

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)  
Ein neuer Biomarker zur frühen Detektion der akuten  
Nierentransplantatschädigung

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jessica Lange

aus Berlin

Gutachter:           1. Prof. Dr. med. J. Pratschke  
                          2. Prof. Dr. med. S. Jonas  
                          3. Prof. Dr. med. H. J. Schlitt

Datum der Promotion: 04.02.2011

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

Einleitung .....	6
Die akute Nierenschädigung .....	9
Ätiologie (prärenales ANV) .....	9
Epidemiologie .....	10
Definitionen der Akuten Nierenschädigung (AKI=acute kidney injury) .....	10
RIFLE Kriterien (risk, injury, failure, loss, ESRD = RIFLE) .....	11
AKIN Kriterien (Acute Kidney Injury Network = AKIN).....	13
Biomarker .....	14
Tubuläre Enzyme des Harnsystems.....	15
Niedermolekulare Harnproteine .....	15
Urin Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) .....	16
Urin Interleukin-18 (IL-18) .....	16
Plasma Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL).....	16
Andere .....	18
Gegenstand der Arbeit.....	19
Patienten/Populationen und Analysen.....	19
Patienten und Methode.....	20
Patientenkollektive .....	20
1. Kontrollgruppe (n=30, je 15 gesunder Frauen/Männer).....	20
2. Organspender auf Intensivstation (n=58) .....	21
3. Gesunde Nierenlebendspender vor-/nach Spendernephrektomie (n=15).....	22
4. Nierentransplantatempfänger (hirntote Spender; n=33).....	22
5. Nierentransplantatempfänger (Lebendspender; n=15) .....	23
Methode (Materialasservierung, NGAL-ELISA).....	23
ELISA zur NGAL-Bestimmung.....	24
Datenverarbeitung und Statistik .....	25
Ergebnisse .....	25
Kontrollgruppe (n=30, je 15 gesunde Frauen/Männer).....	25
Hirntote Organspender auf der Intensivstation (n=58).....	29
Gesunde Nierenlebendspender vor-/nach Spendernephrektomie (n=15).....	31
Nierentransplantatempfänger nach NTx.....	34
Diskussion .....	38
Diskussion der Ergebnisse.....	39

Zusammenfassung .....	46
Abkürzungsverzeichnis .....	48
Abbildungsverzeichnis: .....	50
Tabellenverzeichnis:.....	50
Danksagung .....	51
Lebenslauf .....	52
Selbständigkeitserklärung .....	53
Literaturverzeichnis .....	54

## **Einleitung**

Der Begriff Terminale Niereninsuffizienz (end stage renal disease = ESRD) beschreibt die Situation, in der Eigennieren nicht mehr in der Lage sind, ihre Stoffwechsel- und Entgiftungsfunktionen zu erfüllen. Um das konsekutive Stadium der Urämie zu vermeiden, benötigen betroffene Patienten entweder lebenslang ein maschinelles Nierenersatzverfahren (Dialyse) oder eine Nierentransplantation (NTx).<sup>(1)</sup>

Obwohl eine NTx nicht für alle Patienten möglich ist, stellt sie die Behandlung der Wahl für ESRD dar, da sie dem Betroffenen eine bessere Lebensqualität (QoL) ermöglicht, als sie mit langfristiger Dialyse erreicht werden kann.<sup>(2)</sup> Der transplantierte Patient ist allerdings zur Protektion des (meist allogenen) Transplantats auf eine lebenslange immunsuppressive Therapie angewiesen. Das entsprechende Medikamentenregime und die Dosierung müssen an die Konditionen jedes Patienten individuell angepasst werden, um bestmögliche Ergebnisse zu erreichen.<sup>(3)</sup>

Die aktuellen Ist-Kosten für eine NTx belaufen sich beispielsweise in den UK auf ca. EUR 14'800 mit jährlichen Folgekosten von etwa EUR 5'100.<sup>(4)</sup> Im Gegensatz belaufen sich die jährlichen Kosten für die Dialyse auf ca. EUR 26'900; wobei das National Institute for Clinical Excellence (NICE) Schätzungen publizierte, nach denen sich die Kosten für eine ambulant durchgeführte Dialyse gegenüber den stationären Kosten nicht wesentlich unterscheiden: EUR 26'900 vs. 28'200/Jahr.<sup>(5)</sup>

Obwohl die NTx deutliche Vorteile gegenüber den Alternativmodalitäten hat, ist die Transplantation aufgrund mangelnder Verfügbarkeit von entsprechenden Spenderorganen nicht für alle ESRD Patienten möglich. Im europäischen Raum erfolgt die Organallokation vornehmlich von hirntoten Spendern (cadaveric donors). Im Allgemeinen sind diese Spender Opfer katastrophaler Kopfverletzung oder anderer intrakranieller Ereignisse (z.B. Blutung, Infarkt, Sauerstoffmangel, etc.), die auf einer Intensivstation behandelt werden und letztlich (je nach juristischer Zustimmungsregelung) als Organspender diagnostiziert werden, wenn die sogenannten „Hirntodkriterien“ erfüllt sind (hierbei schlägt das Herz, allerdings bedürfen diese Patienten einer künstlichen Ventilation). Je nach Zustimmung erfolgt die Entnahme der Nieren normalerweise als Teil einer Multiorganentnahme. Die Nieren werden an geeignete Empfänger mit Hilfe eines (landesweiten, regionalen, etc.) Schemas, basierend auf Gewebeverträglichkeit und Wartezeit (sowie Alter) der Empfänger, vergeben. Sobald ein Empfänger identifiziert ist, wird das Organ unmittelbar an die transplantierende Klinik versandt, um die Zeit, in der das

Organ nicht durchblutet ist, möglichst kurz zu halten. Zwischen Organentnahme und Transplantation können oft mehrere Stunden (bis zu maximal einem Tag) vergehen, in der das Transplantat bedingt durch Ischämie/Hypoxie potentiellen Schaden erleiden kann.

Bedingt durch die verbesserte Akutversorgung von Unfallopfern, durch bessere neurochirurgische Techniken und auch durch höhere Sicherheit im Straßenverkehr ist die Anzahl hirntoter Organspender rückläufig. Das reduziert den Nutzen der NTx auf eine ausgewählte Anzahl von Patienten. In der Zwischenzeit wurden viele Initiativen gestartet, um dieses Thema anzusprechen.

Hervorzuheben ist vor allem das Bemühen, den Anteil der sogenannten „Lebendspende“ zu erhöhen. Dabei wird die Spenderniere nach einem strengen Überprüfungsprozess normalerweise von einem nahen Verwandten, dem Ehepartner oder einem Elternteil gespendet. Die Spender- und Empfängeroperation finden hierbei sequentiell in demselben Krankenhaus statt, was - aufgrund der kurzen Organtransportzeiten - zu ausgezeichneten Ergebnissen führt. Die Anzahl der Lebendspenden ist in den vergangenen Jahren deutlich gestiegen, und macht mittlerweile einen relevanten Anteil an der Gesamtzahl der NTx aus. Insgesamt ist jedoch zu konstatieren, dass die Gesamtzahl aller NTx nahezu stagniert.<sup>(6)</sup>

Eine weitere Initiative, um die verfügbaren Organe für die NTx zu steigern, stellt die Verwendung sogenannter "non-heart-beating donors" (DCD) dar. In dieser Situation werden die Organe unmittelbar nach Bestätigung des Herztodes (im Gegensatz zum Hirntod) entnommen. Aufgrund der Notwendigkeit der unmittelbaren Organentnahme ist der Vorgang technisch und ethisch komplex. Die Organe sind einem prolongierten Sauerstoffmangel ausgesetzt, was dazu führt, dass sie nach der Transplantation im Empfänger einen höheren Prozentsatz von "delayed" (DGF) und "non-function" (PNF) aufweisen. Das wiederum bedingt einen höheren Prozentsatz postoperativer Dialysen sowie häufig einen längeren Krankenhausaufenthalt. Aufgrund dieser Umstände hat das Konzept der DCD Spender (bis dato) keine verbreitete Einführung gefunden (Ausnahmen sind Spanien und UK; in einigen anderen europäischen Ländern ist das Konzept juristisch nicht zulässig, z.B. in Deutschland). Mit fortschreitender Verbesserung der Techniken gibt es allerdings eine zunehmende Anzahl von Publikationen, die belegen, dass Nieren von DCD Spendern (auch DCD class I und II) adäquat funktionieren können, und möglicherweise zukünftig eine bedeutendere Rolle spielen könnten.

Wichtig ist in diesem Kontext die Frage, sicher vorhersagen zu können, welche Organe sich für ein solches Prozedere mit prolongierter warmer Ischämiezeit qualifizieren, ohne das (teure)

Risiko einer DGF mit konsekutiver Dialyse und verlängertem Krankenhausaufenthalt einzugehen, was darüber hinaus einen relevanten Diskomfort und – weitaus wichtiger – eine schlechtere Prognose sowohl für das Transplantat- als auch das Patientenüberleben bedeutet. Die klassischen Labor- und Funktionsparameter scheinen diese Prognose nur unzureichend abzubilden, so dass hier offensichtlich ein diagnostischer Bedarf besteht.

Der Prozess, eine Niere für eine Transplantation zu gewinnen/erhalten, setzt sich aus mehreren Schritten komplex zusammen und verlangt ein hohes Maß an Aufwand, wenn optimale Ergebnisse erreicht werden sollen: Eine gute chirurgische Technik, adäquate Perfusion und Kühlung der Nieren sowie eine unverzögerte Organentnahme sind von höchster Bedeutung, da jede Verzögerung die Qualität des Transplantats verschlechtern kann (z.B. prolongierte warm ischemic time).<sup>(7,8)</sup> Auch die Zeit zwischen Organentnahme und Transplantation muss so kurz wie möglich sein, da die Funktionsfähigkeit der transplantierten Niere direkt von der Dauer der nicht durchbluteten Zeit abhängig ist, wobei ein verlängertes durchblutungsfreies Intervall (cold ischemic time) mit einem reduzierten 5-Jahres Organüberleben (graft survival) verbunden ist.<sup>(9,10)</sup>

Das o.g. Ungleichgewicht zwischen dem beschränkten Angebot von NTx Spenderorganen und der wachsenden Nachfrage zeigt, dass transplantierte Nieren einerseits ein gesundheitlich wertvolles Gut für den einzelnen Empfänger darstellen, sie andererseits eine nationale Ressource sind. Dementsprechend gibt es eine klare Verpflichtung auf der Seite jener, die sich um diese Patienten kümmern, einen bestmöglichen Support für das Patienten- und Transplantatüberleben sicherzustellen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zu untersuchen, inwiefern Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) als ein nützlicher Biomarker zur frühen Detektion einer akuten Nierenschädigung charakterisiert werden kann, der ggf. als zusätzlicher Marker eine bessere Auswahl (kritischer) Spenderorgane im Rahmen der NTx erlaubt.

## **Die akute Nierenschädigung**

Organspender sind häufig Unfallopfer oder Patienten, die an fatalen Kopfverletzungen oder intrakraniellen Ereignissen verstorben sind. Konsekutive zirkulatorische Probleme (Reanimation, intensivmedizinische Therapien, etc.) führen häufig im Verlauf zu einer akuten Nierenschädigung mit (temporär) eingeschränkter Nierenfunktion und/oder einer bleibenden Funktionsreduktion/-einbuße.

Die Inzidenz der akuten Nierenschädigung (AKI = acute kidney injury) variiert stark. Dies beruht auf unterschiedlichen Definitionen, die benutzt werden sowie an differenten Patientenkollektiven, die untersucht wurden. Die publizierten Inzidenzen schwanken zwischen 100 und 600 pro Million Einwohner pro Jahr.<sup>(11,12,13,14,15,16)</sup>

Die zwei Hauptursachen, die zur AKI im Krankenhaus führen, sind – abgesehen von den o.g. Extremsituationen – einerseits prärenale Ursachen und andererseits die akute Tubulusnekrose (ATN), die zusammen ca. 70-75 % aller Ursachen des akuten Nierenversagens (ANV) ausmachen. Ein in dieser Arbeit ebenfalls zu betrachtender Sonderfall ist der Ischämie-Reperfusionsschaden (IRI) der Transplantatniere.

### **Ätiologie (prärenales ANV)**

Das ANV ist durch einen abrupten Verlust der Nierenfunktion charakterisiert. Mit Blick auf die auslösende Ursache können prärenale, intrinsische und postrenale Gründe unterschieden werden. Eine Einschränkung der Nierenfunktion aufgrund einer prärenaln Erkrankung tritt in zwei grundsätzlichen Fällen auf:<sup>(17)</sup>

1. Wenn die renale Ischämie Ausdruck einer generalisierten Gewebeminderperfusion ist (Hypotension, Schock, etc.) oder
2. Im Falle einer selektiven renalen Ischämie, wenn beispielsweise eine kalte Ischämie mit totalem Perfusionsausfall vorliegt (Organentnahme, kalte Ischämiezeit (CIT)).

## **Epidemiologie**

Ca. 70-75% aller AKIs, die im Krankenhaus entstehen, haben eine prärenale Ursache.<sup>(8,18,19)</sup> Eine Publikation zur AKI aus Madrid zeigt in n=748 Fällen aus 13 tertiären Krankenhauszentren die häufigsten Ursachen:<sup>(15)</sup>

- ATN (hypotensionsbedingt): 45 %
- Prärenal: 21 %
- „acute on chronic“ ANV: 13 %
- Postrenal: 10 %
- GN oder Vaskulitis: 4 %
- Akute interstitielle Nephritis: 2 %
- Embolie: 1 %
- Sonstige: 4 %

Eine andere Studie, basierend auf den Daten aus dem Programm „To Improve Care in Acute Renal Disease (PICARD)“, untersuchte ebenfalls die Ätiologie des ANV in n=618 Fällen in 5 medizinischen Zentren der USA.<sup>(20)</sup> Die häufigsten Ursachen waren die hypotensionsbedingte, ischämische Tubulusnekrose, AKI infolge anderer prärenalere Ursachen (Hypovolämie, Blutungen), Nephrotoxizität (Röntgenkontrastmittel induzierte Nephropathie, Rhabdomyolyse), AKI durch Herzerkrankungen (Herzinsuffizienz, Schock), AKI durch Lebererkrankungen (Hepatorenales Syndrom, Zirrhose) sowie multifaktorielle Ätiologien.

## **Definitionen der Akuten Nierenschädigung (AKI = acute kidney injury)**

Das Akute Nierenversagen (ANV) wurde ursprünglich als ein plötzlich einsetzender Nierenfunktionsverlust definiert, durch den es zur Retention von Harnstoff und anderen stickstoffhaltigen Abbauprodukten sowie zu einer Dysregulation von extrazellulärem Volumen und Elektrolyten kommt. Der Verlust der Nierenfunktion wird klinisch am einfachsten durch die Bestimmung des Serum Kreatinins festgestellt, das wiederum zur Berechnung der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) genutzt wird. Drei Probleme sind mit der Verwendung des Serum Kreatinins zur quantitativen Bestimmung des ANV verbunden:

1. Serum Kreatinin reflektiert die GFR bei Patienten, die sich nicht im steady state befinden, nur ungenau, da zu Beginn eines ANV die Serum Kreatininwerte noch niedrig sein können, obwohl die aktuelle (nicht die geschätzte) GFR bereits reduziert ist (Latenz des Kreatininanstiegs im Serum).

2. Kreatinin ist dialysabel, was bedeutet, dass dieser Parameter zur Einschätzung der Nierenfunktion nach Beginn einer Dialysebehandlung entfällt.
3. Zahlreiche epidemiologische Studien und klinische Versuche verwenden unterschiedliche Kreatinin Grenzwerte, um das ANV quantitativ zu definieren.<sup>(21)</sup>

Durch das Fehlen einer übereinstimmenden quantitativen Definition des ANV wurde die klinische Forschung erschwert, da ein Vergleich zwischen verschiedenen Studien nur bedingt möglich war. In klinischen Studien sind unterschiedliche Definitionen gebräuchlich, die u. a. gestaffelte Anstiege des Kreatinins von verschiedenen Ausgangswerten verwenden. Beispielsweise wird in einer Studie zur Erfassung des im Krankenhaus erworbenen ANV dieses definiert als Kreatininanstieg von 0.5 mg/dL im Serum bei einem Ausgangswert des Serum Kreatinins  $\leq 1.9$  mg/dL, als Anstieg von 1.0 mg/dL bei einem Ausgangswert zwischen 2.0 und 4.9 mg/dL und als Anstieg von 1.5 mg/dL bei einem Ausgangswert  $\geq 5.0$  mg/dL.<sup>(22)</sup>

Die Expertengruppe „Acute Dialysis Quality Initiative“ (ADQI) wurde von Intensivmedizinern und Nephrologen ins Leben gerufen, um eine einheitliche, evidenzbasierte Richtlinie für die Behandlung und Prävention des ANV zu entwickeln.<sup>(23)</sup> Die ADQI Gruppe erarbeitete eine abgestufte Definition der sogenannten RIFLE Kriterien.<sup>(24)</sup> Ein weiterer Modifikationsvorschlag der RIFLE Kriterien wurde durch das „Acute Kidney Injury Network“ initiiert, der sowohl die Arbeiten der ADQI Gruppe als auch andere Vertreter und Gesellschaften einschloss.<sup>(25,26,27)</sup> Basierend auf dieser Initiative wurde schließlich 2007 der Begriff „Acute Kidney Injury“ (AKI) eingeführt, um das breite klinische Spektrum des Akuten Nierenversagens besser abzubilden.

#### **RIFLE Kriterien (risk, injury, failure, loss, ESRD = RIFLE)**

RIFLE ist ein Akronym und steht für Risk, Injury, Failure, Loss, ESRD (= Risiko, Schädigung, Versagen (der Nieren), Verlust (der Nierenfunktion), Terminales Nierenversagen). Die RIFLE-Kriterien basieren auf dem Ausmaß der Erhöhung des Serum Kreatinins und/oder der Urinausscheidung und zwei Ausgangsmesswerten (Schädigung und terminale Niereninsuffizienz). Die RIFLE-Stadien sind wie folgt definiert:<sup>(10)</sup>

- **Risiko** — 1.5-facher Anstieg des Serum Kreatinins oder Rückgang der GFR um 25 % oder Urinausscheidung  $< 0.5$  mL/kg/h für die Dauer von 6 Stunden.

- **Schädigung** — 2-facher Anstieg des Serum Kreatinins oder Rückgang der GFR um 50 % oder Urinausscheidung <0.5 mL/kg/h für die Dauer von 12 Stunden.
- **Versagen** — 3-facher Anstieg des Serum Kreatinins oder Rückgang der GFR um 75 % oder Urinausscheidung <0.5 mL/kg/h für 24 Stunden oder Anurie für 12 Stunden.
- **Verlust** — Vollständiger Verlust der Nierenfunktion (z.B. Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie) über mehr als 4 Wochen.
- **ESRD** (terminale Niereninsuffizienz) — vollständiger Verlust der Nierenfunktion (z.B. Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie) für mehr als 3 Monate.

Die RIFLE-Kriterien entsprechen in der Prognose einer Reihe von Studien.<sup>(28,29,30,31,32,33)</sup> Als Beispiel sei eine retrospektive Single Center Studie genannt, in der n=20'126 Patienten eines tertiären Krankenhauses in Australien untersucht wurden. Die RIFLE-Kriterien „Risiko“, „Schädigung“ und „Versagen“ gingen mit einem 2.5-, 5.4- und 10.1-fachen Anstieg der Krankenhausmortalität einher.<sup>(23)</sup>

Ähnliche Ergebnisse wurden in einer Studie, die n=21'972 kritisch kranke Patienten von 22 Intensivstationen in den UK und in Deutschland im Zeitraum zwischen 1989 und 1999 einschloss, gefunden. Die Stadien „Risiko“, „Schädigung“ und „Versagen“ der RIFLE-Kriterien waren hierbei mit einer signifikant höheren Mortalität von 20.9 %, 45.6 % und 56.8 % im Vergleich zu 8.4 % bei Patienten, die kein ANV entwickelten, assoziiert.<sup>(27)</sup>

Folgende Restriktionen der RIFLE Kriterien sollten beachtet werden:

- Die Kriterien „Risiko“, „Schädigung“ und „Versagen“ definieren sich entweder über Veränderungen des Serum Kreatinins oder über Veränderungen der Urinausscheidung. Die Zuordnung von Veränderungen des Serum Kreatinins sowie von Veränderungen der Urinausscheidung zu einer gemeinsamen Stufe ist nicht evidenzbasiert. Eine Einschätzung der RIFLE-Klassifikation, die die Serum Kreatinin- und Urinausscheidungskriterien vergleicht, zeigt für die Serum Keatininveränderungen eine starke Prädiktion im Hinblick auf die Mortalität auf Intensivstationen, wohingegen die Urinausscheidungskriterien die Mortalität nicht unabhängig vorhersagen können.<sup>(26)</sup> Das heißt, wenn die RIFLE-Klassifikation zur Risikoeinschätzung genutzt wird, ist es wichtig, dass die Kriterien der ungünstigsten Stufe genutzt werden.<sup>(10)</sup>

Die Veränderungen des Serum Kreatinins während des ANV korrelieren nicht direkt mit der tatsächlichen Veränderung der GFR (siehe oben), was zu einer differentiellen

Zuordnung von Patienten zu einer bestimmten Stufe im RIFLE-System führt. So kann bei einem Patienten mit einem plötzlichen Abfall der renalen Funktion während eines schweren ANV das Serum Kreatinin von 1.0 auf 1.5 mg/dL (88.4 auf 133  $\mu\text{mol/L}$ ) am ersten Tag ansteigen, auf 2.5 mg/dL (221 $\mu\text{mol/L}$ ) am zweiten Tag und auf 3.5 mg/dL (309  $\mu\text{mol/L}$ ) am dritten Tag. Nach den RIFLE-Kriterien würde der Patient von der Stufe „Risiko“ am ersten Tag, zu „Schädigung“ am zweiten Tag und zum „Versagen“ am dritten Tag wechseln, obwohl die aktuelle GFR während der gesamten Zeit bei  $<10$  mL/min liegt. Es ist unmöglich, eine Veränderung des Serum Kreatinins bei Patienten mit ANV zu berechnen, ohne einen Ausgangswert des Serum Kreatinins zu bestimmen. Die Herausgeber der RIFLE-Kriterien propagieren eine Berechnung der Ausgangskreatininkonzentration über die MDRD-4 Formel, ausgehend von einer ursprünglichen GFR von 75 mL/min pro  $1.73 \text{ m}^2$ .<sup>(10)</sup> Dieser Ansatz wurde bis dato nicht prospektiv validiert und simplifiziert unzulässig den Umstand, dass eine Vielzahl der betroffenen Patienten eine von 75 mL/min differente GFR zum Zeitpunkt des ANV haben können.

#### **AKIN Kriterien (Acute Kidney Injury Network = AKIN)**

Angesichts der dargestellten Einschränkungen wurde eine Änderung der RIFLE-Kriterien durch das Acute Kidney Injury Network vorgeschlagen. Das AKIN erarbeitete sowohl diagnostische Kriterien für das ANV als auch ein Einteilungssystem, das auf den RIFLE-Kriterien basiert.<sup>(11,26,27)</sup> Darüber hinaus wurde der Begriff „Acute Kidney Injury (AKI)“ eingeführt, der das gesamte Spektrum des Akuten Nierenversagens repräsentieren soll.

**Diagnostische Kriterien** – Die empfohlenen diagnostischen Kriterien für das ANV umfassen: einen abrupten absoluten Anstieg der Serum Kreatininkonzentration um  $\geq 0.3$  mg/dL (26.4  $\mu\text{mol/L}$ ) vom Ausgangswert (innerhalb von 48 h), einen prozentualen Anstieg der Serum Kreatininkonzentration um  $\geq 50$  % oder eine Urinausscheidung unter 0.5 mL/kg/h für mehr als 6 Stunden. Die beiden letzten Kriterien sind identisch mit dem RIFLE-Kriterium „Risiko“. Der zusätzlich eingeführte Anstieg des Serum Kreatinins von  $\geq 0.3$  mg/dL basiert auf epidemiologischen Daten, die zeigten, dass Änderungen der Serum Kreatininkonzentration von  $\geq 0.5$  mg/dL mit einer 6.5-fachen Erhöhung der Odds-Ratio für Mortalität einhergehen.<sup>(34)</sup> Wurde der Anstieg des Kreatinins in einem Zeitraum von 24-48 Stunden beobachtet, so waren

geringfügige Änderungen des Kreatinins mit schlechteren Ergebnisse assoziiert.<sup>(35,36)</sup> Zwei zusätzliche Vorbehalte wurden von der AKIN-Gruppe gemacht:

- Die diagnostischen Kriterien können erst bei einem optimierten Volumenstatus Anwendung finden.
- Wird Oligurie als einziges diagnostisches Kriterium verwendet, so muss eine Obstruktion der Harnwege ausgeschlossen werden.

**Staging System** — Das Staging-System für ANV besteht aus drei Stufen, die dem “Risiko”(Stage 1), der “Schädigung”(Stage 2) und dem “Versagen” (Stage 3) der RIFLE-Kriterien entsprechen. „Verlust“ und „terminale Niereninsuffizienz“ wurden aus dem Staging-System entfernt und sind nun als Folgen definiert.

Die klinische Anwendung dieses Staging-Systems hat sich bislang noch nicht durchgesetzt, zeigt aber einigen Nutzen bei der Standardisierung der Definition für klinische/epidemiologische Studien sowie für einheitliche Einschlusskriterien und Endpunkte.

Folgt man allerdings der aktuellen Entwicklung, so werden diese Definitionen zukünftig wahrscheinlich durch empfindlichere und spezifischere Biomarker ersetzt.

### **Biomarker**

Der Verlust der Nierenfunktion bei einer AKI wird im klinischen Alltag durch Messung des Serum Kreatinins, die Berechnung der GFR sowie die Messung des Urinvolumens erkannt. Obwohl das Serum Kreatinin zur Diagnose des ANV weit verbreitet ist, stellt es einen ungünstigen Marker zur frühen Detektion dar und ist vor allem ungeeignet, um zwischen den verschiedenen Ursachen zu differenzieren.<sup>(37)</sup> Der Anstieg des Serum Kreatinins erfolgt zum Beispiel nur langsam nach dem Auftreten eines ANV, so dass ein kritisches therapeutisches Fenster verpasst werden kann, vor allem bei Patienten mit ATN. Auch die Prädiktion einer Transplantatfunktion mit Hilfe von Kreatininwerten potentieller Organspender prä explantationem ist nicht suffizient und bedarf vieler zusätzlicher Parameter. Insgesamt erscheint die Aussagekraft des Kreatinins zur Diagnostik und Klassifizierung einer AKI unzureichend.

Verschiedene Urin- und Serum Proteine wurden intensiv auf ihre Möglichkeit hin untersucht, als Biomarker zur frühen Diagnose der Nierenschädigung zu fungieren. Es gibt vielversprechende Kandidaten, die als potentielle Biomarker infrage kommen, um eine frühe tubuläre

Epithelzellschädigung zu detektieren und zusätzlich die Unterscheidung zwischen einer prärenalen Ursache und einer AKI zu ermöglichen, die ersten klinischen Untersuchungen wurden bereits evaluiert.<sup>(29,38,39,40,41)</sup>

Obwohl viele Biomarker als mögliche Kandidaten identifiziert wurden, sind folgende Schritte vor deren klinischer Einführung empfehlenswert:

- Beurteilung in verschiedenen Situationen der AKI (Herzchirurgie, Transplantation, Sepsis) und in verschiedenen klinischen Zentren.
- Entwicklung und Testung schneller Assays.
- Etablierung eines abgestimmten Panel von Biomarkern, da es unwahrscheinlich ist, dass ein einzelner Biomarker ausreicht; eher wird eine Reihe von Biomarkern zur frühen Diagnose einer AKI nötig sein.

### **Tubuläre Enzyme des Harnsystems**

Folgende Enzyme gelten als tubuläre Harnenzyme: Proximal Renal Tubular Epithelial Antigen (HRTE-1), Alpha-Glutathion S-Transferase (alpha-GST), Pi-Glutathion S-Transferase (pi-GST), Gamma-Glutamyltranspeptidase (gamma-GT), das Bürstensaumenzym Alanin-Aminopeptidase (AAP), Laktatdehydrogenase (LDH), N-Acetyl-beta-Glucosaminidase (NAG) und alkalische Phosphatase (AP). Die meisten dieser Enzyme werden von den proximal-tubulären Epithelzellen freigesetzt und zeigen eine Schädigung wesentlich früher (96-24 Stunden) an als die Änderung des Serum Kreatinins.<sup>(30,42)</sup>

### **Niedermolekulare Harnproteine**

Alpha1-Microglobulin (alpha1-M), Beta2-Microglobulin (beta2-M), Retinol bindendes Protein (RBP), Adenosindeaminase bindendes Protein (ABP) und Cystatin C sind niedermolekulare Proteine des Urins. Sie werden an verschiedenen Orten produziert und durch die Glomeruli filtriert. Die Reabsorption erfolgt an den proximalen Tubuluszellen ohne Sekretion. Obwohl die niedermolekularen Harnproteine in der Prädiktion vielversprechend sind und bei der Unterscheidung zwischen prärenalener Erkrankung und ATN helfen könnten, werden erhöhte Werte auch nach einer reversiblen oder milden Dysfunktion beobachtet und müssen nicht zwingend mit einer anhaltenden oder irreversiblen Schädigung verbunden sein.<sup>(30,34,43)</sup>

### **Urin Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)**

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) ist ein Typ 1 Transmembranglykoprotein, das im Rahmen einer AKI eine deutliche Upregulation zeigt;<sup>(44)</sup> die Ektodomäne wird abgestoßen und kann im Urin durch Immunassays gemessen werden. In einer Studie mit n=40 Patienten zeigte sich KIM-1 nützlich, um eine ATN von anderen Formen der AKI und einer chronischen Nierenerkrankung zu differenzieren.<sup>(45)</sup> Die normierten Urinspiegel von KIM-1 waren bei Patienten mit ischämischer ATN signifikant höher (2.92) als bei Patienten mit anderen Formen der AKI (0.63) oder chronischer Nierenerkrankung (0.72). Nach Ausgleich von Alter, Geschlecht und der Zeit zwischen der initialen Schädigung und dem Sammeln des Urins, war ein Anstieg um 1 Unit des normierten KIM-1 mit einem 12-fach erhöhten Risiko (OR 12.4; 95% CI 1.2) für eine bestehende ATN assoziiert.

### **Urin Interleukin-18 (IL-18)**

Interleukin-18 (IL-18) zeigte einen signifikanten Anstieg im Urin von Patienten mit ATN, im Vergleich zu Patienten mit prärenal Azotämie, Harnwegsinfektionen oder chronischen Nierenerkrankungen.<sup>(46,47,48)</sup>

### **Plasma Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)**

Plasma Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) ist ein 25 kDa großes Protein, das zur Gruppe der Lipocaline gehört.<sup>(49)</sup> Lipocaline sind kleine Sekretproteine, die hydrophobe Moleküle binden. Sie können desweiteren an spezifische Zelloberflächenrezeptoren binden und bilden Komplexe mit löslichen Makromolekülen.

NGAL hat viele Synonyme: Es ist auch bekannt als NL (neutrophil lipocalin), HNL (human NL)<sup>(50)</sup>, lipocalin 2, oncogene protein 24p3<sup>(51)</sup> oder uterocalin (Maus)<sup>(52)</sup> und neu-related lipocalin<sup>(53)</sup> oder 25 kDa alpha2-microglobulin-related protein (Ratte).<sup>(54)</sup>

Humanes NGAL besteht aus einer einzelnen disulfidverbundenen Polypeptidkette, die sich aus 178 Aminosäuren zusammensetzt, mit einer Molekülmasse von 22-25 kDa (Glykosylierung erhöht die Molekülmasse von 22 auf 25 kDa). NGAL wird nach renaler Schädigung vermehrt in den Nierentubuli exprimiert.<sup>(55)</sup> Aufgrund seiner kleinen Molekülmasse und hohen Stabilität ist NGAL im Urin nachweisbar, sowohl in freier Form als auch im Komplex mit MMP-9. NGAL Spiegel im Urin korrelieren mit NGAL Spiegeln im Serum unabhängig von der Kausalität der

erhöhten NGAL Produktion. Besonders hohe NGAL Werte im Urin werden allerdings bei direkter Freisetzung von NGAL von den Nierentubuli erwartet.<sup>(56)</sup>

NGAL wurde ursprünglich aus aktivierten humanen Neutrophilen isoliert.<sup>(51)</sup> Geringe Mengen von NGAL werden jedoch auch von anderen Geweben produziert: von den Nieren, der Prostata und dem Epithel des Respirations- und Magen-Darm-Traktes.<sup>(57,58)</sup> Größere Mengen von NGAL werden vom Abdomen und von entzündeten Epithelzellen des Darms<sup>(59)</sup> sowie von Adenokarzinomen der Brust<sup>(60,61)</sup> und Urothelkarzinomen<sup>(62)</sup> produziert.

Bereits vor Isolierung von NGAL aus humanen Neutrophilen fand man heraus, dass das homologe Mausprotein 24p3 grundsätzlich von Nierenzellen freigesetzt wird; im Falle einer viralen SV40 Infektion waren die NGAL Werte allerdings 14-20-fach erhöht.<sup>(63)</sup>

Eine ähnliche Upregulation von NGAL konnte in proximalen Tubuluszellen von Ratten nach ischämischer Reperfusionsschädigung beobachtet werden.<sup>(64)</sup> Erhöhte Plasma Werte von NGAL wurden bei Patienten mit Nierenschädigung und reduzierter Nierenfunktion aufgrund einer systemischen Vaskulitis gefunden.<sup>(65)</sup> Erhöhte NGAL Werte sowohl im Serum als auch im Urin konnten auch bei Patienten mit Nierenversagen und bei Patienten mit funktionstüchtigen Transplantaten beobachtet werden.<sup>(66)</sup>

Im Falle einer renalen Schädigung kann NGAL auch schützend wirken, indem es die Apoptoserate reduziert und zu einer Steigerung der normalen Proliferation der Nierentubuluszellen führt. Darüber hinaus kommt es durch Steigerung der Eisenfreisetzung durch NGAL zu einer Upregulation der Hämoxxygenase-1 (HO-1), so dass die Tubuluszellen der Niere geschützt werden.<sup>(41,42,67,68,69)</sup>

Vor diesem Hintergrund erscheint NGAL als ein vielversprechender Biomarker zur Diagnose der frühen, akuten Nierenschädigung (auch im Kontext von ischämischen Reperfusionsschäden). Aufgrund dieser Vermutung und aufgrund fehlender geeigneter Parameter wurden verschiedene klinische Studien mit unterschiedlichen Patientenkollektiven und in differenten Kontexten durchgeführt, die den potentiellen Nutzen von NGAL als Biomarker sowohl zur frühen Detektion als auch Prädiktion einer AKI bzw. eines ANV evaluiert haben.

- Urin- und Plasmaspiegel von NGAL wurden in einer Pilotstudie bei n=71 Kindern, bei denen ein kardiopulmonaler Bypass angelegt wurde, bestimmt. Es wurde nach

Biomarkern gesucht, die früh in der Lage sind, eine ATN anzuzeigen.<sup>(70)</sup> 20 Kinder entwickelten eine ATN (in der Studie definiert als Anstieg der Serum Kreatininkonzentration um 50%). Nach einer multivariaten Analyse stellte die Konzentration von NGAL im Urin zwei Stunden nach dem Bypass den signifikantesten Indikator für eine ATN mit einem Grenzwert von 50 µg/L und einer Sensitivität und Spezifität von jeweils 100 % bzw. 98 % dar. Weniger signifikante Resultate wurden bei Erwachsenen beobachtet, die sich einer Herzoperation unterzogen.<sup>(71)</sup>

- Eine weitere prospektive Studie einer heterogenen Gruppe kranker und ventilierter Kinder (im Alter von 1 Monat bis 21 Jahren) zeigte, dass NGAL Urinwerte einen nützlichen und frühen Marker zur Detektion der AKI darstellen.<sup>(72)</sup>
- Anhand einer anderen prospektiven Single-Center-Studie mit n=635 Patienten gewann man die Erkenntnis, dass eine einzige NGAL-Bestimmung im Urin hilfreich sein kann, um zwischen einer AKI, einer normalen Nierenfunktion, prärenal Azotämie und einer chronischen Nierenerkrankung zu unterscheiden.<sup>(73)</sup> Eine prospektive Studie aus Japan mit n=16 Patienten untersuchte, ob NGAL im Rahmen einer delayed graft function (DGF) nach NTx von herztoten Spender zur Prädiktion einer frühzeitigen Erholung der Nierenfunktion dienen kann.<sup>(74)</sup>

### **Andere**

Zur Zeit werden weitere Marker untersucht, inklusive Serum Cystatin C, die Isoform 3 des Natrium-Hydrogen-Exchangers (NHE3), Perforin und Granzym B, CXCR3 bindendes Chemokin, Endothelin, ProANP(1Y98), Tryptophan Glycokonjugat and Cystein-reiches Protein 61 (CYR61), Fettsäure-bindendes Protein, Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor 1 und Plasminogen Activator Inhibitor-1.<sup>(29,30,75,76)</sup> Allerdings sind neben ersten explorativen Untersuchungen weitere prospektive Studien notwendig, um die Nützlichkeit dieser Biomarker für den klinischen Gebrauch zu bewerten.

## **Gegenstand der Arbeit**

Neben der Einschätzung der bekannten Laborparameter existieren wenige Optionen, die es ermöglichen, den Erfolg/Misserfolg einer NTx vorherzusagen und so das potentielle Risiko für die Entwicklung einer DGF bzw. einer initialen Nonfunktion (PNF) für den Rezipienten zu reduzieren. Aufgrund des zunehmenden Organmangels müssen auch marginale Nieren transplantiert werden, um so das Organangebot zu steigern. Diese Organe haben allerdings von vornherein ein potentiell höheres Risiko für die Entwicklung einer DGF/PNF. Aus diesem Grunde würde ein spezifischer Marker, der bereits prä explantationem auf eine subklinische Nierenschädigung der Organspender hinweist, helfen, das Risiko eines Transplantatversagen und/oder eine persistierende Dialyse für den Empfänger zu vermeiden.

Aufgrund der vielversprechenden Aussichten wurde in dieser Arbeit NGAL als neuer Biomarker zur Detektion der Nierentransplantatschädigung in verschiedenen Transplantationspopulationen untersucht.

## **Patienten/Populationen und Analysen**

In folgenden Populationen wurde NGAL evaluiert:

### **(1) Gesunde Freiwillige unter stabilen, vergleichbaren Bedingungen**

Die NGAL Verteilung wurde in einer definierten, gesunden Population unter stabilen Bedingungen beobachtet und die gemessenen Werte mit der Nierenfunktion verglichen, wie sie über Kreatinin und die eGFR (errechnet über die Cystatin C basierte Hoek Formel beschrieben ist.

### **(2) Hirntote Nierenspender vor Organentnahme und korrespondierende Tx-Funktion**

Die Posttransplantatfunktion der Organe von hirntoten Spendern (im Sinne einer verzögerten oder initialen Transplantatfunktion) wurde mit den gemessenen NGAL Werten vor Organentnahme in den korrespondierenden hirntoten Nierenspendern verglichen.

### **(3) Gesunde Nierenlebendspender vor und nach einseitiger Nephrektomie**

Beobachtung der NGAL-Verteilung in einer definierten, gesunden Lebendnierenspenderpopulation unter stabilen Bedingungen und Vergleich der gemessenen NGAL-Werte mit der globalen Nierenfunktion, beschrieben über Kreatinin und eGFR (Cystatin C basierte Hoek Formel), vor und nach Nephrektomie.

### **(4) Nierentransplantatempfänger nach NTx**

Initiale- und verzögerte Tx-Funktion dienten als Stratifizierungsmerkmal für eine Analyse korrespondierender Organspender im Hinblick auf die Prädiktion von Nierenfunktionsparametern und NGAL für die Tx-Funktion im Rezipienten. Die Tx-Funktionen nach Leichenspende sowie nach Lebendspende dienten als Stratifizierungsmerkmal für eine vergleichende Analyse der Tx-Funktion post transplantationem.

### **(5) Vergleich der NGAL-Werte sowie der nierenassoziierten Laborparameter von Rezipienten mit Leichenspende mit Werten von Rezipienten mit Lebendspende**

## **Patienten und Methode**

### **Patientenkollektive**

Im Rahmen einer prospektiven Untersuchung wurden in 5 Patientenkollektiven u. a. folgende deskriptive und laborchemische Parameter (siehe Ergebnisteil) erhoben/berechnet: Alter, BMI, Geschlecht, Dauer des ICU-Aufenthalts vor Organentnahme (hirntote Organspender), CIT, Kreatinin, Cystatin C (Gruppe 1-3), eGFR, NGAL-Werte im Serum und Urin.

Die einzelnen Kollektive im Überblick:

#### **1. Kontrollgruppe (n = 30, je 15 gesunder Frauen/Männer)**

Als Kontrollgruppe wurden n=30 gesunde Probanden unter definierten Bedingungen in die Studie eingeschlossen (Trinkmenge 2.5 L/24h, keine sportliche Belastung innerhalb von 48h vor der laborchemischen Untersuchung).

**Tabelle 1: Kontrollgruppe: Charakteristika**

Anzahl [n]	Sex [w/m]	Alter [Jahre]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]
30	15/15	M.W. ± S.D.	M.W. ± S.D.
		41.3 ± 7.5	22.8 ± 1.6
		S.W.	S.W.
		29-54	20.8-25.5

M.W. = Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / S.W.= Spannweite / Sex= Geschlecht / BMI = Body-Mass-Index

## 2. Organspender auf Intensivstation (n=58)

Die Ergebnisse von n = 58 hirntoten Organspendern wurden untersucht. Die laborchemischen Werte basieren auf einem Untersuchungszeitpunkt vor Multiorganentnahme (MOE). Das durchschnittliche Patientenalter in dieser Gruppe lag bei 49 Jahren; der mittlere BMI war 23.8 kg/m<sup>2</sup>. Die Todesursachen waren: intrazerebrale Blutungen (ICB), HBD (hypoxic brain damage), Subarachnoidalblutungen (SAB), SBI (severe brain injury) und sonstige.

**Tabelle 2: hirntote Nierenspender: Charakteristika**

Todesursache	ICB	HBD	SAB	SBI	Sonstige	Gesamt
Anzahl [n]	10	13	14	10	11	58
Sex [w/m]	4/6	3/10	6/8	5/5	4/7	22/36
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] M.W. ± S.D.	24.2 ± 1.7	23.8 ± 1.8	24.1 ± 1.5	23.8 ± 1.2	23.3 ± 1.6	23.8 ± 1.6
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] S.W.	21.2-26.0	21.2-26.3	21.4-26.2	21.9-25.2	21.4-26.3	21.2-26.3
Alter [Jahre] M.W. ± S.D.	50.6 ± 9.8	46.6 ± 9.3	51.1 ± 9.9	46.5 ± 10.3	49.4 ± 7.4	48.9 ± 9.3
Alter [Jahre] S.W.	36-67	31-59	28-64	29-61	29-61	28-67
ICU [Stunden] M.W. ± S.D.	116.4 ± 26,2	106.6 ± 27.9	113.9 ± 29.9	110.4 ± 21.5	106.1 ± 29.7	110.6 ± 26.8
CIT [Minuten] M.W. ± S.D.	671.5 ± 149.1	675.8 ± 169.5	549.3 ± 212.3	770.6 ± 216.8	726.6 ± 150.2	670.5 ± 192.9

ICB = intrazerebrale Blutung / HBD = hypoxic brain damage / SAB = Subarachnoidalblutung / SBI = severe brain injury / Sex = Geschlecht / BMI = Body-Mass-Index / M.W. = Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / S.W. = Spannweite / ICU = Zeit des Patienten auf der Intensivstation / CIT = kalte Ischämiezeit

### 3. Gesunde Nierenlebendspender vor-/nach Spendernephrektomie (n = 15)

Gesunde Lebendnierenspender (n = 15) wurden vor und nach Donor-Nephrektomie untersucht.

**Tabelle 3: Lebendnierenspender: Charakteristika**

Anzahl [n]	Sex [w/m]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	Alter [Jahre]
15	9/6	M.W. ± S.D.	M.W. ± S.D.
		22.0 ± 0.8	45.8 ± 6.4
		S.W.	S.W.
		20.7-23.5	37-58

M.W. = Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / S.W.= Spannweite / Sex= Geschlecht / BMI = Body-Mass-Index

### 4. Nierentransplantatempfänger (hirntote Spender; n = 33)

Insgesamt wurden n=33 Nierenrezipienten, die eine Niere von hirntoten Spendern erhielten, nachuntersucht. Das mittlere Alter dieser Gruppe war 48.7 Jahre; die mittlere kalte Ischämiezeit (CIT) 693 Minuten ± 178 Minuten. Grunderkrankungen als Ursache der ESRD waren: FSGS (fokal sklerosierende Glomerulonephritis), aHTN (arterieller Hypertonus), DM (Diabetes mellitus) und sonstige.

**Tabelle 4: NTx-Rezipienten (Leichenspende): Charakteristika**

Diagnosen	FSGS	aHTN	DM	Sonstige	Gesamt
Anzahl [n]	9	6	11	7	33
Sex [w/m]	6/3	4/2	5/6	3/4	18/15
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] M.W. ± S.D.	23.1 ± 2.7	23.0 ± 2.3	22.6 ± 2.9	22.0 ± 1.9	22.7 ± 2.5
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] S.W.	19.6 ± 27.2	19.9 ± 27.0	18.2 ± 27.1	19.6 ± 24.5	18.2 ± 27.2
Alter [Jahre] M.W. ± S.D.	50.2 ± 9.5	47.2 ± 9.1	47.5 ± 7.5	50 ± 10.7	48.7 ± 8.7
Alter [Jahre] S.W.	34 ± 61	35 ± 58	34 ± 59	36 ± 61	36 ± 61

FSGS = fokal sklerosierende Glomerulonephritis / aHTN = arterieller Hypertonus / DM = Diabetes mellitus / M.W. = Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / S.W. = Spannweite

## 5. Nierentransplantatempfänger (Lebendspende; n=15)

Insgesamt n=15 Rezipienten, die eine Niere von einem Lebendspender erhielten, wurden untersucht. Die mittlere CIT lag bei 90 Minuten  $\pm$  9 Minuten.

**Tabelle 5: NTx-Rezipienten (Lebendspende): Charakteristika**

Diagnosen	FSGS	aHTN	DM	Sonstige	Gesamt
Anzahl [n]	3	2	5	5	15
Sex [w/m]	0/3	0/2	2/3	4/1	6/9
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] M.W. $\pm$ S.D.	23.2 $\pm$ 3.3	19.2 $\pm$ 1.1	22.8 $\pm$ 1.8	22.5 $\pm$ 3.3	22.3 $\pm$ 2.7
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] S.W.	19.5 - 25.6	18.4 - 20.0	20.2 - 25.2	18.8 - 25.9	18.4 - 25.9
Alter [Jahre] M.W. $\pm$ S.D.	58.7 $\pm$ 5.0	63 $\pm$ 5.7	52.5 $\pm$ 5.8	53.6 $\pm$ 8.4	55.4 $\pm$ 7.2
Alter [Jahre] S.W.	54 - 64	59 - 67	43 - 58	42 - 64	42 - 67

FSGS = fokal sklerosierende Glomerulonephritis / aHTN = arterieller Hypertonus / DM = Diabetes mellitus / M.W. =Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / S.W. = Spannweite / Sex = Geschlecht / BMI = Body-Mass-Index

## Methoden (Materialasservierung, NGAL-ELISA)

Serum- und Urinproben wurden prä- und/oder postinterventionell in den o. g. Kollektiven asserviert. NGAL wurde sowohl im Serum als auch im Urin mittels eines quantitativen ELISA bestimmt (Fa. Dianova). Urin- und Blut-Proben wurden in der gesunden Kontrollgruppe (Gruppe 1) und in den hirntoten Spendern (Gruppe 2) nur zum Ausgangszeitpunkt (t=0) vor Organentnahme gesammelt; bei den Lebendnierenspendern (Gruppe 3) wurden Urin- und Blut-Proben zum Ausgangszeitpunkt (t=0) abgenommen sowie an den folgenden postinterventionellen Tagen: t=1d, t=3d, t=5d. Bei den Nierentransplantatempfängern (Gruppe 4 und 5) wurden zusätzlich zu t=0 folgende Zeitpunkte bestimmt: t=2h, t=4h, t=6h, t=24h, t=48h sowie t=72h, t= 96h und t=120h postinterventionell. Überschritt die Operationsdauer den t=2 Stundenwert, so wurde der erste Wert nach der Operation als 2 Stundenwert benutzt.

Die Voll-Blutproben wurden unmittelbar nach Abnahme bei 2,000 Umdrehungen für 5 Minuten zentrifugiert; anschließend wurde das Serum asserviert und bei  $-80^{\circ}$  C bis zur Auswertung tiefgefroren.

Folgende nierenassoziierte Laborparameter der klinischen Chemie wurden bei den Nierenrezipienten (Gruppe 4 und 5) bestimmt: Serum-Kreatinin zu den Zeitpunkten: t=0h, t=2h, t=6h, t=24h, t=48h, t=72h, t=96h, t=120h; Harnstoff einmalig zum Zeitpunkt t=0h. Bei den

Lebendnierenspendern (Gruppe 3) wurden die nierenassoziierten Laborparameter wie folgt bestimmt: Serum-Kreatinin zu den Zeitpunkten  $t=0$ ,  $t=1d$ ,  $t=3d$ ,  $t=5d$  und Harnstoff einmalig ( $t=0$ ).

Bei der gesunden Kontrollgruppe (Gruppe 1) sowie bei den hirntoten Nierenspendern (Gruppe 2) wurden Serum-Kreatinin und Harnstoff nur zum Ausgangszeitpunkt ( $t=0$ ) bestimmt.

### **ELISA zur NGAL-Bestimmung**

NGAL aus Serum- und Urin-Proben wurde in 4 Schritten mittels Sandwich Elisa (Fa. Dianova) bestimmt. Das Prinzip des Tests beruht auf folgenden Zusammenhängen:

NGAL wird an die mit einem Antikörper (AK) gegen NGAL beschichteten Wells gebunden und mit einem anderen monoklonalen, biotin-gelabelten AK nachgewiesen. Mit HRP konjugiertem Streptavidin wird ein Komplex gebildet und nach Zusatz eines Farbsubstrats wird die Farbstärke bei 450 nm im ELISA-Reader gemessen.

Zur Analyse werden 10  $\mu\text{L}$  Serum oder Urin benötigt. Das Serum wurde aus EDTA-Vollblut gewonnen und wie die Urinproben bei  $-80^\circ\text{C}$  tiefgefroren. Vor Bearbeitung wurden die Proben schonend bei Raumtemperatur (RT,  $20-25^\circ\text{C}$ ) aufgetaut. Jede zu untersuchende Probe wurde auf  $1/500$  der Ausgangskonzentration verdünnt. Dupletts von je 100  $\mu\text{L}$  jeder Probe wurden in die mit anti-NGAL beschichteten Wells der Mikrotiterplatten überführt. Die NGAL-Kalibratoren, der biotin-gelabelte AK und das mit HRP konjugierte Streptavidin sowie das TMB-Substrat und die Stopp-Lösung waren gebrauchsfertig. Nach Überführung der Proben und Kalibratoren in die beschichteten Wells wurde die Probenplatte für 60 Minuten auf einer bewegten Platte (200/min) bei RT inkubiert. Anschließend wurden die Wells mit entsprechender Waschlösung, die zuvor aus dem fertigen Waschlösungskonzentrat (30 mL) auf 750 mL verdünnt wurde, gewaschen, bevor jedes Well mit 100  $\mu\text{L}$  des biotin-gelabelten NGAL-AK beschickt wurde. Die Inkubationszeit auf der bewegten Platte betrug bei RT abermals 60 Minuten. Nach erneutem Waschen (3x) wurden je 100  $\mu\text{L}$ /Well des mit HRP konjugierten Streptavidin zugegeben, bevor erneut für 60 Minuten auf der bewegten Platte bei RT inkubiert wurde. Nach erneutem Waschen (3x) wurden je 100  $\mu\text{L}$ /Well des TMB Substrates zugeführt. Die Reaktionszeit bei RT in Dunkelheit betrug 10 Minuten. Nach Zugabe von 10  $\mu\text{L}$ /Well Stopp-Lösung wurde die optische Dichte innerhalb von 30 Minuten bei 450 nm im ELISA-Reader (Fluostar galaxy; Fa. BMG) gemessen.

## **Datenverarbeitung und Statistik**

Zur Textverarbeitung wurde Microsoft Word 2007, zur Datenverwaltung Microsoft Excel 2003 genutzt. Das Programm SPSS für Windows<sup>TM</sup> Version 15.0 und 17.0 wurde für explorative, deskriptive und statistische Datenanalysen verwendet.

Korrelationen zwischen eGFR und NGAL im Serum und Urin bei gesunden Probanden sowie bei Nierenspendern wurden mittels des allgemeinen linearen Modells univariat ermittelt.

Korrelationen für Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C und NGAL zwischen hirntoten Nierenspendern und der Kontrollgruppe wurden mit Hilfe des t-Tests analysiert.

Um die Prädiktionsstärke von NGAL im Serum und Urin sowie von Kreatinin und Cystatin C vor NTx (Nierenspender) für die spätere Transplantatfunktion beurteilen zu können, wurde die logistische Regression angewandt.

Zum Funktionsvergleich der Nierentransplantate von hirntoten Spendern vs. Lebendnierenspendern wurde die lineare Regression verwendet.

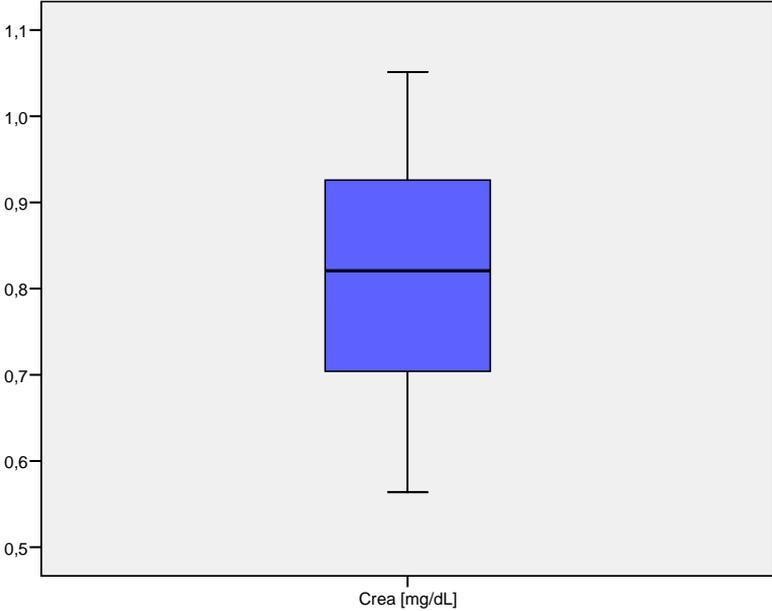
Für alle Untersuchungen wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0.05$  angenommen.

## **Ergebnisse**

### **Kontrollgruppe (n = 30, je 15 gesunde Frauen/Männer)**

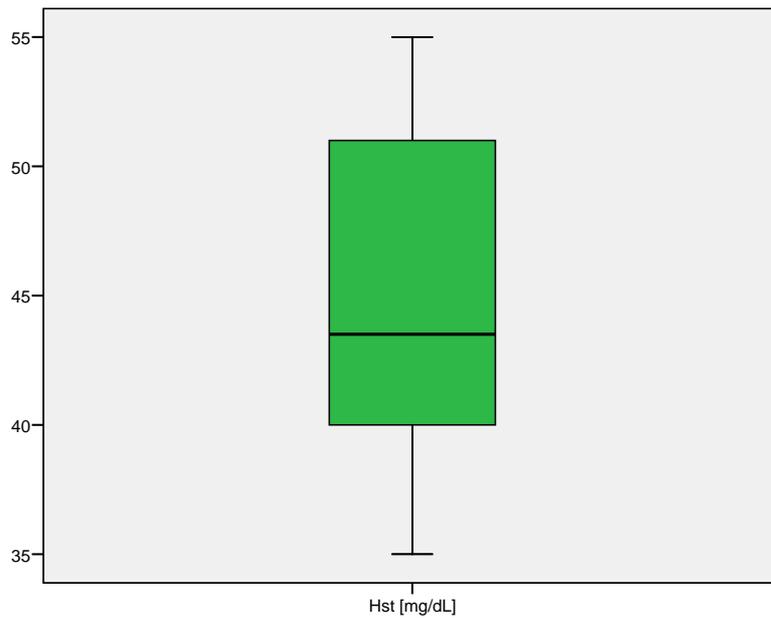
In einer definierten, gesunden Population wurden unter stabilen Bedingungen (siehe oben) NGAL und andere Parameter (Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C, eGFR) untersucht. Die Verteilung dieser Parameter ist in den Abbildungen (Abb.) 1-5 dargestellt. Die eGFR basiert auf der Cystatin C basierten Hoek Formel.

Abbildung 1: Kontrollgruppe: Verteilung der Kreatininwerte



Crea = Kreatinin

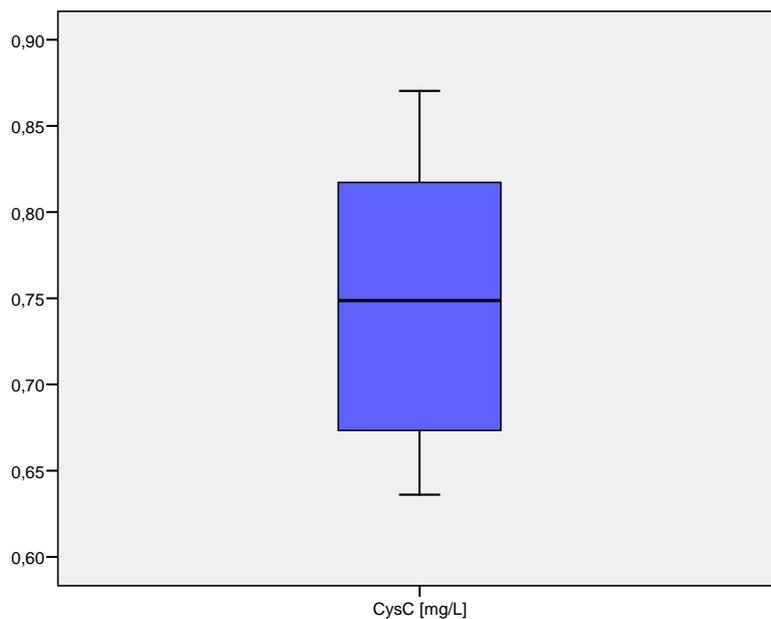
**Abbildung 2: Kontrollgruppe: Verteilung der Harnstoffwerte**



Hst = Harnstoff

Abb. 1 und 2 zeigen die Verteilung der gemessenen Kreatinin- und Harnstoffwerte der Probanden (n=30) der gesunden Kontrollgruppe anhand des Interquartilsabstandes und des Medians. Alle gemessenen Einzelwerte waren im altersentsprechenden Normalbereich.

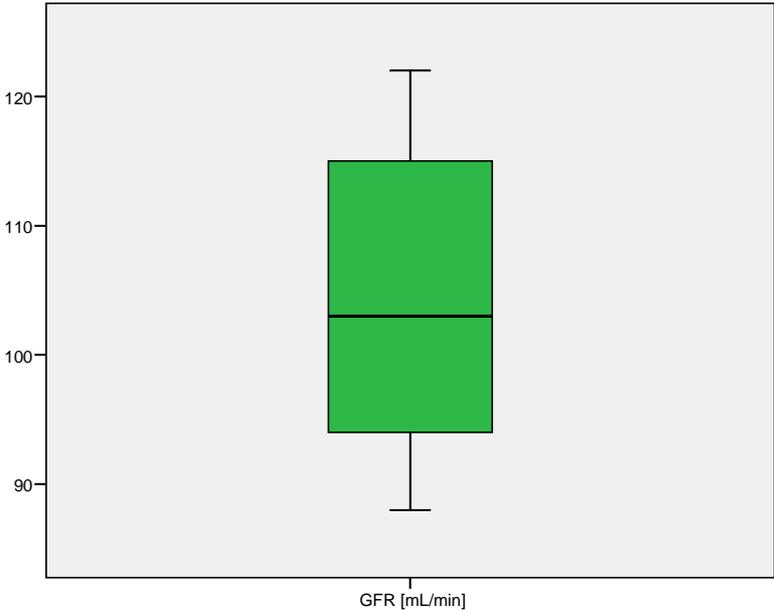
**Abbildung 3: Kontrollgruppe: Verteilung der Cystatin C-Werte**



CysC = Cystatin C

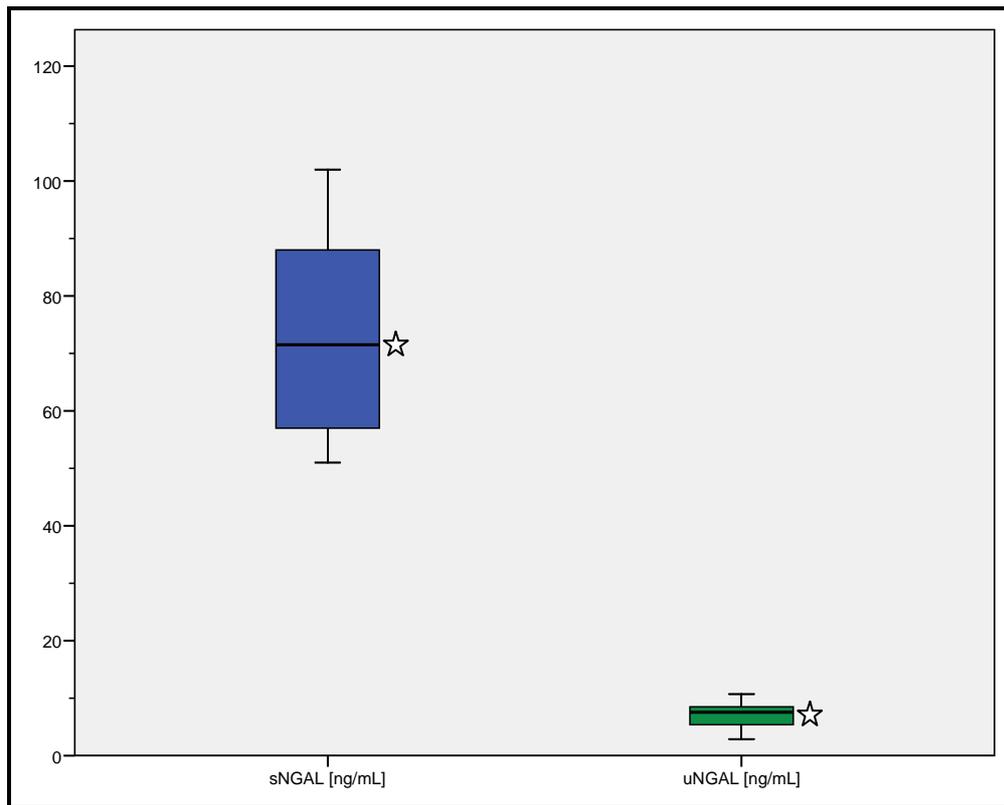
Abb. 3 zeigt die Verteilung der gemessenen Cystatin C Werte der Probanden (n=30) in der gesunden Kontrollgruppe anhand des Interquartilsabstandes und des Medians. Die Cystatin C Werte wurden unter Anwendung der Hoek Formel verwendet, um die eGFR zu berechnen.

Abbildung 4: Kontrollgruppe: Verteilung der eGFR-Werte



GFR = errechnete Glomeruläre Filtrationsrate

**Abbildung 5: Kontrollgruppe: Verteilung der NGAL-Werte im Serum und Urin**



sNGAL = Serum NGAL / uNGAL = Urin NGAL / ☆ = positive Korrelation zwischen eGFR und sNGAL sowie eGFR und uNGAL

Abb. 4 und 5 veranschaulichen die Verteilung der eGFR Werte sowie der NGAL Werte im Serum und Urin der Probanden (n=30) in der gesunden Kontrollgruppe anhand des Interquartilsabstandes und des Medians. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der eGFR und den gemessenen sNGAL und uNGAL Werten.

### **Hirntote Organspender auf der Intensivstation (n=58)**

Tabelle 6 gibt eine Übersicht über die NGAL Werte im Serum und Urin von n=58 hirntoten Organspendern und über andere Parameter (Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C und eGFR). Die Ergebnisse werden mit der Kontrollgruppe verglichen.

**Tabelle 6: Hirntote Organspender vs. Kontrollgruppe: NGAL, Nierenfunktionsparameter**

	hirntote Nierenspender		Kontrollgruppe		p=0.05
	M.W.	S.D.	M.W.	S.D.	
Crea [mg/dL]	1.9	0.59	0.8	0.13	<0.05*
Hst [mg/dL]	60.6	30.24	44.4	5.95	0.005*
CysC [mg/L]	1.12	0.24	0.74	0.07	<0.05*
eGFR [mL/min]	70.7	14.76	104.6	10.86	<0.05*
sNGAL [ng/mL]	1183.7	531.57	73.3	15.93	<0.05*
uNGAL [ng/mL]	121.5	43.63	7.2	2.32	<0.05*

M.W. =Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / Crea = Kreatinin / Hst = Harnstoff / CysC = Cystatin C / GFR = errechnete Glomeruläre Filtrationsrate / sNGAL = NGAL Werte im Serum / uNGAL = NGAL Werte im Urin / \* = statistisch signifikant

Tab. 6 zeigt statistisch signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ) für alle nierenassoziierten Laborparameter (Kreatinin, Harnstoff, Cystatin C) sowie der eGFR und der NGAL Werte im Serum und Urin zwischen hirntoten Nierenspendern und der Kontrollgruppe.

Nach Organentnahme wurde die Organfunktion (Niere) in den entsprechenden Empfängern nach NTx weiterverfolgt, wobei zwischen initialer- und verzögerter Transplantatfunktion (IF = initial function; DGF = delayed graft function) unterschieden wurde. DGF wurde als die Notwendigkeit einer Dialyse im Zeitraum 24-168 Stunden nach Transplantation definiert.<sup>(77,78)</sup> Die zwei Funktionszustände IF und DGF wurden mit den gemessenen NGAL Werten in den korrespondierenden hirntoten Nierenspendern vor Organentnahme verglichen.

**Tabelle 7: Transplantatfunktion nach NTx (IF vs. DGF) und nierenrelevante Laborparameter in korrespondierenden hirntoten Organspendern vor MOE (M.W., S.D.)**

	initiale Tx-Funktion		verzögerte Tx-Funktion		p=0.05
	M.W.	S.D.	M.W.	S.D.	
Crea [mg/dL]	1.7	0.53	2.0	0.62	0.078
Hst [mg/dL]	68.6	27.22	54.1	31.41	0.069
CysC [mg/L]	0.98	0.17	1.23	0.25	<0.05*
eGFR [ml/min]	79.5	12.33	63.6	12.66	<0.05*
sNGAL [ng/mL]	1242.3	502.39	1136.1	557.48	0.454
uNGAL [ng/mL]	81.9	17.42	153.8	29.41	<0.05*

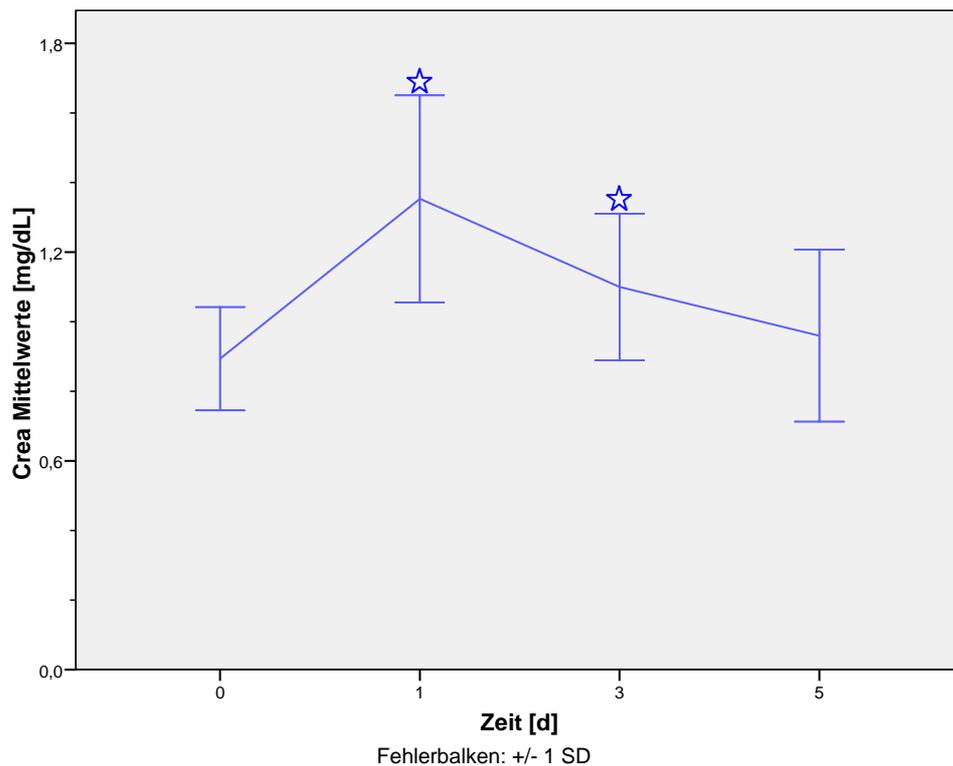
M.W. =Mittelwert / S.D. = Standardabweichung / Crea = Kreatinin / Hst = Harnstoff / CysC = Cystatin C / eGFR = errechnete Glomeruläre Filtrationsrate / sNGAL = NGAL Werte im Serum / uNGAL = NGAL Werte im Urin / \* = statistisch signifikant

Tab. 7 zeigt prä explantationem signifikante Unterschiede in hirntoten Organspendern für korrespondierende Nierentransplantate mit initialer vs. verzögerter Allograftfunktion für Cystatin C (sowie CysC basierten eGFR) und Urin NGAL Werten. Für Kreatinin, Harnstoff und Serum NGAL ergab sich keine statistisch signifikante Differenz.

#### **Gesunde Nierenlebendspender vor-/nach Spendernephrektomie (n=15)**

Abbildung 6 zeigt die Nierenfunktion bei Lebendspendern vor und nach Nephrektomie, dargestellt als zeitlicher Verlauf von Kreatinin und eGFR (CysC basierte Hoek Formel).

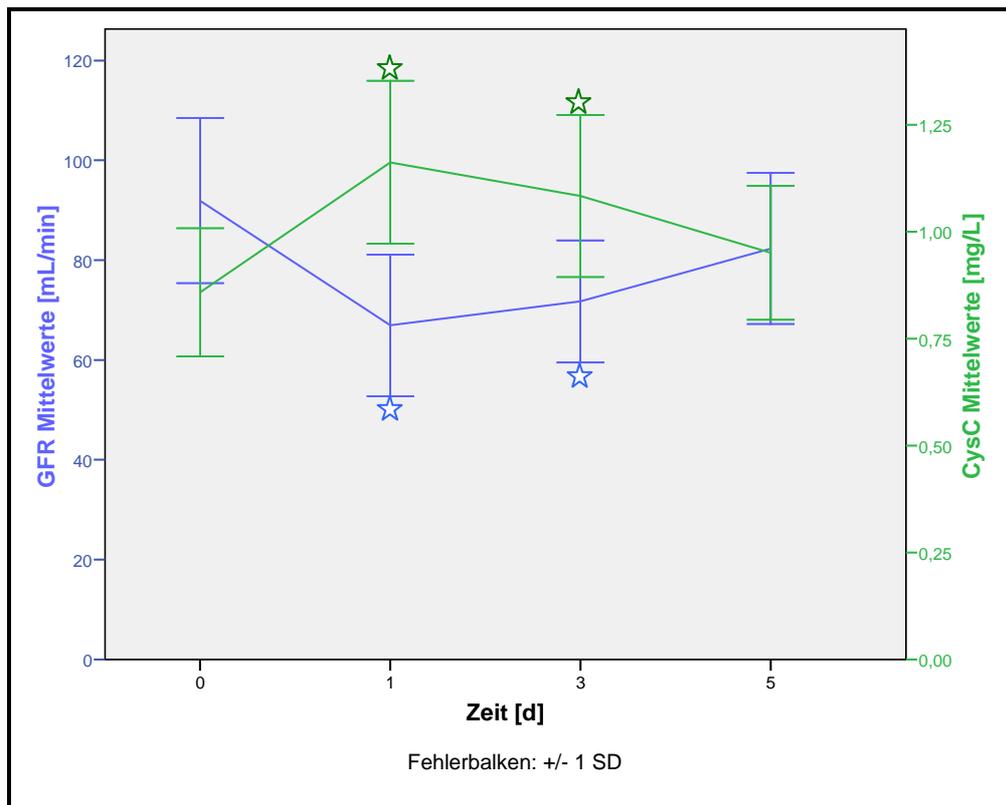
Abbildung 6: Nierenfunktion Lebendspender vor/nach Nephrektomie: Verlauf Kreatinin



t0 = vor Spendernephrektomie / Crea = Kreatinin / d = Tage / ☆ = statistisch signifikanter ( $p < 0.05$ ) Kreatininanstieg gegenüber dem Zeitpunkt t0

Abb. 6 stellt die Kreatininwerte (M.W. und S.D.) gesunder Nierenspender im postoperativen Verlauf dar. Es zeigt sich ein signifikanter Anstieg der Kreatininmittelwerte gesunder Nierenspender zu beiden Messzeitpunkten am 1. und 3. Tag nach Nephrektomie (gegenüber dem präoperativen Ausgangswert). Die Messung am 5. POD zeigt die Kreatininmittelwerte annähernd auf dem präoperativen Ausgangsniveau.

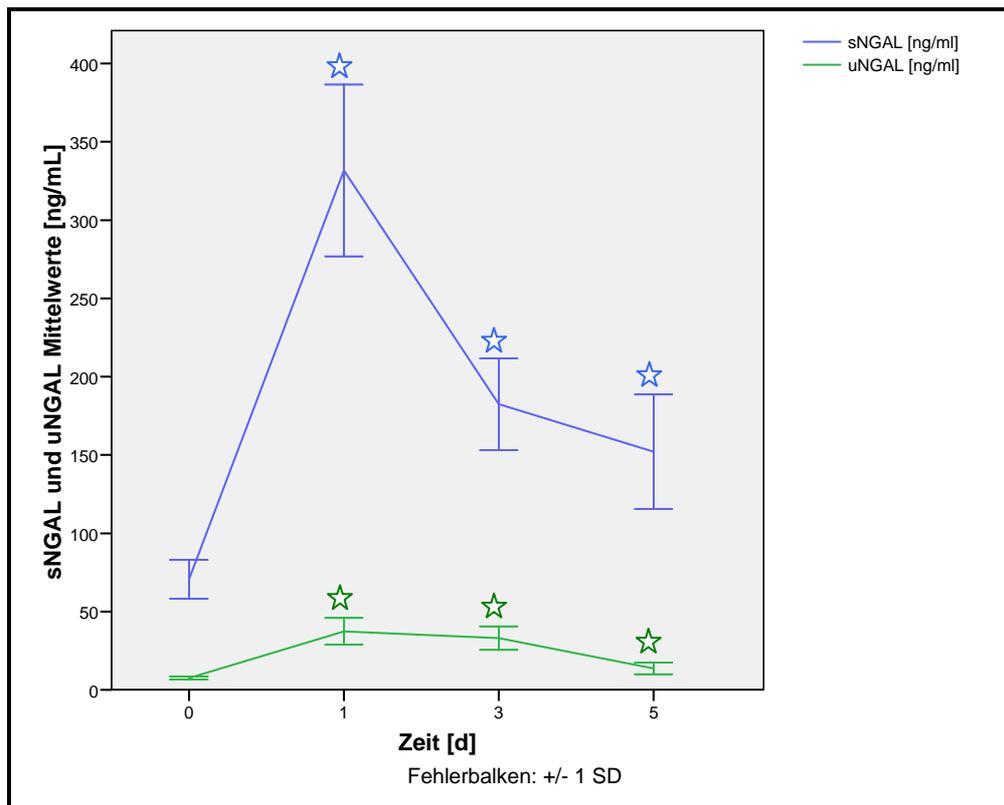
Abbildung 7: Nierenfunktion Lebendspender vor/nach Nephrektomie: Verlauf eGFR- und CysC



CysC = Cystatin C / ☆ = statistisch signifikant (p<0.05)

Abb. 7 stellt die eGFR und CysC Werte (M.W. und S.D.) gesunder Nierenspender im postoperativen Verlauf dar. Es zeigt sich einen signifikanten Anstieg von CysC zu den Messzeitpunkten am 1. und 3. Tag nach Nephrektomie (gegenüber dem präoperativen Ausgangswert) und eine erwartungsgemäß signifikante Reduktion der eGFR. Beide Werte (CysC und eGFR) zeigen am 5. POD annähernd Ausgangsniveau.

**Abbildung 8: Nierenfunktion Lebendspender vor/nach Nephrektomie: Verlauf sNGAL und uNGAL**



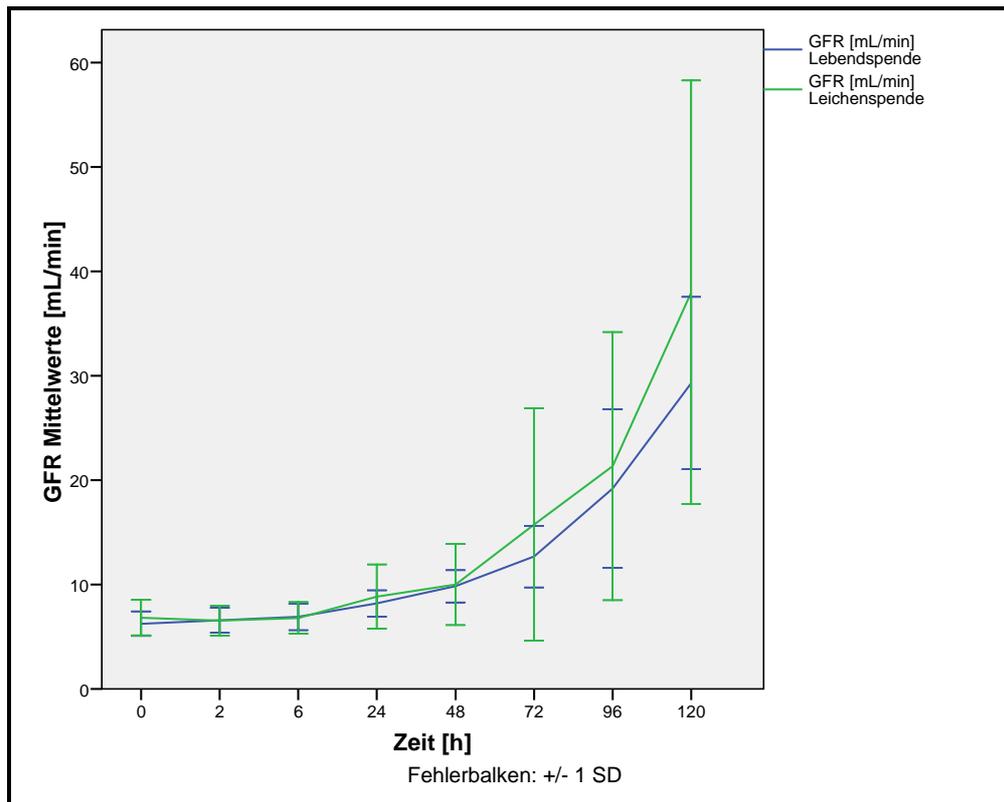
sNGAL = NGAL im Serum / uNGAL = NGAL im Urin / ☆ = statistisch signifikant ( $p < 0.05$ ) / d = Tage

Abb. 8 zeigt eine signifikante Erhöhung von sNGAL und uNGAL Mittelwerten bei gesunden Lebendspendern am 1. und 3. POD (gegenüber dem präoperativen Ausgangswert), die auch am 5. POD (zwar numerisch regredient) signifikant bleiben. Diese Ergebnisse zeigen, im Unterschied zu den am 5. POD bereits normalisierten Werten von Kreatinin, CysC und eGFR, dass Serum- und Urin NGAL möglicherweise eine feinere Differenzierung der verbleibenden Nierenfunktion erlauben.

### **Nierentransplantatempfänger nach NTx**

In NTx-Rezipienten mit initialer Allograftfunktion, die ihr Transplantat entweder als Leichen- oder Lebendspende erhalten hatten, wurden eGFR-, Kreatinin- und NGAL Mittelwerte im Serum und Urin nach NTx verglichen, um einen möglichen Unterschied zwischen Leichen- versus Lebendspende zu untersuchen.

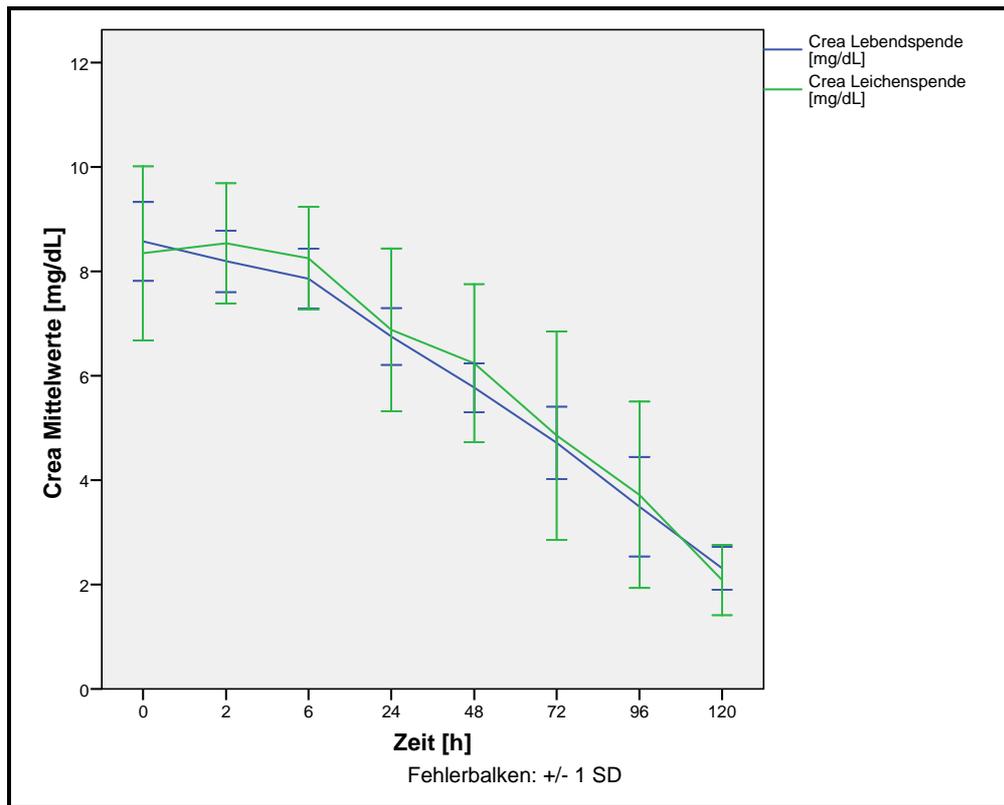
Abbildung 9: NTx-Rezipienten: eGFR Verlauf (Leichenspende mit IF vs. Lebendspende)



eGFR = errechnete Glomeruläre Filtrationsrate

Abb. 9 vergleicht die eGFR Mittelwerte von Nierentransplantatempfängern, die ihr Allograft entweder durch Leichen- oder Lebendspende erhalten haben. Der Unterschied der eGFR Werte zwischen diesen beiden Gruppen erreicht keine Signifikanz; auch wenn zu späteren Untersuchungszeitpunkten ( $t > 72$  h) die eGFR Werte der Empfänger von Leichenspenden numerisch im Mittel leicht höher sind.

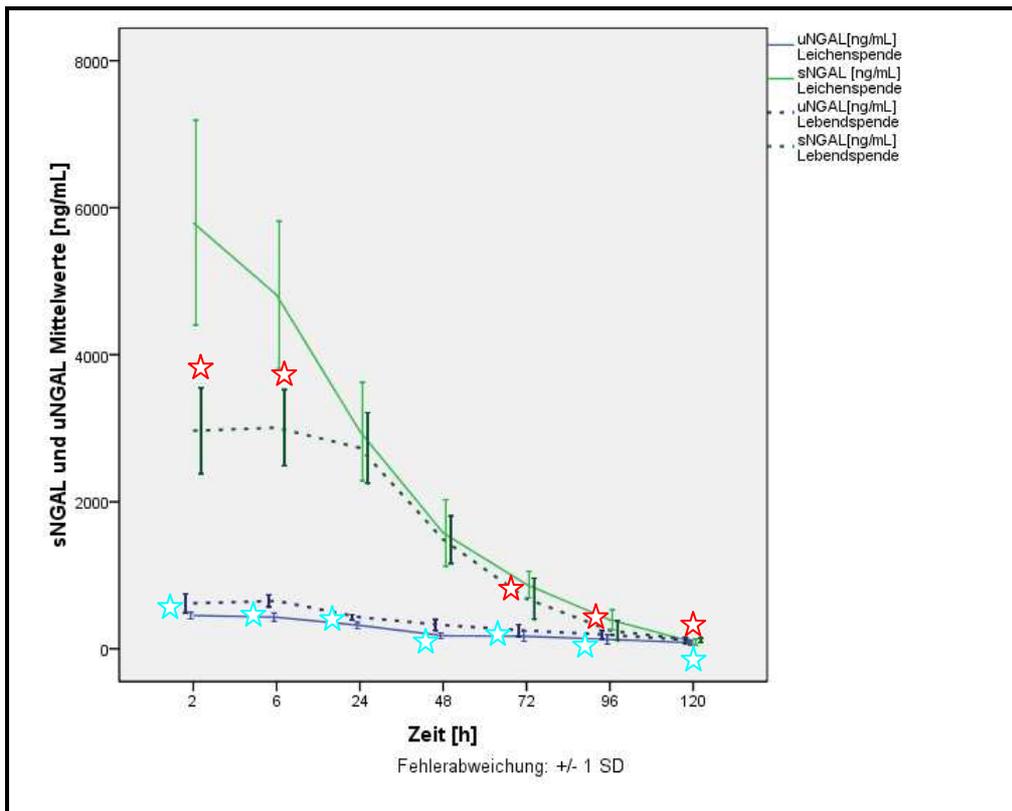
Abbildung 10: NTx-Rezipienten: Kreatininverlauf (Leichenspende mit IF vs. Lebendspende)



Crea = Kreatinin / h = Stunden

Abb. 10 vergleicht den Verlauf der Kreatinin Mittelwerte von Nierentransplantatempfänger, die ihr Allograft entweder durch Leichen- oder Lebendspende erhalten haben. Dabei zeigt sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Patienten mit initialer Transplantatfunktion erreichen unabhängig vom Modus der Spende ein Serum Kreatinin < 2.5 mg/dL innerhalb von 120 Stunden post transplantationem.

Abbildung 11: NTx-Rezipienten: Verlauf NGAL im Serum und Urin (Leichenspende mit IF vs. Lebendspende)



sNGAL = NGAL im Serum / uNGAL = NGAL im Urin / ☆ = sNGAL Werte und ☆ = uNGAL Werte zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen Empfängern, die eine Leichen- oder Lebendspende erhielten / h= Stunden)

Abb. 11 vergleicht die sNGAL und uNGAL Mittelwerte bei Transplantatempfängern; die ihr Allograft entweder durch Leichen- oder Lebendspende erhalten haben. Es zeigen sich signifikante Unterschiede in den uNGAL Mittelwerten zwischen den Gruppen zu allen Zeitpunkten. Die sNGAL Mittelwerte beider Gruppen unterscheiden sich signifikant in den Zeitpunkten: t=2h, t=6h, t=72h, t=96h und t=120h nach NTx.

## **Diskussion**

1. Die Untersuchungen zielten u. a. auf die Beantwortung der Frage ab, wie sich die NGAL Verteilung in einer gesunden Kontrollgruppe darstellt und wie die NGAL Werte im Serum und Urin mit der eGFR korrelieren.
2. Desweiteren wurde die Allograftfunktion im Rezipienten (hirntote Organspender) post transplantationem i. S. einer DGF resp. IF mit den prä explantationem gemessenen NGAL Werten sowie den gebräuchlichen Nierenfunktionsparametern vor MOE in korrespondierenden Organspendern verglichen.
3. Ferner wurde die NGAL Verteilung in einer definierten, gesunden Lebendnierenspenderpopulation unter stabilen Bedingungen beobachtet. Die im Verlauf gemessenen NGAL Werte wurden mit der globalen Nierenfunktion (beschrieben über Kreatinin und eGFR) vor und nach Donornephrektomie korreliert.
4. Darüber hinaus wurden NGAL Werte sowie nierenassoziierten Laborparameter von Rezipienten nach Leichenspende (IF) mit entsprechenden Resultaten von Rezipienten nach Lebendspende verglichen.

### **Die durchgeführten Untersuchungen zeigen:**

#### Ad (1)

Es besteht eine negative Korrelation zwischen den gemessenen NGAL Werte im Urin und Serum und der eGFR in der gesunden Kontrollgruppe, in hirntoten Nierenspendern sowie in Lebendspendern. NGAL stellt damit sowohl im Serum-, mehr noch im Urin einen gleichsinnigen Surrogatmarker der globalen Nierenfunktion dar.

#### Ad (2)

Prä explantationem zeigten sich statistisch signifikant höhere Werte für Cystatin C und uNGAL in hirntoten Nierenspendern, deren korrespondierende Rezipienten post transplantationem ein DGF hatten. Umgekehrt hatten Empfänger von Spendern mit niedrigen uNGAL Werten eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine initiale Transplantatfunktion. Sowohl CysC als auch uNGAL erwiesen sich als wertvolle Differenzmarker zur weiteren Diskriminierung der Organqualität in einem Bereich, in dem das Kreatinin keine weitere Beurteilung erlaubte.

Ad (3)

Erwartungsgemäß zeigten sich bei gesunden Lebendnierenspendern deutlich erhöhte Nierenfunktionsparameter (Kreatinin, CysC, sNGAL, uNGAL) nach einseitiger Spendernephrektomie zu den Zeitpunkten POD 1 und 3. Während das Kreatinin und die eGFR am POD 5 vergleichbare Werte zum präoperativen Ausgangswert zeigten, erlaubten Serum- und Urin NGAL eine differenziertere Beobachtung der adaptiven Veränderungen nach Spendernephrektomie auch zu diesem Zeitpunkt.

Ad (4)

Unerwartet war das Untersuchungsergebnis, dass offensichtlich (a) ein statistisch signifikanter Unterschied der postoperativen NGAL Werte bei Rezipienten einer Kadaverniere (höher) mit IF gegenüber Rezipienten einer Lebendnierenspende (niedriger) besteht und dass (b) die vergleichende statistische Analyse der postoperativen NGAL Werte der Rezipientenkollektive signifikante Unterschiede für uNGAL zu allen gemessenen Zeitpunkten und für sNGAL zu den Zeitpunkten t=2h, t=6h, t=72h, t=96h und t=120h zeigte. Der Vergleich der postoperativen Werte für Kreatinin und eGFR zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Eine Erklärung für die bereits prä transplantationem niedrigeren NGAL Werte der Lebendspendeempfänger könnte einerseits deren insgesamt besserer Gesundheitszustand sein (u. a. partielle Restfunktion der Eigennieren) und könnte andererseits dadurch bedingt sein, dass alle Lebendspenderrezipienten elektiv vor dem Eingriff der Transplantation dialysiert wurden, was im ungeplanten Setting der Kadaverspende nur selten möglich war.

### **Diskussion der Ergebnisse**

Eine Nierentransplantation stellt für Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (ESRD) neben den üblichen Nierenersatzverfahren eine weitere, präferierte Therapieoption dar. Die Überlebenschancen sowie die Lebensqualität dieser Patienten werden im Vergleich zu langjähriger Dialyse deutlich verbessert.<sup>(79)</sup>

Ein gravierendes und wachsendes Problem im Kontext der Nierentransplantationen besteht in der zunehmenden Diskrepanz zwischen der Anzahl verfügbarer Spenderorgane und der zunehmenden Anzahl von Patienten auf der Warteliste für eine Nierenspende.<sup>(80)</sup> Die mediane Wartezeit auf eine Nierentransplantation hat sich für Patienten in der letzten Dekade in den USA

verdoppelt und die Zahl der Patienten auf der Warteliste stieg um 260% an. Während der gleichen Zeit erhöhte sich die Zahl der Nierentransplantationen jedoch nur um 16%.<sup>(80,81,82)</sup>

Im Eurotransplantraum warten ca. 11'308 Dialysepatienten auf ein geeignetes Organ und nur ca. 3'703 Kadavernieren- und 1'032 Lebendnierenspenden sind jährlich verfügbar.<sup>(83)</sup>

Das Missverhältnis zwischen Patienten auf der Warteliste und denjenigen, die eine Nierentransplantation erhalten, wird in der Zukunft eher zunehmen. Die jährliche Mortalitätsrate für Patienten auf der Warteliste für eine Nierentransplantation wird auf 6.3 % geschätzt.<sup>(84)</sup>

Die Anzahl der Patienten mit einem Lebensalter  $\geq 65$  Jahren, die auf eine Nierentransplantation warten, erhöht sich ebenfalls kontinuierlich und Patienten sterben im höheren Alter zunehmend mit funktionstüchtigen Organen, so dass Anfang 1999 das „Eurotransplant Senior Program“ (ESP) startete: Kadavernieren von Spendern  $\geq 65$  Jahren werden an Empfänger  $\geq 65$  Jahren in lokaler Allokation mit kurzer kalter Ischämiezeit (CIT) vergeben.<sup>(85)</sup>

Zum Einen wird so ein effizienterer Gebrauch von Nieren von Spendern mit einem Alter  $> 65$  Jahren erreicht und zum Anderen wird die Wartezeit älterer Patienten auf eine Nierentransplantation reduziert.<sup>(86)</sup>

Obwohl mit steigendem Spenderalter die Transplantatüberlebenszeit eine Reduktion erfährt<sup>(87)</sup>, hat sich die Bereitschaft zur Transplantation solcher Organe erhöht.

Eine Grundvoraussetzung zur Transplantation von Organen aus dem ESP stellt die Reduktion der CIT dar, um den Ischämieschaden dieser Organe möglichst gering zu halten.

Eine nicht-randomisierten Studie von Smits et al. aus dem Jahr 2002 hat gezeigt, dass keine Unterschiede in den Outcomeparametern zwischen Patienten existieren, die eine Niere über das ESP erhielten und Patienten, denen eine Niere über das gewöhnliche Allokationsprogramm transplantiert wurde.<sup>(85)</sup> Man nimmt an, dass die gute Ein-Jahres-Transplantatüberlebensrate von 86 % in der ESP-Gruppe u. a. auf die kurze CIT zurückzuführen ist.

In einer Studie des UNOS (United Network for Organ Sharing) betrug die 5-Jahres-Transplantatüberlebensrate (5-JÜR) in der Gruppe älterer Spender ( $> 60$  Jahren) 42.3 % und lag bei 61.4 % in der Gruppe von Spendern mit einem Alter zwischen 19 und 50 Jahren.<sup>(88)</sup>

Im Jahr 2002 wurde der Begriff der ECD (extended criteria donors) eingeführt. Unter diesem Begriff werden verstorbene Spender im Alter von  $\geq 60$  Jahren und Spender mit einem Alter von

50-59 Jahren und mindestens zwei der folgenden Charakteristika zusammengefasst: Hypertension in der Vorgeschichte, Serum Kreatininspiegel >1.5 mg/dL, zerebrovaskuläre Todesursache.<sup>(89)</sup>

Das Risiko eines Transplantatversagens nach einer ECD Transplantation ist 70 % höher als nach einer nicht-ECD Transplantation.<sup>(89)</sup> Etwa 17 % beträgt der Anteil der transplantierten ECD Nieren an den Kadavernierenspenden in den USA.<sup>(90)</sup> Bei Aufnahme auf die Warteliste für ein Transplantat müssen die Patienten ihre Zustimmung für ein ECD Organ geben oder dies ablehnen. Schwierig ist diese Abwägung insofern, als dass das Risiko eines Transplantatversagens höher ist als bei nicht-ECD Nieren. Jedoch muss beachtet werden, dass das längerfristige Überleben dieser Rezipienten durch die Transplantation einer ECD Niere schneller verbessert werden kann, als es mit der Fortführung einer Nierenersatztherapie und dem Warten auf ein geeignetes nicht-marginales Spenderorgan möglich wäre. Dies zeigten 2001 auch Ojo et al.<sup>(84)</sup> Sie fanden heraus, dass das Patientenüberleben bei Rezipienten einer marginalen Nierenspende signifikant höher ausfiel, als bei Patienten, die sich weiterhin auf der Warteliste befanden und dialysiert wurden. Der durchschnittliche Gewinn der Lebenserwartung lag bei 5 Jahren im Vergleich zu Patienten auf der Warteliste.<sup>(84)</sup>

Der Anteil der Lebendspenden nimmt inzwischen im Eurotransplantraum ca. einen Anteil von 1/3 aller Nierentransplantationen ein. Neben Verwandtenspenden (Vater, Geschwister etc.) werden z. B. in der Schweiz auch sogenannte Ringtausch-Transplantation (cross-over) mit Erfolg durchgeführt.

Die Studie von Terasaki et al. aus dem Jahr 1995 zeigte, dass trotz geringerer Übereinstimmung der HLA-Typisierung Transplantate von unverwandten Lebendspendern bessere Überlebensraten zeigten als Kadavernieren mit höheren HLA-Übereinstimmungen. Die Ursache dafür wurde vor allem in der Tatsache gesehen, dass ca. 10 % der Kadavernieren bereits vor Explantation Schäden aufwiesen.

Zusammengefasst lässt sich festhalten, dass aufgrund der Ausweitung der Akzeptanzkriterien auch auf marginale Spenderorgane insgesamt mehr Organe transplantiert werden; die Folge sind allerdings auch eine höhere Anzahl von Organen mit einer DGF bzw. INF.

Dies birgt ein erhöhtes Risiko für den Rezipienten und verursacht zugleich eine stärkere Belastung des Gesundheitswesens aufgrund längerer Krankenhausverweildauern, höherer Komplikationsraten, erneuter und/oder fortgesetzter Nierenersatztherapie, etc.. Insgesamt zeigt

die Literatur für die DGF, meist definiert als die Notwendigkeit einer Dialyse innerhalb der ersten Woche nach NTx, eine Rate von 4-10 % bei Lebendnierenspenden und von 5-50 % bei Leichenspenden.<sup>(91,92,93)</sup>

Den bis dato aufschlussreichsten Informationsgewinn zur Differentialdiagnose bei Vorliegen einer DGF liefert die frühe Biopsie des Transplantates, die eine Abgrenzung der ATN und/oder Abstoßung des Transplantates von einer beispielsweise medikamentös bedingten Nephrotoxizität erlaubt. Allerdings sind wiederholte Biopsien invasiv, mit einem gewissen Risiko behaftet und stellen für den Patienten auch eine belastende Prozedur dar. Darüber hinaus erlaubt die pathohistologische Beurteilung der Transplantatbiopsie vor der Reperfusion nur eine sehr eingeschränkte Prädiktion der zu erwartenden und/oder tatsächlichen Organfunktion (IF vs. DGF vs. INF) post transplantationem.

Daher wären geeignete Biomarker im Urin oder Serum, die eine Wahrscheinlichkeitsaussage der zu erwartenden Transplantatfunktion noch vor Transplantation des Organs erlauben von größter Relevanz. Erste erfolgversprechende Untersuchungen zum Stellenwert von NGAL im Urin als Biomarker zur Prädiktion einer DGF wurden bereits durchgeführt.<sup>(94)</sup>

Die vorliegende Arbeit untersucht im Rahmen der Nierentransplantation die Aussagekraft von NGAL als Marker zur Prädiktion der Transplantatfunktion, um beispielsweise die Wahrscheinlichkeit einer DGF oder INF vorhersagen zu können und dadurch geeignete von möglicherweise weniger geeigneten (marginalen) Spenderorganen besser differenzieren zu können.

Mishra et al. evaluierten im Jahr 2005 NGAL als Biomarker einer ischämischen Nierenschädigung in einem Kollektiv von n=71 Kindern, die im Rahmen kardiochirurgischer Eingriffe an einen kardiopulmonalen Bypass angeschlossen wurden.<sup>(70)</sup> 20 Kinder entwickelten eine AKI, die, gemessen am Anstieg des Kreatinins im Serum erst 1-3 Tage nach Eintritt der Schädigung dokumentiert werden konnte. Es wurde gezeigt, dass uNGAL bereits 2h nach dem kardiopulmonalen Bypass den stärksten unabhängigen Prädiktor für eine AKI darstellt. Zusätzlich konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer AKI und den NGAL Werten im Serum und Urin 2h nach dem Eingriff festgestellt werden, so dass man zu der Schlussfolgerung gelangte, dass sowohl NGAL im Serum als auch im Urin ein sensitiver,

spezifischer und hochprädiktiver früher Biomarker für eine AKI nach kardiopulmonalem Bypass darstellt.

In der vorliegenden Arbeit konnte das Ergebnis, dass uNGAL den stärksten unabhängigen Prädiktor für eine AKI darstellt, bestätigt werden. Je höher die uNGAL Werte prä explantationem sind, desto wahrscheinlicher ist das Auftreten einer DGF. Diese Prädiktionsstärke konnte für keinen der zusätzlich untersuchten Parameter (Kreatinin, eGFR, sNGAL) festgestellt werden.

Mishra et al. zeigten ein Jahr später in einer weiteren Studie, dass die Färbeintensität (als quantitativer Nachweis) von NGAL in Biopsien eines Transplantates ebenfalls zur frühen Diagnose einer AKI nach Transplantation beitragen kann.<sup>(95)</sup>

In einer Studie von Parikh et al. mit n=53 Rezipienten eines Nierentransplantats konnte gezeigt werden, dass uNGAL im Rahmen eines ischämischen Reperfusionsschadens einen frühen prädiktiven Biomarker einer DGF darstellt.<sup>(96)</sup> Es wurden Rezipienten von Lebendnierenspendern und Rezipienten von Leichenspendern mit IF und DGF in die Studie eingeschlossen. Ein Peak des Serumkreatinins konnte bei Rezipienten mit DGF erst am zweiten bis vierten postoperativen Tag nachgewiesen werden. Einen maximalen uNGAL Spiegel fand man in der Gruppe der Rezipienten mit DGF. Alle drei Gruppen (Lebendnierenspendenempfänger, Nierenspendenempfänger von hirntoten Nierenspendern mit und ohne DGF) unterschieden sich 24h nach Transplantation signifikant in ihren uNGAL Werten. Es konnte auch gezeigt werden, dass uNGAL den Trend der postoperativen Kreatininwerte im Serum bereits 24h nach dem Eingriff anzeigen kann.

Im Gegensatz zur Studie von Parikh et al. untersucht die vorliegende Arbeit die NGAL Werte im Serum und Urin sowie die herkömmlichen Nierenfunktionsparameter bereits im hirntoten Nierenspender vor MOE auf ihre Prädiktionsstärke im Hinblick auf die Transplantatfunktion post transplantationem (IF vs. DGF). D. h., dass dieser Ansatz bereits die kritische Evaluierung im Rahmen der Organakzeptanz ermöglichen könnte.

In der vorliegenden Arbeit konnten zwischen den Nierenspendern vor MOE mit späterer IF vs. DGF in korrespondierenden Rezipienten signifikante Unterschiede in den uNGAL Werten sowie der eGFR beobachtet werden.

Erstaunlicherweise zeigten Rezipienten mit IF, die eine Kadaverniere erhielten gegenüber Rezipienten einer Lebendspende differierende Werte für Kreatinin, sNGAL und uNGAL, wobei

letztere zu allen post operativen Untersuchungszeitpunkten (bis POD 5) signifikante Unterschiede aufwiesen. Eine Erklärung für die bereits prä transplantationem niedrigeren NGAL Werte der Lebendspendeempfänger könnte einerseits deren insgesamt besserer Gesundheitszustand sein (u. a. partielle Restfunktion der Eigennieren) und könnte andererseits dadurch bedingt sein, dass alle Lebendspenderezipienten elektiv vor dem Eingriff der Transplantation dialysiert wurden, was im ungeplanten Setting der Kadaverspende nur selten möglich war.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass uNGAL – im Vergleich zu den herkömmlichen Nierenfunktionsparameter (Kreatinin, eGFR) – den Marker mit der höchsten Prädiktionsstärke für die postoperative Transplantatfunktion darstellt.

Ähnliche Ergebnisse im Hinblick auf eine AKI fanden auch Wagener et al. in einer prospektiven Studie mit n=81 Patienten: Bereits eine Stunde nach Herzoperation zeigten sich bei Patienten mit einer AKI signifikant höhere uNGAL Werte als bei Patienten ohne AKI.<sup>(97)</sup>

In einer Studie von Kusaka et al. wurde untersucht, inwiefern NGAL potentiell als Prädiktor für eine frühzeitige Erholung der Transplantatfunktion in n=5 Rezipienten nach Spende einer Niere von herztoten Patienten (DCD) fungieren kann.<sup>(98)</sup> Gleichzeitig wurden n=11 Rezipienten nach Lebendnierenspende beobachtet und die gemessenen NGAL Werte im Serum evaluiert. Zum Vergleich wurden ebenfalls die NGAL Werte gesunder Nierenspendergemessen. Sie lagen im Mittel bei 63 ng/mL.

In der vorliegenden Arbeit wurden zu Vergleichszwecken ebenfalls NGAL Werte im Serum und Urin in einer gesunden Kontrollgruppe sowie in gesunden Lebendnierenspendern gemessen. Der NGAL Mittelwert im Serum der Kontrollgruppe liegt in der vorliegenden Arbeit bei  $73.3 \pm 15.9$  ng/mL, in der gesunden Nierenspendergemessen vor Explantation bei  $71 \pm 12.3$ ng/mL.

Der NGAL Mittelwert in der Studie von Kusaka et al. ist im Serum bei Patienten, die eine Dialysetherapie erhielten, mit  $963 \pm 33$ ng/mL deutlich erhöht.

Auch die vorliegende Arbeit zeigt ähnliche Ergebnisse.

Kasaka et al. fanden zudem heraus, dass sNGAL bereits 24h nach Transplantation in Rezipienten eine DGF vorhersagen kann. In der postoperativen sNGAL Kurve der Rezipienten von herztoten Spendern ergab sich eine Reduktion von sNGAL in Form einer biphasischen Kurve. Es wurde angenommen, dass der Abfall des sNGAL nach dem zweiten Peak auf eine

Funktionsverbesserung des transplantierten Organs hinweist, und dass daraufhin in den nächsten Tagen die Hämodialysetherapie beendet werden könnte.

In der vorliegenden Arbeit kam es zu keiner DGF bei Rezipienten von Lebendnierenspenden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen auch darauf hin, dass hohe uNGAL Werte in Nierenspendern vor MOE durchaus mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für eine spätere DGF einhergehen. Diese Prädiktionsstärke konnte für sNGAL und für Kreatinin in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden. Aufgrund dieses Ergebnisses wäre es folglich möglich, bereits prä explantationem marginale Donororgane zu identifizieren, die mit hoher Wahrscheinlichkeit mit einer DGF im Rezipienten einhergehen und somit für eine Transplantation weniger geeignet sein könnten; was ggf. eine Auswirkung auf die Transplantatüberlebenszeiten von marginalen Donororganen haben könnte, die, wie bereits oben erwähnt, einen zunehmenden Anteil an der Gesamtzahl der Transplantationen ausmachen. Möglicherweise ließe sich dadurch auch die durchschnittliche Krankenhausverweildauer verkürzen und die Befindlichkeit der Rezipienten verbessern.

Die Stärke dieser Arbeit besteht in dem prospektiven Design mit der simultanen Messung von sNGAL und uNGAL sowie von Cystatin C im Serum. Neu ist ebenfalls, dass nicht nur die NGAL Werte in den Rezipienten evaluiert, sondern entsprechende Untersuchungen bereits vor Organentnahme in korrespondierenden Organspendern vorgenommen wurden, wodurch eine Zusammenhangsanalyse zur späteren Transplantatfunktion ermöglicht wurde. Ein limitierender Faktor dieser Arbeit mag in der Zahl des relativ kleinen Patientenkollektivs zu sehen sein.

Als wichtigstes Ergebnis ist festzuhalten, dass uNGAL – gemessen im Organspender – bereits vor der Organentnahme einen neuen, sensitiven und nicht-invasiven prognostischen Parameter für die primäre Transplantatfunktion darstellt.

Sogar in Fällen, in denen die klassischen diagnostischen Parameter keine weitere Differenzierung der potentiellen Nierenspender ermöglichen, scheint uNGAL ein stabiler und signifikanter Indikator zu sein. Diese Ergebnisse rechtfertigen die Planung und Initiierung weiterer Studien zur besseren Evaluierung dieses erfolgversprechenden Biomarkers.

## **Zusammenfassung**

Patienten, die an einer terminalen Niereninsuffizienz (ERDS) leiden, bedürfen einer regelmäßigen Nierenersatztherapie. Eine Alternative zur chronischen Nierenersatztherapie ist die Nierentransplantation. Diese ist aufgrund eines mangelnden Organangebots nicht für alle Patienten durchführbar. Um dem steigenden Bedarf an Transplantaten nachzukommen, werden zunehmend Nieren von Donoren mit erweiterten Spenderkriterien akzeptiert. Diese sogenannten „marginalen“ Organe haben ein erhöhtes Risiko für eine verminderte und/oder verspätet einsetzende Transplantatfunktion. Der Anteil der Organe mit erweiterten Spenderkriterien macht mittlerweile ca. 15-20 % des Donorpools aus. Es wäre wünschenswert, bereits vor der Transplantation marginale Spenderorgane zu identifizieren, die mit hoher Wahrscheinlichkeit eine schlechte Funktion zeigen, um einerseits Kosten für eine erfolglose Transplantation einsparen zu können und andererseits die Lebensqualität der Rezipienten zu verbessern. Da die bislang verfügbaren Parameter eine Einschätzung der Transplantatfunktion prä explantationem nur unzureichend gewährleisten können, ist es nötig, nach neuen Biomarkern zu suchen, die eine genauere Einschätzung der späteren Transplantatfunktion ermöglichen können. Daher beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) als einem spezifischen und sensitiven Biomarker zur frühen Detektion einer Nierenschädigung, der ggf. auch eine bessere Auswahl von (kritischen) Spenderorganen im Rahmen der NTx erlaubt.

Es wurden 5 Patientenkollektive in dieser Arbeit untersucht: Eine gesunde Kontrollgruppe (Gruppe 1), hirntote Organ-/Nierenspender auf der Intensivstation vor Organentnahme (Gruppe 2), gesunde Lebendnierenspender (Gruppe 3), Nierentransplantatrezipienten von hirntoten Spendern (Gruppe 4) sowie Nierentransplantatrezipienten von Lebendspenden (Gruppe 5). Es wurden prä- und postinterventionell in den Gruppen 3-5 sowie einmalig in den Gruppen 1 und 2 Blut- und Urinproben asserviert. Die Vollblutproben wurden nach Abnahme zentrifugiert, das Serum asserviert und wie die Urinproben bei -80°C gelagert, bevor eine batch Analyse mittels quantitativem Sandwich Elisa erfolgte.

Dabei konnten folgende Ergebnisse beobachtet werden:

Es besteht eine positive Korrelation zwischen NGAL Werten im Urin und Serum und der eGFR in der gesunden Kontrollgruppe sowie in der Gruppe der hirntoten Nierenspender und Lebendnierenspender.

Es wurde gezeigt, dass sich uNGAL Werte (und Cystatin C) in hirntoten Nierenspendern, deren Transplantate in korrespondierenden Rezipienten eine initiale Transplantatfunktion aufwiesen, signifikant von hirntoten Nierenspendern unterschieden, deren Transplantate eine spätere DGF aufwiesen. Das Kreatinin sowie das sNGAL erlauben keine signifikante Differenzierung dieser Gruppen.

Es wurden gleichsinnige Veränderungen für Kreatinin, Cystatin C, sNGAL und uNGAL nach Nephrektomie bei gesunden Lebendnierenspendern am 1. und 3. postoperativen Tag gefunden. Nachdem Kreatinin und eGFR am POD 5 Ausgangsniveau erreicht hatten, erlaubten die NGAL Werte im Serum und Urin auch am 5. postoperativen Tag eine differenziertere Beurteilung der Anpassung der Nierenfunktion nach Nephrektomie im Spender.

uNGAL konnte als signifikanter Prädiktor für eine spätere IF bzw. DGF identifiziert werden. Je höher die Werte von NGAL im Urin vor Explantation waren, desto wahrscheinlicher war eine DGF bei dem korrespondierenden Rezipienten.

Signifikante Unterschiede ergaben sich des Weiteren in der vergleichenden statistischen Analyse von Rezipienten, die eine Niere von einem Lebendspender erhielten, im Vergleich zu denen, die eine Niere von einem hirntoten Spender erhielten. Die postoperativen Werte für NGAL im Urin unterschieden sich zu allen Untersuchungszeitpunkten (bis  $t = 120$  h).

Zusammengefasst lässt sich festhalten, dass NGAL einen viel versprechenden Biomarker zur Detektion einer AKI darstellt. Es konnte gezeigt werden, dass NGAL mit den herkömmlichen Laborparametern korreliert und in Situationen, in denen herkömmliche Parameter keine weitere Differenzierung und/oder Prädiktion erlauben, einerseits eine sehr frühe Detektion einer AKI ermöglicht und dass uNGAL im Kontext der Nierentransplantation eine hohe Prädiktionsstärke für das Auftreten einer DGF aufweist und es dadurch ermöglicht, marginale Spenderorgane bereits prä explantationem zu identifizieren. Diese Ergebnisse stellen einen neuen und wichtigen Beitrag zur Evaluierung marginaler Spenderorgane dar und belegen, dass weitere Untersuchungen in diesem Kontext nützlich sind.

## **Abkürzungsverzeichnis**

ADH:	Antidiuretisches Hormon
ADQI:	Acute Dialysis Quality Initiative
aHTN:	arterieller Hypertonus
AK:	Antikörper
AKI:	Akute Nierenschädigung
AKIN:	Acute Kidney Injury Network
ANV:	Akutes Nierenversagen
ATN:	Akute Tubulusnekrose
BMI:	Body Mass Index
CIT:	Kalte Ischämiezeit
CysC:	Cystatin C
DGF:	verzögert Transplantatfunktion (delayed graft function)
DM:	Diabetes mellitus
ECD:	extended kriteria donors
eGFR:	errechnete GFR
ESP:	Eurotransplant Senior Program
ESRD:	terminale Niereninsuffizienz (endstage renal disease)
ESP:	Eurotransplant Senior Program
ESRD:	terminale Niereninsuffizienz (end stage renal disease)
FSGS:	Fokal sklerosierende Glomerulonephritis
GFR:	Glomeruläre Filtrationsrate
HBD:	hypoxic brain death
HO-1:	Hämoxygenase-1
HRP:	horseradisch peroxidase
ICB:	intrazerebrale Blutung
IF:	initiale Transplantatfunktion

INF:	initiale Nonfunktion des Transplantates
IRI:	Ischämie–Reperfusionsschaden
KIM-1:	Urin Kidney Injury Molecule-1
MOE:	Multiorganentnahme
M.W.:	Mittelwert
NTx:	Nierentransplantation
NICE:	National Institute for Clinical Excellence
NTx:	Nierentransplantation
NGAL:	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
POD:	postoperative day
QoL:	Lebensqualität
RT:	Raumtemperatur
SAB:	Subarachnoidalblutung
SBI:	schwere Hirnschädigung(severe brain injury)
S.D.:	Standardabweichung
S.W.:	Spannweite
TMB:	Tetramethylbenzidin
Tx:	Transplantation
UK:	United Kingdom

## **Abbildungsverzeichnis:**

Abbildung 1: Kontrollgruppe: Verteilung der Kreatininwerte .....	26
Abbildung 2: Kontrollgruppe: Verteilung der Harnstoffwerte.....	27
Abbildung 3: Kontrollgruppe: Verteilung der Cystatin C-Werte .....	27
Abbildung 4: Kontrollgruppe: Verteilung der eGFR-Werte .....	28
Abbildung 5: Kontrollgruppe: Verteilung der NGAL-Werte im Serum und Urin.....	29
Abbildung 6: Nierenfunktion Lebendspender vor/nach Nephrektomie: Verlauf Kreatinin .....	32
Abbildung 7: Nierenfunktion Lebendspender vor/nach Nephrektomie: Verlauf eGFR- und CysC .....	33
Abbildung 8: Nierenfunktion Lebendspender vor/nach Nephrektomie: Verlauf sNGAL und uNGAL ....	34
Abbildung 9: NTx-Rezipienten: eGFR Verlauf (Leichenspende mit IF vs. Lebendspende) .....	35
Abbildung 10: NTx-Rezipienten: Kreatininverlauf (Leichenspende mit IF vs. Lebendspende).....	36
Abbildung 11: NTx-Rezipienten: Verlauf NGAL im Serum und Urin (Leichenspende mit IF vs. Lebendspende) .....	37

## **Tabellenverzeichnis:**

Tabelle 1: Kontrollgruppe: Charakteristika.....	21
Tabelle 2: hirntote Nierenspender: Charakteristika.....	21
Tabelle 3: Lebendnierenspender: Charakteristika .....	22
Tabelle 4: NTx-Rezipienten (Leichenspende): Charakteristika .....	22
Tabelle 5: NTx-Rezipienten (Lebendspende): Charakteristika .....	23
Tabelle 6: Hirntote Organspender vs. Kontrollgruppe: NGAL, Nierenfunktionsparameter .....	30
Tabelle 7: Transplantatfunktion nach NTx (IF vs. DGF) und nierenrelevante Laborparameter in korrespondierenden hirntoten Organspendern vor MOE (M.W., S.D.) .....	31

## **Danksagung**

Ich möchte mich bei allen, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben, bedanken.

Ich möchte Herrn Dr. med. G. Junge und Herrn PD Dr. med. J. Pratschke für die Betreuung der Arbeit danken.

Herrn PD Dr. P. Schlattmann bin ich zu Dank verpflichtet für die Beratung zur Datenanalyse und statistischen Auswertung.

Herrn Prof. Dr. med. P. Neuhaus danke ich für die Möglichkeit, an seiner Klinik zu promovieren.

Sehr herzlich danke ich meiner Familie für die Unterstützung während der Arbeit und für die abschließende Überprüfung der Arbeit auf Form und Fehler. Meinen Eltern danke ich für ihre persönliche und jedwede weitere Unterstützung während meiner gesamten Ausbildungszeit.

## **Lebenslauf**

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

## **Selbständigkeitserklärung**

„Ich, Jessica Lange, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) - Ein neuer Biomarker zur frühen Detektion der akuten Nierentransplantatschädigung“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 08. November 2010

Jessica Lange

## Literaturverzeichnis

---

1. **Henderson LW.** Future developments in the treatment of end-stage renal disease: a North American perspective. *Am J Kidney Dis* 2000 Apr;35(4 Suppl 1):S106–16.
- 2 **Wicks MN, Milstead EJ, Hathaway DK, Cetingok M.** Family caregivers' burden, quality of life, and health following patients' renal transplantation. *J Transpl Coord.* 1998Sep;8(3):170–6.
3. **Opelz G, for the Collaborative Transplant Study.** Evaluation of immunosuppressive induction regimens in renal transplantation. *Transplant Proc* 1998 Dec;30(8):4029–30.
4. **Mallick NP.** The costs of renal services in Britain. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12(Suppl 1):25–8.
5. National Institute for Clinical Excellence. The clinical and cost effectiveness of home compared with hospital haemodialysis for patients with end-stage renal failure. London: NICE. URL: <http://www.nice.org.uk>
6. **Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolckoff-Rubin N, Cosimi AB.** Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002;346(8):580–90.
7. **Vella J, Sayegh M.** Risk factors for graft failure in kidney transplantation. UpToDate at URL: <http://www.uptodate.com>
8. **Pirsch J.** Bench to bedside, ischemia and reperfusion injury in clinical transplantation. *Conference Report, ASTS Second Annual Winter Symposium 2002. 25–27 January 2002, Miami Beach, FL, USA.*
9. **Pagtalunan ME, Olson JL, Tilney NL, Meyer TW.** Late consequences of acute ischemic injury to a solitary kidney. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:366–73.
10. UK Renal Registry Annual Report. URL: <http://www.renalreg.com/RR.htm>
11. **Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R.** Acute renal failure. *Lancet* 2005 Jan 29;365(9457):417–30.
12. **Hsu CY, McCulloch CE, Fan D, Ordonez JD, Chertow GM, Go AS.** Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney Int.* 2007 Jul;72(2):208–12. *Epub* 2007 May 16.
13. **Waikar SS, Curhan GC, Wald R, McCarthy EP, Chertow GM.** Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Apr;17(4):1143–50. *Epub* 2006 Feb 22.
- 14 **Xue JL, Daniels F, Star RA, Kimmel PL, Eggers PW, Molitoris BA, Himmelfarb J, Collins AJ.** Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Apr;17(4):1135–42.
15. **Uchino S, Kellum JA, Bellomo R et al.** Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 2005 Aug 17;294(7):813–8.

- 
16. **Liangos O, Wald R, O'Bell JW, Price L, Pereira BJ, Jaber BL.** Epidemiology and outcomes of acute renal failure in hospitalized patients: a national survey. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006 Jan;1(1):43-51.
  17. **BD., Rose.** Pathophysiology of renal disease. 2nd Edition. 1987, McGraw Hill, New York, New York.
  18. **Liano F, Pascual J.** Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int* 1996 Sep;50(3):811-8.
  19. **Nolan CR, Anderson RJ.** Hospital-acquired acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998 Apr;9(4):710-8.
  20. **Mehta RL, Pascual MT, Soroko S et al.** Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: the PICARD experience. *Kidney Int* 2004 Oct;66(4):1613-21
  21. **Mehta RL, Chertow GM.** Acute renal failure definitions and classification: time for change? *J Am Soc Nephrol.* 2003 Aug;14(8):2178-87
  22. **Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT.** Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. *Am J Med* 1983 Feb;74(2):243-8.
  23. **Ronco C, Kellum JA, Mehta R.** Acute dialysis quality initiative (ADQI). *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(8):1555-8.
  24. **Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P.** Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care.* 2004 Aug;8(4):R204-12. Epub 2004 May 24.
  25. **Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A.** Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care.* 2007 Mar 1;11(2):R31.
  26. **Levin A, Warnock DG, Mehta RL et al.** Improving outcomes from acute kidney injury: report of an initiative. *Am J Kidney Dis* 2007; 50(1):1-4.
  27. **Molitoris BA, Levin A, Warnock DG.** Improving outcomes from acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2007 Jul; 18(7):1992-4.
  28. **Ali T, Khan I, Simpson W, Prescott G, Townend J, Smith W, Macleod A.** Incidence and outcomes in acute kidney injury: a comprehensive population-based study. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Apr;18(4):1292-8. Epub 2007 Feb 21.
  29. **Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, Bates S, Ronco C.** An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients. *Crit Care Med.* 2006 Jul;34(7):1913-7.

- 
30. **Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, Kellum JA.** RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care*. 2006;10(3):R73. Epub 2006 May.
31. **Kuitunen A, Vento A, Suojaranta-Ylinen R, Pettilä V.** Acute renal failure after cardiac surgery: evaluation of the RIFLE classification. *Ann Thorac Surg*. 2006 Feb;81(2):542-6.
32. **Cruz DN, Bolgan I, Perazella MA, Bonello M, de Cal M, Corradi V, Polanco N, Ocampo C, Nalesso F, Piccinni P, Ronco C.** North East Italian Prospective Hospital Renal Outcome Survey on Acute Kidney Injury (NEiPHROS-AKI): targeting the problem with the RIFLE Criteria. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007 May;2(3):418-25. Epub 2007 Mar 27.
33. **Ostermann M, Chang RW.** Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE. *Crit Care Med*. 2007 Aug;35(8):1837-43.
34. **Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW.** Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol* 2005 Nov;16(11):3365-70. Epub 2005 Sep 21.
35. **Lassnigg A, Schmidlin D, Mouhieddine M et al.** Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Jun;15(6):1597-605.
36. **Levy MM, Macias WL, Vincent JL et al.** Early changes in organ function predict eventual survival in severe sepsis. *Crit Care Med*. 2005 Oct;33(10):2194-201.
37. **Bonventre JV.** Diagnosis of acute kidney injury: from classic parameters to new biomarkers. *Contrib Nephrol*. 2007;156:213-9.
38. **Trof RJ, Di Maggio F, Leemreis J, Groeneveld AB.** Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock*. 2006 Sep;26(3):245-53.
39. **Bagshaw SM, Langenberg C, Haase M, Wan L, May CN, Bellomo R.** Urinary biomarkers in septic acute kidney injury. *Intensive Care Med*. 2007 Jul;33(7):1285-96.
40. **Devarajan P.** Emerging biomarkers of acute kidney injury. *Contrib Nephrol*. 2007;156:203-12.
41. **Nguyen MT, Devarajan P.** Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol*. 2007 Mar 30.
42. **Herget-Rosenthal S, Poppen D, Husing J, Marggraf G, Pietruck F, Jakob HG, Philipp T, Kribben A.** Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chem*. 2004 Mar;50(3):552-8. Epub 2004 Jan 6.
43. **Uchida K, Gotoh A.** Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta*. 2002 Sep;323(1-2):121-8.

- 
44. **Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV.** Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006 Feb;290(2):F517-29.
45. **Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV.** Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002 Jul;62(1):237-44.
46. **Zhou H, Hewitt SM, Yuen PS, Star RA.** Acute kidney injury biomarkers - Needs, present, status, and future promise. *Neph SAP* 2006; 5:63.
- 47 **Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H et al.** Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int.* 2006 Jul;70(1):199-203. Epub 2006 May 17.
48. **Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL.** Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Oct;16(10):3046-52. Epub 2005 Sep 7.
49. **Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengelov H Borregaard N.** Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993 ;268(14):10425-10432.
50. **Xu SY, Carlson M, Engstrom A, Garcia R, Peterson CG, Venge P.** Purification and characterization of a human neutrophil lipocalin (HNL) from the secondary granules of human neutrophils. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54:365-76.
51. **Flower DR, North AC, Attwood TK.** Mouse oncogene protein 24p3 is a member of the lipocalin protein family. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180(1):69-74.
52. **Liu Q, Ryon J, Nilsen-Hamilton M.** Uterocalin: a mouse acute phase protein expressed in the uterus around birth. *Mol Reprod Dev* 1997 Apr; 46(4):507-14.
53. **Stoesz SP, Gould MN.** Overexpression of neu-related lipocalin (NRL) in neu-initiated but not ras or chemically initiated rat mammary carcinomas. *Oncogene* 1995; 11(11):2233-41.
54. **Triebel S, Bläser J, Reinke H, Tschesche H.** A 25 kDa alpha 2-microglobulin-related protein is a component of the 125 kDa form of human gelatinase. *FEBS Lett* 1992;314(3):386-8.
55. **Herget-Rosenthal S.** One step forward in the early detection of acute renal failure. *Lancet* 2005 Apr;365(9466):1205-6.
56. **Yan L, Borregaard N, Kjeldsen L, Moses MA.** The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). Modulation of MMP-9 activity by NGAL. *J Biol Chem* 2001;276(40):37258-65.
57. **Cowland JB, Borregaard N.** Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 1997; 45(1):17-23.

- 
58. **Friedl A, Stoesz SP, Buckley P, Gould MN.** Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in normal and neoplastic human tissues. Cell type-specific pattern of expression. *Histochem J* 1999; 31(7):433-41.
59. **Nielsen BS, Borregaard N, Bundgaard JR, Timshel S, Sehested M, Kjeldsen L.** Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut* 1996; 38(3): 414-20.
60. **Stoesz SP, Friedl A, Haag JD; Lindstrom MJ, Clark GM, Gould MN.** Heterogeneous expression of the lipocalin NGAL in primary breast cancers. *Int J Cancer* 1998; 79(6):565-72.
61. **Fernandez CA, Yan L, Louis G, Yang J, Kutok JL, Moses MA.** The matrix metalloproteinase-9/neutrophil gelatinase-associated lipocalin complex plays a role in breast tumor growth and is present in the urine of breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2005; 11(15):5390-5.
62. **Monier F, Surla A, Guillot M, Morel F.** Gelatinase isoforms in urine from bladder cancer patients. *Clin Chim Acta* 2000; 299(1-2):11-23.
63. **Hraba-Renevey S, Türler H, Kress M, Salomon C, Weil R.** SV40-induced expression of mouse gene 24p3 involves a post-transcriptional mechanism. *Oncogene* 1989; 4(5):601-8
64. **Matthaeus T, Schulze-Lohoff E, Ichimura T, Weber M, et al.** Co-regulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and matrix metalloproteinase-9 in the postischemic rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001 12:787A.
65. **Ohlsson S, Wieslander J, Segelmark M.** Increased circulating levels of proteinase 3 in patients with anti-neutrophilic cytoplasmic autoantibodies-associated systemic vasculitis in remission. *Clin Exp Immunol* 2003; 131(3):528-35.
66. **Monier F, Surla A, Guillot M, Morel F.** Gelatinase isoforms in urine from bladder cancer patients. *Clin Chim Acta* 2000; 299:11-23.
67. **Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P.** Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003 Oct;14(10):2534-43.
68. **Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, Mitsnefes M, Barasch J, Devarajan P.** Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol* 2004 Dec;15(12):3073-82.
69. **Mori K, Lee HT, Rapoport D et al.** Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 2005 Mar;115(3):610-21.
70. **Mishra J, Dent C, Tarabishi R et al.** Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005 Apr;365(9466):1231-8.
71. **Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, Lee HT.** Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2006 Sep;105(3):485-91.

- 
72. **Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA, Loftis L, Ma Q, Devarajan P, Parikh CR, Goldstein SL.** Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care.* 2007;11(4):R84.
73. **Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, Buchen C, Khan F, Mori K, Giglio J, Devarajan P, Barasch J.** Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med.* 2008 ;148 (11)810-9.
74. **Kusaka M, Kuroyanagi Y, Mori T et al.** Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a predictor of organ recovery from delayed graft function after kidney transplantation from donors after cardiac death. *Cell Transplant.*2008; 17(1-2):129-34.
75. **Yamamoto T, Noiri E, Ono Y et al..** Renal L-type fatty acid-binding protein in acute ischemic injury. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Nov;18(11):2894-902.Epub2007 Oct 17.
76. **Liu KD, Glidden DV, Eisner MD et al.** Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury. *Crit Care Med.* 2007 Dec;35(12):2755-61.
77. **Irish WD, McCollum DA, Tesi RJ et al.** Nomogram for predicting the likelihood of delayed graft function in adult cadaveric renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Nov; 14(11):2967-74.
78. **Quiroga I, McShane P, Koo DD, Gray D, et al.** Major effects of delayed graft function and cold ischaemia time on renal allograft survival. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Jun; 21(6):1689-96. Epub 2006 Feb 20.
79. **Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL et al.** Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999 Dec 2; 341(23): 1725-1730.
80. **Metzger RA, Delmonico FL, Feng S, Port FK, Wynn JJ; Merion RM.** Expanded criteria donors for kidney transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3Suppl. 4: 114-25.
81. **Nathan HM, Conrad SL, Held PJ et al.** Organ donation in the United States. *Am J Transplant.* 2003; 3 Suppl 4: 29-40.
82. **Port FK.** Organ donation and transplantation trends in the United States, 2001. *Am J Transplant.* 2003;3Suppl ): 7-12.
83. Eurotransplant is an organ exchange organization in which transplant centers, donor hospitals and tissue typing centers in Austria, Belgium, Germany, Luxembourg, the Netherlands and Slovenia collaborate. Available at <http://www.transplant.org>. Accessed December 31, 2007.
84. **Ojo AO, Hanson JA, Meier-Kriesche H et al.** Survival in recipients of marginal cadaveric donor kidneys compared with other recipients and wait-listed transplant candidates. *J Am Soc Nephrol* 2001 Mar; 12(3):589-97.
85. **Smits JM, Persijn GG, Houweligen HC, Claas FH, Frei U.** Evaluation of the Eurotransplant Senior Program. The results of the first year. *Am J Transplant* 2002;2(7): 664-670

- 
86. **Smits JMA, van Houwelingen HC, De Meester J, Persijn GG, Claas FH.** Analysis of the renal transplant waiting list. application of a parametric competing risk method. *Transplantation* 1998; 66(9):1146-53.
87. **Smits JMA, De Meester J, Persijn GG, Claas FH, Vanrenterghem Y.** Long-term results of solid organ transplantation. Report from the Eurotransplant International Foundation. *Clin Transpl.* 1996:109-27.
88. **Hariharan S, McBride MA, Bennett LE, Cohen EP.** Risk factors for renal allograft survival from older cadaver donors. *Transplantation* 1997; 64(12):1748-54.
89. **Port FK, Bragg-Gresham JL, Metzger RA, et al.** Donor characteristics associated with reduced graft survival: an approach to expanding the pool of kidney donors. *Transplantation.* 2002; 74(9):1281-6.
90. **2003 OPTN/ SRTR Annual Report 1993-2002.** Rockville, MD: Dept of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, Office of Special Programs, Division of Transplantation; Richmond, Va: United Network for Organ Sharing; Ann Arbor, Mich: University Renal Research and Education Association; 2003.
91. **Ojo AO; Wolfe RA, Held PJ, Port FK, Schmouder RL.** Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997, Apr; 63(7):968-74.
92. **Koning OH, Ploeg RJ, van Bockel JH et al.** Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors. *Transplantation* 1997, Jun 15; 63(11): 1620-8.
93. **Jacobs SC, Cho E, Foster C, Liao P, Bartlett ST.** Laparoscopic donor nephrectomy: the University of Maryland 6-year experience. *J Urol* 2004; 171(1):47-51.
94. **Parikh CR, Jani A, Mishra J et al.** Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6(7):1639-45.
95. **Mishra J, Ma Q, Kelly C et al.** Kidney NGAL is a novel early marker of acute injury following transplantation. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:856-63 . Epub 2006 Apr 14.
96. **Parikh CR, Jani A, Mishra J et al.** Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006;6(7):1639-45.
97. **Wagener G, Jan M, Kim M et al.** Association between increases in urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006; 105(3):485-91.
98. **Kusaka M, Kuroyanagi Y, Mori T et al.** Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a predictor of organ recovery from delayed graft function after kidney transplantation from donors after cardiac death. *Cell Transplant* 2008; 17(1-2):129-34.