-Test für unverbundene Stichproben verglichen.
Unstetige Daten wurden als Absolutwerte mit Prozentangaben angegeben. Zum Vergleich von unstetigen Daten wurde der Exact-Test nach Fisher verwendet.

Um aufgrund der großen Unterschiede der Ausgangskreatininwerte und der eGFR eine bessere Vergleichbarkeit der Gruppen zu gewährleisten, wurde für den statistischen Gruppenvergleich zusätzlich die Änderung des Serumkreatinins und der eGFR nach 24 und 48 Stunden zum Ausgangswert untersucht ($\Delta_{Kreatinin24}$, $\Delta_{Kreatinin48}$ sowie Δ_{GFR24}, Δ_{GFR48}). Dieser Parameter stellt ein Maß für den Anstieg bzw. Abfall der Kreatinin- bzw. eGFR-Werte zu den verschiedenen Messzeitpunkten dar.

Um den Einfluss der Prophylaxe (MESNA / Plazebo), des Alters, dem Geschlecht, dem Blutdruck, der Kontrastmittelmenge, eines Diabetes mellitus, des BMI und der

Einnahme von ACE-Hemmern (erklärende Variablen) auf das Auftreten der KN (Zielvariable) zu untersuchen, wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Um die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer KN in Abhängigkeit dieser Variablen darzustellen, wurden die Ergebnisse mittels der an die erklärenden Variablen adjustierten Odds ratio (adjusted odds ratio) und dem 95%-Konfidenzintervall dargestellt [14]. Das Alter, das Geschlecht und der Ausgangskreatininwert waren obligater Bestandteil des Regressionsmodells. Die anderen erklärenden Variablen wurden in das Regressionsmodell integriert, wenn ihre Verwendung das Regressionsmodell signifikant verbesserte.

Alle verwendeten Testverfahren waren zweiseitig. Das Signifikanzniveau wurde auf $p<0,05$ festgelegt.
Die Berechnungen wurden mit GraphPad Prism (Version 4.0, GraphPad Software, San Diego, Kalifornien) und SAS Statistik Software (Version 9.1.3, SAS Institute Inc., Cary, NC) durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

Insgesamt wurden 106 Patienten in die Studie eingeschlossen. 8 Patienten mussten vor Auflösung der Randomisierung ausgeschlossen werden: Bei 3 Patienten fehlten, aufgrund vorzeitiger Entlassung, die zur Auswertung notwendigen Kreatininwerte nach 48 Stunden. Bei weiteren 2 Patienten wurde die geplante diagnostische Angiografie der Nierenarterien um eine perkutane transluminale Angioplastie (PTA) an den Nierenarterien erweitert. Bei 2 Patienten wurden anstatt 1600 mg MESNA nur 800 mg appliziert und bei einem weiteren Patienten wurde im Beobachtungszeitraum ein zweites Mal eine Untersuchung mit RKM durchgeführt.
Demnach resultieren die vorliegenden Ergebnisse aus den erhobenen Daten von insgesamt 98 Patienten. Davon waren randomisiert 49 Patienten der Verumgruppe (MESNA) und 49 Patienten der Plazebogruppe zugelost worden.
Es handelte sich um 23 weibliche und 75 männliche Patienten im Alter zwischen 34 und 86 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 65,9 Jahre, die Patienten wogen im Durchschnitt 79,6 kg bei einem BMI von 27,6 kg/m^2.
Das Serumkreatinin vor der RKM-Applikation betrug im Durchschnitt 246,3 μmol/l (2,8 mg/dl). Dies entspricht einer errechneten glomerulären Filtrationsrate nach der Formel MDRD-2 von durchschnittlich 28,2 ml/min.
44,9% der untersuchten Patienten waren Diabetiker, 76,5% Hypertoniker und 58,2% hatten eine koronare Herzkrankheit.
Die Verum- und Plazebogruppe unterschieden sich statistisch nicht hinsichtlich des Alters, des Geschlechtes, der Größe, des BMI und des Serumkreatinins vor der RKM-Applikation. Ebenfalls gab es keinen signifikanten Unterschied bei den Begleiterkrankungen (Diabetes mellitus, koronare Herzkrankheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit).
Die am häufigsten durchgeführte Untersuchung war die Koronarangiografie (63 von 98 Untersuchungen), gefolgt von der Computertomografie (27 von 98 Untersuchungen). Das RKM wurde 71-mal i.a. und 27-mal i.v. verabreicht. Die Gruppen unterschieden sich statistisch auch nicht bezüglich der Art der Untersuchung oder der Applikationsart der RKM.
Bis auf einen Patienten in der Verumgruppe, welcher isoosmolares RKM erhielt, wurden alle Patienten mit niederosmolaren RKM untersucht. Bei den Untersuchungen wurden im Mittel 173 ml RKM verabreicht. Es ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der verabreichten RKM nachweisen. Auch bezüglich der appli-

zierten Kontrastmittelmenge gab es statistisch keinen Unterschied.

Bei 12 von 98 Patienten (12,2%) trat nach oben aufgeführter Definition eine KN auf (Verumgruppe 2 Patienten, 4,1%; Plazebogruppe 10 Patienten, 20,4%). Keiner der Patienten mit KN musste dialysiert werden oder bedurfte intensivmedizinischer Versorgung.
Die Studienmedikation wurde gut vertragen, Nebenwirkungen sind zu keinem Zeitpunkt beobachtet worden.

Eine Übersicht der Patientencharakteristika im Gruppenvergleich zeigt Tabelle 3.1 auf Seite 39 am Ende dieses Kapitels.

3.2 Gruppenvergleich Verum vs. Plazebo

Inzidenz

Gemäß der oben aufgeführten Definition trat in der Verumgruppe bei 2 Patienten (4,1%), bei der Behandlung mit Plazebo bei 10 Patienten (20,4%) eine KN auf. Die Inzidenz einer KN war in der Verumgruppe signifikant geringer als in der Plazebogruppe (odds ratio 0,1660; 95%-Konfidenzintervall 0,03429 bis 0,8032; p=0,0275).

Eine statistische Übersicht zeigt Tabelle 3.2 auf Seite 40 am Ende dieses Kapitels.

Serumkreatinin

In der Verumgruppe sank das mediane Serumkreatinin nach 24 Stunden signifikant (p<0,0001) von 212 μmol/l (181 - 280,5 μmol/l) auf 188 μmol/l (157 - 271 μmol/l). Bei der Messung nach 48 Stunden blieb das Serumkreatinin mit 189 μmol/l (159 - 257,5 μmol/l) signifikant unter dem Ausgangswert (p<0,0001).
In der Plazebogruppe ist das mediane Serumkreatinin von 208 μmol/l (170 - 308,5 μmol/l) nach 24 Stunden auf 212 μmol/l (165 - 302,5 μmol/l) nicht signifikant angestiegen (p=0,2539). Bei der Messung nach 48 Stunden stieg das mediane Serumkreatinin in der Plazebogruppe auf 233 μmol/l (156,5 - 302 μmol/l). Auch nach 48 Stunden war der Unterschied zum Ausgangswert nicht signifikant (p=0,9307).
Im Vergleich von Verum- und Plazebogruppe war der Median des Serumkreatinins zu den Zeitpunkten 24 Stunden (p=0,3538) und 48 Stunden (p=0,2802) nicht signifikant unterschiedlich.
In der Verumgruppe lag die Änderung des medianen Serumkreatinins zum Ausgangswert nach 24 Stunden ($\Delta_{Kreatinin24}$) bei -24 μmol/l (-43 bis +3,5 μmol/l) und nach 48 Stunden bei -25 (-39,5 bis +1 μmol/l) μmol/l. In der Plazebogruppe lag die $\Delta_{Kreatinin24}$

bei -7 μmol/l (-22,5 bis +15,5 μmol/l) und die $\Delta_{Kreatinin48}$ bei -6 μmol/l (-28,5 bis +26,5 μmol/l).
Im Gruppenvergleich von $\Delta_{Kreatinin24}$ und $\Delta_{Kreatinin48}$, sind die Verum- und Plazebogruppe signifikant unterschiedlich ($\Delta_{Kreatinin24}$ p=0,0090, $\Delta_{Kreatinin48}$ p=0,0178).

Eine grafische Darstellung des Serumkreatininverlaufs von Verum- und Plazebogruppe zeigt Abbildung 3.1 auf Seite 41 am Ende dieses Kapitels.

eGFR nach der Formel MDRD-2

In der Verumgruppe ist die mediane eGFR nach 24 Stunden signifikant von 30,21 ml/min (21,6 - 34,98 ml/min) auf 33,17 ml/min (22,41 - 41,16 ml/min) angestiegen (p<0,0001). Die mediane eGFR nach 48 Stunden persistierte im Vergleich zum Ausgangswert mit 32,8 ml/min (23,32 - 40,54 ml/min) signifikant über dem Ausgangswert (p<0,0001).
In der Plazebogruppe sank die mediane eGFR nach 24 Stunden nicht signifikant von 29,4 ml/min (18,69 - 37,18 ml/min) auf 28,8 ml/min (19,77 - 38,72 ml/min) (p=0,0536). Nach 48 Stunden sank die mediane eGFR auf 25,77 ml/min (19,18 - 40,43 ml/min) (p=0,2836).
Im Vergleich von Verum- und Plazebogruppe war der Median der eGFR zu den Zeitpunkten 24 Stunden (p=0,3669) und 48 Stunden (p=0,2601) nicht signifikant unterschiedlich.
In der Verumgruppe lag die Änderung der medianen eGFR zum Ausgangswert nach 24 Stunden (Δ_{GFR24}) bei +3,67 ml/min (-0,47 bis +7,53 ml/min) und nach 48 Stunden (Δ_{GFR48}) bei +2,91 ml/min (-0,05 bis +6,909 ml/min). In der Plazebogruppe lag die Änderung der eGFR nach 24 Stunden (Δ_{GFR24}) bei +1,29 ml/min (-1 bis +2,92 ml/min) und nach 48 Stunden (Δ_{GFR48}) bei +0,98 ml/min (+2,23 bis +3,62 ml/min). Im Gruppenvergleich ist die mediane eGFR nach 24 Stunden (Δ_{GFR24}) in der Verumgruppe signifikanter stärker angestiegen als in der Plazebogruppe (p=0,0314). Nach 48 Stunden zeigte sich bezüglich der Δ_{GFR48} kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den beiden Gruppen (p=0,0679).

Eine grafische Darstellung des Verlaufes der eGFR von Verum- und Plazebogruppe zeigt Abbildung 3.2 auf Seite 42 am Ende dieses Kapitels.

DNS-Schädigung im Comet-Assay

In der Verumgruppe lagen bei 4 technisch bedingten Ausfällen die Messwerte von insgesamt 45 Patienten vor. In der Verumgruppe erhöhte sich der Tail-Moment von 1253 ± 1279 Einheiten vor der RKM-Exposition nicht signifikant um 290 Einheiten auf 1543 ± 2165 Einheiten nach der RKM-Exposition (p=0,0916).
In der Plazebogruppe lagen bei 3 technisch bedingten Ausfällen die Messwerte von ins-

gesamt 46 Patienten vor. Es kam zu einem nicht signifikanten Anstieg des Tail-Moment um 60,5 Einheiten von 967,5 ± 764,5 Einheiten auf 1028 ± 971,6 Einheiten (p=0,5187). Beim Vergleich der Änderung des Tail-Moment zum Ausgangswert (Δ_{Comet}), zeigte sich kein Unterschied zwischen Verum- und Plazebogruppe (p=0,2332).
Zwischen Verum- und Plazebogruppe zeigte sich nach Gabe von RKM auch bezüglich der Mittelwerte kein signifikanter Unterschied (p=0,2459).

Die Versuchsreihe, in der die durch ROS verursachten DNS-Schädigungen mit Verstärkung durch die Endonuklease FPG untersucht werden sollten, konnte nicht ausgewertet werden. Aufgrund der starken DNS-Fragmentation wurden die DNS-Bruchstücke durch die Elektrophorese zu stark aufgetrennt. Dadurch war eine ausreichend genaue Erfassung der Länge des DNS-Schweifes nicht möglich. Ursächlich war eine für diese Modifikation nicht angepasste Elektrophoresedauer.

3.3 Logistische Regressionsanalyse

Die mit den vorliegenden Daten durchgeführte, an Alter, Geschlecht, systolischem und diastolischem Blutdruck, applizierter Kontrastmittelmenge, ACE-Hemmer-Einnahme, Diabetes mellitus sowie BMI angepasste logistische Regressionsanalyse zeigte, dass das Auftreten der KN lediglich durch die Art der verabreichten Prophylaxe beeinflusst wird. Die Gabe von MESNA zusätzlich zur Hydratation resultiert in einer adjustierten Odds Ratio der KN von 0,182 (95%-Konfidenzintervall 0,035 - 0,939; p=0,0418).
Die Odds der Kovariablen liegen in der Nähe von 1, so dass statistisch kein Zusammenhang zwischen deren Vorhandensein und dem Auftreten einer KN besteht.
Eine Übersicht der Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse zeigt Tabelle 3.3 auf Seite 43 am Ende dieses Kapitels.

Tabelle 3.1: Patientenmerkmale bei Aufnahme in die Studie

Stetige Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt, unstetige Daten als Absolutwerte mit Prozentangaben.
ACE = Angiotensin-Converting-Enzyme, KHK = koronare Herzerkrankung, NSAR = nichtsteroidale Antirheumatika, pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit

Parameter	MESNA-Gruppe (n=49)	Plazebo-Gruppe (n=49)	p
Alter (Jahre)	65,7 ± 12,1	66,1 ± 11,1	0,8691
männlich / weiblich	35 / 14	40 / 9	0,3406
Gewicht (kg)	77,9 ± 16,3	81,3 ± 15	0,2835
Größe (cm)	168,4 ± 8,1	170,9 ± 7,2	0,1103
Body-Mass-Index (kg/m²)	27,3 ± 4,9	27,9 ± 5,1	0,5990
Diabetes mellitus, n (%)	24 (49)	20 (40,8)	0,5426
Arterielle Hypertonie, n (%)	33 (67,3)	42 (85,7)	0,0551
KHK, n (%)	31 (63,3)	26 (53,1)	0,4129
pAVK, n (%)	11 (22,4)	10 (20,4)	0,8055
Begleitmedikation, n (%)			
ACE-Hemmer	27 (55,1)	25 (51)	0,8397
Schleifendiuretikum	34 (69,4)	36 (73,5)	0,8234
Thiaziddiuretikum	22 (44,9)	24 (49)	0,8397
Spironolacton	5 (10,2)	5 (10,2)	-
Metformin	0	0	-
NSAR	0	1 (2)	1,0000
Prozedur, n (%)			
Koronarangiografie	30 (61,2)	33 (67,3)	0,6736
sonstige Angiografie	6 (12,2)	2 (4,1)	0,2626
Computertomografie	13 (26,5)	14 (28,6)	0,8211
Kontrastmittel, n (%)			
Iomeprol	33 (67,3)	37 (75,5)	0,5028
Iopromid	14 (28,6)	11 (22,4)	0,6436
Iopamidol	1 (2)	1 (2)	-
Iodixanol	1 (2)	0	1,0000
Kontrastmittel i.a./ i.v.	36/13	35/14	0,8211
Kontrastmittelmenge (ml)	179 ± 95,3	167 ± 93,2	0,5285

Tabelle 3.2: Gruppenvergleich von Verum- und Plazebogruppe: Inzidenz der Kontrastmittelnephropathie, Serumkreatinin, glomeruläre Filtrationsrate, Tail-Moment vor und nach Applikation von Röntgenkontrastmittel, Änderung des medianen Serumkreatinins und der medianen eGFR ($\Delta_{Kreatinin24+48}$, $\Delta_{GFR24+48}$).
Serumkreatinin, eGFR, $\Delta_{Kreatinin24+48}$ und $\Delta_{GFR24+48}$ dargestellt als Median und Interquartilsabstand, Tail-Moment und $\Delta_{Comet24+48}$ dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung.
eGFR = glomeruläre Filtrationsrate nach der vereinfachten Formel 'modification of diet in renal disease' (MDRD-2), KN = Kontrastmittelnephropathie

Variable	MESNA-Gruppe (n=49)	Plazebo-Gruppe (n=49)	p
Inzidenz der Kontrastmittelnephropathie, n (%)	2 (4,1)	10 (20,4)	**0,0275**
Serumkreatinin (µmol/l)			
Ausgangswert	212 (181 - 280,5)	208 (170 - 308,5)	0,7118
nach 24 Stunden	188 (157 - 271)	212 (165 - 302,5)	0,3538
nach 48 Stunden	189 (159 - 257,5)	233 (156,5 - 302)	0,2802
$\Delta_{Kreatinin24}$	-24 (-43 - 3,5)	-7 (-22,5 - 15,5)	**0,0090**
$\Delta_{Kreatinin48}$	-25 (-39,5 - 1)	-6 (-28,5 - 26,5)	**0,0187**
eGFR (ml/min)			
Ausgangswert	30,21 (21,6 - 34,98)	29,4 (18,69 - 37,18)	0,7422
nach 24 Stunden	33,17 (22,41 - 41,16)	28,8 (19,77 - 38,72)	0,3669
nach 48 Stunden	32,8 (23,32 - 40,54)	25,77 (19,18 - 40,34)	0,2601
Δ_{GFR24}	+3,67 (-0,47 - 7,53)	+1,29 (-1 - 2,92)	**0,0314**
Δ_{GFR48}	+2,91 (-0,05 - 6,909)	+0,98 (-2,23 - 3,62)	0,0679
Tail-Moment (Einheiten)	**(n=45)**	**(n=46)**	
vor Kontrastmittelgabe	1253 ± 1279	967,5 ± 764,5	0,3280
nach Kontrastmittelgabe	1543 ± 2165	1028 ± 971,6	0,2459
Δ_{Comet}	+290,4 ± 1130	+60,69 ± 632,8	0,2332

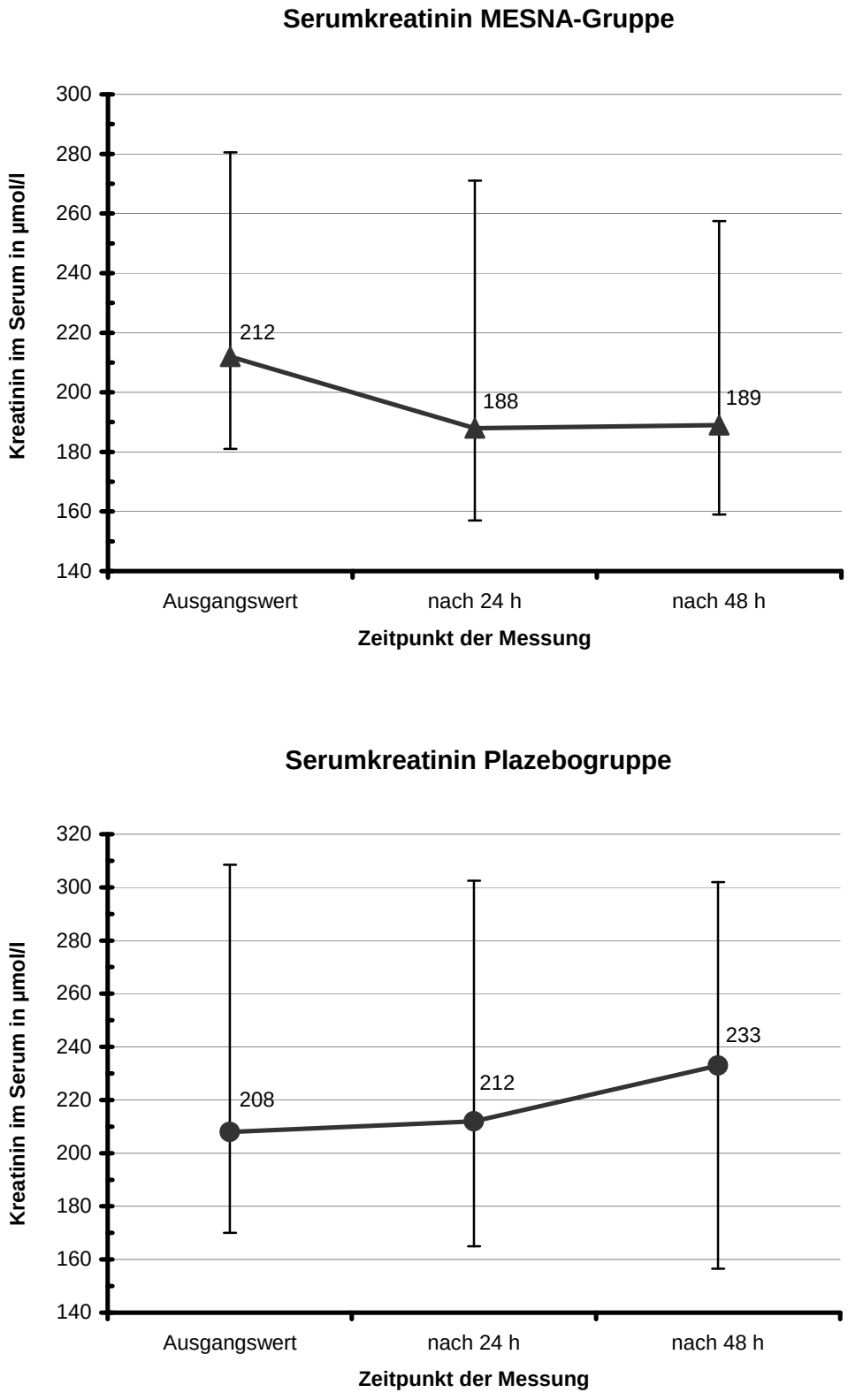
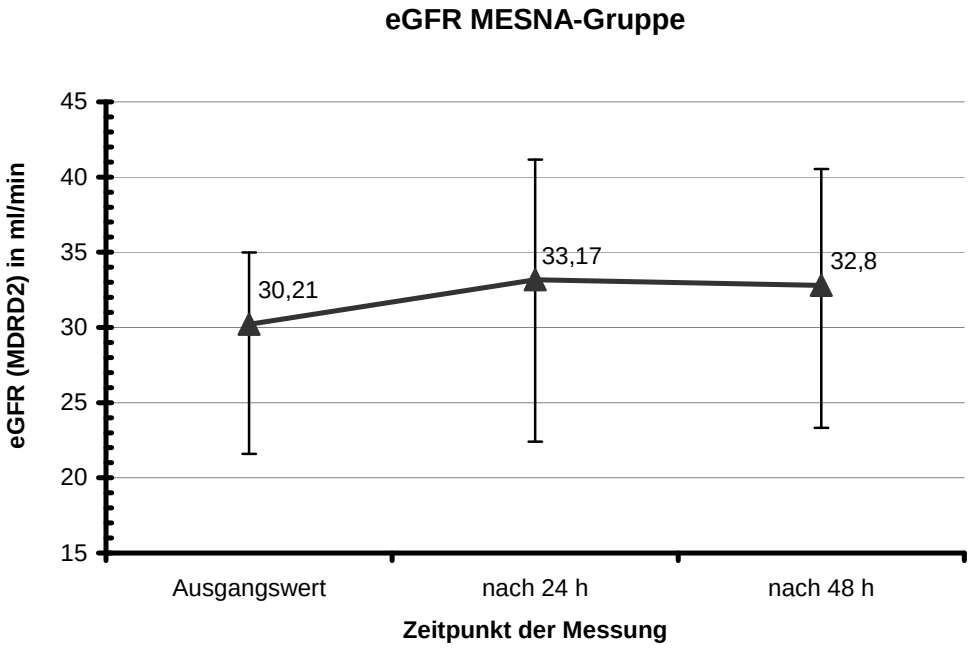


Abbildung 3.1: Median und Interquartilsabstand der Serumkreatininkonzentration vor Kontrastmittelapplikation, 24 Stunden und 48 Stunden nach Kontrastmittelapplikation
gefüllte Dreiecke und Punkte stellen die Medianwerte dar, die Balken den Interquartilsabstand; MESNA = Natrium-2-Mercaptoethansulfonat



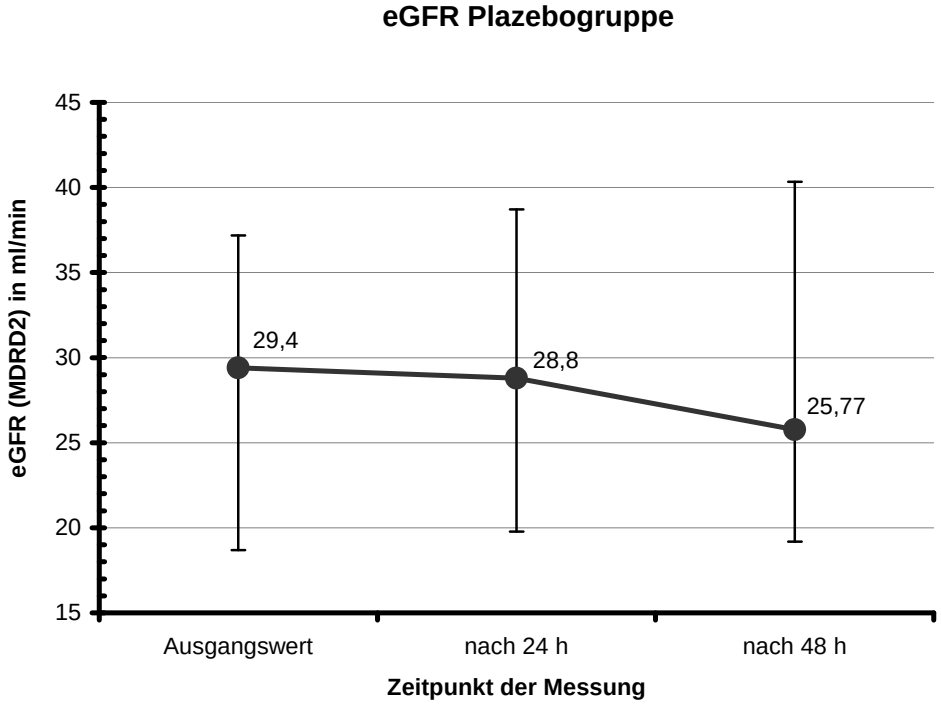


Abbildung 3.2: Median und Interquartilsabstand der nach der vereinfachten Formel 'modification of diet in renal disease' (MDRD-2) bestimmten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) vor Kontrastmittelapplikation, 24 Stunden und 48 Stunden nach Kontrastmittelapplikation
gefüllte Dreiecke und Punkte stellen die Medianwerte dar, die Balken den Interquartilsabstand; MESNA = Natrium-2-Mercaptoethansulfonat

Tabelle 3.3: Ergebnis der logistischen Regressionsanalyse
ACE = Angiotensin-Converting-Enzyme

Kovariable	odds ratio	95%-Konfidenzintervall	p
Verum / Plazebo	**0,182**	**0,035-0,939**	**0,0418**
Alter	1,028	0,960-1,102	0,4295
Geschlecht	0,728	0,126-4,204	0,7231
Systolischer Blutdruck	1,015	0,985-1,045	0,3260
Diastolischer Blutdruck	0,974	0,913-1,039	0,4237
Kontrastmittelmenge	0,998	0,989-1,006	0,5793
ACE-Hemmer-Einnahme	0,988	0,241-4,048	0,9869
Diabetes mellitus	0,731	0,163-3,289	0,6831
Body Mass Index	0,973	0,836-1,132	0,7241

4 Diskussion

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die additiv zur NaCl-Hydratation applizierte Vorbehandlung mit 1600 mg MESNA i.v., bei der Verwendung von nichtionischem, jodhaltigem Röntgenkontrastmittel zu einer signifikanten Reduktion der KN-Inzidenz im Vergleich zur alleinigen Prophylaxe durch intravenöse Hydratation führt. Unter den Bedingungen der vorliegenden Studie kam es nach zusätzlicher periinterventioneller Applikation von MESNA 5-mal seltener zum Auftreten einer KN, als bei alleiniger Hydratation mit physiologischer Kochsalzlösung.
Die applizierte Studienmedikation von 1600 mg MESNA wurde gut vertragen, es traten keine Nebenwirkungen auf.
Im Vergleich zu anderen Studien musste, auch in der Plazebogruppe, kein Patient einer Dialysetherapie zugeführt werden, keiner verstarb im Rahmen eines Nierenversagens [73].
Die Gesamt-Inzidenz der KN ist in der vorliegenden Studie mit 12,2% (12 von 98 Patienten) im Vergleich zu anderen Studien im unteren erwarteten Bereich, für Patienten mit vorbestehender Niereninsuffizienz, angesiedelt [11, 16, 85, 94, 99, 110]. Die Inzidenz in der Plazebogruppe ist mit 20,4% vergleichbar mit der anderer Studien (Tepel 21,4% [115], Durham 22% [29]). Bei prophylaktischer Applikation von MESNA liegt die KN-Inzidenz mit 4,1% annähernd im Bereich des Risikos eines gesunden Patientenkollektives [99].
Auch wenn man die andere gebräuchliche Definition der KN, nämlich den Anstieg des Serumkreatinins um $\geq$ 25%, im Vergleich zu dem in dieser Studie verwendeten Anstieg von $\geq$44 μmol/l als Kriterium zugrunde legt, ergibt sich in der vorliegenden Studie ein signifikanter Vorteil (p=0,0124) für die mit MESNA behandelten Patienten bei einer Gesamtinzidenz der KN von 7,1% (Inzidenz: MESNA 0 von 98 Patienten, Plazebo 7 von 98 Patienten).

In der vorliegenden Studie wurde als Surrogatparameter für die Nierenfunktion zu mehreren Zeitpunkten das Serumkreatinin gemessen und die eGFR nach MDRD-2 bestimmt.
Innerhalb der Verumgruppe führte die Applikation von MESNA bei den Messungen nach 24 und 48 Stunden zu einem signifikanten Absinken des Serumkreatinins im Vergleich zum Ausgangswert (nach 24 h -11,32%, p<0,000; nach 48 h -10,85%, p<0,0001). In der Plazebogruppe fand sich keine signifikante Änderung der Serumkreatininwerte. Bei der Messung nach 48 Stunden kam es in der Plazebogruppe tendenziell zu einem Anstieg der Serumkreatininwerte um 10,7% im Vergleich zum Ausgangswert.

Die Applikation von MESNA führte bereits nach 24 Stunden zu einer signifikant stärkeren Änderung des Serumkreatinins im Vergleich zum Ausgangswert, als bei alleiniger Prophylaxe mit NaCl. Nach 48 Stunden persistierte dieser Effekt ($\Delta_{Kreatinin24}$ p=0,009, $\Delta_{Kreatinin48}$ p=0,0187).

Auch die eGFR besserte sich bei Behandlung mit MESNA bereits nach 24 Stunden und auch nach 48 Stunden signifikant (nach 24 h +9,8%, p<0,0001; nach 48 h +8,6%, p<0,0001). In der Plazebogruppe zeigte sich keine signifikante Änderung der eGFR (nach 24 h p=0,2539; nach 48 h p=0,9307). Tendenziell kam es in der Plazebogruppe zum Abfall der eGFR Werte um 12,4% nach 48 Stunden im Vergleich zum Ausgangswert.
Bezüglich der Änderung der eGFR zum Ausgangswert waren Verum- und Plazebogruppe nur nach 24 Stunden signifikant unterschiedlich (Δ_{GFR24} p=0,0314, Δ_{GFR48} p=0,0679).

4.1 Prophylaxe der Kontrastmittelnephropathie

Die nachgewiesene Wirksamkeit von MESNA zur Prophylaxe der KN unterstützt die Hypothese, dass die durch RKM induzierte Bildung von ROS eine entscheidende Rolle in der Genese der KN spielt.
MESNA wurde speziell als Antioxidans zur Abschwächung der urotoxischen Wirkung von Acrolein, welches bei der Chemotherapie mit Oxazaphosphorinen entsteht, entwickelt. Die Wirksamkeit als Antioxidans erklärt sich durch die im MESNA-Molekül enthaltene Thiolgruppe [105].
Ein Vorteil von MESNA im Vergleich zu NAC ist die weitaus höhere erreichbare Konzentration im Urogenitalsystem. 76% von MESNA im Vergleich zu <10% von NAC werden mit dem Urin ausgeschieden [75, 105].
Eine weitere vorteilhafte Eigenschaft von MESNA ist, dass es weder den renalen Blutfluss, noch die Osmolarität des Blutes verändert [75].
Außerdem führt die Behandlung mit MESNA zur Wiederherstellung von durch freien Radikalen reduziertem Glutathion und verhindert das Aufbrauchen der endogenen Glutathionspeicher durch Bereitstellung von Thiolgruppen [51, 62].

Häussler et al. konnten in einer Pilot-Studie an 12 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz nachweisen, dass MESNA auch in vivo die Inzidenz der KN reduziert. Des Weiteren konnten Häussler et al. an einem Zellmodell mit menschlichen Nierentubuluszellen (HK-2) zeigen, dass MESNA den durch Wasserstoffperoxid induzierten oxidativen DNS-Schaden signifikant reduzieren kann [43].

Mashiach et al. (2001) bestätigten ebenfalls die antioxidative Wirksamkeit von MESNA sowie die Verminderung eines durch ROS vermittelten oxidativen Zellschadens im Rahmen eines Tierversuches. In dieser Studie war ein durch Ischämie induzierter Reperfusionsschaden, im Sinne eines akuten Nierenversagens, bei intravenöser Infusion mit MESNA strukturell und funktionell weniger ausgeprägt [75]. Auch nach RKM-Applikation beobachtet man eine Änderung der renalen Hämodynamik. Bei dieser, allerdings biphasischen Änderung, folgt einer initialen Vasodilatation der arteriellen Nierengefäße eine länger anhaltende Vasokonstriktion der renalen Arterien und Arteriolen. Folge der Vasokonstriktion ist eine medulläre Ischämie, welche zu vermehrter Bildung von ROS führt [6, 10, 94, 115, 129].

Nach der intravenösen Applikation wird MESNA rasch in seine dimere Form Di-MESNA oxidiert. Nach glomerulärer Filtration wird es in der Niere in die Tubuluszellen aufgenommen, wo es erneut in seine antioxidativ wirksame Form MESNA reduziert wird [50, 90]. 20 Minuten nach Applikation von MESNA ist dessen Konzentration in den Nieren am größten [106]. Die Plasmahalbwertzeit von MESNA ist bei gesunden Probanden mit etwa 2,2 Stunden kurz. Bei Patienten mit Niereninsuffizienz verlängert sich die Halbwertzeit auf 6 bis 7 Stunden [31, 108]. In der bereits erwähnten Studie von Mashiach et al. ist die Wirksamkeit von MESNA bei Beginn der intravenösen Applikation 5 Minuten vor dem erwarteten Reperfusionsschaden am größten [75]. Die intravenöse Anwendung von MESNA führt zu einer rasch verfügbaren und höheren Blutkonzentration, als die orale Verabreichung der gleichen Dosis [50]. Deshalb ist dessen intravenöse Anwendung zur Prophylaxe der KN zu bevorzugen. Dies ist vor allem bei nicht planbaren Untersuchungen, also im Notfall, sinnvoll.

Aufgrund seiner antioxidativen Potenz, seiner Pharmakokinetik und aufgrund der weitaus stärkeren Anreicherung in den Nieren scheint MESNA dem NAC in der Prophylaxe der KN überlegen zu sein. Drei aktuelle Studien haben gezeigt, dass zur KN-Prophylaxe durch NAC weitaus höhere Dosen, als die bisher verwendeten nötig sind, um einen Effekt zu erzielen [9, 17, 73].
Die Ergebnisse der vorliegenden Studie belegen die Wirksamkeit, Verträglichkeit und Praktikabilität der Anwendung von MESNA zur Prophylaxe der KN. Des Weiteren wird durch die Reduktion der KN-Inzidenz belegt, dass ROS eine entscheidende Rolle in der Genese der KN spielen. Somit ist die Anwendung von MESNA, zusätzlich zur intravenösen Hydratation, bei allen Risikopatienten, inklusive Notfallpatienten, zu empfehlen.

Zu empfehlen ist weiterhin der Einsatz von niederosmolaren RKM, welche im Vergleich zu hochosmolaren RKM die Inzidenz der KN reduzieren [98].

Neuere, isoosmolare RKM (Iotrolan, Iodixanol) verursachen im Vergleich zu den niederosmolaren RKM gehäuft eine Erythrozytenaggregation und führen dadurch zu einer Beeinflussung der Mikrozirkulation und vermindertem renalen Blutfluss [7, 27, 68]. Die höhere Viskosität von isoosmolaren RKM kann die medulläre Hypoxämie der Niere verstärken. Durch die höhere Viskosität kommt es zu einer verlängerten renalen Passagezeit mit unter Umständen erhöhten intratubulären Drücken, welche die GFR durch Kompression peritubulärer Gefäße weiter herabsetzen können [58, 100, 120].
Ein retrospektiver Vergleich der Daten von 57925 Patienten aus dem 'Swedish Coronary Angiography and Angioplasty'-Registers mit den Daten des 'Swedish Hospital Discharge'-Registers von Liss et al. (2006) zeigt, dass die Verwendung des isoosmolaren RKM Iodixanol, im Vergleich zum niederosmolaren RKM Ioxaglate, zu einer Verdopplung der Inzidenz klinisch bedeutsamer Fälle von Nierenversagen nach Herzkatheteruntersuchung führte. Die Notwendigkeit einer Dialyse war bei den mit isoosmolaren RKM untersuchten Patienten, im Vergleich zu den mit niederosmolaren RKM untersuchten Patienten ebenfalls signifikant erhöht [69].
Aufgrund dessen sind noch weitere Untersuchungen nötig, um den Stellenwert der isoosmolaren RKM in der Prophylaxe der KN zu klären [7, 69, 100].

Marenzi et. al untersuchten im Jahre 2003 in einer Studie 114 Patienten, um nachzuweisen, ob eine Hämofiltration im Vergleich zur Hydratation mit NaCl-Lösung zur Prophylaxe der KN wirksam ist. Dabei war die Inzidenz der KN in der mit Hämofiltration behandelten Gruppe signifikant geringer (5% vs. 50%, $p<0{,}001$). Zusätzlich hatten die mit Hämofiltration behandelten Patienten eine geringere Krankenhaussterblichkeit sowie eine signifikant geringere kumulative 1-Jahres-Mortalität [71].
Die geringere Mortalität in der mit Hämofiltration behandelten Gruppe könnte aber ausschließlich durch die Intensivbehandlung dieser Patienten im Vergleich zur Behandlung der Kontrollgruppe in einer 'step-down unit' zu erklären sein.
Des Weiteren lag, trotz Hydratation, die Inzidenz der KN in der Kontrollgruppe mit 50% im Vergleich zu anderen Studien ungewöhnlich hoch.
Die Hämofiltration kann aufgrund dieser Ergebnisse bei Hochrisikopatienten eine wirksame Methode zur Prophylaxe der KN sein. Aufgrund des hohen personellen und finanziellen Aufwandes und durch die notwendige intensivere Überwachung, sowie die Gefahren bei der Anlage eines Dialysekatheters, kann die Hämofiltration aber keine Routinemaßnahme zur Prophylaxe der KN sein.

Im Vergleich zur Hämofiltration kann die postinterventionelle Hämodialyse zwar RKM effektiv aus dem Organismus entfernen, erhöht aber den oxidativen Stress und kann das Outcome der behandelten Patienten auch verschlechtern. Die HD führt nicht zu

einer Senkung der KN-Inzidenz und ist zur Prophylaxe der KN nicht zu empfehlen [15, 80, 82, 83, 103, 112, 117, 121].

Neueste Studien zeigen bei Hydratation mit Natrium-Bicarbonat-Lösung und zusätzlicher Gabe von NAC eine weitere Senkung der KN-Inzidenz im Vergleich zur Hydratation mit NaCl-Lösung und Gabe von NAC [18, 95]. Somit könnte die Pufferung des durch ROS verursachten sauren Milieus mit Natrium-Bicarbonat zusätzlich zur Gabe von Antioxidantien ein weiterer vielversprechender Ansatz in der Prophylaxe der KN sein.

4.2 Definition der Kontrastmittelnephropathie

Wie in der Einführung dargelegt, ist die Definition der KN in der Literatur nicht einheitlich [13]. Am häufigsten wird in der Literatur die KN als Anstieg des Serumkreatinins um mindestens 25% oder um 44 μmol/l (= 0,5 mg/dl) innerhalb von 48 Stunden nach RKM-Applikation definiert. Diese zeitliche Definition scheint nach Studienbeobachtungen sinnvoll, da sich die renale Funktionsleistung nach RKM-Applikation vor allem in den ersten Tagen verändert [11, 12, 28, 85, 94, 109, 115].
Auch aufgrund der Pharmakokinetik der RKM ist ein Beobachtungszeitraum von zumindest 48 Stunden sinnvoll, da bei gesunden Probanden bereits nach zwei Stunden annähernd 50 Prozent des injizierten RKM ausgeschieden sind und selbst bei Patienten mit schwerer Nierenschädigung bereits 50 % des RKM nach 16 bis 84 Stunden im Urin vorzufinden sind [70]. Somit werden die meisten durch RKM verursachten Änderungen der Nierenfunktion im Sinne einer KN, durch diese Definition erfasst. Zudem lässt sich ein zum Beispiel nach acht Tagen auftretendes Nierenversagen nicht mit Sicherheit einer RKM-Applikation zuordnen.
Allerdings ist das Auftreten einer KN auch später als 48 Stunden nach RKM-Applikation denkbar. Durch die verlängerte Halbwertzeit der RKM bei Niereninsuffizienz kann es möglicherweise zu einer Akkumulation irreparabler oxidativer DNS-Schäden kommen.

Gerade bei Patienten mit bereits vorbestehender Niereninsuffizienz ist ein Anstieg des Serumkreatinins um $\geq$44 μmol/l oder um mindestens 25% eine eher mäßige Verschlechterung der Nierenfunktion.
Selbst bei den in die Metaanalyse von Birck et al. (2003) eingeschlossenen Hochrisikogruppen war die Häufigkeit einer aufgrund KN notwendigen Hämodialyse mit 0,7% gering [16]. Trotz des Zusammenhanges zwischen dem Auftreten einer KN und der verschlechterten Langzeitprognose von Patienten mit KN existieren nur wenige Studien, welche die Prophylaxe der KN im Bezug auf härtere klinische Endpunkte, wie z. B. eine

terminale Niereninsuffizienz oder die Krankenhaussterblichkeit untersuchen. Deswegen sollten in künftigen Studien weitere Parameter, zumindest als sekundäre Endpunkte, erfasst werden. Zu diesen Parametern gehören die Morbidität, die Mortalität und das Auftreten einer terminalen Niereninsuffizienz bzw. die Notwendigkeit einer passageren oder permanenten Nierenersatztherapie. Des Weiteren von Interesse sind eine Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes sowie die Notwendigkeit einer Intensivtherapie, weil beides mit erhöhten Kosten verbunden ist.

4.3 Risikofaktoren der Kontrastmittelnephropathie

Mit einer logistischen Regressionsanalyse wurden die Daten der vorliegenden Studie bezüglich Beeinflussung der KN-Inzidenz durch die Faktoren Alter, Geschlecht, RKM-Menge, Blutdruck, Diabetes mellitus, BMI sowie Einnahme eines ACE-Hemmers untersucht.
Die Auswertung zeigte, dass das Auftreten einer KN lediglich von der zugelosten Gruppenzugehörigkeit zur Verumgruppe, also der Art der verabreichten Prophylaxe abhängig war. Von den Kovariablen Alter, Geschlecht, systolischer und diastolischer Blutdruck, applizierte Kontrastmittelmenge, Gabe eines ACE-Hemmers, Diabetes mellitus oder BMI war die Inzidenz der KN unabhängig.
Dies ist bemerkenswert, weil das Auftreten einer KN somit unabhängig von den anerkannten Risikofaktoren, wie z. B. von der applizierten RKM-Menge, zu sein scheint.
Die statistische Unabhängigkeit der KN-Inzidenz von der applizierten RKM-Menge ist bereits in einer Metaanalyse von Birck et al. im Jahr 2003 aufgefallen [16]. Wie in der vorliegenden Studie wurde bei allen in die Metaanalyse von Birck et al. eingeschlossenen Studien in Verum- und Kontrollgruppe eine KN-Prophylaxe in Form einer Hydratation mit NaCl-Lösung verabreicht. Bei bewiesener Wirksamkeit dieser Maßnahme müsste die Gesamt-Inzidenz der KN in diesen Studien bereits geringer ausfallen, als bei Studien ohne verabreichte Prophylaxe. Da in einer logistischen Regressionsanalyse die möglichen Risikofaktoren als Einflussfaktor auf die Inzidenz der KN untersucht werden, könnte dies dazu geführt haben, dass sich aufgrund der geringeren Gesamt-Inzidenz keine signifikanten Inzidenzunterschiede in Abhängigkeit von den getesteten Risikofaktoren mehr einstellen konnten. Des Weiteren könnten die eher knapp bemessenen Studienpopulationen ursächlich für die statistische Unabhängigkeit der KN-Inzidenz von den 'anerkannten' Risikofaktoren sein.

Ähnliche Ergebnisse lieferte auch eine weitere aktuelle Studie an Patienten mit vorbestehender Niereninsuffizienz, welche eine Koronarangiografie erhielten. In der Gruppe, die mehr als 100 ml RKM ('high dose') erhalten hatte, fand sich im Vergleich zu der Gruppe, welche weniger als 100 ml RKM erhalten hatte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Inzidenz der KN [78].

Eine andere denkbare Ursache für die Unabhängigkeit der KN von der RKM-Dosis könnte sein, dass bereits eine wesentlich geringere RKM-Dosis zu einem Maximum an ROS-Freisetzung und DNS-Schädigung führt, so dass bei höherer RKM-Dosis kein linearer Zusammenhang mehr zwischen RKM-Dosis und dem Ausmaß der ROS-Freisetzung vorliegt.
Vorstellbar ist auch, dass RKM dosisunabhängig zu einer Vasokonstriktion der Nierenarterien führen und das Ausmaß der Schädigung wesentlich über die vorbestehende Niereninsuffizienz und über das Vorhandensein weiterer Risikofaktoren geprägt ist.
Bis zur endgültigen Klärung dieser Fragen sollten RKM bei vorhandenem Risikoprofil für das Auftreten eine KN weiterhin möglichst sparsam dosiert werden.

Bezüglich eines Diabetes mellitus als eigenständigem Risikofaktor finden sich ebenfalls divergente Studienergebnisse. In einer Studie von Apelquist et al. wurden 64 Patienten mit Diabetes mellitus, welche im Rahmen einer Untersuchung Iohexol (Omnipaque) erhielten, untersucht. Es kam bei 26% der Patienten zum Auftreten einer KN (Serumkreatinin $\geq$25% über dem Ausgangswert). Diese Studie fand keinen Zusammenhang zwischen den angestiegenen Kreatininwerten und Alter, Diabetes-Typ, Dauer der Erkrankung an Diabetes, Geschlecht, Blutdruck, HbA1c oder den Blutzuckerwerten. Die vorbestehende Niereninsuffizienz als Risikofaktor bestätigte sich jedoch [5].
Rich et al. konnten allerdings im Jahr 1990 in ihrer Studie an 183 Patienten zeigen, dass die Gabe von mehr als 200 ml RKM, ein Serumalbumin von weniger als 35 g/l, ein Serumnatrium von weniger als 135 mmol/l, die Erkrankung an Diabetes mellitus sowie ein Serumkreatinin von mehr als 133 mmol/l unabhängige Risikofaktoren sind. Die Kombination von zwei und mehr dieser Faktoren erhöhte das KN-Risiko um 20% [96].
In einer anderen Studie von McCullogh et al. hingegen erhöht die Erkrankung an Diabetes mellitus das KN-Risiko lediglich additiv zur vorhandenen Niereninsuffizienz [77].
Bei den meisten bisherigen Studien wurde die Prophylaxe der KN an Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz untersucht, da das Risiko eine KN zu entwickeln, bei Patienten mit normaler Nierenfunktion gering ist [96, 99]. Die aufgeführten Risikofaktoren ergeben sich aus den Daten dieser Studien, aber lediglich als additive Risikofaktoren zur bereits vorhandenen Niereninsuffizienz. Vielmehr sind manche dieser Risikofaktoren oft Ursache der vorhandenen Niereninsuffizienz (Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, Einzelniere, Plasmozytom) und haben die Funktion der Niere, wenn unter Umständen auch noch nicht messbar, bereits geschädigt. Somit ist möglicherweise einigen dieser Faktoren als eigenständigem Risikofaktor für die KN keine Bedeutung zuzumessen.
Da weiterführende Studien fehlen, welche das Auftreten einer KN z. B. mit Diabetes

mellitus als alleinigem Risikofaktor untersuchen, bleibt unklar, ob diese Risikofaktoren alleine zu einer erhöhten Inzidenz der KN führen.

Bis zur endgültigen Beantwortung dieser Fragen sollten RKM bei Niereninsuffizienz und zusätzlichen Risikofaktoren für das Auftreten einer KN weiterhin möglichst sparsam dosiert werden. Des Weiteren sollten nephrotoxische Medikamente pausiert werden, da sie den oxidativen Stress zusätzlich erhöhen. Auch wenn bei manchen Faktoren betreffend deren Wertung als eigenständigem Risikofaktor noch weiterer Abklärungsbedarf existiert, erhöht deren Vorhandensein bei Niereninsuffizienz die Inzidenz der KN signifikant. Bei Patienten mit Diabetes mellitus empfiehlt sich die Prophylaxe mit MESNA bereits bei normalen Kreatininwerten.

4.4 Freie Sauerstoffradikale in der Genese der Kontrastmittelnephropathie

Wie bereits dargelegt, spielt die Bildung von ROS nach RKM-Applikation eine wichtige Rolle in der Genese der KN [28, 53, 59, 67, 94, 115, 123, 129].
In geringen Konzentrationen sind ROS auch Bestandteil von Signalkaskaden oder dienen als Regulatoren grundlegender Zellregulationsmechanismen, zum Beispiel im Bereich des Zellwachstums. In höheren Konzentrationen können ROS aber Zellschäden bis hin zum Zelluntergang durch Apoptose verursachen [74, 127]. ROS führen zu DNS-Einzel- und Doppelstrangbrüchen, alkaliinstabilen DNS-Loci und oxidierten Purin- und Pyrimidin-Basen mit konsekutiver zellulärer Dysfunktion oder Zelluntergang durch Apoptose [74, 75, 127]. Mikroskopisch finden sich Apoptosen, mitochondriale Schädigungen und Abhebungen der Tubuluszellen von der Basalmembran [74]. Bei entsprechend ausgeprägter struktureller Schädigung kommt es in Folge zu einer Funktionseinbuße der Niere.

Die Gabe von RKM führt zu einer vermehrten Bildung von ROS. Die DNS-Schädigung durch ROS ist einer der Mechanismen, welcher zum Auftreten einer KN und somit eines durch RKM verursachten ANV führt [28, 53, 94, 115, 127, 129]. Aber auch durch andere Noxen kommt es zu vermehrter Bildung von ROS und konsekutivem oxidativem DNS-Schaden. In einer Studie von Allen et. al führte Hyperglykämie zu ROS-vermittelter DNS-Schädigung an Tubulusepithelzellen. Die DNS-Schäden konnten durch Antioxidantien verhindert werden [3]. Weiterhin spielen ROS, zum Beispiel bei der Nephrotoxizität von tubulotoxischen Arzneimitteln (nichtsteroidalen Antirheumatika, Cisplatin, Aminoglykoside, Cyclosporin A, Foscarnet, Lithium) eine wichtige Rolle [46, 102]. Auch nach einer Ischämie kommt es in der Niere zur vermehrten Bildung von ROS [75].

Somit stellt die vermehrte Bildung von ROS möglicherweise die gemeinsame Endstrecke verschiedenster Noxen dar.
Die durch ROS induzierten DNS-Schäden können in Tier- und Zellmodellen erfolgreich durch die Therapie mit Antioxidantien verhindert werden [3, 46, 75, 102]. Die Inzidenz der KN wird, nicht nur in der vorliegenden Studie, durch antioxidative Substanzen reduziert. Daher ist davon auszugehen, dass man eine KN oder auch allgemein, ein durch nephrotoxische Substanzen verursachtes ANV, durch Applikation von antioxidativen Substanzen verhindern kann [25].

Zusätzlich zur Bildung von ROS fanden Lee et al. Hinweise darauf, dass es nach Applikation von ionischem, hochosmolarem RKM (Diatrizoat) zu einer signifikanten Reduktion der Aktivität der Glutathionreduktase in den Nieren kommt [62]. Dies lässt annehmen, dass auch die endogenen antioxidativen Systeme mit der Neutralisation der durch RKM-Applikation vermehrt anfallenden ROS beschäftigt sind. Möglicherweise ist, gerade bei Patienten mit bereits erhöhtem oxidativem Stress, der noch vorhandene endogene antioxidative Schutz nicht ausreichend, um eine vermehrte Zellschädigung durch die anfallenden ROS zu vermeiden. Allerdings änderte sich bei der Applikation von nichtionischem niederosmolarem Iopromid die Aktivität der Glutathionperoxidase nicht signifikant. Im Tierversuch ist die Applikation von MESNA zur Wiederherstellung des nach Ischämie durch freien Radikale reduzierten Glutathion nachgewiesen wirksam [51].
Folglich ist die Gabe von antioxidativen Substanzen bereits vor Applikation nephrotoxischer Substanzen sinnvoll, da ein möglicherweise vorbestehender Mangel an endogenen antioxidativen Substanzen, zum Beispiel bei chronischer Niereninsuffizienz, ausgeglichen bzw. regeneriert werden kann.

4.5 Nachweis von freien Radikalen mit dem Comet-Assay

In der vorliegenden Studie strebten wir einen direkten Nachweis der durch ROS bedingten DNS-Schädigung mit dem 'Comet-Assay' an [23, 26, 91, 107]. Bei periinterventioneller Applikation von MESNA erwarteten wir ein geringeres Ausmaß der durch ROS induzierten DNS-Schäden, als bei alleiniger Hydratation.
Bei der Auswertung der Daten zeigte sich aber kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Auch innerhalb der beiden Gruppen kam es zu keiner signifikanten Änderung des gemessenen Tail-Moments. Tendenziell stieg in beiden Gruppen als Effekt der RKM-Applikation der Tail-Moment, wenn auch nicht signifikant, an.
Auffällig war, dass die Messwerte eine große Streubreite um den Mittelwert aufwiesen, welche nach RKM-Applikation nochmals zunahm.

Bei Niereninsuffizienz besteht durch die Urämie bereits ein erhöhter oxidativer Stress, und folglich bereits eine DNS-Schädigung durch freie Radikale vor einer RKM-Applikation [65, 83, 128].
Dies ließ sich in der vorliegenden Studie bereits visuell bei der mikroskopischen Begutachtung der fragmentierten DNS vor RKM-Applikation im Vergleich zur DNS nicht geschädigter Zellen bestätigen. Möglicherweise ist die Detektion der zusätzlichen DNS-Schädigung bei RKM-Applikation mittels dem verwendeten Comet-Assay unter diesem Umstand und mit den verwendeten Untersuchungsparametern nicht möglich. Dies könnte dadurch zu erklären sein, dass die DNS für die verwendete computergestützte Auswertungsmethode zu stark fragmentiert war.
Diese Vermutung wurde in der zweiten Versuchsreihe, in der die durch ROS verursachten DNS-Schädigungen mit Verstärkung durch die Endonuklease FPG untersucht werden sollte, offensichtlich. Aufgrund der stärker als erwarteten DNS-Fragmentation und der damit verbundenen stärkeren Auftrennung der DNS-Bruchstücke während der Elektrophorese, konnte das Makro, auch nach Anpassung der Einstellungen, nicht den kompletten 'DNS-Schweif' selektieren. Dadurch war eine zuverlässige und reproduzierbare Erfassung der Länge des DNS-Schweifes als Maß für die DNS-Schädigung nicht möglich. Ursache war eine für diese Modifikation des Comet-Assay nicht angepasste Elektrophoresedauer.
Alternativ zur computergestützten Auswertung kann ein geschulter Untersucher ein gleichwertiges Ergebnis durch visuelle Begutachtung und Klassifikation des DNS-Schadens erhalten [24]. Möglicherweise hätte die visuelle Auswertung der Präparate der vorliegenden Studie ein anderes Ergebnis erbracht, da man die der jeweiligen Kern-DNS zugehörige Schweiflänge visuell besser identifizieren und abschätzen kann.

Der nephrotoxische Effekt der ROS spielt sich hauptsächlich auf Ebene der Tubuluszellen ab [74, 75, 123, 127]. Bei überwiegend renaler Elimination der RKM ist aufgrund von Wasser-Rückresorption eine hohe intratubuläre Konzentration von RKM zu erwarten. Dadurch steigt vermutlich deren lokale Toxizität. Das direkte Ausmaß der Schädigung von Nierentubuluszellen lässt sich ohne direkten Nachweis durch Nierenbiopsie nicht feststellen.
In der vorliegenden Studie dienten zum Nachweis der durch ROS vermittelten DNS-Schäden kernhaltige Zellen aus EDTA-Vollblut, also vornehmlich Leukozyten. Leukozyten sind, zumindest in der Zellkultur, bezüglich oxidativer Schäden weniger schadenanfällig als andere kernhaltige Zellen [24]. An Leukozyten fällt die durch ROS induzierte DNS-Schädigung möglicherweise schwächer aus.
Diese Faktoren können ebenfalls dazu geführt haben, dass wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisen konnten.

Ergänzend zu einer erneuten Untersuchung mit angepassten Untersuchungsbedingungen können zum Nachweis und der Quantifizierung eines durch ROS vermittelten DNS-Schadens an Nierenzellen nur Studien an Zellkulturen oder Tieren weitere Erkenntnisse liefern. Eine Versuchsreihe mit Nierentubuluszellen (HK-2) zeigte geringere DNS-Schäden nach Wasserstoffperoxid-Exposition bei vorheriger Behandlung mit MESNA [43].

Zusammenfassend gelang uns der Nachweis einer verstärkten DNS-Schädigung durch RKM und die Verminderung dieser Schäden durch die Applikation von MESNA aufgrund von methodischen Fehlern nicht. Aufgrund vorhergehender Studien ist aber die Bildung von ROS als wichtigem Bestandteil der Pathogenese der KN gesichert [28, 53, 59, 67, 94, 115, 123, 129].

4.6 Kreatinin als Nierenfunktionsparameter

Bei der Auswertung der Ergebnisse der vorliegenden Studie fiel auf, dass es innerhalb der Verumgruppe zu einem statistisch signifikanten Abfall des Serumkreatinins kam, welcher auch nach 48 Stunden auf vergleichbarem Niveau um 10,85% unter dem Ausgangswert persistierte. In ähnlichem Verhältnis stieg in der mit MESNA behandelten Gruppe die eGFR signifikant an. Nach 48 Stunden lag die eGFR 8,6% über dem Ausgangswert.
In der Plazebogruppe hingegen war der Verlauf des Serumkreatinins statistisch stabil. Von der Tendenz zeigt sich in der Plazebogruppe jedoch ein Ansteigen des Serumkreatinins um 10,7% bei der Messung nach 48 Stunden. Auch bezüglich der eGFR kam es in der Plazebogruppe zu keinen signifikanten Änderungen. Tendenziell sank die eGFR nach 48 Stunden um 12,3% im Vergleich zum Ausgangswert ab.
Da die Formel MDRD-2 zur Berechnung der eGFR auf den gemessenen Serumkreatininwerten basiert, ist das Verhalten der eGFR nicht verwunderlich.

Durch die Neutralisierung schädigender ROS durch Applikation von antioxidativen Substanzen würde man ein geringeres oder fehlendes Ansteigen des Serumkreatinins nach einer RKM-Applikation erwarten. Wie beschrieben, zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Studie allerdings einen signifikanten Abfall des Serumkreatinins.
Ähnliche Ergebnisse fanden bereits Tepel et al. (2000) in ihrer Studie mit dem Antioxidans NAC. In dieser Studie kam es in der mit NAC behandelten Gruppe ebenfalls zu einem signifikanten Absinken des Serumkreatinins, wohingegen das Serumkreatinin in der Kontrollgruppe sich nicht signifikant veränderte [115].
In einer Studie an 50 gesunden Probanden fanden Hoffmann et al. (2004) heraus, dass

die Gabe von 1,2 Gramm NAC pro Tag auch bei gesunden Patienten ohne Kontrastmittelapplikation zu einer signifikanten Reduktion der gemessenen Serumkreatininwerte im Vergleich zu einer nicht behandelten Kontrollgruppe führt. Der in dieser Studie zusätzlich als weiterer Marker für die Nierenfunktion bestimmte Cystatin C-Wert blieb jedoch unbeeinflusst [45].
Der Tatsache, dass beide Substanzen, welche sich in dem Vorhandensein einer Thiolgruppe ähnlich sind, zu einer vergleichbaren Veränderung des Serumkreatinins führen, könnte ein Gruppeneffekt der thiolgruppenhaltigen Antioxidantien zugrunde liegen.

Die Absenkung des Serumkreatinins durch MESNA und NAC lässt zwei mögliche Schlussfolgerungen zu. Den Ergebnissen liegt eine tatsächliche Verbesserung der glomerulären Filtrationsleistung im Sinne einer nephroprotektiven Wirkung von MESNA und NAC zugrunde, oder der Kreatin-/Kreatininstoffwechsel wird durch diese Substanzen beeinflusst.
Außer seiner Eigenschaft als Antioxidans und Uroprotektor bei der Chemotherapie mit Oxazaphosphorinen ist MESNA bisher nicht auf Beeinflussungen des Stoffwechsels untersucht worden.
Von NAC wurde der Einfluss auf den Kreatininstoffwechsel nachgewiesen. NAC führt einerseits durch Eliminierung von ROS zur Reduktion von deren hemmender Wirkung auf die Kreatinkinase und andererseits zu einer direkten Aktivierung dieser [37, 45, 126]. Deshalb ist anzunehmen, dass diese Eigenschaften auf MESNA ebenfalls zutreffen könnten, da sich beide Substanzen aufgrund ihrer Thiolgruppen als Radikalfänger eignen und ähneln.
Durch die gute Wasserlöslichkeit von MESNA und Di-MESNA erfolgen eine rasche glomeruläre Filtration und eine Anreicherung in den Nieren. Dann wird Di-MESNA in Tubuluszellen reabsorbiert und erneut zu MESNA reduziert, welches wieder tubulärer sezerniert wird [50, 90, 106]. Aufgrund dieser Tatsache erscheint eine Interaktion von MESNA mit den renalen Sekretions-/Transportsystemen möglich. Dies könnte zu einer gesteigerten Sekretion von Kreatinin in die Tubuli und somit zu einer verstärkten Ausscheidung mit Absinken des Serumkreatinins führen. Des Weiteren ist bei Niereninsuffizienz die tubuläre Sekretion von Kreatinin verstärkt [126]. Möglicherweise führt die Applikation von MESNA zu einer weiteren Verstärkung dieses Ausscheidungsweges. Unterstützt wird die Vermutung, dass es nach Applikation von thiolgruppenhaltigen Antioxidantien (MESNA, NAC) zu einer Beeinflussung des Kreatininstoffwechsels kommt auch durch die Tatsache, dass das Serumkreatinin bei der Applikation von NAC auch bei Probanden ohne Niereninsuffizienz signifikant gesenkt wird [45].
Beim Einsatz von Ascorbinsäure als Antioxidans zur Prophylaxe der KN kommt es nicht zu einem Absinken des Serumkreatinins [111]. Die antioxidative Eigenschaft von

Ascorbinsäure ist nicht durch eine Thiolgruppe, sondern durch eine Endiol-Struktur bedingt [36]. Daher ist anzunehmen, dass die Thiolgruppe von MESNA und NAC für die mögliche Beeinflussung des Kreatininstoffwechsels verantwortlich ist.

Bei der Bestimmung der GFR mittels Kreatininclearance und bei der rechnerischen Abschätzung der GFR durch diverse Formeln (Cockcroft-Gault, MDRD) geht man von folgenden Annahmen aus: Kreatinin wird in konstantem Maße produziert, es verhält sich biochemisch inert und wird lediglich frei glomerulär filtriert und nicht zusätzlich tubulär sezerniert. Diese Bedingungen sind aber bei Patienten mit Niereninsuffizienz nicht unbedingt gültig, denn das Kreatinin unterliegt bei chronischer Niereninsuffizienz in zunehmendem Maße der Verstoffwechselung zu anderen Abbauprodukten und wird, neben der glomerulären Filtration, zunehmend auch durch tubuläre Sekretion ausgeschieden [126]. Es findet zum Beispiel die Wiederumwandlung zu Kreatin und die Ausscheidung in den Darm statt. Des Weiteren gewinnen oxidative Abbauwege des Kreatinins bei Niereninsuffizienz an Bedeutung. Diese Abbauwege des Kreatinins werden bei Anwesenheit von ROS stimuliert [79]. Diese alternativen Stoffwechselwege reduzieren das Serumkreatinin und führen dadurch meist zu einer Überschätzung der GFR bei Niereninsuffizienz [126].
Folglich sind die Ergebnisse von Formeln, welche auf dem Serumkreatinin als wesentlichem Parameter basieren, durch diese Tatsachen fehlerbehaftet.

Zusammenfassend sollte in weiteren Studien untersucht werden, ob der Kreatininstoffwechsel durch thiolgruppenhaltige antioxidative Substanzen beeinflusst wird. Des Weiteren sollte in kommenden Studien die gleichzeitige Bestimmung eines zweiten Nierenfunktionsparameters neben dem Serumkreatinin einbezogen werden. Diesbezüglich bietet sich das Protein Cystatin C an, da es in der Studie von Hoffmann et al. zu keiner Beeinflussung dieses Parameters durch die Gabe von NAC kam [45]. Dass das Cystatin C dem Serumkreatinin und der eGFR nach Cockcroft und Gault als Surrogatparameter für die GFR überlegen ist, konnte bereits in einigen Studien gezeigt werden [22, 61, 86, 89, 114].

4.7 Schlussfolgerung

Wie dargelegt, lässt sich durch die prophylaktische periinterventionelle Gabe von MESNA zusätzlich zur intravenösen Hydratation mit NaCl die Inzidenz der KN im Vergleich zur alleinigen intravenösen Hydratation mit NaCl signifikant reduzieren. Bei sehr guter Verträglichkeit ist die Anwendung von MESNA bei allen Risikopatienten zu empfehlen. Durch eine hohe Serumkonzentration bei intravenöser Anwendung, sowie eine rasche

und hohe Anreicherung in den Nieren, eignet sich MESNA auch zur Anwendung unter Notfallbedingungen.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse der vorliegenden Studie ist allerdings in Betracht zu ziehen, dass die Stichprobengröße trotz adäquater Power der Studie klein ist, und es in beiden Gruppen Studienausfälle gab. Des Weiteren sind Patienten aus nur einer Einrichtung in die Studie aufgenommen worden.
Um die mit der vorliegenden Studie gefundenen Ergebnisse zu verifizieren empfehlen sich weitere Studien, möglichst in Form einer Multicenterstudie mit mehreren Hundert Patienten. Der Beobachtungszeitraum sollte verlängert, sowie die Endpunkte um härtere klinische Endpunkte wie die Morbidität, die Mortalität und das Auftreten einer terminalen Niereninsuffizienz bzw. die Notwendigkeit einer passageren oder permanenten Nierenersatztherapie ergänzt werden. Zur Abschätzung der mit dem Auftreten einer KN verbundenen Kosten wäre auch die damit verbundene Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes, sowie die Notwendigkeit einer Intensivtherapie von Interesse.
In künftigen Studien sollte die gleichzeitige Bestimmung eines zweiten Surrogatparameters für die Nierenfunktion, z. B. dem Cystatin C, oder die direkte Messung der GFR neben dem Serumkreatinin erfolgen um zu klären, ob das Serumkreatinin durch antioxidative Substanzen wie MESNA oder NAC beeinflusst wird. Außerdem sollte der Einfluss von MESNA und NAC auf den Kreatininstoffwechsel genauer untersucht werden.

In weiteren Studien sollte mit anderen Untersuchungsparametern mittels des Comet-Assays nochmals der Einfluss von antioxidativen Substanzen auf die durch ROS-Freisetzung bedingten DNS-Schäden untersucht werden um nachweisen zu können, ob Antioxidantien die Inzidenz der KN durch Minimierung von durch ROS bedingten DNS-Schäden wirksam sind.
Die vorbestehende Niereninsuffizienz ist als Risikofaktor für das Auftreten einer KN gesichert. Bezüglich eines Diabetes mellitus als eigenständigem Risikofaktor bestehen Zweifel. Ob die Kontrastmittelmenge einen Risikofaktor darstellt, ist ebenfalls nicht abschließend geklärt. Auch wenn bezüglich mancher Faktoren weiterer Abklärungsbedarf existiert ist bei deren Vorhandensein und bereits vorbestehender Niereninsuffizienz eine konsequente Prophylaxe und engere Überwachung der Patienten empfehlenswert.

5 Zusammenfassung

Die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (KN) ist eine nicht zu vernachlässigende Nebenwirkung bei der intravasalen Applikation von Röntgenkontrastmitteln, vor allem bei Patienten mit vorbestehender Niereninsuffizienz.
Für das Auftreten der KN ist nach heutigem Wissensstand die Kombination aus medullärer Ischämie und die Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen (ROS) verantwortlich. Tierstudien haben gezeigt, dass die Vorbehandlung mit Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (MESNA) die entstehenden ROS abfängt und dadurch eine Funktionseinbuße der Nieren vermindern kann. Bisher wurde aber noch in keiner klinischen Studie am Menschen die Wirksamkeit von MESNA im Bezug auf die Prophylaxe der KN untersucht.

In die vorliegende prospektive, randomisierte und plazebokontrollierte Studie wurden 98 Patienten mit einem Serumkreatinin von $\geq$150 μmol/l (1,69 mg/dl) eingeschlossen. Die Patienten erhielten während der Kontrastmitteluntersuchung entweder eine Infusion mit 1600 mg MESNA gelöst in 500 ml 0,9%-iger Natriumchlorid-Lösung (n=49), oder eine Infusion mit Plazebo (0,9%-ige Natriumchlorid-Lösung) (n=49) beginnend 5 Minuten vor der Kontrastmittelapplikation. Beide Patientengruppen erhielten vor und nach der Kontrastmittelapplikation eine Hydratation mit 0,9%-iger Natriumchlorid-Lösung.
Primärer Endpunkt der Studie war das Auftreten einer KN, welche als Ansteigen des Serumkreatinins im Vergleich zum Ausgangswert um $\geq$44 μmol/l ($\geq$0,5 mg/dl) innerhalb von 48 Stunden nach Kontrastmittelapplikation definiert wurde. Sekundäre Endpunkte waren alle klinisch relevanten Nebenwirkungen einschließlich der Notwendigkeit einer Hämodialyse oder Hämofiltration.

Die Gruppen waren bezüglich Alter, Geschlecht, applizierter Kontrastmittelmenge, Prävalenz eines Diabetes mellitus und dem medianen Serumkreatinin vor der Untersuchung (212 μmol/l (181-280,5 μmol/l) vs. 208 μmol/l (170-308,5 μmol/l)) statistisch miteinander vergleichbar.
Eine KN trat in der mit MESNA behandelten Gruppe bei 2 Patienten (4,1%), in der Plazebogruppe bei 10 Patienten (20,4%) auf (p=0,0275). Die Odds Ratio der KN lag bei Behandlung mit MESNA im Vergleich zur Plazebogruppe bei 0,1660 (95%-Konfidenzintervall 0,03429 - 0,8032).
Innerhalb der MESNA-Gruppe kam es zu einem signifikanten Abfall des medianen Serumkreatinins innerhalb von 48 Stunden (p<0,0001) und einem signifikanten Anstieg der, nach der vereinfachten Formel 'modification of diet in renal disease' (MDRD-2)

geschätzten, medianen glomerulären Filtrationsrate (eGFR) innerhalb von 48 Stunden (p<0,0001). In der Plazebogruppe kam es zu keiner signifikanten Änderung des medianen Serumkreatinins (p=0,9307) oder der eGFR im Beobachtungszeitraum von 48 Stunden (p=0,2836).
Bezüglich der Änderung des Serumkreatinins im Vergleich zum Ausgangswert ($\Delta_{Kreatinin}$) unterschieden sich Verum- und Plazebogruppe signifikant 24 und 48 Stunden nach Kontrastmittelexposition ($\Delta_{Kreatinin24}$ p=0,0090, $\Delta_{Kreatinin48}$ p=0,0178). Ebenfalls unterschied sich die Änderung der eGFR nach 24 Stunden signifikant (Δ_{GFR24} p=0,0314).
Bezüglich der durch ROS verursachten DNS-Schädigung an kernhaltigen Blutzellen fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Mit der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die intravenöse Gabe von 1600 mg MESNA zusätzlich zur Hydratation mit 0,9%-iger Natriumchlorid-Lösung vor dem Auftreten einer KN schützt. Bei der Applikation von MESNA kam es in der Verumgruppe innerhalb von 48 Stunden zu einem signifikanten Abfall des Serumkreatinins im Vergleich zum Ausgangswert. Es traten keinerlei Nebenwirkungen bezüglich der verabreichten Studienmedikation auf. Während des Beobachtungszeitraumes verstarb kein Patient und es musste kein Patient mit einer extrakorporalen Nierenersatztherapie behandelt werden.

6 Literaturverzeichnis

Literaturverzeichnis in alphabetischer Reihenfolge der Autorennachnamen

[1] Abizaid AS, Clark CE, Mintz GS, Dosa S, Popma JJ, Pichard AD, Satler LF, Harvey M, Kent KM, Leon MB: Effects of dopamine and aminophylline on contrast-induced acute renal failure after coronary angioplasty in patients with preexisting renal insufficiency. Am J Cardiol 83: 260-263 (1999)

[2] Agrawal M, Stouffer GA: Cardiology Grand Rounds from The University of North Carolina at Chapel Hill. Contrast induced nephropathy after angiography. Am J Med Sci 323: 252-258 (2002)

[3] Allen DA, Harwood S, Varagunam M, Raftery MJ, Yaqoob MM: High glucose-induced oxidative stress causes apoptosis in proximal tubular epithelial cells and is mediated by multiple caspases. FASEB J 17: 908-910 (2003)

[4] Almartine E, Phayphet M, Thibaudin D, Barral F, Veyret C: Contrast medium-induced acute renal failure and cholesterol embolism after radiological procedures: incidence, risk factors, and compliance with recommendations. Eur J Intern Med 14: 426-431 (2003)

[5] Apelqvist J, Torffvit O, Agardh CD: The effect of the non-ionic contrast medium iohexol on glomerular and tubular function in diabetic patients. Diabet Med 13: 487-492 (1996)

[6] Arend LJ, Bakris GL, Burnett JC, Megerian C, Spielman WS: Role for intrarenal adenosine in the renal hemodynamic response to contrast media. J Lab Clin Med 110: 406-411 (1987)

[7] Aspelin P, Aubry P, Franson SG, Strasser R, Willenbrock R, Berg KJ: Nephrotoxic effects in high-risk patients undergoing angiography. N Engl J Med 348: 491-553 (2003)

[8] Bach R, Jung F: Optimales Röntgenkontrastmittel für die ambulante Koronarangiographie aus mikrozirkulatorischer Sicht. Herz 23: 35-41 (1998)

[9] Baker CS, Wragg A, Kumar S, De Palma R, Baker LR, Knight CJ: A rapid protocol for the prevention of contrast-induced renal dysfunction: the RAPPID study. J Am Coll Cardiol 41: 2114-2118 (2003)

[10] Bakris GL, Lass N, Gaber AO, Jones JD, Burnett JC: Radiocontrast medium-induced declines in renal function: a role for oxygen free radicals. Am J Physiol 258: 115-120 (1990)

[11] Barrett BJ: Contrast nephrotoxicity. J Am Soc Nephrol 5: 125-127 (1994)

[12] Barrett MB, Parfrey PS: Prevention of nephrotoxicity induced by radiocontrast agents. N Engl J Med 331: 1449-1450 (1994)

[13] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P: 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 8: 204-212 (2004)

[14] Bender R, Ziegler A, Lange S: Logistische Regression. Dtsch Med Wochenschr 127: 11–13 (2002)

[15] Berger ED, Bader BD, Bosker J, Risler T, Erley CM: Contrast media-induced kidney failure cannot be prevented by hemodialysis. Dtsch Med Wochenschr 126: 162-166 (2001)

[16] Birck R, Krzossok S, Markowetz F, Schnülle P, Woude F, Braun C: Acetylcystein for prevention of contrast nephropathy: meta-analysis. Lancet 362: 598-603 (2003)

[17] Briguori C, Colombo A, Violante A, Balestrieri P, Manganelli F, Paolo Elia P, Golia B, Lepore S, Riviezzo G, Scarpato P, Focaccio A, Librera M, Bonizzoni E, Ricciardelli B: Standard vs double dose of N-acetylcysteine to prevent contrast agent associated nephrotoxicity. Eur Heart J 25: 206-211 (2004)

[18] Briguori C, Airoldi F, D'Andrea D, Bonizzoni E, Morici N, Focaccio A, Michev I, Montorfano M, Carlino M, Cosgrave J, Ricciardelli B, Colombo A: Renal Insufficiency Following Contrast Media Administration Trial (REMEDIAL): a randomized comparison of 3 preventive strategies. Circulation 115: 1211-1217 (2007)

[19] Brock N, Pohl J, Stekar J, Scheef W: Studies on the urotoxicity of oxazaphosphorine cytostatics and its prevention–III. Profile of action of sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna). Eur J Cancer Clin Oncol 18: 1377-1387 (1982)

[20] Cattel WR, Fry IK, Spencer AG, Purkiss B. Excretion urography. Factors determining the excretion of Hypaque. Br J Radiol 40: 561-571 (1967)

[21] Cirit M, Toprak O, Yesil M, Bayata S, Postaci N, Pupim L, Esi E: Angiotensin-converting enzyme inhibitors as a risk factor for contrast-induced nephropathy. Nephron Clin Pract 104: 20-27 (2006)

[22] Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A, Vera M, Piera C, Darnell A: Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal imairment. Am J Kidney Dis 36: 29-34 (2000)

[23] Collins AR, Duthie SJ, Dobson VL: Direct enzymic detection of endogenous oxidative base damage in human lymphocyte DNS. Carcinogenesis 14: 1733-1735 (1993)

[24] Collins AR, Ai-Guo M, Duthie SJ: The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. Mutat Res 336: 69-77 (1995)

[25] Czock D, Häußler U, Aymanns C, Keller F: Nephrotoxische Arzneimittel. Dtsch Med Wochenschr 130: 2579-2584 (2005)

[26] Dennog C, Hartmann A, Frey G, Speit G: Detection of DNA damage after hyberbaric oxygen (HBO) therapy. Mutagenesis 11: 605-609 (1996)

[27] Deray G, Bagnis C, Jacquiaud C: Renal effects of low and iso-osmolar contrast media on renal hemodynamics in a normal and ischemic dog kidney. Invest Radiol 34: 1-4 (1999)

[28] Diaz-Sandoval LJ, Kosowsky BD, Losordo DW: Acetylcysteine to prevent angiography-related renal tissues injury (the APART Trial). Am J Cardiol 89: 356-358 (2002)

[29] Durham JD, Caputo C, Dokko J, Zaharakis T, Pahlavan M, Keltz J, Dutka P, Marzo K, Maesaka JK, Fishbane S: A randomized controlled trial of N-acetylcysteine to prevent contrast nephropathy in cardiac angiography. Kidney Int 62: 2202-2207 (2002)

[30] Efrati S, Dishy V, Averbukh M, Blatt A, Krakover R, Weisgarten J, Morrow JD, Stein MC, Golik A: The effect of N-acetylcysteine on renal function, nitric oxide, and oxidative stress after angiography. Kidney Int 64: 2182-2187 (2003).

[31] el-Yazigi A, Ernst P, al-Rawithi S, Legayada E, Raines DA: Pharmacokinetics of mesna and dimesna after simultaneous intravenous bolus and infusion administration in patients undergoing bone marrow transplantation. J Clin Pharmacol 37: 618-624 (1997)

[32] Erley CM, Duda SH, Schlepckow S, Koehler J, Huppert PE, Strohmaier WL, Bohle A, Risler T, Osslwald H: Adenosine antagonist theophylline prevents the reduction of glomerular filtration rate after contrast media application. Kidney Int 45: 1425-1431 (1994)

[33] Erley CM, Duda SH: Kontrastmittelnephropathie - Pathogenese und Prävention. Aktuelle Radiol 7: 189-192 (1997)

[34] Erley CM: Does hydration prevent radiocontrast-induced acute renal failure? Nephrol Dial Transplant 14: 1064-1066 (1999)

[35] Erley CM, Duda SH, Rehfuss D, Scholtes B, Bock J, Müller C, Osswald H, Risler T: Prevention of radiocontrast media induced nephropathy in patients with pre-existing renal insufficiency by hydration in combination with the adenosine antagonist theophylline. Nephrol Dial Transplant 14: 1146-1149 (1999)

[36] Fujinami Y, Tai A, Yamamoto I: Radical scavenging activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl of ascorbic acid 2-glucoside (AA-2G) and 6-acyl-AA-2G. Chem Pharm Bull 49: 642-644 (2001)

[37] Genet S, Kale RK, Baquer NZ: Effects of free radicals on cytosolic creatine kinase activities and protection by antioxidant enzymes and sulfhydryl compounds. Mol Cell Biochem 210: 23-28 (2000)

[38] Goldenberg I, Shechter M, Matetzky S, Jonas M, Adam M, Pres H, Elian D, Agranat O, Schwammenthal E, Guetta V: Oral acetylcysteine as an adjunct to saline hydration for the prevention of contrast-induced nephropathy following coronary angiography. A randomized controlled trial and review of the current literature. Eur Heart J 25: 212-218 (2004)

[39] Goren MP, Houle JM, Bush DA, Li JT, Newman CE, Brade WP: Similar bioavailability of single-dose oral and intravenous in the blood and urine of healthy human subjects. Clin Cancer Res 4: 2313-2320 (1998)

[40] Gressier B, Lebegue N, Brunet C, Luyckx M, Dine T, Cazin M, Cazin JC: Scavenging of reactive oxygen species by letosteine, a molecule with two blocked-SH groups. Comparison with free-SH drugs. Pharm World Sci 17: 76-80 (1995)

[41] Gruberg L, Mintz GS, Mehran R, Gangas G, Lansky AJ, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Leon MB: The prognostic implications of further renal function deterioration within 48 h of interventional coronary procedures in patients with preexistent chronic renal insufficiency. J Am Coll Cardiol 36: 1542-1548 (2000)

[42] Gruberg L, Mehran R, Dangas G, Mintz GS, Waksman R, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Wu H, Leon MB: Acute renal failure requiring dialysis after percutaneous coronary interventions. Catheter Cardiovasc Interv 52: 417-419 (2001)

[43] Haeussler U, Riedel M, Keller F: Free reactive oxygen species and nephrotoxicity of contrast agents. Kidney Blood Press Res 27: 167-171 (2004)

[44] Helma C, Uhl M: A public domain image-analysis program for the single-cell gel-electrophoresis (comet) assay. Mutat Res 466: 9–15 (2000)

[45] Hoffmann U, Fischereder M, Krüger B, Drobnik W, Krämer B: The value of N-Acetylcystein in the prevention of radiocontrast agent-induced nephropathy seems questionable. J Am Soc Nephrol 15: 407-410 (2004)

[46] Hou CC, Hung SL, Kao SH, Chen TH, Lee HM: Celecoxib induces heme-oxygenase expression in glomerular mesangial cells. Ann N Y Acad Sci 1042: 235-245 (2005)

[47] Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT: Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. Am J Med 74: 243-248 (1983)

[48] Huber W, Ilgmann K, Page M, Hennig M, Schweigart U, Jeschke B, Lutilsky L, Weiss W, Salmhofer H, Classen M: Effect of theophylline on contrast material-nephropathy in patients with chronic renal insufficiency: controlled, randomized, double-blinded study. Radiology 223: 772-779 (2002)

[49] Humes HD, Hunt DA, White MD: Direct toxic effect of the radiocontrast agent diatrizoate on renal proximal tubule cells. Am J Physiol 252: 246-255 (1987)

[50] James CA, Mant TG, Rogers HJ: Pharmacokinetics of intravenous and oral sodium 2-mercaptoethane sulphonate (mesna) in normal subjects. Br J Clin Pharmacol 23: 561-568 (1987)

[51] Kabasakal L, Sehirli AO, Cetinel S, Cikler E, Gedik N, Sener G.: Mesna (2-mercaptoethane sulfonate) prevents ischemia/reperfusion induced renal oxidative damage in rats. Life Sci 75: 2329-2340 (2004)

[52] Katholi RE, Taylor GJ, McCann WP, Woods WT, Womack KA, McCoy CD, Katholi CR, Moses HW, Mishkel GJ, Lucore CL, Holloway RM, Miller BD, Woodruff RC, Dove JT, Mikell FL, Schneider JA: Nephrotoxicity from contrast media: attenuation with theophylline. Radiology 195: 17-22 (1995)

[53] Katholi RE, Woods WT, Taylor GJ, Deitrick CL, Womack KA, Katholi CR, McCann WP: Oxygen free radicals and contrast nephropathy. Am J Kidney Dis 32: 64-71 (1998)

[54] Khoury Z, Schlicht JR, Como J, Karschner JK, Shapiro AP, Mook WJ, Weber RJ: The effect of prophylactic nifedipine on renal function in patients administered contrast media. Pharmacotherapy 15: 59-65 (1995)

[55] Kurnik BRC, Weisberg LS, Cuttler IM, Kurnik PB: Effects of atrial natriuretic peptide versus mannitol on renal blood flow during radiocontrast infusion in chronic renal failure. J Lab Clin Med 116: 27-35 (1990)

[56] Kurnik BRC, Allgren RL, Genter FC, Solomon RJ, Bates ER, Weisberg LS: Prospective study of atrial natriuretic peptide for the prevention of radiocontrast induced nephropathy. Am J Kidney Dis 31: 674-680 (1998)

[57] Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R: Acute renal failure. Lancet 365: 417-430 (2005)

[58] Lancelot E, Idee JM, Vazin V: Influence of viscosity of iodixanol on medullary and cortical blood flow in the rat kidney: A potential cause of nephrotoxicity. J Appl Toxicol 19: 341-346 (1999)

[59] Lauriat S, Linas SL: The role of neutrophils in acute renal failure. Semin Nephrol 18: 498-504 (1998)

[60] Lauschke A, Teichgraber UK, Frei U, Eckardt KU: 'Low-dose' dopamine worsens renal perfusion in patients with acute renal failure. Kidney Int 69: 1669-1674 (2006)

[61] Le Bricon T, Thervet E, Froissart M, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D: Plasma cystatin C is superior to 24h creatinine clearance and plasma creatinine for estimation of glomerular filtration rate 3 month after kidney transplantation. Clin Chem 46: 1206-1207 (2000)

[62] Lee HC, Yen HW, Sheu SH: Effects of different contrast media on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in the heart and kidneys of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Formos Med Assoc 105: 530-535 (2006).

[63] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. Modification of diet in renal disease study group. Ann Intern Med 130: 461-470 (1999)

[64] Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI: The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. JAMA 275: 1489-1494 (1996)

[65] Lim PS, Cheng YM, Wei YH: Increase in oxidative damage to lipids and proteins in skeletal muscle of uremic patients. Free Radic Res 36: 295-301 (2002)

[66] Lin J, Knight E, Hogan M, Singh A: A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in adults without kidney disease. J Am Soc Nephrol 14: 2573-2580 (2003)

[67] Linas SL, Whittenburg D, Parsons PE, Repine J: Ischemia increases neutrophil retention und worsens acute renal failure: Role of oxygen metabolites and ICAM-1. Kidney Int 48: 1584-1591 (1995)

[68] Liss P, Nygren A, Olsson U, Ulfendahl HR, Erikson U: Effects of contrast media and mannitol on renal medullary blood flow and red cell aggregation in the rat kidney. Kidney Int 49: 1268-1275 (1996)

[69] Liss P, Persson PB, Hansell P, Lagerqvist B: Renal failure in 57925 patients undergoing coronary procedures using iso-osmolar or low-osmolar contrast media. Kidney Int 70: 1811-1817 (2006)

[70] Lorusso V, Taroni P, Alvino S, Spinazzi A: Pharmacokinetics and safety of iomeprol in healthy volunteers and in patientsvwith renal impairment or end stage renal disease requiring haemodialysis. Invest Radiol 36: 309-316 (2001)

[71] Marenzi G, Marana I, Lauri G, Assanelli E, Grazi M, Campodonico J, Trabattoni D, Fabbiocchi F, Montorsi P, Bartonelli AL: The prevention of radiocontrast-agent-induced nephropathy by hemofiltration. N Engl J Med 14: 1333-1340 (2003)

[72] Marenzi G, Lauri G, Assanelli E, Campodonico J, De Metrio M, Marana I, Grazi M, Veglia F, Bartorelli AL: Contrast-induced nephropathy in patients undergoing primary angioplasty for acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 44: 1780-1785 (2004)

[73] Marenzi G, Assanelli E, Marana I, Lauri G, Campodonico J, Grazi M, De Metrio M, Galli S, Fabbiocchi F, Montorsi P, Veglia F, Bartorelli AL: N-acetylcysteine and contrast-induced nephropathy in primary angioplasty. N Engl J Med 354: 2773-2782 (2006)

[74] Marnett LJ: Oxyradicals and DNA damage (Rewiev). Carcinogenesis 21: 361-370 (2000)

[75] Mashiach E, Sela S, Weinstein T, Cohen HI, Shasha SM, Kristal B: Mesna - a novel renoprotective antioxidant in ischaemic acute renal failure. Nephrol Dial Transplant 16: 542-551 (2001)

[76] McCullough PA, Wolyn R, Rocher LL, Levin RN, O'Neill WW: Acute renal failure after coronary intervention: incidence, risk factors, and relationship to mortality. Am J Med 103: 368-375 (1997)

[77] McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F, Tumlin J: Risk prediction of contrast-induced nephropathy. Am J Cardiol 98: 27-36 (2006)

[78] Mekan SF, Rabbani MA, Azhar-uddin M, Ali SS: Radiocontrast nephropathy: is it dose related or not? J Pak Med Assoc 54: 372-374 (2004)

[79] Mitch WE, Collier VU, Walser M: Creatinine metabolism in chronic renal failure. Clin Sci 58: 327–335 (1980)

[80] Morcos SK, Thomsen HS, Webb JAW: Dialysis and contrast media. Eur Radiol 12: 3026-3030 (2002)

[81] Modification of diet in renal disease study group: Creatinine filtration, secretion and excretion during progressive renal disease. Kidney Int 36: 73-80 (1989)

[82] Morena M, Cristol JP, Canaud B: Why hemodialysis patients are in a prooxidant state? What could be done to correct the pro/antioxidant imbalance. Blood Purif 18: 191-199 (2000)

[83] Morena M, Delbosc S, Dupuy AM, Canaud B, Cristol JP: Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. Hemodial Int 9: 37-46 (2005)

[84] Mueller C, Buerkle G, Buettner HJ, Petersen J, Perruchoud AP, Eriksson U, Marsch S, Roskamm H: Prevention of contrast media-associated nephropathy. Arch Intern Med 162: 329-336 (2002)

[85] Murphy SW: Barrett BJ, Parfrey PS: Contrast nephropathy. J Am Soc Nephrol 11: 177-182 (2000)

[86] Mussap M, Dalla Vestra M, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R, Plebani M: Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. Kidney Int 61: 1453-1461 (2002)

[87] Nash K, Hafeez A, Hou S: Hospital-acquired renal insufficiency. Am J Kidney Dis 39: 930-936 (2002)

[88] Neumayer HH, Junge W, Kufner A, Wenning A: Prevention of radiocontrast-media-induced nephrotoxicity by the calcium channel blocker nitrendipine: A prospective randomised clinical trial. Nephrol Dial Transplant 4: 1030-1036 (1989)

[89] Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP: Serum Cystatin C measured by automated immunoasaay: A more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. Kidney Int 47: 312-318 (1995)

[90] Ormstad K, Orrenius S, Lastbom T, Uehara N, Pohl J, Stekar J, Brock N: Pharmacokinetics and metabolism of sodium 2-mercaptoethanesulfonate in the rat. Cancer Res 43: 333-338 (1983)

[91] Ostling O, Johanson KJ : Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun 123: 291-298 (1984)

[92] Pereira CN, Machado FR, Guimaraes HP, Senna AP, do Amaral JL: Hemodynamics and renal function during administration of low-dose dopamine in severely ill patients. Sao Paulo Med J 122: 141-146 (2004)

[93] Poggio E, Wang X, Greene T, Lente F, Hall P: Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. J Am Soc Nephrol 16: 459-466 (2005)

[94] Porter GA: Radiocontrast-induced nephropathy. Nephrol Dial Transplant 9: 146-156 (1994)

[95] Recio-Mayoral A, Chaparro M, Prado B, Cozar R, Mendez I, Banerjee D, Kaski JC, Cubero J, Cruz JM: The reno-protective effect of hydration with sodium bicarbonate plus N-acetylcysteine in patients undergoing emergency percutaneous coronary intervention: the RENO Study. J Am Coll Cardiol 49: 1283-1288 (2007)

[96] Rich MW, Crecelius CA: Incidence, risk factors, and clinical course of acute renal insufficiency after cardiac catheterization in patients 70 years of age or older. Arch Intern Med 150: 1237-1242 (1990)

[97] Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, Singh M, Bell MR, Barsness GW, Mathew V, Garratt KN, Holmes DR Jr: Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. Circulation 105: 2259-2264 (2002)

[98] Rudnick MR, Goldfarb S, Wexler L, Ludbrook PA, Murphy MJ, Halpern EF, Hill JA, Winniford M, Cohen MB, VanFossen DB: Iohexol Cooperative Study: Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media in 1196 patients: A randomized trial. Kidney Int 47: 254-261 (1995)

[99] Rudnick MR, Berns JS, Cohen RM, Goldfarb S: Contrast-media assiciated nephrotoxicity. Semin Nephrol 17: 15-26 (1997)

[100] Rudnick MR, Goldfarb S: Pathogenesis of contrast-Induced nephropathy: experimental and clinical observations with an emphasis on the role of osmolarity. Rev Cardiovasc Med 4: 28-33 (2003)

[101] Russo D, Testa A, Volpe LD, Dansone G: Randomised prospective study on renal effects of two different contrast media in humans: Protective role of calcium channel blockeres. Nephron 5: 254-257 (1990)

[102] Satoh M, Kashihara N, Fujimoto S, Horike H, Tokura T, Namikoshi T, Sasaki T, Makino H: A novel free radical scavenger, edarabone, protects against cisplatin-induced acute renal damage in vitro and in vivo. J Pharmacol Exp Ther 305: 1183-1190 (2003)

[103] Schindler R, Stahl C, Venz S, Ludat K, Krause W, Frei U: Removal of contrast media by different extracorporal treatments. Nephrol Dial Transplant: 16: 1471-1474 (2001)

[104] Schlungbaum W : Verteilung, Ausscheidung und Resorption nierengängiger mit 131-Jod markierter Röntgenkontrastmittel. Fortschr Geb Rontgenstr Nuklearmed 96: 795-806 (1962)

[105] Schoenike SE, Dana WJ : Ifosfamide and mesna. Clin Pharm 9: 179-191 (1990)

[106] Shaw IC, Graham MI, Jones MS: The fate of [14C]-mesna in the rat. Arzneimittelforschung 36: 487-489 (1986)

[107] Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL : A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Exp Cell Res 175: 184-191 (1988)

[108] Smith PF, Booker BM, Creaven P, Perez R, Pendyala L: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mesna-mediated plasma cysteine depletion. J Clin Pharmacol 43: 1324-1328 (2003)

[109] Solomon R, Werner C, Mann D, D'Elia J, Silva P: Effects of saline, mannitol, and furosemid on acute decreases in renal function induced by radiocontrast agents. N Engl J Med 331: 1416-1420 (1994)

[110] Solomon R: Contrast medium-induced acute renal failure. Kidney Int 53: 230-242 (1998)

[111] Spargias K, Alexopoulos E, Kyrzopoulos S, Iokovis P, Greenwood DC, Manginas A, Voudris V, Pavlides G, Buller CE, Kremastinos D, Cokkinos DV: Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. Circulation 110: 2837-2842 (2004)

[112] Sterner G, Frennby B, Kurkus J, Nyman U: Does post-angiographic hemodialysis reduce the risk of contrast-medium nephropathy? Scand J Urol Nephrol 34: 323-326 (2000)

[113] Stevens MA, Mc Cullough PA, Tobin KJ, Speck JP, Westveer DC, Guido-Allen DA, Timmes GC, ONeill WW: Contrast nephrotoxicity: a randomized trial of prevention measures in patients at high risk for contrast nephropathy: results of the P.R.I.N.C.E. study: Prevention of radiocontrast induced nephropathy clinical evaluation. J Am Coll Cardiol 33: 403-411 (1999)

[114] Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland K: Renal handing of radiolabelled human cystatin C in the rat. Scand J Clin Lab Invest 56: 409-414 (1996)

[115] Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W: Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. N Engl J Med 343: 180-184 (2000)

[116] Tepel M, Aspelin P, Lameire N: Contrast-induced nephropathy: a clinical and evidence-based approach. Circulation 113: 1799-806 (2006)

[117] Teraoka T, Sugai T, Nakamura S, Hirasawa H, Oda S, Shiga H, Suga M, Yamane S, Ishii H, Yamagata S, Satoh N, Ueda S: Prediction of iopromide reduction rates during haemodialysis using an in vitro dialysis system. Nephrol Dial Transplant 20: 754-759 (2005)

[118] Thomson HS: Contrast-medium-induced nephrotoxicity: are all answers in for acetylcysteine? Eur Radiol 11: 2351-2353 (2001)

[119] Trivedi HS, Moore H, Nasr S, Aggarwal K, Agrawal A, Goel P, Hewett J: A randomized prospective trial to assess the role of saline hydration on the development of contrast nephrotoxicity. Nephron Clin Pract 93: 29-34 (2003)

[120] Udea J, Nygren A, Hansell P: Effect of intravenous contrast media on proximal and distal tubular hydrostatic pressure in the rat kidney. Acta Radiol 34: 83-87 (1993)

[121] Vogt B, Ferrari P, Schönholzer C, Marti HP, Mohaupt M, Wiederkehr M, Cereghetti C, Serra A, Huynh-Do U, Uehlinger D, Frey FJ: Prophylactic hemodialysis after radiocontrast media in patients with renal insufficiency is potentially harmful. Am J Med 111: 692-698 (2001)

[122] Waaler A, Svaland M, Fauchald P: Elimination of iohexol, a low osmolar nonionic contrast medium, by hemodialysis in patients with chronic renal failure. Nephron 56: 81-85 (1990)

[123] Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML: Renal ischaemia-reperfusion injury. Br J Surg 83: 162-170 (1996)

[124] Weisberg LS, Kurnik PB, Kurnik BRC: Dopamine and renal blood flow in radiocontrast-induced nephropathy in humans. Ren Fail 15: 61-68 (1993)

[125] Wichmann G, Gross P: Kontrastmittelnephropathie. Nieren Hochdruck 31: 340-343 (2002)

[126] Wyss M, Kaddurah-Daouk R: Creatine and creatinine metabolism. Physiol Rev 80: 1107-1213 (2000)

[127] Yano T, Itoh Y, Sendo T, Kubota T, Oishi R: Cyclic AMP reverses radiocontrast media-induced apoptosis in LLC-PK1 cells by activating A kinase/PI3 kinase. Kidney Int 64: 2052-2063 (2003)

[128] Yoon JW, Pahl MV, Vaziri ND: Spontaneous leukocyte activation and oxygen-free radical generation in end-stage renal disease. Kidney Int 71: 167-172 (2007)

[129] Yoshioka T, Fogo A, Beckman JK: Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion. Kidney Int 41: 1008-1015 (1992)

Danksagung

- Zunächst bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Frieder Keller für die freundliche Überlassung des Themas.
- Ein großer Dank gilt Dr. Ulla Häussler für die exzellente Betreuung der Arbeit, ihre Hilfsbereitschaft und ihre jederzeit offenes Ohr für meine Fragen und Probleme.
- Vielen Dank an Fr. Rosa Herzog für das heranführen an die Laborarbeit.
- Ganz besonders bedanke ich mich bei meiner Mutter und meiner Oma und meiner Freundin, die mich über die ganze Zeit immer wieder motiviert und bestärkt haben.
- Und nicht zuletzt bedanke ich mich ganz herzlich bei allen Patientinnen und Patienten, die sich bereit erklärt haben, an der Studie teilzunehmen.

Lebenslauf

Name	Maik Oliver Backes
Geburtstag	18.4.1977
Geburtsort	Offenbach am Main
Adresse	Schillerstraße 14, 73728 Esslingen
Email	maik.backes@alumni.uni-ulm.de

Schulausbildung

1983 - 1984	Grundschule Dettingen-Wallhausen
1984 - 1987	Sommertalschule Meersburg
1987 - 1989	Gymnasium Überlingen
1989 - 1986	Droste-Hülshoff-Gymnasium Meersburg
6/1996	Abitur

Studium

1995 - 1997	Jungstudent, Klarinettenklasse Prof. W. Wandel, Staatliche Hochschule für Musik, Trossingen
10/1998	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Ulm
8/2000	Ärztliche Vorprüfung an der Universität Ulm
8/2001	Erstes Staatsexamen an der Universität Ulm
8/2003	Zweites Staatsexamen an der Universität Ulm
8/2003 - 11/2004	Praktisches Jahr am KKH Biberach (Wahlfach: Radiologie)
11/2004	Drittes Staatsexamen am Kreiskrankenhaus Biberach

Klinische Ausbildung (Famulaturen)

Allgemein- und Betriebsmedizin	Dr. med. W. Köster, Oberteuringen
Innere Medizin	Universitätsklinik Ulm, Kardiologie
Chirurgie	Donauklinik Neu-Ulm

Berufliche Tätigkeit

12/2004 - 11/2006	Assistenzarzt, Medizinische Klinik, Gesundheitszentrum Tuttlingen, Chefarzt Dr. med. H. U. Töpfer
12/2006 - 3/2007	Assistenzarzt, Medizinische Klinik II, Klinik am Eichert Göppingen, Chefärzte Dr. med. G. Allmendinger, Prof. Dr. med. E. Kurrle
seit 5/2007	Assistenzarzt, Zentrum für diagnostische Medizin - Institut für Radiologie, Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart, Chefärztin Prof. Dr. med. A. Geissler

Fachkunde

1/2007	Fachkunde im Strahlenschutz, Anwendungsgebiete Notfalldiagnostik und Röntgendiagnostik des Thorax