

Aus der Klinik für Nephrologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. L. Christian Rump

Bestimmung der glomerulären und tubulären Funktion bei übergewichtigen  
Diabetikern mit eingeschränkter Nierenfunktion

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
Alexandra Beien-Telle  
2017

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöckner

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Michael Koch

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Michael Roden

Gewidmet meinem Vater  
+28.10.2008

„Je schöner und voller die Erinnerung,  
desto schwerer ist die Trennung.  
Aber die Dankbarkeit verwandelt die  
Erinnerung  
In eine stille Freude.  
Man trägt das vergangene Schöne  
nicht wie einen Stachel,  
sondern wie ein kostbares Geschenk in  
sich.“  
Dietrich Bonhoeffer

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Koch, M., Beien, A., Fußhöller, A., Zitta, S., Haastert, B., Trapp, R., (2008) Impact of age, body mass index, insulin resistance and proteinuria on the kidney function in obese patients with Type 2 diabetes and renal insufficiency, *Clinical Nephrology*, (69), 10

## **Zusammenfassung**

Bei Typ 2 Diabetikern liegt wegen einer generalisierten Minderperfusion bereits vor Eintritt der Dialysepflichtigkeit eine hohe kardiovaskuläre Mortalität vor. Die renale Minderperfusion äußert sich in einer Einschränkung der Nierenfunktion. Neben den typischen diabetischen glomerulären Läsionen sind häufig die tubulären Funktionsdefizite klinisch von großer Bedeutung, werden aber mit den herkömmlichen Untersuchungsmethoden nur unzureichend abgebildet. Durch die Bestimmung der Inulin- und PAH-Clearance soll das Ausmaß der renalen Schädigungstypen erfasst und in Korrelation zu den klinisch gebräuchlichen Methoden gesetzt werden.

Bei 43 übergewichtigen Typ II Diabetikern mit eingeschränkter Nierenfunktion und einem Kreatinin  $>2$  mg/dl (Durchschnittsalter  $67,3 \pm 7,7$  Jahre, Gewicht  $107,4 \pm 21,4$  kg) wurde mit der Single-Shot-Methode die Inulin- und PAH-Clearance bestimmt und in Beziehung gesetzt zur GFR, die mit der MDRD-Formel, nach Cockcroft-Gault, mit Cystatin C und mit der endogenen Kreatinin-, Harnstoff- und der kombinierten Kreatinin- und Harnstoff-Clearance bestimmt wurde.

Die beste Varianzaufklärung im Vergleich zur Inulin-clearance ( $R^2=0,75$ ) und PAH-Clearance ( $R^2=0,84$ ) fand sich mit der kombinierten Kreatinin- und Harnstoffclearance. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen niedrigen Harnstoffkonzentrationen und hohen PAH-Clearance-Werten ( $p < 0,01$ ).

Die kombinierte Kreatinin- und Harnstoff-Clearance, als Ausdruck der glomerulären und der tubulären Schädigung, bildet am besten die Nierenfunktion bei übergewichtigen Typ II-Diabetikern mit einem Kreatinin  $>2$  mg/dL ab und sollte die anderen renalen Untersuchungsmethoden im Alltag ersetzen, sofern eine verlässliche 24-h-Urinsammlung gewährleistet ist.

## Abkürzungsverzeichnis

<b>µg</b>	Mikrogramm
<b>µl</b>	Mikroliter
<b>abs</b>	absolut
<b>ACE</b>	Angiotensin converting enzyme
<b>AT1</b>	Angiotensin II Rezeptor Subtyp 1
<b>AVK</b>	arterielle Verschußkrankheit
<b>Bkg</b>	Background
<b>BMI</b>	Body Mass Index
<b>BNP</b>	Brain Natriuretisches Peptid
<b>C&amp;G</b>	Cockcroft and Gault
<b>CRP</b>	C-reaktives Peptid
<b>Cys</b>	Cystatin
<b>DDG</b>	Deutsche Diabetesgesellschaft
<b>dest</b>	destilliert
<b>dl</b>	Deziliter
<b>ECC</b>	endogene Kreatininclearance
<b>ECC/EHC</b>	kombinierte Kreatinin- Harnstoff-Clearance
<b>EDTA</b>	Ethylendiamin-tetraessigsäure
<b>EHC</b>	endogene Harnstoffclearance
<b>g</b>	Gramm
<b>GFR</b>	glomeruläre Filtrationsrate
<b>h</b>	Stunde
<b>Hast</b>	Harnstoff
<b>HbA1c</b>	Glykohämoglobin
<b>HDL</b>	High Density Lipoprotein
<b>HOMA-IR</b>	Homeostasis Model Assessment Insulinresistance
<b>kD</b>	Kilodalton
<b>KHK</b>	koronare Herzkrankheit
<b>Kr</b>	Kreatinin
<b>l</b>	Liter
<b>LDL</b>	Low Density Lipoprotein
<b>m<sup>2</sup></b>	Quadratmeter
<b>MDRD</b>	Modification of Diet in Renal Disease
<b>mg</b>	Milligramm
<b>min</b>	Minute
<b>NaCl</b>	Natriumchlorid
<b>nm</b>	Nanometer
<b>OD</b>	optische Dichte
<b>p</b>	Signifikanzwert
<b>PAH</b>	para-Aminohippursäure
<b>pg</b>	pikogramm
<b>r</b>	Korrelationskoeffizient
<b>R<sup>2</sup></b>	Varianzaufklärung
<b>SD</b>	Standardabweichung
<b>T<sub>1,df</sub></b>	Teststatistik; df=Freiheitsgrade
<b>TGF-β</b>	transforming growth factor β
<b>TRGL</b>	Triglycerides rich lipoproteins

## INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1
<b>Inulinclearance</b>	4
<b>Endogene Kreatinin-Clearance</b>	5
<b>Glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD</b>	7
<b>Glomeruläre Filtrationsrate nach Cockcroft und Gault</b>	9
<b>Glomeruläre Filtrationsrate nach Cystatin C</b>	9
<b>Para-Aminohippursäure-Clearance</b>	11
<b>Harnstoff - Clearance</b>	11
<b>Insulinresistenzbestimmung</b>	12
<b>Zusammenhang zwischen Adiponectin und Leptin sowie der Insulinresistenz</b>	13
FRAGESTELLUNG	15
PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	16
<b>Patienten</b>	16
<i>Einschlusskriterien</i>	16
<i>Ausschlusskriterien</i>	16
<b>Studiendesign</b>	16
<b>Methode der GFR Bestimmung und der Bestimmung des renalen Plasmaflusses</b>	17
<b>24 h-Kreatinin-Clearance</b>	19
<b>Bestimmung der GFR nach Modification of Diet in Renal Disease Studie</b>	20
<b>Bestimmung der GFR nach Cockcroft and Gault</b>	20
<b>Bestimmung der GFR nach Cystatin C</b>	21
<b>Bestimmung der kombinierten Kreatinin-Harnstoff-Clearance</b>	21
<b>Inulin-Analytik</b>	22
<b>PAH-Analytik</b>	23
<b>Evaluation der klinisch-chemischen Bestimmung von Inulin und PAH</b>	24
<b>Bestimmung der Clearances von PAH und Inulin</b>	26
<b>Kreatininbestimmung nach Jaffé</b>	27
<b>Cystatin C Bestimmung</b>	27
<b>Bestimmung weiterer Parameter</b>	28

<b>Statistik</b>	<b>29</b>
<b>ERGEBNISSE</b>	<b>30</b>
<b>Ergebnisse der GFR-Bestimmung</b>	<b>31</b>
<i>Korrelation und Regressionen</i>	32
<i>Zusammenhang zwischen ECC und Inulin-Clearance</i>	33
<i>Zusammenhang zwischen der korrigierten ECC und Inulin-Clearance</i>	34
<i>Zusammenhang zwischen GFR nach MDRD 1 und Inulin-Clearance</i>	35
<i>Zusammenhang zwischen GFR nach MDRD 2 und Inulin-Clearance</i>	36
<i>Zusammenhang zwischen GFR nach Cockcroft und Gault und Inulin-Clearance</i>	37
<i>Zusammenhang von GFR nach Cystatin und Inulin-Clearance</i>	38
<i>Zusammenhang zwischen kombinierter Kreatinin-Harstoff-Clearance und Inulin-Clearance</i>	39
<i>Zusammenhang zwischen GFR und ausgewählten Variablen</i>	40
<b>Zusammenhang zwischen PAH-Clearance und Harnstoffkonzentration</b>	<b>45</b>
<b>Zusammenhang zwischen PAH-Clearance und Proteinurie</b>	<b>47</b>
<b>DISKUSSION</b>	<b>48</b>
<b>Inulin-Clearance</b>	<b>49</b>
<b>Endogene Kreatininclearance</b>	<b>49</b>
<b>Glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD</b>	<b>50</b>
<b>Glomeruläre Filtrationsrate nach Cockcroft und Gault</b>	<b>52</b>
<b>Glomeruläre Filtrationsrate nach Cystatin C</b>	<b>53</b>
<b>Zusammenhang zwischen PAH-Clearance und Serumharnstoffkonzentration</b>	<b>53</b>
<b>Kombinierte Kreatinin- und Harnstoff-Clearance</b>	<b>55</b>
<b>Insulinresistenz und Nierenfunktion</b>	<b>56</b>
<b>Adipokine und Nierenfunktion</b>	<b>56</b>
<b>Zusammenhang zwischen BMI und Nierenfunktion</b>	<b>57</b>
<b>Zusammenhang zwischen BNP und Nierenfunktion</b>	<b>58</b>
<b>Albuminurie und Proteinurie in Zusammenhang mit der Nierenfunktion</b>	<b>58</b>
<b>SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>60</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>61</b>
<b>ANHANG</b>	<b>71</b>



## **Einleitung**

Der Begriff Diabetes mellitus bezeichnet verschiedene Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels. Eine der Störungen ist ein erhöhter Blutzuckerwert. Von einem Typ 1 Diabetes mellitus sind in Deutschland 5 bis 10 % der Diabetespatienten betroffen, wohingegen dem Typ 2 Diabetes mellitus ca. 90% der Menschen zuzuordnen sind (Alberti und Zimmet 1998).

In einer kanadischen Studie konnte festgestellt werden, dass die Inzidenz von Dialysepatienten mit einer Diabeteserkrankung im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes zwölfmal erhöht ist (Lok et al. 2004). In einer deutschen Studie konnte aufgezeigt werden, dass das Risiko an einem terminalen Nierenversagen zu erkranken bei Vorliegen eines Diabetes mellitus 6,2mal erhöht ist (Hoffmann et al. 2011).

Zum ersten Mal wurden die typischen Veränderungen der diabetischen Nephropathie 1936 von Clifford Wilson und Paul Kimmelstiel publiziert. Sie beschrieben eine progressive Nierenerkrankung, die ihre Ursache in einer Angiopathie in den Kapillaren der Glomeruli findet. Als histologisches Korrelat findet sich eine noduläre Sklerose (Kimmelstiel und Wilson 1936).

Charakteristisch für die diabetische Nephropathie ist eine Erhöhung der Albuminausscheidung im Urin. Dieses Phänomen konnte zum ersten Mal im Jahr 1971 beobachtet werden (Mogensen 1971). Laut Praxisleitlinie der DDG wird zwischen einer Mikroalbuminurie (Albuminausscheidung 20 bis 200 mg/ 24 h) und einer Makroalbuminurie (ab 200 mg/ 24 h) unterschieden (Hasslacher et al. 2010).

In einer englischen prospektiven Diabetes-Studie konnte gezeigt werden, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eines Typ 2 Diabetes mellitus etwa 2 % der Patienten an einer Mikroalbuminurie leiden und zehn Jahre nach Diagnosestellung bereits 25 % der Patienten betroffen sind. (Adler et al. 2003).

In der PREVEND- und HOPE-Studie konnten ein Zusammenhang zwischen kardiovaskulären Ereignissen und Mikroalbuminurie nachgewiesen werden,

interessanterweise sowohl bei diabetischen als auch nicht diabetischen Patienten (Matsushita et al. 2010).

Häufig fehlt die Mikro- oder Makroalbuminurie (Dwyer et al. 2012).

Passend dazu konnte in Biopsiestudien nachgewiesen werden, dass die diabetesassoziierten renalen Schäden nicht nur die diabetische Nephropathie im Sinne einer nodulären Glomerulosklerose zeigen, es finden sich zudem eine diffuse Glomerulosklerose, aber auch verschiedene tubuläre Läsionen (Helchen et al. 2006). Zunächst findet sich eine ausgeprägte tubuläre Hypertrophie mit einer Verbreiterung der Basalmembran. Das Fortschreiten wird bestimmt durch eine zunehmende Tubulusatrophie sowie eine interstitielle Fibrosierung. Das Ausmaß dieser Veränderungen korreliert mit der exkretorischen Nierenfunktionseinschränkung signifikant enger als der Schweregrad der glomerulären Schädigungen (Bader et al. 1980).

Zur Definition des metabolischen Syndroms gehört zusätzlich zum Diabetes mellitus eine Dyslipidämie. In Studien konnte nachgewiesen werden, dass ein erhöhter Cholesterinspiegel einen unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung und das Fortschreiten einer Nierenschädigung darstellt (Chen et al. 2005).

Auch Adipositas begünstigt die Entstehung einer chronischen Niereninsuffizienz (Bayliss und Weinrauch 2012). Charakteristisch ist eine Adipositas-assoziierte Glomerulopathie ohne das Vorliegen eines Diabetes mellitus oder einer vorbestehenden Nierenfunktionseinschränkung (Chen et al. 2008). Sie ist eine sekundäre Form der fokalen und segmentalen Glomerulosklerose, die sich mit einer Proteinurie und fortschreitender Nierenfunktionseinschränkung klinisch manifestiert (Chen et al. 2006).

Weiterhin findet sich häufig eine arterielle Hypertonie, die bei diabetischen Patienten im Gegensatz zur diabetischen Stoffwechsellage nur unzureichend eingestellt ist. Dies führt typischerweise zu einer Nephrosklerose mit arteriosklerotischen Veränderungen im Bereich der Vasa arcuata und ischämischen Veränderungen im Bereich der renalen kapillären Endstrecke. Diese ischämischen Veränderungen führen zu einer chronischen Hypoxämie im Bereich der Tubuli (Nangaku 2006). Hier finden sich histopathologisch

die größten Veränderungen im Extremfall mit Fibrosierung und Einwanderung von inflammatorischen Zellen (Johnson et al. 1992).

Bereits in Stadien, in denen per definitionem eine Hyperfiltration vorliegt, werden Schäden im histologischen Bild nachgewiesen. Über die Ultrafiltration von Proteinen kommt es zu einer Rückresorption im proximalen Tubulus. Durch verschiedene Immunantworten entsteht schließlich eine tubuläre Atrophie und eine interstitielle Fibrosierung. Diese wird ebenfalls durch eine Hyperglykämie mit Glucosurie verstärkt (Singh et al. 2008).

Es zeigt sich also, dass es sich bei den Nierenschädigungen im Zusammenhang mit Diabetes mellitus um eine heterogene Patientengruppe handelt, bei der sich über die diabetische Nephropathie hinaus Schäden im Bereich der Nieren nachweisen lassen.

Zusammenfassend haben alle Bestandteile des metabolischen Syndroms Einfluss auf die renale Funktion. Klinisch fällt ein Schaden aber erst auf, wenn eine Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate vorliegt, da nur hierfür Methoden im klinischen Alltag Anwendung finden.

Bei Diabetikern findet sich häufig ein metabolisches Syndrom bestehend aus Übergewicht, Hyperlipidämie und arterieller Hypertonie, die, wie oben beschrieben, eher Schäden im Bereich der Tubuli induzieren. Weiterhin leiden diese Patienten häufig unter einer Verschiebung des Wasserhaushaltes mit Zeichen der Überwässerung, klinisch häufig an peripheren Ödemen auszumachen.

Bei der Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) finden die endogene Kreatinin-Clearance, sowie das Cystatin C Anwendung. Weiterhin werden die kreatininbasierten Formeln nach MDRD und Cockcroft und Gault verwendet.

Zur Bestimmung der tubulären Funktion im Vergleich kann die Clearance der para-Aminohippursäure verwendet werden. Als endogener Marker findet sich der Harnstoff.

Im Folgenden sollen diese Methoden genauer erläutert und die Einschränkungen in Bezug auf die verschiedenen renalen Schädigungsmuster bei Diabetikern erörtert werden.

### **Inulin-clearance**

Die Goldstandardmethode zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate ist die Inulin-Clearance. Bei Inulin handelt es sich um ein Polysaccharid, das aus 30 beta-2,4-glykosidisch verknüpften Fruktoseeinheiten besteht. Es hat ein Molekulargewicht von 5 kD und kommt in verschiedenen Pflanzen vor. Da es nicht verstoffwechselt, frei glomerulär filtriert und nicht tubulär resorbiert oder sezerniert wird, ist es besonders gut zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate geeignet (Perrone 1992).

Nach dem Fickschen Prinzip lässt sich herleiten, dass Clearance und GFR bei der Annahme eines „perfekten“ Stoffes identisch sein müssen, so dass aus diesem Grund die Inulin-Clearance der glomerulären Filtrationsrate entspricht.

Zunächst verwendete man die klassische Methode der Inulin-Clearance, bei der Inulin intravenös zur Aufsättigung gespritzt und im Anschluss als Dauerinfusion appliziert wird (Shannon u. Smith 1935). Dabei muss mehrfach Urin gesammelt sowie Blut abgenommen werden. Aus der Konzentration von Plasma und Urin lässt sich schließlich die Inulin-clearance und somit die glomeruläre Filtrationsrate bestimmen.

Mit der Plasma-Inulin-Clearance ergab sich 1946 die Möglichkeit, die Inulin-clearance ohne Urinsammlung abzubilden (Earle u. Berliner 1946). Dabei machte man sich zunutze, dass bei gleich bleibender Plasma-Inulin-Konzentration die kontinuierliche Inulin-Infusion der Inulin-Exkretion über die Niere entspricht.

Für die vorliegende Arbeit fand die sogenannte Single-Shot-Methode Anwendung. Bei dieser wird eine einmalige Inulinapplikation vorgenommen und in vordefinierten Zeiträumen Blut abgenommen. Schließlich wird anhand des pharmakokinetischen Verlaufs nach dem Zwei-Kompartiment-Modell die GFR berechnet. Dabei findet ein computerbasiertes Programm Anwendung, mit dessen Hilfe aus den gemessenen Daten die glomeruläre Filtrationsrate bestimmt wird (Zitta et al. 2002). Insgesamt konnte

schon in vorangegangenen Arbeiten die gute Aussagekraft der Single-Shot-Methode im Vergleich mit der oben beschriebenen klassischen Methode beobachtet werden (Florijn et al. 1994).

### **Endogene Kreatinin-Clearance**

Zur einfachen Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate benötigt man einen Stoff, der körpereigen ist und den Eigenschaften des Inulin entspricht, also frei glomerulär filtriert und nicht tubulär sezerniert wird. Das körpereigene Kreatinin erfüllt am ehesten diese Eigenschaften in Hinblick auf die glomeruläre Filtration. Bei Kreatinin handelt es sich um ein Abbauprodukt der Muskelstoffwechsels. Dabei wird Kreatininphosphat unter Phosphatabspaltung zu Kreatinin zyklisiert.

Bei der klassischen Methode handelt es sich um die Bestimmung der 24-h-Kreatinin-clearance.

Kreatinin wird nicht nur glomerulär frei filtriert, sondern ebenfalls in geringerem Maße proximal-tubulär sezerniert. Dies konnte 1935 durch Shannon nachgewiesen werden, der das organische Kation Phlorizin applizierte. Die proximal tubuläre Sekretion von Kreatinin wird durch diesen Stoff kompetitiv gehemmt, und die beobachtete Kreatinin-Ausscheidung sank ab (Shannon u. Smith 1935).

Auch wird die tubuläre Sekretion von Kreatinin durch Medikamente beeinflusst, z.B. Cimetidin (Burgess et al. 1982) oder Trimpethoprim (Berglund et al. 1975), die am gleichen Rezeptor ansetzen.

Bei normaler Nierenfunktion beträgt der sezernierte Anteil zwischen 10 und 15 %. Je kleiner die GFR ist, desto größer wird der Anteil der tubulären Sekretion, was dazu führt, dass der Serumkreatininwert konstant bleibt (Shemesh et al. 1985).

Aus diesem Grund kann die Kreatinin-Clearance nur als Näherung der tatsächlichen glomerulären Filtrationsrate gesehen werden. Daher entwickelte Levey eine Formel zur Berechnung der glomerulären Filtrationsrate aus der endogenen Kreatinin-Clearance, in der die tubuläre Sekretion herausgerechnet wird (Levey et al. 1999):

Die Serumkonzentration des Kreatinins ist vom Muskelstoffwechsel abhängig. Geht man von einem muskelschwachen Patienten aus, kann ein niedriger Kreatininwert zu einer Überschätzung der tatsächlichen Nierenfunktion führen. Auch bei Patienten mit einer erhöhten Muskelmasse, wie zum Beispiel bei Sportlern, muss ein erhöhter Kreatininwert nicht mit einer eingeschränkten Nierenfunktion einhergehen.

Einen weiteren Einflussfaktor auf das Serumkreatinin stellt die Ernährung dar. Vegetarier nehmen auf Grund ihrer fleischfreien Kost nur wenig Kreatinin zu sich, was einen niedrigeren Kreatininspiegel mit sich bringen kann (Hirschberg et al. 1985).

So kann aus der Ernährung mit viel nicht-rohem Fleisch wiederum eine Erhöhung des Kreatininspiegels resultieren (Preiss et al. 2007).

Zudem weisen Patienten mit einer präterminalen Niereninsuffizienz eine reduzierte Muskelmasse und Mangelernährung auf. Dies führt zu einer Überschätzung der GFR durch ein falsch niedriges Kreatinin (Beddhu et al. 2003). Weiterhin wird bei sehr niedrigen GFR-Werten Kreatinin enteral ausgeschieden (Mitch et al. 1980).

Eine der größten Fehlerquellen bei Bestimmung der endogenen Kreatinin-Clearance stellt die korrekte Sammlung des 24 h-Urins dar. Zum einen ist es möglich, dass einzelne Urinportionen verloren gehen, außerdem verwerfen trotz genauester Instruktionen einige Patienten die erste Morgenurinportion nicht in die Toilette, sondern sammeln diese ebenfalls mit. Definitionsgemäß handelt es sich dabei allerdings um das Filtrat des Vortages. Daraus erfolgt schließlich eine falsche Berechnung der Sammelmenge.

Auch bei der laborchemischen Bestimmung von Kreatinin können Fehler entstehen. Eine weitere Fehlerquelle stellt die Jaffé-Reaktion dar. Kreatinin reagiert mit Pikrinsäure. Anhand der Farbreaktion kann somit der Kreatininwert abgeschätzt werden. Allerdings gibt es Chromogene, die zur Verfälschung des Kreatininwertes führen können. Zu nennen sind zum Beispiel Bilirubin sowie Acetoacetat, Glucose, Albumin und Blutfette (Vassault et al. 1992).

Die im Weiteren beschriebenen Formeln der GFR-Bestimmung sind kreatininbasiert, so dass die Ungenauigkeiten bezüglich des Kreatinins ebenfalls Gültigkeit besitzen.

### **Glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD**

Die Forschungsgruppe von Levey (Levey et al. 1999; Rossing et al. 2006) hat in der Studie „Modification of Diet in Renal Disease“ (MDRD) eine neue Formel zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate entwickelt, anhand derer es möglich ist, die GFR aus der Serumkonzentration von Kreatinin, Alter und Geschlecht zu berechnen (MDRD 1).

Die zweite Formel impliziert Harnstoff und Albumin zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (MDRD 2).

Diese Formeln bieten eine bessere Möglichkeit, die tatsächliche glomeruläre Filtrationsrate abzuschätzen, da es durch die Kreatinin-Clearance zu einer Überschätzung der GFR um 19 % und durch die Formel von Cockcroft und Gault um 16 % kommt (Levey et al. 1999). Bei der Entwicklung der Formel wird eine Population betrachtet, bei denen in 6 % der Fälle ein Diabetes bekannt ist. Zudem handelt es sich um normgewichtige Patienten. Patienten mit einer diabetischen Nephropathie wurden aus der Studie zur Entwicklung der MDRD-Formeln ausgeschlossen. Typ 1 Diabetiker fanden keinen Einschluß in die Studie, insulinpflichtige Typ 2 Diabetiker waren nur zu 6 % berücksichtigt worden. Betrachtet wurden Patienten mit einer glomerulären Filtrationsrate zwischen 20 und 70 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Folgende Vorteile werden in der Studie aufgeführt: Die Formeln sind in der Lage, die glomeruläre Filtrationsrate in einem großen Intervall abzubilden. Außerdem ist es möglich, sowohl Patienten mit einer normwertigen GFR als auch mit eingeschränkter Nierenfunktion darzustellen.

Als weiterer wichtiger Faktor gilt, dass eine Urinsammlung nicht notwendig ist. Ebenso entfällt die Berücksichtigung von Größe und Gewicht. Zudem berücksichtigt die Formel einen ethnischen Faktor, der laut den Autoren von besonderer Relevanz ist, da die Prävalenz chronischer Nierenerkrankungen in der schwarzen Bevölkerung besonders hoch sei. Eine Überlegenheit bei der Anwendung der Formeln in dieser Population

gegenüber der Cockcroft-Gault-Formel und Kreatininclearance wurde von Lewis nachgewiesen (Lewis et al. 2001). Die geschätzte GFR kann zusätzlich direkt vom Labor übermittelt werden.

Zu berücksichtigen ist, dass die meisten Patienten der MDRD-Studie eine GFR zwischen 20 und 70 ml/min / 1,73 m<sup>2</sup> aufwiesen (Lhotta et al. 2005). Daher ist die Zuverlässigkeit in diesem Bereich besonders groß. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass es durch die MDRD-Formeln besser möglich ist, eine chronische Niereninsuffizienz zu diagnostizieren und einzuteilen, als mit der Cockcroft-Gault-Formel (Rigalleau et al. 2005).

Die tubuläre Sekretion des Kreatinins bleibt in den MDRD-Formeln unberücksichtigt. In der Arbeit von Beddhu kann in GFR-Bereichen <20 ml/min eine Überschätzung der glomerulären Filtrationsrate nachgewiesen werden, die auf diesem Problem beruht (Beddhu et al. 2003). Eine Unterschätzung der glomerulären Filtrationsrate wird bei Patienten mit Hyperfiltration bei Mikroalbuminurie beschrieben (Rossing et al. 2006). Weiterhin ist problematisch, dass es sich bei Patienten mit fortgeschrittener Niereninsuffizienz um solche mit geringer Muskelmasse handelt. In der Arbeit von Grootendorst wird erläutert, dass bei hoher Muskelmasse eine niedrige GFR resultiert, da sich Kreatinin in dieser Formel im Nenner findet. Hingegen kann bei Patienten mit kleiner Muskelmasse eine hohe GFR resultieren, was zu einer Verfälschung, insbesondere bei muskelschwachen urämischen Patienten von Bedeutung ist (Grootendorst et al. 2011).

Die Formel zeigt eine Abhängigkeit vom Körpergewicht auf und ist an normgewichtigen Individuen entwickelt worden (Levey et al. 1999). Beispielsweise wird in der Arbeit von Jacobien aufgezeigt, dass bei vorliegendem Übergewicht keine verlässliche Aussage zur glomerulären Filtrationsrate möglich ist (Jacobien et al. 2005). Wiederholt konnte eine Unterschätzung der GFR bei Patienten mit einem Diabetes nachgewiesen werden (Rigalleau et al. 2011).



## **Glomeruläre Filtrationsrate nach Cockcroft und Gault**

Die Cockcroft-Gault-Formel wurde anhand einer Stichprobe von 249 Männern entwickelt, die eine glomeruläre Filtrationsrate zwischen 30 und 130 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> aufwiesen. Entwickelt wurde sie anhand der Kreatinin-Clearance mit 24-h-Urinsammlung. Informationen zur ethnischen Herkunft fehlen (Cockcroft u. Gault 1976).

In dieser Formel finden Kreatinin, Alter sowie Gewicht Berücksichtigung. Bei Frauen wird mit einem Faktor von 0,85 multipliziert.

In zahlreichen Studien ist diese Formel bereits validiert worden (Lemann et al. 1990). Im Vergleich zur MDRD-Formel zeigte sich, dass sie bei Patienten mit normaler oder gesteigerter GFR von Vorteil ist (Vervoort, Willems, & Wetzels 2002). Allerdings ist mit abnehmender GFR die Übereinstimmung mit der Inulin-Clearance zunehmend geringer (Botev et al. 2009). Bei Patienten mit einer Mikroalbuminurie wird die GFR durch die Cockcroft-Gault-Formel unterschätzt (Rossing et al 2006). In den Arbeiten z.B. von Rossing und Cirillo ist bei dieser Formel eine Abhängigkeit von Alter und BMI nachweisbar, sie zeigt jedoch eine gute Vorhersage der GFR unabhängig vom Geschlecht (Cirillo et al. 2005; Rossing et al. 2006).

## **Glomeruläre Filtrationsrate nach Cystatin C**

Bei Cystatin C handelt es um ein kationisches, nicht glykolysiertes Polypeptid. Es wiegt 13 kD, besteht aus 120 Aminosäuren und wird von allen kernhaltigen Zellen hergestellt und sezerniert. Funktionell handelt es sich um einen Cystein-Protease-Inhibitor, der am ehesten protektive Eigenschaften besitzt und Bindegewebszellen vor Enzymen aus apoptotischen Zellen schützt.

Es wird postuliert, dass Cystatin C besonders zur Abbildung der Nierenfunktion geeignet ist, weil es ausschließlich glomerulär filtriert und tubulär vollständig abgebaut wird.

Es ist von Vorteil, dass zur Bestimmung der GFR nach Cystatin keine Urinsammlung nötig ist. Somit wird hier ein entscheidendes Fehlerpotenzial ausgespart.

Wie beim Kreatinin ist nur eine einmalige Blutabnahme notwendig. Ein Anstieg der Cystatin-C-Konzentration zeigt schon früher eine Nierenfunktionsstörung an, als das beim Serumkreatinin der Fall ist (88 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> zu 75 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>) (Coll et al. 2000).

Bisher ist man davon ausgegangen, dass Cystatin von der Körpermasse und Körperzusammensetzung der Patienten unabhängig ist. Dies wird jedoch durch die Veröffentlichung von Macdonald widerlegt (Macdonald et al. 2006). Zwar wird Cystatin C von allen kernhaltigen Zellen konstant sezerniert, andererseits muss man diesem Argument entgegenhalten, dass 60 % der kernhaltigen Zellen Muskelzellen sind. Weiterhin wurde in der Studie von Rule festgestellt, dass es Confounder gibt, die die Aussagekraft der GFR nach Cystatin C einschränken (Rule et al. 2006). Hierzu zählt zum Beispiel eine Immunsuppression aber auch ein inflammatorischer Prozess. Zu Grunde liegt hierbei ein vermehrter Zelluntergang, der eine erhöhte Cystatinausschüttung zur Folge hat. Diese führt zu einer Unterschätzung der GFR.

Zudem muss berücksichtigt werden, dass die Cystatinproduktion und die extrarenale Ausscheidung unabhängig von der Nierenfunktion ist, was in der Arbeit von Sjöström dargestellt wird (Sjöström et al. 2005). Patienten an der Hämodialyse ohne Restausscheidung haben laut Formel noch immer eine GFR nach Cystatin, die allerdings durch die extrarenale Eliminierung zu erklären ist. Somit ist bei einer hochgradig eingeschränkten Nierenfunktion die Aussagekraft gering.

Weiterhin wurden Faktoren gefunden, die Einfluss auf die Konzentration von Cystatin C haben. Dazu zählen hohes Alter, männliches Geschlecht, hohe Größe sowie Gewicht, Rauchen und ein erhöhtes C-reaktives Protein (Shlipak et al. 2006). In Hinblick auf Diabetiker ist die Bestimmung der GFR nach Cystatin einer kreatininbasierten Bestimmung nicht überlegen (Iliadis et al. 2011). In einer Studie mit Typ 1 Diabetikern konnte beobachtet werden, dass eine Abhängigkeit von Geschlecht und Alter vorliegt (Maahs et al. 2011).

Weiterhin hat sich gezeigt, dass ein erhöhter Cystatin-C-Spiegel bei älteren Menschen mit einem deutlichen Risiko von kardiovaskulären Ereignissen und Tod einhergeht.

### **Para-Aminohippursäure-Clearance**

Para-Aminohippursäure (PAH) ist ein Kondensationsprodukt aus p-Aminobenzoesäure und Glycin und kommt im Körper als Stoffwechselprodukt vor. Dieser Stoff wird zu einem Teil glomerulär filtriert und zum größeren Teil tubulär sezerniert und so vollständig über die Niere ausgeschieden. Dies konnte z.B. in Stop-Flow-Untersuchungen 1958 nachgewiesen werden (Malvin et al. 1958). Somit dient die PAH-Clearance zur Abbildung des renalen Blutflusses. Unter Berücksichtigung des Hämatokritwertes kann schließlich aus dem renalen Plasma- der renale Blutfluß bestimmt werden.

Die PAH-Clearance kann nur indirekt unter Anwendung des Fickschen Prinzips ermittelt werden (Fick 1870). PAH wird in den Nieren vollständig ultrafiltriert und tubulär sezerniert, 91 % des PAH wird im Urin und 9 % in der Nierenvene nachgewiesen. Diese Diskrepanz kommt durch das Blut zustande, das aglomerulär die Niere durchströmt oder postglomerulär fließt, so dass kein Anschluß an tubuläre Zellen gegeben ist (Vorbürger u. Teuscher 1963). Die PAH-Clearance gibt somit am besten die tubuläre Funktion wieder. In der Arbeit von Smith wird ein Normbereich von 634 ml/min festgelegt (Smith et al. 1938). Parallel zur Inulin-Clearance wurde zunächst die klassische Methode angewandt, die sich zur Vereinfachung ebenfalls bis zur Single-Shot-Methode weiterentwickelte (Earle u. Berliner 1946).

Mit der PAH-Clearance können so tubuläre Schäden abgebildet werden und die Schädigungstypen, die per definitionem nicht zum Krankheitsbild der diabetischen Nephropathie gehören, betrachtet werden.

### **Harnstoff - Clearance**

Bei Harnstoff handelt es sich um das Abbauprodukt des Aminosäurestoffwechsels. Aus Ammoniak entsteht durch den Stoffwechselprozess des Harnstoffzyklus Harnstoff, welcher renal ausgeschieden wird.

Im Gegensatz zu einem idealen Stoff zur Abbildung der glomerulären Filtrationsrate wird die Hälfte des sezernierten Harnstoffes im Tubulus rückresorbiert. Dies konnte bereits 1956 beobachtet werden (Heintz et al. 1956).

Weiterhin hängt die Harnstoffkonzentration im Serum auch von der Höhe der Produktionsrate des Stoffes ab. Eine Erhöhung ist zum Beispiel Folge vermehrter Proteinzufuhr, Katabolismus von Proteinen sowie intestinaler Blutungen.

In der Arbeit von Hayman wird gezeigt, dass in einer gesunden Population eine Spanne von 38 bis 112 ml/min auffällt, so dass nur eine grobe Aussage zur Nierenfunktion möglich ist (Hayman et al. 1933). In der Arbeit von van Slyke wird die Abhängigkeit vom Harn/Zeit-Volumen nachgewiesen (Van Slyke et al. 1934). Je geringer der Urinfluss, desto größer die Harnstoffrückresorption im Sammelrohr. Die Einschränkung bei der Bestimmung der Nierenfunktion wird aus dem oben Gesagten deutlich.

In niedrigen GFR-Bereichen (<20 ml/min) wird die kombinierte Kreatinin-Harnstoffclearance angewendet, um das Fehlerpotential, das bei Bestimmung der Kreatininclearance über die tubuläre Sekretion entsteht, auszugleichen (Korevaar et al. 2001).

### **Insulinresistenzbestimmung**

Übergewichtige Diabetiker haben zum Teil einen hohen Bedarf an Insulin, ohne dass eine adäquate Wirkung auf den Blutzuckerspiegel besteht. Zur Bestimmung der Insulinresistenz fand der HOMA-IR-Score Anwendung.

Dabei beschreiben geringe Werte eine hohe Insulinsensitivität, hohe Werte eine Insulinresistenz.

Bonora beobachtet, dass bei einer erhöhten Insulinresistenz, die mit der HOMA-Formel bestimmt wurde, ein erhöhtes Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen vorliegt (Bonora et al. 2002).

In zahlreichen Arbeiten wird bereits ein Zusammenhang zwischen chronischer Niereninsuffizienz und Insulinresistenz beschrieben (De Cosmo et al. 2006; Chen et al. 2003; Shuzo et al. 2005; Landau et al. 2011). In der Arbeit von Chen wird in einer Population mit Nichtdiabetikern aufgezeigt, dass mit höherer Insulinresistenz auch eine Zunahme der chronischen Niereninsuffizienz einhergeht (Chen et al. 2003). In der Arbeit von de Cosmo wird vermutet, dass die Insulinsensitivität der pathogenetische Faktor ist, der die fortschreitende Niereninsuffizienz sowie die erhöhte Mortalität und Morbidität bei Typ 2 Diabetikern zeigt (De Cosmo et al. 2006).

Zudem konnte in einem Clampversuch nachgewiesen werden, dass eine antinatriuretische Wirkung bei erhöhten Insulinkonzentrationen vorliegt (Skøtt et al. 1989; Grunfeld et al. 1995; Horita et al. 2011).

### **Zusammenhang zwischen Adiponectin und Leptin sowie der Insulinresistenz**

Bei Adiponectin handelt es sich um ein Peptidhormon. Es wird in den Fettzellen des menschlichen Körpers gebildet und sorgt für Hungergefühl und regelt somit die Nahrungsaufnahme. Es verstärkt die Wirkung des Insulins an den Fettzellen.

Je nach Füllungszustand der Fettzellen wird Adiponectin gebildet. Sind sie wenig gefüllt, wird viel Adiponectin gebildet (Diez u. Iglesias 2003). Bei Typ 2 Diabetikern handelt es sich häufig um Patienten mit einem metabolischen Syndrom, so dass hier ein hoher Füllungsgrad der Fettzellen vorliegt. Dementsprechend fehlt die sensibilisierende Wirkung des Adiponectins, da aufgrund des hohen Füllungszustandes der Fettzellen nur wenig Adiponectin ausgeschüttet wird. Diesen Zusammenhang zeigt unter anderem die Arbeit von Lawlor auf (Lawlor et al. 2005).

Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die Ausbildung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen unterdrückt wird. Bei der Entstehung der Arteriosklerose kommt es zu einer Oxidierung von LDL-Cholesterinmolekülen. Diese induzieren Adhäsionsmoleküle in den Endothelzellen (VCAM-1 und das Interzelluläre Adhäsions Molekül 1). Leukozyten lagern an diesen an, und es kommt zur Aktivierung der inflammatorischen Kaskade (Libby et al. 2010). Adiponektin hemmt in TNF-alpha

aktivierten Zellen die Ausbildung der Adhäsionsmoleküle, indem inflammatorische Transkriptionsfaktoren supprimiert werden und NF-kb aktiviert wird (Ouchi et al. 1999; Ouchi et al. 2000). Weiterhin spielt Adiponektin eine Rolle bei reversem Cholesterin-Transport (Tsubakio-Yamamoto et al. 2008).

Bei Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz sind erhöhte Adiponectinlevel jedoch mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (Jia et al. 2012). Die zugrunde liegenden Mechanismen sind Gegenstand aktueller Forschung.

Leptin ist ein Proteohormon. Im Gegensatz zu Adiponectin hemmt Leptin das Hungergefühl. Es spielt ebenfalls eine Rolle bei der Fettstoffwechselregulierung des Menschen. Weiterhin steuert es Funktionen wie Fruchtbarkeit, Immunsystem, Knochenstoffwechsel und Angiogenese (Rajala u. Scherer 2003). Mit der Hoffnung, durch die Gabe von Leptin den Appetit und die Nahrungsaufnahme zu zügeln, wollte man diesen Stoff zur Behandlung der Adipositas einsetzen. Dabei stellte sich heraus, dass bei diesen Patienten weniger ein Mangel als eine Resistenz gegen Leptin vorliegt (Ahima u. Flier 2000). Negativer Aspekt ist, dass erhöhte Plasmaleptinlevel zum Anstieg des Blutdrucks und Tachykardien führen können, was unter anderem in Tiermodellen nachvollzogen werden konnte (Carlyle et al. 2002). Weiterhin wird der Zusammenhang zwischen Nierenfunktion und Leptinleveln beschrieben (Shoji et al. 1997).

## **Fragestellung**

Typ 2 Diabetiker mit eingeschränkter Nierenfunktion haben bereits vor Eintritt der Dialysepflichtigkeit eine hohe kardiovaskuläre Mortalität, die mit den typischen Charakteristika assoziiert ist: Übergewicht, Insulinresistenz, schwer einstellbare Hypertonie und chronische Überwässerung. Eine tubuläre Schädigung ist in dieser Patientengruppe häufig und klinisch prädominant, was die Bestimmung der Nierenfunktion mit den herkömmlichen Untersuchungsmethoden erschwert, die in der Regel die glomeruläre und weniger die tubuläre Funktion bestimmen. Die gebräuchlichen renalen Funktionsuntersuchungen beschränken sich auf die Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) mit der MDRD und der Cockcroft-Gault-Formel, mit der endogenen Kreatinin-Clearance (ECC) oder mit Cystatin C. Mit der Inulin- und der PAH-Clearance zur Bestimmung der glomerulären und der tubulären Funktion soll das Ausmaß der gesamten funktionellen, renalen Schädigung erfasst und in Korrelation zu den gebräuchlichen Funktionsparametern gesetzt werden.

## **Patienten, Material und Methoden**

### **Patienten**

Das Material zur vorliegenden Arbeit wurde durch Untersuchungen, Probeentnahme und Auswertungen im Nephrologischen Zentrum Haan/ Hilden/ Mettmann/ Velbert in der Zeit vom 13. Dezember 2005 bis 29. Juni 2006 erarbeitet.

Bei den Patienten handelt es sich um übergewichtige Personen, die sowohl eine arterielle Hypertonie als auch einen insulinpflichtigen Diabetes mellitus aufweisen. Allen gemein ist eine Erhöhung des Kreatinins  $>2,0$  mg/dl .

#### *Einschlusskriterien*

- Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus
- Gewicht  $>90$  kg,
- arterielle Hypertonie,
- eingeschränkte Nierenfunktion mit Kreatinin  $>2,0$  mg/dl,
- BMI  $>25$  kg/m<sup>2</sup>,
- Alter:  $>40$  Jahre bei Diagnosestellung des Diabetes mellitus.

#### *Ausschlusskriterien*

- fehlende Einwilligung

Das Ethikvotum findet sich unter der Studiennummer 4399.

### **Studiendesign**

Folgende Untersuchungen wurden bei den Probanden durchgeführt: Es wurden Körpergewicht und Body-Mass-Index als Quotient des Gewichts und der Körpergröße im Quadrat vor Beginn der Untersuchung am selben Tag bestimmt. Die Körpergröße und das Gewicht des Patienten wurden vor Ort gemessen. Außerdem erklärten sich die Patienten bereit, eine 24-h-Blutdruckmessung durchführen zu lassen. Weiterhin wurden aus dem aus einer Venenverweilkanüle Blut abgenommen sowie die Patienten instruiert über 24 Stunden Urin zu sammeln. Einigen Patienten war die Methode der 24-h-Urinsammlung bereits bekannt, da sie sich schon länger in nephrologischer Behandlung



befanden. Allen wurde die Methode jedoch noch einmal genau anhand eines Merkblattes erläutert. Die Patienten wurden angehalten, den ersten Morgenurin zu verwerfen. Ab diesem Zeitpunkt sollte der Urin in einem vom Studienzentrum bereitgestellten Behältnis für 24 Stunden einschließlich des Morgenurins des darauffolgenden Tages gesammelt werden. Die Patienten sollten den gesammelten Urin am Tage der Untersuchung mitbringen.

Aus dem Blut wurden Adiponectin, Leptin, C-Peptid, Nüchtern glukose nach 12-stündiger Nahrungskarenz und Insulinpause, Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C, BNP, CRP, Gesamteiweiß, Albumin, HbA1c, Cholesterin, HDL, LDL und Triglyceride bestimmt. Im Urin erfolgten Bestimmung von Kreatinin, Gesamteiweiß, Mikroalbumine sowie Elektrolyte. Im Verlauf wurde die Bestimmung von Harnstoff im Urin ergänzt.

Zusätzlich wurde eine Echokardiographie durch einen Untersucher zur Bestimmung des linksventrikulären diastolischen Diameters, des pulmonal arteriellen Vorhofdrucks und der Ejektionsfraktion durchgeführt.

Als Referenzmethode wurde die Single-Shot-Inulin-Clearance verwendet. Außerdem wurde zusammen mit Inulin PAH injiziert, das die tubuläre Funktion der Niere abbilden sollte. Es erfolgte eine Applikation des Stoffes intravenös über eine Venenverweilkanüle über zwei Minuten. Nach dem unten beschriebenen Schema erfolgten Blutentnahmen zur Bestimmung der Inulinkonzentration im venösen Blut, um daraus die Konzentrationskurve zu ermitteln. Aus der applizierten Inulinmenge und der Fläche unter der Kurve konnte schließlich die Inulinclearance bestimmt werden.

### **Methode der GFR Bestimmung und der Bestimmung des renalen Plasmaflusses**

#### *Material:*

1 Ampulle Inutest 25 %, Wirkstoff Sinistrin

1 Ampulle PAH

1 Perfusorenspritze 50 ml

5 ml 0,9 % NaCl-Lösung

1 Venenverweilkatheter

1 Dreiwegehahn  
14 EDTA-Monovetten (3,2 ml)  
14 Serum-Monovetten (7,5 ml)  
4 Adapter für Monovetten  
8 Spritzen à 10 ml  
250 ml 0,9 % NaCl-Lösung

*Untersuchungsablauf:*

Vorbereitung:

Die Patienten wurden angewiesen, 12 h vor der Untersuchung nichts zu essen und kein Insulin zu spritzen. Um einen kräftigen renalen Plasmafluss zu erreichen, wurden die Patienten oral hydriert, indem sie 10 ml/kg Körpergewicht ungesüßten Früchtetee oder Wasser vor erster Blutabnahme aufnehmen sollten, bevor mit der Untersuchung begonnen wurde.

Um das Brain-natriuretische Peptid richtig bestimmen zu können, sollten die Patienten vor der ersten Blutabnahme eine halbe Stunde Bettruhe einhalten. Die 24-h-Urinsammlung wurde von den Patienten als Vorbereitung bereits am Vortag durchgeführt und entsprechend am Untersuchungstag mitgebracht.

Den Patienten wurde während der Zeit, in der sie die oben beschriebene Trinkmenge Früchtetee oder Wasser zu sich nehmen mussten, eine Venenverweilkanüle gelegt, an die ein Dreiwegehahn und eine Infusion mit 250 ml 0,9-prozentiger NaCl-Lösung angehängt wurde, um die Durchgängigkeit der Kanüle zu gewährleisten.

Zudem wurden in die Perfusorenspritze 20 ml 25-prozentiges Inulin, 5ml PAH und 5 ml 0,9-prozentige NaCl-Lösung aufgezogen.

Untersuchung:

Bevor mit der Applikation des Inulin-PAH-Gemisches begonnen wurde, wurden den Patienten sechs EDTA- und sechs Serummonovetten abgenommen, um die Werte zum Zeitpunkt vor Untersuchungsbeginn zu ermitteln, aber auch um alle anderen oben aufgeführten Parameter zu bestimmen.

Darauf folgte die zweiminütige Injektion des 30 ml Inulin-PAH-Gemisches. Anschließend wurde nach 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 und 180 min jeweils eine Serummonovette und eine EDTA-Monovette Blut abgenommen. Da zur Ermittlung der Clearance eine PC-gestützte Berechnung erfolgte, musste darauf geachtet werden, dass die Abnahmen so zeitgenau wie möglich erfolgten. War dies einmal nicht der Fall, wurde dies im Protokoll minutengenau vermerkt.

### **24 h-Kreatinin-Clearance**

Zur Clearance-Bestimmung ist eine 24h Urinsammlung nötig. Die Sammlung beginnt nach dem Aufstehen mit dem Entleeren der Blase in die Toilette. Danach wird über 24 h der Urin gesammelt.

Mit folgender Formel erhält man schließlich die Kreatinin-Clearance:

$$\text{Clea} = \frac{\text{Urinkrea } (\mu\text{mol/l}) \times \text{Urinminutenvolumen (ml/min)} \times 1,73}{\text{Serumkrea } (\mu\text{mol/l}) \times \text{KO (m}^2\text{)}}$$

## **Bestimmung der GFR nach Modification of Diet in Renal Disease Studie**

In dieser Arbeit werden zwei Formeln untersucht, die aus der Studie von Levey hervorgegangen sind:

$$\text{MDRD1} = 186 \times \text{Kr (mg/dl)}^{-1,154} \times \text{Alter}^{-0,203} \quad (\times 0,742 \text{ bei Frauen}),$$

( $\times 1,210$  bei Menschen mit schwarzer Hautfarbe)

$$\text{MDRD2} = 170 \times \text{Kr (mg/dl)}^{-0,999} \times \text{Alter}^{-0,176} \times \text{Hast (mg/dl)}^{-0,170} \times \text{Albumin (g/dl)}^{0,318}$$

(Frauen :  $\times 0,762$ ), ( $\times 1,210$  bei Menschen mit schwarzer Hautfarbe)

Bei beiden Formeln handelt es sich um urinunabhängige Berechnungen der Nierenfunktion, wobei bei MDRD 1 nur die Serumkreatininkonzentration (Kr), das Alter des Patienten, das Geschlecht und die ethnische Herkunft von Bedeutung sind. In der MDRD 2 werden zusätzlich Harnstoff (Hast) und Albumin berücksichtigt.

## **Bestimmung der GFR nach Cockcroft and Gault**

Wie bei der MDRD Studie wird auch bei Cockcroft und Gault die Nierenfunktion unabhängig von einer Urinsammlung errechnet:

$$\text{GFR(C \& G)} = \frac{(140 - \text{Alter}) \times \text{Körpergewicht} (\times 0,85 \text{ bei Frauen})}{72 \times \text{Krea}}$$

### **Bestimmung der GFR nach Cystatin C**

Aus dem am Zeitpunkt 0 abgenommenen Blut wurde die Cystatin-C-Clearance bestimmt.

Zur Bestimmung der Clearance kann man sich die Proportionalität von Cystatin-C-Konzentration und Clearance zu Nutze machen, so dass folgende Formel Anwendung findet:

$$\text{GFR (Cys)} = \frac{74,835}{\text{Cys}(\text{mg/l})^{1,333}}$$

### **Bestimmung der kombinierten Kreatinin-Harnstoff-Clearance**

Zur Korrektur des Fehlers, der durch die tubuläre Sekretion des Kreatinins entsteht, findet die kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance Anwendung. Es wurden die Werte von 16 Patienten ausgewertet.

Folgende Formel wird verwendet:

$$\text{GFR} = \frac{\text{EHC} + \text{ECC}}{2}$$

## **Inulin-Analytik**

### *Geräte*

1. Life Science UV/Vis Spektrophotometer, Serie DU 530, Firma Beckmann Instruments, Fullerton, CA, USA
2. Universal 20RF Zentrifuge, Firma Hettich Zentrifugen, Mülheim a.d. Ruhr, Deutschland

### *Lösungen*

1. Trichloressigsäure 8-prozentig  
8,81 g Trichloressigsäure (Merck 807.2050) + 50 ml Aqua dest.
2. Anthronreagenz  
100 ml Aqua dest. + 250 ml Schwefelsäure + 0,07 g Anthron

### *Durchführung*

Direkt nach der Abnahme wurden die Proben abgesert und bei -20 °C tiefgefroren, so dass sie zu einem späteren Zeitpunkt weiterverarbeitet werden konnten.

Für die Versuchsreihe wurden die Proben zuerst enteiweißt. Dazu wurden 100 µl Serum mit 1,1 ml 8-prozentiger Trichloressigsäure versetzt und 10 min inkubiert. Danach wurden die Proben bei  $3000\text{ m}^{-1}$  5 min bei Raumtemperatur zentrifugiert.

100 µl des Überstandes wurden pipetiert und mit 1 ml Anthronreagenz versetzt. Diese Probe wurde dann für 10 Minuten bei 55 °C im Wasserbad inkubiert, und innerhalb von 30 min wurde die Extinktion im Photometer bei 617 nm Wellenlänge gemessen.

Außerdem wurde eine Standardreihe angesetzt. Da die Standards in Aqua dest. verdünnt waren, mussten diese nicht enteiweißt werden. Der höchste Ansatz bestand aus 300 µl Aqua dest *gespiked* mit 96 µl 1:100-Inulinverdünnung. Der nächst niedrige Standard wurde mit 150 µl des höheren Standards gemischt und so verdünnt.

## **PAH-Analytik**

### *Geräte*

1. Life Science UV/Vis Spektrophotometer, Serie DU 530, Firma Beckmann Instruments, Fullerton, CA, USA
2. Universal 20RF Zentrifuge, Firma Hettich Zentrifugen, Mülheim a.d. Ruhr, Deutschland

### *Lösungen*

1. Trichloressigsäure 10 prozentig  
110,13 g Trichloressigsäure (Merck 807.0250) + 500 ml Aqua dest.
2. Natriumnitrit 1000mg/ml  
d.h. 1 g/ml, also 0,05 g Natriumnitrit (Merck 6549.0500) ad 50 ml Aqua dest.,
3. Amidosulfonsäurelösung (5000 mg/1000 ml)  
d.h. 5mg/ml, also 0,2 5g Amidoschwefelsäure (Merck 1.00103.0100) ad 50 ml Aqua dest.
4. N-(1-naphtyl-)ethylendi-ammoniumhydrochlorid (5000 mg/1000 ml)  
d.h. 5 mg/ml, also 0,21 g N-(1-naphtyl-)ethylendi-ammoniumhydrochlorid (Merck 59537.0003) in 4,2 ml warmem Methanol auflösen und 37,8 ml Aqua dest. dazugeben
5. Ethanol abs. 96 % (Merck 1.00983.2,51)

### *Durchführung*

100 µl Serum wurden mit 1ml 10-prozentiger Trichloressigsäure versetzt. Bei Raumtemperatur wurden die Proben 10 min inkubiert und mehrmals gemischt. Dann wurde diese Lösung 10 min bei  $10.900\text{ m}^{-1}$  und Raumtemperatur zentrifugiert.

Nacheinander wurden je 200 µl Natriumnitrit, Amidosulfonsäurelösung und N-(1-naphtyl-)ethylendi-ammoniumhydrochlorid hinzugegeben und dazwischen je 4 min inkubiert. Zuletzt versetzt man das Reagenz mit 500 µl Ethanol abs. und misst mit dem Spektrophotometer nach 40 min die Extinktion bei 546 nm Wellenlänge.

Wichtig war, dass sowohl Proben als auch Standards verdünnt wurden. Somit musste kein Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.

Die Standardreihe wurde mit 300 µl Serumpool angesetzt und mit 48,6 µl 1:100-PAH-Lösung versetzt. Für die Verdünnungsreihe wurden 150 µl Serumpool vorgelegt und jeweils mit 150 µl des nächst höheren Standards verdünnt.

### **Evaluation der klinisch-chemischen Bestimmung von Inulin und PAH**

An jedem Tag wurden sowohl für PAH als auch für Inulin neue Standardkurven hergestellt, was bedeutet, dass diese für jeweils maximal drei Patienten gültig waren, da aus logistischen Gründen keine größere Anzahl von Proben untersucht werden konnte (z.B. Platz in der Zentrifuge).

Folgende Inulinkonzentrationen wurden in Verdünnungsreihen hergestellt:

0 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 400 µg/ml, 800 µg/ml.

Somit konnten die bekannten Konzentrationen gegen die gemessenen Extinktionen aufgetragen werden, was anhand des folgenden Beispiels (Tabelle 1) gezeigt werden soll:

Inulinkonz. [µg/ml]	Extinktion [617nm]
0	0,014
25	0,110
50	0,182
100	0,342
200	0,685
400	1,268
800	2,187

**Tabelle 1 – Bezüge zwischen den Referenzen von Inulin-Standard-Reihe und Extinktion**

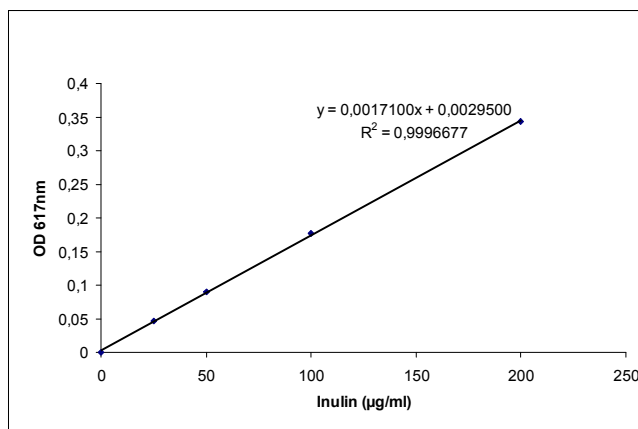
Aus der Tabelle wird deutlich, dass bei einer Konzentration von 0 µg/ml trotzdem eine Extinktion gemessen wird, die aufgrund der Eigenfärbung des Anthronreagenz zu Stande kommt. Aus diesem Grund wurde dieser Wert als Background (Bkg) von allen anderen Werten abgezogen (Tabelle 3).



Inulinkonz. [µg/ml]	Extinktion [617nm]	Extinktion nach Abzug Bkg
0	0,014	0,000
25	0,110	0,096
50	0,182	0,168
100	0,342	0,328
200	0,685	0,671
400	1,268	1,254
800	2,187	2,173

**Tabelle 2 – Inulin-Standard-Reihe und Extinktion. Extinktionswerte korrigiert nach Abzug Bkg**

Diese korrigierten Werte wurden dann gegen die Inulinkonzentration aufgetragen (Abbildung 1):



**Abb 1 - Inulin Standard Kurve**

Zur Errechnung der Inulinkonzentrationen wurden die Proben gemessen. Auch wurde hier die gemessene Extinktion des 0-Minutenwertes abgezogen und die nach Backgroundabzug ermittelten Extinktionswerte in die Standardkurve eingesetzt.

Wie oben erwähnt, wurde die Standardreihe bei Inulinbestimmung in destilliertem Wasser angesetzt. Somit ergab sich ein Verdünnungsfaktor von 12. Die tatsächliche Konzentration ergab sich also erst nach Multiplikation der aus der Standardkurve gewonnen Konzentrationen mit 12.

Zur Erstellung der PAH-Standardkurve wurde folgende Verdünnungsreihen hergestellt: 0 µg/ml, 5,46875 µg/ml, 10,9375 µg/ml, 21,875 µg/ml, 43,75 µg/ml, 87,5 µg/ml, 175 µg/ml und 350 µg/ml als höchster Standard.

Die Vorgehensweise war analog zu der bei Inulin. Jedoch wurden bei PAH sowohl Proben als auch Standard aus dem Serum bestimmt, so dass keine Berücksichtigung eines Verdünnungsfaktors nötig war. Die Untersuchungsmethode, die bei Inulin angewendet werden konnte, war zum Zeitpunkt der Probenanalyse nur für Inulin etabliert.

### **Bestimmung der Clearances von PAH und Inulin**

Bei der Berechnung der Clearance sowohl des PAH als auch des Inulins fand das Zwei-Kompartimenten-Modell Anwendung. Dabei wird davon ausgegangen, dass sich das Extrazellulärvolumen in zwei Abschnitte einteilt: einen gut durchbluteten zentralen Anteil sowie einen weniger gut durchbluteten peripheren Bereich. Der infundierte Stoff verteilt sich in diesen beiden Kompartimenten, und es kommt zunächst zu einer schnelleren Eliminierung aus dem besser durchbluteten Kompartiment, zu einer Umverteilung des Stoffes aus dem zweiten, weniger gut durchbluteten Kompartiment durch Diffusion in das erste Kompartiment und so schließlich zu einer langsameren zweiten Eliminierungsphase des Stoffes. Angeglichen wird dieses durch eine exponentielle Funktion, die sich aus der eingangs beschriebenen Annahme ergibt.

Bereits in den fünfziger Jahren war dieses Modell der Verteilung von Inulin beobachtet worden. Zunächst wurden 30 h Infusionen als Voraussetzungen proklamiert, um ein Steady State durch eine konstante Infusion zu erreichen. Diese Zeitdauer konnte aber in den folgenden Jahren bereits deutlich reduziert werden, so dass heutzutage eine Untersuchungszeit von 3 h ausreichend ist (Eppler et al. 1955; Mertz et Eppler 1959).

Die durch das Studienzentrum erhobenen Konzentrationen von PAH und Inulin wurden durch das Forschungsteam von Professor Estelberger, Abteilung für Nephrologie an der Medizinischen Universitätsklinik Graz, unter der Annahme des Zwei-Kompartimenten-Modells zur Berechnung der Clearance weiterverarbeitet (Estelberger et al. 1995).

## **Kreatininbestimmung nach Jaffé**

Kinetisches Jaffé-Assay (Roche Diagnostics, Mannheim)

Die Jaffé-Reaktion macht sich zu Nutze, dass bei alkalischem pH Kreatinin mit Pikrat einen Komplex bildet. Dieser lässt sich als Orangefärbung messen. Die gemessene Extinktion ist direkt proportional zur Kreatininkonzentration.

## **Cystatin C Bestimmung**

Bei Cystatin C handelt es um ein kationisches, nicht glykolysiertes Polypeptid. Es wiegt 13 kD und besteht aus 120 Aminosäuren. Es wird von allen kernhaltigen Zellen hergestellt und sezerniert. Funktionell handelt es sich um einen Cystein-Protease-Inhibitor.

Die Cystatin-C-Konzentration wurde anhand der nephelometrischen Methode der Firma D. Behring bestimmt.

## Bestimmung weiterer Parameter

Parameter	Methode	Referenzwerte
Body Mass Index	$\frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{\text{Körpergröße (m)}^2}$	Übergewicht: >25kg/m <sup>2</sup> Adipositas: >30kg/m <sup>2</sup>
BNP	Chemolumineszenz Assay (Biosite Köln)	<100pg/ml
HbA1c	Immunoturbometrischer Assay (Roche Integra, Roche Diagnostics, Mannheim)	<6%
Biochemische Parameter (Glukose, Albumin, Harnstoff)	Autoanalyser (P-Modul, Roche Diagnostics, Mannheim)	Nüchtern-Glukose: 55-110 mg/dl Harnstoff: <50mg/dl Albumin: 3500-5200 mg/dl
Insulin	Elektrochemolumineszenter Assay (ECLIA, Roche/ Hitachi Modular System E 170, Roche Diagnostics, Mannheim)	4 – 24IU/ml
Albumin und Gesamteiweiß im Urin	Immunturbometrischer Assay (P-Modul, Roche Diagnostics, Mannheim)	Mikroalbuminurie: 30-30mg/24h Proteinurie: >135mg/24h
HOMA-Index (Bonora, Formentini, Calcaterra, Lombardi, Marini, Zenari, Saggiani, Poli, Perbellini, Raffaelli, Cacciatori, Santi, Targher, Bonadonna, & Muggeo 2002)	$\frac{\text{Glukose(mg/dl)} \times \text{Insulin(mU/l)}}{22,5}$	>5 spricht für hochgradige Insulinresistenz

**Tabelle 3 - Zusammenstellung der für die Studie zusätzlich benötigten Parameter und ihrer Referenzwerte**

## **Statistik**

Die verschiedenen Methoden der GFR-Berechnung wurden im Hinblick auf ihre Genauigkeit der Abbildung der ermittelten Inulin-Clearance mithilfe der linearen Regression betrachtet. So konnte zu jedem der ermittelten Parameter die Varianzaufklärung an der exakten Berechnung über die Inulin-clearance angegeben und verglichen werden.

Mögliche statistische Zusammenhänge zwischen den gemessenen Größen HOMA-Index, BMI, Alter, Geschlecht und Proteinurie wurden mithilfe von t-Tests, Korrelationsberechnungen und einer Varianzanalyse überprüft. Die statistischen Berechnungen erfolgten mit dem Programm SPSS 18.

## Ergebnisse

Es wurden 47 Patienten in einem Zeitraum von Dezember 2005 bis Juni 2006 untersucht, von denen 9 weiblich und 38 männlich waren. Das Alter der Patienten reichte von 45 bis 79 Jahren. Der Mittelwert lag bei 67,25 Jahren (SD = 7,69) und der Median bei 69 Jahren.

Bei unserem Kollektiv handelte es sich um eine Gruppe übergewichtiger Diabetiker. Der Body-Mass-Index lag zwischen 26,23 kg/m<sup>2</sup> und 57,53 kg/m<sup>2</sup>, der Mittelwert betrug 35,45 kg/m<sup>2</sup> (SD = 6,14) und der Median 34,56 kg/m<sup>2</sup>.

Der Nüchtern-Glukosewert betrug im Mittelwert 151,5 mg/dl (SD = 51,09), der Median liegt bei 157,0 mg/dl und die Verteilungsbreite zwischen 41,0 mg/dl und 276 mg/dl.

Der HbA1c unserer Studienteilnehmer befand sich in einer Spanne von 5,2 und 10,5 %, der Mittelwert betrug 7,18 % (SD = 1,14) und der Median 7,0 %.

Die durchschnittliche Kreatinin-Konzentration lag bei 2,06mg/dl (SD = 0,89) mit einem Median von 1,90 mg/dl und einer Verteilungsbreite zwischen 0,69 und 4,71 mg/dl.

Daraus ergab sich eine ECC mit einem Mittelwert von 44,77 ml/min/ 1,73m<sup>2</sup> (SD = 28,82). Die Spanne lag zwischen 12,3 und 152,0 ml/min /1,73m<sup>2</sup>.

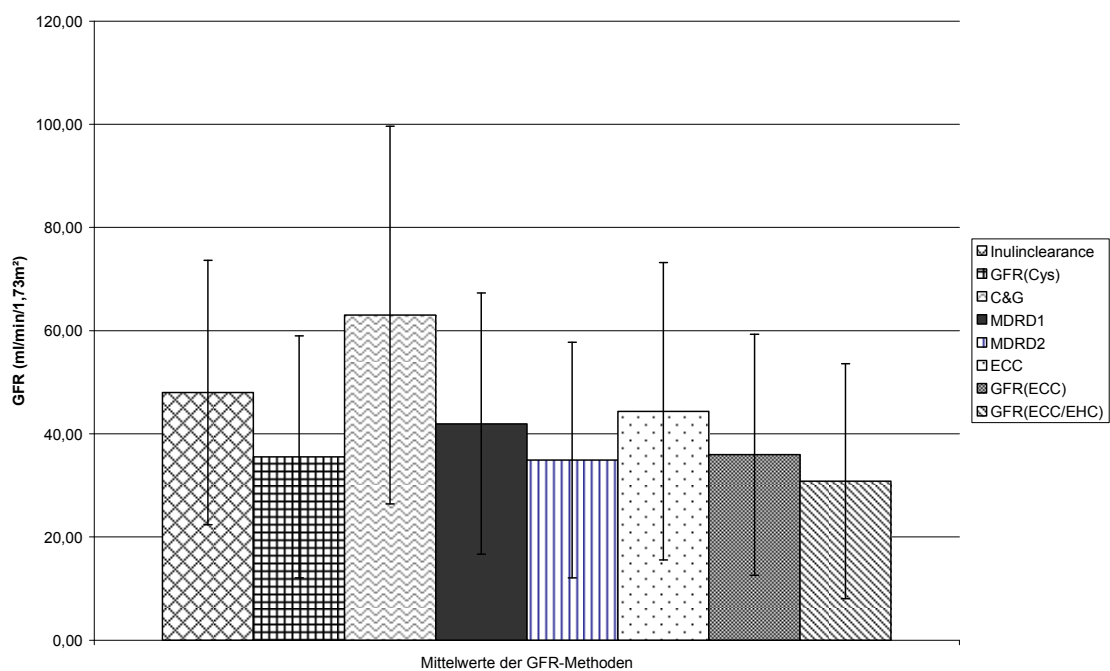
Ein Patient wurde aufgrund eines massiv erhöhten Nüchtern-Insulinwertes (1660 µU/ml) aus der Endstichprobe ausgeschlossen, ein anderer aufgrund eines stark vom Kollektiv abweichenden BNP-Spiegels (2826 pg/ml). Bei einem weiteren fiel eine deutliche unerklärliche Diskrepanz der Inulin-clearance zu den anderen Methoden auf (Pat. 10877: ECC 107 ml/min), so dass dieser Patienten ebenfalls aus dem Kollektiv ausgeschlossen wurde. Insgesamt werden 43 Patienten in der statistischen Berechnung berücksichtigt.

Zunächst sollten nur Patienten mit einem Kreatininwert von mehr als 2 mg/dl Berücksichtigung finden. Allerdings schien bei einigen Patienten das niedrignormale

Kreatinin nicht glaubhaft, so dass diese aufgrund des klinischen Erscheinungsbildes trotzdem Einschluss in die Studie fanden. Der niedrigste Kreatininwert lag bei 0,69 mg/dl.

### Ergebnisse der GFR-Bestimmung

Die GFR wird bei den eingeschlossenen 43 Patienten durch sieben verschiedene Methoden abgebildet. Verwendung finden die beiden MDRD-Formeln, die Formel nach Cockcroft und Gault, eine Formel basierend auf dem Cystatinwert des Patienten, die endogene Kreatininclearance sowie eine Formel zur Korrektur der ECC. Weiterhin werden im Verlauf bei 16 Patienten die kombinierte ECC/EHC sowie die EHC bestimmt. Als Referenzmethode wird in der vorliegenden Studie die Inulinclearance der Patienten verwendet. In Abbildung 2 sind die Mittelwerte der unterschiedlichen Methoden sowie die Standardabweichungen dargestellt.



**Abb 2 - Mittelwerte der GFR-Methoden mit den Standardabweichungen in ml/min / 1,73m².**

Die Inulin-Clearance ergab einen Mittelwert von 48,37 ml/min / 1,73m².

Der Mittelwert der glomerulären Filtrationsrate nach Cockcroft und Gault liegt über dem der Inulin-Clearance, die der restlichen Methoden waren kleiner als die der Inulin-Clearance.

Die geringste Diskrepanz zeigt sich zwischen ECC und Inulin-Clearance, wobei sich bei der ECC ein Mittelwert von 44,77ml/min/1,73m<sup>2</sup> ergab.

Die Standardabweichungen betragen für GFR(Cys) 23,73 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>, Cockcroft und Gault 36,84 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>, MDRD 1 25,49 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>, für MDRD 2 23,45 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>, ECC 29,04 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> sowie für die anhand der endogenen Kreatininclearance geschätzte GFR 23,52 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> (Abb 2).

### *Korrelation und Regressionen*

Die untersuchten GFR-Methoden wurden als Punktwolke in den folgenden Diagrammen dargestellt. Darin wurden die Werte der zu untersuchenden GFR auf der Ordinate und der Inulin-Clearance auf der Abszisse aufgetragen. Es wurden die Varianzaufklärung R<sup>2</sup> und die Regressionsgeraden mit der Funktion  $y = ax + b$  eingezeichnet. Tabelle 4 dokumentiert die Ergebnisse und zeigt die Regressionsgeraden in der Reihenfolge von oben nach unten von der besten bis zur schlechtesten Varianzaufklärung auf.

<b>Methode</b>	<b>y=ax+b</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
EHC/ECC	$y=1,099x+16,951$	0,75
ECC	$y=0,757x+14,456$	0,725
GFR(ECC)	$y=0,935x+14,456$	0,725
GFR(Cys)	$y=0,880x+17,038$	0,653
MDRD1	$y=0,797x+14,615$	0,619
MDRD2	$y=0,862x+17,956$	0,588
Cockcroft-Gault	$y=0,476x+18,080$	0,476

**Tabelle 4 – Regressionsgeraden und Varianzaufklärung in Abhängigkeit von der Methode zur Ermittlung der glomerulären Filtrationsrate (GFR).  $y = ax + b$  Regressionsgeraden; R<sup>2</sup> Varianzaufklärung**



### Zusammenhang zwischen ECC und Inulin-Clearance

Die gemessenen ECC-Werte befinden sich in einem Intervall von 12,3 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> und 152,0 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Die Varianzaufklärung beträgt  $R^2 = 0,73$ . Somit ist die ECC von allen Methoden am besten mit der Inulin-Clearance korreliert.

Die Regressionsgerade (Abb 3) schneidet die Line of Identity bei ca. 60 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>. Bis zu diesem Bereich liegt die Regressionsgeraden unter der Winkelhalbierenden, in Bereichen unter 60 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> liegt sie darüber.

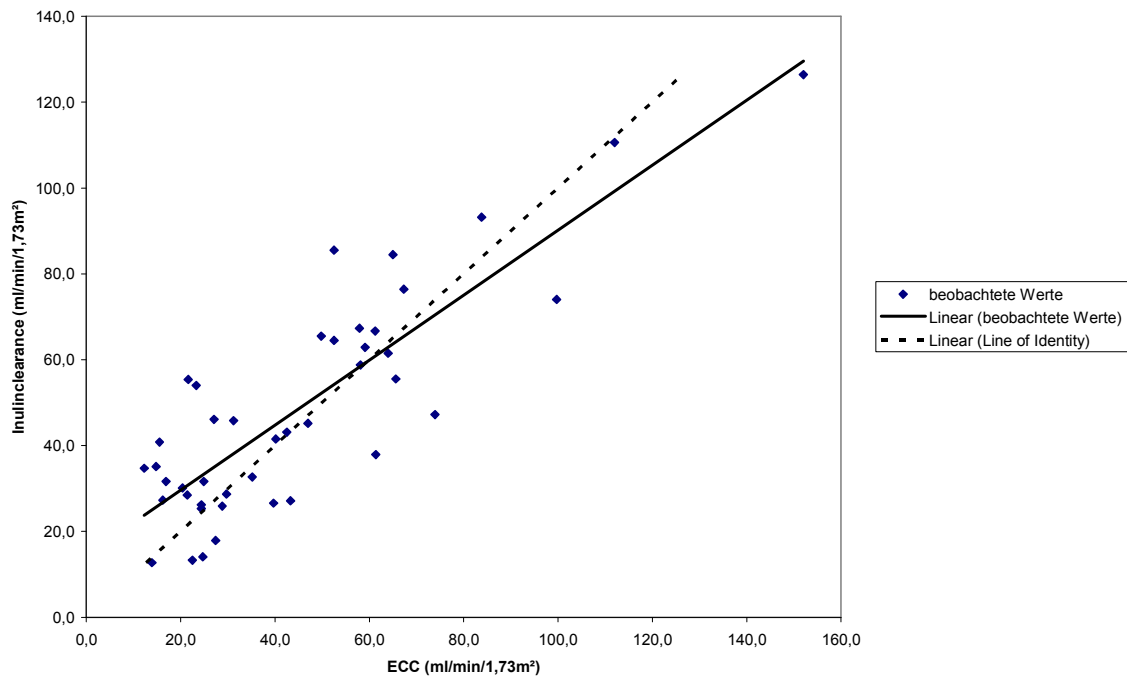


Abb 3 – Regressionsgerade bei ECC

### Zusammenhang zwischen der korrigierten ECC und Inulin-Clearance

Die um den Faktor 0,81 korrigierten ECC-Werte liegen in einem Bereich zwischen 10,0 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> und 113,2 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Die Varianzaufklärung beträgt wie bei der ECC selbst  $R^2=0,73$ .

Die Line of Identity verläuft im gesamten Bereich, der untersucht wurde, unterhalb der Regressionsgeraden (Abbildung 4).

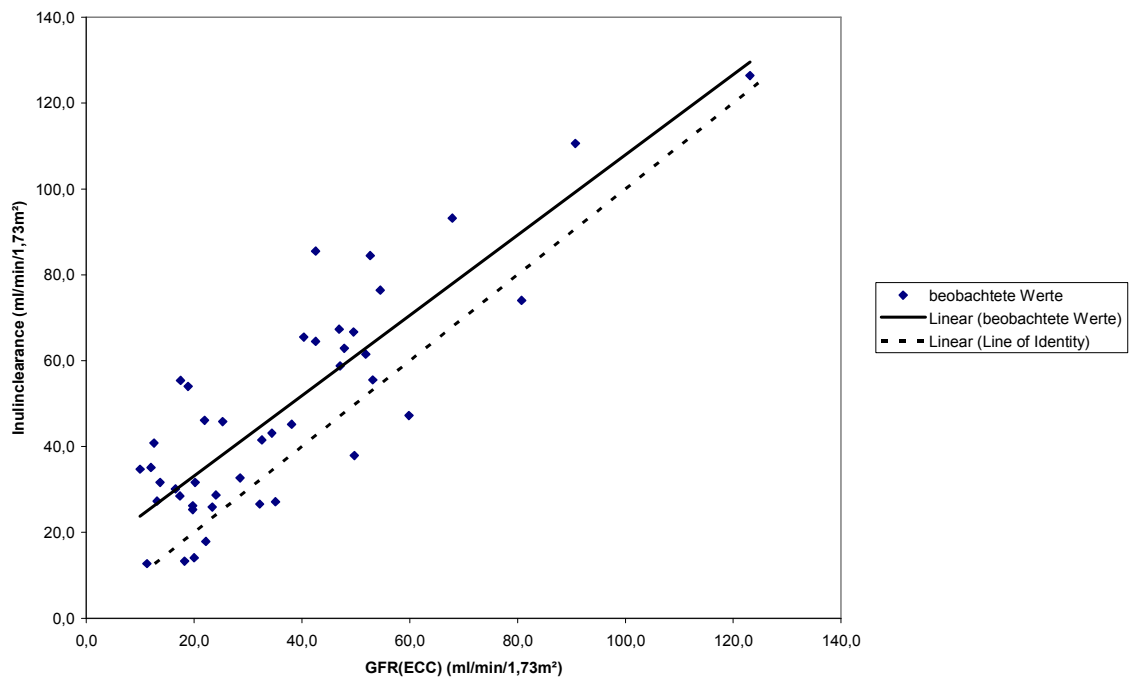


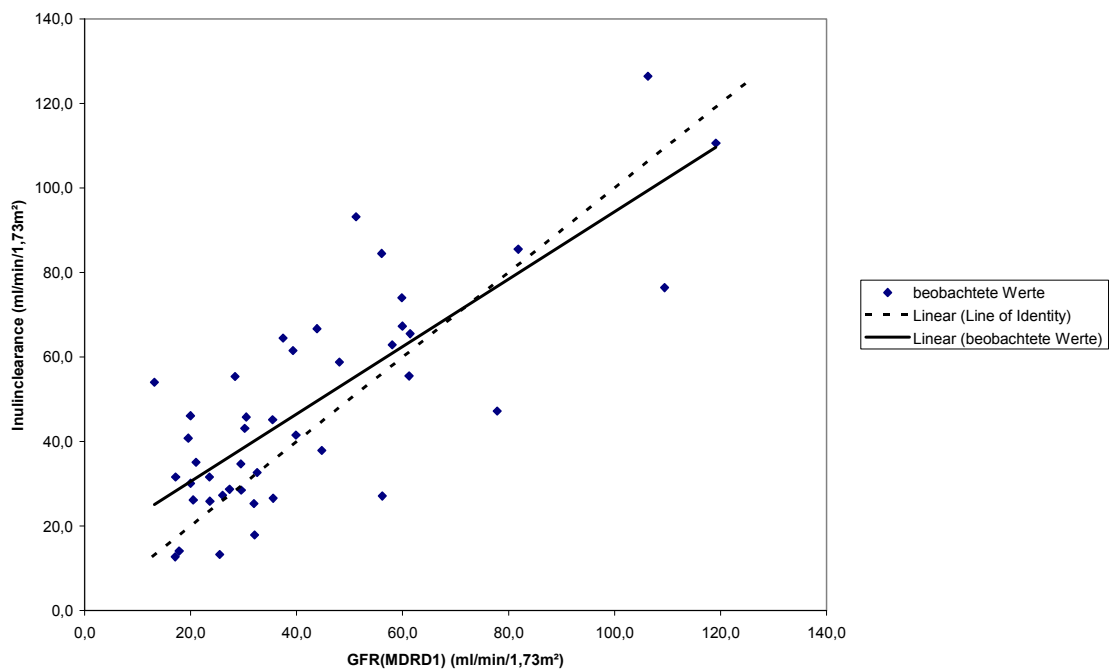
Abb 4 - Regressionsgerade  $GFR(ECC) = 0,81 \cdot ECC$ .

### Zusammenhang zwischen GFR nach MDRD 1 und Inulin-Clearance

Die GFR nach MDRD 1 befindet sich in einem Bereich zwischen 13,2 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> und 119,1 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Die Varianzaufklärung beträgt  $R^2=0,62$ .

Die Regressionsgeraden schneidet die Line of Identity bei ca 70 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>. Im Bereich unter 70 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> verläuft sie über der Winkelhalbierenden, bei Werten über 70 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> darunter (Abbildung 5).



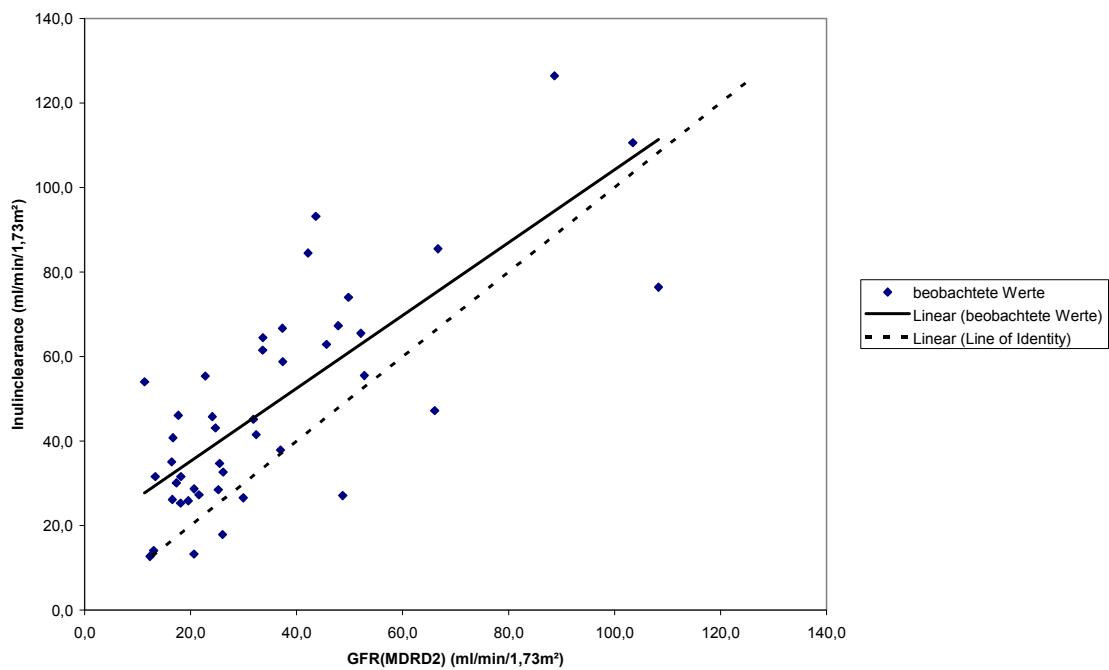
**Abb 5 – Regressionsgerade bei MDRD1**

### Zusammenhang zwischen GFR nach MDRD 2 und Inulin-Clearance

Anhand der Berechnung der GFR mit der -Formel ergibt sich ein Bereich von 11,3 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> und 108,3 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Die Varianzaufklärung beträgt  $R^2=0,59$ .

Im untersuchten Bereich liegt die Regressionsgerade oberhalb der Line of Identity (Abbildung 6).



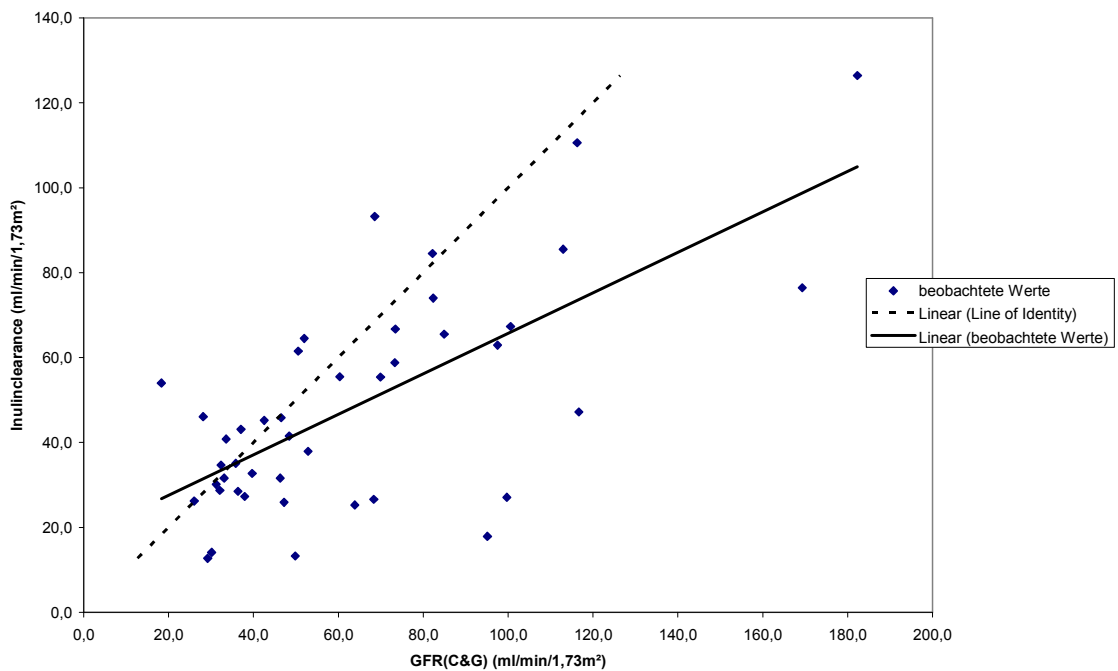
**Abb 6 Regressionsgerade bei MDRD 2.**

### Zusammenhang zwischen GFR nach Cockcroft und Gault und Inulin-Clearance

Die nach der Formel von Cockcroft und Gault bestimmte GFR liegt in einem Bereich zwischen 18,3 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> und 182,3 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Die Varianzaufklärung beträgt  $R^2=0,46$ .

Bei ca. 30ml/min/1,73m<sup>2</sup> scheidet die Regressionsgeraden der GFR nach Cockcroft und Gault die Winkelhalbierende (Abbildung 7). Im gesamten beobachteten Bereich liegt die GFR (C&G) über der Line of Identity.



**Abb 7 Regressionsgerade der GFR nach Cockcroft und Gault.**

## Zusammenhang von GFR nach Cystatin und Inulin-Clearance

Zur Untersuchung wurden 43 Patienten herangezogen.

Die Inulin-clearance lag in einem Bereich von 12,7 ml/min/1,73m<sup>2</sup> bis 126,4 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>, die GFR nach Cystatin von 9,1 ml/min / 1,73m<sup>2</sup> bis 109,8 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>.

Die Varianzaufklärung betrug  $R^2=0,65$ .

Im gesamten dargestellten Bereich lag die Line of Identity der Cystatin-Clearance über der der tatsächlichen GFR (Abbildung 8). Je größer die GFR, desto mehr näherten sich die beiden Geraden einander wieder an.

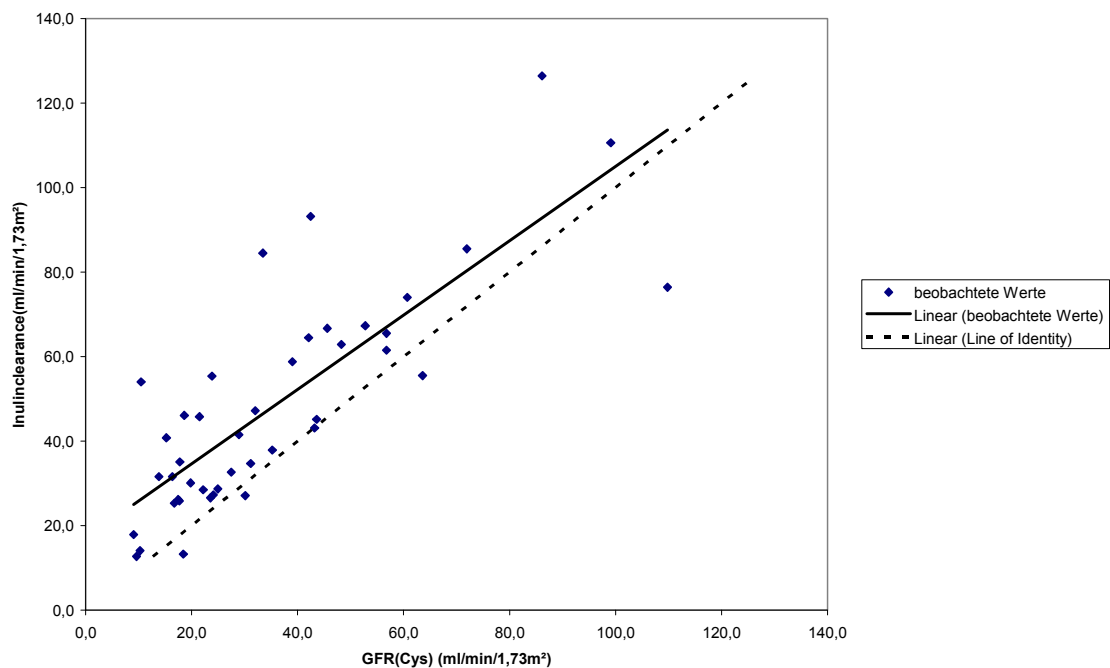


Abb 8 Regressionsgeraden für GFR (Cys).

### Zusammenhang zwischen kombinierter Kreatinin-Harstoff-Clearance und Inulin-Clearance

Zur Untersuchung wurden die Daten von 16 Patienten herangezogen. Die GFR(EHC/ECC) lag in einem Bereich zwischen 9,0 und 104,4 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>. Die Varianzaufklärung betrug  $R^2=0,75$ .

Die Regressionsgerade verlief im gesamten Bereich über der Line of Identity (Abbildung 9).

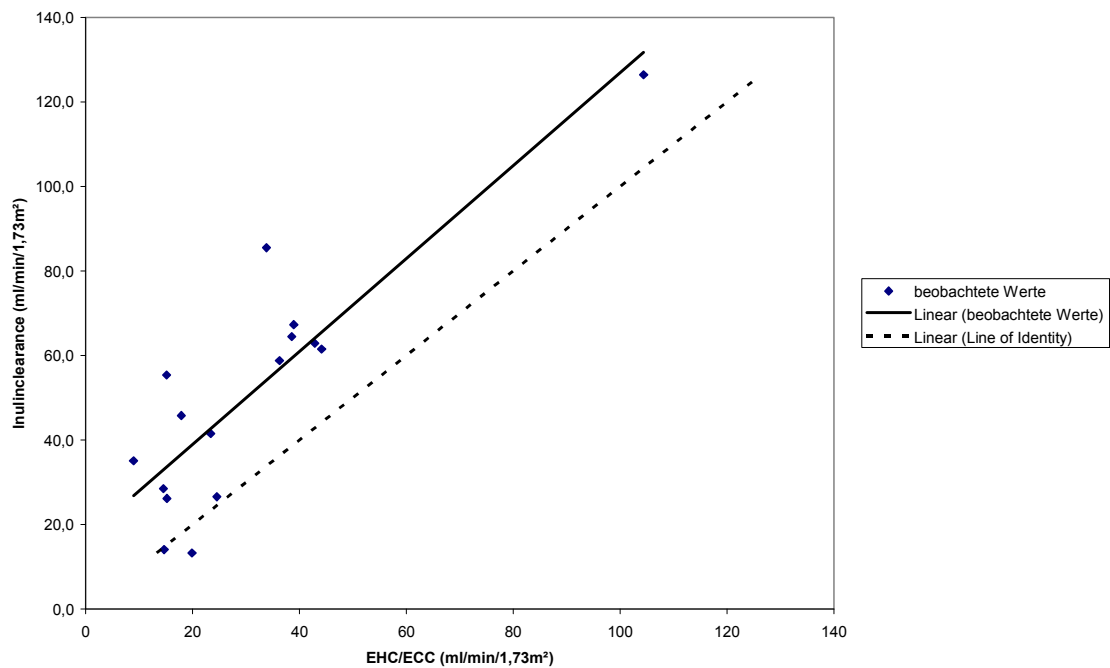


Abb 9 – Regressionsgerade für kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance

### *Zusammenhang zwischen GFR und ausgewählten Variablen*

Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen Insulinresistenz nach HOMA, Alter, BMI, BNP und der Inulin-Clearance betrachtet. Bei Patienten, die jünger als 65 Jahre waren, ergab sich eine Inulin-Clearance ( $\pm$ Standardabweichung) von  $56,1 \pm 28,6$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ , in der älteren Gruppe  $44,3 \pm 23,7$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ .

In der gesamten Stichprobe fanden sich neun Frauen, die eine durchschnittliche GFR von  $39,6$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$  aufwiesen. Bei den 34 männlichen Probanden beträgt die GFR  $50,7 \pm 26,4$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ .

Bei 27 Patienten mit einem HOMA von  $>5$  ergab sich eine GFR von  $47,1 \pm 22,7$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ , bei 16 Patienten mit einem HOMA von  $<5$   $50,4 \pm 31,1$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ .

Bei 18 Patienten mit einem BNP von  $<100\text{pg/ml}$  fand sich eine Inulin-clearance von  $50,4 \pm 27,2$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ , bei 25 Probanden mit einem BNP  $>100$  pg/ml von  $44,6 \pm 23,4$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ .

Außerdem wurden die Proteinurie sowie Albuminurie untersucht. Die 25 Patienten mit einer Proteinurie von mehr als  $3$  g/24 h hatten eine durchschnittliche glomeruläre Filtrationsrate von  $47,8 \pm 25,1$  ml/min/ $1,73\text{m}^2$ . Eine übersichtliche Zusammenstellung dieser Ergebnisse vermittelt Tabelle 5.



	<b>n</b>	<b>Mittelwert (Inulin-clearance)</b>	<b>SD</b>	<b>T<sub>1,41</sub></b>	<b>p</b>
Alter <65 Jahre	15	56,080	28,626	1,452	0,154
Alter >65 Jahre	28	44,232	23,713		
Weiblich	9	39,567	22,656	-1,154	0,255
Männlich	34	50,694	22,422		
HOMA <5	16	50,431	31,112	0,40	0,691
HOMA >5	27	47,141	22,699		
BMI <35	21	47,757	29,184	0,149	0,882
BMI >35	22	48,945	22,862		
BMI <40	34	53,971	25,328		
BMI >40	9	27,189	14,794		
BNP <100	28	50,400	27,234	0,701	0,487
BNP >100	15	44,567	23,403		
Proteinurie 135mg-<3g	18	49,117	27,564	0,160	0,874
Proteinurie >3g	25	47,824	25,076		
Albuminurie 20-200mg/24h	16	52,094	33,511	0,725	0,473
Albuminurie >200mg/24h	27	46,156	20,406		

**Tabelle 5 - Varianzanalyse für den Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und Inulin-Clearance. n Anzahl der Patienten; SD Standardabweichung; T<sub>1,41</sub> Teststatistik; p Signifikanzwert.**

Mithilfe eines t-Tests sollte ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Alter der Probanden und der Inulin-Clearance bestimmt werden. Dafür wurden die Patienten in Gruppen mit einem Alter von  $\leq 65$  und  $> 65$  Jahren eingeteilt. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ( $T_{1,41} = 1,452$ ,  $p = 0,154$ ).

Auch zwischen Geschlecht und Inulin-Clearance ergeben sich keine Ergebnisse durch T-Test ( $T_{1,41} = -1,154$ ,  $p = 0,255$ ).

Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen Inulin-Clearance und Insulinresistenz, bestimmt durch den HOMA-Index, untersucht. Dazu wurden die Mittelwerte der Inulin-Clearance bei einem HOMA-Index von  $> 5$  und  $< 5$  bestimmt. Ein signifikantes Ergebnis wurde nicht erhalten, so dass ein Einfluss auf die Inulin-Clearance nicht nachgewiesen

werden konnte ( $T_{1,41} = 0,40$ ,  $p = 0,691$ ). Auch eine Korrelationsberechnung blieb in diesem Fall ohne Ergebnis ( $r = 0,126$ ,  $p = 0,425$ ).

Weiterhin wurden die Gruppen nach dem BMI in  $>35$  und  $<35\text{kg/m}^2$  ( $T_{1,41} = -0,149$ ,  $p = 0,882$ ), BNP  $<100$  und  $>100\text{pg/ml}$  ( $T_{1,41} = 0,701$ ,  $p = 0,487$ ), Proteinurie  $>3\text{g}/24\text{h}$  und  $135\text{mg}/24\text{h}$  bis  $<3\text{g}/24\text{h}$  ( $T_{1,41} = 0,160$ ,  $p = 0,874$ ), sowie Mikroalbuminurie (20 bis  $200\text{mg}/24\text{h}$ ) und Makroalbuminurie unterteilt ( $T_{1,41} = 0,725$ ,  $p = 0,473$ ).

Desweiteren erfolgte ein Mediansplit. Zunächst wurde die Berechnung des Medians für Gewicht, BMI, Proteinurie, Albuminurie, Glukose, Insulin, HOMA-IR, BNP, Adiponektin und Leptin vorgenommen. Zum einen wurde sodann der Mittelwert der Inulin-Clearance sowie die Standardabweichung bei den Patienten, deren Wert sich *unterhalb* des Medians befand, bestimmt. Die gleiche Berechnung geschah zum anderen für die Patienten, deren Werte *oberhalb* des Medians lagen. Schließlich erfolgte die Berechnung eines t-Tests. Sowohl durch diese Art der statistischen Auswertung als auch anhand von Korrelationsberechnungen fand sich kein signifikantes Ergebnis für BMI ( $r = -0,215$ ,  $p = 0,166$ ), BNP ( $r = 0,229$ ,  $p = 0,140$ ), Proteinurie ( $r = 0,022$ ,  $p = 0,888$ ) und Albuminurie ( $r = 0,070$ ,  $p = 0,658$ ) in Korrelation zur Inulin-Clearance (Tabelle 6).

	<b>n</b>	<b>Mittelwert Inulin-Clearance</b>	<b>SD</b>
Gewicht <104 kg	23	47,535	23,141
Gewicht >104 kg	20	49,320	29,210
BMI <34,6 kg/m <sup>2</sup>	22	48,945	22,861
BMI >34,6 kg/m <sup>2</sup>	21	47,757	29,184
Proteinurie <198 mg/24 h	22	48,059	25,390
Proteinurie >198 mg/24 h	21	48,686	26,910
Albuminurie <56 mg/24 h	21	45,257	26,614
Albuminurie >56 mg/24 h	21	50,657	25,741
Glukose <159 mg/dl	22	45,141	20,944
Glukose >159 mg/dl	21	51,743	30,287
Insulin <14,4 µU/ml	22	51,232	28,628
Insulin >14,4 µU/ml	20	43,930	22,458
HOMA <5,88	21	45,067	28,710
HOMA >5,88	21	50,443	22,983
BNP <59 pg/ml	22	49,364	29,354
BNP >59 pg/ml	21	47,319	22,233
Adiponectin <10,1	22	55,132	27,402
Adiponectin >10,1	21	41,276	22,577
Leptin <9,4	22	50,073	28,833
Leptin >9,4	21	46,576	22,843

**Tabelle 6 - Mediansplit ausgewählter Variablen und deren Mittelwerte der Inulin-Clearance. n Anzahl der Patienten; SD Standardabweichung**

Patienten mit einem Body-Mass-Index (BMI) über 40kg/m<sup>2</sup> hatten eine GFR von 27,2 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>±14,8. Der Durchschnitt bei den Patienten mit einem BMI von unter 40kg/m<sup>2</sup> lag bei 53,8 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>±27,8. Nach Berechnung des t-Tests ergab sich eine Tendenz zur Signifikanz (p = 0,056).

Dann wurden die Adipokine Leptin (r = -0,010, p = 0,951) und Adiponectin

( $r = -0,136$ ,  $p = 0,390$ ) in Hinblick auf ihren Zusammenhang mit dem HOMA-Index untersucht.

Außerdem wurde eine Korrelationsrechnung zwischen den Adipokinen und den glomerulären Filtrationsraten durchgeführt. Dabei fand sich eine signifikante Korrelation zwischen Leptin und der endogenen Kreatininclearance ( $r = 1,00$ ,  $p < 0,01$ ), d.h. höhere Leptinwerte gehen mit einer höheren endogenen Kreatinin-Clearance einher.

Ferner wurde das Datenmaterial in Patienten mit einer Inulin-Clearance von  $<30 \text{ ml/min} / 1,73\text{m}^2$  und  $>30 \text{ ml/min} / 1,73\text{m}^2$  unterteilt und erneut ein t-Test durchgeführt (Tabelle 7 und 8). Es ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen BMI und eingeschränkter Nierenfunktion ( $T_{1,13,696} = 2,688$ ,  $p < 0,05$ ). Ein hoher BMI korrelierte mit einer niedrigen Inulin-Clearance.

<b>Merkmale</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>SD</b>
Gewicht	12	120,24	29,936
BMI	12	40,093	7,8470
Proteinurie	12	719,17	1002,184
Albuminurie	12	453,521	681,3004
Glukose	12	155,500	75,0860
Insulin	12	22,642	14,4396
HOMA	12	8,50315511	6,839628226
BNP	12	231,3333	463,00566
Adiponectin	12	12,842	7,2491
Leptin	12	19,733	24,5551

**Tabelle 7 - Mittelwerte ausgewählter Parameter von Patienten mit Inulinclearance  $<30 \text{ ml/min} / 1.73\text{m}^2$ . n Anzahl der Patienten; SD Standardabweichung**

<b>Merkmale</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>SD</b>
Gewicht	31	102,42	14,885
BMI	31	33,653	4,3458
Proteinurie	31	1775,84	2579,406
Albuminurie	30	1310,737	1881,6988
Glukose	31	151,161	40,2568
Insulin	30	28,197	45,0799
HOMA	30	11,47597179	19,975125 286
BNP	31	104,9677	110,88267
Adiponectin	31	11,913	10,3971
Leptin	31	10,403	8,5097

**Tabelle 8 - Mittelwerte ausgewählter Parameter von Patienten mit Inulin-Clearance >30 ml/min / 1,73m<sup>2</sup>. n Anzahl der Patienten; SD Standardabweichung**

Schließlich zeigte sich, dass eine hochgradig eingeschränkte Nierenfunktion signifikant mit einer erhöhten Albuminurie zusammenhängt ( $T_{1,39,841} = -2,165$ ,  $p < 0,05$ ). Die Proteinurie war nur von der Tendenz als signifikant zu werten ( $T_{1,40,969} = -2,156$ ,  $p < 0,05$ ).

### **Zusammenhang zwischen PAH-Clearance und Harnstoffkonzentration**

Um die tubuläre Funktion besser abbilden zu können, fand die PAH-Clearance Anwendung. Der Mittelwert lag bei 317,6 ml/min (SD = 123,7), das Minimum betrug 120,5 ml/min und das Maximum 737,9 ml/min. Der Median lag bei 323,1 ml/min.

In diesem Zusammenhang wurde außerdem die Harnstoffkonzentration betrachtet. Der Mittelwert lag bei 106,6 mg/dl, die Standardabweichung beträgt 77,03 mg/dl, der Median befindet sich bei 93,5 mg/dl. Das Maximum wurde mit 336,0 mg/dl, das Minimum mit 17,0 mg/dl bestimmt.

Bei einer zweiseitigen Korrelationsberechnung nach Pearson findet sich ein mit einem Wert von  $r = -0,432$  ( $p = <0,05$ ) ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen der PAH-Clearance und der Harnstoffkonzentration. Eine höhere PAH-Clearance geht also mit einer niedrigeren Harnstoffkonzentration einher.

Aufgrund dieser Tatsache wurde bei den Patienten, die zu einem späteren Zeitpunkt der Studie untersucht wurden, eine Bestimmung der endogenen Harnstoffclearance ergänzt. Mit  $n = 16$  kann eine Korrelation von  $r = 0,847$  bestimmt werden.

Analog zur Inulin-Clearance fand die Regressionsanalyse auch bei der PAH-Clearance Anwendung. Sie lieferte die beste Varianzaufklärung bei der kombinierten Kreatinin-Harnstoffclearance und der Harnstoffclearance. Die niedrige Varianzaufklärung bei Inulin, Cystatin sowie der Kreatinin-basierten Bestimmungen der GFR ergeben sich daraus, dass es sich um Methoden zur Abbildung der glomerulären Funktion handelt. Tabelle 10 zeigt die Regressionsgeraden in der Reihenfolge der besten Varianzaufklärung.

<b>Methode</b>	<b><math>y = ax + b</math></b>	<b><math>R^2</math></b>
EHC/ECC	$y = 5,1876x + 73,18$	0,839
EHC	$y = 8,1132x + 206,35$	0,717
Cockcroft-Gault	$y = 2,0129x + 225,39$	0,273
ECC	$y = 2,0129x + 225,39$	0,218
GFR(ECC)	$y = 2,485x + 225,39$	0,218
Inulin-clearance	$y = 2,0576x + 215,99$	0,18
MDRD2	$y = 2,2561x + 235,94$	0,171
MDRD1	$y = 2,026x + 229,76$	0,170
GFR(Cys)	$y = 2,1453x + 239,1$	0,165

**Tabelle 9 – Regressionsgeraden und Varianzaufklärung in Abhängigkeit von der Methode zur Ermittlung der glomerulären Filtrationsrate und der PAH-Clearance.  $y = ax + b$  Regressionsgeraden;  $R^2$  Varianzaufklärung**

### **Zusammenhang zwischen PAH-Clearance und Proteinurie**

Wie weiter oben beschrieben, ging eine Einschränkung der Nierenfunktion häufig mit der Ausscheidung von Proteinen einher. Aus diesem Grund wurde die die Gesamtheit der Patienten in vier Quartile eingeteilt, um zu untersuchen, ob mit abnehmender PAH-Clearance eine Zunahme der Proteinurie einher geht.

In dem Quartil mit der niedrigsten PAH-Clearance fand sich die höchste Proteinurie (Quartil: 125,0 bis 226,9 ml/min; Proteinurie: 3091 ml/min). Allerdings hält dieser Unterschied einer Signifikanzprüfung mithilfe einer Varianzanalyse nicht Stand ( $F_{3,18} = 6,552$ ,  $p = 0,148$ ) (Tabelle 10).

<b>Quartile (nach PAH-Clearance)</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert (Proteinurie)</b>	<b>SD (Proteinurie)</b>
120,5-234,175	10	3090,60	3350,865
234,175-323,1	11	973,45	1756,941
323,1-370,075	12	769,25	1092,708
370,075-737,9	10	1213,80	2049,534

**Tabelle 10** Quartilberechnung nach PAH-Clearance. n Anzahl der Patienten; SD Standardabweichung

## Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wird eine Stichprobe übergewichtiger, Typ 2 Diabetiker untersucht.

Die Methode mit der besten Varianzaufklärung im Vergleich zur Inulin-Clearance ist die kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance.

Weiterhin haben Patienten mit einem BMI von  $>40 \text{ kg/m}^2$  eine signifikant schlechtere Inulin-Clearance als Patienten mit einem kleineren BMI. Auch in der Arbeit von Masuo wird Übergewicht als unabhängiger Risikofaktor für eine Nierenfunktionseinschränkung gesehen (Masuo et al. 2011).

Eine eingeschränkte Nierenfunktion korreliert mit einer erhöhten Albuminausscheidung. Dies spiegelt die Definition der diabetischen Nephropathie wider und macht deutlich, was bereits seit den 1970er Jahren Schwerpunkt der Forschung zur diabetischen Nierenschädigung ist (Mogensen 1971). Nicht zuletzt die Arbeit von Yokoyama belegt, dass auch in der heutigen Zeit der Zusammenhang von Albuminurie und Nierenfunktionsstörung von Bedeutung ist (Yokoyama et al. 2011). Insbesondere hinsichtlich kardiovaskulärer Ereignisse und Tod kann ein Bezug zu einer Mikroalbuminurie und eingeschränkter Nierenfunktion aufgezeigt werden, wobei unklar ist, welcher Faktor ursächlich verantwortlich ist (Delles u. Jardine 2011).

Weiterhin kann ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer niedrigen Harnstoffkonzentration und hohen PAH-Clearance-Werten hergestellt werden, womit nachgewiesen werden kann, dass durch Bestimmung des Serumharnstoffes ein Schluss auf die tubuläre Funktion in der untersuchten Patientengruppe möglich ist. In einer Regressionsanalyse fand sich analog zur Inulin-Clearance die größte Varianzaufklärung zwischen PAH- und kombinierter Kreatinin-Harnstoffclearance. Insbesondere zur Klassifizierung der Nierenschäden ohne das Vorliegen einer Mikroalbuminurie ist die Diagnostik bezüglich der tubulären Funktion interessant. So findet sich auch in der Arbeit von Petrica die Vermutung von Schäden des proximalen Tubulus bei normoalbuminurischen Patienten (Petrica et al. 2011). Unter anderem wird der frühe



Einsatz von ACE-Hemmern oder AT-1-Antagonisten als Ursache der Veränderung in Bezug auf diabetesbedingte Nierenschäden diskutiert (Packham et al. 2011).

### **Inulin-Clearance**

Eine exakte Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate mit der Inulin-Clearance ist zwar für eine genaue Einschätzung der Ausprägung der Nierenfunktionseinschränkung der jeweiligen Patienten wünschenswert, jedoch in der Praxis schwierig umzusetzen, da der Untersuchungszeitraum inklusive Vor- und Nachbereitung mindestens vier Stunden beträgt. Während dieser Zeit müssen häufige Blutabnahmen vorgenommen und die definierten Zeitintervalle exakt eingehalten werden. Zudem müssen die Patienten weitestgehend Bettruhe einhalten, was insbesondere bei diabetischen Patienten auf Grund der Polyurie eine Schwierigkeit darstellt. Hinzu kommt eine zeitintensive Laboruntersuchung, die mit hohen Personal- und Materialkosten verbunden ist.

### **Endogene Kreatininclearance**

In der vorliegenden Probandengruppe kann nachgewiesen werden, dass zwischen der ECC und Inulin-Clearance eine große Übereinstimmung der untersuchten Methoden bestand. Bis zu einer GFR von mehr 60 ml/min kommt es zu einer Unterschätzung, im Bereich darunter zu einer Überschätzung der tatsächlichen glomerulären Filtrationsrate.

Diese Ungenauigkeit lässt sich durch die Eigenschaften des Kreatinins erklären. Wie zuvor erwähnt handelt es sich bei Inulin um einen Stoff, der frei filtriert, nicht tubulär sezerniert und somit von der Niere komplett ausgeschieden wird. Der Schwachpunkt der Kreatinins besteht hingegen darin, dass es tubulär sezerniert wird. Bei eingeschränkter Nierenfunktion nimmt der tubulär sezernierte Anteil des Kreatinins zu, wodurch es in niedrigen GFR-Bereichen zu einer Überschätzung der tatsächlichen Nierenfunktion kommt. Dieses Ergebnis konnte bereits in vielen anderen Arbeiten bestätigt werden (Shannon 1935; Shemesh et al. 1985).

Als weitere potenzielle Fehlerquelle kann die notwendige Sammlung des Urins über vierundzwanzig Stunden gesehen werden. Zum einen besteht die Gefahr, dass es den

Patienten nicht gelingt den Urin richtig zu sammeln, da ihnen nicht bewusst ist, dass der erste Morgenurin bei der Messung verworfen werden muss. Zudem ist davon auszugehen, dass gelegentlich eine Urinportion akzidentell verworfen wird. Weiterhin berichteten die Patienten, am Tag vor der Untersuchung eine größere Menge als üblich getrunken zu haben, um ein gutes Ergebnis präsentieren zu können. All dies hat ebenfalls Einfluss auf die Genauigkeit der Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate mittels der endogenen Kreatinin-Clearance.

Zum Ausgleich der tubulär sezernierten Kreatininmenge wurde der in der Arbeit von Levey erwähnte Korrekturfaktor von 0,81 verwendet, um aus der endogenen Kreatinin-Clearance die glomeruläre Filtrationsrate zu errechnen (Levey et al. 1999). In der durchgeführten Stichprobe wurde damit erreicht, dass im gesamten Bereich der untersuchten glomerulären Filtrationsrate eine Überschätzung der tatsächlichen GFR eintrat. Allerdings war die Gerade auf der y-Achse verschoben, annähernd wurde eine Steigung von 1 durch die Korrektur erreicht.

Bereits in anderen Arbeiten konnte eine systematische Überschätzung der glomerulären Filtrationsrate bei übergewichtigen gesunden Patienten nachgewiesen werden (Sinkeler et al. 2011). Somit kann auch der hohe BMI als Ursache für die Ungenauigkeit der GFR-Bestimmung mittels Kreatinin-Clearance diskutiert werden.

### **Glomeruläre Filtrationsrate nach MDRD**

Aus der Untersuchung ergibt sich, dass die MDRD-Formel ohne Betrachtung des Serumalbuminspiegels im Bereich einer GFR von weniger als 70 ml/ min /1,73m<sup>2</sup> zu einer Überschätzung der glomerulären Filtrationsrate führt. Ein ähnliches Ergebnis erbringen die Arbeiten von Beauvieux sowie von Rigalleau (Beauvieux et al. 2007; Rigalleau et al. 2011).

Ursächlich hierfür könnte die bei der Entwicklung der Formeln betrachtete Patientenpopulation sein. Zum einen fanden dort nur 6 % Diabetiker Berücksichtigung, zum anderen war die diabetische Nephropathie ein Ausschlusskriterium zur Teilnahme an der hier zugrundeliegenden Studie. Weiterhin sind die Patienten in der Studie von

Levey normgewichtige Probanden, wohingegen es sich bei der hier untersuchten Gruppe um übergewichtige Patienten handelt (Levey et al. 1999).

Die in der Studie untersuchten Patienten hatten eine GFR von 20 bis 70 ml/ min /1,73m<sup>2</sup>.

In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass es bei einer hochnormalen glomerulären Filtrationsrate zu einer Unterschätzung kommt und in niedrigen Bereichen zu einer Überschätzung (Vervoort et al. 2002; Verhave et al. 2005). Mit der MDRD-Formel kann es zusätzlich dazu kommen, dass eine versteckte chronische Niereninsuffizienz übersehen wird. Da es sich bei der MDRD-Formel um eine kreatininbasierte Berechnung handelt, hat sicherlich die tubuläre Sekretion des Kreatinins einen Einfluss auf diese Ungenauigkeit. Bei zunehmend eingeschränkter Nierenfunktion nimmt die glomeruläre Filtration zunächst ab und die tubuläre Filtration zu, was so zu einer Überschätzung der glomerulären Filtrationsrate im niedrigen GFR-Bereich führt (Shemesh et al. 1985).

Weiterhin konnte als Fehlerquelle ein Einfluss des Gewichts auf die Präzision der MDRD-Formel nachgewiesen werden (Jacobien et al. 2005).

Auch bei alten Menschen konnte eine Überschätzung durch die MDRD-Formel nachgewiesen werden (Björk et al. 2012; Kilbride et al. 2012) .

Die Forschungsgruppe um Levey veröffentlichte im Jahr 2009 die CKD-EPI-Formel, um eine Berechnungsmöglichkeit mit größerer Genauigkeit bezüglich der geschätzten GFR insbesondere in hohen Bereichen zu erreichen. Dies spielt vor allem eine Rolle, um eine verlässliche Einstufung der Nierenfunktion zu gewährleisten, bei Medikamenten eine Über- oder Unterdosierung zu verhindern und auch bezüglich der Dialyse eine verlässlichere Aussagekraft zu sichern, um einen zu frühen oder späten Beginn zu vermeiden (Levey et al. 2009). Dazu wurden eine gepoolte Stichprobe sowie eine repräsentative Stichprobe für die US-amerikanische Bevölkerung betrachtet. Allerdings war auch hier wieder nur eine Minderheit von Diabetikern vertreten. Versuche, einen Faktor für Diabetiker zu ergänzen, erbrachten keine Besserung der Aussagekraft (Stevens et al. 2010). Vergleicht man Gesunde und Diabetiker, zeigt sich

eine deutlich schlechtere Aussagekraft bei Diabetikern (Camargo et al. 2011). Auch wird ein Vorteil gegenüber der MDRD-Formel konträr diskutiert (Nair et al. 2011).

### **Glomeruläre Filtrationsrate nach Cockcroft und Gault**

Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung der GFR ist die Formel nach Cockcroft-Gault. In dieser Untersuchung kommt es in einem Bereich niedriger glomerulärer Filtrationsraten zu einer Überschätzung, bei hohen ( $>30$  ml/min /  $1,73\text{m}^2$ ) zu einer Unterschätzung der GFR. Bereits in anderen Arbeiten konnten die hier beobachteten Tendenzen nachgewiesen werden (Cirillo et al. 2005; Froissart et al. 2005; Rigalleau et al. 2005; Vervoort et al. 2002).

Bei der in dieser Arbeit betrachteten Stichprobe handelt es sich um übergewichtiges und überwässertes Patientenklientel. In der Cockcroft-Gault-Formel steigt die GFR proportional zum Körpergewicht an. Anders als ursprünglich angenommen, handelt es sich beim höheren Gewicht in dieser Stichprobe nicht primär um Kreatinin produzierende Muskelmasse, sondern um ein Mehr an Fett und Wasser. Dies kann erklären, warum die glomeruläre Filtrationsrate durch die Cockcroft-Gault-Formel so ungenau ist: je mehr Gewicht der Patient hat, desto größer die glomeruläre Filtrationsrate nach Cockcroft-Gault-Formel (Rigalleau et al. 2005). Gerade bei diabetischen Patienten ist ein Gewichtsverlust jedoch unverzichtbar (Lean et al. 1990). Nach Cockcroft-Gault-Formel würde jedoch ein Gewichtsverlust von 20% bei gleichbleibendem Kreatininserumspiegel die gleiche Abnahme der GFR bedeuten, wovon nicht auszugehen ist.

Weiterhin kann ein Einfluss des Alters auf die Genauigkeit der GFR nach Cockcroft - Gault nachgewiesen werden. Es wird gezeigt, dass bei Patienten mit einem Alter von weniger als 65 Jahren die Genauigkeit der GFR nach Cockcroft-Gault größer ist. In dieser Arbeit waren die Patienten jedoch älter. Dies kann ein weiterer Faktor sein, der die Ungenauigkeit zwischen Inulin-Clearance und GFR nach Cockcroft -Gault erklärt (Jacobien et al. 2005).

## **Glomeruläre Filtrationsrate nach Cystatin C**

Wie das lineare Regressionsmodell zeigt, wurde die GFR nach Cystatin C überschätzt.

Bisher wurde davon ausgegangen, dass es sich um eine von der Körpermasse der Patienten unabhängige Methode handelt. Dies konnte bereits in der Arbeit von Macdonald et al. widerlegt werden (Macdonald et al. 2006). Es wurde vorgeschlagen, diese auf die fettfreie Körpermasse des Patienten zu beziehen, um eine genauere Abbildung der tatsächlichen GFR zu erhalten. Auch in der Arbeit von Shlipak konnte ein Einfluss von Größe und Gewicht auf die Cystatin-Clearance beobachtet werden (Shlipak et al. 2006).

In der vorliegenden Untersuchung nähert sich die GFR nach Cystatin C im höheren Bereich der tatsächlichen GFR an. Die Überschätzung im Bereich niedriger glomerulärer Filtrationsraten lässt sich über die extrarenale Elimination des Cystatin C erklären, die 21 ml/ min /1,73m<sup>2</sup> beträgt (Sjöström et al. 2005).

Hinzu kommt, dass die Studienteilnehmer zum großen Teil Männer waren. Männliches Geschlecht konnte bereits durch Knight und Kollegen als Fehlerquelle in der Genauigkeit der Cystatin-Clearance beobachtet werden (Knight et al. 2004). So ist denkbar, dass die im Vergleich zur Kreatinin-Clearance schlechtere Korrelation zur Inulin-clearance entsteht.

## **Zusammenhang zwischen PAH-Clearance und Serumharnstoffkonzentration**

Es lässt sich feststellen, dass zum angenommenen glomerulären Schaden, der bei Diabetikern als Ursache der Nierenfunktionsverluste postuliert wird, in der vorliegenden Stichprobe übergewichtiger Diabetiker bis auf zwei Ausnahmen alle Patienten einen tubulären Funktionsverlust mit herabgesetzten Werten für die PAH-Clearance aufwiesen. Weiterhin fand sich bei der kombinierten Kreatinin-Harnstoffclearance die größte Varianzaufklärung. Diese Feststellung konnte bereits in Nierenbiopsiestudien unterstrichen werden (Helchen et al. 2006). Wie im Verlauf dieser Arbeit bereits ausführlich beschrieben, sind die Methoden mittels Kreatinin, der

Formeln zur GFR-Bestimmung und des Cystatin C, die ausschließlich in der Lage sind, die Schäden, die sich auf das Glomerulum auswirken, abzubilden.

Harnstoff als Parameter zur Abbildung der tubulären Funktion wies in der untersuchten Gruppe eine signifikante Korrelation zur PAH-Clearance auf, so dass im klinischen Alltag dieser Parameter geeignet scheint, die tubuläre Funktion abschätzen zu können.

In den letzten Jahren kommt verstärkt zur Diskussion, dass bei Diabetikern eine Nierenfunktionseinschränkung vorliegt, ohne dass sich eine Mikroalbuminurie manifestiert. So wird diskutiert, dass die Hyperfiltration zu Schäden des proximalen Tubulus führt (Petrica et al. 2011). In einer Studie mit Diabetikern, die erst eine Krankheitsdauer von zwei Jahren hatten, konnte festgestellt werden, dass ein tubulärer Schaden zu diesem Zeitpunkt bereits verbreitet ist (Fu et al. 2012). In histologischen Studien fand man heraus, dass ein Fortschreiten der Nierenfunktionsstörung eher mit tubulointerstitiellen Veränderungen korreliert als mit Veränderungen des Glomerulums (Gilbert u. Cooper 1999). Somit lässt sich ein Wandel im Verständnis der diabetischen Nephropathie in der Literatur der letzten Jahre feststellen.

Es finden immer mehr tubuläre Marker wie Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG), and Kidney injury molecule 1 (KIM-1) Anwendung und ermöglichen damit eine bessere Diagnostik bezüglich tubulärer Schäden (Fu et al. 2012).

## **Kombinierte Kreatinin- und Harnstoff-Clearance**

Die größte Varianzaufklärung im Vergleich zur Inulin-Clearance und PAH-Clearance lässt sich anhand der kombinierten Kreatinin-Harnstoff-Clearance erzielen.

Einschränkend ist jedoch zu sagen, dass die Bestimmung nur bei sechszehn Patienten erfolgte.

Somit ist die kombinierte Kreatinin- und Harnstoff-Clearance am besten in der Lage das gesamte Ausmaß der Nierenschäden abzubilden und in Bezug auf tubuläre und glomeruläre Funktion die genaueste Aussage zu erzielen, wenn der Kreatininwert  $>2$  mg/dl ist.

Gut untersucht ist die kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance bei Patienten, die eine GFR  $>15$  ml/min aufweisen (Korevaar et al 2001).

In der Arbeit von Grootendorst konnte bei einem Kollektiv von 569 Patienten, die kurz vor Dialysestart standen, nachgewiesen werden, dass eine Bestimmung der GFR mittels Formeln im Gegensatz zur kombinierten Kreatinin-Harnstoff-Clearance ungenaue Ergebnisse aufweist (Grootendorst et al. 2011). Zudem konnte in derselben Arbeit festgestellt werden, dass kein Zusammenhang zur Muskelmasse besteht.

Cystatin C wird bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz nur dann als Alternative zur kombinierten Clearance gesehen, wenn keine Urinsammlung möglich ist (Hoek et al. 2007).

Weiterhin konnte ein Vorteil bezüglich der Mortalität gesehen werden, wenn die kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance als Marker für die Einleitung einer Dialyse verwendet wurde im Gegensatz zu den gebräuchlichen Formeln (Rosansky et al. 2009). In einer Studie mit 320 urämischen Patienten wurde 2002 der Unterschied zwischen kombinierter Kreatinin- Harnstoff-Clearance sowie der MDRD-Formel untersucht. Hier zeigt sich ähnlich unseren Ergebnissen bei Diabetikern, Männern sowie Patienten, die älter als 70 Jahre waren, eine Überschätzung durch die MDRD-Formel (Caravaca et al. 2002).

Zusammenfassend lässt sich folgern, dass eine Untersuchung der kombinierten Harnstoff-Kreatinin-clearance an einer größeren Population wünschenswert wäre, bei denen die Nierenfunktionsstörung über 15 ml/min /1,73m<sup>2</sup> liegt. Eine Ausweitung unserer Untersuchung bezüglich der kombinierten Kreatinin-Harnstoff-Clearance wäre interessant, um zu sehen ob sich das hier abgebildete Ergebnis bestätigt.

### **Insulinresistenz und Nierenfunktion**

In der vorliegenden Stichprobe kann kein Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und eingeschränkter Nierenfunktion nachgewiesen werden. Insgesamt handelt es sich bei der von uns untersuchten Stichprobe um gut eingestellte Diabetiker - der mittlere HbA1c-Wert lag um 7 % - so dass zu unterstellen ist, dass die Diabeteseinstellung in der vorliegenden Gruppe ein untergeordnetes Problem ist.

Ähnliche Beobachtungen konnten in der Arbeit von Matsunaga und Kollegen gemacht werden. Diese unterteilten ihre Patienten in eine Gruppe mit Hypertonie und ohne Hypertonie. In der Hypertonikergruppe bestand kein Zusammenhang zwischen Nierenfunktion und HOMA-IR. Bei Patienten ohne Hypertonie fand sich ein signifikanter Zusammenhang (Matsunaga et al. 2010). Bei unseren Patienten handelte es sich um Hypertoniker, so dass aus diesem Grund kein Zusammenhang zwischen HOMA-IR und Nierenfunktion beobachtet werden konnte.

### **Adipokine und Nierenfunktion**

Die zunächst angenommene Korrelation zwischen Insulinresistenz und Adipokinen konnte nicht nachgewiesen werden. Dies könnte ebenfalls durch den guten HbA1c-Wert in der untersuchten Gruppe erklärt werden.

Es ergibt sich aber eine Korrelation zwischen endogener Kreatinin-Clearance und Leptinkonzentrationen. Ein ähnliches Ergebnis fand Shoji in seiner Stichprobe (Shoji et



al. 1997). Interessant ist sicher, dass erhöhte Leptinlevel bei erhöhter adrenerger Aktivität zu einer Erhöhung des Blutdruckes und der Herzfrequenz führen, was darauf hindeuten kann, dass Leptin eine Rolle beim metabolischen Syndrom mit all seinen Folgen spielen könnte (Carlyle et al. 2002). In niereninsuffizienten Patienten kann im Vergleich zu gesunden Patienten mit dem gleichen BMI ein dreifach erhöhter Leptinspiegel gemessen werden. Zudem kann über die durch Leptin stimulierte Zytokinausschüttung die Progression der Glomerulosklerose und das Fortschreiten einer Niereninsuffizienz erklärt werden (Wolf et al. 1999).

### **Zusammenhang zwischen BMI und Nierenfunktion**

Patienten mit einem BMI von mehr als 40 kg/m<sup>2</sup> wiesen in der vorliegenden Stichprobe eine signifikant niedrigere Inulin-Clearance auf als weniger übergewichtige Patienten.

Dieses Ergebnis spiegelt sich in den Arbeiten von Hsu et al. (Hsu et al. 2006) und Kopple (Kopple 2010) wider. Es konnte aufgezeigt werden, dass Übergewicht ein prädisponierender Faktor für die Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz ist.

In der Arbeit von Kim et al. 2011 wurde insbesondere noch einmal unterschieden zwischen subcutaner und viszeraler Fettansammlung. Es wurde postuliert, dass es sich bei der viszeral betonten Adipositas um einen besonderen Risikofaktor zur Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz handelt.

In einer Population bariatrisch operierter Patienten konnte der Effekt einer Gewichtsabnahme hinsichtlich der Progression einer bestehenden chronischen Niereninsuffizienz nachgewiesen werden (Schuster et al. 2011). Nach einem Beobachtungsintervall von zwei Jahren konnte ein stabiler Verlauf, aber auch eine Verbesserung der vorbestehenden Niereninsuffizienz nach Gewichtsabnahme festgestellt werden. Wichtiger therapeutischer Ansatz bei der untersuchten Patientenpopulation sollte also eine Gewichtsreduktion sein.

Weiterhin konnte in der Arbeit von Williamson eine Reduktion der Mortalität durch Gewichtsverlust bei übergewichtigen Typ 2 Diabetikern aufgezeigt werden (Williamson et al. 2000).

### **Zusammenhang zwischen BNP und Nierenfunktion**

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen eingeschränkter Nierenfunktion und BNP lässt sich nicht nachweisen.

Eine Einschränkung der Aussagekraft des BNP bei übergewichtigen Typ 2 Diabetikern konnte bereits zuvor nachgewiesen werden (Takako et al. 2010). Insgesamt zeigte sich auch in der untersuchten Stichprobe ein im Durchschnitt nur wenig erhöhtes BNP.

In der rein deskriptiven Untersuchung waren die BNP-Level in der Gruppe der Patienten mit einer glomerulären Filtrationsrate von weniger als 30 ml/min /1,73m<sup>2</sup> zwar doppelt so hoch, erwiesen sich jedoch als nicht signifikant. Die Erhöhung des BNP-Spiegels bei eingeschränkter Nierenfunktion erklärt sich durch die hohe Prävalenz von linksventrikulärer Hypertrophie sowie systolischer Dysfunktion (Dhar et al. 2009), die sich typischerweise bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz aufgrund häufig zusätzlich bestehender arterieller Hypertonie sowie der Volumenbelastung ergeben.

### **Albuminurie und Proteinurie in Zusammenhang mit der Nierenfunktion**

Zum Krankheitsbild der diabetischen Nephropathie gehört per definitionem eine Albuminurie. Rein deskriptiv war auffällig, dass nicht alle Patienten in der untersuchten Gruppe eine Albuminurie aufwiesen, so dass zu vermuten ist, dass auch vaskuläre Komponenten, z.B. aufgrund einer schlecht eingestellten arteriellen Hypertonie, eine mitbegründende Ursache sind.

Bei Untersuchung der Gruppe zeigte sich bei einer Inulin-Clearance von weniger als 30 ml/min /1,73m<sup>2</sup> eine signifikant höhere Albuminurie.

Wie in der UKPDS-Studie (Adler et al. 2003) aufgezeigt wurde, korreliert die Makroalbuminurie mit einem Fortschreiten der diabetischen Nephropathie. Weiterhin zeigt sich bei diesen Patienten eine erhöhte Mortalität.

Auch ein Zusammenhang zwischen Albuminurie und koronarer Herzerkrankung konnte nachgewiesen werden (Dikow u. Ritz 2003).

Somit wird deutlich, dass der Behandlung der Albuminurie eine wichtige Bedeutung zukommt, um das Fortschreiten der diabetischen Nephropathie zu verhindern und somit sowohl einem frühzeitigen Tod als auch in Bezug auf das kardiovaskuläre Risikoprofil Vorteile zu erreichen. Wichtig sind hier vor allem eine gute Einstellung des Diabetes mit HbA1c-Werten  $<7\%$ , die Behandlung der arteriellen Hypertonie, Einsatz von Blockern des Renin-Angiotensin-Aldosteronsystems sowie die Behandlung der Hyperlipidämie mit Senkung des LDL-Cholesterins auf  $<100\text{mg/dl}$ . Zudem sollte aufgrund des erhöhten kardiovaskulären Risikos eine Therapie mit einem Thrombozytenaggregationshemmers begonnen werden (Hasslacher et al. 2012).

Als Balanceakt kann man werten, dass in aktuellen Publikationen ein HbA1c-Wert von  $<7\%$  gefordert wird, um das Fortschreiten einer diabetischen Nephropathie zu verhindern - andererseits einen fördernden Effekt auf kardiovaskuläre Zwischenfälle hatte (Dluhy u. McMahon 2008). Dies wurde darauf zurückgeführt, dass bei strenger geführten Diabetikern Hypoglykämien häufiger sind. Es zeigt sich also die Gratwanderung bezüglich einer fundierten antidiabetischen Therapie.

Zentrales Problem war die Albuminurie in der vorliegenden Stichprobe nicht.

## Schlussfolgerungen

Diabetische Nieren sind durchblutungsgestörte Nieren mit einer histologisch nachgewiesenen typischen Glomerulosklerose mit Proteinurie und einer Minderung der renalen kapillären Endstrombahn ohne typische Proteinurie. Die von distal nach proximal auftretenden Gefäßveränderungen führen zu einer Kreatininerhöhung, wenn es bereits in der distal des Glomerulus liegenden Gefäßregion zu einer tubulären Dysfunktion gekommen ist. Diese tubuläre Dysfunktion ist häufig mit einer Hypervolämie und Hypertonie assoziiert. Das Kreatinin, das frei glomerulär filtriert wird und die glomeruläre Funktion wiedergibt, repräsentiert die glomeruläre Funktion und gibt bei niedrigen Kreatininwerten wenig Auskunft über die tubuläre Schädigung. Diese wird am besten mit dem tubulär sezernierten und rückresorbierten Harnstoff in Form der endogenen Harnstoff-Clearance abgebildet. Deshalb sollte zur Beurteilung der Gesamtnierenfunktion ab einem Kreatininwert von  $>2$  mg/dL bei übergewichtigen Typ-2-Diabetikern die kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance ermittelt werden, falls eine verlässliche 24-h-Urinsammlung gewährleistet werden kann. Möglicherweise könnte das renale Risiko von Medikamenten und Kontrastmittel reduziert werden, wenn die GFR, die mit der kombinierte Kreatinin-Harnstoff-Clearance bestimmt wurde, für die Berechnung der Nierendosis herangezogen wird.

## Literaturverzeichnis

Adler, A. I., Stevens, R. J., Manley, S. E., Bilous, R. W., Cull, C. A., & Holman, R. R. **2003**, "Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64)", *Kidney international*, vol. 63, no. 1, pp. 225-232.

Ahima, R. S. & Flier, J. S. **2000**, "Leptin", *Annual Review of Physiology*, vol. 62, no. 1, pp. 413-437.

Alberti, K., Zimmet, P. **1998**, "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation.", *Diabetic Medicine*, vol. 15, no. 7, pp. 539-553.

Bader, R., Bader, H., Grund, K. E., Kensen-Haen, S., Christ, H., & Bohle, A. **1980**, "Structure and function of the kidney in diabetic glomerulosclerosis: Correlations between morphological and functional parameters", *Pathology - Research and Practice*, vol. 167, pp. 204-216.

Bayliss, G., Weinrauch, L. **2012**, "Pathophysiology of obesity-related renal dysfunction contributes to diabetic nephropathy", *Current Diabetes Reports*, vol. 12, no. 4, pp. 440-446.

Beauvieux, M. C., Le Moigne, F., Lasseur, C., Raffaitin, C., Perlemoine, C., Barthe, N., Chauveau, P., Combe, C., Gin, H., Rigalleau, V. **2007**, "New predictive equations improve monitoring of kidney function in patients with diabetes", *Diabetes Care*, vol. 30, no. 8, pp. 1988-1994.

Beddhu, S., Samore, M. H., Roberts, M. S., Stoddard, G. J., Pappas, L. M., Cheung, A. K. **2003**, "Creatinine production, nutrition, and glomerular filtration rate estimation", *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 14, no. 4, pp. 1000-1005.

Berglund, F., Killander, J., Pompeius, R. **1975**, "Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on the renal excretion of creatinine in man", *The Journal of Urology*, vol. 114, no. 6, pp. 802-808.

Björk, J., Jones, I., Nyman, U., Sjöström P. **2012**, "Validation of the Lund-Malmö, Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) and Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equations to estimate glomerular filtration rate in a large Swedish clinical population", *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, vol. 46, no. 3, pp. 212-222.

Bonora, E., Formentini, G., Calcaterra, F., Lombardi, S., Marini, F., Zenari, L., Saggiani, F., Poli, M., Perbellini, S., Raffaelli, A., Cacciatori, V., Santi, L., Targher, G., Bonadonna, R., Muggeo, M. **2002**, "HOMA-Estimated Insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in Type 2 diabetic subjects: Prospective data from the Verona Diabetes Complications Study", *Diabetes Care*, vol. 25, no. 7, pp. 1135-1141.

- Botev, R., Mallié, J. P., Couchoud, C., Schück, O., Fauvel, J. P., Wetzels, J. F. M., Lee, N., De Santo, N. G., Cirillo, M. **2009**, "Estimating glomerular filtration rate: Cockcroft-Gault and Modification of Diet in Renal Disease formulas compared to renal Inulin Clearance", *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 4, no. 5, pp. 899-906.
- Burgess, E., Blair, A., Krichman, K., Cutler, R. E. **1982**, "Inhibition of renal creatinine secretion by cimetidine in humans", *Renal Physiology*, vol. 5, no. 1, pp. 27-30.
- Camargo, E. G., Soares, A. A., Detanico, A. B., Weinert, L. S., Veronese, F. V., Gomes, E. C., Silveiro, S.P. **2011**, "The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation is less accurate in patients with Type 2 diabetes when compared with healthy individuals", *Diabetic Medicine*, vol. 28, no. 1, pp. 90-95.
- Caravaca, F., Arrobas, M., Luna, E., Naranjo, M., Pizarro, J. L., & Sanchez-Casado, E. **2002**, "Differences between the glomerular filtration rate estimated by the MDRD equation and the measurement of creatinine and urea clearance in unselected patients with terminal renal insufficiency", *Nefrología*, vol. 22, no. 5, p. 432.
- Carlyle, M., Jones, O. B., Kuo, J. J., Hall, J. E. **2002**, "Chronic cardiovascular and renal actions of Leptin", *Hypertension*, vol. 39, no. 2, pp. 496-501.
- Chen, H., Guh, J., Chang, J., Hsieh, M., Shin, S., Lai, Y. **2005**, "Role of lipid control in diabetic nephropathy", *Kidney International. Supplement*, vol. 94, pp. 60-62.
- Chen, H. M., Li, S. J., Chen, H. P., Wang, Q. W., Li, L. S., Liu, Z. H. **2008**, "Obesity-related glomerulopathy in China: A case series of 90 Patients", *American Journal of Kidney Diseases :The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 52, no. 1, pp. 58-65.
- Chen, H. M., Liu, Z. H., Zeng, C. H., Li, S. J., Wang, Q. W., Li, L. S. **2006**, "Podocyte lesions in patients with obesity-related glomerulopathy", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 48, no. 5, pp. 772-779.
- Chen, J., Muntner, P., Hamm, L. L., Fonseca, V., Batuman, V., Whelton, P. K., He, J. **2003**, "Insulin resistance and risk of chronic kidney disease in nondiabetic US adults", *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 14, no. 2, pp. 469-477.
- Cirillo, M., Anastasio, P., De Santo, N. G. **2005**, "Relationship of gender, age, and body mass index to errors in predicted kidney function", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 20, no. 9, pp. 1791-1798.
- Cockcroft, D. W., Gault, M. H. **1976**, "Prediction of creatinine clearance from serum creatinine", *Nephron*, vol. 16, no. 1, pp. 31-41.
- Coll, E., Botey, A., Alvarez, L., Poch, E., Quinto, L., Saurina, A., Vera, M., Piera, C., Darnell, A. **2000**, "Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment", *American Journal of Kidney Diseases :The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 36, no. 1, pp. 29-34.

De Cosmo, S., Trevisan, R., Minenna, A., Vedovato, M., Viti, R., Santini, S. A., Dodesini, A. R., Fioretto, P., Trischitta, V. **2006**, "Insulin resistance and the cluster of abnormalities related to the metabolic syndrome are associated with reduced glomerular filtration rate in patients with Type 2 diabetes", *Diabetes Care*, vol. 29, no. 2, pp. 432-434.

Delles, C., Jardine, A. **2011**, "Renal function and cardiovascular events: relevance of eGFR and albuminuria in patients with diabetes", *Diabetologia*, vol. 54, no. 1, pp. 4-6.

Dhar, S., Pressman, G. S., Subramanian, S., Kaul, S., Gollamudi, S., Bloom, E. J., Figueredo, V. M. **2009**, "Natriuretic peptides and heart failure in the patient with chronic kidney disease: a review of current evidence", *Postgraduate Medical Journal*, vol. 85, no. 1004, pp. 299-302.

Diez, J. J., Iglesias, P. **2003**, "The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease", *European Journal of Endocrinology*, vol. 148, no. 3, pp. 293-300.

Dikow, R., Ritz, E. **2003**, "Cardiovascular complications in the diabetic patient with renal disease: an update in 2003", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 18, no. 10, pp. 1993-1998.

Dluhy, R. G., McMahon, G. T. **2008**, "Intensive glycemic control in the ACCORD and ADVANCE Trials", *New England Journal of Medicine*, vol. 358, no. 24, pp. 2630-2633.

Dwyer, J. P., Parving, H. H., Hunsicker, L. G., Ravid, M., Remuzzi, G., Lewis, J.B. **2012**, "Renal dysfunction in the presence of mormoalbuminuria in Type 2 diabetes: Results from the DEMAND Study", *Cardiorenal Medicine*, vol. 2, no. 1, pp. 1-10.

Earle, D. P., Berliner, R. W. **1946**, "A simplified clinical procedure for measurement of glomerular filtration rate and renal plasma flow", *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, vol. 62, no. 2, pp. 262-264.

Eppler, F., Harth, O., Kreienberg, W., Mertz, D.P. **1955**, "Stabilization of the flow equilibrium of inulin in the extracellular space", *CORD Conference Proceedings*, vol. 126, no. 5, pp. 450-459.

Estelberger, W., Petek, W., Zitta, S., Mauric, A., Horn, S., Holzer, H., Poggitsch, H. **1995**, "Determination of the glomerular filtration rate by identification of sinistrin kinetics", *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, vol. 33, no. 201, p. 209.

Fick, A. **1870**, "Über die Messung des Blutquantums in den Herzventrikeln", *Verh Phys Med Ges Würzburg*, vol. 2, p. 16.

Florijn, K. W., Barendregt, J. N., Lentjes, E. G., van Dam W., Prodjosudjadi, W., van Saase, J. L., van Es, L. A., Chang, P. C. **1994**, "Glomerular filtration rate measurement by "single-shot" injection of inulin", *Kidney International*, vol. 46, no. 1, pp. 252-259.

Froissart, M., Rossert, J., Jacquot, C., Paillard, M., Houillier, P. **2005**, "Predictive performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault

Equations for Estimating Renal Function", *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 16, no. 3, pp. 763-773.

Fu, W. j., Xiong, S. l., Fang, Y. g., Wen, S., Chen, M. l., Deng, R. t., Zheng, L., Wang, S. b., Pen, L. f., Wang, Q. **2012**, "Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study", *Endocrine*, vol. 41, no. 1, pp. 82-88.

Gilbert, R. E. & Cooper, M. E. **1999**, "The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease: More than an aftermath of glomerular injury?", *Kidney International*, vol. 56, no. 5, pp. 1627-1637.

Grootendorst, D. C., Michels, W. M., Richardson, J. D., Jager, K. J., Boeschoten, E. W., Dekker, F. W., Krediet, R. T. for the NECOSAD Study Group **2011**, "The MDRD formula does not reflect GFR in ESRD patients", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 26, no. 6, pp. 1932-1937.

Grunfeld, B., Gimenez, M., Balzaretto, M., Rabinovich, L., Romo, M., Simsolo, R. **1995**, "Insulin effect on renal sodium reabsorption in adolescent offspring of essential hypertensive parents", *Hypertension*, vol. 26, no. 6, pp. 1089-1092.

Hasslacher, C., Wolf, G., Kempe, P., Ritz, E. **2010**, "Diabetische Nephropathie", *Diabetologie*, vol. 5, pp. 113-116.

Hasslacher, C., Wolf, G., Kempe, P., Ritz, E. **2012**, "Diabetische Nephropathie", *Diabetologie und Stoffwechsel*, vol. 7, no. S 02, p. S99-S102.

Hayman, J. M., Halsted, J. A., Seyler, L. E. **1933**, "A comparison of the creatinine and urea clearance tests of kidney function", *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 12, no. 5, pp. 861-875.

Heintz, R., Görlitz, F., Schneider, E. **1956**, "Untersuchungen über die renale Harnstoff- und Inulinausscheidung bei akutem Harnstoffanstieg im Serum", *Journal of Molecular Medicine*, vol. 34, no. 45, pp. 1227-1231.

Helchen, U., Kneissler, U., Velden, J., Stahl, R. **2006**, "Nierenbiopsiefunde bei Diabetes mellitus", *Diabetologe*, vol. 2, pp. 419-431.

Hirschberg, R., Rottka, H., von Herrath, D., Pauls, A., Schaefer, K. **1985**, "Effect of an acute protein load on the creatinine clearance in healthy vegetarians", *Journal of Molecular Medicine*, vol. 63, no. 5, pp. 217-220.

Hoek, F. J., Korevaar, J. C., Dekker, F. W., Boeschoten, E. W., Krediet, R. T. **2007**, "Estimation of residual glomerular filtration rate in dialysis patients from the plasma cystatin C level", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 22, no. 6, pp. 1633-1638.

Hoffmann, F., Haastert, B., Koch, M., Giani, G., Glaeske, G., Icks, A. **2011**, "The effect of diabetes on incidence and mortality in end-stage renal disease in Germany", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 26, no. 5, pp. 1634-1640.

Horita, S., Seki, G., Yamada, H., Suzuki, M., Koike, K., Fujita, T. **2011**, "Insulin resistance, obesity, hypertension, and renal sodium transport", *International journal of hypertension*, vol. 2011, p. 391762.



Hsu, C. y., McCulloch, C. E., Iribarren, C., Darbinian, J., Go, A. S. **2006**, "Body mass index and risk for end-stage renal disease", *Annals of Internal Medicine*, vol. 144, no. 1, pp. 21-28.

Iliadis, F., Didangelos, T., Ntemka, A., Makedou, A., Moravidis, E., Gotzamani-Psarakou, A., Kouloukourgiotou, T., Grekas, D. **2011**, "Glomerular filtration rate estimation in patients with type 2 diabetes: Creatinine- or cystatin C-based equations?", *Diabetologia*, vol. 54, no. 12, pp. 2987-2994.

Jacobien, C., Fessler, P., Ribstein, J., du Cailar, G., Mimran, A. **2005**, "Estimation of renal function in subjects with Normal serum creatinine levels: Influence of age and body mass index", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 46, no. 2, pp. 233-241.

Jia, T., Carrero, J., Lindholm, B., Stenvinkel, P. **2012**, "The complex role of adiponectin in chronic kidney disease", *Biochimie*, vol. 94, no. 10, pp. 2150-2156.

Johnson, R. J., Alpers, C. E., Yoshimura, A., Lombardi, D., Pritzl, P., Floege, J., Schwartz, S. M. **1992**, "Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension", *Hypertension*, vol. 19, no. 5, pp. 464-474.

Kilbride, H. S., Stevens, P. E., Eaglestone, G., Knight, S., Carter, J. L., Delaney, M. P., Farmer, C. K., Irving, J., O'Riordan, S. E., Dalton, R. N. **2013**, "Accuracy of the MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) Study and CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) equations for estimation of GFR in the elderly", *American Journal of Kidney Diseases*, vol 61, no. 1, pp. 57-66.

Kim, S. R., Yoo, J. H., Song, H. C., Lee, S. S., Yoo, S. J., Kim, Y. D., Lim, Y. S., Kim, H. W., Yang, C. W., Kim, Y. S., Choi, E. J., Kim, Y. K. **2011**, "Relationship of visceral and subcutaneous adiposity with renal function in people with type 2 diabetes mellitus", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 11, no. 26, pp. 3550-3555.

Kimmelstiel, P., Wilson, C. **1936**, "Benign and malignant hypertension and nephrosclerosis. A clinical and pathological study", *The American Journal of Pathology*, vol. 12, pp. 45-48.

Knight, E. L., Verhave, J. C., Spiegelman, D., Hillege, H. L., de Zeeuw, D., Curhan, G. C., de Jong, P. E. **2004**, "Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement", *Kidney International*, vol. 65, no. 4, pp. 1416-1421.

Kopple, J. D. **2010**, "Obesity and chronic kidney disease", *Journal of Renal Nutrition : The Official Journal of the Council on Renal Nutrition of the National Kidney Foundation*, vol. 20, no. 5, p. S29-S30.

Korevaar, J. C., Jansen, M. A., Dekker, F. W., Jager, K. J., Boeschoten, E. W., Krediet, R. T., Bossuyt, P. M. **2001**, "When to initiate dialysis: effect of proposed US guidelines on survival", *The Lancet*, vol. 358, no. 9287, pp. 1046-1050.

Landau, M., Kurella-Tamura, M., Shlipak, M. G., Kanaya, A., Strotmeyer, E., Koster, A., Satterfield, S., Simsonick, E. M., Goodpaster, B., Newman, A. B., Fried, L. F. **2011**,

"Correlates of insulin resistance in older individuals with and without kidney disease", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 26, no. 9, pp. 2814-2819.

Lawlor, D. A., Davey Smith, G., Ebrahim, S., Thompson, C., Sattar, N. **2005**, "Plasma adiponectin levels are associated with insulin resistance, but do not predict future risk of coronary heart disease in women", *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, vol. 90, no. 10, pp. 5677-5683.

Lean, M. E. J., Powrie, J. K., Anderson, A. S., Garthwaite, P. H. **1990**, "Obesity, weight loss and prognosis in Type 2 diabetes", *Diabetic Medicine*, vol. 7, no. 3, pp. 228-233.

Lemann, J., Bidani, A. K., Bain, R. P., Lewis, E. J., Rohde, R. D. **1990**, "Use of the serum creatinine to estimate glomerular filtration rate in health and early diabetic nephropathy. Collaborative Study Group of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition in Diabetic Nephropathy", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 16, no. 3, pp. 236-243.

Levey, A. S., Stevens, L. A., Schmid, C. H., Zhang, Y. L., Castro, A. F., Feldman, H. I., Kusek, J. W., Eggers, P., Van Lente, F., Greene, T., Coresh, J. **2009**, "A new equation to estimate glomerular filtration rate", *Annals of Internal Medicine*, vol. 150, no. 9, pp. 604-612.

Levey, A. S., Bosch, J. P., Lewis, J. B., Greene, T., Rogers, N., Roth, D. **1999**, "A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation", *Annals of Internal Medicine*, vol. 130, no. 6, pp. 461-470.

Lewis, J., Agodoa, L., Cheek, D., Greene, T., Middleton, J., O'Connor, D., Ojo, A., Phillips, R., Sika, M., Wright, J. **2001**, "Comparison of cross-sectional renal function measurements in African Americans with hypertensive nephrosclerosis and of primary formulas to estimate glomerular filtration rate", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 38, no. 4, pp. 744-753.

Lhotta, K., Kronenberg, F., Mayer, G. **2005**, "Errechnete Nierenfunktion: Nutzen und Problematik der MDRD-Formel", *Deutsche Medizinische Wochenschrift* no. 36, pp. 2021-2024.

Libby, P., Okamoto, Y., Rocha, V. Z., Folco, E. **2010**, "Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice", *Circulation Journal : Official Journal of the Japanese Circulation Society*, vol. 74, no. 2, pp. 213-220.

Lok, C. E., Oliver, M. J., Rothwell, D. M., Hux, J. E. **2004**, "The growing volume of diabetes-related dialysis: a population based study", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 19, no. 12, pp. 3098-3103.

Maahs, D. M., Prentice, N., McFann, K., Snell-Bergeon, J. K., Jalal, D., Bishop, F. K., Aragon, B., Wadwa, R. P. **2011**, "Age and sex Influence cystatin C in adolescents with and without Type 1 diabetes", *Diabetes Care*, vol. 34, no. 11, pp. 2360-2362.

Macdonald, J., Marcora, S., Jibani, M., Roberts, G., Kumwenda, M., Glover, R., Barron, J., Lemmey, A. **2006**, "GFR estimation using cystatin C Is not independent of body composition", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 48, no. 5, pp. 712-719.

Malvin, R. L., Wilde, W. S., Sullivan, L. P. **1958**, "Localization of Nephron Transport by stop flow analysis", *American Journal of Physiology -- Legacy Content*, vol. 194, no. 1, pp. 135-142.

Masuo, K., Rakugi, H., Ogihara, T., Esler, M. D., Lambert, G. W. **2011**, "Effects of weight loss on renal function in overweight Japanese men", *Hypertension Research*, vol. 34, no. 8, pp. 915-921.

Matsunaga, H., Kotani, K., Taniguchi, N. **2010**, "Correlation between the indexes of insulin resistance and renal function in the presence of hypertension", *Kidney and Blood Pressure Research*, vol. 33, no. 3, pp. 209-212.

Matsushita, K., van der Velde, M., Astor, B. C., Woodward, M., Levey, A. S., de Jong, P. E., Coresh, J., Gansevoort, R. T. **2010**, "Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis", *Lancet*, vol. 375, no. 9731, p. 2073.

Mertz, D. P. Eppler, F. **1959**, "Characteristics of distribution processes in extracellular fluid phases; demonstration with inulin", *Klinische Wochenschrift*, vol. 37, no. 11, pp. 588-595.

Mitch, W. E., Collier, V. U., Walser, M. **1980**, "Creatinine metabolism in chronic renal failure", *Clinical Science (London, England : 1979)*, vol. 58, no. 4, pp. 327-335.

Mogensen, C. **1971**, "Urinary albumin excretion in diabetes", *Lancet*, vol. 7724, no. 2, pp. 601-602.

Nair, S., Hardy, K. J., Wilding, J. P. H. **2011**, "The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formula performs worse than the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation in estimating glomerular filtration rate in Type-2 diabetic chronic kidney disease", *Diabetic Medicine*, vol. 28, no. 10, p. 1279.

Nangaku, M. **2006**, "Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: A final common pathway to end-stage renal Failure", *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 17, no. 1, pp. 17-25.

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. **1999**, "Novel modulator for endothelial adhesion molecules", *Circulation*, vol. 100, no. 25, pp. 2473-2476.

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Okamoto, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. **2000**, "Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NFκB signaling through a cAMP-dependent pathway", *Circulation*, vol. 102, no. 11, pp. 1296-1301.

Packham, D. K., Ivory, S. E., Reutens, A. T., Wolfe, R., Rohde, R., Lambers Heerspink, H., Dwyer, J. P., Atkins, R. C., Lewis, J. **2011**, "Proteinuria in Type 2 diabetic patients with renal impairment: The changing face of diabetic nephropathy", *Nephron Clinical Practice*, vol. 118, no. 4, p. c331-c338.

Perrone, R. D. **1992**, "Means of clinical evaluation of renal disease progression", *Kidney International, Supplement*, vol. 36, p. S26-S32.

Petrica, L., Petrica, M., Vlad, A., Jianu, D. C., Gluhovschi, G., Ianculescu, C., Firescu, C., Dumitrascu, V., Giju, S., Gluhovschi, C., Bob, F., Gadalean, F., Ursoniu, S., Velciov, S., Bozdog, G., Milas, O. **2011**, "Proximal tubule dysfunction is dissociated from endothelial dysfunction in normoalbuminuric patients with Type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study", *Nephron Clinical Practice*, vol. 118, no. 2, p. c155-c164.

Preiss, D. J., Godber, I. M., Lamb, E. J., Dalton, R. N., Gunn, I. R. **2007**, "The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate", *Annals of Clinical Biochemistry*, vol. 44, no. 1, pp. 35-42.

Rajala, M. W., Scherer, P. E. **2003**, "Minireview: The adipocyte--At the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis", *Endocrinology*, vol. 144, no. 9, pp. 3765-3773.

Rigalleau, V., Beauvieux, M. C., Gonzalez, C., Raffaitin, C., Lasseur, C., Combe, C., Chauveau, P., De la Faille, R., Rigothier, C., Barthe, N., Gin, H. **2011**, "Estimation of renal function in patients with diabetes", *Diabetes & Metabolism*, vol. 37, no. 5, pp. 359-366.

Rigalleau, V., Lasseur, C., Perlemoine, C., Barthe, N., Raffaitin, C., Liu, C., Chauveau, P., Baillet-Blanco, L., Beauvieux, M. C., Combe, C., Gin, H. **2005**, "Estimation of glomerular filtration rate in diabetic subjects: Cockcroft formula or Modification of Diet in Renal Disease study equation?", *Diabetes Care*, vol. 28, no. 4, pp. 838-843.

Rosansky, S. J., Clark, W. F., Eggers, P., Glasscock, R. J. **2009**, "Initiation of dialysis at higher GFRs: is the apparent rising tide of early dialysis harmful or helpful?", *Kidney International*, vol. 76, no. 3, pp. 257-261.

Rossing, P., Rossing, K., Gaede, P., Pedersen, O., Parving, H. H. **2006**, "Monitoring kidney function in Type 2 diabetic patients with incipient and overt diabetic nephropathy", *Diabetes Care*, vol. 29, no. 5, pp. 1024-1030.

Rule, A. D., Bergstralh, E. J., Slezak, J. M., Bergert, J., Larson, T. S. **2006**, "Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations", *Kidney International*, vol. 69, no. 2, pp. 399-405.

Schuster, D. P., Teodorescu, M., Mikami, D., Foreman, K., Rogers, P., Needleman, B. J. **2011**, "Effect of bariatric surgery on normal and abnormal renal function", *Surgery for Obesity and Related Diseases*, vol. 7, no. 4, pp. 459-464.

Shannon, J. A. **1935**, "The renal excretion of creatinine in man", *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 14, no. 4, pp. 403-410.

Shannon, J. A., Smith, H. W. **1935**, "The excretion of inulin, xylose and urea by normal and man", *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 14, no. 4, pp. 393-401.

Shemesh, O., Golbetz, H., Kriss, J. P., Myers, B. D. **1985**, "Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients", *Kidney International*, vol. 28, no. 5, pp. 830-838.

Shlipak, M., Praught, M., Sarnak, M. **2006**, "Update on cystatin C, new insights into the importance of mild kidney dysfunction", *Current Opinion in nephrology and hypertension*, vol. 15, pp. 270-275.

Shoji, T., Nishizawa, Y., Emoto, M., Maekawa, K., Hiura, Y., Tanaka, S., Kawagishi, T., Okuno, Y., Morii, H. **1997**, "Renal function and insulin resistance as determinants of plasma leptin levels in patients with NIDDM", *Diabetologia*, vol. 40, no. 6, pp. 676-679.

Shuzo, K., Kyoko, M., Hidekazu, M., Takayasu, O., Toshio, I. **2005**, "Insulin resistance in patients with chronic kidney disease", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 45, no. 2, pp. 275-280.

Singh, D. K., Winocour, P., Farrington, K. **2008**, "Mechanisms of disease: The hypoxic tubular hypothesis of diabetic nephropathy", *Nature Clinical Practice Nephrology*, vol. 4, no. 4, pp. 216-226.

Sinkeler, S. J., Visser, F. W., Krikken, J. A., Stegeman, C. A., Homan van der Heide, J., Navis, G. **2011**, "Higher body mass index is associated with higher fractional creatinine excretion in healthy subjects", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 26, no. 10, pp. 3181-3188.

Sjöström, P., Tidman, M., Jones, I. **2005**, "Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the GFR from the serum concentration of cystatin C in humans", *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation*, vol. 65, pp. 111-124.

Skøtt, P., Hother-Nielsen, O., Bruun, N., Giese, J., Nielsen, M., Beck-Nielsen, H., Parving, H. **1989**, "Effects of insulin on kidney function and sodium excretion in healthy subjects", *Diabetologia*, vol. 32, no. 9, pp. 694-699.

Smith, H. W., Goldring, W., Chasis, H. **1938**, "The measurement of the tubular excretory mass, effective blood flow and filtration rate in the normal human kidney", *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 17, no. 3, pp. 263-278.

Stevens, L. A., Schmid, C. H., Zhang, Y. L., Coresh, J., Manzi, J., Landis, R., Bakoush, O., Contreras, G., Genuth, S., Klintmalm, G. B., Poggio, E., Rossing, P., Rule, A. D., Weir, M. R., Kusek, J., Greene, T., Levey, A. S. **2010**, "Development and validation of GFR-estimating equations using diabetes, transplant and weight", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 25, no. 2, pp. 449-457.

Takako, S., Ichiro, K., Yoshihiro, K., Ayako, N., Hisashi, M., Yoshihiro, M., Yasunao, Y. **2010**, "Visceral fat is negatively associated with B-type natriuretic peptide levels in patients with advanced type 2 diabetes", *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 89, no. 2, pp. 174-180.

Tsubakio-Yamamoto, K., Matsuura, F., Koseki, M., Oku, H., Sandoval, J. C., Inagaki, M., Nakatani, K., Nakaoka, H., Kawase, R., Yuasa-Kawase, M., Masuda, D., Ohama,

T., Maeda, N., Nakagawa-Toyama, Y., Ishigami, M., Nishida, M., Kihara, S., Shimomura, I., Yamashita, S. **2008**, "Adiponectin prevents atherosclerosis by increasing cholesterol efflux from macrophages", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 375, no. 3, pp. 390-394.

Van Slyke, D. D., Rhoads, C. P., Hiller, A., Alving, A. S. **1934**, "Relationships between urea excretion, renal blood flow, renal oxygen consumption, and diuresis. The mechanism of urea excretion", *American Journal of Physiology- Legacy Content*, vol. 109, no. 2, pp. 336-374.

Vassault, A., Cherruau, B., Labbe, D., Alabrune, B., Baltassat, P., Bonete, R., Carroger, G., Costantini, S., Georges, P., Giroud, C. **1992**, "Serum creatinine assay: results of a multicentric study with 16 analytical systems", *Annales de Biologie Clinique*, vol. 50, no. 2, pp. 81-95.

Verhave, J. C., Fesler, P., Ribstein, J., du Cailar, G., Mimran, A. **2005**, "Estimation of Renal Function in Subjects With Normal Serum Creatinine Levels: Influence of Age and Body Mass Index", *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, vol. 46, no. 2, pp. 233-241.

Vervoort, G., Willems, H. L., Wetzels, J. F. M. **2002**, "Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity of a new (MDRD) prediction equation", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 17, no. 11, pp. 1909-1913.

Vorburger, C., Teuscher, A. **1963**, "Clearance-Technik in ihrer modernen Entwicklung", *Zeitschrift für Klinische Chemie*, vol. 3, pp. 65-96.

Williamson, D. F., Thompson, T. J., Thun, M., Flanders, D., Pamuk, E., Byers, T. **2000**, "Intentional weight loss and mortality among overweight individuals with diabetes", *Diabetes Care*, vol. 23, no. 10, pp. 1499-1504.

Wolf, G., Hamann, A., Han, D. C., Helmchen, U., Thaïss, F., Ziyadeh, F. N., Stahl, R. A. K. **1999**, "Leptin stimulates proliferation and TGF- $\beta$  expression in renal glomerular endothelial cells: Potential role in glomerulosclerosis", *Kidney International*, vol. 56, no. 3, pp. 860-872.

Yokoyama, H., Kanno, S., Takahashi, S., Yamada, D., Honjo, J., Saito, K., Sone, H., Haneda, M. **2011**, "Risks for glomerular filtration rate decline in association with progression of albuminuria in type 2 diabetes", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 26, no. 9, pp. 2924-2930.

Zitta, S., Estelberger, W., Holzer, H., Lipp, R. W., Oettl, K., Reibnegger, G. **2002**, "Pitfalls of single-sample determination of renal clearance", *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 17, no. 12, pp. 2239-2243.

## Anhang

### EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

#### TEILNAHME AN DER STUDIE „NIERENFUNKTION“ BEI TYP 2 DIABETIKERN

Hiermit erkläre ich mich einverstanden, an der o.g. Untersuchung zur Bestimmung meiner Nierenfunktion teilzunehmen.

Ich bin von Dr. Koch darüber aufgeklärt worden, dass ich hierfür ca. 5 Stunden im nephrologischen Zentrum anwesend sein werde.

Es wird mir eine Kanüle in eine Vene am Arm gelegt. Darüber wird Inulin und PAH gespritzt. Auch bin ich darüber aufgeklärt worden, dass es in ganz seltenen Fällen zu allergischen Reaktionen auf das PAH kommen kann. Nach der intravenösen Gabe von Inulin und PAH wird halbstündlich 3 Stunden lang Blut abgenommen.

Ich erkläre mich mit dem Vorgehen einverstanden und möchte an der Studie teilnehmen.

\_\_\_\_\_  
(Ort, Datum)

\_\_\_\_\_  
( Unterschrift Dr. Koch)

\_\_\_\_\_  
(Unterschrift Patient)

## **Danksagungen**

An erster Stelle bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Koch für die Überlassung des Themas und die professionelle Unterstützung im Rahmen dieser Arbeit in den letzten Jahren. Vor allem möchte ich mich aber für den ungebrochenen Glauben in mich und meine Arbeit bedanken.

Ohne die Unterstützung des Teams des nephrologischen Zentrums Mettmanns, insbesondere durch Manuela Martin, Nicole Kost und Iva Poludniak wäre die reibungslose Durchführung der Untersuchungstage nicht möglich gewesen. Vielen Dank für den grenzenlosen Einsatz, auch in der Nachbereitung.

Meine größte Stütze im Nephrologischen Labor der Uniklinik Düsseldorf war Astrid Großsteinbeck, die mir mit viel Geduld und Fachlichkeit die Arbeit im Labor nahegebracht hat. Ohne ihre Unterstützung und ihren Einsatz wäre die Inulin- und PAH-Analytik nur halb so anschaulich gewesen. Der Dank gilt natürlich ebenso Prof. Dr. med. Fußhöller und dem Rest seines Laborteams.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. med. Zitta für ihre Unterstützung im Rahmen der computerbasierten Auswertung der Inulin- und PAH-Konzentrationen bedanken.

Dank auch an meine Freundin Dipl. Psych. Lioba Wimmer für ihre Ratschläge egal zu welcher Tages- und Nachtzeit in Bezug auf die Statistik, Korrekturen, wissenschaftliches Arbeiten und Unterstützung, wenn ich mal wieder den Glauben in mich und die Sache verloren habe.



### Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

04.03.2014 Alexandra Beien