

Aus dem Max-Delbrück-Centrum Berlin Buch

DISSERTATION

Diagnostische und prognostische Stratifikation für Nierenschäden in der Notaufnahme durch
die Nutzung von Urin Biomarkern

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

vorgelegt der medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Antje Elger aus Dresden, Deutschland

Datum der Promotion: 27.02.2015

Abstract

Akutes Nierenversagen (AKI) ist nach wie vor ein häufiger und ernst zu nehmender klinischer Befund. Besonders oft führt eine Form des Nierenversagens, das Intrinsische Nierenversagen (iAKI) zu ungünstigen klinischen Verläufen. Diese Form des Nierenversagens ist mit strukturellen Nierenschädigungen assoziiert, was im Unterschied zu anderen Formen des Nierenversagens andere therapeutische Konsequenzen hat. Deshalb ist eine möglichst frühe Unterscheidung der einzelnen Formen des Nierenversagens notwendig. Die herkömmliche Diagnostik beruht größtenteils auf Messungen von Kreatininwerten, wobei eine Unterscheidung der verschiedenen Formen des Nierenversagens kaum möglich ist. In den letzten Jahren wurden deshalb verschiedene Urin-Biomarker auf die Detektion von Intrinsischem Nierenversagen hin untersucht. In der vorliegenden Arbeit wird der diagnostische und prognostische Wert von fünf verschiedenen Urin-Biomarkern untersucht und mit der konservativen Diagnostik mit Serum-Kreatinin verglichen. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Urin-Biomarker sind: Urin-Neutrophilen-Gelatinase-assoziiertes Lipocalin [uNGAL], Urin-*Kidney Injury Molecule 1* [uKIM-1], Urin-Leber-Typ-Fettsäure-bindendes Protein [uLFABP], Urin-Interleukin 18 [uIL 18] und Urin-Cystatin C [uCysC].

Es wurde eine prospektive Kohortenstudie mit 543 unselektierten Notaufnahmepatienten durchgeführt. Diese Kohorte war Teilkohorte einer multizentrischen Studie [1] von 1635 Notaufnahmepatienten. Ziel war es, Angaben über den Wert jedes einzelnen Biomarkers im Vergleich zum Serum-Kreatinin bei der Diagnosestellung von Intrinsischem Nierenversagen, bei der Vorhersage von Schwere und Dauer von iAKI und bei der Vorhersage klinischer Ergebnisse wie Tod oder Dialysebeginn zu erhalten.

Es wurde im Ergebnis deutlich, dass jeder der fünf Biomarker mit unterschiedlicher Signifikanz bei iAKI erhöht war. Der beste Marker war uNGAL (WB) mit einer Spezifität von 83% und Sensitivität von 68% bei einem Cutoff von 90 µg/ml. Auch für die Schwere und die Dauer von iAKI erwies sich uNGAL als der beste Prädiktor. Bekanntlich ist iAKI sehr häufig mit ungünstigen klinischen Endpunkten assoziiert. Auch in der vorliegenden Studie wurde das belegt. Die häufigsten Fälle von Tod oder Dialysebeginn wurden bei Patienten mit iAKI im Vergleich zu Patienten mit anderen Formen des Nierenversagens verzeichnet. Die Urin-Biomarker uNGAL in Kombination mit uLFABP waren dabei die besten Prädiktoren für ein negatives klinisches Ergebnis. Jeweils in Kombination mit sCr-Werten konnte sowohl uNGAL als auch uLFABP die Risikoeinschätzung verbessern. Eine Gruppe in der Kohorte wurde gefunden, die zwar niedrige sCr-Werte, aber hohe Biomarkerwerte von uNGAL und uLFABP zeigten. Diese Patienten wären bei der alleinigen Messung von Serum-Kreatinin mit der

konventionellen Diagnostik nicht der richtigen Risikoklasse zugeordnet und als Risikopatienten übersehen worden.

Im Ergebnis kann gesagt werden, dass die Biomarker die diagnostische und auch prognostische Einteilung der Patienten in der Notaufnahme verbessern können.

Acute kidney injury (AKI) is a ubiquitous event in clinical practice, frequently with severe consequences. Intrinsic acute kidney injury (IAKI) is a variant of it. It is associated with structural kidney damage (nephron injury) and leads frequently to an unfavorable clinical outcome. The usual diagnostics with creatinine exhibits deficits in the ability to distinguish different forms of kidney injury. That motivated studies with a variety of urine biomarkers with respect to detection of iAKI.

In this prospective cohort study, we determine the diagnostic and prognostic value of several urinary biomarkers for iAKI in the emergency department and compare it with currently used diagnostics. Five biomarkers (urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin [uNGAL], kidney injury molecule-1 [uKim-1], urinary liver-type fatty acid binding protein [uLFABP], urinary interleukin-18 [u-IL-18], and cystatin C [u-cysC]) were measured in 543 unselected emergency department patients at the time of hospital admission.

We assessed the performance of the biomarkers for detection of severity and duration of iAKI and the predictive power for poor clinical outcome. UNGAL performed best in diagnosing iAKI out of the 5 (specificity 83%, sensitivity 68% with a cutoff at 90 µg/l). It also proved to be the best predictor of the severity and duration of iAKI.

iAKI was more frequently associated with the negative combined clinical outcome death or in-hospital dialysis compared to other clinical diagnoses. The best predictive value for negative clinical outcome had uNGAL combined with uLFABP. Risk assessment of both uNGAL and uLFABP individually was improved if each was combined with sCr-values.

We also identified a subgroup in the cohort with low creatinine values but elevated uNGAL and uLFABP. The biomarker values allowed for correct patient classification.

This group would have gone unnoticed as patients at risk with currently used diagnostics.

In summary, prognostic and diagnostic stratification in the emergency department is possible by the use of biomarkers.

Inhalt

Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
1. Einleitung	1
1.1. Definition des Akuten Nierenversagens (AKI)	1
1.1.1. RIFLE und AKIN.....	1
RIFLE und AKIN sind Kriterien zur Quantifizierung und Stadieneinteilung des Akuten Nierenversagens. Die Ursachen der Erkrankung (siehe Kapitel 1.3.) werden damit nicht erfasst. Außerdem gibt es weitere Einschränkungen der Diagnostik mit RIFLE und AKIN.	2
1.1.2. Die Grenzen der Diagnostik mit RIFLE und AKIN	2
1.2. Epidemiologie des Akuten Nierenversagens (AKI).....	3
1.3. Ursachen und Formen des Akuten Nierenversagens	5
1.4. Methoden zur Unterscheidung der Ursachen einer Nierenschädigung.....	6
1.5. Biomarker im Urin	7
1.5.1. NGAL	8
1.5.2. Cystatin C.....	8
1.5.3. KIM 1.....	9
1.5.4. IL-18.....	9
1.5.5. LFABP	10
2. Methoden	11
2.1. Studiendesign und Durchführung der Studie	11
2.2. Einteilung der Patienten in diagnostische Gruppen.....	12
2.3. Labormessungen	14
2.4. Statistik	15
2.4.1. IDI und NRI.....	16
3. Ergebnisse	18
3.1. Patientencharakteristiken.....	18

3.1.1. Die Patientencharakteristiken im Vergleich mit den Patientencharakteristiken der multizentrischen Studie	19
3.2. Diagnose von iAKI	21
3.3. Test-Charakteristika von Biomarkern bei der Diagnose von iAKI	23
3.4. Detektion der Schwere und Dauer von AKI	25
3.5. Vorhersage klinischer Ergebnisse	27
4. Diskussion	32
4.1. Vergleich mit der multizentrischen Studie	33
4.2. Ergebnisse im Vergleich mit anderen Studien	34
4.3. Limitationen der vorliegenden Studie	35
Literaturverzeichnis	37
Lebenslauf	41
Publikationen	42
Danksagung	43
Eidesstattliche Versicherung	44

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: RIFLE- und AKIN–Kriterien [4]	2
Abbildung 2: Flussdiagramm Patientenklassifikation	18
Abbildung 3: Boxplots von Patienten mit iAKI im Vergleich zu Patienten ohne iAKI.....	22
Abbildung 4: ROC-Kurven für Urin-Biomarker zur Detektion von iAKI (versus prärenal AKI, stabiler CKD und normaler Nierenfunktion).	24
Abbildung 5: ROC-Kurven für Urin-Biomarker zur Detektion der RIFLE-Klassen von iAKI....	27
Abbildung 6: Ereignisraten nach sCr- und Biomarker-Niveaus unterteilt für uNGAL ELISA und uLFABP	31

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika der Patienten nach Diagnose und klinischem Endpunkt	20
Tabelle 2: Testcharakteristika von Urin-Biomarkern bei der Diagnose von iAKI einschließlich einer AUC-ROC Analyse, Vorhersagewerten und Wahrscheinlichkeitsverhältnissen	24
Tabelle 3: Multivariate logistische Regression der Urin-Biomarker bei der Vorhersage des kombinierten Endpunktes (Dialyse oder Tod)	28
Tabelle 4: Net Reclassification Improvement anhand des Biomarker-unterstützten Vorhersagemodells	29

Abkürzungsverzeichnis

AKI	<i>Acute kidney injury</i> (akute Nierenschädigung)
AKIN	<i>Acute Kidney Injury Network</i>
AUC-ROC	Area under the curve (receiver operating characteristic)
CI	<i>Confidence interval</i> (Konfidenz-Intervall)
CIN	<i>Contrast-induced nephropathy</i> (Kontrastmittel-induziertes Nierenversagen)
CKD	<i>Chronic kidney damage</i> (chronisches Nierenversagen)
CMIA	Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay
ELISA	<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i>
eGFR	<i>estimated glomerular filtration rate</i> (geschätzte glomeruläre Filtrationsrate)
HF	Herzfrequenz
HUS	Hämolytisch urämisches Syndrom
iAKI	<i>Intrinsic acute kidney injury</i> (intrinsische akute Nierenschädigung)
IDI	<i>Integrated discrimination improvement</i>
LUM	Chemiluminiszenz-Immunoassay
NRI	<i>Net reclassification improvement</i>
pAKI	<i>Prerenal acute kidney injury</i> (prärenales akutes Nierenversagen)
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PTCA	Perkutane transluminale koronare Angioplastie
RIFLE	<i>Risk, Injury, Failure, Loss und End Stage Renal Disease</i>
RR	Blutdruck
sCr	Serum-Kreatinin
SD	<i>Standard deviation</i> (Standardabweichung)
SIRS	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
uCysC	Urin-Cystatin C
uIL 18	Urin-Interleukin 18
uKIM-1	<i>Urin-Kidney Injury Molecule 1</i>
uNGAL	Urin-Neutrophilen-Gelatinase-assoziiertes Lipocalin
uLFABP	Urin-Leber–Typ–Fettsäure-bindendes Protein
WB	Westernblot

1. Einleitung

1.1. Definition des Akuten Nierenversagens (AKI)

Akutes Nierenversagen (AKI) wird über eine rasche Abnahme der Nierenfunktion (Ausscheiden harnpflichtiger Substanzen, Aufrechterhalten des Flüssigkeitshaushaltes und der Elektrohomöostase) definiert. Die Kriterien für das Ausmaß der Störung beziehen sich auf Serumkreatinin, Kreatininclearance, Urinausscheidung oder die Erforderlichkeit einer Nierenersatztherapie und wurden in der Literatur in über 30 unterschiedlichen Definitionen angegeben. 2004 wurde in der *Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group* mit den RIFLE-Kriterien ein Konsens gefunden [2]. 2007 wurde in einer Veröffentlichung von R. L. Mehta nach einer weiteren Konsenskonferenz des *Acute Kidney Injury Network (AKIN)* unter Straffung von Definition und Stadieneinteilung der bis dahin gebräuchliche Begriff ANF (*acute kidney failure*: akutes Nierenversagen) zu AKI (*acute kidney injury*: akute Nierenschädigung) geändert [3]. Der Verständlichkeit halber soll hier im Deutschen der Begriff Akutes Nierenversagen beibehalten werden. Heute wird zur Definition und Stadieneinteilung von akutem Nierenversagen (AKI) entweder die Klassifizierung mit RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, ESDR–End stage renal disease*) oder die Klassifizierung durch AKIN (*Acute Kidney Injury Network*) verwendet.

1.1.1. RIFLE und AKIN

RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, ESDR–End stage renal disease* - das Risiko für Nierenversagen, Schädigung, Versagen der Nierenfunktion, Funktionsverlust und terminales Nierenversagen) und AKIN (*Acute Kidney Injury Network*-Definitionen) quantifizieren das Ausmaß des Nierenversagens. Sie basieren auf Änderungen des Serum-Kreatinins und der Urinausscheidung [2, 3]. RIFLE *Risk* (RIFLE-R) (1,5-facher Kreatininanstieg oder GFR-Abfall von > 25%, Urinausscheidung von < 0,5 ml/kg/h für 6 h) entspricht AKIN-Stadium I (Kreatininanstieg \geq 0,3 mg/dl, 1,5-facher Kreatininanstieg, Urinausscheidung von < 0,5 ml/kg/h für 6 h). RIFLE *Injury* (RIFLE-I) (2-facher Kreatininanstieg oder GFR-Abfall von 50%, Urinausscheidung von < 0,5 ml/kg/h für 12 h) entspricht AKIN-Stadium II (2-facher Kreatininanstieg, Urinausscheidung von < 0,5 ml/kg/h für 12 h). RIFLE *Failure* (RIFLE-F) (3-facher Kreatininanstieg oder GFR-Abfall von > 75% oder Kreatininanstieg um \geq 4 mg/dl mit einem akuten Anstieg von \geq 0,5 mg/dl, Urinausscheidung von < 0,3 ml/kg/h für 24 h oder Anurie für 12 h) entspricht AKIN-Stadium III (> 3-facher Kreatininanstieg oder Kreatininanstieg um \geq 4 mg/dl mit einem akuten Anstieg von \geq 0,5 mg/dl, Urinausscheidung von < 0,3 ml/kg/h für 24h oder Anurie für 12 h). RIFLE *Loss* (RIFLE-L) wird definiert als dauerhaftes Nierenversagen für > 4 Wochen, RIFLE *End Stage Renal Disease* (RIFLE-E) als terminales Nierenversagen für > 3 Monate.

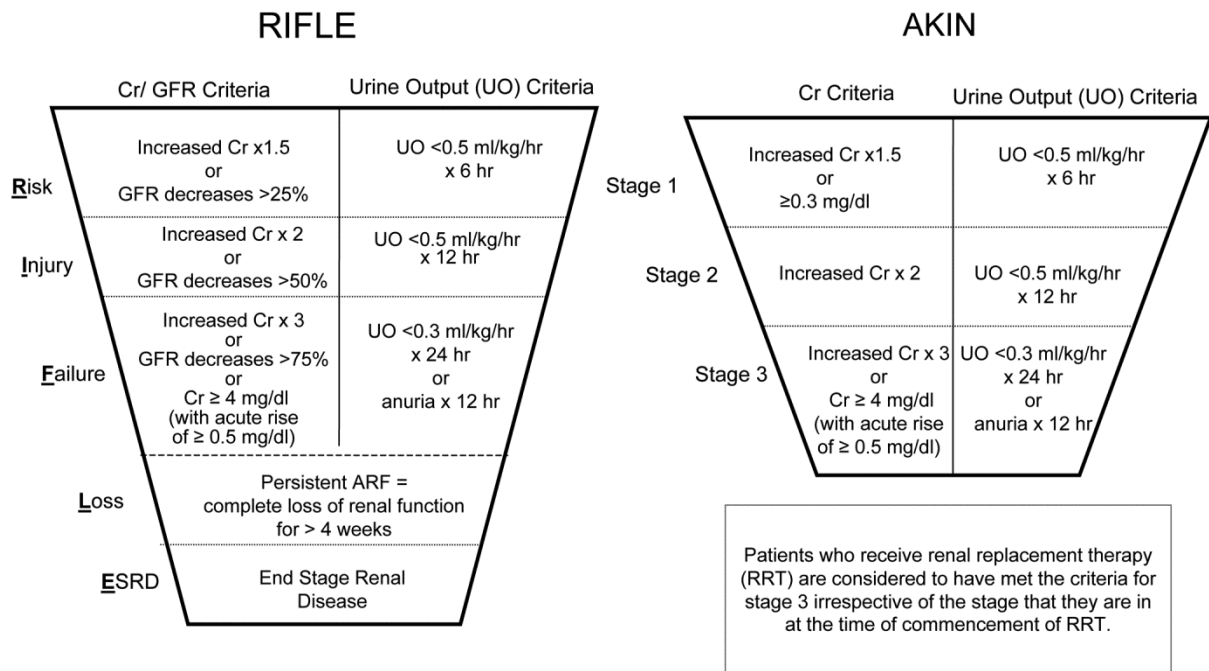


Abbildung 1: RIFLE- und AKIN-Kriterien [4]

RIFLE und AKIN sind Kriterien zur Quantifizierung und Stadieneinteilung des Akuten Nierenversagens. Die Ursachen der Erkrankung (siehe Kapitel 1.3.) werden damit nicht erfasst. Außerdem gibt es weitere Einschränkungen der Diagnostik mit RIFLE und AKIN.

1.1.2. Die Grenzen der Diagnostik mit RIFLE und AKIN

Die Definitionen (RIFLE und AKIN) sind für die Diagnostik und für die nachfolgende Therapieentscheidung sowohl im klinischen Setting als auch in der Notaufnahmesituation häufig defizitär. Dafür gibt es mehrere Gründe:

1. Die Anwendung von RIFLE und AKIN erfordert einen Kreatinin-Ausgangswert. Dieser ist aber häufig nicht bekannt, wenn der Patient sich in der Notaufnahme vorstellt. Das erschwert die Anwendung der Definitionen.
2. Um das Kriterium der Urinausscheidung anwenden zu können, ist eine korrekte Erfassung der Ausfuhr erforderlich, was einen Harnblasenkatheter erforderlich macht. Dieser wird aber in den Notaufnahmen meist nur bei Vorliegen anderer spezieller Indikationen gelegt, oft bleiben die betreffenden Patienten ohne Harnblasenkatheter.
3. Kreatinin wird sowohl glomerulär filtriert, als auch tubulär sezerniert und wird bei erhöhten Kreatinin-Plasmaspiegeln in zunehmendem Maße tubulär sezerniert. Bei starken GFR-Abfällen ist es daher möglich, dass die sCr-Werte dennoch nur langsam ansteigen. Das führt zu einer Überschätzung der GFR. Serum-Kreatininwerte steigen erst an, wenn die GFR um 2

ca. 50% und mehr gefallen ist, weswegen auch bei noch normalen Serum-Kreatininwerten schon ein subklinisches AKI vorliegen kann [5].

4. Ein weiterer Grund für Limitation der Kreatininmessungen stellen Messfehler durch die übliche Messmethode der Jaffe-Reaktion dar (Nichtchromogene, die mit gemessen werden). Dadurch ist der gemessene Kreatininwert etwas höher als der durch andere genauere Methoden gemessene wirkliche Kreatininwert. So ist auch der Wert für die Kreatininclearance ungenau (etwas niedriger als der wirkliche Wert) [5].

5. Ein weiterer Grund dafür, dass Kreatinin ungenau bei der Messung der Nierenfunktion ist, stellt die Tatsache dar, dass neben der glomerulären Filtration und tubulären Sekretion auch eine passive tubuläre Rückresorption vor allem bei geringem Blutfluss eine Rolle spielt. Bei geringerem Blutfluss sind gemessene Kreatinin-Clearance-Werte dadurch niedriger und sCr-Werte höher. Tubuläre Sekretion und Reabsorption sind an sich variabel und unvorherbestimmbar, besonders beim Vorliegen von Nierenerkrankungen [5].

6. Das Ausmaß der Nierenschädigung kann erst bestimmt werden, wenn ein neues steady state (Bildung von Kreatinin / Glomeruläre Filtration und Sekretion) erreicht ist, was üblicherweise bis zu einer Woche dauern kann.

7. Die sCr-Kinetik wird beeinflusst durch eine Vielzahl von Faktoren wie Ernährung (z.B. eine Diät), Alter, Muskelmasse, Geschlecht, Ernährungszustand, körperliche Aktivität, Schwangerschaft, Diabetes, Ödeme, Infekte oder Medikamente, sodass die sCr-Werte auch deshalb nicht präzise die Schwere der Nierenschädigung widerspiegeln können [5] [6].

8. Die RIFLE- und AKIN-Definitionen beziehen auch nicht strukturelle Nierenschädigungen mit ein, das heißt, sCr-Werte können auch ansteigen und die Definition der Nierenschädigung zum Beispiel durch veränderte Hämodynamik beim prärenalen Nierenversagen (pAKI) erfüllen, wenn noch gar keine strukturellen Nierenschäden vorliegen. [7]. Das bedeutet, dass durch die Bestimmung der sCr-Werte eine Unterscheidung der Ursachen für das Nierenversagen nicht möglich ist. Das hat gravierende therapeutische Konsequenzen.

Trotz aller hier aufgeführten Limitationen von Kreatininbestimmungen während des Akuten Nierenversagens ist Kreatinin für den klinischen Alltag nach wie vor ein nützliches Werkzeug.

1.2. Epidemiologie des Akuten Nierenversagens (AKI)

Die Angaben zur Häufigkeit des Akuten Nierenversagens und zur Mortalitätsrate differieren stark zwischen den einzelnen Studien und erstrecken sich in einem Bereich von 1 bis 31 Prozent bei der Inzidenz und von 28 bis 82 Prozent bei der Mortalität [8, 9]. Die Abweichungen beruhen sowohl auf regionalen Unterschieden beziehungsweise Unterschieden zwischen den Kohorten, als auch auf unterschiedlichen Definitionen des Akuten Nierenversagens [10]. Einheitlich beschrieben werden eine ansteigender Häufigkeit

der Diagnose AKI in den letzten Jahrzehnten und eine steigende Häufigkeit der damit assoziierten outcomes. Hinsichtlich der Mortalität gibt es verschiedene Studienergebnisse. In einer Metaanalyse von R. L. Mehta von 2003 werden Mortalitätsraten von weniger als 5-10% außerhalb von Intensivstationen, und Mortalitätsraten von 50-70% innerhalb von intensivstationärem Setting beschrieben [11]. In einem Review von J.P. Ympa 2005 wird eine im Vergleich zu den vorherigen Jahrzehnten unveränderte Mortalitätsrate von etwa 50% trotz Verbesserungen in der Behandlung und Weiterentwicklung der Hämodialyse beschrieben [12]. In den beiden US-Amerikanischen Metastudien von S. Waikar [13] und J.L. Xue [14] wird für den Zeitraum von den 1990iger Jahren bis Anfang der 2000er ein Rückgang der Mortalitätsraten verzeichnet. Die einheitlich beschriebene höhere Inzidenz des Akuten Nierenversagens in den letzten Jahrzehnten könnte unter anderem mit dem zunehmend höheren Alter der Patienten und der damit verbundenen größeren Komorbidität in Zusammenhang gebracht werden [13-16]. In der schon erwähnten großen US-amerikanischen Studie von J.L. Xue wird für den Zeitraum von 1992 bis 2001 eine Inzidenzrate von 23,8 Fällen pro 1000 Personen mit einem Anstieg der Inzidenz von ungefähr 11% pro Jahr angegeben. Die Krankenhausmortalität liegt laut dieser Studie bei 15,2% bei Vorliegen eines AKI als Hauptdiagnose und bei 32,6% bei Vorliegen eines AKI als Nebendiagnose. AKI tritt häufiger auf mit steigendem Alter, aber auch männliches Geschlecht und schwarze Rasse sind prädisponierende Faktoren [14]. Ein direkter Zusammenhang von verschiedenem Ausmaß der Kreatininerhöhung bei AKI und der Sterblichkeit wurde in einer anderen US-amerikanischen Studie von G.M. Chertow gefunden. Danach ist ein Kreatininanstieg von nur 0,5 mg/dl (44 µmol/l) schon mit einer 6,5-fach erhöhten Odds Ratio, zu sterben, assoziiert [15]. Auch E.A. Hoste untersucht 2006 die Sterblichkeit in Abhängigkeit von der RIFEL Klasse bei Intensivstation-Patienten. Es zeigen sich Mortalitätsraten von 8,8% bei RIFLE Stadium R, von 11,4 % bei RIFLE Stadium I und 26,3 % bei RIFLE Stadium F [17].

Die Häufigkeit eines akuten Nierenversagens ist im Krankenhaus etwa 5-10 Mal höher als in der Allgemeinbevölkerung und hat wie schon erwähnt in beiden Gruppen in den letzten zwanzig Jahren zugenommen [18]. In einem neueren Review von 2013 von J. Case wird die Inzidenz des Akuten Nierenversagens in Intensivstationen untersucht. Bei Patienten der Intensivstationen rangiert die Häufigkeit des Akuten Nierenversagens zwischen 20 und 50%, das Auftreten ist höher bei Patienten mit Sepsis und niedriger bei Patienten nach elektiven operativen Eingriffen. Ein häufiger Befund ist nach wie vor das kontrastmittelinduzierte Nierenversagen [19]. Andere schädigende Ursachen im Krankenhaus sind die Anwendung von nephrotoxischen Antibiotika z.B. Aminoglykosiden oder Vancomycin, oder die Gabe von Nichtsteroidalen Antirheumatika bei verringertem effektivem Blutvolumen (Exsikkose,

Herzinsuffizienz). Gefährdet sind Patienten mit Angiosklerose, insbesondere mit Arteriosklerose der Nierenarterien [18].

In der großen spanischen epidemiologischen Studie von 1996 (Madridstudie) von F. Liano wird die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Formen / Ursachen des Nierenversagens statistisch untersucht. Im Ergebnis werden die Tubulusnekrose mit 45%, das prärenale Nierenversagen mit 21%, das Akute Nierenversagen bei vorbestehender Chronischer Niereninsuffizienz mit 12,7%, die postrenale Form (Obstruktion der Harnwege) mit 10%, die Glomerulitis oder Vaskulitis mit 4% , die akute interstitielle Nephritis mit 2% und das artheroembolische Nierenversagen mit 1% angegeben.

Insgesamt kann gesagt werden, dass AKI in Verbindung gebracht wird mit etwa 25-80% der Todesfälle im Krankenhaus [14, 20, 21]. AKI wird auch mit der Pathogenese von chronischem Nierenversagen (CKD) in Zusammenhang gebracht [22].

1.3.Ursachen und Formen des Akuten Nierenversagens

Man kann die Formen des Akuten Nierenversagens nach der jeweiligen Ursache in drei Gruppen einteilen:

1. Nierenversagen mit prärenalen Ursachen, das heißt verminderte Perfusion bei intakten Tubuluszellen und Glomeruli (pAKI). Die Ursachen für prärenales Nierenversagen können sein: Volumenmangel, z.B. durch Durchfall, Erbrechen, Exsikkose, Diuretikagabe, Blutverlust, oder zu niedriger Blutdruck durch Herzinsuffizienz oder Leberinsuffizienz. Das Prärenale Nierenversagen geht zunächst ohne strukturelle morphologische Schädigung der Niere einher und ist prinzipiell durch Volumensubstitution, Katecholamingabe oder Diuretikagabe reversibel. Es kann aber auch in ein intrarenales / intrinsisches Nierenversagen (mit Tubulusnekrose) übergehen. Prärenale Formen und die im Folgenden beschriebenen Intrarenalen Schädigungen als Folge einer Ischämie oder toxischen Einwirkung sind die häufigsten Ursachen für Akutes Nierenversagen [18].

2. Nierenversagen mit intrarenalen / intrinsischen Ursachen (iAKI). Dazu gehören akute interstitielle Nephritis, akute Tubulusnekrose (diese kann ischämisch oder toxisch bedingt sein) und akute Glomerulonephritis. Die Niere wird strukturell morphologisch geschädigt und kann durch Volumensubstitution nicht oder nicht mehr suffizient behandelt werden. Diese Form führt häufig zu einem schlechten klinischen Verlauf. Eine möglichst frühzeitige Diagnose von iAKI in Abgrenzung von anderen Formen des Nierenversagens, insbesondere vom prärenalen Nierenversagen ist äußerst wichtig. Der Zeitfaktor spielt eine wesentliche Rolle, da ein schneller Therapiebeginn von entscheidender Bedeutung ist [6].

3. Nierenversagen mit postrenalen Ursachen. Diese können sein: Obstruktion in den abführenden Harnwegen z.B. durch Prostatahyperplasie, durch Steine oder Tumoren

verursacht. Postrenales Nierenversagen ist bildgebend z.B. sonografisch zu diagnostizieren und prinzipiell reversibel.

1.4. Methoden zur Unterscheidung der Ursachen einer Nierenschädigung

Herkömmliche laborchemische Methoden untersuchen zur Differenzierung von prärenalem und intrinsischem Nierenversagen die fraktionelle Natriumexkretion, die Urin-Natriumkonzentration, die Urin-/Plasmaosmolalität und das Urin-/Plasma-Kreatinin.

Die genaueste Methode zur Unterscheidung von prärenalem versus intrinsischem Nierenversagen ist die Bestimmung der fraktionellen Natriumexkretion. Die Fraktionelle Natriumexkretion ist der Quotient aus Natriumkonzentration im Urin multipliziert mit der Kreatininkonzentration im Serum mal 100 und der Natriumkonzentration im Serum multipliziert mit der Kreatininkonzentration im Urin. Es wird dabei davon ausgegangen, dass bei prärenalem Nierenversagen mit eingeschränkter GFR aber noch intakten Tubuli Natrium und Wasser noch rückresorbiert werden können, was bei tubulären Defekten beim intrinsischen Nierenversagen nicht mehr der Fall ist. Deshalb ist der Urin beim prärenalen Nierenversagen eher konzentrierter und hat einen geringeren Natriumgehalt, beim intrinsischen Nierenversagen ist der Urin eher verdünnter und hat einen höheren Natriumgehalt [23]. Ein Urin-Natrium von < 10 mmol/l spricht daher für prärenales, ein Urin-Natrium von $> 30-90$ mmol/l für intrarenales Nierenversagen. Liegt eine fraktionelle Natriumexkretion von $< 1\%$ vor, spricht das für ein prärenales Nierenversagen, eine fraktionelle Natriumexkretion von $> 1\%$ ist ein Indiz für ein intrinsisches Nierenversagen.

Eine Urin / -Plasmaosmolalität (mosm/kg) von $> 1,1$ spricht für prärenales, eine Urin / Plasmaosmolalität von $0,9-1,05$ spricht für intrarenales Nierenversagen.

Bei einem Urin-/Plasma-Kreatinin von > 15 ist ein prärenales, bei einem Urin-/Plasmakreatinin von < 15 ist ein intrinsisches Nierenversagen wahrscheinlicher [23] [24].

Eine weitere Methode zur Unterscheidung beider Formen des Nierenversagens ist die Untersuchung des Urinsedimentes. Dysmorphe Erythrozyten sind ein Hinweis für eine Glomerulonephritis, allerdings mit einer relativ geringen Sensitivität (52%) bei hoher Spezifität (98%) [25]. Ebenso ist das Auftreten von Erythrozytenzylindern, Hämoglobinzyllindern, Leukozytenzylindern, Epithelzylindern und Fettzylindern im Sediment als Hinweis für intrinsische Nierenschäden zu werten (iAKI) [18].

Neben den genannten Methoden haben sich in den letzten Jahren verschiedene Biomarker in der Diagnostik und als Prädiktoren für ungünstige klinische Verläufe bei Nierenversagen etabliert.

1.5. Biomarker im Urin

In der vorliegenden Arbeit, einer prospektiven monozentrischen Studie als Bestandteil einer multizentrischen Studie [1] wird der diagnostische und prognostische Wert von verschiedenen Urin-Biomarkern für intrinsisches Nierenversagen (iAKI) in der Notaufnahme bestimmt und mit der konservativen Diagnostik verglichen.

Die Zielstellung war es, die herkömmliche Diagnostik (siehe 1.1.2. mit ihren Limitationen) durch neue Biomarker, die nach Zellschädigungen in den Urin freigesetzt werden, zu verbessern. Es wurden mehrere Urin-Biomarker gefunden, die dafür geeignet schienen: Neutrophilen-Gelatinase-assoziiertes Lipocalin (uNGAL), Kidney Injury Molecule 1 (uKIM-1), Leber-Typ-Fettsäure-bindendes Protein (uLFABP), Interleukin 18 (u-IL 18) und Cystatin C (uCysC) [26-28]. L. A. Szczech spricht 2009 in einer Studie im Zusammenhang mit den Biomarkern von der Suche nach dem „Troponin der Niere“ [29]. In der Tat sind große Hoffnungen in die Leistungen der Biomarker als diagnostische Instrumente zum früheren Erkennung von AKI als auch zur diagnostischen Differenzierung der Ursache des Nierenversagens, insbesondere zwischen prärenalem und intrinsischem Nierenversagen gelegt worden. Eine herausragende Rolle innerhalb der Gruppe der neuen Biomarker spielt NGAL. Es gibt inzwischen eine große Anzahl von Studien dazu. Frühe Studien sind in Intensivstationen durchgeführt worden, wobei häufig, wie bei der vorliegenden Studie die NGAL- und Kreatininwerte zu Beginn und im Verlauf prospektiv nach Entwicklung einer AKI gemessen worden sind. Es zeigten sich z.B. bei E.D. Siew signifikant höhere Ausgangswerte von NGAL bei Patienten, die innerhalb von 48 Stunden AKI entwickelten gegenüber Patienten ohne AKI (190 versus 57 ng /mg, $p < 0,001$) [30]. In einer Studie von N. Paragas 2009 wurden verschiedene Formen von Nierenschäden bei HIV infizierten Patienten untersucht. Auch hier wurde gefunden, dass bei bioptisch nachweisbaren Nierenschäden (intrinsisches Nierenversagen) die NGAL-Werte signifikant höher waren als bei anderen Formen von Nierenerkrankungen [31]. Verschiedene Studien untersuchten Biomarker nach kardioresalen Syndromen, wobei gezeigt wurde, dass NGAL viel mildere Formen eines Nierenversagens zu diagnostizieren im Stande ist, als Kreatinin [32].

Die diagnostische und prognostische Leistungsfähigkeit der oben genannten Biomarker wurde bis 2009 in monozentrischen Studien untersucht. Es wurden dann einzelne Formen des Nierenversagens in einem bestimmten klinischen Setting z.B. in Intensivstationen untersucht. Dabei gab es zunächst keine statistischen Ergebnisse der Biomarkerleistungen für große und heterogene Kohorten. Es war bis dahin unklar, welche Biomarker schon beim Aufnahmezeitpunkt erfolgreich zwischen iAKI und entweder pAKI oder CKD unterscheiden können. Außerdem fehlten systematische Untersuchungen über Kombinationen von Biomarkern und deren eventuelle größere diagnostische Genauigkeit gegenüber einzelnen Biomarker [1]

Urin-Biomarker sollten eine Strategie liefern, die Diagnose von iAKI und die Vorhersage ihrer Schwere und ihres klinischen Verlaufes zu verbessern. In einer multizentrischen Studie von N. Haase 2011 werden Daten von 10 monozentrischen Studien aus Amerika, Europa und Australien hinsichtlich der Vorhersagewerte von NGAL für negative Outcomes bei subklinischem AKI untersucht. Es zeigte sich, dass NGAL schlechte klinische Verläufe bei subklinischem AKI gut vorhersagen konnte, auch wenn sich noch keine ansteigenden Werte von Serum-Kreatinin messen ließen [32]. Die vorliegende Arbeit wie auch die multizentrische Studie, deren Bestandteil diese Arbeit ist, sollten Erkenntnisse über eine relativ große heterogene Kohorte liefern, über die Fähigkeit der Biomarker, eine frühe Diagnose der Unterform des Akuten Nierenversagens zu stellen, sowie darüber, ob Kombinationen von Biomarkern die Vorhersage schlechter klinischer Verläufe verbessern können [1].

1.5.1.NGAL

Das Neutrophilen-Gelatinase-assoziierte Lipocalin (NGAL) gehört zur großen Familie der Lipocaline. Es wird exprimiert und sekretiert von Immunzellen, von Hepatozyten und von Nierentubuluszellen [33]. Zu NGAL gehören mehrere Protein-Formen mit unterschiedlicher Größe. Die kleinste Form besteht aus 178 Aminosäuren mit ca. 25 kDa als monomere Form, desweiteren gibt es die homodimere Form mit 45 kDa und die heterodimere Form mit 125 kDa [34]. Die einzelnen Proteine haben unterschiedliche Funktionen (wie Transportfunktionen, z.B. für Retinol oder Phermone, Synthesefunktionen z.B. bei Prostaglandinen, Funktionen bei der zellulären Homöostase und wichtige Funktionen bei der Modulation der Immunabwehr des Körpers durch Eisenbindungskapazität) [35]. Die homodimere Form von NGAL wird überwiegend von Neutrophilen Granulozyten produziert und bei Entzündungsprozessen (unter anderem bei Harnwegsinfekten) gefunden [36]. 2003 wurde in einer Studie von J. Mishra beschrieben, wie durch Genanalysen bei Ratten und Mäusen mit induzierter Nierenschädigung die monomere Form von NGAL hochreguliert wird. Im Ergebnis konnte NGAL als früher, sensitiver und nichtinvasiver Marker für ischämische oder nephrotoxische Nierenschädigung benannt werden, der im Vergleich zu zwei weiteren Markern der Studie (N-acetyl-D-glucosaminidase und Beta-2-Microglobulin) zu einem früheren Zeitpunkt messbar war [37].

1.5.2.Cystatin C

Cystatin C ist ein nicht glykosylierter Protease-Inhibitor von 120 Aminosäuren mit einer Größe von ca. 13 kDa und gehört zur Familie der Cystatine. Er wird von kernhaltigen Zellen produziert und ist als Monomer in allen Körperflüssigkeiten nachzuweisen. Die L68Q Variante ist eine amyloid fibrile Form mit Tendenz zur Dimerbildung und spielt durch Aggregation und massive Amyloideinlagerung eine Rolle bei der letalen zerebralen

Hämorrhagie bei jungen Erwachsenen. Cystatin C gelangt in den Urin durch Filtration in den Glomeruli. Es wird in den Tubulusepithelzellenzellen nicht sezerniert, jedoch rückresorbiert und dabei abgebaut. Tubulusschäden wirken sich daher auf die Konzentration im Harn aus [38]. Cystatin als Serummarker hingegen spiegelt die glomeruläre Filtrationsleistung wider [39].

Die Messwerte bei Cystatinbestimmung zeigen eine Abhängigkeit zur Schilddrüsenfunktion, bei bestimmten Erkrankungen bsw. Rheumatoider Arthritis oder bei Steroideinnahme können die Werte verändert sein. Cystatin C wird in vielen Krankenhäusern noch nicht standardmäßig bestimmt [40].

1.5.3. KIM 1

Kidney Injury Molecule 1 (KIM1) ist ein Typ 1 Transmembran-Rezeptor mit einer Immunglobulin- und einer Glycoproteindomäne. Seine Expression wird bei ischämischen Schäden in den Tubuluszellen der Niere hochreguliert, seine extrazelluläre (luminale) Domäne wird proteolytisch abgetrennt, sodass die Konzentration im Urin ansteigt und zur frühen Diagnostik von Nierenschädigungen und Differenzierung der Störungsursache geeignet erscheint. KIM 1 ist auch ein Marker für Nierenkarzinome [41]. In einer neueren Metaanalyse von X. Shao werden die Ergebnisse von 11 monozentrischen Studien mit einer Gesamtzahl von 2979 Patienten hinsichtlich des prädiktiven Wertes von KIM 1 ausgewertet. Der Autor findet eine Sensitivität von 74%, eine Spezifität von 86% von KIM 1 bei der Vorhersage von Akutem Nierenversagen [42].

1.5.4. IL-18

Interleukin 18 (IL-18) ist ein pro-inflammatorisches Zytokin, welches bei Schädigungen im proximalen Tubulus durch Caspase I (IL-18 – *converting enzyme*) proteolytisch von einem Vorläuferprotein abgespalten und in den Urin freigesetzt wird, und wurde zunächst in Mausexperimenten als Mediator bei Nierenschädigungen entdeckt [43]. Bei ischämischen Schäden der Tubuli, bei Autoimmun-Nephritis und bei cisplatininduzierter nephrotoxischer Schädigung wird die renale IL-18-mRNA im proximalen Tubulus massiv hochreguliert. Beim Menschen konnte in einer Studie von C.R. Parikh ein Anstieg von IL-18 im Urin als Prädiktor für AKI bei 138 Patienten mit ARDS (*Adult Respiratory Distress Syndrome*) einen Tag vor Kreatininanstieg beobachtet werden (AUC: 0.73). Es wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen IL-18 und der Mortalität gefunden ($p < 0,05$) [44].

1.5.5. LFABP

LFABP (*liver type fatty acid binding protein*) gehört zu den FABP, einer Gruppe von intrazellulären Proteinen, die zur Familie der Lipocaline gehören. FABP spielen eine Schlüsselrolle bei der Bindung und dem Transport von Fettsäuren und einiger anderer hydrophober Moleküle. FABP transportieren die Fettsäuren zu den Mitochondrien oder zu den Peroxisomen zur Oxidation. Es wurde eine Rolle am PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) beschrieben, beim Transport von Liganden in den Zellkern und dadurch ein Einfluss auf die Transkriptionsgene bei der Zellproliferation und Zelldifferenzierung, sowie auf den Kohlehydrat- und Lipidstoffwechsel. Es gibt viele Isoformen von FABP, die sich in verschiedenen Geweben finden. In der menschlichen Niere gibt es zwei Typen, LFABP (*liver fatty acids binding protein*) und HFABP (*heart fatty acids binding protein*). LFABP mit einer Größe von 14 kDa wird im proximalen Tubulus exprimiert. Viele Studien haben gezeigt, dass LFABP mit Gewebeschämie und Gewebsschäden assoziiert ist und bei Tubulusischämie vermehrt in den Urin sekretiert und exprimiert wird [45-47].

2.Methoden

2.1. Studiendesign und Durchführung der Studie

Die vorliegende Studie ist Teil einer prospektiven multizentrischen Kohortenstudie (Allen Hospital of New York-Presbyterian Hospital, Staten Island University Hospital und Helios Klinikum Berlin Buch), in der bei insgesamt 1635 Patienten fünf Biomarker (Urin-Neutrophilen-Gelatinase assoziiertes Lipocalin [uNGAL], *Urin-Kidney Injury Molecule 1* [uKIM-1], Urin-Leber-Typ-Fettsäure-bindendes Protein [uLFABP], Urin-Interleukin 18 [uIL 18] und Urin-Cystatin C [uCysC] untersucht und hinsichtlich ihres diagnostischen und prognostischen Wertes beurteilt wurden [1].

Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf die Berliner Kohorte, die von September 2008 bis März 2009 rekrutiert wurde. Die Kohorte beinhaltete 543 unselektierte Patienten der Rettungsstelle Berlin Buch. Die Studie wurde genehmigt durch die Ethikkommission der Charité Berlin. Insgesamt wurden 835 Patienten der Rettungsstelle Berlin Buch gescreent. Eingeschlossen wurden alle einwilligungswilligen und -fähigen über 18-jährigen Patienten, die nach dem Rettungsstellenkontakt stationär aufgenommen wurden, unabhängig von ihrem Allgemeinzustand. Ausgeschlossen wurden unmittelbar oder im Verlauf Patienten mit unzureichendem Follow-Up (< 24 Stunden) oder vorbestehender terminaler Niereninsuffizienz (N = 278) oder fehlendem oder inadäquatem Material für die Biomarkerbestimmung (N = 14) (siehe Abbildung 2). Die rekrutierten Patienten wurden über Inhalt und Ziele der Studie aufgeklärt. Sie gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Daraufhin wurden von den in die Studie eingeschlossenen Patienten Urinproben genommen. Die Patientenaufklärung und Probenentnahme erfolgten bei den allermeisten Patienten noch in der Rettungsstelle, bei einem Teil der Patienten kurz nach Eintreffen auf der jeweiligen Krankenstation. Per krankenhauses internen Computerdaten und den Rettungsstellenscheinen wurden Daten (Alter, Geschlecht, Kreislaufparameter, Flüssigkeitssubstitution in der Rettungsstelle, Diuretikagabe, makroskopische Beschaffenheit der Urinprobe, Vorerkrankungen, Komorbiditäten, Laborparameter, Basiskreatininwert innerhalb der letzten 12 Monate, sofern aus dem hauseigenen Computersystem nicht ersichtlich, vom Hausarzt erfragt) erhoben und in einer Excel-Tabelle dokumentiert.

Es wurde von allen in die Studie eingeschlossenen Patienten mit dem Urinstreifentest (COMBUR 9 TEST Teststreifen von ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) ein Urinstatus erhoben und die einzelnen Parameter dokumentiert. Die Proben der Patienten mit Kreatininerhöhung, Proteinurie oder Diabetes mellitus wurden sofort oder nach höchstens vierstündiger Zwischenlagerung bei +2 bis +8 °C mit 10 ml bei 1200 U/min für 10 min zentrifugiert. Das Sediment wurde unter dem Phasenkontrastmikroskop bei 400facher Vergrößerung untersucht und das Ergebnis in der Excel-Tabelle dokumentiert.

Die Ergebnisse wurden bei der klinischen Adjudikation der Patienten als Hinweise für mögliche intrinsische Nierenschäden (z.B. Epithelzylinder, Hämoglobinzyylinder, Wachszylinder, Leukozytenzylinder) bzw. entzündlich /infektiösen Erkrankungen der Harnwege (Bakterien, Erythrozyten, Leukozyten) verwendet.

Es wurden alle Proben vor Ablauf von 12 Stunden bei Minus 80 °C eingefroren.

Mitglieder der Studiengruppe waren im Verlauf des stationären Aufenthaltes der Patienten nicht in Kontakt mit behandelnden Ärzten. Genauso waren die behandelnden Ärzte nicht über die Ergebnisse der Biomarkermessungen informiert. Die Bestimmung aller Biomarker wurde extern im Labor (ARUP Laboratories, Salt Lake City, UT, USA) von studienexternem Personal durchgeführt [1] (siehe Kap. 2.3.).

Vor dem Beginn der Probensammlung wurden die Rahmenbedingungen für die Auswahl der benötigten Kriterien und Daten in Zusammenarbeit mit den Studienärzten und mit den anderen Zentren abgeglichen. Die Patienten wurden nach vorher genau festgelegten Kriterien klinisch adjudiziert, was ebenfalls in Zusammenarbeit mit den Studienärzten und unter Abgleichung der Daten verblindet und ohne Kenntnis der Biomarkerwerte erfolgte. Es wurde danach mit statistischen Methoden (siehe Teil 2.4. „Statistik“) untersucht, wie genau die genannten Biomarker intrinsisches AKI diagnostizierten und wie gut mit den Biomarkern verschiedene klinische Verläufe während des Krankenhausaufenthaltes vorhergesagt werden konnten. Die Ergebnisse der multizentrischen Studie wurden mit den Ergebnissen der Berliner Teilkohorte verglichen.

2.2.Einteilung der Patienten in diagnostische Gruppen

Die vorliegende Beobachtungsstudie wurde durchgeführt, um die diagnostischen Testcharakteristiken von Urin-Biomarkern zur Diagnose eines iAKI zu bestimmen. Es wurden dann Analysen durchgeführt hinsichtlich der Schwere von AKI, der Dauer von AKI und hinsichtlich eines zusammengesetzten klinischen Endpunktes bestehend aus Dialyse-Initiierung und / oder Tod. Die Ausgangswerte von Serum-Kreatinin wurden bestimmt durch Einsichtnahme in die Patientenakten der letzten 12 Monate oder, wenn diese nicht verfügbar waren, wurde der niedrigste im Krankenhaus gemessene Wert als Ausgangswert angenommen. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) wurde berechnet unter Nutzung der *Modification of diet in renal disease* Formel [39]. Die diagnostische Einteilung wurde dann durch Adjudikatoren der einzelnen Kriterien vorgenommen. Diese waren nicht über die Urin-Biomarker-Werte informiert. Im Vorhinein definierte Algorithmen wiesen die Patienten einer von vier möglichen Diagnosen zu (normale Nierenfunktion, stabile CKD, pAKI, iAKI). Patienten wurden als nicht klassifizierbar bezeichnet, wenn Mehrdeutigkeiten auftraten oder wenn Meinungsunterschiede zweier oder mehr Adjudikatoren nicht durch

Neubewertung klinischer Daten aufgelöst werden konnten. Die Definition der diagnostischen Einteilung wurde folgendermaßen angewandt:

Patienten mit normaler Nierenfunktion (n = 205) erfüllten die folgenden Kriterien:

- 1) Ausgangswert von eGFR (geschätzte glomeruläre Filtrationsrate) ≥ 60 ml/min/1,73 m²
- 2) Nichterfüllen der minimalen RIFLE Kriterien für AKI [2]
- 3) Die Abwesenheit von Schwankungen in sCr–Werten während der ersten drei Tage im Krankenhaus (≥ 0.3 mg/dl , wenn der Ausgangswert von sCr ≥ 1.0 mg/dl oder ≥ 0.2 mg/dl wenn der Ausgangswert von sCr ≤ 1.0 mg/dl war)
- 4) Abwesenheit von kürzlicher Belastung durch Stimuli, die typischerweise iAKI verursachen (z.B. ein Schock, der die Therapie mit Vasopressoren erfordert, positive Blutkulturen bei Sepsis, SIRS, Nephrolithiasis, kürzliche Chemotherapie, Nephrotoxine, Rhabdomyolyse, Glomerulonephritis, interstitielle Nephritis, Vaskulitis, Präeklampsie, multiples Myelom oder thrombotische Mikroangiopathie).

Patienten, auf die Kriterien 1 und 2, aber nicht Kriterien 3 und 4 zutrafen, wurden als nicht klassifizierbar eingestuft.

Bei stabiler CKD (n = 27) hatten Patienten einen Ausgangswert von eGFR < 60 ml/min/1.73m² und erfüllten Kriterien 2-4, wie bei normaler Nierenfunktion definiert. Patienten, die Kriterien 1 und 2, aber nicht Kriterien 3 und 4 erfüllten, wurden in die Kategorie nicht klassifizierbar eingestuft.

Bei pAKI (n = 106) erfüllten Patienten die folgenden Kriterien:

- 1) Minimale RIFLE sCr–Kriterien für AKI (1.5-facher Anstieg im sCr–Wert oder 25% Abfall der GFR vom Ausgangswert; Urinausscheidungskriterien wurden aufgrund der Schwierigkeiten, genaue Werte in der Notaufnahme zu bekommen, nicht angewendet)
- 2) Normalisierte Werte unter der RIFLE–Schwelle innerhalb von drei Tagen
- 3) Anamnestische und /oder klinische Daten, die verringerte Nierenperfusion andeuten, aber ohne AKI induzierende Stimuli (siehe oben)
- 4) Reaktionen auf Maßnahmen, die die Nierenfunktion wiederherstellen, wie Flüssigkeitssubstitution und das Absetzen der diuretischen Therapie

Patienten, auf die Kriterien 1 und 2, aber nicht Kriterien 3 und 4 zutrafen, wurden als nicht klassifiziert bezeichnet.

In iAKI (n = 47) erfüllten Patienten die folgenden Kriterien:

- 1) Minimale RIFLE sCr-Kriterien für AKI
- 2) sCr-Werte sanken nicht unter die RIFLE-Schwelle am dritten Tag nach Einlieferung
- 3) Patienten waren Faktoren ausgesetzt, die iAKI induzieren (siehe oben)

Patienten, die Kriterien 1 und 2, aber nicht Kriterium 3 erfüllten, oder die Faktoren ausgesetzt waren, welche möglicherweise den Kreatininverlauf nach Aufnahme in die Studie verändert

haben (z.B. Kontrastmittelgabe im Krankenhaus), wurden als nicht klassifiziert bezeichnet [1].

2.3.Labormessungen

Die Urinproben wurden zentrifugiert (mit 12000 U/min für 10 min) und aufbewahrt bei -80° C, innerhalb von 12 h nach der Probenentnahme erfolgte das Einfrieren. Sämtliche Labormessungen sind nicht direkter Teil dieser Arbeit und wurden von anderen durchgeführt, werden aber hier im Detail erklärt, da sie die Basis der statistischen Auswertung sind. Die standardisierten Biomarker-Messungen an Urinproben wurden in einem externen Labor (ARUP Laboratories, Salt Lake City, UT, USA) von externem Studienpersonal ohne Kenntnis der Patientenidentität durchgeführt. UNGAL, uIL 18, uKIM-1 und uCysC wurden mit der ARCHITECT platform (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois) gemessen [48]. ARCHITECT Urin-NGAL ist ein Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay (CMIA) zur quantitativen Bestimmung des neutrophilen Gelatinase-assoziierten Lipocalins (NGAL) in menschlichem Urin. Der Messbereich des ARCHITECT uNGAL Assays geht bis 1.500 ng/ml. Die Ergebnisse liegen nach 35 Minuten vor. Die schnelle Ergebnisverfügbarkeit ermöglicht die Früherkennung der akuten Nierenschädigung. Als Probentyp wird Urin verwendet. Diese Proben nutzten ein Chemilumineszenz-Immunoassay (LUM), wobei ein nichtkompetitiver Antianalyt Antikörper Sandwich genutzt wurde. Die Assays beziehen ein Mikropartikelreagenz, hergestellt durch kovalentes Binden eines Antianalyt Antikörpers an paramagnetische Teilchen und ein konjugiertes Reagenz, hergestellt durch Markierung eines zweiten Antianalyt-Antikörpers mit Akridinium ein. Die Kallibratoren für uNGAL, uIL18 und die uKIM-1-Proben waren rekombinante Proteine und die Kallibratoren für uCysC wurden hergestellt aus menschlichem Urin. Der höchste Kallibrator für jede Probe war 1500 ng/ml, 1 ng/ml, 10 ng/ml und 2500 ng/ml für uNGAL, uIL18, uKIM-1 und uCysC. Die Proben wurden verdünnt, um innerhalb der Kallibrierungskurve zu liegen. Die Variationskoeffizienten waren 3% für uNGAL bei 385 ng/ml [48], 2.5% für uKIM-1 bei 5.8 ng/ml (Abbott Laboratories), 2.2% für uIL 18 bei 0.048 pg/ml (Abbott Laboratories), 1.8% für uCysC bei 350 ng/ml (Abbott Laboratories) und ähnlich bei anderen Schnittpunkten. ULFABP wurde gemessen durch einen Sandwich-Typ *enzym-linked immunosorbent assay kit* (CMIC Co., Ltd., Tokyo, Japan). Der Variationskoeffizient war 6.8% für uLFABP bei 13 ng/ml [49]. Monomerisches uNGAL (23-26 kDa) wurde gemessen durch Immunoblots (gemessen im Labor unseres Kollaborationspartners Jonathan Barrasch), die mit nichtreduzierenden 4-15% Gradienten Polyacrylamid-Gelen (Bio-Rad, Hercules, California) hergestellt wurden. Es wurden Standards (0,3-3 ng) von humanem rekombinanten NGAL und NGAL-AK (Antikörper-Shop, Kopenhagen, Dänemark) benutzt. Der Variationskoeffizient war < 5% bei verschiedenen Schnittpunkten [7]. SCr wurde ausgewertet durch die Jaffe-Reaktion, kalibriert auf Isotop-

Verdünnung-Massenspektrometrie. Die Jaffe–Reaktion beruht auf einer Rotfärbung der alkalischen Pikrinsäurelösung kurze Zeit nach Kreatininzugabe und deren messbare Absorptionsintensität, die sich in gewissen Grenzen proportional zur Kreatininkonzentration verhält [1].

2.4. Statistik

Die Statistischen Analysen entsprechen methodisch den Analysen der Multizentrischen Studie [1], wurden aber mit den Daten der Berliner Kohorte gerechnet. Sie wurden durchgeführt mit SPSS Version 19.0 (SPSS, Chicago, Illinois) sowie mit Sigmaplot Version 12.3. Die erforderliche Stichprobengröße wurde auf der Grundlage vorhergehender Daten einer ähnlichen Studie von T. Nickolas „Sensitivity and Specificity of a Single Emergency Department Measurement of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin for Diagnosing Acute Kidney Injury“ geschätzt und festgelegt [7]. In diese Studie von T. Nickolas wurden 635 Notaufnahmepatienten einbezogen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten dann mit den Ergebnissen der anderen beiden Zentren der multizentrischen Studie [1] in Beziehung gesetzt werden, um Zentrumsunterschiede in der Biomarker-Leistung bei Patienten mit iAKI festzustellen. Kontinuierliche Variablen wurden für die Boxplots log-transformiert. Für die Patientencharakteristiken wurden die Daten als arithmetische Mittelwerte mit Standardabweichungen oder als Mediane mit Interquartilsabständen präsentiert. Demographische Daten und Aufnahmeparameter wurden als Mittelwerte dargestellt. Nierenfunktionsparameter (bis auf GFR), Länge des stationären Aufenthaltes und die Biomarkerwerte wurden als Mediane dargestellt. Vergleiche zwischen zwei Bedingungen (Mittelwertvergleiche von Nierenparametern und Biomarkerwerten) wurden mit dem Student T-Test vorgenommen. Kategorische Variablen (Komorbiditäten) wurden mit einem Chi²-Test verglichen. Die Null-Hypothese wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha < 0.05$ zurückgewiesen. Biomarker-diagnostische Testcharakteristiken für iAKI wurden bestimmt durch die Fläche unter der *Receiver Operating Characteristic* (ROC)-Kurve. Die Vergleiche der ROC-Flächen wurden mit Sigmaplot erstellt.

Es sollte weiterhin untersucht werden, welche Prädiktoren einen ungünstigen klinischen Verlauf (kombinierter klinischer Endpunkt: Dialyseinitiation / Mortalität) in der Kohorte am besten vorhersagen. Dazu wurden univariate logistische Regressionen berechnet mit dem kombinierten Endpunkt Tod / Dialyse als abhängige Variable jeweils für die Parameter: Alter, Geschlecht, Komorbiditäten (wie z.B. vaskuläre Krankheiten, Diabetes, HIV, Kongestives, Herzinsuffizienz, arteriellen Hypertonus oder CKD), Vital-Parameter (HF, RR, Schock-Index) und Nierenfunktionsparameter. Danach wurde eine multiple logistische Regressionsanalyse mit den Prädiktoren, die in den univariaten Analysen signifikant waren, mit Hilfe der Rückwärtsselektion berechnet. Daraus resultierte ein konventionelles Basismodell, in dem

Kreatinin als einziger Prädiktor verblieb. Dann fügten wir zu diesem Basismodell jeden Biomarker einzeln hinzu, um zu überprüfen, ob jeder hinzugefügte Biomarker die Vorhersagekraft des Basismodelles verbessern konnte und ob die globale Modellgüte, ausgedrückt durch das Nagelkerkesche R^2 , dadurch verbessert werden konnte.

Integrated discrimination improvement (IDI) und *net reclassification improvement (NRI)* wurden nach Pencina et al. berechnet [50].

2.4.1. IDI und NRI

Seit mehreren Jahrzehnten ist die Auswertung der ROC-Kurve von zentraler Bedeutung für die Bewertung der Aussagekraft eines Biomarkers. Es zeigte sich, dass dieses Verfahren bei geringen, z.B. von neu eingeführten Biomarker hervorgerufenen Veränderungen der Risikoaussage an die Grenzen seiner Leistungsfähigkeit stieß. Es wurde nach ergänzenden Bewertungsmethoden gesucht. N. Cook schlug dazu die Verwendung von Regressionsstatistiken vor. Hierbei wurde die Zahl der durch den Einsatz eines neuen Markers ausgelösten Umgruppierungen (*reclassification*) zwischen den einzelnen Biomarkern ermittelt [51].

Pencina et al. stellten 2008 fest, dass nicht alle Umgruppierungen gleich zu bewerten seien. Die Reklassifikation von Personen, die ein Event (z.B. Krankheit oder Endpunkt) aufweisen und die Reklassifikation von solchen Personen, die kein Event aufweisen (z.B. keine Krankheit, kein klinischer Endpunkt) müssen differenziert betrachtet werden. Denn es erhöht nicht die Aussagekraft eines Markers, wenn Umgruppierungen in die falsche Gruppe (z.B. Gesunde in die Gruppe der Risikoträger) vorgenommen werden. Jede „upward – Einordnung“ bei Personen mit erhöhtem Risiko (Event-Personen) beinhaltet eine Verbesserung, jede „downward – Einordnung“ weist bei diesem Personenkreis auf eine Verschlechterung der Zuverlässigkeit der Aussage des Markers hin. Für die Kontrollgruppe gilt das Gegenteil.

Die Verbesserung der Zuverlässigkeit der Klassifikationsaussage kann nach Pencina als Summe der Ereignisse in der Eventgruppe und der Noneventgruppe berechnet werden. Der Summand der Eventgruppe berechnet sich aus der Anzahl der höher gruppierten Personen minus der Anzahl der heruntergestuften Personen, dividiert durch die Gesamtzahl der Personen dieser Gruppe. Der Summand für die Noneventgruppe berechnet sich aus der Zahl der herabgestuften Personen minus der Zahl der höher gestuften Patienten, dividiert durch die Gesamtzahl der Personen dieser Gruppe.

Dieses Verfahren wurde von Pencina als Net Reclassification Improvement (NRI) bezeichnet. Für die Berechnung des NRI-Wertes werden jeweils für die Eventgruppe und für die Noneventgruppe mehrere Risikoklassen festgelegt und ereignisspezifische Reklassifikationstabellen aufgestellt. Die Umgruppierungen werden personenbezogen mit +1

für eine „upward - Einordnung“ und – 1 für eine „downward – Einordnung“ sowie 0 für eine „no-movement“ berücksichtigt.

Pencina et al. führten noch ein weiteres Verfahren zur besseren Bewertung eines Biomarkers ein; das IDI-Verfahren (Integrated Discrimination Improvement). Der IDI-Indikator ist ein Maß für die Verbesserung der Zuverlässigkeit der Risikoaussage zweier Modelle (z. B. Biomarker) und kann als Differenz von Discrimination Slopes definiert werden.

Discrimination Slopes (Yates Slopes) sind im Zusammenhang mit binären Systemen als Differenz der durchschnittlichen vorhergesagten Wahrscheinlichkeiten von „Events“ und „Nonevents“ definiert.

Die Basis für die Berechnung der möglichen Überlegenheit des neuen Systems gegenüber dem alten System bilden die Integrale über die „Sensitivity“, IS-alt und IS-neu über alle Cut-off-Werte sowie über das entsprechende Integral von „1-Spezifität“, IP-alt und IP-neu. Die Differenz von IP-neu minus IP-alt wird von der Differenz IS-neu minus IS-alt abgezogen und bildet den IDI-Wert.

Die Signifikanz der Aussage von IDI und NRI wird überprüft, indem die Werte nach einer Formel von Pencina z-transformiert werden (eine Form der Null-Hypothese).

Beide Verfahren, NRI und IDI sind heute Standardverfahren zur Ergänzung des ROC-Verfahrens. Seit der Erstpublikation sind weitere Untersuchungen zu NRI zum Beispiel von K. Mühlenhaupt et al. und M. Pencina et al., mit dem Ziel weiterer Optimierung durchgeführt worden. So konnten Mühlenhaupt et al. unter anderem zeigen, dass die Wahl des Risiko - Cut-offs und die Zahl der Risikokategorien einen Einfluss auf das Ergebnis haben [52].

3. Ergebnisse

3.1. Patientencharakteristiken

Das Flussdiagramm (siehe Abb. 2) zeigt die untersuchte Kohorte mit den einzelnen diagnostischen Untergruppen und der von der Studie ausgeschlossenen Patienten. Die Gesamtkohorte bestand aus 835 Patienten, von denen 292 Patienten wegen schon vorbestehendem Terminalen Nierenversagen, unzureichenden Daten oder unzureichendem Probenmaterial ausgeschlossen wurden. Es blieb eine Kohorte von 543 Patienten, deren Werte analysiert wurden. Dies war annähernd ein Drittel der in der Multizentrischen Studie untersuchten analysierten Kohorte von 1635 Patienten. Die Berliner Kohorte bestand zu 100 % aus weißen Patienten. Die anderen beiden Teilkohorten setzen sich ethnisch aus kaukasischen Patienten, Hispanoamerikanern und Schwarzen zusammen. Von den 543 analysierten Patienten der Berliner Kohorte konnten 385 (70,9%) Patienten einer der vier diagnostischen Kategorien zugewiesen werden (normale Nierenfunktion, stabile CKD, pAKI und iAKI); 158 Patienten konnten keiner Diagnose eindeutig zugewiesen werden und blieben unklassifizierbar. Die klinischen Verläufe endeten bei 36 Patienten (6,6 %) mit dem Tod oder mit dem Beginn einer Hämodialyse.

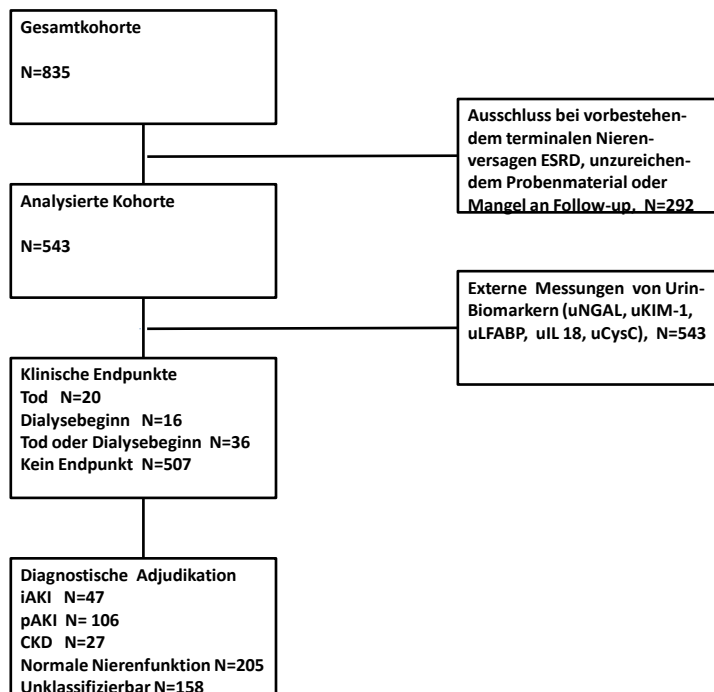


Abbildung 2: Flussdiagramm Patientenklassifikation

Die Ausgangscharakteristiken der diagnostischen und Verlaufgruppen sind in Tabelle 1 dargestellt. Es wurden zu den einzelnen Gruppen demografische Daten (Alter, Geschlecht),

Aufnahmeparameter (systolischer Blutdruck, Herzfrequenz, Schockindex) und Komorbiditäten (Vorerkrankung an chronischer Niereninsuffizienz, Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, koronare Herzerkrankung, Herzinsuffizienz, periphere arterielle Verschlusskrankheit, zerebrovaskuläre arterielle Erkrankungen, Lebererkrankungen) erhoben und es wurden dann die Unterschiede zwischen den einzelnen Kategorien auf Signifikanz geprüft. Es zeigte sich, dass unter den Patienten mit klinischem Endpunkt (also Dialysebeginn im Krankenhaus und / oder Tod im Krankenhaus) eine signifikant höhere Rate an komorbiden Patienten mit einer vorbestehenden chronischen Niereninsuffizienz (CKD) war ($p < 0.001$). Noch höher war die CKD-Rate bei Patienten mit einer intrinsischen AKI (iAKI) ($p < 0.0001$). Ebenso unterschieden sich Patienten mit iAKI von anderen Gruppen hinsichtlich einer höheren Rate von komorbiden Lebererkrankungen (23.4%, $p < 0.0001$). Es wurde die Nierenfunktion der einzelnen Gruppen anhand von Kreatininwerten und GFR-Werten untersucht. Die Nierenfunktionsparameter waren bei Patienten mit iAKI erwartungsgemäß hochsignifikant im Vergleich zu den anderen diagnostischen Gruppen. Ebenfalls hoch signifikant waren Patienten mit iAKI assoziiert mit klinischen Endpunkten wie Tod und / oder Dialyse ($p < 0.0001$). Desweiteren wurden klinische Parameter wie die Aufenthaltslänge oder die Durchführung eines nephrologischen Konsils aufgenommen (nephrologisches Konsil mit $p = 0.0001$ hochsignifikant bei Patienten mit iAKI). Auch die Signifikanz der Biomarker zeigte sich innerhalb der Patientencharakteristiken bei Patienten mit iAKI im Vergleich zu den anderen diagnostischen Gruppen hochsignifikant. Hier waren hochsignifikant erhöht NGAL Elisa, NGAL WB und uKIM-1, wobei NGAL Elisa mit $p = 0.0001$ die höchste Signifikanz aufwies.

3.1.1. Die Patientencharakteristiken im Vergleich mit den Patientencharakteristiken der multizentrischen Studie

Ein Unterschied im Vergleich der Berliner Teilkohorte und der Gesamtstudie ist die ethnische Zusammensetzung. Während in der Berliner Kohorte nur kaukasische Patienten vorkommen, finden sich in den anderen beiden Kohorten der Gesamtstudie nur 54 % weiße Patienten, dazu aber 15% Schwarze und 29% Patienten hispanoamerikanischer Herkunft. Der Anteil an Weißen mit iAKI lag in der multizentrischen Kohorte signifikant höher als bei den anderen Ethnien, mitbedingt durch die ethnische Zusammensetzung der Berliner Teilkohorte. In beiden Kohorten war iAKI signifikant mit vorbestehender CKD assoziiert ($p < 0.001$). iAKI war in beiden Kohorten stark mit Lebererkrankungen assoziiert ($p < 0,001$). Auch die Veränderung vom Baseline- Kreatininwert zum Aufnahme-Kreatininwert unterscheidet sich bei iAKI in beiden Kohorten kaum; das Veränderungsverhältnis lag bei 2.4 (Berlin), versus 2.5 (Gesamtkohorte), beide mit $p < 0.001$ signifikant verschiedenen von allen anderen Patienten. Klinische Endpunkte: In der Gesamtkohorte waren das 72 Patienten (4,4 %).

Tabelle 1: Charakteristika der Patienten nach Diagnose und klinischem Endpunkt

Charakteristiken	Gesamtkohorte	Patienten mit klinischem Endpunkt‡	Patienten ohne klinischen Endpunkt	Patienten mit iAKI #	Patienten mit pAKI, stabiler CKD oder normaler Funktion	Unklassifizierte Patienten†
N	543	36	507	47	338	158
Demographische Daten						
Alter	67.5 (15.6)	68.5 (17.6)	67.5 (15.5)	67.0 (18.6)	66.9 (15.5)	69.0 (15.0)
Geschlecht (male) (%)	55.8	41.7	56.8	40.4	56,8	58.2
Aufnahmeparameter						
Syst. Blutdruck, mm Hg	134.1 (25.73)	126.7 (30.11)	134.6 (25.32)	122.5 (28.37)	134.9 (23.76)	135.8 (28.12)
Herzfrequenz, min ⁻¹	86.12 (23.02)	89.81 (27.93)	85.9 (22.64)	85.7 (21.57)	84.0 (22.84)	90.7 (23.28)
Schockindex > 0.8 (%)	23,6	35.5	22.8	38.9	19.9	27.6
Komorbiditäten						
CKD (%)	30.6	52.8**	29.0	55.3***	22.4	40.4*
Diabetes (%)	30.6	30.6	30.6	31.9*	26.5	38.9**
Hypertonie (%)	72.1	69.4	72.3	59.6	72.6	74.7
Koronare Herzerkrankung (%)	30.9	31.4	30.9	23.4	32.4	30.1
Herzinsuffizienz (%)	59.3	65.7	58.9	54.3*	56.1	67.5*
pAVK (%)	10.1	5.7	10.4	8.5	8.9	13.1
Zerebrovaskuläre arterielle Erkrankungen (%)	8.7	8.6	8.7	6.4	8.3	10.5
Lebererkrankung (%)	6.9	16.7*	6.2	23.4***	5.5	5.1
Nierenfunktion						
Basales sCr, mg/dl	0.9 (0.4-3.0)	0.9 (0.5-2.6)*	0.9 (0.4-3.0)	1.0 (0.5-2.2)**	0.9 (0.4-2.6)	0.9 (0.4-3.0)***
sCr bei Aufnahme, mg/dl	1.1 (0.8-1.5)	2.6 (1.1-4.0)***	1.0 (0.8-1.4)	2.9 (1.6-4.3)***	1.0 (0.8-1.3)	1.1 (0.9-1.7)
Veränderungsverhältnis im sCr vom basalen Wert zur Aufnahme	1.2 (1.0-1.4)	1.7 (1.2-3.0)**	1.2 (1.0-1.4)	2.4 (1.6-4.4)***	1.2 (1.0-1.3)	1.2 (1.1-1.3)***
eGFR bei Aufnahme, ml/min	66.4 (32.57)	35.4 (29.08)***	68.6 (31.7)	26.3 (19.53)***	73.3 (29.52)	63.47 (32.95)0*!
Klinische Endpunkte						
Länge des Aufenthalts, Tage	9 (1-85)	12 (2-81)	8 (1-85)	8 (2-42)	8 (1-85)	10 (2-81)
Dialyse (%)	2,9	-	-	23.4***	0.6	1.9
Tod ohne vorherige Dialyse (%)	3.7	-	-	17.0***	1.8	3.8
Tod oder Dialyse (%)	6.6	-	-	40.4***	2.4	5.7
Intensivstation (%)	24.7	50	-	27.7	24.0	25.3
Nephrologisches Konsil (%)	10.9	41.7	-	57.4***	3.8	12.0
Urin-Biomarker						
uNGAL WB, ng/ml	30(14-90)	150 (30-575)**	30 (12-80)	350 (70-1000)**	24 (10-60)	40(15-127.5)
uNGAL ELISA, ng/ml	32.7(12.4-104.5)	193,9(30.9-684.4)*	30 (11.8-87.4)	354.8 (64.7-1222.4)***	24.5 (10.4-67.7)	41 (17.9-154.8)
uKIM-1, pg/ml	1563.8(676.52-3704.2)	2947.3(1774.2-5081.4)*	1476.6 (660.16-3427)	3217.7 (1405.1-5259.4)**	1269.9 (541.5-2846.5)	2177.9 (938.9-4361.7)**
uIL 18, pg/ml	32(15-92)	65 (20.75-189.75)	30 (15-85)	65 (23-213)*	23 (13-64)	48 (23-134)
uLFABP, ng/ml	4.2(1.4-16.26)	17.9 (3.36-50.5)*	4 (1.21-13.88)	12.6 (3.5-46)*	3.1 (0.9-10.5)	7.2 (2.2-35.5)**
uCysC, pg/ml	74.5(32,38-180.5)	149.1 (50.9-2243.35)	71.1 (31.4-168.5)	135.1 (51.7-856.8)*	60 (27-140.6)	103.5 (50-159.3)

Werte sind n, Mittelwert ±SD oder Median (IQR)

‡ verglichen mit Patienten ohne klinische Ereignisse (* p<0.05, ** p<0.01, p<0.001, ***p<0.0001)

verglichen mit Patienten mit prärenalem AKI, CKD oder normaler Funktion (* p<0.05, ** p<0.01, p<0.001, ***p<0.0001)

† verglichen mit allen adjudizierten Patienten (* p<0.05, ** p<0.01, p<0.001, ***p<0.0001), Einheiten: NGAL

3.2. Diagnose von iAKI

Unter der Fragestellung, wie gut Biomarker im Vergleich zur konservativen Diagnostik mit sCr-Messungen die Diagnose iAKI von anderen Formen des Nierenversagens abgrenzen können, wurde zunächst der zeitliche Verlauf der sCr –Änderungen und damit verbunden der RIFLE-Kategorien ausgewertet. Dabei erwies es sich in einem Teil der Fälle als schwierig, den Verlauf der Kreatininwerte korrekt zu erfassen, weil nicht bei allen Patienten dokumentierte Normalwerte als Ausgangswerte vorlagen. Es wurde dann, sofern die Werte nicht bei den Hausärzten zu recherchieren waren, der niedrigste im Krankenhaus gemessene Werte als Ausgangswert angenommen. Im Gegensatz zu den Patienten der anderen Diagnosegruppen wies ein großer Teil der Patienten mit iAKI schon zum Aufnahmezeitpunkt die für ihn maximale RIFLE-Kategorie auf. Das waren 37 von 47 Patienten (n = 37; 78.7%). Die übrigen Patienten der diagnostischen Gruppen erreichten erst im Verlauf die für sie höchste RIFLE - Kategorie. Es waren bei Patienten mit iAKI schon bei Aufnahme die sCr-Werte höher als bei den anderen Patienten, entsprechend war auch die Abweichung vom Basiswert bei Patienten mit iAKI signifikant höher als bei Patienten mit pAKI oder CKD (Tabelle 1). Die sCr-Werte bei Aufnahme und das Verhältnis der Einlieferungswerte zu Baseline-sCr-Werten waren verlässliche Indikatoren für die Diagnose von iAKI (AUC-ROC: 0.91 [95%-Konfidenzintervall: 0.86-0.95] siehe Tabelle 2 und 0.92 [95%-Konfidenzintervall: 0.88-0.97]). Jedoch konnten Kreatininwerte nur als Indikatoren für die Diagnose von iAKI gewertet werden, wenn sie bei Aufnahme schon erhöht waren, Der sCr-Wert bei Aufnahme sagte iAKI nicht voraus, wenn er noch im mittleren Bereich (0.9-1.3 mg/dl) lag (AUC- ROC: 0.6 [95%-Konfidenzintervall: 0.39-0.81]). Ebenso wenig konnten anhand der sCr-Werte bei Aufnahme Kreatininanstiege über das minimale RIFLE – Kriterium vorhergesagt werden. (> 1.5-fach, AUC-ROC: 0.65 [95%-Konfidenzintervall: 0.56– 0.7]).

Hierin zeigte sich die oben beschriebene Limitation der konservativen Diagnostik mit sCr – Werten.

Zum Vergleich wurden dann die Biomarkerwerte analysiert.

Alle bei Aufnahme gemessenen Urin-Biomarker-Werte (Tabelle 1) unterschieden sich signifikant zwischen Patienten mit iAKI und Patienten ohne iAKI. Die höchste Signifikanz war bei uNGAL ELISA zu verzeichnen (nach T-Test: $p < 0.001$), für uNGAL WB und uKIM-1 ergab sich eine hohe Signifikanz ($p < 0.01$) und auch uL18, uLFABP und uCysC unterschieden iAKI signifikant von den anderen Diagnosen ($p < 0,05$). Zusätzlich zur Unterscheidung der Diagnose iAKI oder Non-iAKI wurde die Höhe der einzelnen Biomarker für jede einzelne der Diagnosegruppen (pAKI, CKD; normale Nierenfunktion und nicht

klassifizierbare Patienten) ermittelt. Die Ergebnisse sind grafisch anhand von Boxplots in Abbildung 3 dargestellt.

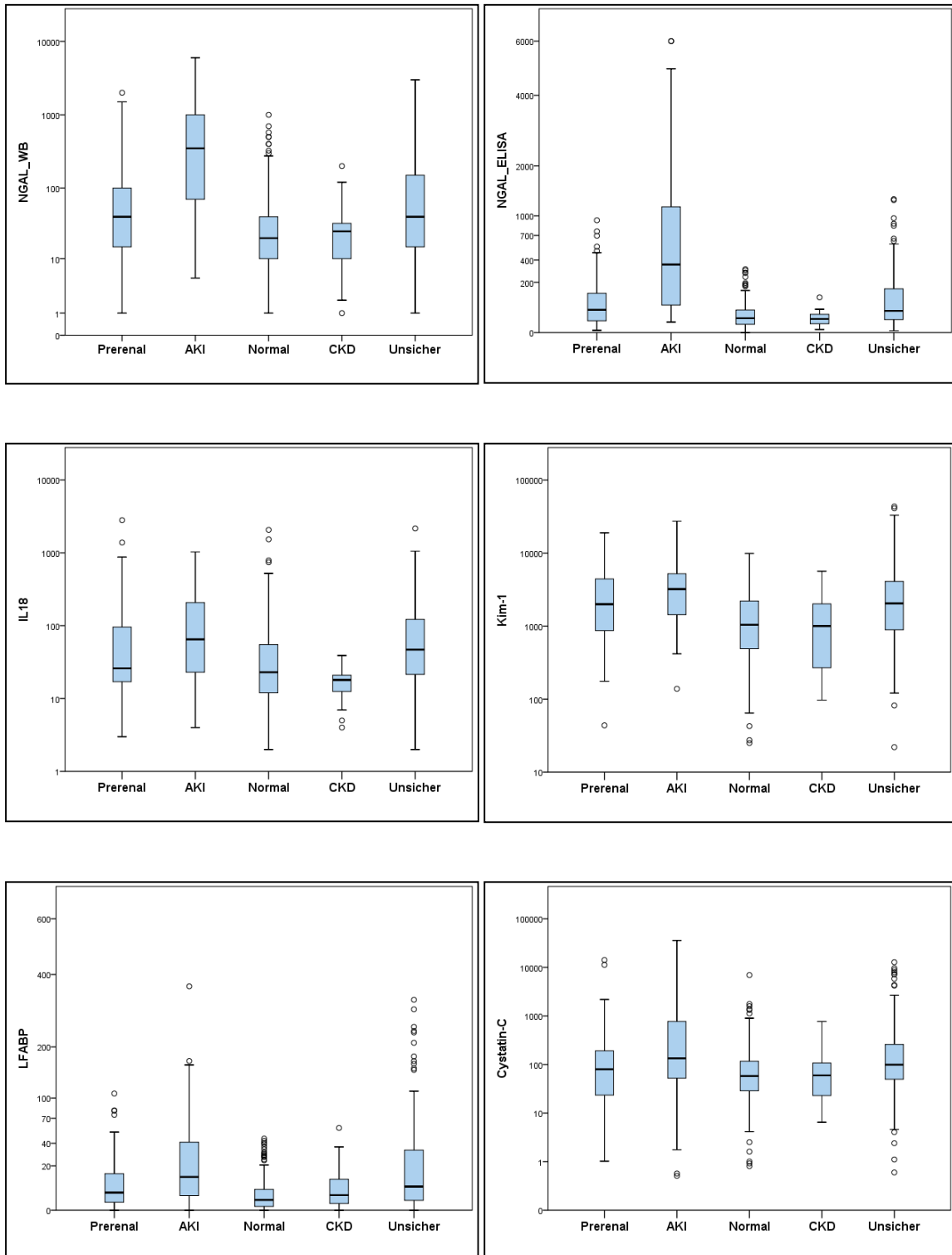


Abbildung 3: Boxplots von Patienten mit iAKI im Vergleich zu Patienten ohne iAKI. Die Biomarker sind auf einer log 10 oder log 0.5 Skala aufgetragen. Die Boxen zeigen den Median sowie die unteren und oberen Quartile. Die Begrenzung oberhalb und unterhalb der Boxen kennzeichnet Daten innerhalb des 1.5-Interquartilsabstandes der log-transformierten Biomarker-Spiegel von den oberen bzw. unteren Quartilen. Die Kreise zeigen Ausreißer.

3.3. Test-Charakteristika von Biomarkern bei der Diagnose von iAKI

Es wurde genauer analysiert, wie gut in der vorliegenden Kohorte jeder einzelne Biomarker zur Diagnosestellung eines iAKI geeignet war. Alle Biomarker waren bei iAKI erhöht, jedoch war Urin-Neutrophil Gelatinase assoziiertes Lipocalin (uNGAL) am geeignetsten bei der Diagnosestellung. Es wurden Cutoff-Level gewählt gemäß dem 25. und 75. Perzentil. Ein uNGAL WB Niveau von 90 ng/ml (entspricht dem 75. Perzentil) wies eine hohe Spezifität (0.83) und ein hohes positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis (4.00) in der Diagnose von AKI auf und war prädiktiv für die Dauer und Schwere der AKI. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass ein uNGAL Niveau von > 90 ng/ml für iAKI spricht. Bei der Untergrenze von 14 ng/ml (25. Perzentil) betrug die Sensitivität 0.98 und es ergab sich ein negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis von 0.07. Somit konnte bei diesem uNGAL Niveau iAKI mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Auch uNGAL ELISA wies bei dem oberen Cutoff von 104.5 ng/ml (75. Perzentil) eine hohe Spezifität (0.83) und ein hohes positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis (4.00) auf. Bei dem unteren Cutoff von 12.8 ng/ml betrug die Sensitivität 100% und das negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis 0. Somit eignete sich dieser Biomarker ebenfalls, um zu differenzieren, ob AKI vorlag oder nicht. In der Jacc Studie [1] wurde die Wahl der Cutoffs den klinisch am besten geeigneten Cutoffs angepasst. Dabei wurde ein Cutoff von 104 ng/ml für NGAL gefunden, der im klinischen Sinne die besten Werte für Sensitivität und Spezifität erbrachte. Ein Cutoff von 104 ng/ml entspricht auch dem 75. Perzentil in der Berliner Kohorte. In der vorliegenden Studie wurde der untere Cutoff-Wert beim 25. Perzentil festgelegt, nicht wie in der multizentrischen Studie beim 60. Perzentil und unterscheidet sich hiermit von der multizentrischen Studie. Mit einem Cutoff von 12,8 ng/ml in der vorliegenden Arbeit wurden für uNGAL eine höhere Sensitivität (100 %) und ein niedrigeres negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis erzielt als in der multizentrischen Studie. Dort lag die Sensitivität bei einem Cutoff von 47ng/ml (entspricht dem 60. Perzentil) nur bei 82 %, das Negative Wahrscheinlichkeitsverhältnis bei 0,27. Die AUC-ROC-Analyse weist auch in der vorliegenden Studie auf gute Unterscheidungsfähigkeit von uNGAL WB und uNGAL ELISA (AUC-ROC: 0.84 bzw. 0.83), ausreichende Unterscheidungsfähigkeit für uKIM-1 (AUC-ROC 0.71) und schlechtere Unterscheidungsfähigkeit für uIL18, uCysC und uLFABP (AUC-ROC: 0.68, 0.66 und 0.68) hin, um iAKI von den anderen Diagnosen abzugrenzen. Zwischen uNGAL ELISA und allen anderen Biomarkern ergaben sich dabei hoch signifikante Unterschiede ($p < 0.01$ für uKIM-1, uLFABP und uCysC sowie $p < 0.001$ für uIL 18).

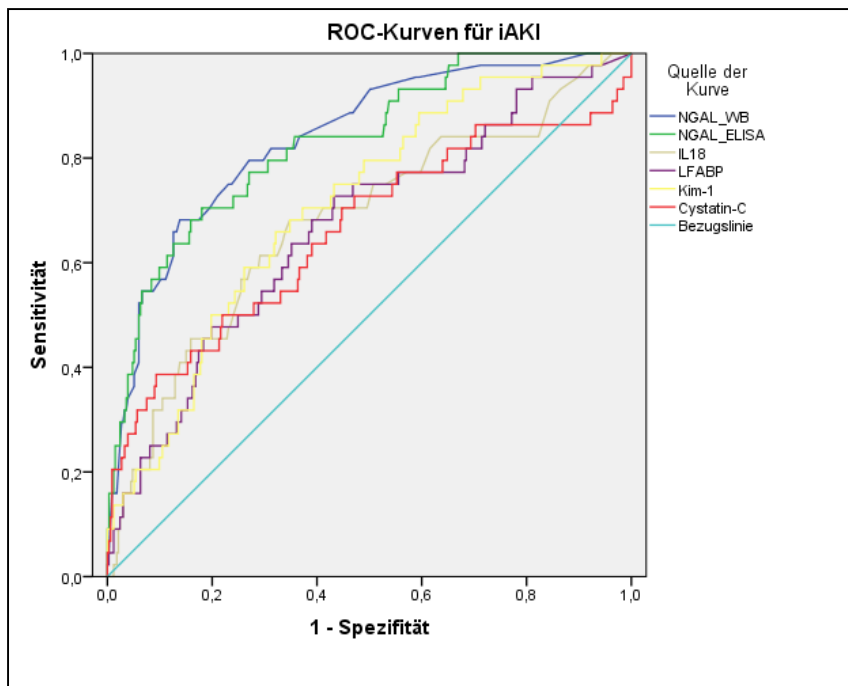


Abbildung 4: ROC-Kurven für Urin-Biomarker zur Detektion von iAKI (versus prärenal AKI, stabiler CKD und normaler Nierenfunktion). Die diagonale Referenzlinie unter der Kurve (AUC-ROC) von 0.5 ist zum Vergleich gezeigt.

Tabelle 2: Testcharakteristika von Urin-Biomarkern bei der Diagnose von iAKI einschließlich einer AUC-ROC Analyse, Vorhersagewerten und Wahrscheinlichkeitsverhältnissen

Urin-Biomarker	AUC-ROC (0.95% CI)	Cutoff Level	Sensitivität %	Spezifität %	Positiver Vorhersagewert %	Negativer Vorhersagewert %	Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis	Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis
uNGAL WB	0.84 (0.78-0.9)	14	98	29	16	99	1.38	0.07
		90	68	83	36	95	4.00	0.39
uNGAL ELISA	0.83 (0.77-0.9)	12.4	100	31	17	100	1.45	0
		104.5	68	83	36	95	4.00	0.39
uKIM-1	0.71 (0.63-0.79)**	676.51	87	30	15	97	1.24	0.43
		3704.24	43	80	24	92	2.15	0.71
uIL 18	0.68 (0.59-0.77)***	15	85	31	14	93	1.23	0.48
		92	47	82	26	92	2.60	0.65
uLFABP	0.68 (0.6-0.76)**	1.35	83	31	14	93	1.20	0.55
		16.3	40	83	25	91	2.35	0.72
uCysC	0.66 (0.56-0.76)**	32.38	79	30	14	94	1.13	0.31
		180.46	40	80	23	92	2.00	0.70
sCr	0.91 (0.86-0.95)	0.8	100	25	16	100	1.33	0
		1.5	79	84	42	97	4.93	0.25

Zwei Cutoff-Werte wurden für jeden Biomarker analysiert entsprechend dem 25. (Untergrenze) und 75. (Obergrenze) Perzentil der Biomarkerniveaus der gesamten Kohorte. Biomarkerwerte in ng/ml, sCr in mg/dl

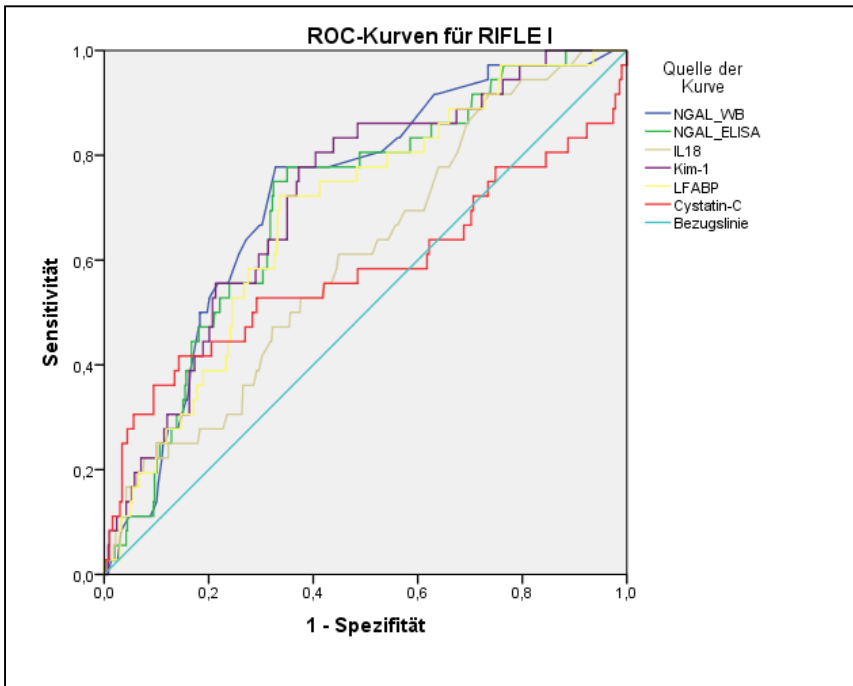
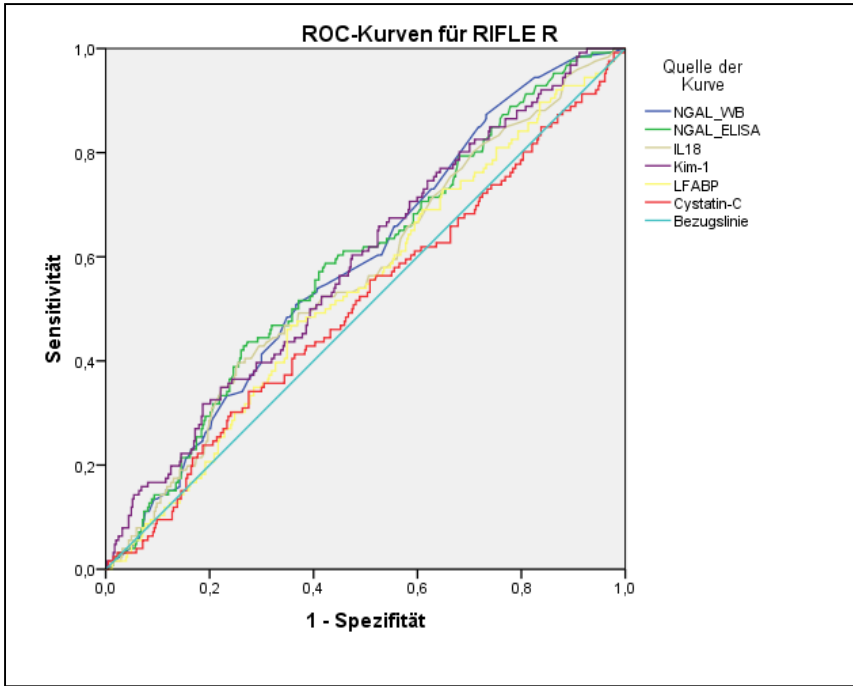
Vergleiche mit uNGAL_ELISA (*p < 0.05, **p < 0.01 und ***p < 0.001)

3.4. Detektion der Schwere und Dauer von AKI

Mit der Zielstellung, zu analysieren, inwieweit die Biomarker-Werte mit der Dauer und der Schwere des Nierenversagens korrelieren, wurden weitere Analysen durchgeführt. Es ist bekannt, dass iAKI eine längere Dauer und schwerere Verläufe (höhere RIFLE-Klassen) des Nierenversagens aufweist als pAKI [7, 53]. Das Zeitkriterium ist eines der Kriterien zur klinischen Einteilung in diagnostische Gruppen (siehe Abschnitt 2.2.). Für die Analyse der Dauer des Nierenversagens wurde die gesamte Kohorte in drei Untergruppen eingeteilt: vorübergehende AKI (definiert als RIFLE-AKI, die innerhalb von 72 h regredient war) und anhaltende AKI (RIFLE-AKI, die länger als 72 h anhielt), sowie als Vergleichsgruppe: keine AKI. uNGAL WB und uNGAL ELISA waren hochsignifikant höher bei Patienten mit anhaltender AKI verglichen zu Patienten mit vorübergehenden AKI-Episoden ($p = 0.001$ bei NGAL ELISA und $p = 0.002$ bei NGAL WB). Der p-Wert von uLFABP betrug $p = 0.024$ und war somit ebenfalls signifikant im Unterschied zwischen vorübergehender und anhaltender AKI. Cystatin C zeigte einen grenzwertig signifikanten p-Wert ($p = 0.045$). uKIM-1 und uL 18 waren nicht signifikant verschieden zwischen anhaltender und vorübergehender AKI (uKIM-1: $p = 0.054$ und uL18: $p = 0.75$).

Zur Analyse der Biomarker-Werte im Verhältnis zur Schwere des Nierenversagens teilten wir die Kohorte nach RIFLE-Klassen ein und untersuchten dabei die RIFLE –Spitzenklassen bis zum siebenten Tag nach der Aufnahme. 130 (23.9%) Patienten erreichten RIFLE-Klasse R als Spitzenklasse, 37 (6.8%) Patienten erreichten RIFLE-Klasse I als Spitzenklasse; in Klasse F fanden sich 19 (3.5%) Personen. Anschließend wurden für jede RIFLE-Spitzenklasse ROC-Kurven erstellt mit jeweils allen Biomarkern als Prädiktoren. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Grafik dargestellt.

In der niedrigsten Spitzenklasse R, die von den meisten Patienten erreicht wurde, waren die Biomarker nicht im Stande, diese zu diagnostizieren. Die ROC-Kurven lagen dementsprechend nahe an der Diagonale.



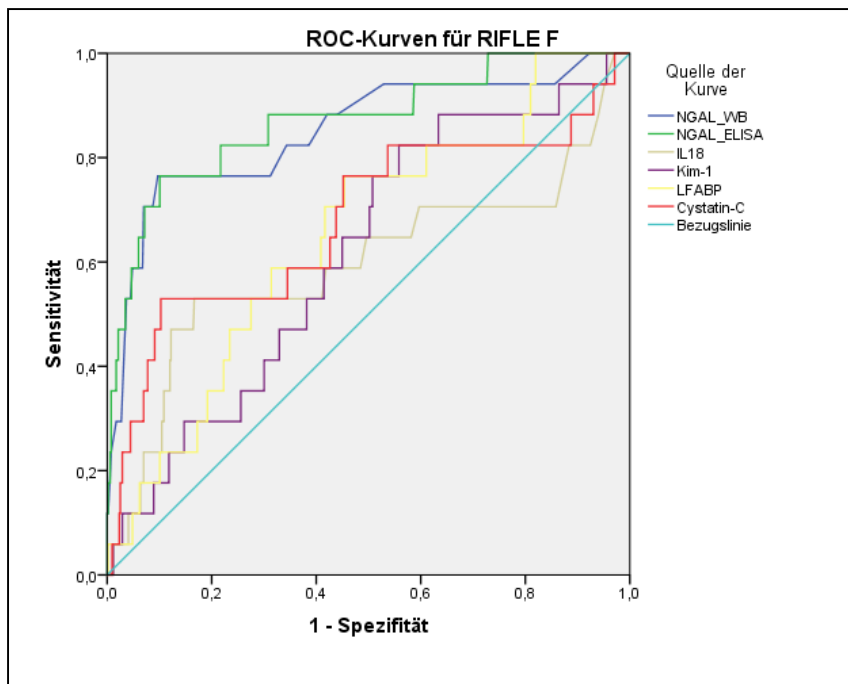


Abbildung 5: ROC-Kurven für Urin-Biomarker zur Detektion der RIFLE-Klassen von iAKI

Im Vergleich zu allen anderen Biomarkern stiegen die uNGAL–Werte am deutlichsten mit der RIFLE-Schwere-Klasse an. Dementsprechend stieg der AUC-ROC für uNGAL progressiv an für die Vorhersage von RIFLE-R, RIFLE–I und RIFLE–F, während progressive Anstiege für andere Biomarker nicht gegeben oder weniger deutlich waren.

uNGAL war von allen Biomarkern sowohl in der multizentrischen Studie, als auch in der vorliegenden Kohorte der beste Indikator für die Dauer und die Schwere des Nierenversagens

3.5.Vorhersage klinischer Ergebnisse

Ziel war es, herauszufinden, welche Prädiktoren und Biomarker einen ungünstigen klinischen Verlauf in der Kohorte am besten vorhersagen können. Wie in Tabelle 1 ersichtlich wird, erreichten die Patienten mit iAKI häufiger den klinischen Endpunkt, definiert als Tod oder Dialyse während des Krankenhausaufenthaltes als Patienten der anderen diagnostischen Gruppen. Um die besten Prädiktoren für ungünstige klinische Verläufe zu finden, wurde eine logistische Regression berechnet mit dem kombinierten Endpunkt (Tod oder Dialyse) als abhängiger Variable. Zunächst sollte ein konventionelles Basismodell berechnet werden, welches demografische Parameter wie Komorbiditäten (z.B. Herzinsuffizienz, arteriellen Hypertonus oder CKD), Vital-Parameter (HF, RR, Schock-Index) und Nierenfunktionsparameter enthalten könnte. Dabei wurde für jeden Prädiktor eine univariate Regression gerechnet. Eine multiple logistische Regressionsanalyse wurde mit Prädiktoren, die in den univariaten Analysen signifikant waren, berechnet mit Hilfe der

Rückwärtsselektion. Das Resultat war ein konventionelles Basismodell (Tabelle 3), in dem der einzige signifikante Prädiktor Serum Creatinin war.

Dann fügten wir zu diesem Basismodell jeden Biomarker einzeln hinzu (Tabelle 3, Modelle 1 bis 6), um zu überprüfen, ob jeder hinzugefügte Biomarker die Vorhersagekraft des Basismodelles verbessern konnte und ob die globale Modellgüte, ausgedrückt durch das Nagelkerkesche R^2 , dadurch verbessert werden konnte. In der Tabelle 3 kann man sehen, dass alle Odds Ratios > 1 sind, d.h. es bestehen positive Zusammenhänge zwischen der Ausprägung der Biomarker und dem klinischen Endpunkt.

Anschließend wendeten wir Methoden der schrittweisen Rückwärtsselektion an, um Kombinationen von Biomarkern zu identifizieren, die unabhängig zur Vorhersagekraft des Verlaufs beitrugen.

Tabelle 3: Multivariate logistische Regression der Urin-Biomarker bei der Vorhersage des kombinierten Endpunktes (Dialyse oder Tod)

Kovariaten*†	Basismodell	Modell 1	Modell 2	Modell 3	Modell 4	Modell 5	Modell 6	Modell 7#
	RSQ = 0.11	RSQ = 0.16 IDI = 0.035**	RSQ = 0.17 IDI = 0.039**	RSQ = 0.11 IDI = 0.0066	RSQ = 0.13 IDI = 0.0151	RSQ = 0.15 IDI = 0.0288**	RSQ = 0.11 IDI = 0.003	RSQ = 0.19 IDI = 0.0451***
sCr	5.31 (2.63-10.72)	3.92 (1.9-8.1)	3.89 (1.88-8.1)	4.47 (2.16 – 9.25)	5.25 (2.59-10.64)	4.77 (2.34-9.72)	4.23 (2.04-8.79)	3.82 (1.83-7.97)
uNGAL WB		3.76 (1.8-7.8)						
uNGAL ELISA			4.00 (1.9-8.3)					3.07 (1.40-6.70)
uKIM-1				2.13 (1.02-4.46)				
uIL 18					2.22 (1.09-4.54)			
uLFABP						3.22 (1.59-6.52)		2.25 (1.05-4.82)
uCysC							2.22 (1.06-4.63)	

*Alle Cutoffs befinden sich an den 75. Perzentilen, die Werte repräsentieren den Exponenten (B) (die Veränderung im Odds Ratio in Verbindung mit der Prädiktorvariablen, mit 95% Konfidenzintervallen).

† Alle multiplen logistischen Modelle sind an das Alter, die Aufnahmeparameter, Komorbiditäten und sCr angepasst.

‡ IDI vs. Basismodell

Schrittweises Selektionsmodell einschließlich sCr, uNGALWB, uNGALELISA, uKIM-1, uIL 18, uLFABP, uCysC

Es zeigte sich, dass uNGAL ELISA und uLFABP unabhängig voneinander zu einem kombinierten Prädiktionsmodell beitragen (Tabelle 3, Modell 7). Allerdings war R^2 beim kombinierten Modell nur etwas höher verglichen mit dem Einzelbiomarker-Modell. Um den inkrementellen Nutzen der Biomarker im Urin und deren Kombinationen detaillierter zu

untersuchen, berechneten wir IDI, indem wir Biomarker-gestützte Modelle (Modelle 1-6) mit dem sCr-basierten Basismodell verglichen. Diese Methode vergleicht die von jedem Modell abgeleitete Risikoschätzung separat für Patienten mit klinischem Endpunkt (Ereignisse) mit Patienten ohne klinischen Endpunkt (Nichtereignisse). Eine auf Biomarkern basierende Risikoschätzung erreicht eine positive IDI im Vergleich zu einer konventionellen Risikoschätzung, wenn für Patienten mit Ereignissen ein höheres Risiko geschätzt wird und wenn für Patienten ohne Ereignisse ein geringeres Risiko geschätzt wird. Im Modell 1 (mit sCr und uNGAL WB) wurde eine IDI von 0.035 ($p < 0.01$) erreicht. Ebenfalls signifikante Verbesserung der Risikoeinschätzung ergab sich in den Modellen 2 mit sCr und uNGAL ELISA (IDI = 0.039, $p < 0.01$) und Modell 5 mit sCr und uLFABP (IDI = 0.029, $p < 0.01$). Das uNGAL-gestützte Modell erreichte auch eine signifikante IDI im Vergleich zu Modellen, die Kim-1 (IDI = 0.032, $p < 0.01$), uIL 18 (IDI = 0.024, $p < 0.01$) oder uCysC (IDI = 0.003, $p < 0.001$) (Modelle 3, 4 und 6) nutzten (in Tabelle 3 nicht dargestellt). Ein dreifaches Modell mit sCr, uNGAL ELISA und uLFABP (Modell 7) erreichte keine signifikante IDI im Vergleich mit einem doppelten Modell mit sCr und uNGAL (IDI = 0.006, $p = 0.3954$) (in Tabelle 3 nicht dargestellt). Diese Daten zeigen, dass uNGAL und uLFABP jeweils für sich die Risikoeinschätzung verbessern, wenn sie mit sCr-Werten kombiniert werden, während eine Kombination von uNGAL und uLFABP nicht die Vorhersagekraft erhöht.

Weitere Berechnungen wurden anhand der Modelle 2 und 5 mit den Biomarkern uNGAL ELISA und uLFABP vollzogen.

Tabelle 4: Net Reclassification Improvement anhand des Biomarker-unterstützten Vorhersagemodells

	Richtig reklassifizierte Patienten	Falsch reklassifizierte Patienten	Nettowert von Patienten mit einer Verbesserung der Reklassifikation	Nettoverbesserung der Reklassifikation, %
Modell mit uNGAL ELISA vs. Basismodell				
Nonevents	72 (14.2%)	0	72 (14.2%)	12.0%**
Events	0	7 (19.4%)	7 (19.4%)	
Modell mit uLFABP vs. Basismodell				
Nonevents	81 (16%)	0	81 (16%)	13.1%**
Events	0	10 (27,8%)	10 (27,8%)	

Die Werte sind in (%) angegeben.

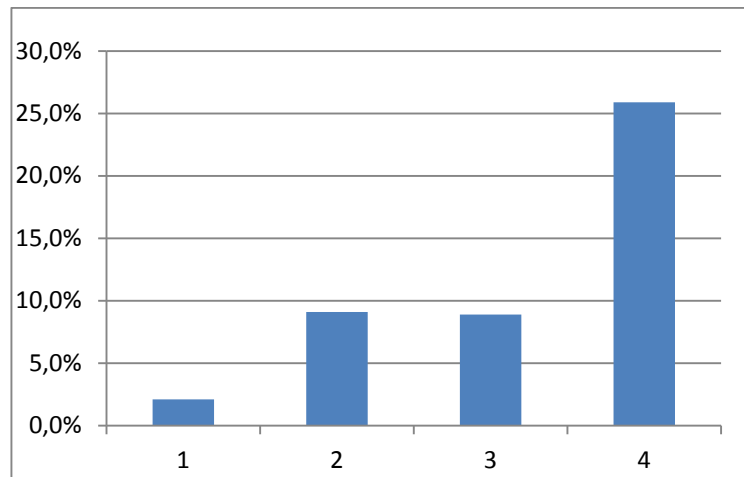
* $p < 0.05$

Danach wurden die Patienten reklassifiziert, indem das Modell mit Kreatinin (Basismodell) den erweiterten Modellen mit uELISA und uLFABP auf Basis der individuellen Wahrscheinlichkeiten (NRI) gegenübergestellt wurde.

Eine adäquate Reklassifikation wurde als ein Aufsteigen bzw. Absteigen in die richtige Risikoklasse definiert. Um die NRI auf uNGAL und uLFABP basierend abzuschätzen, definierten wir drei Risikokategorien (< 2%, 2-15% und > 15%) für einen klinischen Endpunkt innerhalb unserer Notfallpopulation, welche auf der erwarteten Mortalitätsrate im Krankenhaus und / oder auf der im Krankenhaus erwarteten Einleitung einer Dialyse basierten. Als nächstes wurde jeder Patient einer dieser Risikoklassen zugeordnet, entweder auf Grundlage der Biomarker-gestützten Modelle (Modelle 2 oder 5) oder auf der Grundlage des Basismodells. Die Netto-Anzahl der Patienten mit einer Verbesserung der Klassifikation entsprechend der Aufteilung nach uNGAL-Werten lag bei 7 (19.2%) unter Patienten mit Ereignissen und bei 72 (14.2%) bei Patienten ohne Ereignissen (Tabelle 4).

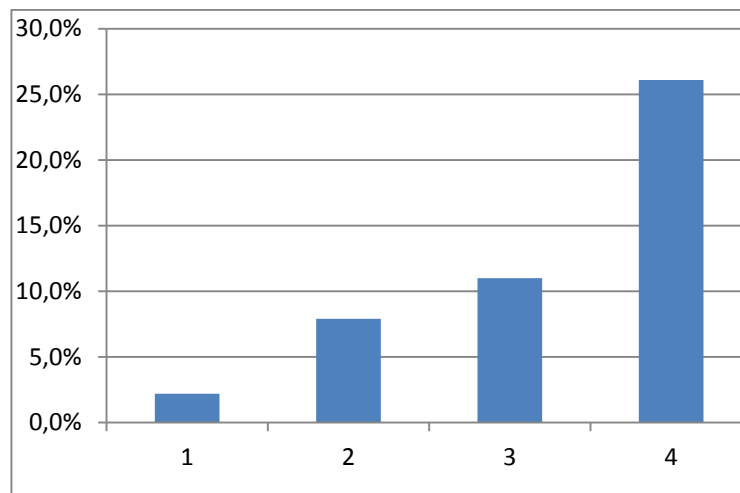
Die Netto-Anzahl von Patienten mit einer Verbesserung der Klassifikation entsprechend der Aufteilung nach uLFABP-Werten betrug 81 (16%) bei Patienten ohne Ereignissen und 10 (27.8%) bei Patienten mit Ereignissen (Tabelle 4). Demzufolge ermöglichte die Einführung von uNGAL und uLFABP eine NRI von 12% bzw. 13.1%. Die NRI war in der monozentrischen Studie insgesamt etwas geringer als in der multizentrischen Studie (über 20%). Dies könnte an der geringeren Stichprobengröße liegen und daran, dass dadurch in einigen Risikoklassen gar keine Patienten waren (bei den Events fanden sich z.B. keine Patienten unter den richtig Reklassifizierten).

Um diese Ergebnisse in eine diagnostische Strategie umzusetzen, unterteilten wir Patienten nach hohem und geringem Risiko auf der Grundlage von sCr-Werten und nutzten uNGAL oder uLFABP für eine weitere Differenzierung dieser Kategorien. Basierend auf den 75. Perzentil-Cutoffs, teilten wir Patienten in eine sCr⁺-Kategorie (sCr ≥ 1.5 mg/dl) und eine sCr⁻-Kategorie (sCr < 1.5 mg/dl) zum Zeitpunkt der Aufnahme ein. Diese zwei Gruppen von sCr⁺- und sCr⁻- Patienten wurden weiter in jeweils Biomarker-positive (Biomarker ≥ Cutoff beim 75. Perzentil) und Biomarker-negative (Biomarker < Cutoff beim 75. Perzentil) unterteilt. Die Ereignisraten innerhalb von sCr⁺- oder sCr⁻- Patienten waren substantiell unterschiedlich, je nachdem, ob sie Biomarker-positiv oder Biomarker-negativ waren (Abbildung 6). In der folgenden Abbildung sind Ereignisraten dargestellt, die sich jeweils für die vier Subgruppen ergeben. Die höchste Ereignisrate ergab sich bei der höchsten Risikoklasse (sCr und uNGAL positiv), die niedrigste Rate in der geringsten Klasse (sCr und uNGAL negativ). Die Ereignisraten innerhalb von sCr⁺ (Säulen 3 und 4) oder sCr⁻ (Säulen 1 und 2) waren substantiell unterschiedlich, je nachdem, ob sie Biomarker-positiv oder Biomarker-negativ waren (Abbildung 6).



sCr (mg/dl)	< 1.5	< 1.5	≥ 1.5	≥ 1.5
uNGAL ELISA (ng/ml)	< 104.5	≥ 104.5	< 104.5	≥ 104.5
	Geringes Risiko	Mittelgradiges Risiko	Hohes Risiko	

Signifikante Unterschiede zwischen Gruppen 1 und 2 ($p < 0.01$), sowie zwischen Gruppen 3 und 4 ($p < 0.01$)



sCr (mg/dl)	< 1.5	< 1.5	≥ 1.5	≥ 1.5
uLFABP (ng/ml)	< 16.3	≥ 16.3	< 16.3	≥ 16.3
	Geringes Risiko	Mittelgradiges Risiko	Hohes Risiko	

Signifikante Unterschiede zwischen Gruppen 1 und 2 ($p < 0.01$), sowie zwischen Gruppen 3 und 4 ($p < 0.05$)

Abbildung 6: Ereignisraten nach sCr- und Biomarker-Niveaus unterteilt für uNGAL ELISA und uLFABP

Insbesondere hatten etwa 14.2 % der Population einen niedrigen sCr-Wert, aber einen hohen uNGAL-ELISA-Wert bzw. 16.4 % einen niedrigen sCr-Wert und einen hohen uLFABP-Wert, was sie nach der konventionellen Methode dem geringen Risiko, nach der Biomarker-gestützten Methode jedoch der hohen Risikoklasse zugeordnet hätte.

4. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Bewertung der Biomarker hinsichtlich der Fähigkeit zur Differenzierung der diagnostischen Untergruppen von AKI, das heißt der Unterscheidung von iAKI gegenüber pAKI, stabiler CKD und normaler Nierenfunktion anhand eines einmal gemessenen Biomarkerwertes in der Notaufnahme. Außerdem ging es darum, anhand dieser Biomarker-Messung eine prospektive Risikoeinschätzung im Hinblick auf die Notwendigkeit einer Dialyse oder den Tod eines Patienten während eines folgenden Krankenhausaufenthaltes zu erleichtern. Für jedes der drei Zentren der multizentrischen Studie [1], deren Bestandteil die vorliegende Arbeit ist, galten die gleichen Aufnahmebedingungen und Bewertungskriterien bei der Adjudikationsprozedur. Jeder Patient, der in die Notaufnahme aufgenommen wurde, sich an der Studienteilnahme einverstanden erklärte und anschließend für mehr als 24 Stunden im Krankenhaus blieb, wurde in die Studie einbezogen. Um eine klinische Bewertung vorzunehmen, war zur Aktualisierung der Daten ein ausreichend langer Aufenthalt der Patienten im Krankenhaus notwendig. Deshalb wurden alle Patienten ausgeschlossen, die weniger als 24 Stunden hospitalisiert waren. Dies aber bewirkte eine Verzerrung zugunsten von kränkeren Patienten im Vergleich zu einem Einschluss aller Aufgenommenen [1].

Zur klinischen Beurteilung wurde eine Bewertungsprozedur mit speziellen Kriterien erarbeitet. Dadurch konnte jede einzelne Form des Nierenversagens definiert werden und jeder Patient konnte einer Kategorien (pAKI, iAKI, CKD, nicht klassifizierbar, normale Nierenfunktion) zugeteilt werden. Die Kriterien bei der Adjudikationsprozedur stützen sich auf die sCr-Dynamik und auf die Reaktion auf eine Therapie [7]. In der vorliegenden Studie wie auch in der multizentrischen Studie konnten rund drei Viertel (71%) der eingeschlossenen Patienten eindeutig einer diagnostischen Gruppe zugewiesen werden. Es verblieben ca. ein Viertel (29%) nicht klassifizierbare Patienten, die keiner eindeutigen Diagnose zugewiesen werden konnten (Unklassifizierbare). Es wurden dann unabhängig von den klinischen Adjudikationskriterien Biomarker-Analysen über die gesamte Kohorte hinweg durchgeführt. Im Ergebnis zeigte es sich, dass der diagnostische Wert der klinischen Adjudikation dem diagnostischen Wert der Urinbiomarker entsprach, das heißt, dass Urinbiomarker zur Diagnosestellung und Differenzierung der jeweiligen Form des Akuten Nierenversagens benutzt werden können. Von allen Biomarkern war uNGAL signifikant der beste bei der Diagnose von iAKI und zeigte auch im Vergleich zu den anderen Biomarkern eine engere Korrelation mit der Schwere und Dauer von AKI.

Auch sCr-Werte, sowohl anfangs gemessen, als auch in ihrer Änderung von den Basis-Werten konnten sehr gut iAKI-Patienten von anderen diagnostischen Gruppen unterscheiden. Die Kreatininwerte gehörten selbst zu den Diagnosekriterien im Adjudikationsprozess. Das könnte ein Grund sein für die gute Diskriminationsfähigkeit von

Kreatinin in den statistischen Analysen. Eine von Kreatinin unabhängige Aussage über die Art des Nierenversagens, d. h. über das Vorhandensein und Ausmaß von strukturellen Nierenschädigungen hätte sonst nur eine Biopsie erbringen können, deren Durchführung aber in einer Studie unpraktikabel ist. Außerdem hatten die meisten Patienten ihre Spitzen-RIFLE–Schwereklasse beim Besuch der Notaufnahme schon erreicht, wodurch wiederum keine diagnostischen Fähigkeiten im Sinne von Vorhersagefähigkeit von Kreatinin notwendig wurden. Daraus lässt sich schließen, dass der Gebrauch von Urin-Biomarker dann am nützlichsten ist, wenn die sCr-Dynamik nicht bekannt ist oder wenn die sCr-Werte sich noch im mittleren Bereich befinden und noch nicht signifikant erhöht sind.

Unsere Studie wie auch die Studie der multizentrischen Kohorte [1] konnte die bekannte Verbindung des jeweiligen Typs von AKI mit dem klinischen Verlauf bestätigen. So trat bei weniger als 3% der Patienten mit normaler Nierenfunktion, stabiler CKD, oder pAKI der Tod oder die Notwendigkeit der Einleitung einer Hämodialyse im Krankenhaus ein. Bei den Patienten mit iAKI waren es dagegen 40.4%. Es wurde schon in anderen Studien deutlich, dass hohe Urinbiomarkerwerte mit ungünstigen klinischen Verläufen in Verbindung stehen [7, 54-57]. So wurde in einer Studie von Nickolas 2006 die multiple logistische Regression zur Bestimmung der Vorhersagekraft von NGAL für ungünstige klinische Ereignisse wie Nephrologisches Konsil, Dialysebeginn und Aufnahme in die Intensivstation oder Tod angewandt und die odds ratio mit 24.71 bestimmt [7]. In einer Übersichtsstudie von Haase 2009 wurden odds ratio Werte von 18.6 beschrieben.

Da die vorliegende Studie eine relativ große Stichprobe untersucht hat, war es möglich, den Beitrag jedes einzelnen Biomarkers zu bewerten. uNGAL und uLFABP erwiesen sich als die besten Prädiktoren nachfolgender klinischer Ereignisse und verbesserten jeder für sich die Risikobeurteilung, wenn er mit der konventionellen sCr-basierten Vorhersage kombiniert wurde. Im Gegensatz dazu verbesserte die Kombination von uNGAL und LFABP nicht weiter die Risikoklassifikation.

4.1. Vergleich mit der multizentrischen Studie

Im Vergleich zur multizentrischen Studie, welche insgesamt 1635 Patienten einschloss, und welche die vorliegenden Daten beinhaltet, erzielten wir in allen relevanten Fragestellungen ähnliche Ergebnisse. Wie in der vorliegenden Studie erwies sich uNGAL auch in der multizentrischen Studie als der Biomarker, welcher am besten intrinsische AKI diagnostizieren konnte. uNGAL ELISA und uLFABP konnten in der vorliegenden Studie zusätzlich zum Kreatinin am besten den klinischen Endpunkt vorhersagen. In der multizentrischen Studie waren es dagegen die Biomarker uNGAL und uKIM-1. Die Werte für IDI fielen ähnlich aus. Die Werte für NRI waren in der vorliegenden Studie weniger signifikant als in der multizentrischen Studie. Ein Grund dafür könnte sein, dass in der vorliegenden

Studie bedingt durch die kleinere Stichprobe und geringere Anzahl von Probanden und Patienten mit klinischem Endpunkt einige Risikoklassen ohne Patienten blieben und deswegen in diesen Risikoklassen keine Reklassifikation vorgenommen werden konnte (bei den Events fanden sich z.B. keine Patienten unter den richtig Reklassifizierten).

Die besten Werte zeigten sich in der multizentrischen Studie bei uNGAL (RSQ = 0.12 und IDI = 0.022) und uKIM1 (RSQ = 0.12, und IDI = 0.017). Im Vergleich dazu waren die Werte für uNGAL ELISA in der vorliegenden monozentrischen Studie bei RSQ = 0.17 und IDI = 0.039. Bei NRI wurden die Biomarker benutzt, die sich in der Regressionsanalyse als die besten Biomarker erwiesen hatten, das waren in der vorliegenden Studie uNGAL ELISA und uLFABP. Entsprechend wurde in der multizentrischen Studie NRI für uNGAL und uKIM1 berechnet. uKIM1 (RSQ = 0.12, IDI = 0.017) war in der multizentrischen Studie der zweite relevante Biomarker neben uNGAL, in der vorliegenden Studie war es aber uLFABP (RSQ = 0.15, IDI = 0.0288)

4.2. Ergebnisse im Vergleich mit anderen Studien

In einem Review von Devarajan [58] wurden im Jahr 2010 17 Studien mit unterschiedlichen Kohorten hinsichtlich der Vorhersagekraft von uNGAL für AKI ausgewertet und in einer Übersicht zusammengestellt. In einigen Studien mit Kindern nach elektiver kardialen Operation zeigte sich hier eine hervorragende Vorhersagefähigkeit von Urin- (und Plasma-) NGAL mit einer Fläche unter der ROC-Kurve von > 0.9 [59-61]. Bei Studien mit Erwachsenen nach kardialer Operation waren die Ergebnisse etwas weniger gut mit Flächen unter der ROC-Kurve von 0.61 bis 0.96 [38, 62-67]. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie liegen mit Flächen unter der ROC-Kurve von 0.84 bei uNGAL WB und 0.83 bei uNGAL ELISA vergleichbaren Bereichen wie die Ergebnisse dieser Studien. Der Unterschied im Vergleich zu den besseren Ergebnissen bei Kindern könnte verursacht werden durch die höheren Komorbiditäten älterer Patienten wie z.B. vorbestehende Nierenerkrankungen und Komorbiditäten wie Diabetes [58].

Desweiteren wurde in dieser Metaanalyse [58] wie auch in der vorliegenden Arbeit beschrieben, dass uNGAL-Anstiege gut mit der Schwere von AKI bzw. den jeweiligen RIFLE-Klassen korrelieren. Auch in einer Studie von Haase-Fielitz 2009 wurden mit dem Ansteigen der RIFLE-Klassen ansteigende Flächen der ROC-Kurven von 0.72 bei RIFLE R, 0.79 bei RIFLE I und 0.8 bei RIFLE F beschrieben [68]. In einer anderen Studie von de Geus wurden AUC-ROC von 0.77 bei RIFLE R, 0.80 bei RIFLE I und 0.86 bei RIFLE F gefunden [69]. Auch in einer Studie von Koyner 2010 bestätigte sich uNGAL als am besten geeignet für die Vorhersage höherer RIFLE-Klassen (AUC-ROC 0.88 für AKI Stage 3) [70].

Die Erforschung der Biomarker für Akutes Nierenversagen hat sich in den letzten Jahren weiterentwickelt. Es sind neue vielversprechende Biomarker gefunden worden wie Urine *insulin-like growth factor-binding protein 7* (IGFBP7) und *tissue inhibitor of metalloproteinases-2* (TIMP-2) [71].

4.3.Limitationen der vorliegenden Studie

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterscheiden sich nur gering von den Ergebnissen der großen multizentrischen Studie, deren Bestandteil diese Studie ist. Der Sinn in der Auswertung der monozentrischen Studie ist aber gegeben, um Ergebnisse einer kleineren, in sich weniger heterogenen Kohorte, zum Beispiel hinsichtlich der ethnischen Zusammensetzung, analysieren zu können und um die Validität der Ergebnisse der multizentrischen Studie im Sinne einer Sensitivitätsanalyse zu überprüfen. Ebenso wie die multizentrische Studie weist auch die vorliegende Studie Einschränkungen auf. Die Unterschiede in der Vorhersagekraft zwischen der vorliegenden Studie und der multizentrischen Studie könnten z.B. durch unbekannte Stichprobeneinflüsse hervorgerufen sein. Ebenso können unterschiedliche Untersuchungsmethoden (z.B. unterschiedliche Assays) eine Rolle spielen. Es hat sich in manchen Fällen als schwierig erwiesen, zur Einteilung in die diagnostischen Gruppen, den genauen Ausgangswert von Kreatinin festzulegen. Wenn dieser nicht bekannt war, wurde der niedrigste im Krankenhaus gemessene Wert als Ausgangswert angenommen, was aber auch zu Fehlern geführt haben könnte.

Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen in der multizentrischen, wie auch in der vorliegenden Studie, dass Urinbiomarker in der Notaufnahme eine prospektive und diagnostische Stratifizierung für Nierenschäden ermöglichen.

Insgesamt wurde die Leistungsfähigkeit von fünf verschiedenen Urinbiomarkern in der Notaufnahme des Krankenhauses für die Diagnose von iAKI gemessen und es wurde der Nutzen der einzelnen Biomarker für die Bestimmung der Schwere des Nierenversagens und für die klinischen Folgen des Nierenversagens (Dialysebeginn und / oder Tod) überprüft. Auch in der vorliegenden Studie – genau wie in der multizentrischen Studie zeigte sich, dass Kreatinin weiterhin eine wichtige klinische Rolle als diagnostisches und prognostisches Instrument bei der Diagnose von AKI spielen wird. Jedoch wird seine Aussagekraft durch die Hinzunahme von den Urinbiomarkern und seine Interpretation zusammen mit Urinbiomarkern höher sein, als sie das bei der konventionellen Methode durch Kreatinin und

die Diagnostik mit RIFLE und AKIN gewesen war. Hierbei spielt der Biomarker uNGAL die wichtigste Rolle.

Literaturverzeichnis

1. Nickolas, T.L., et al., *Diagnostic and prognostic stratification in the emergency department using urinary biomarkers of nephron damage: a multicenter prospective cohort study*. Journal of the American College of Cardiology, 2012. **59**(3): p. 246-55.
2. Bellomo, R., et al., *Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group*. Critical care, 2004. **8**(4): p. R204-12.
3. Mehta, R.L., et al., *Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury*. Critical care, 2007. **11**(2): p. R31.
4. Cruz, D.N., Z. Ricci, and C. Ronco, *Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal*. Critical care, 2009. **13**(3): p. 211.
5. Perrone, R.D., N.E. Madias, and A.S. Levey, *Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts*. Clinical chemistry, 1992. **38**(10): p. 1933-53.
6. Star, R.A., *Treatment of acute renal failure*. Kidney international, 1998. **54**(6): p. 1817-31.
7. Nickolas, T.L., et al., *Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury*. Annals of internal medicine, 2008. **148**(11): p. 810-9.
8. Hoste, E.A. and J.A. Kellum, *Incidence, classification, and outcomes of acute kidney injury*. Contributions to nephrology, 2007. **156**: p. 32-8.
9. Kellum, J.A., et al., *Developing a consensus classification system for acute renal failure*. Current opinion in critical care, 2002. **8**(6): p. 509-14.
10. Cerda, J., et al., *Epidemiology of acute kidney injury*. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN, 2008. **3**(3): p. 881-6.
11. Mehta, R.L. and G.M. Chertow, *Acute renal failure definitions and classification: time for change?* Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2003. **14**(8): p. 2178-87.
12. Ympa, Y.P., et al., *Has mortality from acute renal failure decreased? A systematic review of the literature*. The American journal of medicine, 2005. **118**(8): p. 827-32.
13. Waikar, S.S., et al., *Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2006. **17**(4): p. 1143-50.
14. Xue, J.L., et al., *Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2006. **17**(4): p. 1135-42.
15. Chertow, G.M., et al., *Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2005. **16**(11): p. 3365-70.
16. Hsu, C.Y., et al., *Community-based incidence of acute renal failure*. Kidney international, 2007. **72**(2): p. 208-12.
17. Hoste, E.A., et al., *RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis*. Critical care, 2006. **10**(3): p. R73.
18. Kuhlmann, U., et al., *Nephrologie, Pathophysiologie-Klinik-Nierenersatzverfahren*. 5.Auflage ed. 2008, Stuttgart, New York: Thieme. 701.
19. Case, J., et al., *Epidemiology of acute kidney injury in the intensive care unit*. Critical care research and practice, 2013. **2013**: p. 479730.
20. Liano, F. and J. Pascual, *Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study*. Madrid Acute Renal Failure Study Group. Kidney international, 1996. **50**(3): p. 811-8.
21. Nash, K., A. Hafeez, and S. Hou, *Hospital-acquired renal insufficiency*. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2002. **39**(5): p. 930-6.

22. Venkatachalam, M.A., et al., *Acute kidney injury: a springboard for progression in chronic kidney disease*. American journal of physiology. Renal physiology, 2010. **298**(5): p. F1078-94.
23. Herold, G., *Innere Medizin - eine vorlesungsorientierte Darstellung*. 2009.
24. Espinel, C.H. and A.W. Gregory, *Differential diagnosis of acute renal failure*. Clinical nephrology, 1980. **13**(2): p. 73-7.
25. Kohler, H., E. Wandel, and B. Brunck, *Acanthocyturia--a characteristic marker for glomerular bleeding*. Kidney international, 1991. **40**(1): p. 115-20.
26. Honore, P.M., O. Joannes-Boyau, and W. Boer, *The early biomarker of acute kidney injury: in search of the Holy Grail*. Intensive care medicine, 2007. **33**(11): p. 1866-8.
27. Honore, P.M., et al., *Biomarkers for early diagnosis of AKI in the ICU: ready for prime time use at the bedside?* Annals of intensive care, 2012. **2**(1): p. 24.
28. Devarajan, P., *Emerging urinary biomarkers in the diagnosis of acute kidney injury*. Expert opinion on medical diagnostics, 2008. **2**(4): p. 387-398.
29. Szczech, L.A., *The development of urinary biomarkers for kidney disease is the search for our renal troponin*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2009. **20**(8): p. 1656-7.
30. Siew, E.D., et al., *Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin moderately predicts acute kidney injury in critically ill adults*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2009. **20**(8): p. 1823-32.
31. Paragas, N., et al., *Urinary NGAL marks cystic disease in HIV-associated nephropathy*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2009. **20**(8): p. 1687-92.
32. Haase, M., et al., *The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies*. Journal of the American College of Cardiology, 2011. **57**(17): p. 1752-61.
33. Schmidt-Ott, K.M., et al., *Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. J Am Soc Nephrol, 2007. **18**(2): p. 407-13.
34. Kjeldsen, L., et al., *Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase*. The Journal of biological chemistry, 1993. **268**(14): p. 10425-32.
35. Flower, D.R., *The lipocalin protein family: structure and function*. The Biochemical journal, 1996. **318** (Pt 1): p. 1-14.
36. Cai, L., et al., *The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL*. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN, 2010. **5**(12): p. 2229-35.
37. Mishra, J., et al., *Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2003. **14**(10): p. 2534-43.
38. Koyner, J.L., et al., *Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery*. Kidney international, 2008. **74**(8): p. 1059-69.
39. Levey, A.S., et al., *A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group*. Annals of internal medicine, 1999. **130**(6): p. 461-70.
40. Mussap, M. and M. Plebani, *Biochemistry and clinical role of human cystatin C*. Critical reviews in clinical laboratory sciences, 2004. **41**(5-6): p. 467-550.
41. Han, W.K., et al., *Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury*. Kidney Int, 2002. **62**(1): p. 237-44.
42. Shao, X., et al., *Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: a meta-analysis*. PLoS One. **9**(1): p. e84131.
43. Melnikov, V.Y., et al., *Impaired IL-18 processing protects caspase-1-deficient mice from ischemic acute renal failure*. J Clin Invest, 2001. **107**(9): p. 1145-52.
44. Parikh, C.R., et al., *Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit*. Journal of the American Society of Nephrology : JASN, 2005. **16**(10): p. 3046-52.

45. Mayer, G.L. and T. Sugaya, *Urinary L-FABP: a novel biomarker for renal disease and its role in the diagnosis and prognosis of chronic and acute kidney disease* The Facts of life, 2006.
46. Kamijo, A., et al., *Urinary fatty acid-binding protein as a new clinical marker of the progression of chronic renal disease* J. Lab Clin Med, 2004. **143**: p. 23-30.
47. Kamijo, A., et al., *Urinary liver-type fatty acid binding protein as a useful biomarker in chronic kidney disease*. Mol Cell Biochem, 2006. **284**(1-2): p. 175-82.
48. Grenier, F.C., et al., *Evaluation of the ARCHITECT urine NGAL assay: assay performance, specimen handling requirements and biological variability*. Clinical biochemistry, 2010. **43**(6): p. 615-20.
49. Kamijo, A., et al., *Urinary fatty acid-binding protein as a new clinical marker of the progression of chronic renal disease*. The Journal of laboratory and clinical medicine, 2004. **143**(1): p. 23-30.
50. Pencina, M.J., et al., *Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond*. Statistics in medicine, 2008. **27**(2): p. 157-72; discussion 207-12.
51. Cook, N.R., *Use and misuse of the receiver operating characteristic curve in risk prediction*. Circulation, 2007. **115**(7): p. 928-35.
52. Muhlenbruch, K., et al., *Assessing improvement in disease prediction using net reclassification improvement: impact of risk cut-offs and number of risk categories*. European journal of epidemiology, 2013. **28**(1): p. 25-33.
53. Parikh, C.R., et al., *Tubular proteinuria in acute kidney injury: a critical evaluation of current status and future promise*. Annals of clinical biochemistry, 2010. **47**(Pt 4): p. 301-12.
54. Haase, M., et al., *Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis*. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2009. **54**(6): p. 1012-24.
55. Yang, H.N., et al., *Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin: an independent predictor of adverse outcomes in acute kidney injury*. American journal of nephrology, 2010. **31**(6): p. 501-9.
56. Kumpers, P., et al., *Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at inception of renal replacement therapy predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury*. Critical care, 2010. **14**(1): p. R9.
57. Ferguson, M.A., et al., *Urinary liver-type fatty acid-binding protein predicts adverse outcomes in acute kidney injury*. Kidney international, 2010. **77**(8): p. 708-14.
58. Devarajan, P., *Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury*. Nephrology, 2010. **15**(4): p. 419-28.
59. Mishra, J., et al., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery*. Lancet, 2005. **365**(9466): p. 1231-8.
60. Parikh, C.R., et al., *Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery*. Kidney international, 2006. **70**(1): p. 199-203.
61. Portilla, D., et al., *Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery*. Kidney international, 2008. **73**(4): p. 465-72.
62. Wagener, G., et al., *Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery*. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2008. **52**(3): p. 425-33.
63. Wagener, G., et al., *Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery*. Anesthesiology, 2006. **105**(3): p. 485-91.
64. Xin, C., et al., *Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and interleukin-18 predict acute kidney injury after cardiac surgery*. Renal failure, 2008. **30**(9): p. 904-13.
65. Tuladhar, S.M., et al., *Rapid detection of acute kidney injury by plasma and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiopulmonary bypass*. Journal of cardiovascular pharmacology, 2009. **53**(3): p. 261-6.

66. Haase-Fielitz, A., et al., *Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery--a prospective cohort study*. Critical care medicine, 2009. **37**(2): p. 553-60.
67. Haase, M., et al., *Novel biomarkers early predict the severity of acute kidney injury after cardiac surgery in adults*. The Annals of thoracic surgery, 2009. **88**(1): p. 124-30.
68. Haase-Fielitz, A., et al., *The predictive performance of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) increases with grade of acute kidney injury*. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association, 2009. **24**(11): p. 3349-54.
69. de Geus, H.R., et al., *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin at ICU admission predicts for acute kidney injury in adult patients*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2011. **183**(7): p. 907-14.
70. Koyner, J.L., et al., *Urinary biomarkers in the clinical prognosis and early detection of acute kidney injury*. Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN, 2010. **5**(12): p. 2154-65.
71. Kashani, K., et al., *Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury*. Crit Care. **17**(1): p. R25.

Lebenslauf

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

Publikationen

Publikation 1: Autoren: Thomas L. Nickolas, MD, Kai M. Schmidt-Ott, MD, Pietro Canetta, Catherine Forster, Eugenia Singer, Meghan Sise, Antje Elger, Omar Maarouf, David Antonio Sola-Del Valle, Matthew O'Rourke, Evan Sherman, Peter Lee, Abdallah Geara, Philip Imus, Achuta Guddati, Allison Polland, Wasiq Rahman, Saban Elitok, Nasir Malik, James Giglio, Suzanne El-Sayegh, Prasad Devarajan, Sudarshan Hebbar, Subodh J. Saggi, Barry Hahn, Ralph Kettritz, Friedrich C. Luft, Jonathan Barasch. Titel: „Diagnostic and Prognostic Stratification in the Emergency Department Using Urinary Biomarkers of Nephron Damage: A Multicenter Prospective Cohort Study“. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 59(3): 246-255.

Publikation 2: Autoren: Eugenia Singer, Antje Elger, Saban Elitok, Ralph Kettritz, Thomas L Nickolas, Jonathan Barasch, Friedrich C Luft and Kai M Schmidt-Ott. Titel: Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin distinguishes pre-renal from intrinsic renal failure and predicts outcomes. *Kidney International* (2011) 80, 405–414.

Danksagung

Prof. Dr. Kai Schmidt-Ott möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes herzlich danken. Ich verdanke ihm darüber hinaus jede erdenkliche, hilfreiche Unterstützung und viele anregende Diskussionen.

Mein Dank richtet sich auch an alle Autoren und Mitarbeiter der multizentrischen Studie, besonders danke ich meiner Mit-Doktorandin, Frau Dr. Eugenia Singer für die gute Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank gilt Frau Karolina Stojanow von der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik, Charité Universitätsmedizin Berlin, die mich bei der Erstellung der statistischen Berechnungen und Grafiken unterstützte.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Antje Elger, versichere an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Diagnostische und prognostische Stratifikation für Nierenschäden in der Notaufnahme durch die Nutzung von Urin Biomarkern“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

02.06.2014