

Aus der Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie und internistische Intensivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

NGAL und Calprotectin als Biomarker zur Prognoseabschätzung bei
Nierentransplantierten zum Zeitpunkt einer nicht elektiven stationären
Aufnahme

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jutta Sybille Swolinsky
aus Braunschweig

Datum der Promotion: 06.03.2020

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
Kurzzusammenfassung.....	VI
Abstract	VIII
1. EINLEITUNG	1
1.1 Das akute Nierenversagen	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Klassifikation	1
1.1.3 Ätiologie	3
1.1.4 Epidemiologie und klinische Relevanz.....	4
1.2 Die akute Nierenschädigung bei Nierentransplantierten	5
1.3 Limitationen der Diagnosekriterien für akute Nierenschädigung	7
1.4 Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipokalin (NGAL) und Calprotectin.....	8
1.4.1 Biologie von NGAL.....	8
1.4.2 Syntheseorte von NGAL.....	9
1.4.3 Biologie von Calprotectin	10
1.4.4 Syntheseorte von Calprotectin	10
1.5 Stand der Forschung	10
1.5.1 NGAL und die akute Nierenschädigung.....	10
1.5.2 NGAL in klinischen Studien.....	11
1.5.3 Calprotectin und die akute Nierenschädigung	12
1.5.4 Calprotectin in klinischen Studien	13
1.6 Gegenstand der Arbeit und zentrale Hypothesen	14
2. METHODEN	15
2.1 Studiendesign.....	15
2.1.1 Studienpopulation	15
2.1.2 Adjudikation der Endpunkte und Baselinebestimmung	17
2.2 Biomarkerbestimmung	19
2.2.1 Materialasservierung.....	19
2.2.2 NGAL-Bestimmung und Testprinzip	19

2.2.3 Calprotectin-Bestimmung und Testprinzip.....	20
2.3 Statistik.....	20
2.3.1 Binär logistische Regression.....	21
2.3.2 Area Under the Receiver Operating Characteristic Kurven (AUC ROC).....	22
2.3.3 Reklassifikationsstatistiken.....	22
3. ERGEBNISSE	24
3.1 Fallzahl.....	24
3.2 Patientencharakteristika.....	25
3.3 Transplantateigenschaften.....	27
3.4 Hauptdiagnosen bei Krankenhausaufnahme.....	27
3.5 Aufnahmeparameter.....	29
3.6 Testcharakteristika der Biomarker.....	34
3.6.1 Area Under the Receiver Operating Characteristic Kurven.....	34
3.6.2 Vorhersagewerte und Wahrscheinlichkeitsverhältnisse der Biomarker.....	35
3.7. Prädiktionsmodelle für anhaltende Nierenschädigung (sAKI).....	38
3.8 Net Reclassification Improvement und Integrated Discrimination Improvement.....	39
4. DISKUSSION	41
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	41
4.1.1 Ergebnisse zum Endpunkt anhaltende Nierenschädigung (sAKI).....	42
4.1.2 Ergebnisse zum Endpunkt verschlechternde Nierenfunktion (WRF).....	43
4.2 Einordnung in bestehende Studienergebnisse.....	43
4.3 Mögliche Störfaktoren.....	46
4.4 Stärken und Limitationen der Studie.....	49
4.5 Kritik an Reklassifikationsstatistiken.....	49
4.6 Biomarker im klinischen Alltag.....	50
4.7 Einsatz von pNGAL als prognostischer Biomarker für sAKI und WRF.....	51
4.8 Schlussfolgerungen.....	52
5. ZUSAMMENFASSUNG	54
Tabellenverzeichnis.....	55
Abbildungsverzeichnis.....	56
Literaturverzeichnis.....	57

Eidesstattliche Erklärung.....	68
Anteilerklärung	69
Lebenslauf	70
Publikationsliste	71
Danksagung	72

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Aufnahme
ADQI	Acute Dialysis Quality Initiative
AKI	Acute Kidney Injury
AKIN	Acute Kidney Injury Network
ANV	Akutes Nierenversagen
ATN	Akute Tubulusnekrose
AUC ROC	Area Under the Receiver Operating Characteristic Curve
BL	Baseline
CE	Clinical Event
CED	chronisch entzündliche Darmerkrankung
CKD EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
d	Tag
DGF	Delayed Graft Function
eGFR	estimated GFR
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
HR	Hazard Ratio
IDI	Integrated Discrimination Improvement
IP	Integral der Falsch-Positiv-Rate
IS	Integral der Sensitivität
kDa	Kilodalton
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KG	Körpergewicht
KTR	Kidney Transplant Recipients
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
NRI	Net Reclassification Improvement
NTx	Nierentransplantation
sAKI	sustained AKI
pCalprotectin	Plasma-Calprotectin
pCalprotectin _A	Plasma-Calprotectin bei Aufnahme
pCalprotectin _{BL}	Baseline Plasma-Calprotectin
SCr	Serumkreatinin
SD	Standardabweichung
pNGAL	Plasma-NGAL
pNGAL _A	Plasma-NGAL bei Aufnahme
pNGAL _{BL}	Baseline-Plasma-NGAL
Tx	Transplantat
uCalprotectin	Urin-Calprotectin
uCalprotectin _A	Urin-Calprotectin bei Aufnahme

uCalprotectin _{BL}	Baseline Urin-Calprotectin
uNGAL	Urin-NGAL
uNGAL _A	Urin-NGAL bei Aufnahme
uNGAL _{BL}	Baseline-Urin-NGAL
vs.	versus
VS	Validierungsstudie
z.B.	zum Beispiel

KURZZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipokalin (NGAL) und Calprotectin wurden als Biomarker für eine akute Nierenschädigung (AKI) in verschiedenen klinischen Studien validiert. Der Nutzen der Biomarker in der Langzeitbetreuung von Nierentransplantierten ist bisher wenig erforscht. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob eine NGAL- oder Calprotectin-Messung zum Zeitpunkt einer unplanmäßigen Hospitalisierung von Nierentransplantierten, ungeachtet der Aufnahmediagnose, mit Episoden von anhaltender Nierenschädigung (sAKI) und einer sich weiter verschlechternden Nierenfunktion (WRF) assoziiert sind.

Methoden: Als Teil einer monozentrischen Kohortenstudie an 709 Nierentransplantierten wurden NGAL- und Calprotectin-Konzentrationen in Plasma und Urin bei 164 Nierentransplantierten zum Zeitpunkt einer nicht-elektiven stationären Aufnahme bestimmt. Als sAKI wurde ein Serumkreatininanstieg um mindestens 0,3 mg/dl oder 1,5-fach zum Baseline-Level definiert, der sich innerhalb von 72 Stunden nicht normalisierte. Als WRF wurde ein Serumkreatininanstieg um mindestens 0,5 mg/dl innerhalb der ersten 3 Tage nach stationärer Aufnahme definiert. Um die Prädiktionsfähigkeit der Biomarker für die Endpunkte sAKI und WRF zu evaluieren, wurden ROC-Analysen, univariable und multivariable logistische Regressionen sowie Reklassifizierungsstatistiken durchgeführt.

Ergebnisse: 33 Patienten entwickelten eine sAKI, 12 Patienten eine WRF. Plasma-NGAL (pNGAL) zeigte verglichen mit Urin-NGAL, Urin-Calprotectin und Plasma-Calprotectin die besten Testcharakteristika. Die medianen pNGAL-Konzentrationen der Patienten mit sAKI waren signifikant höher als bei Patienten ohne sAKI (332 ng/ml, Interquartil-Abstand (IQR) 247,5 - 633 ng/ml versus 275 ng/ml, IQR 193 - 363 ng/ml, $p < 0,05$). Die medianen pNGAL-Werte der Patienten mit WRF waren signifikant höher als in der Vergleichsgruppe (395 ng/ml, IQR 305 - 639 ng/ml versus 278,5 ng/ml, IQR 193,5 - 378,8 ng/ml, $p < 0,05$). ROC-Analysen für pNGAL ergaben eine AUC ROC von 0,66 für sAKI und von 0,75 für WRF. pNGAL-Werte < 197 ng/ml hatten einen relativ hohen negativ prädiktiven Wert (0,88) für die Entwicklung einer sAKI, während Werte > 567 ng/ml einen akzeptablen positiv prädiktiven Wert (0,55) hatten. Der beste Trennwert für pNGAL in der Vorhersage von WRF lag bei 301 ng/ml (Sensitivität = 0,83, Spezifität = 0,59). In multivariablen logistischen Regressionsmodellen erwies sich pNGAL als unabhängiger Prädiktor von sAKI adjustiert für die Parameter Serumkreatinin, Harnstoff, Koronare Herzerkrankung und Herzinsuffizienz. Das Hinzufügen von pNGAL zu einem konventionellen kreatininbasierten Vorhersagemodell für sAKI resultierte in einer Reklassifizierungsverbesserung (NRI) von 20,5 % ($p < 0,01$).

Schlussfolgerung: Die Bestimmung von pNGAL zum Zeitpunkt der Hospitalisierung von Nierentransplantierten kann zu einer verbesserten Vorhersage einer progressiven und anhaltenden Nierenschädigung beitragen.

ABSTRACT

Introduction: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and Calprotectin have been validated as biomarkers of acute kidney injury (AKI) in multiple clinical settings. The utility of these biomarkers in post-transplant care of kidney transplant recipients (KTR) has not been sufficiently investigated yet. We hypothesized that NGAL and Calprotectin levels, measured at the time of any unscheduled hospital admission in KTR, would be associated with episodes of sustained acute kidney injury (sAKI) and worsening renal function (WRF).

Methods: As part of a monocentric cohort study in 709 KTR, plasma and urinary NGAL and Calprotectin levels were measured in 164 KTR at the time of hospital admission for any cause. sAKI was defined as an increase in creatinine by ≥ 0.3 mg/dl or by ≥ 1.5 -fold of baseline level that did not normalize within 72 hours (h). WRF was defined as an increase in creatinine by ≥ 0.5 mg/dl within 72 h after hospital admission. ROC analyses, univariable and multivariable logistic regression analyses and net reclassification improvement analyses were conducted for the biomarkers in predicting sAKI and WRF.

Results: 33 patients developed sAKI, 12 patients developed WRF. Plasma NGAL (pNGAL) had the best diagnostic accuracy compared to urinary NGAL, urinary and plasma Calprotectin. Median pNGAL levels were increased in patients with sAKI (332 ng/ml, interquartile range (IQR) 247.5 - 633 ng/ml versus no sAKI 275 ng/ml, IQR 193 - 363 ng/ml, $p < 0.05$) and WRF (395 ng/ml, IQR 305 - 639 ng/ml versus no WRF 278.5 ng/ml, IQR 193.5 - 378.8 ng/ml, $p < 0.05$) ROC analyses for pNGAL showed an AUC ROC of 0.66 for sAKI and an AUC ROC of 0.75 for WRF. pNGAL levels < 197 ng/ml were associated with a moderate negative predictive value (0.88) while NGAL levels > 567 ng/ml had an acceptable positive predictive value (0.55) for sAKI. In multivariable logistic regression, pNGAL was an independent predictor of sAKI when combined with other clinical predictors (serum creatinine, serum urea, coronary artery disease, congestive heart failure). Adding pNGAL to conventional predictors of sAKI resulted in an improvement of net reclassification by 20.5 % ($p < 0.01$).

Conclusion: Measuring pNGAL at timepoint of hospital admission in KTR may help predicting episodes of sustained AKI and a continuous worsening graft function.

1. EINLEITUNG

1.1 Das akute Nierenversagen

1.1.1 Definition

Das akute Nierenversagen (ANV) ist eine „akut einsetzende, rasche Abnahme der Nierenfunktion, die über Tage anhält und prinzipiell reversibel ist“[1]. Folgen des akuten Nierenversagens können die Abnahme des Harnvolumens, die Retention harnpflichtiger Stoffwechselprodukte im Blut sowie Störungen des Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Säure-Base-Haushalts sein [1].

Die Ausprägungen der AKI reichen vom asymptomatischen Anstieg der Nierenparameter bis hin zur Urämie mit der Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie.

1.1.2 Klassifikation

Die AKI wird nach den Kriterien der Arbeitsgruppe *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) von 2012 eingeteilt. Die KDIGO-Kriterien gingen aus den modifizierten RIFLE-Kriterien hervor.

Das Akronym RIFLE steht für die drei zunehmenden Schweregrade Risk (Risiko), Injury (renale Schädigung) und Failure (renales Versagen) sowie die beiden klinischen Endpunkte Loss und End Stage *Kidney Disease* (vollständiger Verlust der Nierenfunktion). Während die drei Schweregrade des ANV über den Serumkreatininwert (SCr) und die Urinausscheidung definiert sind, werden die Endpunkte über die Dauer des renalen Funktionsausfalls bestimmt (siehe Tabelle 1).[2]

Tabelle 1 RIFLE Kriterien

	Serum-Kreatinin oder GFR	Urin-Ausscheidung
R	Kreatinin-Anstieg $\geq 50\%$ oder GFR-Abfall $\geq 25\%$ *	$< 0,5$ ml/kg für > 6 h
I	Kreatinin-Anstieg $\geq 100\%$ oder GFR-Abfall $\geq 50\%$ *	$< 0,5$ ml/kg für > 12 h
F	Kreatinin-Anstieg $\geq 200\%$ oder GFR-Abfall $\geq 75\%$ * oder Kreatinin ≥ 4 mg/dl mit Anstieg von $0,5$ mg/dl*	$< 0,3$ ml/kg für > 24 h oder Anurie für 12 h
L	Nierenersatztherapie ≥ 4 Wochen	
E	Nierenersatztherapie ≥ 3 Monate	

Tabelle 1: modifiziert nach Bellomo et al. 2004 [3], *Innerhalb von 7 Tagen (d), GFR = glomeruläre Filtrationsrate

Die RIFLE-Kriterien wurden 2004 auf einer internationalen Konsensuskonferenz durch die Arbeitsgruppe *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI) definiert. Ziel war es, die damals bestehenden zahlreichen verschiedenen Definitionen des ANV durch eine einheitliche Klassifikation zu ersetzen.[3]

Studien zeigten jedoch, dass bereits kleinere Änderungen des SCr als in den RIFLE-Kriterien berücksichtigt, mit ungünstigen klinischen Outcomes assoziiert sind.[4, 5] Außerdem fehlt in den

RIFLE-Kriterien eine eindeutige Zuordnung der Patienten, die einer Nierenersatztherapie bedürfen. So erfolgte 2007 ein Modifikationsvorschlag der RIFLE-Kriterien durch das *Acute Kidney Injury Network* (AKIN) und es wurden die AKIN-Kriterien vereinbart. Die AKIN-Kriterien werten bereits einen Kreatininanstieg von 0,3 mg/dl innerhalb von 48 Stunden (h) als akute Nierenschädigung mit dem Ziel einer sensitiveren Detektion (Tabelle 2)[6].

Tabelle 2 AKIN-Kriterien

AKIN-Stadium	Serumkreatinin	Urin-Ausscheidung
I	Kreatinin-Anstieg $\geq 50\%$ oder $\geq 0,3$ mg/dl inh. von 48 h	$< 0,5$ ml/kg KG für > 6 h
II	Kreatinin-Anstieg $\geq 100\%$	$< 0,5$ ml/kg KG für > 12 h
III	Kreatinin-Anstieg $\geq 200\%$ oder Kreatinin ≥ 4 mg/dl mit Anstieg von $\geq 0,5$ mg/dl oder Nierenersatztherapie	$< 0,3$ ml/kg KG für > 24 h oder Anurie für 12 h

Tabelle 2: modifiziert nach Mehta et al. 2007 [6], inh. = innerhalb, GFR = glomeruläre Filtrationsrate, KG = Körpergewicht

Um dem breiten Spektrum der Ursachen und Folgen renaler Schädigungen gerecht zu werden, wurde schließlich der Begriff akutes Nierenversagen durch den Terminus *Acute Kidney Injury* (AKI, akute Nierenschädigung) ersetzt. Dieser Begriff umfasst sowohl Nierenfunktionseinschränkungen mit reduzierter Glomerulärer Filtrationsrate (GFR), als auch Nierenschädigungen, bei noch erhaltener Nierenfunktion.[2]

Die Arbeitsgruppe KDIGO führte die beiden Diagnosekriterien 2012 in ein einheitliches Definitions- und Klassifikationssystem zusammen (Tabelle 3).

Tabelle 3 KDIGO Kriterien

KDIGO	Serumkreatinin	Urin-Ausscheidung
1	Kreatinin-Anstieg $\geq 50\%$ inh. von 7 d oder $\geq 0,3$ mg/dl inh. von 48 h	$< 0,5$ ml/kg/KG für > 6 h – 12h
2	Kreatinin-Anstieg $\geq 100\%$	$< 0,5$ ml/kg/KG für > 12 h
3	Kreatinin-Anstieg $\geq 200\%$ oder Kreatinin ≥ 4 mg/dl mit Anstieg von $\geq 0,5$ mg/dl oder Nierenersatztherapie oder bei Patienten < 18 Jahren eGFR-Abfall < 35 ml/min/1,73m ²	$< 0,3$ ml/kg/KG für > 24 h oder Anurie für 12 h

Tabelle 3: modifiziert nach KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury 2012 [2], inh. = innerhalb, GFR = glomeruläre Filtrationsrate, KG = Körpergewicht

Zwei Studien von 2014 konnten bereits zeigen, dass die KDIGO-Klassifikation eine bessere diagnostische Sensitivität als RIFLE und AKIN für die Diagnose einer AKI aufweist. In der prospektiven Multicenterstudie von Luo et al. an 3.107 Patienten konnten anhand der KDIGO-Kriterien signifikant mehr Patienten mit AKI identifiziert werden als mit den RIFLE- oder AKIN-Kriterien (51 % vs. 46,9 % bzw. vs. 38,4 %, $p \leq 0,001$).

In der retrospektiven Single-Center Studie von Fujii et al. an 49.518 Patienten wurden mithilfe der AKIN-Kriterien 4,8 % Patienten mit AKI identifiziert, während nach RIFLE und KDIGO-

Kriterien 11,0 % bzw. 11,6 % der Patienten die Diagnose einer AKI erhielten. In beiden Studien war die Prädiktionsfähigkeit für den Endpunkt Mortalität nach KDIGO mindestens so hoch wie für AKIN und RIFLE. [7, 8]

1.1.3 Ätiologie

Hinsichtlich der Pathophysiologie der AKI können drei Kategorien unterschieden werden: prärenale, postrenale und intrinsische Ursachen.

Das prärenale Nierenversagen, auch prärenale Azotämie genannt, ist die häufigste Form des akuten Nierenversagens (circa 70 % der ambulanten Fälle [9], rund 20 % bei hospitalisierten Patienten [10]).

Bei der prärenal akuten Nierenschädigung (pAKI) sind die Tubuli und die Glomeruli strukturell intakt, eine Verminderung des effektiven Blutvolumens führt jedoch zu einer renalen Hypoperfusion. Dies resultiert in einer limitierten renalen Clearance. Häufige Ursachen einer pAKI sind Volumenverluste bei Erbrechen, Diarrhoe, Diuretikatherapie oder relevantem Blutverlust sowie ein relativer Volumenmangel bei Fieber und Herzinsuffizienz. Bei Korrektur der zugrundeliegenden Ursache, meist durch Volumengabe, ist die prärenale Azotämie rasch reversibel.[11] Bei einem prolongierten Durchblutungsmangel der Niere, z.B. bei Sepsis oder perioperativ, kann ein prärenales Nierenversagen in ein intrinsisches Nierenversagen führen.

Das postrenale Nierenversagen, auch als postrenale Azotämie bezeichnet, wird durch eine Obstruktion der ableitenden Harnwege bedingt. Zu den Ursachen gehören die Prostatahyperplasie, obstruierend wachsende Tumore z.B. der Prostata, der Zervix oder der Blase, ferner Nierensteine und Erkrankungen des Retroperitoneums.[12]

Das Regenerationspotential der Nierenfunktion nimmt mit zunehmender Dauer der Obstruktion ab, sodass eine rasche Beseitigung der Abflussbehinderung von Bedeutung ist [11, 13].

Einer intrinsischen akuten Nierenschädigung (iAKI) liegt eine strukturelle Schädigung des Nierenparenchyms zugrunde. Am häufigsten sind die Tubuluszellen betroffen, da sie über begrenzte eigene Energiereserven verfügen. Weiterhin können auch das Interstitium, die Nierengefäße oder die Glomeruli geschädigt werden. Ätiologisch können ischämische oder toxische Ursachen sowie makro- und mikrovaskuläre Erkrankungen differenziert werden.[11]

Häufigster Grund einer iAKI ist eine ischämisch bedingte akute Tubulusnekrose (ATN). Die Regeneration der Tubulusepithelien erfordert regelhaft drei bis vier Wochen [14]. In dieser Phase können Störungen des Salz- und Wasserhaushalts und Elektrolytstörungen auftreten. Eine iAKI ist bei Behandlung der Ursache prinzipiell reversibel, schwere Schädigungen können jedoch zu irreversiblen strukturellen Veränderungen des Nierenparenchyms und einer permanent eingeschränkten Nierenfunktion führen.[11]

1.1.4 Epidemiologie und klinische Relevanz

Die akute Nierenschädigung bei hospitalisierten Patienten ist eine häufige Komplikation. Angaben zur Inzidenzrate schwanken zwischen rund 3 und 7 %.[15-17] Die differierenden Angaben gründen auf den unterschiedlichen Diagnosekriterien für akutes Nierenversagen in der Vergangenheit und auf einer großen Variabilität der untersuchten Patientenkollektive. Etwa 20 % der hospitalisierten Patienten mit AKI versterben [15]. Bei intensivpflichtigen Patienten liegt die Mortalitätsrate sogar bei circa 60 % [18]. Rund 15 % der hospitalisierten Patienten mit AKI bedürfen einer Dialysebehandlung [16].

Zunächst herrschte die Annahme vor, dass es sich bei der AKI um ein reversibles Ereignis mit geringen Langzeitfolgen und einer hohen Rate an kompletter Erholung der Nierenfunktion handele. Chertow et al. konnten zeigen, dass bereits geringe SCr-Anstiege mit einer signifikant erhöhten Langzeitmortalität, einer längeren Verweildauer und einem höheren finanziellen Aufwand für das Gesundheitswesen assoziiert sind [19]. Angaben zur vollständigen Regeneration der Nierenfunktion nach AKI liegen bei rund 35 % bei chronisch Niereninsuffizienten und rund 93 % bei Nierengesunden.[20]

Insbesondere bei älteren Patienten (Alter > 67 Jahre) konnte gezeigt werden, dass Episoden von AKI einen signifikanten Risikofaktor für die Progression einer chronischen Niereninsuffizienz zur terminalen Niereninsuffizienz darstellen (Hazard Ratio [HR] 41,2 verglichen mit Nierengesunden ohne AKI). Auch das Risiko für die Entwicklung einer terminalen Niereninsuffizienz bei zuvor Nierengesunden wird durch das Auftreten von AKI erhöht (HR 13).[17]

Verschiedene Arbeitsgruppen haben nachgewiesen, dass das Mortalitätsrisiko sowohl von der pathophysiologischen Ursache als auch von der Dauer der AKI abhängig ist.[21, 22]

In der Studie von Liano et al. (*Madrid Acute Renal Failure Study Group*) von 1996 hatten Patienten mit iAKI eine rund doppelt so hohe Mortalität, wie Patienten mit pAKI oder postrenaler Genese der AKI.[10]

Die Differenzierung von pAKI und iAKI erfordert jedoch meist die Einordnung einer Nierenfunktionsverschlechterung nach klinischen Gesichtspunkten. Im Gegensatz dazu bietet die zeitliche Einteilung nach der Dauer eines Nierenversagens den Vorteil, dass nicht verifizierbare Annahmen hinsichtlich der Ätiologie und Pathophysiologie einer AKI und unklassifizierbare Fälle vermieden werden [21]. In mehreren Studien haben daher die Endpunkte transientes und anhaltendes Nierenversagen (sustained AKI, sAKI) Anwendung gefunden [23-25].

Uchino et al. konnten in einer retrospektiven Multicenter-Studie einen Zusammenhang zwischen der Dauer einer AKI und der Krankenhausmortalität feststellen. Sie unterschieden dabei zwischen drei Patientengruppen: Die erste Patientengruppe enthielt Patienten ohne AKI nach RIFLE. Die

zweite Patientengruppe umfasste Patienten mit einer transienten prärenalen Azotämie. Diese wurde als AKI nach RIFLE mit Erholung der Nierenfunktion innerhalb von 72 h definiert. Die dritte Patientengruppe enthielt Patienten mit einem mehr als 72 h anhaltendem Nierenversagen mit der Annahme, dass es sich dabei um Patienten mit strukturellen Nierenparenchymschäden, z.B. ATN, handelt. Im Vergleich zu Patienten ohne AKI hatten Patienten mit transientem Nierenversagen ein mehr als zweifach erhöhtes Krankenhausmortalitätsrisiko. Für Patienten mit sAKI konnte sogar ein rund sechsfach erhöhtes Krankenhausmortalitätsrisiko nachgewiesen werden.[21]

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Coca et al. in einer prospektiven Arbeit an 35.302 Diabetes-Patienten die sich einer nicht-kardiochirurgischen Operation unterzogen. Die Dauer der AKI wurde in 3 Klassen unterteilt: kurz (< 2 Tage), medium (3 - 6 Tage) und lang (\geq 7 Tage). 17,8 % der Patienten entwickelten eine AKI. Eine länger andauernde AKI war signifikant mit einer höheren Mortalitätsrate assoziiert ($p < 0,001$, für jedes AKIN-Stadium). Für eine lange AKI ließ sich eine Hazard Ratio (HR) von 2,01 für Mortalität nach Hospitalisierung berechnen.[22]

1.2 Die akute Nierenschädigung bei Nierentransplantierten

Die Nierentransplantation (NTx) hat sich als Therapie der Wahl bei terminaler Niereninsuffizienz, also dem Versagen der Nierenfunktion über einen Zeitraum von mehr als 3 Monaten, etabliert [2]. Verglichen mit maschinellen Nierenersatzverfahren zur künstlichen Blutwäsche wie der Hämodialyse oder der Bauchfelldialyse, bietet die Nierentransplantation sowohl einen Langzeitüberlebensvorteil [26, 27], als auch eine höhere Lebensqualität [28-30] und ist inklusive Nachsorge mit geringeren Kosten für das Gesundheitssystem verbunden [31].

Da bei nicht transplantierten Patienten bereits zahlreiche Studien den ungünstigen Einfluss von AKI auf das Langzeitoutcome und die Mortalität gezeigt haben, sind auch bei nierentransplantierten Patienten Epidemiologie, Risikofaktoren und Konsequenzen von akutem Nierenversagen untersucht worden [32, 33].

Nierentransplantatempfänger (KTR, *Kidney Transplant Recipients*) stellen ein besonderes Patientenkollektiv mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung von AKI dar. Die dauerhafte Einnahme nephrotoxischer Medikamente, insbesondere der Calcineurin-Inhibitoren, die reduzierte Masse an funktionsfähigen Nephronen einer Einzelniere, die Zell- und Gewebeschädigung nach Ischämie-Reperfusionsschaden während der Transplantation, die immunologische Antwort des Empfängers auf das Transplantat und die erhöhte Infektionsrate prädisponieren die immunsupprimierten Transplantatempfänger für eine renale Schädigung.[34, 35]

Zwei größere Studien haben den Langzeiteinfluss von AKI auf die Transplantatfunktion und das Transplantatüberleben untersucht.

Nakamura et al. publizierten 2012 eine retrospektive Single-Center-Studie zur Inzidenz und Langzeitfolgen von AKI bei KTR im ambulanten Rahmen in Japan. Für das knapp vierjährige *follow up* wurden 289 Lebendspendeempfänger eingeschlossen, bei denen die Transplantation mindestens 3 Monate zurücklag. Die Diagnosestellung der AKI erfolgte nach den RIFLE-Kriterien. 20,4 % der Patienten entwickelten innerhalb der Studienperiode von $46,3 \pm 20$ Monaten eine AKI. Die häufigste Ursache (64 %) stellten bakterielle Infektionen, insbesondere Harnwegsinfektionen, dar.[32]

KTR mit AKI hatten unabhängig vom Auftreten akuter Rejektionen ein signifikant geringeres Transplantatüberleben als Patienten, die keine AKI entwickelten (65 % versus [vs.] 85 % nach 7,5 Jahren, $p < 0,01$). Auch der Schweregrad der Nierenschädigung nach RIFLE-Kriterien korrelierte mit dem Transplantat-Outcome. Die Subgruppen mit AKI-Schweregrad *Failure* und *Loss* nach RIFLE hatten geringere Transplantatüberlebens-Raten als die Subgruppe *Risk* (HR für Transplantat-Verlust 3,95 vs. 2,28). Der zeitliche Abstand zwischen AKI-Episode und Transplantatverlust war interindividuell sehr variabel. Auch nach initial kompletter Wiedererlangung der Nierenfunktion war das Risiko für ein zukünftiges Transplantatversagen erhöht.[32, 34]

Mehrotra et al. untersuchten in einer 2012 publizierten retrospektiven longitudinalen Studie den Zusammenhang von stationären AKI-Ereignissen und anschließender Transplantatdysfunktion. Sie schlossen 27.232 krankenversicherte Kadaver- und Lebendspendeempfänger aus dem *US Renal Data System* ein, bei denen die NTx mindestens 6 Monate zurücklag.[33]

Innerhalb der ersten 3 Jahre nach NTx wurden 11,3 % der Patienten mit einer AKI-Diagnose hospitalisiert (diagnostiziert nach ICD-9-CM Code). Die häufigsten Ursachen für eine Hospitalisation mit AKI waren Sepsis, akuter Myokardinfarkt und dekompensierte Herzinsuffizienz. Ähnlich wie Nakamura et al. konnte die Arbeitsgruppe um Mehrotra einen ungünstigen Langzeiteinfluss von AKI auf das Transplantatüberleben und die Mortalitätsrate zeigen: Verglichen mit KTR ohne AKI wiesen Patienten mit AKI (ohne Dialysebedarf) ein erhöhtes Risiko für Transplantatverlust, Tod-zensierten Transplantatverlust und Tod mit funktionsfähigem Transplantat (HR 2,74; 3,17 bzw. 2,36) auf. Die HR von Patienten mit AKI und zusätzlichem Dialysebedarf waren noch höher (HR 7,35; 11,79 bzw. 2,91). Die Gesamt-AKI-Rate unter KTR wurde auf 20-fach höher und der Dialysebedarf bei KTR mit AKI um 45-fach höher als in der Allgemeinbevölkerung geschätzt.[33]

Beide Studien unterstützen die Annahme, dass AKI ungünstige Langzeiteffekte auf die Transplantatfunktion hat und mit einem erhöhten Risiko für Transplantatverlust und Tod assoziiert

ist. Eine rasche Initiierung einer zielgerichteten Therapie ist daher von besonderer Bedeutung und impliziert die Relevanz einer frühzeitigen AKI-Diagnostik bei KTR.

1.3 Limitationen der Diagnosekriterien für akute Nierenschädigung

Aktuell existiert keine offizielle Empfehlung zu Diagnosekriterien einer AKI spezifisch für nierentransplantierte Patienten. In der begrenzten Anzahl an Studien über die Epidemiologie und Folgen von AKI bei KTR wurde häufig auf die RIFLE-Kriterien zurückgegriffen.[32, 36] Die RIFLE-Kriterien wie auch die Modifikationen nach AKIN und KDIGO basieren neben der stündlichen Urinausscheidung auf seriellen SCr-Messungen.

Das Kriterium der Urinausscheidung birgt den Nachteil, dass eine korrekte Quantifizierung einen Harnblasenkatheter erfordert. Die Indikation für einen Katheter ist jedoch insbesondere im ambulanten und normalstationären Setting selten gegeben, sodass die AKI-Diagnose häufig alleinig auf dem Kreatinin-Kriterium beruht.

Kreatinin ist ein Abbauprodukt des Kreatins, einer niedermolekularen organischen Säure, die eine Rolle im Energiestoffwechsel spielt. Kreatinin wird in der Niere größtenteils frei filtriert und nur zu einem kleinen Teil tubulär sezerniert. Die Kreatininclearance entspricht daher annähernd der GFR und wird als Nierenfunktionsparameter herangezogen.[37]

Während für eine exakte Ermittlung der Kreatininclearance unter anderem ein 24-Stunden-Sammelurin von Nöten ist, erlauben mathematische Schätzformeln näherungsweise die klinisch weniger aufwendige Berechnung der *estimated* (geschätzten) GFR (eGFR) anhand der Kreatininbestimmung im Serum.

Die Verwendung des SCr-Werts als Surrogatparameter für die Diagnostik einer AKI birgt jedoch einige Schwächen: Zunächst erfolgt die Messwertbestimmung nach einem nicht standardisierten Verfahren, der modifizierten Reaktion nach Jaffé. Das Messverfahren ist laborabhängig und hat eine eingeschränkte Spezifität, da die Reaktion störanfällig für endogene Pseudokreatinine (z.B. Pyruvat) und Medikamente (z.B. Cephalosporinderivate) ist und den eigentlichen SCr-Wert überschätzt.[38]

Die Kinetik des SCr ist unter anderem abhängig von Alter, Geschlecht, Ernährungsgewohnheiten, Muskelmasse und der körperlichen Aktivität des Patienten. Diese Einflussfaktoren erschweren die Interpretation des SCr-Werts.[39, 40]

Zudem steigt die SCr-Konzentration aufgrund der renalen Funktionsreserve erst bei einem Verlust der GFR von über 50 % an, sodass geringe aber prognostisch relevante Nierenschädigungen unerkant bleiben. Die wesentliche Akkumulation von Kreatinin im Blut tritt zudem zeitlich verzögert, teils erst mehrere Tage nach schädigendem Ereignis, ein.[41]

Diese Faktoren haben zur Folge, dass AKI-Kriterien, die auf dem SCr-Wert basieren, nur eine verzögerte Diagnose bei fortgeschrittener Nierenschädigung und folglich einen verspäteten Beginn nephroprotektiver Maßnahmen erlauben.

Von Interesse sind daher neue prädiktive Biomarker, die eine frühe Diagnose, rasche Risikostratifizierung und frühzeitige Therapie der AKI möglich machen.

Für die geeignete Anwendung in der klinischen Routine, bestehen folgende Anforderungen an einen Biomarker [42]:

- Der Biomarker sollte wenig invasiv, schnell und einfach zugänglich sein (z.B. durch Blut-, Urin- oder Speichelproben)
- Der Biomarker sollte im geschädigten Gewebe gebildet oder freigesetzt werden und die Konzentration im Probenmedium sollte proportional mit dem Schweregrad und in enger zeitlicher Korrelation zum schädigenden Ereignis ansteigen.
- Der Biomarker sollte als Testcharakteristika eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Gewebeschädigung aufweisen.

Sowohl Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipokalin (NGAL) als auch Calprotectin zählen zu den vielversprechenden Biomarkern, die diese Anforderungen weitestgehend erfüllen. Die Fähigkeiten von NGAL und Calprotectin zur Detektion und Prädiktion einer AKI wurden bereits in zahlreichen Studien an verschiedenen Patientenkollektiven evaluiert.[25, 43-46]

1.4 Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipokalin (NGAL) und Calprotectin

1.4.1 Biologie von NGAL

Neutrophilen Gelatinase-assoziiertes Lipokalin gehört zur Familie der Lipokaline. Das Polypeptid ist auch bekannt als Lipocalin 2 oder Siderocalin. Lipokaline sind eine Gruppe kleiner, extrazellulärer Proteine, zu deren Eigenschaften die Bindungsfähigkeit und der Transport kleiner lipophiler Moleküle, die Bindung an spezifische Zelloberflächenrezeptoren und die Komplexbildung mit anderen löslichen Makromolekülen zählen.[47]

Zu den Liganden von NGAL gehören bakterielle eisenbindende Oligopeptide. Durch die Bindung dieser sogenannten Siderophoren wird Bakterien Eisen entzogen und das Bakterienwachstum gehemmt. NGAL erfüllt folglich eine Funktion als endogenes bakteriostatisches Protein in der angeborenen Infektabwehr.[48, 49]

Zusätzlich spielt NGAL eine Rolle bei der Regulation eisenabhängiger Gene sowie bei Proliferation und Differenzierung verschiedener Epithelien, einschließlich der Nierenepithelzellen [50].

NGAL kommt in drei verschiedenen molekularen Formen vor: als Monomer mit einem Molekulargewicht von 25 Kilodalton (kDa), als 45 kDa Homodimer und durch Disulfidbrücken gebunden an Gelatinase (Matrixmetalloproteinase-9) als 135 kDa Heterodimer.[51]

1.4.2 Syntheseorte von NGAL

NGAL wurde erstmalig aus speziellen Granula humaner neutrophiler Granulozyten isoliert [51]. Das Lipokalin wird jedoch auch in einer Vielzahl weiterer Gewebe exprimiert: Dazu gehören z.B. Pneumozyten und Hepatozyten [52]. Eine starke Zunahme der NGAL-Expression konnte in verletztem oder pathologisch verändertem Epithel nachgewiesen werden: Bei neoplastischen Gewebetransformationen, z.B. beim Adenokarzinom des Kolons [53] und der Lunge [54] oder als Reaktion auf Inflammation in Epithelzellen des Magendarm- und Respirationstrakts [55] wird die Genexpression hochreguliert [56]. Als weitere pathologische Ursache einer hochregulierten NGAL-Synthese konnte die ischämische und toxische Schädigung renaler Tubuluszellen beobachtet werden [56, 57].

Schmidt-Ott et al. schlagen ein Zwei-Kompartiment-Modell zur Rolle von NGAL bei einer Nierenschädigung vor und unterscheiden zwischen einem lokalen renalen Pool und einem systemischen Pool. Lokal wird NGAL bei einer renalen Schädigung aus dem distalen Teilen des Nephrons freigesetzt. Hier wird es im distalen Teil der Henle-Schleife und Zellen des Sammelrohrs synthetisiert. Das systemisch zirkulierende NGAL, freigesetzt z.B. im Rahmen einer Sepsis, wird im Glomerulum frei filtriert und im gesunden proximalen Tubulus fast vollständig durch Megalin-vermittelte Endozytose reabsorbiert.[58, 59]

In renalen Tubuluszellen wird NGAL kontinuierlich in niedrigen Mengen synthetisiert. Liegt keine Nierenschädigung vor, sind daher niedrige NGAL-Level im Urin nachweisbar. Beim gesunden Erwachsenen liegen die Konzentrationen im Durchschnitt bei circa 20 ng/ml im Urin.[60]

Die Urin-NGAL-Konzentrationen von Nierentransplantierten mit stabiler Transplantatfunktion entsprechen etwa den Werten gesunder Spender [61, 62].

Kommt es zu einer akuten Schädigung der Niere, kann die Reabsorption im proximalen Tubulus gestört sein, sodass es auch zu einer Anreicherung von systemischem NGAL im Urin kommt [59]. Infolge einer AKI konnte jedoch auch eine Anreicherung von systemischem NGAL im Plasma beobachtet werden. Der Zusammenhang zwischen einer AKI und dem Plasma-NGAL-Anstieg ist noch nicht abschließend geklärt. Als Quelle des systemischen NGALs bei einer AKI konnte unter anderem eine gesteigerte mRNA-Expression in entfernten Organen wie Leber und Lunge identifiziert werden [63]. Hinzukommt, dass eine Abnahme der GFR im Rahmen einer AKI zu einer verringerten NGAL-Clearance führt, was ebenfalls zu einer Akkumulation des systemischen

NGAL beiträgt [42]. Im Zusammenhang mit einer AKI können also sowohl erhöhte Urin-NGAL, als auch Plasma-NGAL-Spiegel beobachtet werden.

1.4.3 Biologie von Calprotectin

Calprotectin, auch bezeichnet als Myeloid-Related Proteins 8 und 14 (MRP8/MRP14) oder S100A8 und A9, ist ein Heterodimer zweier immunregulatorischer, calciumbindender Proteine. Calprotectin gehört zur Familie der S100-Proteine und wird vornehmlich aus Neutrophilen Granulozyten, aber auch aus Monozyten, reaktivierten Makrophagen und Epithelien freigesetzt.[64]

Es ist ein Ligand des Toll-like Rezeptor 4 und führt über die vermehrte Expression von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen in Phagozyten und Epithelzellen zur Aktivierung von Leukozyten, induziert die Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen und verstärkt die Entzündungsreaktion.[65]

Calprotectin gilt daher als Mediatorprotein des angeborenen Immunsystems. Darüber hinaus wird eine Rolle bei der Pathogenese verschiedener entzündlicher Erkrankungen wie zum Beispiel der rheumatoiden Arthritis oder chronisch entzündlicher Darmerkrankungen beschrieben.[66]

1.4.4 Syntheseorte von Calprotectin

In der Gastroenterologie hat sich Calprotectin bereits als Aktivitätsmarker bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) etabliert. Durch die Migration neutrophiler Granulozyten in die Darmmukosa bei Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa, lässt sich Calprotectin in hohen Konzentrationen im Stuhl nachweisen [66]. Neben den CED korreliert auch bei anderen chronisch entzündlichen Erkrankungen wie der Rheumatoiden Arthritis [67] oder systemischem Lupus erythematodes [68] die Serumcalprotectin-Konzentration mit der Krankheitsaktivität.

Analog zu den Beobachtungen bei CED wird Calprotectin bei der intrinsischen Nierenschädigung im Mausmodell, aber auch auf Grundlage immunhistologischer Färbungen an humanen Nierentransplantaten, hauptsächlich von das Nierengewebe infiltrierenden Immunzellen produziert [69]. Neben myeloiden Zellen sind zudem Fibroblasten, Keratinozyten, Osteoklasten und Endothelzellen Syntheseorte von Calprotectin [70-72].

1.5 Stand der Forschung

1.5.1 NGAL und die akute Nierenschädigung

In Tiermodellen wurde NGAL bereits als Biomarker einer akuten Nierenschädigung erkannt. Mittels einer Genexpressionsanalyse im Mausmodell konnte NGAL als frühzeitig stark

hochreguliertes Gen bzw. Protein nach einem Ischämieschaden, später auch als Reaktion auf Sepsis und Nephrotoxinexposition, identifiziert werden.[56, 73, 74]

Durch eine akute Schädigung kommt es im distalen Nephron, insbesondere im dicken aufsteigenden Teil der Henle-Schleife und im Sammelrohr, zu einer deutlichen Zunahme der Expression von NGAL-mRNA [75]. Verglichen mit der gesunden Niere, wurde postischämisch eine bis zu 1000-fach erhöhte mRNA-Expression nachgewiesen [58].

Dies führt bereits wenige Stunden (Maximum 12 h) nach dem schädigenden Ereignis zu einem Anstieg der NGAL-Konzentrationen in Blut und Urin – lange vor dem Anstieg des SCr. Die Höhe der Spiegel korreliert darüber hinaus mit Dauer und Grad der Schädigung. Ein Abfall der tubulären Reabsorption des gefilterten NGAL durch die akute Nierenschädigung, führt zu einem weiteren Anstieg der Urin-NGAL-Konzentration. Diese Erkenntnisse implizieren, dass NGAL einen potentiellen frühen, sensitiven und nicht-invasiven Biomarker für die Prädiktion und Detektion renaler Schädigung darstellen könnte und führten zur Initiierung zahlreicher Studien zur Evaluation der klinischen Bedeutung von NGAL als AKI-Biomarker beim Menschen.[56]

1.5.2 NGAL in klinischen Studien

Da es im Rahmen kardiochirurgischer Operationen zu einer renalen Minderperfusion kommt, die zeitlich eindeutig zugeordnet werden kann, wurde ein großer Teil der klinischen Studien zunächst an kardiochirurgischen Patienten durchgeführt.

So bestimmten Mishra et al. 2004 an 71 Kindern, die einer kardiopulmonalen Bypass-Operation unterzogen wurden, Serum- und Urin-NGAL-Werte. 20 Patienten entwickelten eine AKI (definiert nach RIFLE R). Während das SCr bei diesen Patienten erst 24 – 72 h nach der Operation anstieg, erfolgte bereits nach 2 h ein signifikanter Anstieg der Serum- und Urin-NGAL-Konzentration ($p < 0,0001$). In einer multivariablen Analyse stellte Urin-NGAL (uNGAL) 2 h postoperativ den stärksten unabhängigen Prädiktor für eine AKI dar mit einer *Area Under the Receiver-Operating Characteristic Curve* (AUC ROC) von 0,998 für einen Cut-off-Wert von 50 µg/L.[43]

Bei adulten kardiochirurgischen Patienten mit AKI konnten Wagener et al. 1 h postoperativ ebenfalls signifikant höhere uNGAL-Spiegel ($p < 0,01$) bestimmen, als bei Patienten, die kein Nierenversagen entwickelten [76].

In einer Single-Center-Studie mit Patienten, die sich über die Notaufnahme vorstellten, von Nickolas et al. 2008 erlaubte eine einzige uNGAL-Bestimmung die Differenzierung einer akuten intrinsischen Nierenschädigung von einer transienten prärenalen Nierenschädigung, einer nicht-progressiven chronischen Nierenerkrankung und einer normalen Nierenfunktion. NGAL eignete sich hierbei auch als Prädiktor für die Endpunkte Notwendigkeit einer Dialysetherapie oder Aufnahme auf die Intensivstation.[44]

Eine weitere prospektive Studie der gleichen Arbeitsgruppe von 2012 identifizierte NGAL, verglichen mit vier weiteren Urin-Biomarkern, als besten Prädiktor für den Schweregrad und die Dauer einer AKI (Spezifität = 0,81, Sensitivität = 0,68 bei einem 104 ng/ml Cut-off-Wert). uNGAL konnte unter anderem die Endpunkte Dialysebedarf und Tod während der Hospitalisierung voraussagen (AUC ROC 0,75).[25]

Auch bei Nierentransplantierten wurde NGAL in der frühen Posttransplantperiode als prädiktiver Biomarker identifiziert. In mehreren Studien verschiedener Arbeitsgruppen erwies sich das Lipokalin mittels immunhistochemischer Färbung oder Urinbestimmung als valider Prädiktor einer verzögerten Transplantatfunktionsaufnahme (DGF, *Delayed Graft Function*, definiert als Dialysebedarf innerhalb der ersten Woche nach NTx) [77-79]. Eine DGF tritt meist 2 – 4 Tage post transplantationem auf und betrifft häufiger Kadavernieren- als Lebendspendeempfänger [77]. Nur wenige Studien haben jedoch den Nutzen von NGAL-Messungen in der Langzeitbetreuung von KTR evaluiert.

Kaufeld et al. untersuchten die Sensitivität von NGAL als Biomarker zur Detektion von AKI bei KTR sowohl in der frühen als auch in der späteren Posttransplantphase. Bei 140 erwachsenen KTR wurden 6 Wochen, 3 Monate und 6 Monate nach NTx Transplantatbiopsien entnommen und mit den uNGAL-Spiegeln zu diesen Zeitpunkten korreliert. Die uNGAL-Werte von stabilen KTR unterschieden sich dabei nicht signifikant von denen einer gesunden Kontrollgruppe. Sechs Wochen post transplantationem zeigten KTRs mit ATN in der Biopsie signifikant höhere uNGAL-Werte ($p = 0,031$) als Patienten ohne ATN. Nach einem halben Jahr konnte hingegen kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten ohne ATN und mit bioptisch diagnostizierter ATN nachgewiesen werden. Die Ergebnisse von Kaufeld et al. stellen den Nutzen von uNGAL als diagnostischen Biomarker für das iAKI-Monitoring von KTR in Frage. Vielmehr stellt die Arbeitsgruppe NGAL eine Rolle als Indikator für die regenerative Kapazität der Transplantatniere in der frühen Posttransplant-Phase in Aussicht.[62]

1.5.3 Calprotectin und die akute Nierenschädigung

Die Rolle von Calprotectin in der Pathophysiologie der akuten Nierenschädigung wurde bei verschiedenen Modellen der Nierenschädigung beschrieben:

Einseitige Ureter-Obstruktion im Mausmodell führte zu einer erhöhten Expression von Calprotectin in den Epithelzellen des Sammelrohrs [80].

Ein Ischämie-Reperfusionsschaden induziert ebenfalls die Calprotectinexpression. Hauptquelle des Calprotectins sind in das ischämische Nierengewebe eingewanderte Neutrophile [81].

Bei der Induktion einer akuten Nierenschädigung durch Kontrastmittelgabe konnte im Mausmodell ebenfalls eine erhöhte Calprotectinexpression beobachtet werden [82].

Auch bei Menschen konnte im Rahmen von Nierentumor-Operationen bei iatrogenem Ischämie-Reperfusionsschaden durch das vorübergehende Abklemmen der Nierenarterie ein Anstieg des Calprotectins im Urin (uCalprotectin) detektiert werden. Ein Anstieg der Konzentration wurde zwei Stunden postoperativ beobachtet. Das Maximum der Calprotectin-Konzentration betrug das 69-fache der gemessenen Baselinewerte und wurde nach 48 Stunden erreicht, gefolgt von einem stetigen Abfall der Konzentration.[83]

Die Bedeutung von Calprotectinbestimmungen im Blut bei der Einordnung von AKI wurde nur in wenigen Studien untersucht. Studien am Mausmodell bei Cisplatin-induzierter iAKI vs. Volumendepletion-induzierter pAKI sprechen auch Serum-Calprotectin die Fähigkeit zu, zwischen den beiden AKI-Formen zu unterscheiden.[84]

1.5.4 Calprotectin in klinischen Studien

Mehrere Studien haben die diagnostische Fähigkeit von Calprotectin an verschiedenen Patientenkollektiven untersucht, zwischen prärenal und intrinsischer AKI zu unterscheiden [45, 46, 69, 85, 86].

Heller et al. bestimmten 2011 bei 86 Patienten mit der Aufnahmediagnose einer AKI 1-3 (nach AKIN) sowie bei 15 gesunden Kontrollen uCalprotectin. Der Biomarker zeigte eine hohe diagnostische Genauigkeit für intrinsische AKI mit einer AUC ROC von 0,97. Ein Cut-off-Level von 300 ng/ml erbrachte eine Sensitivität von 0,92 und eine Spezifität von 0,97.[46]

Seibert et al. konnten 2013 nach einem vergleichbaren Studienprotokoll an 87 Patienten (62 Patienten mit AKI, 25 gesunde Kontrollen) eine AUC ROC von 0,99 für uCalprotectin für die Diagnostik von iAKI ermitteln und verglichen diese mit uNGAL, dessen ROC-Analyse eine AUC von 0,82 ergab.[45]

Zu ähnlichen Ergebnissen führte eine Studie von Chang et al. von 2015. In dieser prospektiven Beobachtungsstudie wurden 147 Patienten einer kardiologischen Intensivstation mit Risikofaktoren für die Entwicklung einer AKI, unabhängig der Aufnahmediagnose, eingeschlossen. 71 Patienten entwickelten eine AKI, davon 43 eine iAKI. NGAL und Calprotectin wurden im Urin bestimmt. Für beide Biomarker konnten hohe AUC ROCs von 0,918 (uNGAL) und 0,946 (uCalprotectin) für die Prädiktion der intrinsischen Nierenschädigung bestimmt werden.[86]

Es folgten Studien, die untersuchten, ob sich diese Ergebnisse auf Nierentransplantierte übertragen ließen. So konnten Tepel et al. in einer prospektiven Multicenterstudie 2014 an 144 frisch nierentransplantierten mithilfe der Calprotectinkonzentration im Urin eine beeinträchtigte Transplantatfunktion (gemessen an der eGFR) 4 Wochen, 6 und 12 Monate nach Transplantation vorhersagen. Patienten mit uCalprotectin-Werten in der höchsten Quartile, gemessen direkt nach

Transplantation, hatten ein relatives Risiko von 4,3 für eine eingeschränkte eGFR unter 30 ml/min/1,73 m² 4 Wochen post transplantationem (p < 0,001).[87]

In einer 2017 publizierten Studie untersuchten Seibert et al. die Diskriminierungsfähigkeit von uCalprotectin zwischen prärenal und intrinsischer akuter Transplantatschädigung. Die Calprotectinkonzentrationen im Urin waren bei Patienten mit intrinsischer Transplantatschädigung 36-fach höher als bei Patienten mit prärenal Schädigung. Ein Cut-off-Level von 134,5 ng/ml ergab eine Spezifität von 0,74 und eine Sensitivität von 0,90.[69]

1.6 Gegenstand der Arbeit und zentrale Hypothesen

AKI ist eine häufige Komplikation nierentransplantierten Patienten und erhöht die Verweildauer sowie langfristig das Risiko für Transplantatverlust und Tod [32, 33].

Die Diagnose einer AKI wird anhand serieller Messungen von harnpflichtigen Substanzen (Kreatinin) und der Urinausscheidung gestellt [37]. Diese haben bei akuter Transplantatschädigung nur eine eingeschränkte Spezifität und Sensitivität zur Prognoseabschätzung. Studien bei nicht Nierentransplantierten zeigten, dass die zusätzliche Bestimmung von Biomarkern wie z.B. NGAL und Calprotectin die Risikoabschätzung signifikant verbessert. Die Biomarker sind bei einer intrinsischen strukturellen Nierenschädigung stark erhöht und erlauben die Differenzierung von einer prärenal funktionellen Nierenfunktionseinschränkung.[25, 44, 45, 85]

Da nur wenige Studien an nierentransplantierten Patienten vorliegen, ist nicht geklärt, ob sich diese Daten analog auf Nierentransplantierte übertragen lassen.

Die vorliegende Arbeit untersucht den klinischen Nutzen von NGAL und Calprotectin als prädiktive Biomarker einer anhaltenden akuten Nierenschädigung und einer sich weiter verschlechternden Nierenfunktion bei Nierentransplantierten zum Zeitpunkt einer unplanmäßigen stationären Krankenhausaufnahme, unabhängig von der Aufnahmediagnose.

Folgende Hypothesen werden für die beiden Biomarker aufgestellt:

- 1) Die Bestimmung der Biomarker NGAL und Calprotectin im Plasma und Urin zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme bei nicht-elektiv hospitalisierten Nierentransplantierten erlaubt einzeln oder in Kombination mit der SCr-Bestimmung eine verbesserte Prädiktion hinsichtlich eines anhaltenden Transplantatversagens (sAKI).
- 2) Die Bestimmung der Biomarker NGAL und Calprotectin im Plasma und Urin zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme bei nicht-elektiv hospitalisierten Nierentransplantierten erlaubt einzeln oder in Kombination mit der SCr-Bestimmung eine verbesserte Prädiktion hinsichtlich einer sich weiter verschlechternden Transplantatfunktion innerhalb von 72 Stunden nach Hospitalisierung (*worsening renal function*, WRF).

2. METHODEN

2.1 Studiendesign

2.1.1 Studienpopulation

Die vorliegenden Daten wurden in der Abteilung für Nephrologie der Charité Universitätsmedizin Berlin am Campus Mitte im Zeitraum vom 10.04.2013 bis zum 11.09.2014 gesammelt. Es handelt sich um Daten einer Subkohorte einer größeren monozentrischen prospektiven Studie zum prognostischen Wert von NGAL und Calprotectin hinsichtlich des langfristigen Transplantatüberlebens. Für diese Biomarker-Validierungsstudie (VS) „VS-NTX-Studie“ wurden zunächst 798, an der nephrologischen Transplantationsambulanz angebundene, nierentransplantierte Patienten für den Einschluss vorgesehen.

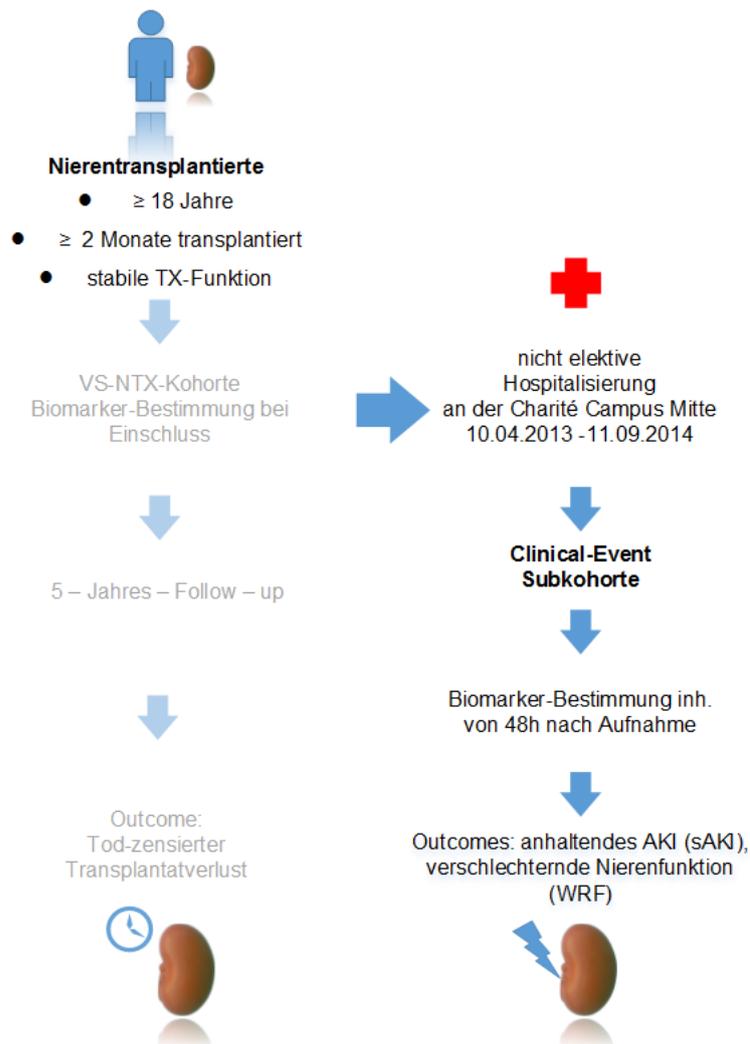


Abbildung a) VS-NTX-Clinical-Event-Subkohorte

Bei einer Subkohorte der Patienten kam es während der 17 Monate zu einer nicht-elektiven Hospitalisation (Clinical event, CE) an der Charité Universitätsmedizin Campus Mitte ungeachtet der Aufnahmediagnose. Diese Subpopulation wird in der hier beschriebenen VS-NTX-Clinical-Event-Substudie (VS-NTX-CE) näher betrachtet (siehe Abbildung a)). Blut- und Urinproben zur Biomarkerbestimmung wurden innerhalb von 48 h nach Aufnahme abgenommen und in pseudonymisierter Form verwaltet.

Tabelle 4 zeigt die Ein- und Ausschlusskriterien der zugrundeliegenden VS-NTX-Studie.

Patienten mit der Anamnese einer bis zu 5 Jahren zurückliegenden malignen Tumorerkrankung (ausgenommen Basaliomen) wurden ausgeschlossen.

Das Ausschlusskriterium „klinische Instabilität“ wurde als Vorliegen klinischer und laborchemischer Zeichen einer akuten Infektion mit Vorliegen einer akuten Behandlungs- oder Aufnahmeindikation definiert. Lag der Serumkreatininwert zum geplanten Einschlusszeitpunkt 0,3 mg/dl oder mehr über den letzten 3 ambulanten Vorwerten, wurde dies als „instabile Transplantatfunktion“ definiert und führte zum Ausschluss des Patienten.

Die Patienten wurden über die Studie aufgeklärt und das schriftliche Einverständnis wurde eingeholt. Die ethische Beratung und das zustimmende Votum erfolgte durch die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin. Patienten, die in die VS-NTX-Studie eingeschlossen wurden, erklärten sich gleichzeitig einverstanden mit der Asservierung von Blut- und Urinproben im Fall einer nicht elektiven Hospitalisierung.

Tabelle 4 Ein- und Ausschlusskriterien der VS-NTX-Studie

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Alter \geq 18 Jahre	Fehlende Einwilligungsfähigkeit
erfolgreiche Nierentransplantation vor mindestens 2 Monaten	Malignomerkrankung innerhalb der letzten 5 Jahre
	eGFR < 15 ml/min (nach CKD-EPI)
	Instabile Transplantatfunktion
	Klinische Instabilität

Tabelle 4: eGFR= estimated Glomerular Filtration Rate, CKD EPI= Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration

Über einen Zeitraum von 13,5 Monaten nach Patienteneinschluss wurden bei Routineterminen 3 (1,5 bis 4,5) Monate, 6 (4,5 bis 7,5) Monate, 9 (7,5 bis 10,5) Monate und 12 (10,5 bis 13,5) Monate nach Einschluss Urin- und Plasmaproben gewonnen und in diesen Proben NGAL und Calprotectin bestimmt. Die Langzeit-Follow-up-Ergebnisse der VS-NTX-Studie werden nicht in dieser Arbeit behandelt. Die ermittelten Biomarkerwerte an den Routineterminen wurden jedoch zur Baselinebestimmung und AKI-Adjudikation der hospitalisierten Subpopulation verwendet.

2.1.2 Adjudikation der Endpunkte und Baselinebestimmung

Die Definition des Baselinekreatinins ist essenziell für die Diagnose einer AKI und AKI-basierter Endpunkte nach KDIGO. Die Wahl des Referenzkreatinins zur Diagnose einer akuten Nierenschädigung ist in der Literatur vielfach diskutiert.[88-90] Es existieren verschiedene Verfahren zur Festlegung eines Baseline-Kreatininwerts. Ein Verfahren beruht auf der Wahl des niedrigsten bekannten ambulanten Vorwerts oder des niedrigsten stationären Kreatininwerts beim Fehlen von Vorinformationen („Kreatinin-Nadir“). [88] Die Bestimmung des Kreatinin-Nadirs ist wenig aufwendig und findet daher insbesondere bei großen Stichproben Anwendung ([19, 91])

Da Serumkreatininwerte durch verschiedene Einflussfaktoren zum Beispiel Muskelmasse, Volumenstatus oder akute Infektionen beeinflusst werden, bildet die reine Berücksichtigung des Kreatinin-Nadirs jedoch unter Umständen die Baseline-Nierenfunktion unzureichend ab und kann zu Fehlklassifikationen von AKI und AKI-bezogenen Endpunkten führen [89].

Liegen mehrere ambulante Vorwerte vor, kann der am häufigste vorkommende Kreatininwert oder ein Mittelwert der Vorwerte herangezogen werden. Hierbei werden jedoch Abnahmefrequenz und klinische Informationen zum Abnahmezeitpunkt nicht berücksichtigt.[89]

Eine klinische Adjudikation des Referenzkreatinins erlaubt bei Vorliegen von Vorinformationen die Berücksichtigung der unterschiedlichen Zeitabstände ambulanter Kreatininbestimmungen, eine Beurteilung des Kreatininverlaufs und die Einbeziehung klinischer Begleitumstände (zum Beispiel akuter Harnwegsinfekt zum Zeitpunkt der Kreatininbestimmung).[88]

In dem hier diskutierten Patientenkollektiv liegen aufgrund der langfristigen Betreuung in der Transplantationsambulanz der Charité Mitte Kreatininverläufe und klinische Vorinformationen vor, die eine klinische Adjudikation des Baselinekreatinins und der damit assoziierten AKI-Diagnose nach KDIGO erlauben, sodass die klinische Baselineadjudikation in dieser Arbeit Anwendung findet.

Es wurden zwei Endpunkte definiert: eine anhaltende Nierenschädigung (sAKI) und eine sich weiter verschlechternde Nierenfunktion (WRF).

- Eine sAKI wurde anhand eines SCr-Anstiegs $\geq 0,3$ mg/dl oder $\geq 50\%$ über Baseline definiert (entspricht AKI nach KDIGO 1), der sich innerhalb von 72 h nicht normalisierte.
- Als WRF wurde ein absoluter SCr-Anstieg um $\geq 0,5$ mg/dl innerhalb der ersten 3 Tage nach Krankenhausaufnahme verglichen zum Aufnahme-SCr definiert.

Die diagnostische Adjudikation der Endpunkte erfolgte durch ein Adjudikations-Komitee aus 4 unabhängigen klinischen Adjudikatoren (die Betreuerin der Arbeit (Fachärztin für Nephrologie) sowie die drei medizinischen Doktorandinnen der Arbeitsgruppe). Jede der Adjudikatoren legte pro Patienten einen Baselinekreatininwert vor Hospitalisation fest, der die Baseline-Transplantatfunktion nach seiner Beurteilung am besten reflektiert. Zum Zeitpunkt der Festlegung war jeder Adjudikator verblindet für die Baselinewertentscheidung der anderen Adjudikatoren. Die Baselineadjudikation erfolgt unter Berücksichtigung der ambulanten und stationären Kreatininwerte der letzten 2 bis 24 Monaten sowie der klinischen Informationen aus der Klinik- und Ambulanzdatenbank zum Zeitpunkt der Kreatininbestimmungen. Der adjudizierte Baselinewert musste hierbei weder dem häufigsten ambulanten Wert noch dem Kreatinin-Nadir entsprechen und konnte frei festgelegt werden. Bei einem Patienten mit ambulanten Werten von 1,0 mg/dl und 1,2mg/dl konnte z.B. auch ein Wert von 1,1mg/dl festgelegt werden.

Die elektronische Patientenakte, die Patientenanamnese, Ambulanznotizen und die hier enthaltenen klinischen Informationen über den aktuellen Gesundheitszustand, klinische Untersuchungsbefunde (z.B. Blutdruck, Volumenstatus, Vorliegen einer akuten Infektion), Berichte vorangehender stationärer Aufenthalte, Rettungsstellenkonsultationen, vorliegende Laborwerte sowie Befunde bildgebender Verfahren wurden in die Adjudikation miteinbezogen.

Aus den vier adjudizierten Baselinewerten wurde der Mittelwert gebildet. Bei einer Standardabweichung (SD) < 0,3 wurde der Mittelwert als SCr-Baselinerwert verwendet. Bei einer SD \geq 0,3 wurde der Fall durch die vier Adjudikatoren diskutiert, bis ein Konsens gefunden wurde. Das Vorgehen in der Adjudikation der Baseline-Kreatininwerte erfolgte somit in ähnlicher Weise wie durch Siew et al. 2012 publiziert [88].

Die adjudizierten Baseline-Kreatininwerte wurden im Anschluss für die AKI-Diagnose nach KDIGO und den oben genannten AKI-basierten Endpunkt sAKI herangezogen. Die Adjudikatoren waren gegenüber den gemessenen NGAL- und Calprotectin-Werten verblindet. Eine Speicherung der Primärdaten inklusive adjudizierter Baselinewerte erfolgte über die Geschäftsstelle für Gute Wissenschaftliche Praxis der Charité Universitätsmedizin Berlin zeitlich vor Beginn der Biomarkermessungen. Da für die Baselinebestimmung von NGAL- und Calprotectinwerte keine klinischen Erfahrungswerte bestehen, wurde sich hierbei gegen eine klinische Adjudikation entschieden. Die Baselinebestimmung der Biomarker in Plasma und Urin erfolgte daher durch Mittelwertbildung der Routinewerte aus der VS-NTX-Studie, die zeitlich vor dem Hospitalisierungsereignis lagen.

Die Diagnose eines akuten Nierenversagens erfolgte anhand der KDIGO-Kriterien (KDIGO 2012) [2] und basierte ausschließlich auf Veränderung des SCr-Werts. Die Urinausscheidung wurde

nicht als Diagnosekriterium eines akuten Nierenversagens herangezogen. Die meisten Patienten benötigten keinen Blasenkatheter, sodass eine zuverlässige Bestimmung des Urinzeitvolumens nicht gewährleistet war.

Die Differenzierung zwischen einem transienten und einem anhaltenden Nierenversagen und die Beurteilung der Nierenfunktion erfolgte anhand der Kreatininwerte, die im stationären Verlauf bestimmt wurden.

Zur Dokumentation der klinischen Daten und Patientencharakteristika (Anamnese, Untersuchungsbefunde, Laborergebnisse, histopathologische Daten, Behandlungsschritte und klinische Antwort auf Behandlung, klinische Ereignisse) wurden ebenfalls auf die Patientenakten und elektronischen Datenbanken der Klinik zurückgegriffen.

2.2 Biomarkerbestimmung

2.2.1 Materialasservierung

Innerhalb von 48 h nach Aufnahme wurden EDTA-Plasma-Proben und Urinproben gesammelt und bei 3500 Umdrehungen für 10 Minuten zentrifugiert. Die Überstände wurden abpipettiert und innerhalb von 6 h bei - 80°C bis zur Messwertbestimmung tiefgefroren.

2.2.2 NGAL-Bestimmung und Testprinzip

Die quantitative Bestimmung der Plasma- und Urin-NGAL-Konzentration erfolgte mithilfe des *The NGAL Test*TM-Kits (Firma Bioporto®) durch das Medizinische Labor Dr. Berg, Berlin, und wurde mit einem *cobas*[®] 6000-Analyzer c501/c502 (Firma Roche/Hitachi) durchgeführt.

*The NGAL Test*TM ist ein turbidimetrischer Immunoassay. Bei der Turbidimetrie (lateinisch *turbidus*: trübe, Trübungsmessung) handelt es sich um ein empfindliches Messverfahren, mit dem die Konzentration kolloidal gelöster Partikel (z.B. Antigen-Antikörper-Konglomerate) in trüben Flüssigkeiten bestimmt werden kann. Durch ein Photometer wird die Intensitätsabnahme eines einfallenden Lichtstrahls nach Durchgang durch das streuende Medium gemessen. Je stärker die Trübung, desto höher sind die Abschwächung des Lichtstrahls durch Streuung und die Stoffkonzentration.[92]

Zunächst wird die Probe mit dem Reaktionspuffer vermischt. Nach einer kurzen Inkubationszeit wird die Reaktion durch den Zusatz einer Immunpartikel-Suspension gestartet. Dabei handelt es sich um Polystyrol-Mikropartikel, die mit NGAL-spezifischen monoklonalen Maus-Antikörpern beschichtet sind. Durch das NGAL im Probenmaterial kommt es zur Aggregation der Immunpartikel. Der Grad der Aggregation wird über die Abschwächung des Lichtstrahls durch Streuung quantifiziert. Die Messwerte einer Probe werden anhand einer Standardkurve in NGAL-Konzentrationen umgerechnet.[93]

2.2.3 Calprotectin-Bestimmung und Testprinzip

Die Bestimmung der Calprotectin-Konzentration erfolgte in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. T. Westhoff mit dem *IDK® Calprotectin ELISA Kit* und beruht auf einer Sandwich-ELISA-Technik. ELISA steht für Enzyme-linked Immunosorbent Assay und bezeichnet ein antikörperbasiertes Verfahren zum Nachweis von Antigenen in Körperflüssigkeiten wie zum Beispiel Plasma, Urin oder Liquor. Zur Anwendung kommen zwei monoklonale Antikörper, die humanes Calprotectin binden. In die Kavitäten der Mikrotiterplatten werden die zu untersuchenden Patientenplasma und -urinproben pipettiert. Die Mikrotiterplatten sind mit monoklonalen anti-human Calprotectin-Antikörpern beschichtet und binden das enthaltene Calprotectin. Anschließend wird ein Peroxidase-gekoppelter Antikörper hinzugegeben und es bilden sich „Sandwich“-Komplexe aus Fängerantikörper, Calprotectin und Peroxidase-gekoppeltem Antikörper. Nach Zugabe des Peroxidasesubstrats wird eine Farbreaktion katalysiert und durch Hinzufügen von Schwefelsäure gestoppt. Die so entstandene farbgebende Verbindung wird photometrisch gemessen. Die Farbintensität ist proportional zur Calprotectinkonzentration, die anhand einer Standardkurve errechnet werden kann.[94]

2.3 Statistik

Zur Datenverwaltung wurde Microsoft Excel 2010 verwendet. Die deskriptiven und explorativen statistischen Analysen wurden mit SPSS Version 22.0 (SPSS, Chicago, Illinois) und GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA) durchgeführt.

Die Verteilung numerischer Variablen wurde mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests und anhand Quantile-Quantile-plots auf Normalverteilung untersucht. Auf Varianzhomogenität wurde mittels Levene-Tests getestet. Die Testung auf Gruppenunterschiede zwischen zwei Gruppen bezüglich metrischer, nicht normalverteilter, varianzinhomogener Variablen erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Test. Kategorische Variablen wurden mit dem Chi-Quadrat-Test auf Unabhängigkeit untersucht.

Um Zusammenhänge zwischen dem binären Outcome sAKI und WRF einerseits und Laborparametern, demographischen Daten und Komorbiditäten andererseits zu bestimmen, wurden univariable und multivariable binär logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Die Vorhersagekraft der Modelle wurde anhand der globalen Modellgüte mittels R^2 nach Nagelkerke bewertet. Der individuelle Einfluss einer Variablen auf die Eintrittswahrscheinlichkeit des Endpunkts wurde anhand der Odds-Ratio beurteilt. Für alle Untersuchungen wurde die Nullhypothese auf einem Signifikanzniveau von $< 0,05$ abgelehnt. Zur Beurteilung der Qualität eines Tests wurden *Receiver Operating Characteristics (ROC)* und *Area Under the Receiver*

Operating Characteristic Curve (AUC ROC) bestimmt sowie der positive prädiktive Wert, der negativ prädiktive Wert, Spezifität und Sensitivität und die positive und negative Likelihood-Ratio zu verschiedenen Test-Cut-off-Werten errechnet. Zum Vergleich zweier Prädiktionsmodelle wurden die Methoden *Net Reclassification Improvement* (NRI, Verbesserung der Reklassifizierung) und die *Integrated Discrimination Improvement* (IDI, Verbesserung des integrierten Unterscheidungsvermögens) nach Pencina et al. [95] angewendet.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité Universitätsmedizin Berlin.

2.3.1. Binär logistische Regression

Binär logistische Regressionsanalysen werden angewandt, um den Zusammenhang zwischen verschiedenen unabhängigen Variablen und einer binären abhängigen Variable zu untersuchen. Die binäre abhängige Variable kann zwei Ausprägungen annehmen, am Beispiel des Endpunkts sAKI: „0“ (Patient entwickelt keine sAKI) oder „1“ (Patient entwickelt eine sAKI). In der univariablen logistischen Regression wird untersucht, ob die unabhängige Variable (z.B. NGAL-Spiegel, koronare Herzerkrankung etc.) einen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit hat, dass die abhängige Variable den Wert 1 annimmt (Patient entwickelt sAKI). Die Werte der logistischen Funktion werden also als Eintrittswahrscheinlichkeit des zu untersuchenden Endpunkts interpretiert. Ein Wert nahe 0 bedeutet, dass das Eintreten einer sAKI sehr unwahrscheinlich ist, während ein Wert nahe 1 bedeutet, dass die Entwicklung einer sAKI sehr wahrscheinlich ist.[96] Für den Endpunkt sAKI und die unabhängigen Variablen pNGAL und SCr ergibt sich beispielhaft folgende binär logistische Regression [96]:

$$P(sAKI = 1) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 \cdot pNGAL_A + \beta_2 \cdot SCr_A)}}$$

Hierbei beschreibt P die Wahrscheinlichkeit, dass der Endpunkt sAKI eintritt ($sAKI = 1$), e die eulersche Zahl, $\beta_1 - \beta_2$ bezeichnen die Regressionskoeffizienten der einzelnen Variablen (hier beispielhaft $pNGAL_A$ und SCr_A). β_0 beschreibt die Regressionskonstante. Ob die unabhängige Variable jeweils einen signifikanten Einfluss auf den binären Endpunkt hat, wird mittels eines z-Tests untersucht. Dieser testet die Nullhypothese, beispielhaft für pNGAL: „die unabhängige Variable pNGAL hat keinen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit des Eintretens des Endpunkts sAKI (Regressionskoeffizient $\beta_1 = 0$)“ gegen die Hypothese „die unabhängige Variable hat einen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit des Eintretens des Endpunkts sAKI (Regressionskoeffizient $\beta_1 \neq 0$)“.

Zur Beurteilung der Modellgüte dient unter anderem das Pseudobestimmtheitsmaß R^2 nach Nagelkerke. Es beschreibt den Grad der relativen Anpassung des Modells an die tatsächlichen Daten. R^2 kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei 1 eine perfekte Anpassung und 0 keine Übereinstimmung von Modell und Stichproben bedeutet. Ein R^2 ab 0,2 gilt als akzeptabel, ab 0,4 als gut und ab 0,5 als sehr gut.[96] Um den Zusammenhang zwischen einer unabhängigen Einflussvariablen und dem binären Endpunkt zu beurteilen, werden bei binär logistischen Regressionen Odds Ratios herangezogen. Die Odds Ratio einer unabhängigen Variablen z.B. pNGAL gibt die Veränderung der relativen Wahrscheinlichkeit an, dass der Endpunkt, z.B. sAKI, eintritt, wenn der pNGAL-Spiegel um eine Einheit (in diesem Fall um 100 ng/ml) steigt, unter Voraussetzung, dass alle anderen Variablen im Modell konstant bleiben.[96]

Bei multivariablen binär logistischen Regressionsmodellen können verschiedene Selektionsmethoden zur Aufnahme unabhängiger Variablen in das Modell angewendet werden. In dieser Arbeit wird die Rückwärtsselektion angewendet. Bei der Rückwärtsselektion werden zunächst alle unabhängigen Variablen in das Modell eingeschlossen. Es werden schrittweise nur die Variablen aus dem Modell entfernt, deren Verlust die Prädiktion des Endpunkts am wenigstens verschlechtert. Dies erfolgt solange, bis keine Variable ausgeschlossen werden kann, ohne die Vorhersage deutlich zu verschlechtern.[96]

2.3.2 Area Under the Receiver Operating Characteristic Kurven

Die Receiver Operating Characteristic Kurven (ROC) zeigen Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests an und sind ein Maß für die Fähigkeit eines Tests zwischen Patienten mit Ereignis und ohne Ereignis zu diskriminieren. Die Richtig-positiv-Rate (Sensitivität) und die Falsch-positiv-Rate (1 - Spezifität) verschiedener Cut-Off-Werte werden gegeneinander aufgetragen. Die Fläche unter der Kurve (*Area Under the ROC Curve*, AUC ROC) kann Werte zwischen 0,5 und 1 annehmen, und ist ein Maß für Güte eines Klassifikators. Ein AUC-Wert von 0,5 bedeutet, dass ein Test keinen diagnostischen Nutzen hat, während ein AUC-Wert von 1 einen absolut zuverlässigen Test bezeichnet.

2.3.3 Reklassifikationsstatistiken

Pencina et al. schlugen 2008 die Methoden *Net Reclassification Improvement* (NRI) und *Integrated Discrimination Improvement* (IDI) vor, um den additiven prognostischen Nutzen eines Biomarkers, der zu einem vorhandenen Prädiktionsmodell für ein binäres Outcome hinzugefügt wird, zu quantifizieren [95]. Die NRI erlaubt also die Beurteilung, inwiefern die Erweiterung des konventionellen Modells um einen Biomarker die Risikovorhersage präzisiert. Die NRI stellt eine Reklassifizierung dar, die auf der Einordnung in vordefinierte Risikokategorien beruht. Patienten

mit und ohne Ereignis werden dabei getrennt betrachtet. Für Patienten mit Ereignis (*event*, in diesem Fall sAKI) bedeutet eine Umgruppierung in eine höhere Risikoklasse eine verbesserte Klassifikation (*up*). Entsprechend bedeutet umgekehrt für Patienten ohne Ereignis (*nonevent*, kein sAKI) die Umgruppierung in eine niedrigere Risikoklasse (*down*) eine verbesserte Klassifikation. Die NRI ist ein quantitatives Maß für die Summe der korrekten Bewegungen in den Risikoklassen und lässt sich nach folgender Formel berechnen (P = Anzahl der Patienten in Prozent, modifiziert nach Pencina et al.) [95]:

$$NRI = P_{(up|event)} - P_{(down|event)} + P_{(down|nonevent)} - P_{(up|nonevent)}$$

Die Zuordnung der Patienten in eine Risikoklasse beruhte auf den vorhergesagten Wahrscheinlichkeiten der oben beschriebenen binär logistischen Regression. Die Patienten wurden nach den berechneten Risiken des konventionellen Serumkreatinin-basierten binär logistischen Modells den drei Risikoklassen zugeordnet. Anschließend erfolgt eine erneute Zuordnung aufgrund der vorhergesagten Risikowerte des Biomarker-assistierte binär logistischen Modells. Im Anschluss erfolgt eine Bestimmung der Patienten, die die Risikoklassen wechseln und eine Beurteilung, ob die Patienten mit und ohne Ereignis durch das Biomarkermodell korrekter reklassifiziert wurden (NRI), also eine Verbesserung der Klassifikation durch das Biomarker-assistierte Modell erfahren. Bei der Interpretation der NRI ist zu beachten, dass es sich hierbei nicht um einen Prozentsatz an der Grundgesamtheit handelt, sondern um die Summe zweier Prozentsätze, die sich auf die Patienten mit und ohne Ereignis beziehen.

Zur Ermittlung der IDI wird die Differenz zwischen der Verbesserung der durchschnittlichen Sensitivität und der potenziellen Erhöhung der durchschnittlichen Falsch-Positiv-Rate berechnet. Dafür wird zunächst die Differenz der Integrale der Sensitivität (IS) aller Cut-off-Werte zwischen dem Biomarker- (neu) und dem konventionellen Modell (alt) gebildet. Hiervon wird die Differenz der Integrale der Falsch-positiv-Rate (IP) abgezogen. Es ergibt sich folgende Formel (nach Pencina et al. [95]):

$$IDI = (IS_{neu} - IS_{alt}) - (IP_{neu} - IP_{alt})$$

Die IDI beruht also im Gegensatz zur NRI nicht auf der individuellen Einordnung in Risikokategorien, sondern auf den mittleren geschätzten Risiken durch das konventionelle und das Biomarker-assistierte Modell. Die integrierte Diskrimination wird auch als Differenz von *Discrimination Slopes* bezeichnet.[95]

3. ERGEBNISSE

3.1 Fallzahl

In die VS-NTX-Studie wurden 709 klinisch stabile Nierentransplantatempfänger (≥ 2 Monate nach Transplantation) eingeschlossen, die sich im Zeitraum vom 10.04.2013 bis zum 29.08.2013 ambulant zur Nachsorge in der Transplantationsambulanz der Charité Campus Mitte der Universitätsmedizin Berlin vorstellten. Im Patientenkollektiv kam es über den Beobachtungszeitraum von 13,5 Monaten (10.04.2013 – 11.09.2014) bei 187 Patienten zu insgesamt 279 Fällen ungeplanter Hospitalisierungen an der Charité Campus Mitte.

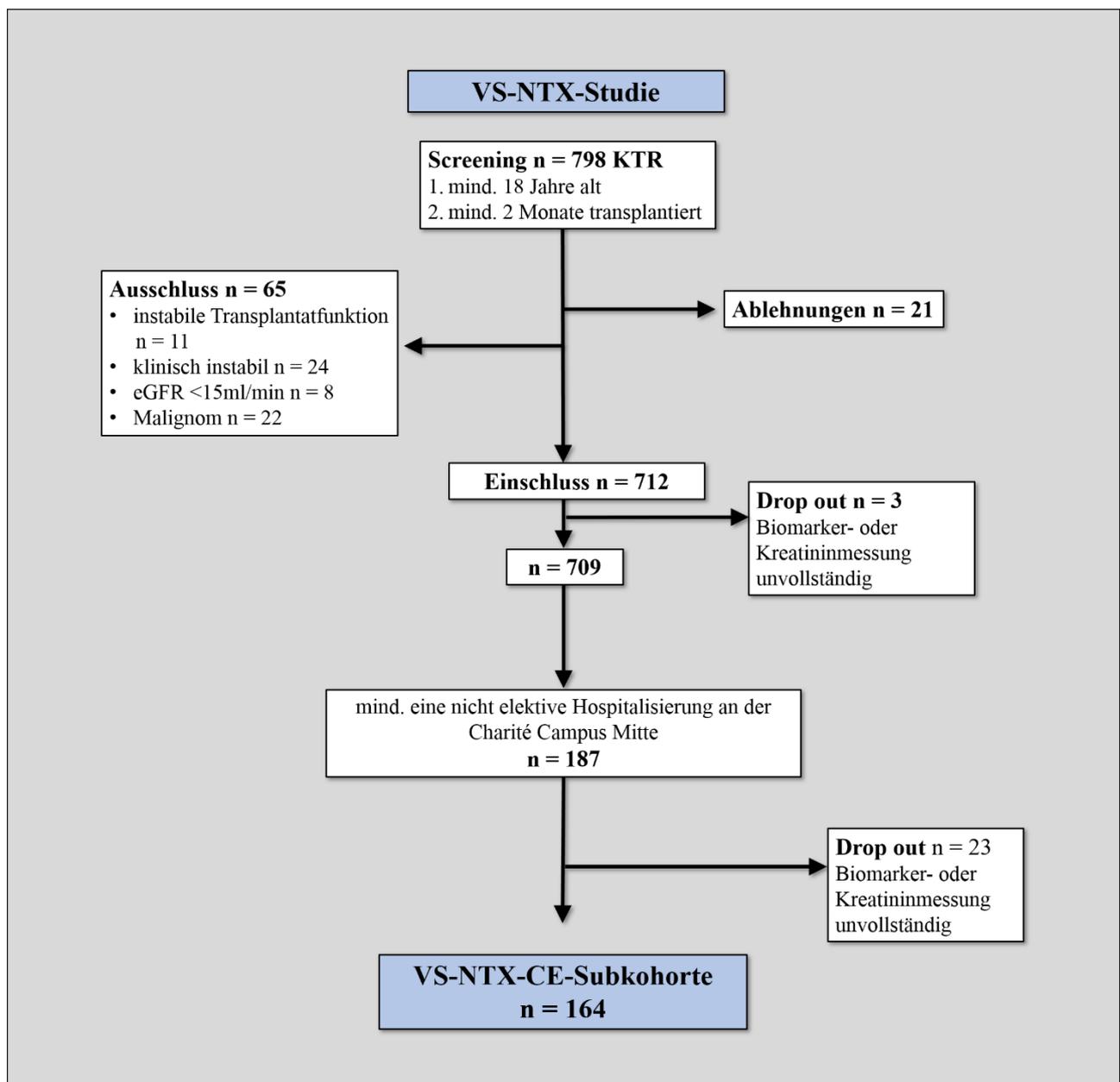


Abbildung b) Studiendesign

Zum Zeitpunkt der Hospitalisierungen wurden Blut- und Urinproben zur NGAL- und Calprotectinbestimmung gesammelt. In der Datenanalyse wurde für jeden Patienten die jeweils erste für pNGAL- uNGAL- und SCr-Bestimmung vollständige Hospitalisierung betrachtet. War die erste stationäre Aufnahme unvollständig bezüglich der Probenasservierung, wurde – falls vorhanden – die zweite stationäre Aufnahme in die Datenanalyse einbezogen, sofern eine vollständige Biomarkerbestimmung erfolgte. Bei 10 Patienten fehlte ersatzlos die Bestimmung des Aufnahmekreatinins. Bei 10 weiteren Patienten fehlte die Bestimmung von pNGAL und bei 3 Patienten die Bestimmung von uNGAL. Diese Patienten wurden von der Analyse ausgeschlossen. Es verblieben 164 Patienten mit ungeplanter Hospitalisierung und vollständiger Biomarkerbestimmung (siehe Abbildung b)).

Die Bestimmung der Calprotectinwerte in Plasma und Urin erfolgte separat und zu einem späteren Zeitpunkt als die NGAL-Bestimmung. Da bei 4 Patienten kein ausreichendes Material für die Calprotectinbestimmung im Plasma zur Verfügung stand, fehlen hier 4 Plasma-Calprotectinwerte (pCalprotectin).

3.2 Patientencharakteristika

In die statistische Analyse wurde jeweils die erste erfasste und für NGAL- und SCr-Werte vollständige stationäre Aufnahme der 164 Patienten einbezogen. 3 der 164 Patienten (1,8 %) verstarben. Weitere 3 Patienten (1,8 %) erlitten einen Tod-zensierten Transplantatverlust. 8 Patienten (4,9 %) bedurften während des Krankenhausaufenthalts einer Nierenersatztherapie. Bei 84 Patienten (51,2 %) trat eine AKI auf. 51 Patienten (31,1 %) entwickelten ein vorübergehendes Nierenversagen (definiert als AKI nach KDIGO [2], die sich innerhalb von 72 h zurückbildet) und 33 (20,1 %) eine sAKI (definiert als AKI nach KDIGO [2], die über mehr als 72 h anhält). 80 Patienten (48,8 %) entwickelten kein Nierenversagen. Patienten mit sAKI waren signifikant häufiger herzinsuffizient (72,7 % vs. 50,4 %) und an einer koronaren Herzkrankheit erkrankt (42,4 % vs. 24,4 %) als Patienten ohne sAKI. Übrige demographische Daten und Komorbiditäten unterschieden sich nicht signifikant. 12 Patienten (7,3 %) entwickelten eine Verschlechterung der Nierenfunktion nach der Aufnahme (WRF, definiert als absoluter Kreatininanstieg von mindestens 0,5 mg/dl innerhalb der ersten 72 h nach Aufnahme). Patienten mit WRF hatten signifikant häufiger eine Koronare Herzerkrankung (58,3 % vs. 25,7 %) (Tabelle 5).

Tabelle 5 Baselinecharakteristika

Charakteristika	alle Patienten n = 164	sAKI		WRF	
		Patienten ohne sAKI n = 131	Patienten mit sAKI n = 33	Patienten ohne WRF n = 152	Patienten mit WRF n = 12
Demographische Daten					
Alter, Median, Jahre (IQR)	58,2 (47,6 - 70,0)	57,5 (46,5 - 69,7)	60,2 (53,4 - 71,2)	57,4 (46,2 - 69,4)	64,2 (51,2 - 70,5)
Frauen, n (%)	64 (39)	52 (39,7)	12 (36,4)	58 (38,2)	6 (50)
Kaukasisch, n (%)	161 (98,2)	129 (98,5)	32 (97)	149 (98)	12 (100)
Grunderkrankung					
Diabetische Nephropathie, n (%)	10 (6,1)	7 (5,3)	3 (9,1)	9 (5,9)	1 (8,3)
Hypertensive Nephropathie, n (%)	18 (11)	13 (9,9)	5 (15,2)	16 (10,5)	2 (16,7)
PKD, n (%)	26 (15,9)	21 (16)	5 (15,2)	24 (15,8)	2 (16,7)
IgA-Nephropathie, n (%)	15 (9,1)	13 (9,9)	2 (6,1)	15 (9,9)	0 (0)
FSGS, n (%)	7 (4,3)	7 (5,3)	0 (0)	7 (4,6)	0 (0)
Anderer Glomerulonephritis, n (%)	24 (14,6)	21 (16)	3 (9,1)	22 (14,5)	2 (16,7)
Anderer Grunderkrankung, n (%)	64 (39)	49 (37,4)	15 (45,5)	59 (38,8)	5 (42)
Komorbiditäten					
Herzinsuffizienz, n (%)	90 (54,9)	66 (50,4)	24 (72,7)*	83 (54,6)	7 (58,3)
Hypertension, n (%)	161 (98,2)	129 (98,5)	32 (97)	149 (98,0)	12 (100)
Diabetes mellitus, n (%)	47 (28,7)	37 (28,2)	10 (30,3)	44 (28,9)	3 (25)
KHK, n (%)	46 (28)	32 (24,4)	14 (42,4)*	39 (25,7)	7 (58,3)*
pAVK, n (%)	15 (9,1)	11 (8,4)	4 (12,1)	15 (9,9)	0 (0)
ZVE, n (%)	16 (9,8)	12 (9,2)	4 (12,1)	15 (9,9)	1 (8,3)

Tabelle 5: IQR = Interquartil-Abstand, FSGS = Fokal segmentale Glomerulosklerose, PKD = Polycystic Kidney Disease (polyzystische Nierenerkrankung), KHK = Koronare Herzkrankheit, pAVK = periphere Arterielle Verschlusskrankheit, ZVE = Zerebrovaskuläre Erkrankung. *p < 0,05 zeigt statistisch signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit sAKI und ohne sAKI, bzw. mit WRF und ohne WRF, berechnet mit Chi-Quadrat-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test, Werte sind auf eine Nachkommastelle gerundet

3.3 Transplantateigenschaften

Tabelle 6 zeigt die Transplantateigenschaften. Patienten mit sAKI hatten signifikant häufiger eine DGF (72,7 % vs. 34,4 %) nach Transplantation. Die Gruppen der Patienten mit WRF und ohne WRF unterschieden sich nicht signifikant in Hinblick auf die Transplantateigenschaften.

Tabelle 6 Transplantateigenschaften

Transplantateigenschaften	alle Patienten n = 164	sAKI		WRF	
		Patienten ohne sAKI n = 131	Patienten mit sAKI n = 33	Patienten ohne WRF n = 152	Patienten mit WRF n = 12
Transplantatalter, Jahre Median, (IQR)	5,2 (1,9 - 10,1)	5,6 (2,1 - 10,8)	3,9 (1,8 - 6,6)	5,3 (1,9 - 10,2)	3,9 (2,0 - 7,1)
Kadaverspende, n (%)***	118 (72)	91 (69,5)	27 (81,8)	108 (71,1)	10 (83,3)
ECD, n (%)***	73 (44,5)	54 (41,2)	19 (57,6)	67 (44,1)	6 (50)
DGF, n (%)***	69 (42,1)	45 (34,4)	24 (72,7)**	61 (40,1)	8 (66,7)
0 HLA-mismatches, n (%)***	21 (12,8)	17 (13)	4 (12,1)	18 (11,8)	3 (25)
1-3 HLA-mismatches, n (%)***	88 (53,7)	70 (53,4)	18 (54,5)	84 (55,3)	4 (33,3)
4-6 HLA-mismatches, n (%)***	49 (29,9)	38 (29)	11 (33,3)	44 (28,9)	5 (41,7)

Tabelle 6: IQR = Interquartil-Abstand, ECD = Extended Criteria Donor (Spender mit erweiterten Kriterien), DGF = Delayed Graft Function (verzögerte Transplantatfunktion), ***fehlende Daten: Kadaverspender 2 (1,2 %), ECD 6 (3,7 %), DGF 4 (2,4 %), HLA 6 (3,7 %), ** $p < 0,001$ zeigt statistisch signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit sAKI und ohne sAKI, bzw. mit WRF und ohne WRF, berechnet mit Chi-Quadrat-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test, Werte sind auf eine Nachkommastelle gerundet

3.4 Hauptdiagnosen bei Krankenhausaufnahme

Mit 74 Fällen (45,1 %) waren akute Infektionen die häufigste Aufnahmediagnose. Unter den Infektionserkrankungen waren Harnwegsinfekte (HWI) mit 26 Fällen (35,1 %) am häufigsten, gefolgt von Pneumonien (n = 17; 22,9 %), bei denen in 9 Fällen (52,9 %) ein bakterieller Erreger nachgewiesen wurde, in 5 Fällen (29,4 %) eine Pilzpneumonie vorlag und in 3 Fällen (17,6 %) kein Erregernachweis gelang. Zweithäufigste Ursache waren unklare Kreatininanstiege oder zunehmende Proteinurie in der Routinekontrolle, die stationär bioptisch abgeklärt werden sollten (n = 24; 14,6%). Weitere 5 Biopsien erfolgten im Verlauf bei abweichender Aufnahmediagnose. Dritthäufigster Aufnahmegrund waren kardiovaskuläre Erkrankungen (n = 18; 11,0 %). Hierunter war die akute kardiale Dekompensation am häufigsten (n = 7; 38,9 %).

Tabelle 7 Hauptdiagnosen bei Krankenhausaufnahme

Hauptdiagnose	alle Patienten n = 164	sAKI		WRF	
		Patienten ohne sAKI n = 131	Patienten mit sAKI n = 33	Patienten ohne WRF n = 152	Patienten mit WRF n = 12
Akute Infektionen	74 (45,1)	57 (43,5)	17 (51,5)	66 (43,4)	8 (66,7)
HWI n (%)	26 (15,9)	19 (14,5)	7 (21,2)	23 (15,1)	3 (25)
Zystennfekt n (%)	3 (1,8)	3 (2,3)	0 (0)	3 (2)	0 (0)
Pneumonie n (%)	17 (10,4)	12 (9,2)	5 (15,2)	13 (8,6)	4 (33,3)*
Infektiöse Colitis n (%)	9 (5,5)	9 (6,9)	0 (0)	9 (5,9)	0 (0)
Divertikulitis n (%)	3 (1,8)	3 (2,3)	0 (0)	3 (2)	0 (0)
CMV-Infektion n (%)	4 (2,4)	4 (3,1)	0 (0)	4 (2,6)	0 (0)
Anderere Infektionen n (%)	12 (7,3)	7 (5,3)	5 (15,2)	11 (7,2)	1 (8,3)
Kardiale Erkrankungen	18 (11)	12 (18,2)	6 (18,2)	15 (9,9)	3 (25)
Kardiale Dekompensation n (%)	7 (4,3)	3 (2,3)	4 (12,1)	5 (3,3)	2 (16,7)*
KHK n (%)	6 (3,7)	6 (4,6)	0 (0)	6 (3,9)	0 (0)
HRS n (%)	3 (1,8)	3 (2,3)	0 (0)	3 (2)	0 (0)
Herzklappenerkrankung n (%)	2 (1,2)	0 (0)	2 (6,1)*	1 (0,7)	1 (8,3)*
Sonstige Erkrankungen	13 (7,9)	9 (6,9)	4 (12,1)	13 (8,6)	0 (0)
Malignom n (%)	3 (1,8)	2 (1,5)	1 (3)	3 (2)	0 (0)
Harnstau n (%)	4 (2,4)	2 (1,5)	2 (6,1)	4 (2,6)	0 (0)
Stoffwechselförderung n (%)	4 (2,4)	3 (2,3)	1 (3)	4 (2,6)	0 (0)
Akute Blutung n (%)	2 (1,2)	2 (1,5)	0 (0)	2 (1,3)	0 (0)
Primär renale Erkrankungen	24 (14,6)	19 (14,2)	5 (15,1)	24 (15,8)	0 (0)
CNI-Toxizität n (%)	11 (6,7)	10 (7,6)	1 (3)	11 (7,2)	0 (0)
Rekurrenz der Grunderkrankung n(%)	1 (0,6)	1 (0,8)	0 (0)	1 (0,7)	0 (0)
Zelluläre Rejektion n(%)	4 (2,4)	2 (1,5)	2 (6,1)	4 (2,6)	0 (0)
Chronische Tx-Nephropathie n (%)	2 (1,2)	1 (0,8)	1 (3)	2 (1,3)	0 (0)
Hypertensive Tx-Schädigung n(%)	1 (0,6)	1 (0,8)	0 (0)	1 (0,7)	0 (0)
Diabetische Nephropathie des Tx n(%)	2 (1,2)	2 (1,5)	0 (0)	2 (0,7)	0 (0)
Glomerulonephritis des Tx n(%)	3 (1,8)	2 (1,5)	1 (3)	3 (2)	0 (0)
Sonstige	35 (21,3)	34 (26)	1 (3)	35(23)	0(0)

Tabelle 7: IQR = Interquartil-Abstand, HWI = Harnwegsinfekt, KHK = Koronare Herzkrankheit, HRS = Herzrhythmusstörungen, CNI = Calcineurin-Inhibitor, Tx = Transplantat, *p < 0,05 zeigt statistisch signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit sAKI und ohne sAKI, bzw. WRF und ohne WRF, berechnet mit Chi-Quadrat-Test, keine Mehrfachnennung, Prozentwerte sind auf eine Nachkommastelle gerundet

Tabelle 7 zeigt die Hauptdiagnosen bei Aufnahme und ihre Häufigkeiten. Patienten mit sAKI wurden signifikant häufiger aufgrund einer Herzklappenerkrankung hospitalisiert. In der Gruppe der Patienten mit WRF kamen die Aufnahmediagnosen Pneumonie, kardiale Dekompensation und Herzklappenerkrankung signifikant häufiger vor.

3.5 Aufnahmeparameter

In Tabelle 8 sind die Laborparameter bei Aufnahme gezeigt. Patienten mit sAKI hatten signifikant höhere Harnstoffwerte als Patienten ohne sAKI. Bezüglich des Endpunkts WRF waren die CRP-Werte signifikant höher als bei Patienten ohne WRF.

Tabelle 8 Laborparameter bei Krankenhausaufnahme

Laborparameter bei Aufnahme	Alle Patienten n = 164	sAKI		WRF	
		Patienten ohne sAKI n = 131	Patienten mit sAKI n = 33	Patienten ohne WRF n = 152	Patienten mit WRF n = 12
Harnstoff bei Aufnahme, mg/dl, Median (IQR) ***	73 (46 - 115)	67 (42,5 - 104)	110 (76,8 - 139,3)**	72 (45 - 115)	103,5 (79,7 - 116,3)
Leukozyten im Serum, per nl, Median (IQR) ***	7,8 (6,0 - 10,7)	7,8 (6,1 - 10,7)	7,8 (5,9 - 11,6)	7,8 (5,9 - 10,7)	8,4 (7,4 - 13,2)
C-reaktives Protein, mg/l, Median (IQR) ***	14 (4,0 - 64,2)	12,3 (3,8 - 55,3)	27,5 (5,1 - 106,8)	12,3 (3,5 - 60,9)	65,4 (30,9 - 257,1)*
Leukozyten im Urin, Median (IQR) ***	0 (0 - 2,25)	0 (0 - 2)	1 (0 - 3)	0 (0 - 2,25)	0 (0 - 2,75)
Protein im Urin, Median (IQR) ***	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	2 (0 - 3)	1 (0 - 2)	1 (0 - 1,75)

Tabelle 8: IQR = Interquartil-Abstand, Leukozyten im Urin: Zellzahl/ μ l, 0 = negativ, 1 = Spur, 2 \geq 70, 3 \geq 125, 4 \geq 500, Protein im Urin: mg/dl 0 = negativ, 1 = Spur, 2 \geq 30, 3 \geq 100, 4 \geq 300, 5 \geq 1000, * p < 0,05, ** p < 0,001 zeigen statistisch signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit sAKI und ohne sAKI, bzw. mit WRF und ohne WRF, berechnet mit Mann-Whitney-U-Test, ***fehlende Daten: Harnstoff 7 (4,3 %), Leukozyten im Serum 3 (1,8 %), C-reaktives Protein 17 (10,4 %), Leukozyten im Urin 10 (6,1 %), Protein im Urin 9 (5,5 %), Werte sind auf eine Nachkommastelle gerundet

Tabelle 9 zeigt die Baseline-Werte ($_{BL}$) der Nierenparameter und die Messwerte bei Aufnahme ($_{A}$). Die Baselinewerte von SCr wurden anhand der ambulanten Routinevorwerte adjudiziert. Die Baselinewerte von uNGAL und pNGAL sowie pCalprotectin und uCalprotectin wurden durch Mittelwertbildung der ambulanten Vorwerte aus der VS-NTX-Studie berechnet. Alle Baseline-Werte unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Patienten mit sAKI und Patienten ohne sAKI. Gleiches gilt für den Vergleich zwischen Patienten mit und ohne WRF. Die $eGFR_{BL}$ nach der *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* (CKD EPI) war bei Patienten mit WRF signifikant niedriger.

Tabelle 9 Biomarkerwerte bei Krankenhausaufnahme (A) und Vorwerte (BL)

Biomarkerwerte	Alle Patienten n = 164		sAKI		WRF	
	Patienten ohne sAKI n = 131		Patienten mit sAKI n = 33		Patienten ohne WRF n = 152	
pNGAL _{BL} , ng/ml, Median (IQR)	164,9 (43,4 - 224,8)	144 (45,5 - 225,3)	118,3 (29,3 - 243,5)		138,5 (46,3 - 222,4)	111,7 (16,8 - 325,5)
pNGAL _A , ng/ml, Median (IQR)	286,5 (196,5 - 409,8)	275 (193 - 363)	332,0 (247,5 - 633,0)*		278,5 (193,5 - 378,8)	395,0 (305,0 - 639,0)*
uNGAL _{BL} , ng/ml, Median (IQR)	39,1 (19,9 - 100)	39,0 (19,8 - 91,2)	46,2 (20,9-116,6)		39,1 (19,9 - 97,7)	45,8 (16,8 - 170,5)
uNGAL _A , ng/ml, Median (IQR)	64,5 (22,3 - 234)	62,0 (22,0 - 199,0)	157,0 (21,5-831)		64,5 (24,0 - 224)	110,0 (2,8 - 868,0)
pCaprotectin _{BL} , ng/ml, Median (IQR)	710,5 (431,9 - 1191,1)	701,3 (436,1 - 1056,5)	729,1 (384,8 - 1433,6)		704,5 (431,9 - 1157,3)	727,5 (430,5 - 1440,3)
pCalprotectin _A , ng/ml, Median (IQR)	862,0 (396,5 - 2267,6)	800,5 (390,0 - 2074,2)	2244,1 (802,9 - 4162,9)*		886,2 (395,1 - 2501,1)	1963,0 (805,5 - 3013,2)
uCalprotectin _{BL} , ng/ml, Median (IQR)	57,5 (14,5 - 453,2)	60,8 (14,0 - 438,6)	46,5 (16,3 - 556,3)		57,5 (13,5 - 453,2)	69,4 (25,8 - 892,9)
uCalprotectin _A , ng/ml, Median (IQR)	107,4 (20,3 - 524,7)	192,6 (19,5 - 495,9)	120,3 (33,1 - 717,3)		112,0 (20,6 - 540,0)	102,9 (13,9 - 294,4)
SCr _{BL} , mg/dl, Median (IQR)	1,8 (1,3 - 2,2)	1,7 (1,3 - 2,2)	1,9 (1,4 - 2,5)		1,7 (1,3 - 2,2)	2,0 (1,7 - 2,5)
eGFR _{BL} nach CKD EPI ml/min, Median (IQR)	37,6 (27,8 - 51,7)	38,5 (28,9-53,1)	33,7 (24,2 - 51,2)		38,7 (28,8 - 53,3)	28,2 (24,2 - 34,2)*
SCr _A , mg/dl, Median (IQR)	2,1 (1,6 - 2,7)	2,0 (1,5 - 2,5)	2,4 (2,0 - 4,2)**		2,1 (1,5 - 2,6)	2,4 (1,8 - 3,3)
eGFR _A nach CKD EPI ml/min, Median (IQR)	30,7 (21,4 - 44,3)	34,7 (23,8 - 46,0)	21,3 (14,1 - 29,3)**		33,0 (22,2 - 44,6)	24,2 (16,8 - 31,5)*

Tabelle 9: pNGAL_{BL} = Plasma-NGAL-Baseline, pNGAL_A = Plasma-NGAL bei Aufnahme, uNGAL_{BL} = Urin-NGAL-Baseline, uNGAL_A = Urin-NGAL bei Aufnahme, pCalprotectin_{BL} = Plasmacalprotectin-Baseline, pCalprotectin_A = Plasmacalprotectin bei Aufnahme, uCalprotectin_{BL} = Urincalprotectin-Baseline, uCalprotectin_A = Urincalprotectin bei Aufnahme, eGFR_{BL} = geschätzte Baseline glomeruläre Filtrationsrate nach Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD EPI), eGFR_A = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate nach CKD EPI bei Aufnahme, IQR = Interquartil-Abstand, *p < 0,05, **p < 0,001 zeigen statistisch signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit sAKI und ohne sAKI bzw. mit WRF und ohne WRF, berechnet mit Mann-Whitney-U-Test, ***fehlende Daten: pCalprotectin_A 4 (2,4 %), Werte sind auf eine Nachkommastelle gerundet

Die $eGFR_A$ war sowohl bei der WRF-Gruppe als auch bei der sAKI-Gruppe signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe. Die SCr_A -Werte bei Aufnahme waren bei Patienten mit sAKI signifikant höher als bei Patienten ohne sAKI (2,4 mg/dl vs. 2 mg/dl). Bei Patienten mit WRF und ohne WRF zeigten sich keine signifikanten Unterschiede unter den Serumkreatininwerten bei Aufnahme (Abbildung c)).

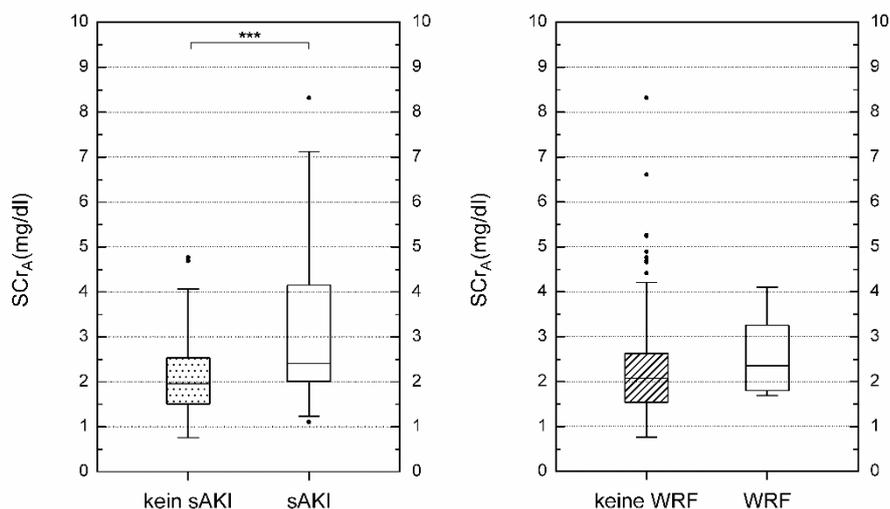


Abbildung c) Verteilung der Serumkreatininwerte †

Patienten mit sAKI und Patienten mit WRF hatten signifikant höhere pNGAL-Werte bei Aufnahme, als Patienten ohne sAKI bzw. WRF (332 ng/ml vs. 275 ng/ml bzw. 395 ng/ml vs. 278,5 ng/ml, Abbildung d)).

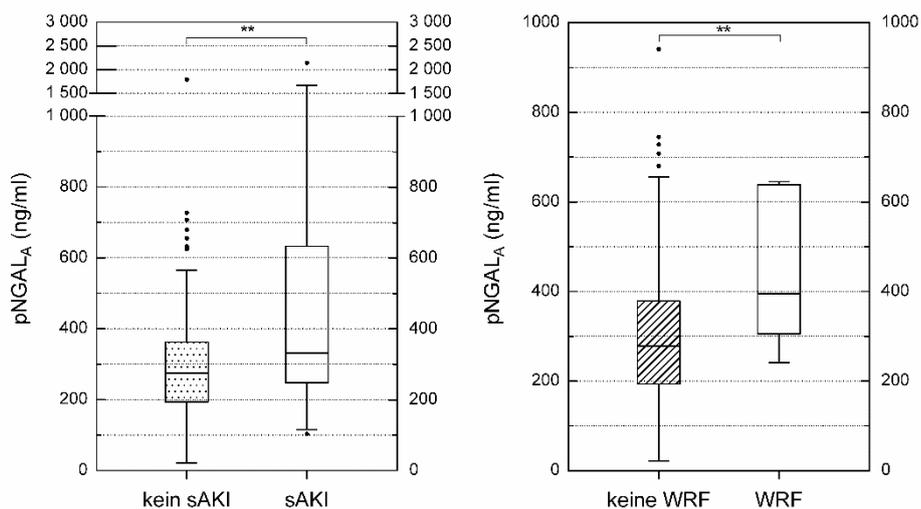


Abbildung d) Verteilung der Plasma-NGAL-Werte †

Die uNGAL-Werte bei Einschluss unterschieden sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen (Abbildung e)).

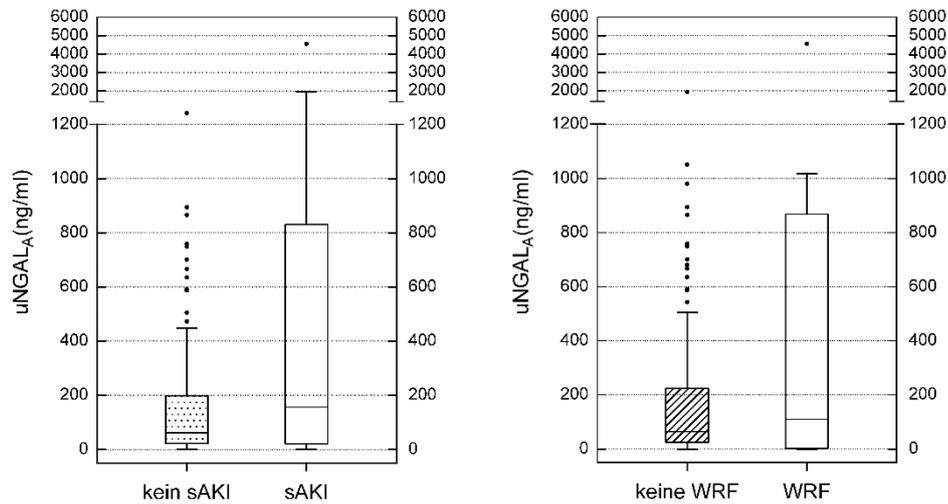


Abbildung e) Verteilung der Urin-NGAL-Werte †

Die pCalprotectinwerte bei Aufnahme waren in der Gruppe von Patienten mit sAKI signifikant höher als bei Patienten ohne sAKI (729,1 ng/ml vs. 701,3 ng/ml, Abbildung f)).

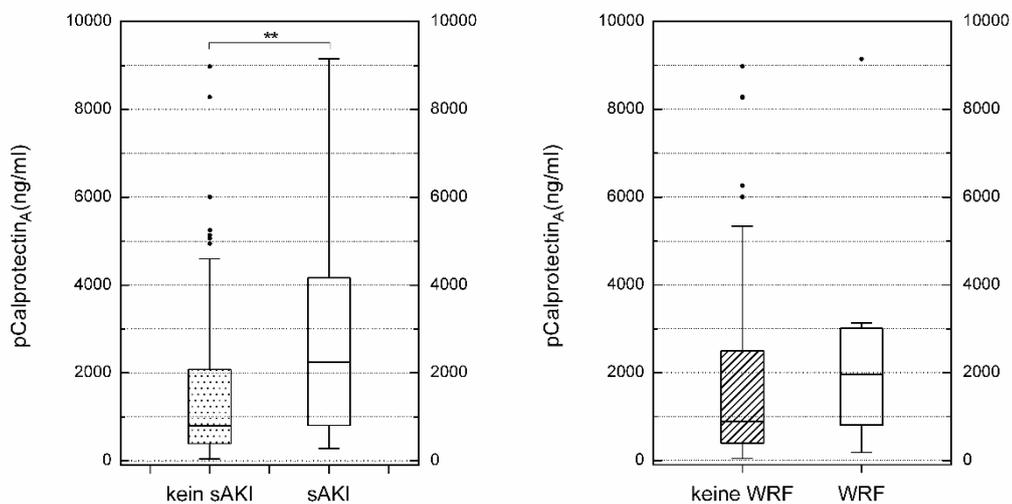


Abbildung f) Verteilung der Plasma -Calprotectinwerte †

Die uCalprotectin-Werte bei Einschluss unterschieden sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen (Abbildung g)).

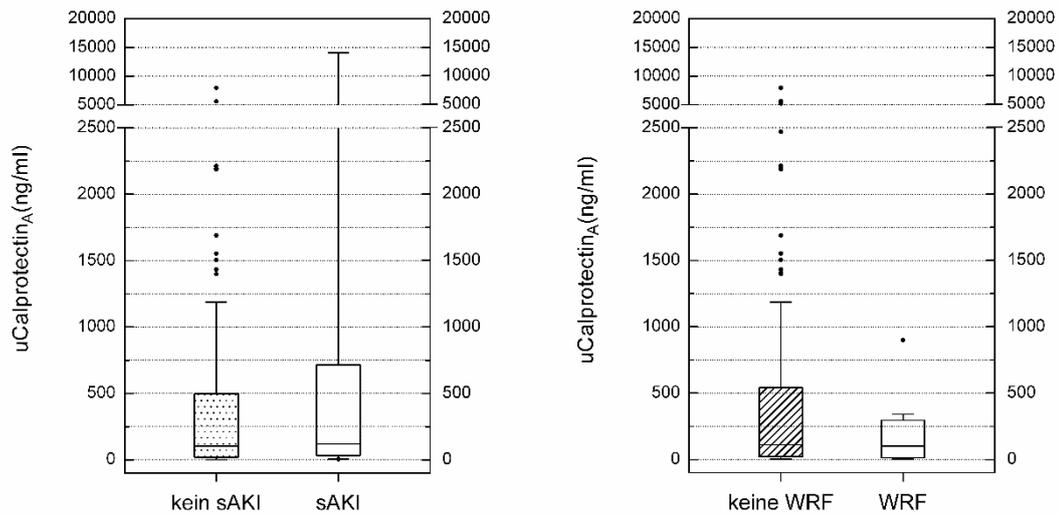


Abbildung g) Verteilung der Urin-Calprotectin-Werte †

†**Abbildungen c)-g)** Box plots der Biomarker-Konzentrationen bei Patienten mit sAKI und ohne sAKI, bzw. mit WRF und ohne WRF, die Boxen zeigen den Median, das 25-Prozent- und das 75-Prozent-Quartil an, die Whiskers präsentieren den höchsten und niedrigsten Wert innerhalb des 1,5-fachen IQR, die Kreise präsentieren Ausreißer c) zeigt die Verteilung der Serumkreatinin-Konzentrationen, d) zeigt die Verteilung von pNGAL, e) zeigt die Verteilung von uNGAL, f) zeigt die Verteilung von pCalprotectin, g) zeigt die Verteilung von uCalprotectin bei Aufnahme, *zeigt signifikante Gruppenunterschiede $p < 0,05$, **zeigt signifikante Gruppenunterschiede $p < 0,01$, ***zeigt signifikante Gruppenunterschiede $p < 0,0001$, berechnet mit Mann-Whitney-U-Test

3.6 Testcharakteristika der Biomarker

3.6.1 Area Under the Receiver Operating Characteristic Kurven

Für die Biomarker SCr, pNGAL, uNGAL und pCalprotectin sowie uCalprotectin wurden *Receiver Operating Characteristics* (ROC) bestimmt.

Die Abbildung h) zeigt ROC-Kurven der Biomarker für den Endpunkt sAKI.

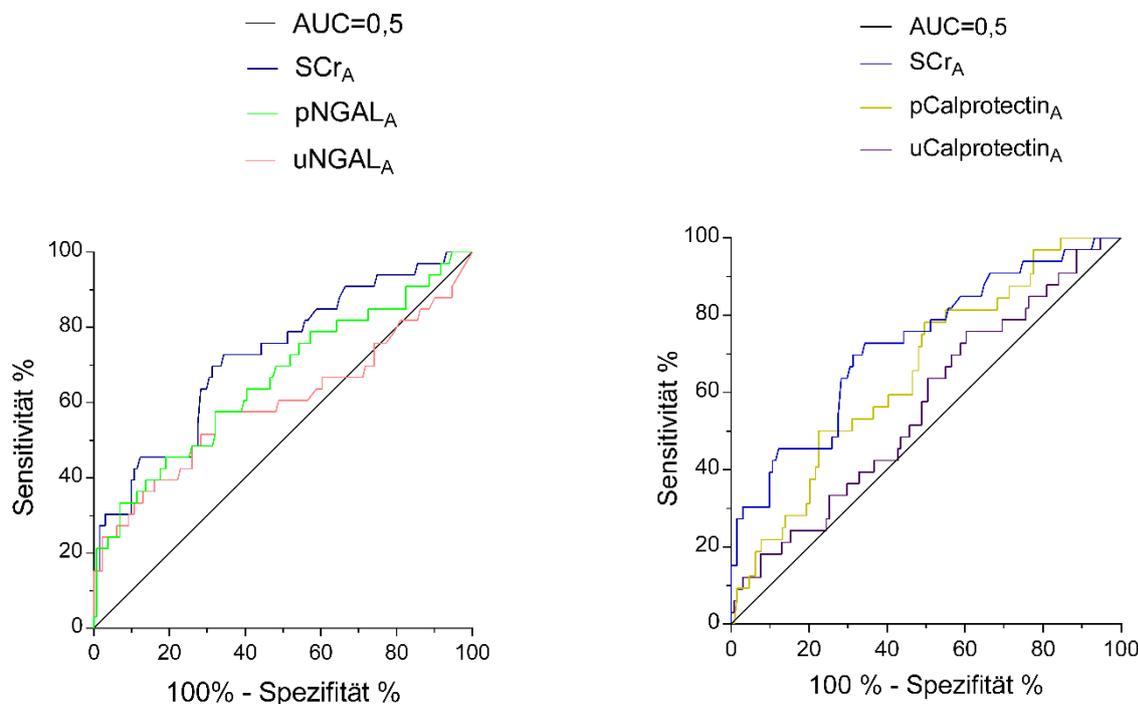


Abbildung h) ROC-Kurven für sAKI

Die ROC-Analysen ergeben eine mäßige Unterscheidungsfähigkeit zwischen sAKI und kein sAKI für SCr mit einer AUC ROC von 0,72 und eine allenfalls mäßige Unterscheidungsfähigkeit für pNGAL und pCalprotectin mit einer AUC ROC von jeweils 0,66. uNGAL (AUC ROC 0,60) und uCalprotectin (AUC ROC 0,56) besitzen keine signifikante Unterscheidungsfähigkeit. (Tabelle 10).

Tabelle 10 AUC ROC für sAKI

Biomarker	AUC ROC (CI)	P
SCr _A	0,72 (0,62 - 0,82)	< 0,0001*
pNGAL _A	0,66 (0,55 - 0,77)	< 0,005*
uNGAL _A	0,60 (0,47 - 0,72)	0,09033
pCalprotectin _A	0,66 (0,55 - 0,76)	0,007*
uCalprotectin _A	0,56 (0,44 - 0,67)	0,328

Tabelle 10: CI = 95%-Konfidenzintervall, *zeigt signifikante Unterschiede zwischen AUC ROC der Biomarker und AUC = 0,5

Abbildung i) zeigt die ROC der Biomarker für den Endpunkt WRF.

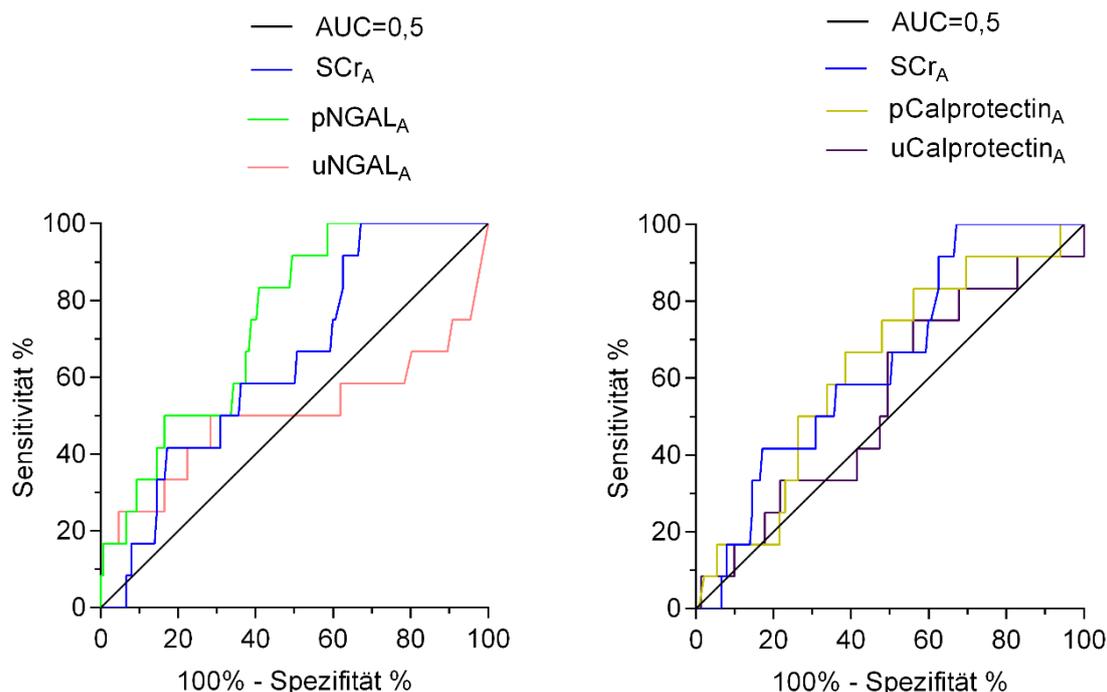


Abbildung i) ROC-Kurven für WRF

Die ROC-Analysen für den Endpunkt WRF vs. keine WRF ergaben eine mäßige bis gute Diskriminierungsfähigkeit für den Biomarker pNGAL (AUC ROC 0,75), eine allenfalls mäßige Unterscheidungsfähigkeit für SCr und pCalprotectin (AUC ROC 0,64 und 0,63) und keine Diskriminierungsfähigkeit für die Biomarker uNGAL und uCalprotectin (AUC ROC 0,5 und 0,45) (Tabelle 11).

Tabelle 11 AUC ROC für WRF

Biomarker	AUC ROC (CI)	p
SCr _A	0,64 (0,51 - 0,78)	0,098
pNGAL _A	0,75 (0,63 - 0,86)	0,005*
uNGAL _A	0,50 (0,28 - 0,73)	0,99
pCalprotectin _A	0,63 (0,48 - 0,78)	0,14
uCalprotectin _A	0,45 (0,29 - 0,62)	0,59

Tabelle 11: CI = 95%-Konfidenzintervall, *zeigt signifikante Unterschiede zwischen AUC ROC der Biomarker und AUC ROC = 0.5

3.6.2 Vorhersagewerte und Wahrscheinlichkeitsverhältnisse der Biomarker

Die Biomarker pNGAL und pCalprotectin waren in der Gruppe der Patienten, die eine sAKI entwickelten, signifikant höher, als bei Patienten ohne sAKI.

Tabelle 12 zeigt Testcharakteristika für sAKI bei verschiedenen pNGAL- und pCalprotectin-Cut-off-Werten.

Die Cut-off-Werte wurden anhand der 10., 25., 75. und 90. Perzentile und des Medians des Biomarkerniveaus des gesamten Patientenkollektivs gewählt. Zur Ermittlung des Trennwerts mit den besten Testcharakteristika wurde der Youdenindex (J) herangezogen:

$$J = \text{Maximum} (\text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1)$$

Der maximale Youdenindex kann zwischen 0 und 1 liegen. Werte nahe 1 bedeuten eine hohe Vorhersagekraft durch den Biomarker, Werte nahe 0 zeigen eine begrenzte Aussagekraft an.

Tabelle 12 Testcharakteristika für sAKI

Biomarker	Cut-off-Wert	Sensitivität (CI)	Spezifität (CI)	PPW (CI)	NPW (CI)	+LR (CI)	-LR (CI)
pNGAL _A	> 138 ng/ml	0,94 (0,80 - 0,99)	0,10 (0,05 - 0,16)	0,21 (0,15 - 0,28)	0,87 (0,60 - 0,98)	1,04 (0,94 - 1,16)	0,61 (0,15 - 2,58)
	> 197 ng/ml	0,85 (0,68 - 0,95)	0,27 (0,2 - 0,36)	0,23 (0,16 - 0,31)	0,88 (0,74 - 0,96)	1,17 (0,98 - 1,4)	0,55 (0,24 - 1,30)
	> 287 ng/ml	0,64 (0,45 - 0,80)	0,53 (0,45 - 0,62)	0,26 (0,17 - 0,36)	0,85 (0,76 - 0,92)	1,37 (1,00 - 1,88)	0,68 (0,42 - 1,10)
	> 410 ng/ml	0,45 (0,28 - 0,64)	0,8 (0,72 - 0,87)	0,37 (0,22 - 0,53)	0,85 (0,78 - 0,91)	2,29 (1,38 - 3,81)	0,68 (0,49 - 0,94)
	> 567 ng/ml*	0,33 (0,18 - 0,52)	0,93 (0,87 - 0,97)	0,55 (0,3 - 0,77)	0,85 (0,78 - 0,90)	4,85 (2,19 - 10,73)	0,72 (0,56 - 0,91)
	> 628 ng/ml	0,24 (0,11 - 0,42)	0,94 (0,88 - 0,97)	0,50 (0,25 - 0,75)	0,83 (0,76 - 0,89)	3,97 (1,61 - 9,79)	0,81 (0,66 - 0,98)
pCalprotectin _A	> 249 ng/ml	1,00 (0,89 - 1,00)	0,12 (0,07 - 0,19)	0,22 (0,15 - 0,29)	1,00 (0,79 - 1,00)	1,14 (1,07 - 1,22)	0
	> 397 ng/ml	0,87 (0,7 - 0,96)	0,26 (0,19 - 0,35)	0,22 (0,15 - 0,31)	0,89 (0,75 - 0,97)	1,18 (1,00 - 1,40)	0,49 (0,19 - 1,28)
	> 862 ng/ml	0,71 (0,52 - 0,86)	0,52 (0,43 - 0,61)	0,26 (0,17 - 0,37)	0,88 (0,79 - 0,94)	1,48 (1,11 - 1,97)	0,56 (0,32 - 0,99)
	> 2242 ng/ml*	0,52 (0,33 - 0,70)	0,78 (0,69 - 0,84)	0,36 (0,22 - 0,51)	0,87 (0,79 - 0,93)	2,30 (1,44 - 3,67)	0,6 (0,43 - 0,91)
	> 2268 ng/ml	0,48 (0,30 - 0,67)	0,78 (0,69 - 0,84)	0,34 (0,20 - 0,5)	0,86 (0,79 - 0,92)	2,15 (1,33 - 3,50)	0,67 (0,47 - 0,95)
	> 5937 ng/ml	0,19 (0,07 - 0,37)	0,92 (0,86 - 0,96)	0,38 (0,15 - 0,65)	0,83 (0,75 - 0,88)	2,5 (0,98 - 6,35)	0,87 (0,73 - 1,05)

Tabelle 12: Testcharakteristika mit 95%-Konfidenzintervall von pNGAL_A und pCalprotectin_A für die Prädiktion von sAKI bei verschiedenen Cut-Off-Werten, PPW = positiv prädiktiver Wert, NPW = negativ prädiktiver Wert, +LR = positive Likelihood-Ratio, -LR = negative Likelihood-Ratio, CI = 95 %-Konfidenzintervall, *bester Cut-off nach Youden-Index ($J_{pNGAL_A} = 0,27$, $J_{pCalprotectin_A} = 0,29$)

Ein pNGAL-Cut-off von 138 ng/ml hat eine relativ hohe Sensitivität von 0,94 bei einem akzeptablen NPW von 0,87. für das Outcome sAKI. So kann bei einem pNGAL-Wert unter

138 ng/ml eine sAKI mit einer akzeptablen Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Ein pCalprotectin-Wert unter 249 ng/ml schließt eine sAKI nahezu sicher aus (Sensitivität = 1,00, NPW = 1,00, -LR = 0). Mit Hilfe des Youden-Index konnte für pNGAL der Trennwert 567 ng/ml mit den besten Testeigenschaften ermittelt werden mit einer Spezifität von 0,93 und einer akzeptablen positiven Likelihood-Ratio von 4,85 in der Diagnose einer sAKI auf. Patienten mit pNGAL-Werten über 567 ng/ml bei Aufnahme haben also ein erhöhtes Risiko für eine sAKI, während Patienten mit Werten unter 567 ng/ml mit moderater Wahrscheinlichkeit keine sAKI entwickeln werden (NPW = 0,85). Der beste Trennwert für pCalprotectin von 2242 ng/ml erzielt eine Spezifität von 0,78 bei einer positiven Likelihood-Ratio von 2,3 in der Diagnose einer sAKI. Patienten aus der Gruppe, die eine WRF entwickelten, hatten signifikant höhere pNGAL-Level verglichen mit Nierentransplantierten, die keine WRF erlitten. Bezogen auf die übrigen Biomarker-Level unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant. Da pNGAL sich am ehesten für die Prädiktion einer WRF eignet, sind in Tabelle 13 die Testcharakteristika für die verschiedenen pNGAL-Cut-off-Werte dargestellt, ebenfalls orientiert an der 10., 25., 75. und 90. Perzentile und des Medians des Biomarkerniveaus des Gesamtkollektivs und des mittels Youden-Index berechneten besten Trennwerts.

Tabelle 13 Testcharakteristika für WRF

Biomarker	Cut-off-Wert	Sensitivität (CI)	Spezifität (CI)	PPW (CI)	NPW (CI)	+LR (CI)	-LR (CI)
pNGAL _A	> 138 ng/ml	1,00 (0,74 - 1,00)	0,10 (0,06 - 0,16)	0,08 (0,04 - 0,14)	1,00 (0,78 - 1,00)	1,11 (1,05 - 1,17)	0
	> 197 ng/ml	1,00 (0,74 - 1,00)	0,27 (0,2 - 0,35)	0,1 (0,05 - 0,16)	1,0 (0,91 - 1,00)	1,37 (1,24 - 1,5)	0
	> 287 ng/ml	0,83 (0,52 - 0,98)	0,53 (0,44 - 0,61)	0,12 (0,06 - 0,21)	0,98 (0,91 - 1,00)	1,76 (1,3 - 2,4)	0,32 (0,09 - 1,13)
	> 301 ng/ml*	0,83 (0,52 - 0,98)	0,59 (0,51 - 0,67)	0,14 (0,07 - 0,24)	0,98 (0,92 - 1,00)	2,04 (1,49 - 2,81)	0,28 (0,08 - 1,00)
	> 410 ng/ml	0,5 (0,21 - 0,79)	0,77 (0,69 - 0,83)	0,15 (0,06 - 0,29)	0,95 (0,9 - 0,98)	2,2 (1,15 - 4,1)	0,65 (0,37 - 1,2)
	> 628 ng/ml	0,25 (0,06 - 0,57)	0,91 (0,86 - 0,95)	0,19 (0,04 - 0,46)	0,94 (0,89 - 0,97)	2,9 (0,96 - ,86)	0,82 (0,59 - 1,14)

Tabelle 13: Testcharakteristika mit 95%-Konfidenzintervall von pNGAL_A für die Prädiktion einer WRF bei verschiedenen Cut-off-Werten, PPW = positiv prädiktiver Wert, NPW = negativ prädiktiver Wert, +LR = positive Likelihood-Ratio, -LR = negative Likelihood-Ratio, CI = 95 %-Konfidenzintervall, *bester Cut-off nach Youden-Index ($J_{pNGAL} = 0,43$), Werte auf 2 Nachkommastellen gerundet

Ein Trennwert von 197 ng/ml besitzt für den Endpunkt WRF einen NPW von 1,00. Patienten mit pNGAL-Werten unter diesem Cut-off entwickeln also mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit keine WRF.

3.7. Prädiktionsmodelle für anhaltende Nierenschädigung (sAKI)

Zur Identifikation unabhängiger Prädiktoren für den Endpunkt sAKI wurden zunächst univariable binär-logistische Regressionsanalysen durchgeführt. Variablen, die in der univariablen Regression signifikant mit dem Endpunkt sAKI assoziiert waren, wurden in einer multivariablen Regression weiter untersucht.

Als unabhängige Variablen wurden demografische Daten, Komorbiditäten, Nierenfunktionsparameter und Laborparameter bei Einschluss in die univariable Regression einbezogen.

Die p-Werte der z-Tests der jeweiligen Variablen sind in Tabelle 14 dargestellt (Signifikanzniveau 0,05).

Tabelle 14 Ergebnisse der univariablen binär logistischen Regressionsmodelle

Unabhängige Variablen	p-Wert sAKI	p-Wert WRF
Alter	0,359	0,297
weibliches Geschlecht	0,726	0,422
Diabetes mellitus	0,815	0,771
arterieller Hypertonus	0,572	0,999
Koronare Herzkrankheit	< 0,05*	< 0,05*
pAVK	0,51	0,999
Herzinsuffizienz	< 0,05*	0,803
Zerebrovaskuläre Erkrankung	0,61	0,863
pNGAL _A	< 0,01*	< 0,01*
uNGAL _A	< 0,05*	< 0,05*
pCalprotectin _A	0,051	0,316
uCalprotectin _A	0,177	0,092
Serumkreatinin _A	< 0,0001*	0,298
Harnstoff	< 0,001*	0,164
Leukozyten im Serum	0,329	0,372
CRP	0,088	< 0,01*

Tabelle 14: *zeigt unabhängige Variablen, die signifikant mit den Endpunkten sAKI und/oder WRF assoziiert sind

Variablen, die signifikant mit dem klinischen Endpunkt assoziiert waren ($p < 0,05$), wurden in eine multivariable binär-logistische Regression einbezogen. Zur Entwicklung eines klinischen Prädiktionsmodells wurde die schrittweise Rückwärtselektion eingesetzt.

Auf diese Weise wurde zunächst ein konventionelles Modell zur Vorhersage von sAKI entwickelt. Adjustiert für Harnstoff und die Komorbiditäten Herzinsuffizienz und Koronare Herzerkrankung verblieb SCr als signifikante Einflussgröße im Prädiktionsmodell. Die Biomarker pNGAL und

uNGAL wurden jeweils zu dem konventionellen Modell hinzugefügt. Anschließend wurde das konventionelle Modell mit den NGAL-assistierten Modellen verglichen. Die Anpassungsgüte der Modelle wurde an folgenden Parametern beurteilt: R^2 und AUC ROC.

R^2 nach Nagelkerke beschreibt den Grad der relativen Anpassung des Modells an die beobachteten Stichprobenwerte. Die Zahlenwerte sind als Prozentanteile zu interpretieren: Während das konventionelle Modell 20,1 % der Daten abbildet, bildet das NGAL-assistierte Modell 24,1 % der Daten ab. Die Modellgüte des konventionellen Modells ist nach R^2 nach Nagelkerke daher grenzwertig, das Biomarker-Modell akzeptabel.

Sowohl das Biomarker-Modell als Ganzes ($p < 0,000001$) als auch die Koeffizienten der beiden unabhängigen Variablen pNGAL ($p < 0,05$) und SCr ($p < 0,01$) sind signifikant. Die Odds Ratio besagt, dass eine Erhöhung des pNGAL_A-Spiegels um 100 ng/ml die relative Wahrscheinlichkeit für eine sAKI um 16,5 % erhöht. Die Hinzunahme von pNGAL in das Modell trug zudem zur Erhöhung der AUC bei (Tabelle 15).

Tabelle 15 Vergleich der Prädiktionsmodelle für sAKI

	p-Wert	Odds-Ratio	R^2 nach Nagelkerke	AUC ROC (CI)
Konventionelles Modell: Serumkreatinin _A	< 0,0001	2,331	0,201	0,72 (0,62 - 0,82)
Biomarker-Modell: Serumkreatinin _A , pNGAL _A /100*	< 0,01 < 0,05	2,071 1,165	0,241	0,75 (0,65 - 0,85)

*Tabelle 15: CI = 95 % Konfidenzintervall, AUC ROC gerundet auf zwei Nachkommastellen, *pNGAL pro 100 ng/ml*

Die Ergänzung des konventionellen Modells um uNGAL führte nicht zu einer signifikanten Steigerung der Modellgüte (Signifikanz des Regressionskoeffizienten von uNGAL: $p = 0,14$).

Da nur 12 Patienten den Endpunkt WRF erfüllten, wurde auf multivariable Regressionsanalysen für diesen Endpunkt verzichtet, um eine Überanpassung des Modells zu vermeiden.

3.8 Net Reclassification Improvement und Integrated Discrimination Improvement

Um die NRI durch pNGAL beurteilen zu können, wurden 3 Risikoklassen für sAKI definiert: < 10 %, 10 - 20 % und > 20 % (orientiert an Pencina et al. [97] und den auf klinischer Erfahrung beruhenden vermuteten Risiken für anhaltendes Nierenversagen und eine verschlechternde Nierenfunktion).

Bei 33 Patienten erfolgte mittels des Biomarker-Modells die Reklassifizierung in eine andere Risikoklasse. Die *Net Number of Patients with Classification Improvement* (Netto-Anzahl der Patienten mit einer verbesserten Klassifizierung) durch das pNGAL-assistierte Modell beträgt unter den Patienten mit Ereignis 12,1 % und unter den Patienten ohne Ereignis 8,4 % (Tabelle 16).

Die Hinzunahme von pNGAL führte folglich zu einer NRI von 20,5 % ($p < 0,01$), also zu einer statistisch signifikanten Verbesserung der Klassifikation.

Tabelle 16 NRI des NGAL-assistierten Modells

pNGAL-assistiertes Modell vs. konventionelles Modell	korrekt reklassifizierte Patienten n (%)	nicht korrekt reklassifizierte Patienten n (%)	Net No. of Patients with Classification Improvement n (%)	NRI (%)
Patienten ohne sAKI	20 (15,3 %)	9 (6,9 %)	11 (8,4 %)	20,5 %
Patienten mit sAKI	4 (12,1 %)	0 (0 %)	4 (12,1 %)	$p < 0,01$

Tabelle 16: NRI = Net Reclassification Improvement

Die für das pNGAL-assistierte Modell berechnete IDI beträgt 0,035. Eine positive Differenz der *Discrimination Slopes* spricht für eine bessere Klassifizierung durch das Biomarker-assistierte Modell als durch das konventionelle Modell.

Der für die IDI durchgeführte Signifikanztest nach Pencina et al. ergab $p = 0,13$. Der Unterschied zwischen der Diskriminierungsfähigkeit der beiden Modelle ist damit statistisch nicht signifikant.

4. DISKUSSION

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die akute Nierenschädigung ist eine häufige Komplikation bei Nierentransplantierten und ist mit einem ungünstigen Langzeit-Outcome bezüglich Mortalität und Transplantatüberleben assoziiert [32]. Die Diagnosekriterien der AKI beruhen bereits seit Anfang des 20. Jahrhunderts auf seriellen SCr-Messungen und dem Rückgang der Urinausscheidung [37]. Diese Parameter treten jedoch mit zeitlicher Latenz ein und erlauben nur eine späte Diagnose der AKI, wenn unter Umständen bereits eine strukturelle Nierenschädigung eingesetzt hat. Eine frühzeitige Diagnostik könnte eine rechtzeitige Therapie ermöglichen und die Prognose entscheidend verbessern.

Zahlreiche Forschungsarbeiten des vergangenen Jahrzehnts haben das Lipokalin NGAL als vielversprechenden Biomarker für die Prädiktion und Detektion von AKI bei verschiedensten Patientenkollektiven identifiziert [25, 43, 44, 76]. Auch bei Nierentransplantierten in der frühen post-transplant Phase konnte mittels NGAL eine verzögerte Transplantatfunktion vorausgesagt werden [77-79].

Calprotectin wurde inzwischen ebenfalls als Biomarker für AKI vorgeschlagen. Sowohl bei nicht-transplantierten als auch bei transplantierten Patienten unterscheidet Calprotectin zwischen intrinsischer AKI und prärenal Azotämie [45, 69]. Calprotectin, direkt post transplantationem gemessen, hat einen prädiktiven Wert bezüglich der Transplantatfunktion bis zu 12 Monate nach NTx [87].

Wenige Studien haben sich jedoch mit dem Wert dieser Biomarker für die Langzeitbetreuung von Nierentransplantierten beschäftigt.

Ziel dieser Arbeit war die Bewertung der Biomarker NGAL und Calprotectin hinsichtlich ihrer Fähigkeit bereits zum Zeitpunkt der Krankenhausaufnahme nierentransplantierte Patienten zu erkennen, die im Verlauf ein anhaltendes Transplantatversagen (sAKI, definiert als AKI nach KDIGO [2], die über mehr als 72 h anhält) oder eine sich weiter verschlechternde Transplantatfunktion (WRF, definiert als absoluter Kreatininanstieg von mindestens 0,5 mg/dl innerhalb der ersten 72 h nach Aufnahme) entwickeln.

Folgende Fragestellungen sollten geklärt werden:

- 1) Erlaubt die Bestimmung der Biomarker NGAL und Calprotectin im Plasma und Urin zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme bei nicht-elektiv hospitalisierten Nierentransplantierten einzeln oder in Kombination mit der SCr-Bestimmung eine verbesserte Prädiktion hinsichtlich eines anhaltenden Transplantatversagens (sAKI)?
- 2) Erlaubt die Bestimmung der Biomarker NGAL und Calprotectin im Plasma und Urin zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme bei nicht-elektiv hospitalisierten Nierentransplantierten einzeln oder in Kombination mit der SCr-Bestimmung eine verbesserte Prädiktion hinsichtlich einer sich weiter verschlechternden Transplantatfunktion innerhalb der 72 h nach Hospitalisierung (WRF)?

4.1.1 Ergebnisse zum Endpunkt anhaltende Nierenschädigung (sAKI)

Hinsichtlich des Endpunkts sAKI konnten für SCr, pNGAL und pCalprotectin signifikant höhere Konzentrationen bei Aufnahme bestimmt werden, als bei Patienten, die keine sAKI entwickelten. Entgegen der Erwartungen aus bisherigen Studien zeigten sich bezüglich der Biomarkerkonzentrationen im Urin keine signifikanten Unterschiede.

In den univariablen binär-logistischen Regressionsmodellen konnten signifikante Zusammenhänge zwischen SCr, pNGAL und uNGAL und dem Endpunkt sAKI gezeigt werden. Bei der multivariablen Regression verblieben pNGAL und SCr als unabhängige Prädiktoren im Modell. Die Hinzunahme von pNGAL zum konventionellen SCr-basierten Modell verbesserte die AUC ROC von 0,72 auf 0,75. Das Risiko eine sAKI zu entwickeln, steigt pro 100 ng/ml pNGAL um 16,7 %.

Um das konventionelle Kreatinin-basierte Modell mit dem NGAL-assistierten Modell vergleichen zu können, wurden Reklassifizierungsstatistiken nach Pencina et al. angewendet. Die Nettoreklassifizierungsverbesserung mithilfe des pNGAL-assistierten Modells im Vergleich zu dem konventionellen SCr-basierten-Modell betrug 20,5 %.

Obwohl pNGAL als unabhängiger Prädiktor für sAKI identifiziert werden konnte und die Hinzunahme des Biomarkers sowohl in den multivariablen Regressionsanalysen, als auch bei den Reklassifizierungsstatistiken zu einer signifikanten Verbesserung der Modellgüte bzw. der Reklassifikation führte, waren die errechneten Testcharakteristika und die Zunahme der Modellgüte nur moderat.

Es konnte kein Cut-off mit hoher Sensitivität und Spezifität bestimmt werden. Zwei Trennwerte könnten bei der Risikostratifizierung der KTR Berücksichtigung finden: Ein niedriger pNGAL-

Spiegel (< 138 ng/ml) schließt eine sAKI mit einer mäßigen Wahrscheinlichkeit aus (NPW = 0,87). Ein pNGAL-Wert (> 567 ng/ml) erlaubt die Diagnose einer sAKI mit einer akzeptablen Falsch-Positiv-Rate (PPW = 0,55).

Die pCalprotectinwerte waren zwar bei Patienten mit sAKI signifikant höher als bei Patienten ohne sAKI, hatten jedoch ebenfalls nur mäßige Testcharakteristika. Im univariablen Regressionsmodell war pCalprotectin nicht signifikant mit dem Outcome assoziiert. Am ehesten kann pCalprotectin helfen Patienten zu identifizieren, die mit hoher Wahrscheinlichkeit keine sAKI entwickeln (Cut-off < 249 ng/ml, NPW = 1,0) uCalprotectinwerte unterschieden sich nicht signifikant zwischen Patienten mit sAKI und ohne sAKI.

Zusammenfassend eignen sich uNGAL, uCalprotectin und pCalprotectin nicht für die Prädiktion einer sAKI. Die beste Diskriminierungsfähigkeit besitzt pNGAL in Kombination mit SCr. Die nur mäßigen Testcharakteristika stellen jedoch den klinischen Nutzen einer Routineanwendung als Single Biomarker in Frage.

4.1.2 Ergebnisse zum Endpunkt verschlechternde Nierenfunktion (WRF)

Den Endpunkt WRF erreichte nur eine geringe Fallzahl von 12 Patienten. pNGAL_A-Konzentrationen waren signifikant höher in der Gruppe mit WRF. Die Baseline-eGFR und die Aufnahme-eGFR waren in der WRF-Gruppe signifikant niedriger. In den univariablen Regressionsmodellen konnten pNGAL, uNGAL und CRP als unabhängige Prädiktoren identifiziert werden, SCr dagegen war nicht signifikant mit dem Endpunkt assoziiert. pNGAL besaß die höchste Diskriminierungsfähigkeit mit einer AUC ROC von 0,75. Als bester Cut-off konnte eine Konzentration von 301 ng/ml bestimmt werden (Sensitivität = 0,83, Spezifität = 0,59).

pCalprotectin- und uCalprotectinwerte unterschieden sich nicht signifikant unter Patienten mit und ohne WRF und waren auch in univariablen Regressionsmodellen nicht signifikant mit dem Endpunkt WRF assoziiert.

Zusammenfassend eignen sich SCr, pCalprotectin, uCalprotectin sowie uNGAL nicht für die Prädiktion einer WRF. Die beste Unterscheidungsfähigkeit besitzt pNGAL. pNGAL ist in diesem Fall dem konventionellen Parameter SCr überlegen und bietet einen zeitlichen Vorsprung in der Diagnose einer sich weiter verschlechternden Transplantatfunktion.

4.2 Einordnung in bestehende Studienergebnisse

Zusammenfassend konnte pNGAL gemeinsam mit SCr die Prädiktion von sAKI signifikant verbessern und zeigte die beste Diskriminierungsfähigkeit bezüglich des Endpunkts WRF.

Allerdings stellen die nur moderaten Testcharakteristika in Frage, ob die statistische Signifikanz der Ergebnisse auch mit dem klinischen Nutzen einer routinemäßigen pNGAL-Bestimmung bei Hospitalisierung einhergeht. Die klinische Anwendbarkeit bei dem heterogenen und komplexen Kollektiv von Nierentransplantierten scheint durch die nur moderate Spezifität und Sensitivität limitiert.

In den bisherigen Studien erwies sich NGAL als vielversprechender Biomarker für die Vorhersage von AKI und die Unterscheidung einer prärenalen Azotämie von einer strukturellen intrinsischen Nierenschädigung. Nichtsdestotrotz variierte die diagnostische Genauigkeit zwischen den verschiedenen Studien erheblich und es zeigten sich schlechtere Testcharakteristika, je heterogener die untersuchte Patientengruppe.

Vorangegangene Studien mit zum Teil herausragenden Testcharakteristika erfolgten häufig an homogenen Patientenkollektiven mit guter Vergleichbarkeit und zeitlich und ätiologisch eingrenzbarem Ereignis der renalen Schädigung.

So wurden durch Mishra et al. 2005 erste Studien zu NGAL an Kindern durchgeführt, die kardiochirurgischen Operationen unterzogen wurden. Es zeigten sich exzellente Testcharakteristika für uNGAL mit einer AUC ROC von 0,998 für die Prädiktion eines Serumkreatininanstiegs von 50 % postoperativ. Der Zeitpunkt der Nierenschädigung ist in diesem Studiendesign zeitlich definiert. Die Materialgewinnung erfolgte in enger zeitlicher Korrelation mit dem Schädigungsereignis.[43]

In Folgestudien bei erwachsenen Patienten ließen sich die oben genannten Ergebnisse nur bedingt reproduzieren und NGAL zeigte variable und teils deutlich schlechtere Testcharakteristika mit AUC ROC von 0,50 bis 0,93 nach kardiochirurgischer Operation und 0,54 bis 0,99 bei kritisch Kranken auf der Intensivstation.[98]

Dies lässt sich zum einen durch die Inhomogenität der Patientenkollektive durch zusätzliche Komorbiditäten und durch die unzureichende Spezifität des Biomarkers erklären. Zum anderen spielen auch die verwendeten uneinheitlichen Definitionen für akutes Nierenversagen vor Vereinheitlichung durch die KDIGO-Kriterien 2012 eine Rolle.

Auch bei Nierentransplantierten konnte NGAL die Prädiktion verschiedener Endpunkte verbessern. Meist handelte es sich jedoch um Studien in der frühen Phase nach Transplantation, in denen häufig die Vorhersage einer *Delayed Graft Function* und der Transplantatfunktion bis zu 12 Monate nach NTx als Endpunkte herangezogen wurden [79]. Ähnlich wie bei kardiochirurgischen Patientenkollektiven gilt für dieses Studiendesign die Eingrenzbarkeit des schädigenden Ereignisses sowie die zeitlich eng folgende Probengewinnung [77].

Wenige Biomarker-Studien haben sich bisher mit dem komplexen Kollektiv von Langzeittransplantierten beschäftigt.

Im Vordergrund der hier vorliegenden Studie steht die Frage, ob eine einzelne Biomarkerbestimmung zum Zeitpunkt einer nicht-elektiven Hospitalisierung der Transplantierten dazu beitragen, Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine langanhaltende oder sich weiter verschlechternde Nierenfunktion zu erkennen. Dies sind Endpunkte, die erfahrungsgemäß mit einer erhöhten Mortalität, einem erhöhten Risiko für Transplantatverschlechterung und -verlust verbunden sind. [21, 32, 33]

In den vorliegenden Daten konnte erwartungsgemäß unter Berücksichtigung bisheriger Studienergebnisse eine signifikante Verbesserung der Prädiktion der beiden Endpunkte durch pNGAL beobachtet werden.

Es zeigten sich jedoch vergleichsweise nur mäßige Testcharakteristika für die Vorhersage der Endpunkte sAKI und WRF durch das Markerprotein. Verschiedenste Faktoren können zu der Erklärung der nur mäßigen Performance beitragen.

So erfolgte der Einschluss der Patienten unabhängig von der Aufnahmediagnose und unabhängig vom Bestehen einer AKI. Hieraus ergibt sich ein inhomogenes Patientenkollektiv und die hiermit assoziierten bereits beobachteten Defizite in der diagnostischen Genauigkeit von pNGAL.

Der Zeitpunkt der Nierenschädigung kann nicht sicher festgelegt werden. Die Nierenschädigung kann bereits Tage vor Hospitalisierung eingesetzt haben, zumal die Probenasservierung in einer Zeitspanne von 48 h nach stationärer Aufnahme erfolgte.

An kardiochirurgischen Patienten konnten maximale NGAL-Level innerhalb von 6 h nach dem schädigenden Ereignis gemessen werden, während Serumkreatininanstiege ca. 2 Tage nach Ereignis detektiert wurden [43, 99]. Das Maximum der Biomarkerkonzentrationen kann also bei den hospitalisierten KTR der hier vorliegenden Studie verpasst worden und ein Serumkreatininanstieg bereits eingetreten sein, sodass eine Prädiktion durch die Biomarkerbestimmung bei Aufnahme nicht mehr möglich war.

Konsistent zu bereits erhobenen Studienergebnissen konnten pNGAL und uNGAL eine sich weiter verschlechternde Transplantatfunktion im Verlauf des stationären Aufenthalts vorhersagen. Matsuura et al. konnten an Patienten einer chirurgischen Intensivstation für pNGAL eine AUC ROC von 0,8 für die Vorhersage einer Progression zu AKI-Stadium 3 innerhalb einer Woche ermitteln [100]. Auch in einer Studie an Patienten mit akut dekompensierter Herzinsuffizienz von Pallazuoli et al. konnte pNGAL eine sich verschlechternde Nierenfunktion vorhersagen, definiert als absoluter Serumkreatininanstieg von 0,3 mg/dl während des stationären Aufenthalts (AUC ROC von 0,83) [101]. Anhand der hier vorliegenden Daten konnte für pNGAL eine AUC ROC

von 0,75 für die Vorhersage einer sich verschlechternden Nierenfunktion, definiert als Anstieg des Serumkreatinins um 0,5 mg/dl innerhalb der ersten 72 h nach Hospitalisierung, bestimmt werden. Das Serumkreatinin bei Aufnahme dagegen hatte keinen prädiktiven Wert für die Vorhersage der kurzfristigen Entwicklung der Nierenfunktion. Die Bestimmung von pNGAL erlaubt also einen zeitlichen Vorsprung in der Prognostik einer sich weiter verschlechternden Transplantatfunktion. Auch Calprotectin wurde inzwischen als potentieller Marker einer renalen Schädigung identifiziert. Sowohl an nicht-transplantierten, als auch bei transplantierten Patienten konnte in bisherigen Studien gezeigt werden, dass uCalprotectin zuverlässig zwischen iAKI und pAKI unterscheidet [46, 69]. Studien zur Vorhersage einer sich weiter verschlechternden Nieren- bzw. Transplantatfunktion oder anhaltender Funktionseinschränkungen liegen jedoch nicht vor. pCalprotectin wurde zudem im Gegensatz zu uCalprotectin für die Vorhersage von AKI oder die Unterscheidung von intrinsischem und prärenalem Nierenversagen in bisherigen Studien an Nierentransplantierten nicht untersucht.

Calprotectin war zwar signifikant mit dem Endpunkt sAKI assoziiert, zeigte jedoch nur mäßige Testcharakteristika und trug in der multivariablen Regression nicht zu einer Verbesserung der Modellgüte bei. Die vorliegenden Ergebnisse implizieren, dass Calprotectin sowohl im Plasma als auch im Urin für die Vorhersage der gewählten Endpunkte sAKI und WRF keinen Zusatznutzen zu konventionellen Vorhersageparametern erbringt. In Hinblick auf die Testcharakteristika könnte ein niedriger pCalprotectin-Spiegel jedoch zur Identifizierung von Patienten beitragen, die keine sAKI entwickeln.

Eine mögliche Erklärung für das schlechtere Abschneiden von Calprotectin in der Vorhersage der gewählten Endpunkte ist, dass uCalprotectin den Grad der interstitiellen Infiltration durch inflammatorische Zellen widerspiegelt, nicht jedoch den unmittelbaren Grad der glomerulären oder tubulären Schädigung erlaubt und somit auch die Vorhersage einer voranschreitenden Schädigung nicht ermöglicht. Calprotectin im Plasma reflektiert vermutlich eher systemische Inflammation bzw. primär inflammatorische Erkrankungen als eine akute renale Schädigung.

Abschließend ist erwähnenswert, dass allein mithilfe der SCr-Konzentrationen bei Aufnahme mit relativ hoher Genauigkeit zwischen Patienten mit und ohne sAKI unterschieden werden konnte. Dies lässt sich mitunter dadurch erklären, dass die SCr-Konzentrationen als ein wesentlicher Faktor bei der diagnostischen Adjudikation der Kreatinin-basierten Outcomes herangezogen wurden.

4.3 Mögliche Störfaktoren

Die Ätiologie der akuten Nierenschädigung in dem vorliegenden Kollektiv ist weitaus vielfältiger und eher selten wie bei vorangegangenen Studien durch eine Ischämie getriggert. Stattdessen

handelt es sich bei den KTR um ein komplexes Patientenkollektiv mit verschiedensten Ätiologien für eine akute Transplantatschädigung und zahlreichen möglichen Störfaktoren, die eine erhöhte Biomarkerkonzentration im Plasma und Urin, unabhängig von einer AKI, bedingen können.

Zu diesen Einflussfaktoren zählt z.B. die vorbestehende chronisch eingeschränkte Transplantatfunktion. Malyszko et al. bestimmten signifikant höhere Serum-NGAL-Werte bei KTR und Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (CKD, *Chronic kidney disease*) verglichen mit gesunden Kontrollen. Höhere Stadien der CKD waren auch mit höheren NGAL-Leveln assoziiert [102]. Für Nierengesunde konnten Malyszko et al. im Mittel Serumwerte von 76,3 ng/ml (SD = 17,87 ng/ml) mittels ELISA bestimmen. Bei Transplantierten dagegen wurde Serum-NGAL-Werte von durchschnittlich 129,4 ng/ml (SD = 27,6) gemessen.[102] Betrachtet man die Baseline-Kreatinin-Level und damit verbundenen eGFR-Werte des Patientenkollektivs der hier diskutierten Studie, ergibt sich eine große Bandbreite an Transplantatfunktionen, sodass bei diesem Kollektiv bereits per se erhöhte und variable Baseline-NGAL-Spiegel zu erwarten sind. Im Median konnten pNGAL_{BL}-Werte von 164,9 ng/ml (IQR = 43,4 - 224,8) ermittelt werden. Die Vergleichbarkeit der Werte der beiden Studien ist jedoch durch die Anwendung unterschiedlicher Testprinzipien (ELISA vs. Turbidimetrie) und unterschiedlichem Probenmaterial (Serum vs. Plasma) limitiert.

Auffällig ist auch, dass die Baseline-eGFR-Werte der Patienten, die eine WRF entwickelten, bereits signifikant niedriger waren, als bei Patienten ohne WRF. Eine sich weiter verschlechternde Nierenfunktion entwickelten also vor allem Patienten mit einer bereits chronisch schlechteren Transplantatfunktion.

Während uNGAL in vorangehenden Studien an Nicht-Transplantierten teils exzellente Testcharakteristika für intrinsische AKI zeigten [43, 44], schneidet uNGAL in der vorliegenden Arbeit an Transplantierten allenfalls mäßig ab. pNGAL erweist sich als besserer Prädiktor für die Endpunkte sAKI und WRF. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die potentielle Restausscheidung der sich zum Teil noch *in situ* befindenden Eigennieren der Transplantierten. Die gemessenen uNGAL-Konzentrationen setzen sich aus der uNGAL-Ausscheidung der teils stark geschädigten Eigennieren und der uNGAL-Ausscheidung der Transplantatnieren zusammen. Eine akute Transplantatschädigung kann also durch die uNGAL-Bestimmung weniger spezifisch erfasst werden als bei nicht transplantierten Patienten mit akuter Nierenschädigung.

Ein weiterer möglicher Einflussfaktor stellt die regelmäßige Einnahme potentiell nephrotoxischer Medikamente wie die Calcineurin-Inhibitoren dar. Bei Nierentransplantierten, die Calcineurin-Inhibitoren einnehmen, konnten signifikant höhere Serum-NGAL-Konzentrationen bestimmt werden, als Patienten ohne Calcineurin-Inhibitor-Einnahme.[103]

Von sicherlich hohem Einfluss in dieser Studie sind systemische Infektionen. Bevor NGAL Aufmerksamkeit als potentieller AKI-Biomarker erhielt, galt das Lipokalin nach Entdeckung seiner Rolle als endogenes bakteriostatisches Protein in der primären Infektabwehr als Marker systemischer Entzündung.[49, 50, 52]

NGAL wird in vielen verschiedenen Geweben synthetisiert. Im Knochenmark wird es während der Myelopoese direkt in den neutrophilen Granula gespeichert. Aber auch in nicht hämatopoetischen Geweben, wie z.B. Colon, Trachea, Lunge und Nierengewebe wird NGAL-mRNA exprimiert.[52] Unter verschiedenen Bedingungen kann es zu einer Erhöhung der Serumkonzentration von NGAL kommen. So wurden erhöhte Serumspiegel bei Pneumonien [104] und anderen bakteriellen Infektionen bis hin zur Sepsis [105] beobachtet.

45% der Aufnahme Diagnosen in dieser Studie bildeten akute Infektionen, in erster Linie Harnwegsinfekte und Pneumonien.

Aktivierte Neutrophile Granulozyten setzen vorwiegend homodimeres NGAL frei und nur in einem kleinen Anteil monomere Formen. Geschädigte Nierenepithelzellen dagegen sezernieren hauptsächlich monomeres NGAL. So können unter Harnwegsinfekten erhöhte Urinkonzentrationen von NGAL-Dimeren beobachtet werden, während bei einer AKI vermehrt monomeres NGAL freigesetzt wird.[106]

Gängige NGAL-Assays, wie auch der in dieser Studie verwendete Assay von Bioporto®, sind jedoch nicht in der Lage zwischen nierenspezifischen monomeren NGAL und NGAL-Dimeren anderer Gewebe zu unterscheiden. Da Infektionen bei fast der Hälfte der Patienten zur stationären Aufnahme führten, lassen sich als Hauptquelle der gemessenen NGAL-Konzentrationen nicht die Tubuluszellen sondern Neutrophile Granulozyten vermuten. Der ebenfalls signifikante Zusammenhang der CRP-Werte mit dem Outcome WRF stellt die Rolle von pNGAL als früher Indikator einer Nierenschädigung in Frage und suggeriert, dass pNGAL bei diesen Patienten vielmehr einen unspezifischen Marker schwerer Erkrankung darstellt.

Ähnliches gilt für Calprotectin, das ebenfalls vorwiegend von Neutrophilen Granulozyten ausgeschüttet wird. So sind bei Harnwegsinfekten erhöhte Calprotectinkonzentrationen im Urin und bei systemischer Inflammation erhöhte pCalprotectinkonzentrationen zu erwarten.

Die Studie war jedoch nicht darauf angelegt Subgruppenanalysen an Patienten mit oder ohne diese Komorbiditäten und Faktoren durchzuführen, zumal die Fragestellung auf einen klinisch breit anwendbaren Biomarker abzielt. Eine abschließende Aussage zum Einfluss der Komorbiditäten auf den prognostischen Wert der Biomarker ist anhand dieser Studie an dieser Stelle daher nicht möglich.

4.4 Stärken und Limitationen der Studie

Eine Stärke der Studie ist sicherlich das prospektive Design und die Vollständigkeit der Baseline-Kreatininwerte. Durch die zugrundeliegende prospektive VS-NTX-Studie lag für alle Patienten mindestens ein ambulanter Routine-Kreatininwert vor. Dies macht die Adjudikation einer AKI anhand der ambulanten Vorwerte valider. Bezüglich der Wahl des Verfahrens der Baselinekreatininwertbestimmung gibt es keinen Standard. Die gewählte klinische Adjudikation wird in der Literatur jedoch bei Vorliegen von Vorinformationen favorisiert [89] [90].

Der vorliegenden Studie sind jedoch auch einige Grenzen gesetzt. So handelt es sich um eine Single-Center-Studie mit einer geringen Fallzahl (n = 164) an einem bezüglich des Alters, des Transplantalters und der Transplantatfunktion sowie der Hospitalisierungsgründe sehr heterogenem Kollektiv. Der Zeitraum der Studie ist auf 13,5 Monate beschränkt.

Die gewählten Endpunkte sAKI und WRF sind mit gleicher Definition bisher in wenigen Studien angewendet worden und erschweren die Vergleichbarkeit mit vorangegangenen Ergebnissen.

Insgesamt erhielten lediglich 17,6 % der Patienten eine Transplantatbiopsie. Die Endpunkte sind rein kreatininbasiert und sowohl die Urinstundenportionen als auch die histologische Korrelation von AKI mittels Biopsie als Referenzstandard fehlen.

Die angewendete binär logistische Regression mit schrittweiser Selektion stellt eine mögliche Methode zur Untersuchung der gewählten binären Endpunkte sAKI und WRF dar. Die binär logistische Regression weist jedoch Beschränkungen auf, die auch bei den vorliegenden Daten eine Rolle spielen könnte. Korrelieren z.B. mehrere unabhängige Variablen stark untereinander, kann dies die Vorhersagekraft einer der beiden Prädiktoren schmälern. Trotz signifikanter Assoziation mit dem Endpunkt kann es so zu einem irrtümlichen Ausschluss der Variable aus dem Gesamtmodell führen. Eine hohe Korrelation ist z.B. zwischen uNGAL und pNGAL zu erwarten. Abschließend bleibt unbeantwortet, ob die nur moderate Performance der Biomarker nun der mäßigen Testeigenschaften der Biomarker selbst zuzuschreiben ist oder ob die geringe Spezifität von Kreatinin als Goldstandard zur Diagnostik einer AKI einen nicht unerheblichen Einfluss hat.

4.5 Kritik an Reklassifikationsstatistiken

Nachdem Pencina et al. 2008 mit NRI und IDI neue Methoden zur Quantifizierung der Prädiktionsverbesserung durch Biomarker vorschlug, fanden die Reklassifikationsstatistiken vermehrt Anwendung in klinischen Studien [44],[107]. Es mehrten sich jedoch auch kritische Stimmen an den neuen Verfahren. So kann die NRI klinisch nicht relevante Bewegungen zwischen den Risikoklassen abbilden und zur Überbewertung des prädiktiven Nutzens eines Biomarkers führen, insbesondere wenn mehr als 2 Risikoklassen definiert werden [107, 108]. Diese Nachteile

könnten auch relevant für die Interpretation der Ergebnisse dieser Arbeit sein: Während netto unter den Patienten mit Ereignis 12,1 % und unter den Patienten ohne Ereignis 8,4 % mithilfe des Biomarker-Modells richtig reklassifiziert wurden, bleibt die nur geringe integrierte Diskriminationsverbesserung (IDI) von 0,035 statistisch nicht signifikant.

4.6 Biomarker im klinischen Alltag

Im Jahr 2005 wurde durch die amerikanische Gesellschaft für Nephrologie die Entdeckung neuer Biomarker zur Identifizierung von AKI als Forschungsziel mit hoher Priorität definiert [109]. Ziel war es, neue Biomarker zu entdecken, die eine frühzeitige Diagnose einer AKI erlauben und eine rasche Initiierung nephroprotektiver Maßnahmen zu Beginn der renalen Schädigung ermöglichen. Seit der Entdeckung von NGAL als potentiell „Troponin der Niere“ sind nun mehr als 10 Jahre vergangen. Obwohl zahlreiche Studien belegen, dass verschiedene Biomarker eine frühere Diagnose einer AKI erlauben und zuverlässig eine intrinsische AKI erkennen, hat es bisher kein Biomarker in die Anwendung der alltäglichen Klinikroutine geschafft. Wie lässt sich dieser Umstand erklären?

Ein Faktor, der die Anwendbarkeit vom NGAL erschwert, ist das Fehlen standardisierter Assays zur Bestimmung nierenspezifischer monomerer NGAL-Formen. In den Biomarker-Studien wurden verschiedene Assays (Sandwich-ELISA, Immunoblot, Chemilumineszent-Mikropartikel-assay, [ARCHITECT, Abbott], turbidimetrischer Immunoassay [Bioporto®]) [110] mit unterschiedlichen Anti-NGAL-Antikörpern verwendet. Dies führt zu abweichenden Referenz- und Messwertbereichen und damit zu unterschiedlichen Entscheidungswerten und erschwert die Vergleichbarkeit unter den Studien.

Ein wiederkehrender Kritikpunkt ist die unzureichende Spezifität der Markerproteine. Zu den Ursachen der AKI zählen zum Beispiel die akute Tubulusnekrose, Glomerulonephritiden, interstitielle Nephritiden und Vaskulitiden. Es stellt sich die Frage, ob ein einzelner Marker wie NGAL oder Calprotectin das gesamte Spektrum dieser Vielfalt an Schädigungsmustern widerspiegeln kann. Umso mehr spielt die unzureichende Spezifität eine Rolle bei dem Patientenkollektiv der Nierentransplantierten, deren Transplantatnieren Schädigungsmustern unterliegen, die eine komplexe Interaktion zwischen vorbestehenden chronischen Erkrankungen, hämodynamischen Imbalancen, wiederkehrende akute Infektionen und Nephrotoxizität, z.B. durch Einnahme von CNI, beinhalten.

Nicht zuletzt fehlen Studien, die untersuchen, ob die diagnostische Anwendung von Biomarkern einen Vorteil bezüglich klinischer Endpunkte erbringt. Die 2016 publizierte randomisierte ELAIN-Studie, die die frühe Initiierung einer Dialysetherapie bei kritisch Kranken mit AKI Stadium 2 einer späteren Therapieeinleitung bei AKI 3 gegenüberstellte, gehörte ein pNGAL-

Spiegel > 150 ng/ml zu den Einschlusskriterien. Der mediane pNGAL-Spiegel lag bei > 490 ng/ml und über 90 % der Patienten, die dem Studienarm der verzögerten Dialysetherapieeinleitung angehörten, erhielten letztlich ein Nierenersatzverfahren. Diese Ergebnisse implizieren den vorsichtigen Schluss, dass höhere pNGAL-Spiegel helfen Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer schweren AKI oder Dialysepflichtigkeit zu erkennen. Konsequenz könnte die frühere Einleitung einer Dialysetherapie sein [111].

Weitere Studien, in denen klinische Entscheidungen von NGAL-Werten in Kombination mit etablierten Markern der akuten Nierenschädigung abgeleitet werden, fehlen bisher. Hinderlich ist sicherlich der hohe Preis für die Messung der Biomarker-Konzentrationen und das Fehlen reeller Kosten-Nutzen-Kalkulationen.

In zahlreichen Arbeiten erlaubten NGAL und Calprotectin das frühzeitige Erkennen einer iAKI. Es lässt sich mithilfe der Biomarker jedoch nicht auf eine zugrundeliegende Ätiologie schließen. Allein aufgrund erhöhter Biomarkerkonzentrationen lässt sich also keine spezifische therapeutische Konsequenz ableiten. Eine sinnvolle Interpretation ist nur unter Berücksichtigung der Klinik und Paraklinik möglich. Studien, die neben diesen Faktoren Biomarker-Level in Therapieentscheidungen einschließen, fehlen jedoch, sodass bisher keine Vorschläge zu diagnostischen und therapeutischen Algorithmen entwickelt werden konnten.

Wurde 2005 noch die Entdeckung neuer Biomarker zur Identifizierung von AKI als Forschungsziel mit hoher Priorität durch die amerikanische Gesellschaft für Nephrologie definiert, setzte die Internationale Gesellschaft für Nephrologie zehn Jahre später das Ziel „0 by 2025“: *Nobody should die of preventable and treatable AKI by 2025.*[112]

Gegenüber der Früherkennung von AKI durch Biomarker hat folglich die Entwicklung pathophysiologisch begründeter Therapieansätze und Präventionsmöglichkeiten den vorrangigen Stellenwert, um auf den Zeitvorteil einer frühen AKI-Prognose zukünftig mit einer spezifischen therapeutischen Konsequenz reagieren zu können.

4.7 Einsatz von pNGAL als prognostischer Biomarker für sAKI und WRF

Die Daten dieser Arbeit zeigen, dass Mithilfe von pNGAL eine sAKI und eine WRF besser vorhergesagt werden können. Die Tatsache, dass es keine spezifische allgemeingültige Therapie für eine AKI gibt, stellt den Vorteil einer frühen Prädiktion des Nierenfunktionsverlaufs in Frage und lässt den schnellen Schluss zu, dass der zeitliche Vorsprung in der Diagnostik ohne Konsequenz und ohne Vorteil für den Patienten bleibt. Nichtsdestotrotz weist ein erhöhter pNGAL-Wert den behandelnden Arzt auf ein erhöhtes Risiko einer Verschlechterung der Transplantatfunktion hin. Folge einer frühen AKI-Risikoabschätzung für das klinische Management könnte die Vermeidung weiterer Gefährdungen der Nierenfunktion sein, z.B. die

strikte Vermeidung nephrotoxischer Medikamente und die Vermeidung einer vorzeitigen Entlassung aus der Notaufnahme oder von Station.

4.8 Schlussfolgerungen

Nierentransplantierte Patienten haben eine Prädisposition eine AKI zu entwickeln und sind gefährdet für die Entwicklung der damit verbundenen Risiken von Mortalität, Transplantatfunktionsverschlechterung und Transplantatverlust [32, 33]. Ziel der Arbeit war es, zu untersuchen, ob die Bestimmung zweier Biomarker in Blut und Urin bei ungeplanter stationärer Aufnahme die Vorhersage einer anhaltenden Transplantatschädigung (sAKI) und einer sich weiter verschlechternden Transplantatfunktion (WRF) verbessern kann, verglichen mit konventionellen Parametern wie Kreatinin.

Hinsichtlich des Endpunkts sAKI zeigte SCr die besten Testcharakteristika. Die Bestimmung des Biomarkers pNGAL in Kombination mit SCr verbesserte jedoch signifikant die Identifikation von Nierentransplantierten mit sAKI. Die Testcharakteristika für pNGAL waren nur moderat. Ein einziger Cut-off mit hoher Sensitivität und Spezifität ließ sich nicht eruieren. Zwei Trennwerte könnten jedoch bei der Risikostratifizierung der Patienten hilfreich sein: ein niedriger pNGAL-Spiegel (< 138 ng/ml) schließt eine sAKI mit einer mäßigen Wahrscheinlichkeit aus (NPW = 0,87). Ein pNGAL-Wert (> 567 ng/ml) erlaubt die Diagnose einer sAKI mit einer akzeptablen Falsch-Positiv-Rate (PPW = 0,55).

uNGAL und uCalprotectin erwiesen sich nicht als geeignet eine sAKI bei Nierentransplantierten vorherzusagen. Die pCalprotectin-Konzentrationen waren bei Patienten mit sAKI signifikant höher, blieben in univariablen Regressionsmodellen jedoch ohne signifikante Assoziation. Hin Hinblick auf die Testcharakteristika könnten jedoch mithilfe eines niedrigen pCalprotectin-Spiegels (< 249 ng/ml) Patienten identifiziert werden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit keine sAKI entwickeln (NPW = 1,0).

Mit dem Endpunkt WRF waren erhöhte pNGAL- und uNGAL-Spiegel assoziiert, wobei pNGAL die besseren Testcharakteristika aufwies. SCr, uCalprotectin und pCalprotectin standen nicht im signifikanten Zusammenhang mit dem Endpunkt WRF und eignen sich nicht für die Vorhersage der Entwicklung der Transplantatfunktion bei hospitalisierten Nierentransplantierten. In diesem Fall scheint pNGAL dem konventionellen Parameter SCr überlegen zu sein und erlaubt eine vorzeitige Diagnose der kurzfristigen Entwicklung der Transplantatnierenfunktion im stationären Verlauf. Insgesamt waren auch hier die Testcharakteristika nur mäßig. Als bester Trennwert ließ sich ein pNGAL-Wert von 301 ng/ml ermitteln (Spezifität = 0,59, Sensitivität = 0,83).

Ob sich diese Ergebnisse an größeren Patientenkollektiven bestätigen lassen und ob sich eine routinemäßige Bestimmung von pNGAL bezüglich klinischer Endpunkte bewährt, kann anhand

dieser Studie nicht beantwortet werden. Nur in wenigen Studien wurden bisher Biomarkerlevel a priori bei klinischen Entscheidungen mit einbezogen und hinsichtlich klinischer Outcomes untersucht [111]. Die Daten dieser Arbeit stellen angesichts der nur mäßigen Testcharakteristika, der hohen Kosten der Biomarkerdiagnostik und der fehlenden unmittelbaren therapeutischen Konsequenzen, den Nutzen einer routinemäßige Bestimmung von pNGAL als Single Biomarker bei ungeplanten Hospitalisierungen von KTR in Frage. Serumkreatinin und die Urinstundenportionen können durch die untersuchten Biomarker als alleinige prognostische und diagnostische Instrumente bei der Diagnose und Risikoabschätzung einer AKI zunächst nicht ersetzt werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser prospektiven monozentrischen Beobachtungsstudie wurden NGAL-Spiegel im Urin (uNGAL) und Blut (pNGAL) sowie Calprotectin-Spiegel im Urin (uCalprotectin) und Blut (pCalprotectin) von 164 Nierentransplantierten untersucht, die unabhängig von der Aufnahmediagnose nicht-elektiv hospitalisiert wurden.

Als Endpunkt dienten eine anhaltende akute Nierenschädigung (sAKI), die sich innerhalb von 72 h nicht normalisierte und eine sich weiter verschlechternde Transplantatfunktion (WRF), definiert als Anstieg des Serumkreatinins (SCr) um mindestens 0,5 mg/dl innerhalb der ersten 3 Tage nach Aufnahme.

Die Diagnose einer sAKI und einer sich WRF beruhten auf den im stationären Verlauf erfassten Serumkreatininwerten. Die AKI-Diagnose erfolgte anhand der KDIGO-Kriterien 2012 und anhand adjudizierter Baselinekreatininwerte, die auf ambulanten Vorwerten beruhten. 33 Patienten entwickelten eine sAKI, 12 Patienten eine WRF.

Ein konventionelles Kreatinin-basiertes Modell zur Vorhersage von sAKI wurde durch Hinzufügen von pNGAL signifikant verbessert ($p < 0,05$). Die AUC ROC verbesserte sich von 0,72 auf 0,75.

Reklassifizierungsstatistiken des pNGAL-assistierten Modells ergaben eine Netto Reklassifizierungsverbesserung von 20,5 %.

Die Biomarker uNGAL und pNGAL waren im Gegensatz zu pCalprotectin, uCalprotectin und SCr mit dem Endpunkt WRF assoziiert. Die diagnostische Teststärke von pNGAL gemessen an AUC ROC betrug 0,75.

Diese Ergebnisse implizieren, dass pNGAL-Messungen zur Vorhersage der Dauer einer AKI und insbesondere zur Vorhersage einer sich weiter verschlechternden Nierenfunktion während eines stationären Aufenthalts von Nierentransplantierten beitragen könnten. Dabei erfasst pNGAL im Gegensatz zu Serum-Kreatinin eine WRF und erlaubt eine frühzeitige Prognoseabschätzung hinsichtlich der kurzfristigen Entwicklung der Transplantatfunktion. Konsekutive Handlungsalgorithmen für die Klinikroutine lassen sich angesichts der nur mäßigen Spezifität anhand dieser Daten nicht ableiten. Es fehlen Studien, die den Nutzen der Anwendung der Biomarker gemeinsam mit konventionellen Nierenparametern im klinischen Alltag hinsichtlich klinischer Endpunkte untersuchen.

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 RIFLE Kriterien.....	1
Tabelle 2 AKIN-Kriterien	2
Tabelle 3 KDIGO Kriterien.....	2
Tabelle 4 Ein- und Ausschlusskriterien der VS-NTX-Studie	16
Tabelle 5 Baselinecharakteristika.....	26
Tabelle 6 Transplantateigenschaften	27
Tabelle 7 Hauptdiagnosen bei Krankenhausaufnahme	28
Tabelle 8 Laborparameter bei Krankenhausaufnahme	29
Tabelle 9 Biomarkerwerte bei Krankenhausaufnahme (A) und Vorwerte (BL).....	30
Tabelle 10 AUC ROC für sAKI	34
Tabelle 11 AUC ROC für WRF	35
Tabelle 12 Testcharakteristika für sAKI	36
Tabelle 13 Testcharakteristika für WRF	37
Tabelle 14 Ergebnisse des univariablen binär logistischen Regressionsmodells	38
Tabelle 15 Vergleich der Prädiktionsmodelle für sAKI.....	39
Tabelle 16 NRI des NGAL-assistierten Modells.....	40

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung a) VS-NTX-Clinical-Event-Subkohorte	15
Abbildung b) Studiendesign	24
Abbildung c) Verteilung der Serumkreatininwerte	31
Abbildung d) Verteilung der Plasma-NGAL-Werte	31
Abbildung e) Verteilung der Urin-NGAL-Werte	32
Abbildung f) Verteilung der Plasma -Calprotectinwerte	32
Abbildung g) Verteilung der Urin-Calprotectin-Werte	33
Abbildung h) ROC-Kurven für sAKI	34
Abbildung i) ROC-Kurven für WRF	35

LITERATURVERZEICHNIS

1. **Herold, G. and Mitarbeiter**, *Innere Medizin*. 2015, Gerd Herold: Köln. p. 633.
2. **Kidney Disease: Improving Global Outcome(KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group**, KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney inter., Suppl*, 2012. 2: p. 1–138.
3. **Bellomo, R., C. Ronco, J.A. Kellum, R.L. Mehta, P. Palevsky and Acute Dialysis Quality Initiative Group**, 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. 8(4): p. R204-12.
4. **Lasnigg, A., D. Schmidlin, M. Mouhieddine, L.M. Bachmann, W. Druml, P. Bauer, and M. Hiesmayr**, Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol*, 2004. 15(6): p. 1597-605.
5. **Praught, M.L. and M.G. Shlipak**, Are small changes in serum creatinine an important risk factor? *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2005. 14(3): p. 265-70.
6. **Mehta, R.L., J.A. Kellum, S.V. Shah, B.A. Molitoris, C. Ronco, D.G. Warnock, A. Levin and the Acute Kidney Injury, Acute Kidney Injury Network**: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*, 2007. 11(2): p. R31.
7. **Luo, X., L. Jiang, B. Du, Y. Wen, M. Wang, X. Xi and the Beijing Acute Kidney Injury Trial Group**, A comparison of different diagnostic criteria of acute kidney injury in critically ill patients. *Crit Care*, 2014. 18(4): p. R144.
8. **Fujii, T., S. Uchino, M. Takinami, and R. Bellomo**, Validation of the Kidney Disease Improving Global Outcomes criteria for AKI and comparison of three criteria in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014. 9(5): p. 848-54.
9. **Kaufman, J., M. Dhakal, B. Patel, and R. Hamburger**, Community-acquired acute renal failure. *Am J Kidney Dis*, 1991. 17(2): p. 191-8.
10. **Liano, F. and J. Pascual**, Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int*, 1996. 50(3): p. 811-8.
11. **Thadhani, R., M. Pascual, and J.V. Bonventre**, Acute renal failure. *N Engl J Med*, 1996. 334(22): p. 1448-60.

12. **Norman, R.W., F.G. Mack, S.A. Awad, P. Belitsky, R.D. Schwarz, and S.G. Lannon**, Acute renal failure secondary to bilateral ureteric obstruction: review of 50 cases. *Can Med Assoc J*, 1982. 127(7): p. 601-4.
13. **Shapiro, S.R. and A.H. Bennett**, Recovery of renal function after prolonged unilateral ureteral obstruction. *J Urol*, 1976. 115(2): p. 136-40.
14. **Herold, G. and Mitarbeiter**, *Innere Medizin*. 2015, Gerd Herold: Köln. p. 634.
15. **Nash, K., A. Hafeez, and S. Hou**, Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis*, 2002. 39(5): p. 930-6.
16. **Xue, J.L., F. Daniels, R.A. Star, P.L. Kimmel, P.W. Eggers, B.A. Molitoris, J. Himmelfarb, and A.J. Collins**, Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *J Am Soc Nephrol*, 2006. 17(4): p. 1135-42.
17. **Ishani, A., J.L. Xue, J. Himmelfarb, P.W. Eggers, P.L. Kimmel, B.A. Molitoris, and A.J. Collins**, Acute kidney injury increases risk of ESRD among elderly. *J Am Soc Nephrol*, 2009. 20(1): p. 223-8.
18. **Uchino, S., J.A. Kellum, R. Bellomo, G.S. Doig, H. Morimatsu, S. Morgera, M. Schetz, I. Tan, C. Bouman, E. Macedo, N. Gibney, A. Tolwani, C. Ronco**, Beginning, and Ending Supportive Therapy for the Kidney, Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*, 2005. 294(7): p. 813-8.
19. **Chertow, G.M., E. Burdick, M. Honour, J.V. Bonventre, and D.W. Bates**, Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(11): p. 3365-70.
20. **Ali, T., I. Khan, W. Simpson, G. Prescott, J. Townend, W. Smith, and A. Macleod**, Incidence and outcomes in acute kidney injury: a comprehensive population-based study. *J Am Soc Nephrol*, 2007. 18(4): p. 1292-8.
21. **Uchino, S., R. Bellomo, S.M. Bagshaw, and D. Goldsmith**, Transient azotaemia is associated with a high risk of death in hospitalized patients. *Nephrol Dial Transplant*, 2010. 25(6): p. 1833-9.
22. **Coca, S.G., J.T. King, Jr., R.A. Rosenthal, M.F. Perkal, and C.R. Parikh**, The duration of postoperative acute kidney injury is an additional parameter predicting long-term survival in diabetic veterans. *Kidney Int*, 2010. 78(9): p. 926-33.
23. **Au, V., J. Feit, J. Barasch, R.N. Sladen, and G. Wagener**, Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) distinguishes sustained from transient acute kidney injury after general surgery. *Kidney Int Rep*, 2016. 1(1): p. 3-9.

24. **de Geus, H.R., J.G. Woo, Y. Wang, P. Devarajan, M.G. Betjes, J.L. le Noble, and J. Bakker**, Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Measured on Admission to the Intensive Care Unit Accurately Discriminates between Sustained and Transient Acute Kidney Injury in Adult Critically Ill Patients. *Nephron Extra*, 2011. 1(1): p. 9-23.
25. **Nickolas, T.L., K.M. Schmidt-Ott, P. Canetta, C. Forster, E. Singer, M. Sise, A. Elger, O. Maarouf, D.A. Sola-Del Valle, M. O'Rourke, E. Sherman, P. Lee, A. Geara, P. Imus, A. Guddati, A. Polland, W. Rahman, S. Elitok, N. Malik, J. Giglio, S. El-Sayegh, P. Devarajan, S. Hebbar, S.J. Saggi, B. Hahn, R. Kettritz, F.C. Luft, and J. Barasch**, Diagnostic and Prognostic Stratification in the Emergency Department Using Urinary Biomarkers of Nephron Damage A Multicenter Prospective Cohort Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012. 59(3): p. 246-255.
26. **Wolfe, R.A., V.B. Ashby, E.L. Milford, A.O. Ojo, R.E. Ettenger, L.Y. Agodoa, P.J. Held, and F.K. Port**, 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. 341(23): p. 1725-30.
27. **Rao, P.S., R.M. Merion, V.B. Ashby, F.K. Port, R.A. Wolfe, and L.K. Kayler**, Renal transplantation in elderly patients older than 70 years of age: results from the Scientific Registry of Transplant Recipients. *Transplantation*, 2007. 83(8): p. 1069-74.
28. **Laupacis, A., P. Keown, N. Pus, H. Krueger, B. Ferguson, C. Wong, and N. Muirhead**, A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney Int*, 1996. 50(1): p. 235-42.
29. **Waiser, J., K. Budde, M. Schreiber, O. Peibst, U. Koch, T. Bohler, B. Hoffken, I. Hauser, and H.H. Neumayer**, The quality of life in end stage renal disease care. *Transpl Int*, 1998. 11 Suppl 1: p. S42-5.
30. **Schulz, K.-H., S. Kraft, H. Ewers, C. Wein, S. Kröncke, and U. Koch**, Lebensqualität nach Organtransplantation, Leitthema: Transplantationsmedizin. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung -Gesundheitsschutz*, 2002. 45(10): p. 782-794.
31. **Deutsche Gesellschaft für Nephrologie e. V.** Behandlungsmöglichkeiten bei Nierenversagen , Nierentransplantation 2014, Retrieved April 1st 2016; (<http://www.dgfn.eu/patienten/behandlungsmoeglichkeiten-bei-nierenversagen/nierentransplantation.html>)
32. **Nakamura, M., G. Seki, K. Iwadoh, I. Nakajima, S. Fuchinoue, T. Fujita, and S. Teraoka**, Acute kidney injury as defined by the RIFLE criteria is a risk factor for kidney transplant graft failure. *Clin Transplant*, 2012. 26(4): p. 520-8.

33. **Mehrotra, A., C. Rose, N. Pannu, J. Gill, M. Tonelli, and J.S. Gill**, Incidence and consequences of acute kidney injury in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis*, 2012. 59(4): p. 558-65.
34. **Nakamura M, Horita S, Suzuki M, Yamazaki O, Satoh N, and Seki G**, Acute Kidney Injury as a Risk Factor for Transplant Graft Failure. *J Transplant Technol Res* 2014. 4(2).
35. **Cooper, J.E. and A.C. Wiseman**, Acute kidney injury in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2013. 22(6): p. 698-703.
36. **Ramirez-Sandoval, J.C., J. Barrera-Chimal, P.E. Simancas, A. Rojas-Montano, R. Correa-Rotter, N.A. Bobadilla, and L.E. Morales-Buenrostro**, Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts graft loss after acute kidney injury in kidney transplant. *Biomarkers*, 2014. 19(1): p. 63-9.
37. **Rehberg, P.B.**, Studies on Kidney Function: The Rate of Filtration and Reabsorption in the Human Kidney. *Biochem J*, 1926. 20(3): p. 447-60.
38. **Delanghe, J.R. and M.M. Speeckaert**, Creatinine determination according to Jaffe-what does it stand for? *NDT Plus*, 2011. 4(2): p. 83-6.
39. **Bosch, J.P., A. Saccaggi, A. Lauer, C. Ronco, M. Belledonne, and S. Glabman**, Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med*, 1983. 75(6): p. 943-50.
40. **Bellomo, R., J.A. Kellum, and C. Ronco**, Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive Care Med*, 2004. 30(1): p. 33-7.
41. **Haase-Fielitz, A., R. Bellomo, P. Devarajan, D. Story, G. Matalanis, D. Dragun, and M. Haase**, Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery--a prospective cohort study. *Crit Care Med*, 2009. 37(2): p. 553-60.
42. **Devarajan, P.**, Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology (Carlton)*, 2010. 15(4): p. 419-28.
43. **Mishra, J., C. Dent, R. Tarabishi, M.M. Mitsnefes, Q. Ma, C. Kelly, S.M. Ruff, K. Zahedi, M. Shao, J. Bean, K. Mori, J. Barasch, and P. Devarajan**, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*, 2005. 365(9466): p. 1231-8.
44. **Nickolas, T.L., M.J. O'Rourke, J. Yang, M.E. Sise, P.A. Canetta, N. Barasch, C. Buchen, F. Khan, K. Mori, J. Giglio, P. Devarajan, and J. Barasch**, 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): p. 810-9.

45. **Seibert, F.S., N. Pagonas, R. Arndt, F. Heller, D. Dragun, P. Persson, K. Schmidt-Ott, W. Zidek, and T.H. Westhoff**, Calprotectin and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the differentiation of pre-renal and intrinsic acute kidney injury. *Acta Physiol (Oxf)*, 2013. 207(4): p. 700-8.
46. **Heller, F., S. Frischmann, M. Grunbaum, W. Zidek, and T.H. Westhoff**, Urinary calprotectin and the distinction between prerenal and intrinsic acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011. 6(10): p. 2347-55.
47. **Flower, D.R.**, The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J*, 1996. 318 (Pt 1): p. 1-14.
48. **Bao, G., M. Clifton, T.M. Hoette, K. Mori, S.X. Deng, A. Qiu, M. Viltard, D. Williams, N. Paragas, T. Leete, R. Kulkarni, X. Li, B. Lee, A. Kalandadze, A.J. Ratner, J.C. Pizarro, K.M. Schmidt-Ott, D.W. Landry, K.N. Raymond, R.K. Strong, and J. Barasch**, Iron traffics in circulation bound to a siderocalin (Ngal)-catechol complex. *Nat Chem Biol*, 2010. 6(8): p. 602-9.
49. **Flo, T.H., K.D. Smith, S. Sato, D.J. Rodriguez, M.A. Holmes, R.K. Strong, S. Akira, and A. Aderem**, Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*, 2004. 432(7019): p. 917-21.
50. **Yang, J., D. Goetz, J.Y. Li, W. Wang, K. Mori, D. Setlik, T. Du, H. Erdjument-Bromage, P. Tempst, R. Strong, and J. Barasch**, An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell*, 2002. 10(5): p. 1045-56.
51. **Kjeldsen, L., A.H. Johnsen, H. Sengelov, and N. Borregaard**, Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem*, 1993. 268(14): p. 10425-32.
52. **Cowland, J.B. and N. Borregaard**, Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics*, 1997. 45(1): p. 17-23.
53. **Nielsen, B.S., N. Borregaard, J.R. Bundgaard, S. Timshel, M. Sehested, and L. Kjeldsen**, Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut*, 1996. 38(3): p. 414-20.
54. **Friedl, A., S.P. Stoesz, P. Buckley, and M.N. Gould**, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in normal and neoplastic human tissues. Cell type-specific pattern of expression. *Histochem J*, 1999. 31(7): p. 433-41.

55. **Kjeldsen, L., J.B. Cowland, and N. Borregaard**, Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin and homologous proteins in rat and mouse. *Biochim Biophys Acta*, 2000. 1482(1-2): p. 272-83.
56. **Mishra, J., Q. Ma, A. Prada, M. Mitsnefes, K. Zahedi, J. Yang, J. Barasch, and P. Devarajan**, Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol*, 2003. 14(10): p. 2534-43.
57. **Mishra, J., K. Mori, Q. Ma, C. Kelly, J. Barasch, and P. Devarajan**, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *Am J Nephrol*, 2004. 24(3): p. 307-15.
58. **Mori, K., H.T. Lee, D. Rapoport, I.R. Drexler, K. Foster, J. Yang, K.M. Schmidt-Ott, X. Chen, J.Y. Li, S. Weiss, J. Mishra, F.H. Cheema, G. Markowitz, T. Suganami, K. Sawai, M. Mukoyama, C. Kunis, V. D'Agati, P. Devarajan, and J. Barasch**, Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest*, 2005. 115(3): p. 610-21.
59. **Schmidt-Ott, K.M., K. Mori, J.Y. Li, A. Kalandadze, D.J. Cohen, P. Devarajan, and J. Barasch**, Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol*, 2007. 18(2): p. 407-13.
60. **Paragas, N., A. Qiu, M. Hollmen, T.L. Nickolas, P. Devarajan, and J. Barasch**, NGAL-Siderocalin in kidney disease. *Biochim Biophys Acta*, 2012. 1823(9): p. 1451-8.
61. **Ramirez-Sandoval, J.C., J. Barrera-Chimal, P.E. Simancas, R. Correa-Rotter, N.A. Bobadilla, and L.E. Morales-Buenrostro**, Tubular urinary biomarkers do not identify aetiology of acute kidney injury in kidney transplant recipients. *Nephrology*, 2014. 19(6): p. 352-358.
62. **Kaufeld, J.K., W. Gwinner, I. Scheffner, H.G. Haller, and M. Schiffer**, Urinary NGAL Ratio Is Not a Sensitive Biomarker for Monitoring Acute Tubular Injury in Kidney Transplant Patients: NGAL and ATI in Renal Transplant Patients. *J Transplant*, 2012. 2012: p. 563404.
63. **Grigoryev, D.N., M. Liu, H.T. Hassoun, C. Cheadle, K.C. Barnes, and H. Rabb**, The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*, 2008. 19(3): p. 547-58.
64. **Bjerke, K., T.S. Halstensen, F. Jahnsen, K. Pulford, and P. Brandtzaeg**, Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes. *Gut*, 1993. 34(10): p. 1357-63.

65. **Fassl, S.K., J. Austermann, O. Papantonopoulou, M. Riemenschneider, J. Xue, D. Bertheloot, N. Freise, C. Spiekermann, A. Witten, D. Viemann, S. Kirschnek, M. Stoll, E. Latz, J.L. Schultze, J. Roth, and T. Vogl,** Transcriptome assessment reveals a dominant role for TLR4 in the activation of human monocytes by the alarmin MRP8. *J Immunol*, 2015. 194(2): p. 575-83.
66. **Foell, D., H. Wittkowski, Z. Ren, J. Turton, G. Pang, J. Daebritz, J. Ehrchen, J. Heidemann, T. Borody, J. Roth, and R. Clancy,** Phagocyte-specific S100 proteins are released from affected mucosa and promote immune responses during inflammatory bowel disease. *J Pathol*, 2008. 216(2): p. 183-92.
67. **Hurnakova, J., H. Hulejova, J. Zavada, M. Komarc, L.A. Cerezo, H. Mann, J. Vencovsky, K. Pavelka, and L. Senolt,** Serum calprotectin may reflect inflammatory activity in patients with active rheumatoid arthritis despite normal to low C-reactive protein. *Clin Rheumatol*, 2018. 37(8): p. 2055-2062.
68. **Haga, H.J., J.G. Brun, H.B. Berntzen, R. Cervera, M. Khamashta, and G.R. Hughes,** Calprotectin in patients with systemic lupus erythematosus: relation to clinical and laboratory parameters of disease activity. *Lupus*, 1993. 2(1): p. 47-50.
69. **Seibert, F.S., C. Rosenberger, S. Mathia, R. Arndt, W. Arns, H. Andrea, N. Pagonas, F. Bauer, W. Zidek, and T.H. Westhoff,** Urinary Calprotectin Differentiates Between Prerenal and Intrinsic Acute Renal Allograft Failure. *Transplantation*, 2017. 101(2): p. 387-394.
70. **Rahimi, F., K. Hsu, Y. Endoh, and C.L. Geczy,** FGF-2, IL-1beta and TGF-beta regulate fibroblast expression of S100A8. *FEBS J*, 2005. 272(11): p. 2811-27.
71. **Zhong, A., W. Xu, J. Zhao, P. Xie, S. Jia, J. Sun, R.D. Galiano, T.A. Mustoe, and S.J. Hong,** S100A8 and S100A9 Are Induced by Decreased Hydration in the Epidermis and Promote Fibroblast Activation and Fibrosis in the Dermis. *Am J Pathol*, 2016. 186(1): p. 109-22.
72. **Zreiqat, H., C.R. Howlett, S. Gronthos, D. Hume, and C.L. Geczy,** S100A8/S100A9 and their association with cartilage and bone. *J Mol Histol*, 2007. 38(5): p. 381-91.
73. **Supavekin, S., W. Zhang, R. Kucherlapati, F.J. Kaskel, L.C. Moore, and P. Devarajan,** Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int*, 2003. 63(5): p. 1714-24.
74. **Han, M., Y. Li, M. Liu, Y. Li, and B. Cong,** Renal neutrophil gelatinase associated lipocalin expression in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in the rat. *BMC Nephrol*, 2012. 13: p. 25.

75. **Schmidt-Ott, K.M., K. Mori, A. Kalandadze, J.Y. Li, N. Paragas, T. Nicholas, P. Devarajan, and J. Barasch**, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2006. 15(4): p. 442-9.
76. **Wagener, G., M. Jan, M. Kim, K. Mori, J.M. Barasch, R.N. Sladen, and H.T. Lee**, Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*, 2006. 105(3): p. 485-91.
77. **Parikh, C.R., A. Jani, J. Mishra, Q. Ma, C. Kelly, J. Barasch, C.L. Edelstein, and P. Devarajan**, Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant*, 2006. 6(7): p. 1639-45.
78. **Hall, I.E., S.G. Yarlagadda, S.G. Coca, Z. Wang, M. Doshi, P. Devarajan, W.K. Han, R.J. Marcus, and C.R. Parikh**, IL-18 and Urinary NGAL Predict Dialysis and Graft Recovery after Kidney Transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010. 21(1): p. 189-197.
79. **Choi, H.M., K.T. Park, J.W. Lee, E. Cho, S.K. Jo, W.Y. Cho, and H.K. Kim**, Urine Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Predicts Graft Outcome up to 1 Year After Kidney Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2013. 45(1): p. 122-128.
80. **Fujiu, K., I. Manabe, and R. Nagai**, Renal collecting duct epithelial cells regulate inflammation in tubulointerstitial damage in mice. *J Clin Invest*, 2011. 121(9): p. 3425-41.
81. **Dessing, M.C., A. Tamaro, W.P. Pulskens, G.J. Teske, L.M. Butter, N. Claessen, M. van Eijk, T. van der Poll, T. Vogl, J. Roth, S. Florquin, and J.C. Leemans**, The calcium-binding protein complex S100A8/A9 has a crucial role in controlling macrophage-mediated renal repair following ischemia/reperfusion. *Kidney Int*, 2015. 87(1): p. 85-94.
82. **Tan, X., X. Zheng, Z. Huang, J. Lin, C. Xie, and Y. Lin**, Involvement of S100A8/A9-TLR4-NLRP3 Inflammasome Pathway in Contrast-Induced Acute Kidney Injury. *Cell Physiol Biochem*, 2017. 43(1): p. 209-222.
83. **Ebbing, J., F.S. Seibert, N. Pagonas, F. Bauer, K. Miller, C. Kempkensteffen, K. Gunzel, A. Bachmann, H.H. Seifert, C.A. Rentsch, P. Ardelt, C. Wetterauer, P. Amico, N. Babel, and T.H. Westhoff**, Dynamics of Urinary Calprotectin after Renal Ischaemia. *PLoS One*, 2016. 11(1): p. e0146395.
84. **Kim, A.J., H. Ro, H. Kim, J.H. Chang, H.H. Lee, W. Chung, and J.Y. Jung**, Klotho and S100A8/A9 as Discriminative Markers between Pre-Renal and Intrinsic Acute Kidney Injury. *PLoS One*, 2016. 11(1): p. e0147255.
85. **Westhoff, J.H., F.S. Seibert, S. Waldherr, F. Bauer, B. Tonshoff, A. Fichtner, and T.H. Westhoff**, Urinary calprotectin, kidney injury molecule-1, and neutrophil gelatinase-

- associated lipocalin for the prediction of adverse outcome in pediatric acute kidney injury. *Eur J Pediatr*, 2017. 176(6): p. 745-755.
86. **Chang, C.H., C.H. Yang, H.Y. Yang, T.H. Chen, C.Y. Lin, S.W. Chang, Y.T. Chen, C.C. Hung, J.T. Fang, C.W. Yang, and Y.C. Chen**, Urinary Biomarkers Improve the Diagnosis of Intrinsic Acute Kidney Injury in Coronary Care Units. *Medicine (Baltimore)*, 2015. 94(40): p. e1703.
 87. **Tepel, M., C. Borst, C. Bistrup, N. Marcussen, N. Pagonas, F.S. Seibert, R. Arndt, W. Zidek, and T.H. Westhoff**, Urinary calprotectin and posttransplant renal allograft injury. *PLoS One*, 2014. 9(11): p. e113006.
 88. **Siew, E.D., T.A. Ikizler, M.E. Matheny, Y. Shi, J.S. Schildcrout, I. Danciu, J.P. Dwyer, M. Srichai, A.M. Hung, J.P. Smith, and J.F. Peterson**, Estimating baseline kidney function in hospitalized patients with impaired kidney function. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012. 7(5): p. 712-9.
 89. **Siew, E.D. and M.E. Matheny**, Choice of Reference Serum Creatinine in Defining Acute Kidney Injury. *Nephron*, 2015. 131(2): p. 107-12.
 90. **Wald, R.**, Predicting baseline creatinine in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012. 7(5): p. 697-9.
 91. **Hsu, C.Y., C.E. McCulloch, D. Fan, J.D. Ordonez, G.M. Chertow, and A.S. Go**, Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney Int*, 2007. 72(2): p. 208-12.
 92. **Bruhn H., J.R., Schäfer H., Schreiber S., Bruhn A.** , *Labormedizin Indikationen, Methodik und Laborwerte Pathophysiologie und Klinik*, in Schattauer. 2012: Stuttgart. p. 31.
 93. **BioPorto Diagnostics A/S, Tuborg Havnevej 15, DK-2900 Hellerup**. The NGAL Test™ Reagent Kit ST001CA. Retrieved December 31, 2016 (www.bioporto.com/Files/Images/IFU-and-Coa/IFU-multilingual-2016.pdf)
 94. **ImmundiagnostikAG. AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany**. 2019. "IDK® Calprotectin ELISA Arbeitsanleitung." Retrieved January 4, 2017 (www.immundiagnostik.com).
 95. **Pencina, M.J., R.B. D'Agostino, Sr., R.B. D'Agostino, Jr., and R.S. Vasan**, Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med*, 2008. 27(2): p. 157-72; discussion 207-12.
 96. **Universität Zürich**, Logistische Regressionsanalyse. 2018, Retrieved September 23, 2019;(https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse_spss/zusammenhaenge/lreg.html#34.)

97. **Pencina, M.J., R.B. D'Agostino, Sr., and E.W. Steyerberg**, Extensions of net reclassification improvement calculations to measure usefulness of new biomarkers. *Stat Med*, 2011. 30(1): p. 11-21.
98. **Martensson, J. and R. Bellomo**, The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. *Blood Purif*, 2014. 37(4): p. 304-10.
99. **Parikh, C.R., S.G. Coca, H. Thiessen-Philbrook, M.G. Shlipak, J.L. Koyner, Z. Wang, C.L. Edelstein, P. Devarajan, U.D. Patel, M. Zappitelli, C.D. Krawczeski, C.S. Passik, M. Swaminathan, A.X. Garg, and T.-A. Consortium**, Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery. *J Am Soc Nephrol*, 2011. 22(9): p. 1748-57.
100. **Matsuura, R., Y. Komaru, Y. Miyamoto, T. Yoshida, K. Yoshimoto, R. Isshiki, K. Mayumi, T. Yamashita, Y. Hamasaki, M. Nangaku, E. Noiri, N. Morimura, and K. Doi**, Response to different furosemide doses predicts AKI progression in ICU patients with elevated plasma NGAL levels. *Ann Intensive Care*, 2018. 8(1): p. 8.
101. **Palazzuoli, A., G. Ruocco, M. Beltrami, B. Franci, M. Pellegrini, B. Lucani, R. Nuti, and C. Ronco**, Admission plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) predicts worsening renal function during hospitalization and post discharge outcome in patients with acute heart failure. *Acute Card Care*, 2014. 16(3): p. 93-101.
102. **Malyszko, J., J.S. Malyszko, H. Bachorzewska-Gajewska, B. Poniatowski, S. Dobrzycki, and M. Mysliwiec**, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a new and sensitive marker of kidney function in chronic kidney disease patients and renal allograft recipients. *Transplant Proc*, 2009. 41(1): p. 158-61.
103. **Bleskestad, I.H., I.S. Thorsen, G. Jonsson, O. Skadberg, and L.G. Goransson**, The impact of calcineurin inhibitors on neutrophil gelatinase-associated lipocalin and fibroblast growth factor 23 in long-term kidney transplant patients. *Clin Transplant*, 2017. 31(8).
104. **Yeh, Y.H., J.L. Chang, P.C. Hsiao, S.M. Tsao, C.H. Lin, S.J. Kao, M.C. Chou, S.F. Yang, and M.H. Chien**, Circulating level of lipocalin 2 as a predictor of severity in patients with community-acquired pneumonia. *J Clin Lab Anal*, 2013. 27(4): p. 253-60.
105. **Lentini, P., M. de Cal, A. Clementi, A. D'Angelo, and C. Ronco**, Sepsis and AKI in ICU Patients: The Role of Plasma Biomarkers. *Crit Care Res Pract*, 2012. 2012: p. 856401.
106. **Cai, L., J. Rubin, W. Han, P. Venge, and S. Xu**, The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010. 5(12): p. 2229-35.

107. **Kerr, K.F., Z. Wang, H. Janes, R.L. McClelland, B.M. Psaty, and M.S. Pepe**, Net reclassification indices for evaluating risk prediction instruments: a critical review. *Epidemiology*, 2014. 25(1): p. 114-21.
108. **Pepe, M.S., J. Fan, Z. Feng, T. Gerds, and J. Hilden**, The Net Reclassification Index (NRI): a Misleading Measure of Prediction Improvement Even with Independent Test Data Sets. *Stat Biosci*, 2015. 7(2): p. 282-295.
109. **American Society of Nephrology**, Renal Research Report. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(7): p. 1886-903.
110. **Kift, R.L., M.P. Messenger, T.C. Wind, S. Hepburn, M. Wilson, D. Thompson, M.W. Smith, C. Sturgeon, A.J. Lewington, P.J. Selby, and R.E. Banks**, A comparison of the analytical performance of five commercially available assays for neutrophil gelatinase-associated lipocalin using urine. *Ann Clin Biochem*, 2013. 50(Pt 3): p. 236-44.
111. **Zarbock, A., J.A. Kellum, C. Schmidt, H. Van Aken, C. Wempe, H. Pavenstadt, A. Boanta, J. Gerss, and M. Meersch**, Effect of Early vs Delayed Initiation of Renal Replacement Therapy on Mortality in Critically Ill Patients With Acute Kidney Injury: The ELAIN Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 2016. 315(20): p. 2190-9.
112. **Mehta, R.L., J. Cerda, E.A. Burdmann, M. Tonelli, G. Garcia-Garcia, V. Jha, P. Susantitaphong, M. Rocco, R. Vanholder, M.S. Sever, D. Cruz, B. Jaber, N.H. Lameire, R. Lombardi, A. Lewington, J. Feehally, F. Finkelstein, N. Levin, N. Pannu, B. Thomas, E. Aronoff-Spencer, and G. Remuzzi**, International Society of Nephrology's Oby25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology. *Lancet*, 2015. 385(9987): p. 2616-43.

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

„Ich, Jutta Sybille Swolinsky, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „NGAL und Calprotectin als Biomarker zur Prognoseabschätzung bei Nierentransplantierten zum Zeitpunkt einer nicht elektiven stationären Aufnahme“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Ich besitze keine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation. Aus dieser Dissertation sind bisher keine Publikationen hervorgegangen. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

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

Datum

Unterschrift

ANTEILSERKLÄRUNG

„Jutta Sybille Swolinsky war für die Durchführung der klinischen Studie „VS-NTX“ sowie der hier behandelten Subkohorte einschließlich Gewinnung der Proben, Erhebung der klinischen Daten, Mitwirkung bei der Messung der NGAL- und Calprotectinkonzentrationen, Adjudikation der Baselinekreatininwerte und Durchführung der statistischen Analysen der Daten nach statistischer Beratung verantwortlich.“

Unterschrift, Datum der Doktorandin

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

LEBENS LAUF

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

PUBLIKATIONSLISTE

Zeitschriften

Prager, O, Kaminsky, L, Hasam Henderson, L, Schoknecht, K, Wuntke, V, Papageorgiou, I, **Swolinsky, J**, Muoio, V, Bar-Klein, G, Vazana, U, Heinemann, U, Friedman, A, Kovacs, R. Seizure-induced microvascular injury is associated with impaired neurovascular coupling and blood-brain barrier dysfunction. *Epilepsia*, 2019.

Hautz, S. C., Gerken, J., **Swolinsky, J.** and Hautz, W. E. A blended-learning format to support peer tutors. *Med Educ*, 2015. 49(11): p. 1158-9.

Poster

Swolinsky, J, Singer, E, Hinz, R. M, Markus, C. E, Obermeier, M, Krannich, A, Budde, K, Westhoff, T. H. and Schmidt-Ott, K. M. Plasma NGAL and the Prediction of Sustained AKI and a Continued Worsening of Kidney Function in Hospitalized Kidney Transplant Recipients. *Jahreskongress DGfN*. 2017

DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. med. Kai-Uwe Eckardt möchte ich für die Möglichkeit danken, an seiner Klinik zu promovieren. Professor Dr. med. Kai Schmidt-Ott danke ich herzlich für die zuverlässige und professionelle Betreuung dieser Promotion. Jederzeit war er ansprechbar und mir eine wertvolle Unterstützung. Bei Frau Dr. med. Eugenia Singer möchte ich mich für das Mitwirken bei der Durchführung der Studie bedanken. Bei Professor Dr. med. Klemens Budde und allen Kollegen der Abteilung für Nephrologie und der Transplantationsambulanz am Campus Mitte bedanke ich mich für die Kooperation bei der Durchführung der Studie. Meinen Mit-Doktorandinnen Caroline Markus und Ricarda Hinz danke ich für die immer freundschaftliche und unterstützende Zusammenarbeit. Herrn Dr. med. Martin Obermeier und Frau Juliane Geisler danke ich für die Durchführung der NGAL-Bestimmungen. Herrn Professor Dr. med. Timm Westhoff und Simone Voigt danke ich für die Durchführung der Calprotectin-Bestimmungen. Meinen Eltern möchte ich meinen Dank für die Ermöglichung meines Studiums und der Promotion aussprechen. Philipp Kruppa möchte für die immerwährende Unterstützung, Inspiration und Geduld danken.