

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Abteilung für Nephrologie der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik des  
Klinikums *Rechts der Isar* der Technischen Universität München

(Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. Uwe Heemann)

# **Frühe postoperative C-terminal Agrin-Fragment (CAF)-Serum-Spiegel als prädiktiver Marker für Organversagen und Proteinurie bei nierentransplantierten Patienten**

Anna Dorothea Vogel

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen  
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Marcel Ph. Roos
2. Prof. Dr. Dr. h.c. Uwe Heemann

Die Dissertation wurde am 22.03.2017 bei der Technischen Universität  
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 08.11.2017  
angenommen.



Für meine Oma



Margarethe Raffelt  
1.8.1921 – 25.1.2003

# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	I
Tabellenverzeichnis.....	II
Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1 Chronische Niereninsuffizienz .....	1
1.1.1 Allgemeines.....	1
1.1.2 Ursachen.....	1
1.1.3 Symptome .....	2
1.1.4 Urämie.....	2
1.1.5 Diagnostik .....	2
1.1.6 Folgen und Komplikationen der chronischen Niereninsuffizienz .....	4
1.1.7 Stadieneinteilung.....	6
1.1.8 Konservative Therapie.....	7
1.1.9 Nierenersatztherapie .....	9
1.1.10 Dialyse .....	9
1.1.11 Nierentransplantation .....	10
1.2 Biomarker der Nierenfunktion.....	12
1.3 Das CAF-Protein .....	13
1.4 CAF als potentieller Marker für die Nierenfunktion und das Outcome nach Nierentransplantation .....	14
2. Material und Methoden .....	16
2.1 Studienpopulation.....	16
2.1.1 Studiendesign.....	16
2.1.2 Demographiedaten der Patienten.....	16
2.1.3 Endpunkte .....	17
2.2 Generierung/Messung der Proben .....	17
2.3 Statistik .....	18
3. Ergebnisse.....	20
3.1 Patientendemographie .....	20
3.2 Korrelation zwischen CAF-Konzentrationen und Serum-Biomarkern/eGFR.....	22
3.3 Univariate Analysen der Endpunkte.....	23
3.3.1 Primärer Endpunkt: Gesamtmortalität (univariate Analyse).....	23
3.3.2 Primärer Endpunkt: Transplantatversagen (univariate Analyse) .....	23
3.3.3 Primärer Endpunkt: Verdopplung von Proteinurie und Kreatinin (univariate Analyse).....	24
3.3.4 Kombiniertes sekundärer Endpunkt: „Nierenfunktionverlust“ (univariate Analyse).....	24

3.3.5	Kombinierter sekundärer Endpunkt: „Mortalität/Transplantatversagen“ (univariate Analyse).....	24
3.4	Multivariate Analysen der Endpunkte .....	27
3.4.1	Primärer Endpunkt: Gesamtmortalität (multivariate Analyse).....	27
3.4.2	Primärer Endpunkt: Transplantatversagen (multivariate Analyse).....	27
3.4.3	Primärer Endpunkt: Verdopplung von Proteinurie (multivariate Analyse) .....	27
3.4.4	Kombinierter sekundärer Endpunkt: „Nierenfunktionsverlust“ (multivariate Analyse)	28
3.4.5	Kombinierter sekundärer Endpunkt: „Mortalität/Transplantatversagen“ (multivariate Analyse).....	28
4.	Diskussion .....	30
5.	Zusammenfassung .....	37
6.	Literaturverzeichnis.....	38
7.	Danksagung.....	50

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prognoseabschätzung der chronischen Niereninsuffizienz auf Basis der GFR-Stadieneinteilung und des Ausmaßes der Albuminurie (Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group 2013).....	6
Abbildung 2: Schematische Darstellung des Agrin-Moleküls mit C-terminal Agrin-Fragment (CAF), modifiziert nach Stephan et al. 2008 .....	13
Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf von mittleren Serum-CAF- und -Kreatininkonzentrationen bei nierentransplantierten Patienten vor und nach Transplantation (Steubl et al. 2013) ....	15
Abbildung 4: Streudiagramm (Scatterplot) der univariaten Korrelationen zwischen Serum-CAF-Konzentrationen und eGFR/Serum-Kreatinin-Konzentrationen/Serum-BUN-Konzentrationen.....	22
Abbildung 5: ROC-Kurven der Serummarker, die nach Adjustierung untereinander signifikant mit den abgebildeten Endpunkten assoziiert sind .....	29

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verteilung der Demographiedaten innerhalb verschiedener, nach Serum-CAF-Konzentration eingeteilter Quartile.....	20
Tabelle 2: Demographiedaten der Nierentransplantatempfänger .....	21
Tabelle 3: Univariate Analysen der Assoziation der 1-3 Monats-Prädiktoren und primären/sekundären Endpunkten.....	26

## Abkürzungsverzeichnis

AUC	<b>A</b> rea <b>u</b> nder the <b>c</b> urve; Effektgröße bei ROC-Analysen
BUN	<b>B</b> lood <b>u</b> rea <b>n</b> itrogen = Blut-Harnstoff-Stickstoff; Maß für den Harnstoffgebundenen Stickstoffanteil im Blut
CAF	<b>C</b> -terminal <b>A</b> grin- <b>F</b> ragment
CKD	<b>C</b> hronic <b>k</b> idney <b>d</b> isease = chronische Nierenerkrankung
CKD-EPI	<b>C</b> hronic <b>K</b> idney <b>D</b> isease <b>E</b> pidemiology Collaboration; Kalkulationsalgorithmus zur Abschätzung der GFR
DGF	<b>D</b> elayed <b>G</b> raft <b>F</b> unction = verzögerte Transplantatfunktionsaufnahme; Def.: Hämodialyse innerhalb der ersten 7 Tage post transplantationem notwendig
eGFR	<b>e</b> stimated <b>g</b> lomerular <b>f</b> iltration <b>r</b> ate = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
ESRD	<b>e</b> ndstage <b>r</b> enal <b>d</b> isease = Nierenerkrankung im Endstadium
GFR	<b>G</b> lomeruläre <b>F</b> iltrationsrate
HR	<b>H</b> azard <b>R</b> atio
IL-18	<b>I</b> nterleukin- <b>18</b>
KI	<b>K</b> onfidenzintervall
KIM-1	<b>K</b> idney <b>i</b> njury <b>m</b> olecule- <b>1</b>
L-FABP	<b>L</b> iver-type <b>f</b> atty <b>a</b> cid- <b>b</b> inding <b>p</b> rotein
NGAL	<b>N</b> eutrophil <b>g</b> elatinase- <b>a</b> ssociated <b>l</b> ipocalin
PTH	<b>P</b> arathormon
ROC-Kurve	<b>R</b> eceiver- <b>O</b> perating- <b>C</b> haracteristic-Kurve = Grenzwertoptimierungskurve: eine Methode zur Bewertung und Optimierung von Analyse-Strategien





# **1. Einleitung**

## **1.1 Chronische Niereninsuffizienz**

### **1.1.1 Allgemeines**

Die chronische Niereninsuffizienz (CKD) zählt zu den häufigsten internistischen Krankheitsbildern in westlichen Gesellschaften. Sie wird definiert als Anomalie der Nierenstruktur oder -funktion, die für mehr als 3 Monate besteht und von gesundheitlicher Relevanz ist (Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group 2013). Für den Nachweis einer CKD müssen diese Veränderungen der Niere entweder in bildgebenden Verfahren (z.B. Sonographie) und/oder mittels Markern in Blut oder Urin festgestellt werden und/oder die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) unter 60ml/min/1,73m<sup>2</sup> liegen (Hoberg et al. 2007).

Meist verläuft die Erkrankung in einem Zeitraum über Jahre bis Jahrzehnte. Die Prävalenzrate für die USA liegt bei über 10 % (Reinecke et al. 2006). Ein Teil dieser Patienten weist einen Progress der Erkrankung bis zum terminalen Nierenversagen auf, was durch die Notwendigkeit eines Nierenersatzverfahrens – entweder Dialysetherapie oder Transplantation – gekennzeichnet ist. In Deutschland erlitten diesen Zustand im Jahr 2006 17548 Patienten. Das entspricht einer Neuerkrankungsrate von 213 pro Million Einwohner (Frei et al. 2008).

### **1.1.2 Ursachen**

Die Gründe für die Entstehung einer chronischen Niereninsuffizienz sind vielfältig: mit über 30 % ist der Diabetes mellitus am häufigsten, gefolgt von arterieller Hypertonie (ca. 27 %) und chronischer Glomerulonephritis unterschiedlicher Ätiologie (ca. 10 %). Obstruktive Uropathien, chronische Pyelonephritis sowie Refluxnephropathien liegen mit 6 % noch vor der polyzystischen Nierendegeneration (3 %). (Tepel et al. 1997)

Andere Ursachen, z.B. tubulo-interstitielle Nephritis oder Systemerkrankungen wie Lupus erythematodes, Multiples Myelom, Granulomatose mit Polyangiitis sowie mikroskopische Angiitis treten bei einem Anteil von insgesamt etwa 20 % auf. In weitaus niedrigerer Prävalenz liegen eine Amyloidose, passagere Perfusionsdefizite, das hämolytisch-urämische-Syndrom, Nierentuberkulose, Gicht oder Endstadien tubulärer Syndrome (z.B. Zystinose), Hyperkalziämie oder Strahlennephritis zu Grunde. Selten wird auch hereditäres (z.B. Alport-Syndrom) bzw. kongenitales Nierenversagen oder Nierenversagen unklarer Ätiologie beobachtet. Aufgrund des Verbots des Analgetikums Phenacetin sieht

## **Einleitung**

man die früher häufige Analgetika-Nephropathie heute so gut wie nicht mehr (Mihatsch et al. 2006; Morath et al. 2010; Tepel et al. 1997).

### **1.1.3 Symptome**

Klinische Symptome treten stadienabhängig auf. Da es sich meist um chronisch verlaufende Grunderkrankungen handelt, kommt es eher langsam und schrittweise zur Verschlechterung der Nierenfunktion. Daher ist der Patient gerade im Anfangsstadium, in dem ein Eingriff in den Krankheitsprogress noch leichter möglich wäre, meist symptomfrei. (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie 2014b)

Im Verlauf kann es zur Verschlechterung des Allgemeinbefindens („Leistungsknick“, Müdigkeit), gastrointestinalen Symptomen (Appetitlosigkeit, Übelkeit, Gewichtsverlust) und Hautbeteiligung (Prurigo, Melanosis cutis, Xerosis) kommen. Des Weiteren leiden die Patienten häufig unter Hypertonie und deren Sekundärkomplikationen (linksventrikuläre Hypertrophie, Herzinsuffizienz, zerebrovaskuläre Ereignisse), Arteriosklerose sowie an peripheren Ödemen und Hypervolämie durch Natrium- und Flüssigkeitsretention. (Morath et al. 2010)

### **1.1.4 Urämie**

Als Urämie bezeichnet man das klinische Bild, das durch die Akkumulation zahlreicher toxischer Metabolite (z.B. Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Abbauprodukte des Proteinstoffwechsels und Peptidhormonen) sowie den Ausfall der endokrinen Nierenfunktion (EPO, 1,25-Dihydroxycholecalciferol = Vitamin D<sub>3</sub> u.a.) im Terminalstadium der chronischen Niereninsuffizienz entsteht (Geiger 2004; Tepel et al. 1997). Hierbei stehen vor allem zentralnervöse Symptome wie Erbrechen, Persönlichkeitsveränderungen, Schlaflosigkeit, Erregungszustände über Verlangsamung bis hin zum Koma im Vordergrund. Darüber hinaus kann es zu einer Polyneuropathie, Pruritus, urämischem Fötör, Übelkeit, Erbrechen und Blutungen durch eine hämorrhagische Gastritis oder Kolitis kommen. Unbehandelt führt die Urämie zum Tod. (Morath et al. 2010)

### **1.1.5 Diagnostik**

Zur Abbildung der Nierenfunktion bei der Diagnosestellung der chronischen Niereninsuffizienz ist die Bestimmung der geschätzten glomerulären Filtrationsrate (eGFR)

laut aktuellen KDIGO-Leitlinien ausreichend (Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group 2013). Die GFR entspricht demjenigen Plasmavolumen, aus dem eine Referenzsubstanz (z.B. Inulin) in einer bestimmten Zeiteinheit vollkommen entfernt wird („Clearance“) und ist damit ein Maß für die Ausscheidungskapazität von harnpflichtigen Stoffen über die Niere (Geiger 2004). Der Normbereich der GFR liegt altersabhängig zwischen 80-120 ml/min (Hörl 2004). Sie wird unter Einbeziehung von Serumkreatinin, Alter und Geschlecht und ethnischer Zugehörigkeit nach der CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) Formel abgeschätzt und ist auf eine Körperoberfläche von 1,73 m<sup>2</sup> standardisiert (Hörl 2004; Levey et al. 2009).

Die quantitative Messung des Glomerulumfiltrats und Goldstandard zur Bestimmung der GFR ist die Clearancemethode, also die direkte Messung der GFR nach Applikation exogener Marker (z.B. Inulin) und deren Bestimmung im 24h-Sammelurin (Becker et al. 2013; Fiedler 2015). In der Praxis findet meist die weniger aufwendige (Fiedler 2015) Messung der endogenen Kreatinin-Clearance Anwendung, da es sich bei der zu klärenden Substanz mit Kreatinin um einen körpereigenen Stoff handelt, der bei normaler Nierenfunktion glomerulär filtriert und im Tubulussystem nur in geringer Menge rückresorbiert und sezerniert wird (Hörl 2004). Diese Methode erlaubt allerdings nur eine näherungsweise Ermittlung der GFR, da die Kreatinin-Serumkonzentration von verschiedenen nicht-GFR-abhängigen Determinanten beeinflusst wird (Fiedler 2015).

Nephropathien gehen häufig mit einer Proteinurie, d.h. einem renalen Proteinverlust (Physiologisch: < 150 mg Protein/d) einher, da die glomeruläre Kapillarwand u.a. durchlässiger für Albumin sowie für normalerweise nicht filtrierte Makromoleküle wie Immunglobuline wird. Daher sollte ein Proteinurie-Screening mit einem Teststreifen erfolgen. Die Quantifizierung der Eiweißausscheidung bei einem positiven Streifentest lässt sich im 24h-Sammelurin oder alternativ näherungsweise mittels Berechnung des Quotienten aus Protein (oder Albumin)- und Kreatininkonzentration im Spontanurin bestimmen. Da die Nachweisgrenze der konventionelle Teststreifen für eine Proteinurie bei ca. > 300 - 500 mg/d liegt muss zur Früherkennung oder bei entsprechendem Verdacht ein Mikroalbuminurie (> 30 mg/d)-Screening mittels speziellem Urinteststreifen (Micral<sup>®</sup> -Test) bzw. eine Messung im Labor veranlasst werden (Geiger 2004).

Zur weiteren differenzialdiagnostischen Abklärung sollte zusätzlich ein Urinstatus zur Evaluation einer pathologischen Erythrozyturie erfolgen (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010).

## **Einleitung**

Die Nierenfunktionsparameter (= Retentionsparameter) Kreatinin, Harnstoff und Cystatin C werden aus dem Serum bestimmt. Weitere Laborparameter wie Harnsäure, Serumelektrolyte (Phosphat, Kalzium, Kalium), der Säure-Basen-Status, Serumalbumin, ein Blutbild sowie die Messung des Parathormons helfen zusätzlich bei der Abschätzung des Schweregrads der Niereninsuffizienz.

Der Nachweis struktureller Nierenschädigungen kann mit Hilfe von bildgebenden Verfahren (z.B. Sonographie, MRT) festgestellt werden.

### **1.1.6 Folgen und Komplikationen der chronischen Niereninsuffizienz**

Schreitet die chronische Niereninsuffizienz weiter fort, kommt es - unabhängig von der Grunderkrankung - zu einem progredienten Verlust von Nierenparenchym mit stetiger Abnahme der GFR bzw. der tubulären Funktion und damit zum Anstieg der harnpflichtigen Substanzen Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure und weiteren Urämietoxinen im Blut (Morath et al. 2010).

Sekundärkomplikationen der chronischen Niereninsuffizienz sind Elektrolytstörungen, Veränderungen des Säure-Basen-Haushalts, sekundärer Hyperparathyreoidismus, reduzierte Ausscheidung von freiem Wasser und Hormonmangelzustände wie die renale Anämie infolge einer reduzierten Erythropoetinsynthese (Morath et al. 2010).

In manchen Fällen einer Nierenerkrankung dominiert das Symptom einer Proteinurie. Ursächlich hierfür ist eine Schädigung des glomerulären Filters bestehend aus fenestriertem Kapillarendothel, Basalmembran und viszeralem Endothel, den Podozyten (Lüllmann-Rauch 2003).

In den meisten Fällen entsteht, a.e. infolge verschiedener Störungen der endokrinen Blutdruckregulation (z.B. Renin-Angiotensin-Aldosteron-System), bereits im präterminalen Stadium ein deutlicher Anstieg des systemischen Blutdrucks mit der Folge einer sekundären arteriellen Hypertonie (Olowu 2015).

Kardiovaskuläre Komplikationen nehmen bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz einen hohen Stellenwert ein: Mit zunehmender Einschränkung der Nierenfunktion steigt das kardiovaskuläre Risiko überproportional (Go et al. 2004) (siehe auch Abbildung 1), rund die Hälfte aller Todesfälle von Dialysepatienten sind kardial oder vaskulär bedingt.

Als Hauptursache hierfür gilt die Mediasklerose, eine Sonderform der Arteriosklerose. Bei der Genese der Sklerose handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen, allerdings scheint der sekundäre Hyperparathyreoidismus wesentlich dazu beizutragen. (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie DGfN 2014)

Ursächlich für den sekundären Hyperparathyreodismus ist die verminderte Ausscheidungsfunktion der Niere bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz: durch verringerte Phosphatausscheidung steigt der Serumphosphatspiegel, wodurch freies Kalzium komplex gebunden wird: der Serumkalziumspiegel sinkt. Zusätzlich bilden die in ihrer Funktion eingeschränkte Niere weniger aktives Vitamin D, was zur Folge hat, dass sich die Kalziumaufnahme im Darm verringert. Infolgedessen kommt es zu einem permanenten Kalziummangel, der eine vermehrte Ausschüttung von Parathormon (PTH) in der Nebenschilddrüse bewirkt. PTH stimuliert die Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen, was zu einem Abbau der Knochensubstanz führt. Trotz des durch PTH erhöhten Serumkalziumspiegels erfolgt keine negative Rückkopplung auf die PTH-Ausschüttung, die Regulierungsfunktion der Nebenschilddrüse versagt, dadurch kommt es zur unkontrollierten permanenten Ausschüttung von PTH. Die Demineralisierung der Knochensubstanz wird weiter verstärkt: Die Patienten leiden unter Osteoporose. Man geht davon aus, dass der Serum-Kalzium- und Phosphatüberschuss sich in Gefäßen und Weichteilen ablagert. (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie DGfN 2014)

Ein zusätzlicher Risikofaktor für die kardiovaskuläre Mortalität scheinen auch erhöhte Entzündungsparameter zu sein (Zimmermann et al. 1999). Vor allem das C-reaktive Protein (CRP), das bei Dialysepatienten erhöht ist, hat sich in den vergangenen Jahren neben seiner Funktion als Marker für Entzündungsgeschehen und Infekte auch als Prädiktor für kardiovaskuläre Erkrankungen herausgestellt, wobei bereits Werte über 2 mg/l ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko anzeigen (Munk et al. 2009; Pai et al. 2004; Ridker et al. 2000). Des Weiteren scheinen erhöhte Serum-CRP-Spiegel im Prädialysestadium auch mit einem schlechteren Ansprechen auf eine Anämiebehandlung mit Erythropoetin („EPO“) assoziiert zu sein (Ortega et al. 2002). Da eine Anämie als kardiovaskulärer Risikofaktor gilt, erhöht sich somit das Risiko für niereninsuffiziente Personen zusätzlich. (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie DGfN 2014)

## Einleitung

### 1.1.7 Stadieneinteilung

Die Einteilung der chronischen Nierenerkrankung (CKD = chronic kidney disease) in fünf Stadien richtet sich u.a. nach der Höhe der GFR. Für die Prognoseabschätzung werden zusätzlich das Ausmaß der Albuminurie und die zu Grunde liegende Erkrankung berücksichtigt (Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group 2013) (siehe Abbildung 1).

**Prognosis of CKD by GFR and Albuminuria Categories: KDIGO 2012**

				Persistent albuminuria categories Description and range		
				A1 Normal to mildly increased  <30 mg/g <3 mg/mmol	A2 Moderately increased  30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	A3 Severely increased  >300 mg/g >30 mg/mmol
GFR categories (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ) Description and range	G1	Normal or high	≥90			
	G2	Mildly decreased	60-89			
	G3a	Mildly to moderately decreased	45-59			
	G3b	Moderately to severely decreased	30-44			
	G4	Severely decreased	15-29			
	G5	Kidney failure	<15			

Green: low risk (if no other markers of kidney disease, no CKD); Yellow: moderately increased risk; Orange: high risk; Red, very high risk.

Abbildung 1: Prognoseabschätzung der chronischen Niereninsuffizienz auf Basis der GFR-Stadieneinteilung und des Ausmaßes der Albuminurie (Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group 2013)

Kreatinin und GFR sind im Stadium G1 mit einer eGFR von  $\geq 90$  ml/min noch normal, allerdings findet man zusätzliche Pathologien (Proteinurie und/oder aktives Sediment und/oder ein auffälliges Biopsieergebnis und/oder bildgeberische Anomalien). Klinisch sind die Patienten in der Regel unauffällig (Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie der Universität Leipzig - Sektion Nephrologie 2015).

Sinkt die eGFR auf 60-89 ml/min, ist das Stadium G2 erreicht: Das Serumkreatinin kann erhöht sein, zusätzlich liegt oft eine Hypertonie vor (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie 2014a).

Das Stadium G3 mit einer eGFR zwischen 30 und 59 ml/min wird in zwei Untergruppen 3a und 3b unterteilt, um Patientengruppen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko, sowie

einem höheren Risiko für eine Progredienz der Nierenerkrankung besser identifizieren zu können (Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group 2013). Die Erhöhung der Serumkreatinin und -harnstoffwerte verursacht unspezifische Symptome wie Leistungsminderung, Schwäche und Hypertonie (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie 2014a).

Neben einer durch EPO-Mangel bedingten Anämie kann es im weiteren Verlauf durch ein Versagen der Regulation des Säure-Base-Haushalts zu einer metabolischen Azidose kommen (Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie der Universität Leipzig - Sektion Nephrologie 2015).

Im Stadium G4 (eGFR von 15-29 ml/min) stehen Symptome wie Muskelabbau (Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie der Universität Leipzig - Sektion Nephrologie 2015), Müdigkeit/Leistungsminderung, Appetitlosigkeit, Erbrechen, Übelkeit, Nervenschmerzen, Juckreiz und Knochenschmerzen im Vordergrund (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie 2014a).

Fällt die eGFR unter 15 ml/min ist das Stadium G5 erreicht: Je nach Höhe der Laborparameter (v.a. Kaliumspiegel), Volumenstatus und Ausprägung der Azidose bzw. der Urämiesymptome muss für jeden Patienten individuell der richtige Zeitpunkt der Einleitung einer Dialysetherapie ermittelt werden, da es sonst innerhalb kurzer Zeit zu einer letalen Vergiftung des Organismus kommen kann (Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie der Universität Leipzig - Sektion Nephrologie 2015).

### **1.1.8 Konservative Therapie**

Die Therapie der chronischen Nierenerkrankung umfasst mehrere Pfeiler: Zum einen sollte – soweit bekannt und möglich – die Therapie der Grunderkrankung erfolgen. Darüber hinaus wird eine Limitierung der Progressions- und Schädigungsfaktoren (hämodynamische, diätische und exogene Faktoren) angestrebt. (Tepel et al. 1997)

Zu den wichtigsten Maßnahmen, um ein Fortschreiten der chronischen Niereninsuffizienz einzudämmen, zählt eine optimierte antihypertensive Behandlung mit einem Zielblutdruck von < 140/90 mmHg (bei Vorhandensein einer Proteinurie  $\geq$  300 mg/d: < 130/80 mmHg) sowie die Limitierung der Proteinurie (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010; Deutsche Gesellschaft für Kardiologie Herz-und Kreislaufforschung e.V. et al. 2013).

Für beide Indikationen kommen dieselben Medikamente zur Anwendung: ACE-Inhibitoren (z.B. Enalapril, Ramipril), AT1-Rezeptor-Blocker (z.B. Candesartan, Telmisartan), Betablocker (z.B. Carvedilol) und ggf. Kalziumantagonisten (z.B. Lercanidipin) können eingesetzt werden. Zusätzlich kann die Gabe eines Diuretikums (Schleifendiuretika,



## **Einleitung**

Hydrochlorothiazid) sinnvoll sein. (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010)

Für Diabetiker mit eingeschränkter Nierenfunktion besteht bei der Behandlung mit fast allen oralen Antidiabetika aufgrund der veränderten Pharmakokinetik der Medikamente und wegen des ebenfalls veränderten Insulinmetabolismus ein erhöhtes Hypoglykämierisiko (Hoberg et al. 2007). Daher können bei massiver Verschlechterung der Nierenfunktion orale Antidiabetika kontraindiziert sein und ggf. muss eine Umstellung auf eine Insulintherapie erfolgen (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010). In jedem Fall sollte bei diesen Patienten möglichst auf die Herstellung euglykämischer Verhältnisse geachtet werden.

Eine renale Anämie, die durch eine gestörte Erythropoetinsynthese im Rahmen der Nierenerkrankung bedingt ist, sollte mittels Erythropoetin („EPO“) behandelt werden und ein Hämoglobinspiegel zwischen 10,5 und 11,5 g/dl angestrebt werden (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010).

Neuere Daten zeigen zudem, dass durch Ausgleich einer metabolischen Azidose und Behandlung einer Hyperurikämie die Progression gehemmt werden kann (Kim et al. 2015; Raphael 2016).

Röntgenkontrastmittel, nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), die Langzeiteinnahme von Mischanalgetika und Nikotin sollten gemieden werden. Die Dosis aller renal eliminierten zusätzlich eingenommenen Medikamente muss an die verminderte Nierenfunktion angepasst werden (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010) sowie Harnwegsinfekte entsprechend Antibiogramm behandelt werden (Tepel et al. 1997).

Die weitere symptomatische Therapie zielt auf die Behandlung von Sekundärkomplikationen ab: Eine renale Anämie sollte mittels Erythropoetin („EPO“) behandelt werden (Bundesärztekammer (BÄK) et al. 2010).

Liegt ein sekundärer Hyperparathyreoidismus vor, wird zunächst die Hyperphosphatämie durch diätische Maßnahmen und medikamentöse Gabe von Phosphatbindern therapiert. Darüber hinaus sollte mittels Vitamin D-Analoga (z.B. Calcitriol, Paricalcitol) und Calcimimetika (z.B. Cinacalcet) eine Absenkung des erhöhten Parathormon-Spiegels erfolgen. (Medizinische Klinik und Poliklinik II des Klinikums der Universität München 2016)

Um einer Überwässerung vorzubeugen, sind regelmäßige Gewichtskontrollen nötig, ggf. muss eine diuretische Therapie eingeleitet und eine Trinkmengenrestriktion verordnet werden (Tepel et al. 1997).

### **1.1.9 Nierenersatztherapie**

Ca. 60 Patienten pro eine Million Einwohner leben in Deutschland im Terminalstadium einer chronische Nierenerkrankung (Tepel et al. 1997). Ist dieser Zustand erreicht und sind konservative Maßnahmen erschöpft, muss eine Nierenersatztherapie wie Dialyse (Hämodialyse bzw. Peritonealdialyse) oder eine Nierentransplantation in Erwägung gezogen werden.

Die Entscheidung zur Nierenersatztherapie ist immer eine Individualentscheidung, die von verschiedenen Faktoren wie Lebensalter, Allgemeinzustand, klinischen Zeichen der Urämie, der Co-Morbidität und Laborwerten (Nierenfunktionsparameter, Elektrolyte im Verlauf) abhängig ist. Sinkt die GFR im Stadium 5 auf  $< 15 \text{ ml/min/1,73 m}$  (unter nephrologischer Sekundärprävention ggf. auch erst bei einer GFR  $< 8 \text{ ml/min/1,73 m}$ ) und/oder bei Auftreten klinischer Zeichen einer Urämie, therapieresistenter Hyperkaliämie/Azidose/Hypertonie, katabole Stoffwechsellage, schwerer urämischer Neuropathie sowie bei kardiorenalem Syndrom (mit medikamentös nicht beherrschbarer Hypervolämie) ist eine Dialysetherapie oder eine Transplantation indiziert. Die Einleitung einer Nierenersatztherapie kann bei Patienten mit schwerwiegenden Begleiterkrankungen (Malnutrition, chronischen Infekten, Diabetes oder Herzinsuffizienz) ggf. schon im Stadium G4 erforderlich sein. (Weinreich et al. 2015)

### **1.1.10 Dialyse**

2006 lag die Zahl aller Dialysepatienten in Deutschland bei knapp 67 000 (Frei et al. 2008), dabei war die Hämodialyse mit rund 63 000 behandelten Patienten das am häufigsten angewandte Verfahren zur Blutreinigung (Frei et al. 2008). Die Entfernung harnpflichtiger Substanzen aus dem Blut erfolgt extrakorporal mittels Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles über eine semipermeable Membran in eine isotonische Dialysatflüssigkeit, während dem Blut gleichzeitig durch einen Druckgradienten über die Membran (Ultrafiltration) Flüssigkeit und niedermolekulare Substanzen entzogen werden (konvektiver Transport).

Bei der seltener eingesetzten Peritonealdialyse übernimmt das Peritoneum des Patienten die Funktion der Dialysemembran.

Neben dem großen organisatorischen und zeitlichen Aufwand, sowie der physischen und psychischen Belastung der Patienten birgt die Dialyse auch verschiedene Risiken: So kann es vor allem während der Hämodialyse zu Herz-Kreislaufbeschwerden und Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes kommen. Bei der Peritonealdialyse sind die

## **Einleitung**

Nebenwirkungen durch die längere Dialysedauer und das schonendere Verfahren geringer. Allerdings drohen durch den permanenten Zugang zur Bauchhöhle Infektionen, ggf. bis hin zur Peritonitis (Hasegawa et al. 2015).

Insgesamt ist die Überlebensrate von Dialysepatienten im Vergleich zu nierentransplantierten Patienten geringer (Schnuelle et al. 1998), was unter anderem auf deren hohes kardiovaskuläre Risiko zurückzuführen ist (Chiu et al. 2016).

### **1.1.11 Nierentransplantation**

Der Goldstandard der Nierenersatztherapie ist die Nierentransplantation. Die Niere ist das am häufigsten übertragene Organ (Deutsche Gesellschaft für Nephrologie 2014c): Im Jahr 2014 wurden in Deutschland 1.508 Nieren nach postmortaler Organspende und 620 nach einer Lebendspende transplantiert. Zurzeit warten rund 8.000 Patienten in Deutschland auf ein Spenderorgan. (Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO) 2016)

Bei der Nierentransplantation wird die Niere eines verwandten oder emotional nahestehenden, nicht verwandten Lebendspenders (= Lebendspende) oder eines hirntoten Spenders (= postmortale Organspende), unter Beachtung der HLA- bzw. AB0-Blutgruppenkompatibilität und negativem Cross-Match, extraperitoneal in die Fossa iliaca des Patienten transplantiert. (Morath et al. 2010)

Immunologische Faktoren spielen eine Hauptrolle bei der Limitierung des Transplantaterfolgs. Dabei kann man zwischen drei verschiedene Abstoßungsreaktionen unterscheiden: Die hyperakute Abstoßung (Minuten bis Stunden post transplantationem), die meist zum Organverlust führt, ist heutzutage ein seltenes Ereignis, da präformierte Antikörper gegen HLA-Merkmale oder Blutgruppenmerkmale (v.a. aus dem AB0-System), die für die Abstoßungsreaktion verantwortlich sind, in der Prätransplantationsdiagnostik nachgewiesen werden können. Eine akute, primär Lymphozyten-vermittelte Abstoßung (nach Tagen bis Wochen post transplantationem), ist meist gut durch die Hemmung der aktivierten Empfänger T-Lymphozyten mit Ciclosporin, Tacrolimus oder Glukokortikoiden behandelbar. (Garritsen et al. 2002)

Die chronische Abstoßung tritt erst Monate bis Jahre nach der Transplantation des Organs auf und bewirkt ein typisches Muster von Arteriosklerose-ähnlichen Gefäßveränderungen. Sie ist medikamentös nur schwer behandelbar, allerdings können durch neuere Medikamente wie Mycophenolat Mofetil (= „MMF“) Verbesserungen erzielt werden. (Garritsen et al. 2002)

Neben der immunologischen Vermittlung, bei der die indirekte Antigenpräsentation im

Vordergrund steht (Garritsen et al. 2002), ist die chronische Abstoßungsreaktion häufig auf fehlende Medikamenteneinnahme (non-adherence) zurückzuführen (Morath et al. 2010). Im Gegensatz zur hyperakuten und akuten Abstoßung ist der Verlauf der chronischen Abstoßung nicht so massiv ausgeprägt, allerdings kommt es durch die permanenten minimalen Gefäßveränderungen auf Dauer zu einer starken Schädigung des Transplantats mit irreversiblen Funktionsverlust (Garritsen et al. 2002). Um diese Abstoßungsreaktionen zu vermeiden muss eine immunsuppressive Prophylaxetherapie mit Medikamenten wie Glukokortikoiden, Antikörpern gegen T- und B-Lymphozyten (Alemtuzumab, Daclizumab, Basiliximab, Rituximab), Calcineurininhibitoren (Ciclosporin A, Tacrolimus) und Proliferationshemmern eingeleitet werden (Halloran 2004). Dazu zählen mTOR-Inhibitoren (Sirolimus, Everolimus), Purin-Synthese-Inhibitoren (Mycophenolat-Motefil = „MMF“) und Antimetabolite (Azathioprin) (Halloran 2004). Es gibt drei verschiedene Phasen der immunsuppressiven Therapie: die Induktionstherapie vor Transplantation, die Initialtherapie bis ca. drei Monate nach Transplantation und die Erhaltungstherapie (Halloran 2004), die nach unkomplizierter Nierentransplantation meist aus der Kombination von Ciclosporin A oder Tacrolimus, sowie Mycophenolat und Glukokortikoiden besteht (Morath et al. 2010). Multiple Modifikationen der Therapien mit den oben genannten Medikamenten sind möglich (Halloran 2004).

Weitere Faktoren wie Hypertonie, Diabetes mellitus und Dyslipidämie wirken sich negativ auf das Transplantat aus. Auch die Nephrotoxizität von Calcineurininhibitoren, vor allem von Ciclosporin, führt bei ca. 20 % der Transplantierten zu einem histologisch nachweisbaren Organschaden. (Morath et al. 2010)

Neben immunologischen Faktoren, prädisponierenden Grunderkrankungen und pharmakologisch-toxischen Einflüssen, können Infektionen das transplantierte Organ gefährden. Die größte Rolle spielen hier das BK (humanes Polyomavirus 1)- und das Cytomegalie-Virus (CMV), die beide unter Immunsuppression reaktivieren können (Elfadawy et al. 2013; Lanot et al. 2016).

Durch Entwicklungen in der Verträglichkeitsdiagnostik, in der Immunsuppression sowie der operativen Techniken (Garritsen et al. 2002), hat sich über die letzten Jahrzehnten neben einem Anstieg des Gesamtüberlebens vor allem das Organüberleben im ersten Jahr verbessert, das Langzeit-Outcome allerdings stagniert (Lamb et al. 2011; Meier-Kriesche et al. 2004a; Meier-Kriesche et al. 2004b; Vadivel et al. 2007).

Daher ist die Suche nach Möglichkeiten zur Verlängerung der im Vergleich zur Normalbevölkerung immer noch reduzierten Lebenserwartung (Arend et al. 1997) und des

## **Einleitung**

Organüberlebens bei nierentransplantierten Patienten zentraler Gegenstand aktueller Transplantationsforschung. Hilfreich wären dabei Parameter, die eine frühe Vorhersage über das Langzeit-Outcome nach Nierentransplantation zuließen, bzw. die eine frühe Identifizierung von Patienten mit eingeschränktem Organ- und/oder Gesamtüberleben ermöglichen, um diese dann präventiv noch engermaschiger zu kontrollieren und ggf. frühzeitig behandeln zu können (Galichon et al. 2013; Hariharan et al. 2002).

Hierfür wurden bisher Nierenfunktionsmarker wie Kreatinin, Cystatin und die eGFR untersucht, deren prädiktiver Wert von gut bis schlecht variiert (He et al. 2009; Kaplan et al. 2003; Lenihan et al. 2008; Rodrigo et al. 2013).

## **1.2 Biomarker der Nierenfunktion**

Um die Funktion der Niere abzubilden, werden in der klinischen Praxis am häufigsten die bekannten Marker Kreatinin, Harnstoff und BUN genutzt (Bagshaw et al. 2008). Deren mangelnde Sensitivität und Spezifität, vor allem bei akuten Veränderungen der Nierenfunktion, und deren Abhängigkeit von diversen Parametern wie Muskelmasse, Leberfunktion, Medikamenten oder Ernährungsstatus (Bagshaw et al. 2008; Lisowska-Myjak 2010) gibt weiterhin Anlass zur Suche nach alternativen Biomarkern der Nierenfunktion. Vor allem der am häufigsten genutzte Marker der glomerulären Filtration Kreatinin ist aufgrund seiner komplexen Kinetik ein nur eingeschränkt geeigneter Marker für die GFR und ungeeignet zur Früherkennung einer Nierenerkrankung, da der Kreatininspiegel im Blut erst ansteigt, wenn die Nierenfunktion bereits um ca. 50 % reduziert ist (= „Kreatinin-blinder-Bereich“) (Fiedler 2015; Hörl 2004).

Neue Biomarker zur Darstellung der Nierenfunktion wie Cystatin C und Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), Interleukin 18 (IL-18), kidney-injury molecule 1 (KIM-1) wurden untersucht (Belcher et al. 2011; Cruz et al. 2010; Devarajan 2007; Gharishvandi et al. 2015; Parikh et al. 2008), bisher hat nur Cystatin-C Einzug in die Routinediagnostik gehalten (Onopiuk et al. 2015), da die Reliabilität der anderen Marker und deren Einsatz im klinischen Alltag noch in weiteren Studien evaluiert werden muss (Vanmassenhove et al. 2013; Wasung et al. 2015).

In einer Vorgängerarbeit der zu Grunde liegenden Studie wurde C-terminal Agrin-Fragment (CAF) bei einer Kohorte von Nierentransplantierten als vielversprechender neuer Marker mit einem hohen Maß an Sensitivität und Spezifität für Änderungen der Nierenfunktion charakterisiert (Steubl et al. 2015; Steubl et al. 2013).

### 1.3 Das CAF-Protein

Das C-terminal Agrin-Fragment (CAF) ist ein Spaltprodukt von Agrin. Bei Agrin handelt es sich um ein großes Proteoglykan mit einem Gewicht von näherungsweise 250 kDa, das Bestandteil menschlicher neuronaler und neuromuskulärer Synapsen, sowie verschiedener menschlicher Basalmembranen ist. Auch in der Niere wird Agrin stark exprimiert: Es ist das Haupt-Heparan-Sulfat-Proteoglycan der glomerulären und tubulären Basalmembran und ubiquitärer Bestandteil der extrazellulären Matrix. Durch die Serinprotease Neurotrypsin wird von Agrin in  $\alpha$ -Position ein 110kDa-Fragment und in  $\beta$ -Position ein 22kDa-C-terminal Fragment (CAF) abgespalten (Abbildung 2). (Bütikofer et al. 2011; Daryadel et al. 2016; Groffen et al. 1998a; Groffen et al. 1998b; Hettwer et al. 2013; McCarthy 2015; Miner 2011; Stephan et al. 2008).

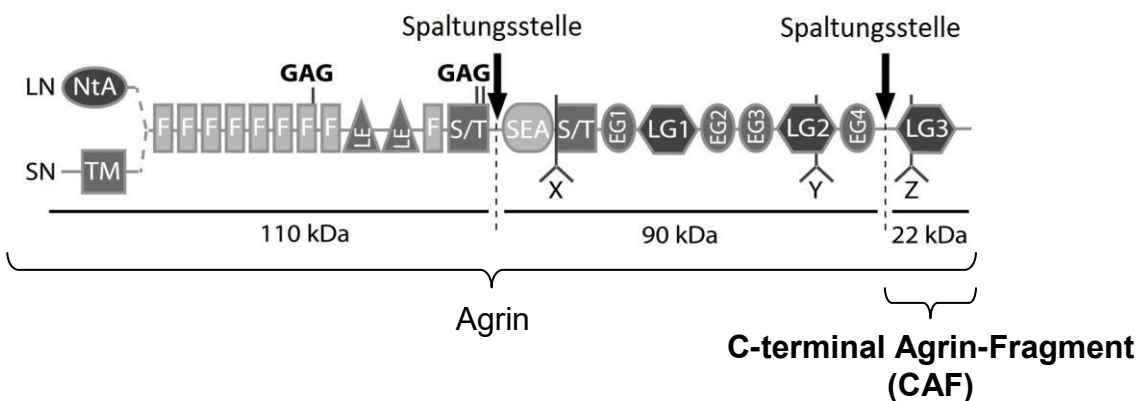


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Agrin-Moleküls mit C-terminal Agrin-Fragment (CAF), modifiziert nach Stephan et al. 2008

Aktuelle tierexperimentelle Forschungsergebnisse untermauern die Hypothese, dass das im Blut und Urin vorkommende und mit 22 kDa Molekülmasse eher kleine CAF, analog zu anderen niedermolekularen Plasmaproteinen (z.B. Transferrin) in der Niere glomerulär filtriert und im proximalen Tubulus reabsorbiert wird (Daryadel et al. 2016; Devetzis et al. 2015; Steubl et al. 2015).

Daher wurde CAF neben seiner Rolle in der Neurologie (Hettwer et al. 2013) auch für den Einsatz in der Nephrologie untersucht (Hettwer et al. 2013; Steubl et al. 2015; Steubl et al. 2013; Steubl et al. 2016).

### **1.4 CAF als potentieller Marker für die Nierenfunktion und das Outcome nach Nierentransplantation**

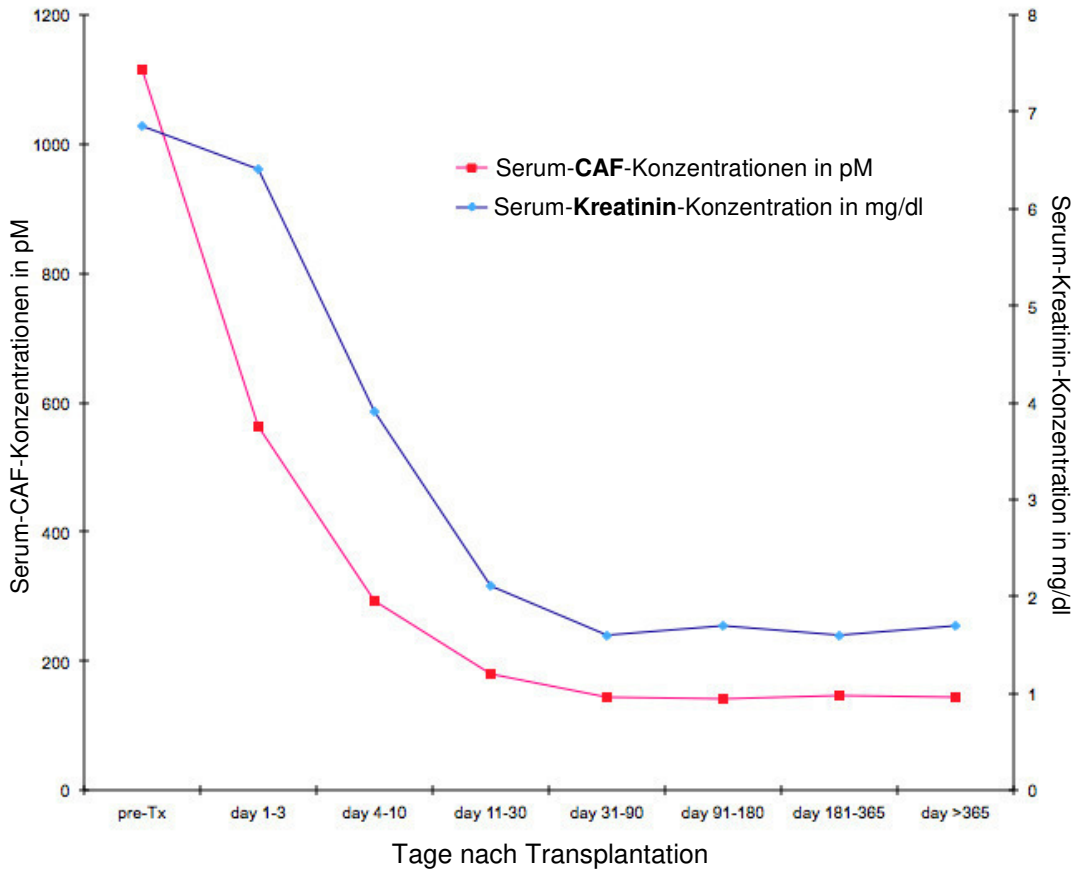
Bisher wurde die Funktion von CAF als Nierenfunktionsparameter in einigen Studien untersucht (Devetzis et al. 2015; Drey et al. 2015; Steubl et al. 2015; Steubl et al. 2013; Steubl et al. 2016): Dabei stellte sich u.a. heraus, dass CAF bei nierentransplantierten Patienten stark mit der aus Serum-Kreatininkonzentrationen berechneten eGFR assoziiert ist (Steubl et al. 2013). Die CAF-Konzentration lag vor der Transplantation um das 19-fache über der von Gesunden und fiel post-transplantationem signifikant schneller ab als die Kreatininkonzentration (Steubl et al. 2013). Sowohl für CAF als auch für Kreatinin wurden 1-3 Monate nach Transplantation stabile Serumkonzentrationen erreicht (Abbildung 3).

Darüber hinaus zeigte sich ein positiver Trend für den Zusammenhang zwischen der Delayed Graft Function (DGF) mit der CAF-Konzentration an Tag 1-3 post transplantationem (Steubl et al. 2013). Bei der DGF handelt es sich um eine verzögerte Funktionsaufnahme des Transplantats, die durch die Notwendigkeit einer Hämodialysetherapie innerhalb der ersten sieben Tage post transplantationem – sowohl für die Vorgängerstudie als auch für diese Arbeit - definiert wurde (Steubl et al. 2013). Im Vergleich von CAF mit Kreatinin in Bezug auf den prädiktiven Wert für eine DGF ließ sich ein positiver Trend für CAF beobachten (Steubl et al. 2013). In weiteren aktuellen Studien wurde gezeigt, dass CAF ein robuster Serum-Biomarker für die Messung der Nierenrestfunktion bei Peritonealdialysepatienten ist (Steubl et al. 2015) sowie signifikant mit der Nierenfunktion bei Patienten mit schwerer Sepsis/Septischem Schock (Drey et al. 2015), Typ II-Diabetes (Devetzis et al. 2015) und chronischer Niereninsuffizienz (Steubl et al. 2016) assoziiert ist.

Wie bereits erwähnt, wären zuverlässige Prognose-Marker der Nierenfunktion in Bezug auf das Langzeit-Outcome ein wichtiges Tool bei der Verbesserung des Patienten- und Organüberlebens bei Nierentransplantierten. Da CAF bereits als guter Biomarker der Nierenfunktion, sowie als Prädiktor einer DGF bei Nierentransplantierten identifiziert wurde (Steubl et al. 2013), ergibt sich die Hypothese, dass Serum-CAF-Konzentrationen möglicherweise auch in Bezug auf das Langzeit-Outcome nach Nierentransplantation einen prädiktiven Wert besitzen.

In dieser Arbeit wurde daher die Frage nach der Vorhersagequalität von frühen

postoperativen Serumwerten des C-terminal Agrin-Fragments auf den längerfristigen klinischen Verlauf bei nierentransplantierten Patienten evaluiert, indem deren Serum-CAF, Kreatinin- und Harnstoff-Stickstoff(= BUN)-Konzentrationen, sowie die eGFR (CKD-EPI (Levey et al. 2009)) 1-3 Monate nach Nierentransplantation gemessen und ihr Einfluss auf das Risiko für Gesamtmortalität, Transplantatversagen, Proteinurie und daraus kombinierte Endpunkte untersucht wurde.



Alle Werte sind als Mittelwert angegeben; pM = pikomolar; pre-Tx = prä transplantationem; mg/dl = Miligramm/Deziliter

Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf von mittleren Serum-CAF- und -Kreatininkonzentrationen bei nierentransplantierten Patienten vor und nach Transplantation (Steubl et al. 2013)



## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Studienpopulation**

Die Studie wurde von der Ethikkommission des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München, München (Deutschland) genehmigt und folgt den Vorgaben der „Deklaration von Helsinki“. Alle Forschungstätigkeiten, die dieser Arbeit zu Grunde liegen, hielten sich strikt an die Grundsätze der „Deklaration von Istanbul“, wie sie in der „Declaration of Istanbul on Organ Trafficking and Transplant Tourism“ aufgeführt werden. Alle in diese Studie involvierten Patienten erklärten ihr Einverständnis an der Teilnahme. Die Gesamtstudienpopulation besteht aus ESRD Patienten, die sich einer Nierentransplantation unterzogen (Steubl et al. 2013).

#### **2.1.1 Studiendesign**

Bei der Studie handelt es sich um eine retrospektive Beobachtungsstudie. Die Datenrecherche erfolgte über klinikinterne digitale Patientenakten und Archivaktensichtung im Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München, München (Deutschland), sowie ggf. über Kontaktierung von Hausärzten, Dialysezentren oder der Patienten persönlich.

#### **2.1.2 Demographiedaten der Patienten**

In die Studie eingeschlossen wurden 105 ESRD-Patienten, die sich zwischen 2007 und 2011 am Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München, München (Deutschland), einer Nieren- bzw. Nieren-Pankreas-Transplantation (sowohl Lebendspenden als auch postmortalen Organspenden) unterzogen hatten und deren Follow-up-Daten bis April 2014 erhoben wurden. Es gab keine speziellen Ein- oder Ausschlusskriterien für die teilnehmenden Patienten. Folgende demographische Daten der Transplantatempfänger wurden erhoben: Alter, Geschlecht, Prätransplantations-Ersatztherapie, Grunderkrankung, initiale immunsuppressive Therapie, Auftreten akuter Abstoßungen im ersten Jahr, Auftreten von verzögerter Transplantatfunktionsaufnahme (DGF= delayed graft function) und Body-Mass-Index (BMI). Terminiert wurde das Follow-up für jeden Patienten durch das Ende des Beobachtungszeitraumes oder wenn Tod oder Transplantatversagen eintraten.

### **2.1.3 Endpunkte**

Zu den primären Endpunkten der Studie zählten Gesamtmortalität (alle Todesursachen) und Transplantatversagen (um die Todesfälle korrigiert), das durch Wiederaufnahme der Dialysetherapie oder Retransplantation definiert wurde. Sekundärer Endpunkt waren eine signifikante Verschlechterung der Transplantatfunktion, die durch Verdopplung der Ausgangswerte (1 - 3 Monate post transplantationem) von Kreatinin (dKr) und/oder der Proteinurie (dPr) im Zeitraum bis zum Ende der Beobachtung definiert wurde (Svensson et al. 2012; Tsai et al. 2013). Weitere sekundäre Endpunkte wurden als kombinierte Endpunkte definiert: Transplantatversagen und/oder Verdopplung des Kreatinins (dKr) und/oder Verdopplung der Proteinurie (dPr), was als „Nierenfunktionverlust“ bezeichnet wurde. Gesamtmortalität und/oder Transplantatversagen wurde unter dem Oberbegriff „Mortalität/Transplantatversagen“ zusammengefasst.

## **2.2 Generierung/Messung der Proben**

Die Serum-Proben aller Patienten wurden 1 - 3 Monate nach Transplantation bei stabiler Nierenfunktion (Serum-Kreatinin-Spiegel-Schwankung < 1mg/dl innerhalb eines Monats vor Serum-Probeentnahme) abgenommen (Steubl et al. 2013). Serum-CAF, -Kreatinin und -Harnstoffkonzentrationen wurden bestimmt, die eGFR wurde nach der CKD-EPI-Formel aus Kreatinin berechnet (He et al. 2009; Lenihan et al. 2008; Levey et al. 2009). Soweit nicht anders angegeben, beziehen sich daher alle „eGFR“-Angaben im folgenden Text auf die eGFR (CKD-EPI).

Die Messung der CAF-Konzentrationen (Einheiten in pM) erfolgte mit einem handelsüblichen Enzyme-linked immunosorbent assay (= ELISA) Test (NTCAF Elisa Kit, Neurotune, Schlieren, Schweiz) (Neurotune AG 2015; Steubl et al. 2013). Die Kreatinin- und BUN (Blut-Harnstoff-Stickstoff)-Konzentrationen wurden mittels herkömmlicher photometrischer Messung bestimmt. Die Normwert des Zentrallabors des Instituts für Klinische Chemie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München, München (Deutschland) für Kreatinin liegen bei Männern zwischen 0,7 - 1,3 mg/dl bzw. 61,9 - 114,9 µmol/l bei Frauen zwischen 0,5 - 1,1 mg/dl bzw. 44,2 - 97,2 µmol/l. Für BUN gilt ein Referenzbereich von 7 - 18 mg/dl bzw. 2,5 - 6,43 mmol/l. Durchgeführt wurden die Messungen vom Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München, München (Deutschland), Univ.-Prof. Dr. med. J. Ruland.

### **2.3 Statistik**

Für die statistische Analyse wurde IBM SPSS 20, sowie R 3.1.0 (R Core Team 2015) verwendet. Kontinuierliche Variablen werden als Mittelwert mit Standardabweichung (SD) oder Median mit Minimum;Maximum, kategorische Variablen in absoluten Zahlen und Prozentangaben angegeben.

Die Rang-Korrelation nach Spearman wurde zur Berechnung der univariaten Korrelation zwischen den Serum-CAF-Werten und den Konzentrationen von Serum-Kreatinin, Serum-BUN und der eGFR verwendet. Der zugehörige Rangkorrelationskoeffizient  $r$  veranschaulicht jeweils die Stärke des linearen Zusammenhangs zwischen den zwei korrelierten Parametern. Überlebenszeitanalysen, also die Eintrittswahrscheinlichkeit eines bestimmten Ereignisses/Endpunktes innerhalb des Beobachtungszeitraums, wurden mittels Kaplan-Meier-Schätzer durchgeführt, für die Feststellung der kumulativen Inzidenzrate im Fall konkurrierender Risiken (z.B. Transplantatversagen/Nierenfunktionsverlust und Tod) kam der Aalen-Johansen-Schätzer (Aalen et al. 1978) zum Einsatz. Um die Assoziation der Parameter CAF, Kreatinin, Harnstoff und eGFR mit den oben genannten Endpunkten zu evaluieren, wurde eine univariate Cox-Regressionsanalyse durchgeführt. Die Ergebnisse werden als Hazard Ratio (HR) mit korrespondierenden 95%-Konfidenzintervallen (KI) dargestellt, bei denen eine Veränderung um eine Einheit (z.B. CAF Konzentration von 323 pM auf 324 pM) eine Risikoerhöhung, die dem Hazard Ratio entspricht, zur Folge hat.

Der absolute Risikoanstieg muss gemäß der folgenden Exponentialfunktion berechnet werden, in die auch die Serum-CAF-Werte aus den Quartilen (Tabelle 1) einfließen:

Absolute Risikoänderung =  $\exp(\ln(\text{HR}) \times (\text{Unterschied zwischen zwei Konzentrationen}))$ .

Diejenigen Parameter, die eine signifikante Assoziation mit einem der korrespondierenden Endpunkte zeigten, wurden durch multivariate Cox-Regressionsanalyse füreinander adjustiert. Für Parameter, deren signifikante Assoziation mit einem der Endpunkte nach dieser Adjustierung bestehen blieb, wurde mit Hilfe des Youden-Index (= Sensitivität + Spezifität - 1) anhand einer Receiver-Operating-Characteristics (ROC) ein optimaler Cut-Off-Wert bestimmt. Die ROC-Analyse wird zur Bewertung und Optimierung der Analyse-Methoden eingesetzt, mittels der ROC-Kurve kann man die Abhängigkeit der Effizienz mit der Fehlerrate für verschiedene Parameterwerte darstellen. Als Effektgröße bzw. Qualitätsmaß bei der ROC-Analyse wird die Area under the curve (AUC), also die Fläche

unter der ROC-Kurve berechnet. Die Fläche unter einer „optimalen“ Kurve liegt zwischen 0,5 und 1. 0,5 ist dabei der schlechteste Wert: er beschreibt eine ROC-Kurve an der Diagonalen (durch das ROC-Diagramm), was einem auf einen Zufallsprozess hindeutet. Die Kurve eines optimalen AUC-Werts von 1 steigt zunächst senkrecht an der Ordinate an.

Für alle Endpunkte wurden multiple Regressionsmodelle mit CAF - adjustiert für die Confounder (= Störfaktoren) Transplantationszahl, postmortale vs. Lebendspende, Geschlecht, Dauer der Nierenersatztherapie vor Transplantation, BMI und Empfängeralter - berechnet. Alle angegebenen P-Werte sind zweiseitig mit einem Signifikanzniveau von  $< 0,05$  und nicht für multiples Testen korrigiert.

Im Falle von Patienten, die zur Datenerhebung innerhalb des Beobachtungszeitraum nicht mehr zur Verfügung standen („Loss-to-follow-up“) flossen die Daten bis zum letzten Zeitpunkt der Erfassung in die statistische Analyse ein.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Patientendemographie

Es wurden insgesamt 105 Patienten in die Studie eingeschlossen. Der Median der Follow-up-Zeit betrug 3,1 (0,14;7,3) Jahre.

Das mittlere Alter der Nierentransplantatempfänger war 50,7±13,7 Jahre, 68 (64,8 %) Patienten waren männlich. Der mittlere Body-mass-Index (BMI) lag bei 26,0±6,3 kg/m<sup>2</sup>. 98 Patienten unterzogen sich einer solitären Nierentransplantation, bei 7 Patienten wurde eine simultane Nieren-/Pankreas-transplantation vorgenommen. 74 Patienten erhielten eine postmortale Spende. (Tabelle 2)

Grunderkrankungen und weitere Patienten-bezogene Parameter sind in Tabelle 2 aufgeführt. Ausgewählte Demographie-Daten sind in Quartile nach Serum-CAF-Konzentrationen aufgeteilt. (Tabelle 1)

**Tabelle 1: Verteilung der Demographiedaten innerhalb verschiedener, nach Serum-CAF-Konzentration eingeteilter Quartile**

	0-25%-Quartil (n = 26)	25-50%-Quartil (n = 26)	50-75%-Quartil (n = 27)	75-100%-Quartil (n = 26)
CAF-Konzentration/Quartil (pM)	< 99,049	99,049 - 143,672	143,672 - 238,333	> 238,333
Alter (a)	44,5±10,9	51,5±13,2	52,7±13,6	54,7±14,2
Geschlecht (m/w)	12/14	15/11	18/9	16/10
Transplantationszahl (1/2/3)	21/5/0	21/5/0	19/6/1	22/4/0
Body-mass-index (BMI)	26,6±6,6	25,2±5,5	24,0±3,6	28,5±4,8
Art des Transplantats (LS/pmS)	14/12	16/10	21/6	20/6
Diabetes mellitus prä-Tx (ja/nein)	5/21	3/23	4/23	6/20
Abstoßung im ersten Jahr post-Tx (ja/nein)	1/25	4/22	6/21	6/20
Gesamtdauer der Dialyse prä-Tx (a)	7,3±6,1	4,6±4,2	6,1±4,4	5,6±3,7

a = Jahr; LS = Lebendspende; m = männlich; n = Anzahl der Patienten; pM = pikomolar; pmS = postmortale Spende; post-Tx = post transplantationem; prä-Tx = prä transplantationem; w = weiblich

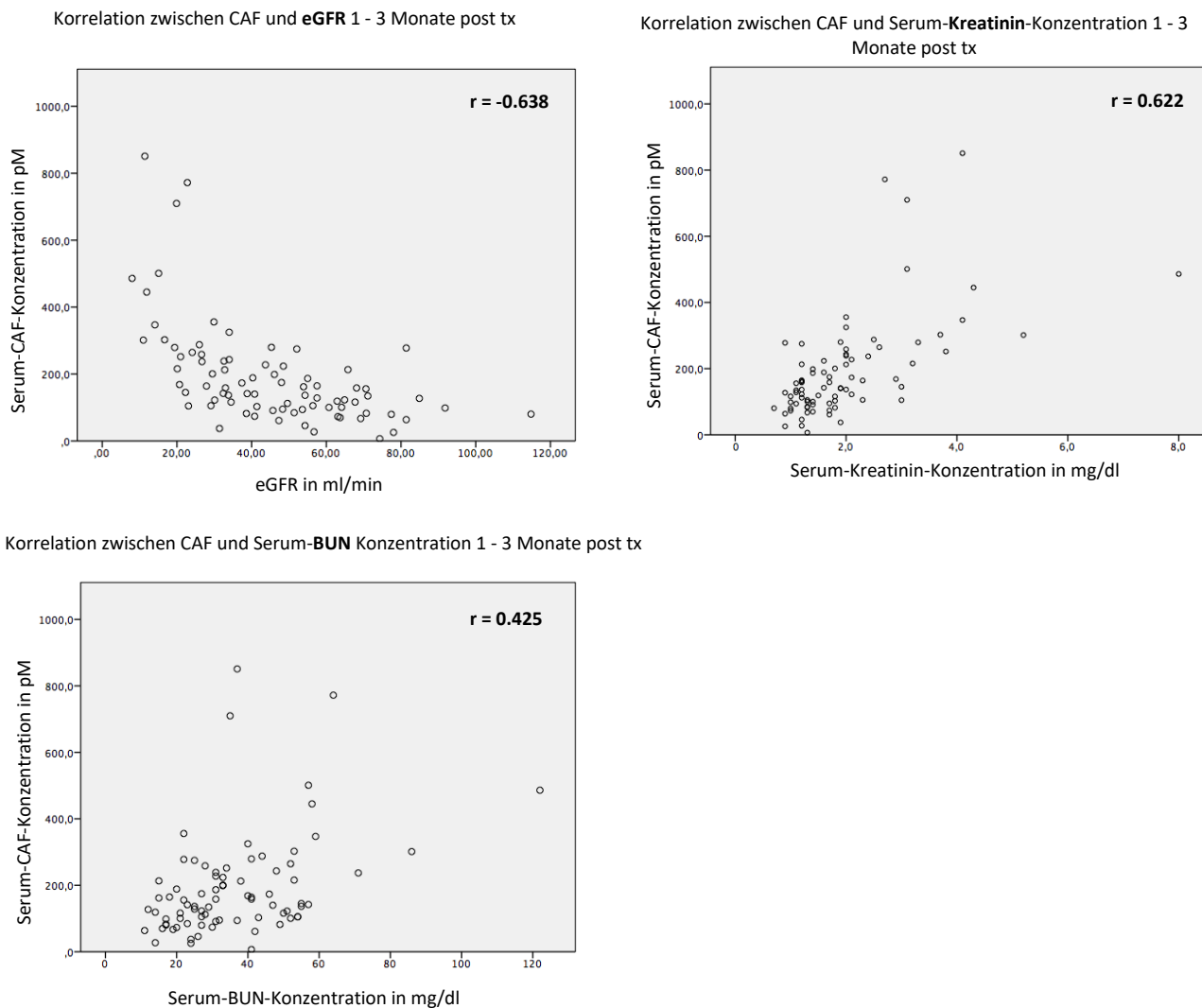
Tabelle 2: Demographiedaten der Nierentransplantatempfänger

Parameter	Ergebnisse
Alter (Jahre)	50,7±13,7
Geschlecht	
Männlich	68 (64,8)
Weiblich	37 (35,2)
Body-mass-index BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,0±6,3
Transplantation	
Niere	98 (93,3)
Niere-Pankreas	7 (6,7)
Art der Spende	
Postmortale Spende	74 (70,5)
Lebendspende	31 (29,5)
Renale Grunderkrankung	
Diabetische Nephropathie	22 (21,0)
Vaskuläre Nephropathie	6 (5,7)
Zystennieren (ADPKD)	11 (10,5)
Immunologisch (IgA-Nephropathie, GwP, LE, MPGN)	34 (32,4)
Andere (hereditär, interstitielle Erkrankung, unbekannt)	32 (30,5)
Nierenersatztherapie vor Transplantation	
Keine präemptive Therapie	5 (4,8)
Hämodialyse	79 (75,2)
Peritonealdialyse	10 (9,5)
Sowohl Hämodialyse als auch Peritonealdialyse	11 (10,5)
Nierenersatztherapie (Jahre)	6,6±11,5
Diabetes mellitus (prä transplantationem)	23 (21,9)
Immunsuppression – Calcineurininhibitor	
Tacrolimus	63 (60,0)
Cyclosporine	23 (21,9)
Wechsel von Cyclosporin auf Tacrolimus	15 (14,3)
Wechsel von Tacrolimus auf Cyclosporin	4 (3,8)
Patienten mit verzögerter Transplantatfunktionsaufnahme (DGF)	38 (3,2)
Patienten mit Abstoßung im ersten Jahr	35 (33,3)
Biomarkerkonzentrationen 1-3 Monate nach Transplantation	
CAF (in pM)	191,9 (152,4)
Kreatinin (in µmol/l)	176,0 (96,8)
BUN (in mmol/l)	12,6 (6,2)
eGFR (CKD-EPI) (in ml/min)	44,9 (21,2)

Die Daten werden als Mittelwert±Standardabweichung oder als absolute Zahlen (n) mit Prozentangabe (%) in Klammern angegeben; ADPKD = autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung; BUN = Harnstoff-Stickstoff in mmol/l; CAF = C-terminal Agrin-Fragment in pM; DGF = delayed graft function; eGFR (CKD-EPI) = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate in ml/min; GwP = Granulomatose mit Polyangiitis (ehemals: Wegener-Granulomatose); LE = Lupus erythematoses; MPGN = membranoproliferative Glomerulonephritis

### 3.2 Korrelation zwischen CAF-Konzentrationen und Serum-Biomarkern/eGFR

CAF war in univariaten Korrelationsanalysen signifikant mit Kreatinin, BUN und eGFR assoziiert. Die stärkste negative Korrelation wurde für CAF und eGFR ( $r = 0,638$ ,  $p < 0,001$ ; Abbildung 4), die stärkste positive Korrelation für CAF und Kreatinin ( $r = 0,622$ ,  $p < 0,001$ ; Abbildung 4) ermittelt. Die Assoziation zwischen CAF und BUN war schwächer ausgeprägt ( $r = 0,425$ ,  $p < 0,001$ ; Abbildung 4).



BUN = Blut-Harnstoff-Stickstoff; CAF = C-terminal Agrin-Fragment; mg/dl = Milligramm/Deziliter; ml/min = Milliliter/Minute; pM = pikomolar; post tx = post transplantationem; r = Korrelationskoeffizients

Abbildung 4: Streudiagramm (Scatterplot) der univariaten Korrelationen zwischen Serum-CAF-Konzentrationen und eGFR/Serum-Kreatinin-Konzentrationen/Serum-BUN-Konzentrationen

### **3.3 Univariate Analysen der Endpunkte**

#### **3.3.1 Primärer Endpunkt: Gesamtmortalität (univariate Analyse)**

Innerhalb des Beobachtungszeitraums verstarben 21 Patienten (20,0 %) (Tabelle 3). Todesursache war in sechs Fällen eine Infektion, in zwei Fällen ein kardiovaskuläres Ereignis, in zwei Fällen Malignome, in sechs Fällen andere Ursachen (z.B. cerebrovaskuläre Ereignisse), in fünf Fällen war die Todesursache unbekannt. Die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei 78 % (95%-Konfidenzintervall = 69 % - 88 %). In univariaten Analysen zeigten nur die CAF- und BUN- Konzentrationen einen Zusammenhang mit der Gesamtmortalität (CAF: HR = 1,003; BUN: HR = 1,037; Tabelle 3). So weist zum Beispiel ein Anstieg der CAF-Konzentration um 35 pM (entspricht der Differenz zwischen der mittleren Konzentration der Gruppe die den Endpunkt erreicht vs. nicht erreicht hat; Tabelle 3) eine 1,1-fache Wahrscheinlichkeit auf, den Endpunkt „Gesamtmortalität“ zu erreichen. Für BUN errechnete sich - bei einer Differenz zwischen den mittleren Konzentrationen der Gruppe, die den Endpunkt erreicht vs. nicht erreicht hat (entspricht 2,9 mmol/l) (Tabelle 3) - eine 1,3-fache Risikoerhöhung zu versterben. Für Kreatinin und die eGFR ließ sich kein Zusammenhang mit diesem Endpunkt ermitteln.

#### **3.3.2 Primärer Endpunkt: Transplantatversagen (univariate Analyse)**

11 Patienten (10,5 %) erlitten ein Transplantatversagen (um die Todesfälle korrigiert) (Tabelle 3), wobei in drei Fällen eine akute, in sechs Fällen eine chronische Abstoßung sowie jeweils in einem Fall eine venöse Thrombose und Ischämie ursächlich war. Die kumulative 5-Jahres-Inzidenzrate für Transplantatversagen lag bei 11,9 % (95%-KI = 11,7 % - 12,7 %). Alle Serum-Biomarker waren signifikant mit Transplantatversagen assoziiert. (CAF: HR = 1,006; Kreatinin: HR = 2,396; BUN: HR = 1,048; Tabelle 3). So führt zum Beispiel ein Anstieg von 187 pM der CAF-Konzentration (entspricht der Differenz der mittleren Konzentration der Gruppe die den Endpunkt erreicht vs. nicht erreicht hat; Tabelle 3) zu einer 3,1-fachen Wahrscheinlichkeit ein Transplantatversagen zu erleiden. Analog ergab sich bei der Berechnung mittels der Differenzen der mittleren Konzentrationen (Tabelle 3) von Kreatinin eine 2,6-fache und von BUN eine 1,7-fache Risikoerhöhung. Auch die eGFR prognostizierte ein Transplantatversagen (CKD-EPI: HR = 0,94 und p = 0,006 (Tabelle 3); 0,45-faches Risiko bei höheren eGFR-Werten).



### **3.3.3 Primärer Endpunkt: Verdopplung von Proteinurie und Kreatinin (univariate Analyse)**

Bei 21 (20 %) Patienten konnte man eine Verdopplung der Proteinurie, bei 9 (8,6 %) eine Verdopplung von Kreatinin feststellen (Tabelle 3). CAF war als einziger der untersuchten Parameter mit einer Verdopplung der Proteinurie innerhalb des Beobachtungszeitraums assoziiert (CAF: HR = 1,005; Tabelle 3). Für Kreatinin, BUN und eGFR konnte keine signifikante Vorhersagequalität für diesen Endpunkt gezeigt werden.

Ein Anstieg der CAF-Konzentration um 104 pM (entspricht der Differenz der mittleren Konzentration der Gruppe die den Endpunkt erreicht vs. nicht erreicht hat; Tabelle 3) war mit einem 1,7-fachen Risiko innerhalb des Beobachtungszeitraums eine Verdopplung der Proteinurie zu erleiden, assoziiert. Im Gegensatz dazu ließ sich für keinen der Marker (CAF, Kreatinin, BUN, eGFR) ein signifikanter Zusammenhang mit einer Verdopplung des Kreatinins ermitteln (Tabelle 3).

### **3.3.4 Kombierter sekundärer Endpunkt: „Nierenfunktionsverlust“ (univariate Analyse)**

Innerhalb des Beobachtungszeitraums erreichten 28 Patienten (26,7 %) den sekundären Endpunkt „Nierenfunktionsverlust“, der durch „Transplantatversagen (um die Todesfälle korrigiert)“ und/oder „Verdopplung des Kreatinins“ und/oder „Verdopplung der Proteinurie“ definiert wurde. Dabei führte die Berechnung der kumulativen Inzidenz zu einer 28,2 % (95%-KI = 25,4 % - 31,0 %) Wahrscheinlichkeit in den ersten 60 Monaten post transplantationem den Endpunkt zu erleiden. Alle evaluierten Serumparameter, sowie die eGFR waren signifikant mit „Nierenfunktionsverlust“ assoziiert (CAF: HR = 1,005; Kreatinin: HR = 1,767; BUN: HR = 1,038; eGFR: HR = 0,966; Tabelle 3): Ein Anstieg der CAF-Konzentration um 138 pM (entspricht der Differenz der mittleren Konzentration der Gruppe die den Endpunkt erreicht vs. nicht erreicht hat; Tabelle 3) führte zu einer Verdopplung der Wahrscheinlichkeit, den kombinierten Endpunkt zu erreichen, bei Kreatinin und BUN war die Wahrscheinlichkeit mit einem 1,4-fachen Risiko geringer ausgeprägt. In Bezug auf die eGFR war eine Erhöhung von 12,8 ml/min mit einer 0,64-fachen Risikoreduktion assoziiert, den Endpunkt zu erreichen (Tabelle 3).

### **3.3.5 Kombierter sekundärer Endpunkt: „Mortalität/Transplantatversagen“ (univariate Analyse)**

29 (27,6 %) Patienten wurden in der Beobachtungszeit für den kombinierten Endpunkt

„Mortalität/Transplantatversagen“ erfasst. Alle Parameter waren signifikant mit diesem Endpunkt assoziiert (CAF: HR = 1,005; Kreatinin: HR = 1,942; BUN: HR = 1,044; eGFR: HR = 0,972; Tabelle 3). Die größte Wahrscheinlichkeit den Endpunkt zu erleiden wurde im Zusammenhang mit einer erhöhten CAF-Konzentration festgestellt: Ein Anstieg der Serum-CAF-Konzentration von 129 pM (entspricht der Differenz der mittleren Konzentration der Gruppe die den Endpunkt „Mortalität/Transplantatversagen“ erreicht vs. nicht erreicht hat; Tabelle 3) führte zu einem 1,9-fach erhöhten Risiko für den Endpunkt. Analog ergab sich für BUN eine 1,7-fache und für Kreatinin ein 1,6-fache Risikoerhöhung, sowie eine 0,74-fache Risikoreduktion für die Berechnung mit der eGFR.

## Ergebnisse

**Tabelle 3: Univariate Analysen der Assoziation der 1-3 Monats-Prädiktoren und primären/sekundären Endpunkten**

Endpunkte	Patienten, EP erreicht	Patienten, EP nicht erreicht	Univariate HR (95%-KI)	Berechnete HR für eine SD	P-Wert
<b>Gesamtmortalität</b>	<b>21</b>	<b>84</b>			
CAF (pM)	220,1±184,9	185,3±143,1	<b>1,003 (1,0-1,01)</b>	<b>1,74</b>	<b>0,043</b>
Kreatinin (µmol/l)	183,0±85,4	170,7±100,3	1,408 (0,917-2,16)	-	0,118
BUN (mmol/l)	15,0±5,8	12,1±6,2	<b>1,037 (1,01-1,06)</b>	<b>1,81</b>	<b>0,006</b>
eGFR (CKD-EPI) (ml/min)	42,1±27,5	45,6±19,4	0,986 (0,96-1,01)	-	0,28
<b>Transplantatversagen</b>	<b>11</b>	<b>94</b>			
CAF (pM)	356,0±25,4	169,1±115,1	<b>1,006 (1,0-1,01)</b>	<b>4,50</b>	<b>&lt;0,001</b>
Kreatinin (µmol/l)	272,8±167,2	176,0±70,4	<b>2,396 (1,59-3,6)</b>	<b>5,26</b>	<b>&lt;0,001</b>
BUN (mmol/l)	17,1±9,1	12,7±5,4	<b>1,048 (1,02-1,08)</b>	<b>3,32</b>	<b>0,001</b>
eGFR (CKD-EPI) (ml/min)	30,3±17,0	43,4±21,0	<b>0,941 (0,9-0,983)</b>	<b>0,36</b>	<b>0,006</b>
<b>dKr</b>	<b>9</b>	<b>96</b>			
CAF (pM)	148,4±69,8	196,6±158,1	0,997 (0,988-1,01)	-	0,457
Kreatinin (µmol/l)	149,6±44,0	176,0±105,6	0,845 (0,312-2,29)	-	0,74
BUN (mmol/l)	12,7±3,1	12,6±6,5	1,025 (0,981-1,07)	-	0,272
eGFR (CKD-EPI) (ml/min)	44,4±9,6	44,9±22,2	0,991 (0,953-1,03)	-	0,636
<b>dPr</b>	<b>21</b>	<b>84</b>			
CAF (pM)	271,0±119,2	167,5±117,7	<b>1,005 (1,0-1,01)</b>	<b>1,81</b>	<b>&lt;0,001</b>
Kreatinin (µmol/l)	184,8±79,2	167,2±105,6	1,41 (0,935-2,13)	-	0,101
BUN (mmol/l)	14,0±4,9	12,3±6,6	1,026 (0,999-1,05)	-	0,061
eGFR (CKD-EPI) (ml/min)	36,3±15,6	46,9±21,8	0,974 (0,951-1,0)	-	0,054
<b>„Nierenfunktionsverlust“</b>	<b>28</b>	<b>77</b>			
CAF (pM)	285,6±213,9	147,5±80,3	<b>1,005 (1,0-1,01)</b>	<b>2,91</b>	<b>&lt;0,001</b>
Kreatinin (µmol/l)	211,2±123,2	158,4±79,2	<b>1,767 (1,31-2,39)</b>	<b>2,22</b>	<b>&lt;0,001</b>
BUN (mmol/l)	15,0±7,3	11,6±5,4	<b>1,038 (1,02-1,06)</b>	<b>2,14</b>	<b>&lt;0,001</b>
eGFR (CKD-EPI) (ml/min)	36,2±17,7	49,0±21,5	<b>0,966 (0,943-0,988)</b>	<b>0,54</b>	<b>0,003</b>
<b>Mortalität/Transplantatversagen</b>	<b>29</b>	<b>76</b>			
CAF (pM)	286,0±164,8	156,7±84,1	<b>1,005 (1,0-1,01)</b>	<b>2,27</b>	<b>&lt;0,001</b>
Kreatinin (µmol/l)	220,0±105,6	158,4±70,4	<b>1,942 (1,43-2,64)</b>	<b>2,22</b>	<b>&lt;0,001</b>
BUN (mmol/l)	15,8±6,5	11,4±5,1	<b>1,044 (1,02-1,07)</b>	<b>2,20</b>	<b>&lt;0,001</b>
eGFR (CKD-EPI) (ml/min)	38,0±21,6	47,6±18,6	<b>0,972 (0,94-0,995)</b>	<b>0,54</b>	<b>0,019</b>

Univariate Regressionsanalyse der Gesamtmortalität (ACM = all-cause mortality), dKr (Verdopplung des Kreatinins), dPr (Verdopplung der Proteinurie), „Nierenfunktionsverlust“ (Transplantatversagen und/oder Verdopplung des Kreatinins und/oder Verdopplung der Proteinurie) und Mortalität/Transplantatversagen.

Berechnete HR für eine SD = die Standardabweichung der Gruppe, die den Endpunkt erreicht hat wurde benutzt; BUN = Blut-Harnstoff-Stickstoff (Serumkonzentrationen); CAF = C-terminal Agrin-Fragment (Serumkonzentrationen); eGFR (CKD-EPI) = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; EP = Endpunkt; HR = Hazard Ratio für die Erhöhung um eine Einheit des jeweiligen Biomarkers, z.B. um 1 pM bei CAF und 1 mg/dl bei Kreatinin); KI = Konfidenzintervall; pM = pikomolar; SD = Standardabweichung

### 3.4 Multivariate Analysen der Endpunkte

#### 3.4.1 Primärer Endpunkt: Gesamtmortalität (multivariate Analyse)

Nach der gegenseitigen Adjustierung der Serummarker CAF und BUN, die in univariaten Analysen signifikant mit der Gesamtmortalität assoziiert waren (siehe Kap. 3.3), konnte keine Assoziation von CAF mit dem Endpunkt mehr nachgewiesen werden (CAF: HR = 1,002 und  $p = 0,358$ ). Für die Serum-BUN-Konzentrationen blieb die Signifikanz bestehen (BUN: HR = 1,036 und  $p = 0,035$ ). In ROC-Analysen zeigte BUN mit einer Area under the curve (AUC) von 0,667 und einem Cut-off-Wert von 14,2 mmol/l eine Vorhersagequalität für die Gesamtmortalität. Auch nach Adjustierung für die Confounder (Kap. 2.3) zeigte sich keine signifikante Assoziation von CAF (CAF: HR = 1,002 und  $p = 0,351$ ) mit dem Endpunkt.

#### 3.4.2 Primärer Endpunkt: Transplantatversagen (multivariate Analyse)

In univariaten Analysen waren alle Parameter (CAF, Kreatinin, BUN, eGFR) signifikant mit dem Endpunkt Transplantatversagen assoziiert (Kap. 3.3.2). Die Signifikanz bestand auch nach gegenseitiger Adjustierung von CAF mit Kreatinin weiterhin für beide Serum-Marker (CAF: HR = 1,005; Kreatinin: HR = 1,934; CAF und Kreatinin:  $p = 0,004$ ). Nach Adjustierung von CAF mit BUN blieb nur die Assoziation von CAF mit dem Transplantatversagen signifikant assoziiert (CAF: HR = 1,005 und  $p = 0,001$ ; BUN: HR = 1,031 und  $p = 0,052$ ). Dasselbe gilt für die Adjustierung von CAF mit der eGFR: auch in diesem Fall war nur CAF weiter signifikant mit dem Endpunkt assoziiert (CAF: HR = 1,005 und  $p = 0,008$ ; eGFR: HR = 0,957 und  $p = 0,106$ ). Eine AUC von 0,721 mit einem Cut-off-Wert der CAF-Konzentration von 336 pM wurde in einer ROC-Analyse für CAF ermittelt. Für Kreatinin zeigte sich eine AUC von 0,771 und ein Cut-off-Wert von 180,4  $\mu\text{mol/l}$  (Kreatinin-Konzentration) (Abbildung 5). Die Assoziation von CAF mit Transplantatversagen blieb nach der multivariaten Analyse erhalten (CAF: HR = 1,009 und  $p < 0,001$ ).

#### 3.4.3 Primärer Endpunkt: Verdopplung von Proteinurie (multivariate Analyse)

Da der Endpunkt „Verdopplung der Proteinurie“ nur mit CAF signifikant assoziiert war, wurde keine Adjustierung für andere Parameter (Kreatinin, BUN, eGFR) vorgenommen. In den univariaten Analysen konnte eine Assoziation der „Ausgangsproteinurie“ (1 - 3 Monate

## **Ergebnisse**

post transplantationem) mit einer Proteinurie, die am Ende des Follow-up-Beobachtungszeitraums auftrat, festgestellt werden (HR = 1,01 und  $p = 0,019$ ). Daher wurden CAF und die „Ausgangsproteinurie“ füreinander adjustiert, woraufhin die „Ausgangsproteinurie“ („Ausgangsproteinurie“: HR = 1,009 und  $p = 0,102$ ) im Gegensatz zu CAF (CAF: HR = 1,004 und  $p < 0,001$ ) keine Vorhersagequalität mehr für den Endpunkt hatte. Die ROC-Analyse für die CAF-Konzentrationen ergab eine AUC von 0,647 mit einem Cut-off-Wert von 160,2 pM. Auch in der multivariaten Analyse blieb CAF signifikant mit dem Endpunkt assoziiert (CAF: HR = 1,004 und  $p = 0,008$ ).

In der univariaten Analyse ließ sich kein Zusammenhang der Parameter mit dem Endpunkt „Verdopplung des Kreatinins“ nachweisen, folglich wurden keine multivariaten Analysen erhoben.

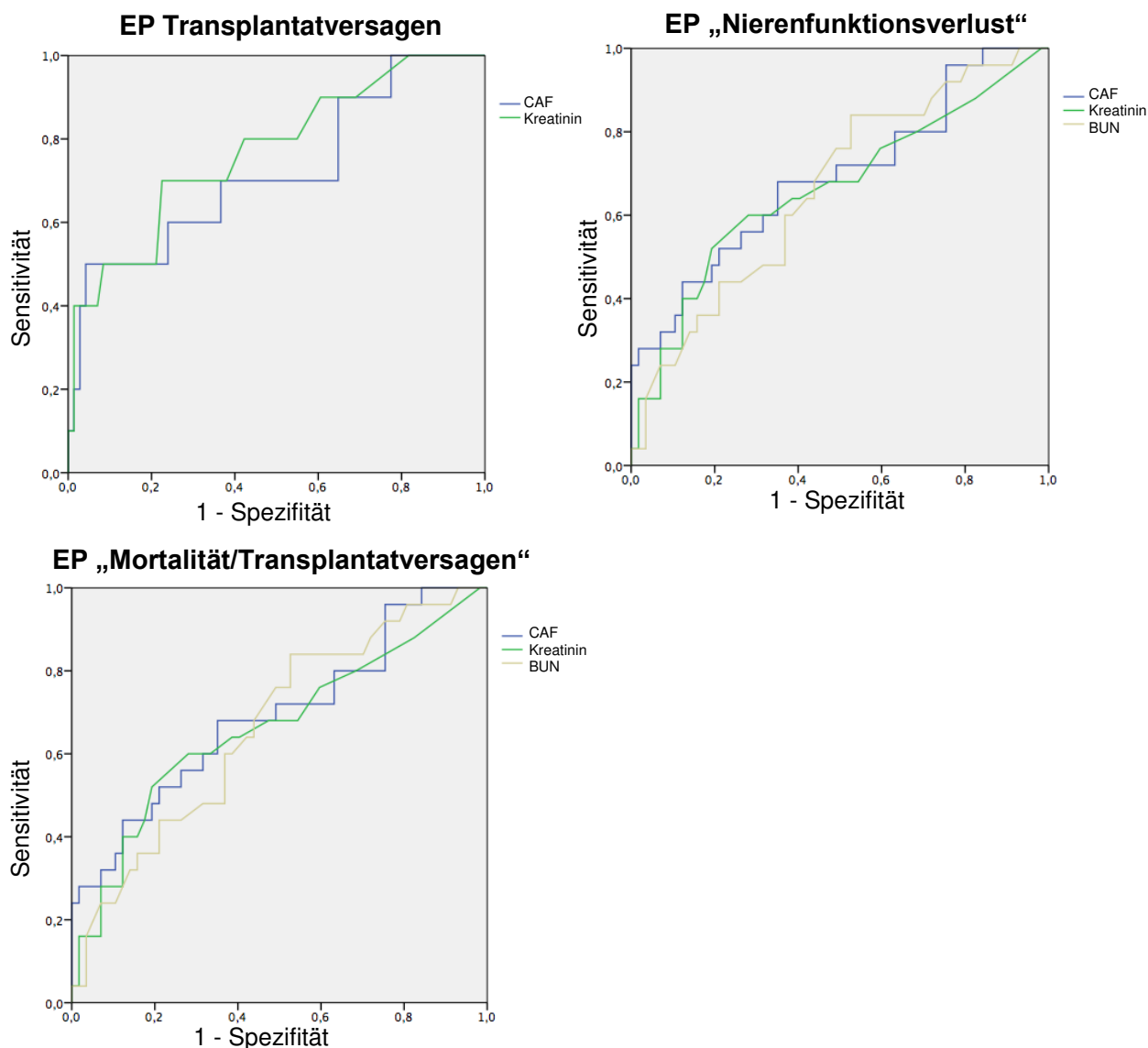
### **3.4.4 Kombiniertes sekundäres Endpunkt: „Nierenfunktionsverlust“ (multivariate Analyse)**

Da der kombinierte Endpunkt „Nierenfunktionsverlust“ („um die Todesfälle korrigiertes Transplantatversagen“ und/oder „Verdopplung des Kreatinins“ und/oder „Verdopplung der Proteinurie“) in univariaten Analysen signifikant mit allen Parametern (CAF, Kreatinin, BUN, eGFR) assoziiert war, wurde CAF für alle Biomarker und die eGFR adjustiert. Dabei blieb bei allen Vorhersageparameter - bis auf die eGFR (eGFR: HR = 0,979 und  $p = 0,146$ ) – auch nach Adjustierung die signifikante Assoziation mit dem Endpunkt bestehen (CAF: HR = 1,004 und  $p < 0,001$ ; Kreatinin: HR = 1,471 und  $p = 0,037$ ; BUN: HR = 1,025 und  $p = 0,038$ ). In der ROC-Analyse lag die AUC für CAF bei 0,691 mit einem Cut-off-Wert von 160,2 pM (Abbildung 5), die AUC für Kreatinin mit einem Cut-off-Wert von 171,6  $\mu\text{mol/l}$  bei 0,662. Für BUN zeigte sich analog eine AUC von 0,663 und ein Cut-off-Wert für die Serum-BUN-Konzentration von 160,2 pM (Abbildung 5). Auch nach multivariaten Adjustierungen von CAF blieb die Signifikanz der Assoziation mit „Nierenfunktionsverlust“ weiterhin bestehen (CAF: HR = 1,005 und  $p < 0,001$ ).

### **3.4.5 Kombiniertes sekundäres Endpunkt: „Mortalität/Transplantatversagen“ (multivariate Analyse)**

Für den kombinierten Endpunkt „Mortalität/Transplantatversagen“ zeigten alle Parameter (CAF, Kreatinin, BUN, eGFR) eine signifikante Vorhersagequalität. Daher wurde CAF in einem weiteren Schritt für alle Serummarker (CAF, Kreatinin, BUN) und die eGFR adjustiert, woraufhin sich – nur für die eGFR (eGFR: HR = 0,992 und  $p = 0,559$ ) eine

Änderung des Signifikanzniveaus ergab (CAF: HR = 1,005 und p = 0,001; HR = 1,004 und p < 0,001; Kreatinin: HR = 1,564 und p = 0,028; BUN: HR = 1,035 und p = 0,006). Für CAF, Kreatinin und BUN wurde in einer ROC-Analyse die AUC und der Cut-off-Wert bestimmt (CAF: AUC = 0,647 und Cut-off = 136,7 pM; Kreatinin: AUC = 0,654 und Cut-off = 171,6 µmol/l; BUN: AUC = 0,708 und Cut-off = 9,8 mmol/l (Abbildung 5). Bei der multivariaten Adjustierung blieb CAF signifikant mit dem Endpunkt assoziiert (HR = 1,006 und p < 0,001).



BUN = Serumkonzentration von Harnstoff-Stickstoff; CAF = Serumkonzentration von C-terminal Agrin-Fragment; EP = Endpunkt; Kreatinin = Serumkonzentration von Kreatinin, ROC = receiver operating characteristic

Abbildung 5: ROC-Kurven der Serummarker, die nach Adjustierung untereinander signifikant mit den abgebildeten Endpunkten assoziiert sind

### **4. Diskussion**

Dialyse und Nierentransplantation stehen heute als Nierenersatzverfahren für ESRD-Patienten zu Verfügung. Die Überlebensrate bei Transplantierten ist besser als bei Dialyse-Patienten (Schnuelle et al. 1998), wenngleich die Lebenserwartung der transplantierten Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung immer noch deutlich reduziert ist (Arend et al. 1997). Ursache dafür scheinen vor allem Probleme in der eher späten Posttransplantationsphase zu sein, da die Ein-Jahres-Überlebensrate in den letzten Jahrzehnten auf 80 – 95 % gestiegen ist, die 10 Jahres-Überlebensrate aber bei ca. 50 % stagnierte (CTS Collaborative Transplant University of Heidelberg 2015). Folglich muss der Fokus neben dem perioperativen Screening vor allem auf die Verbesserung des Langzeitüberlebens gerichtet werden: hierfür benötigt man eine Möglichkeit zur Identifizierung und Stratifizierung von Patienten mit einem erhöhten Risiko für Tod und/oder Transplantatversagen sowie suffiziente Möglichkeiten zum Monitoring des Transplantats, um bei Bedarf ein möglichst frühzeitiges therapeutisches Eingreifen zu gewährleisten, was das kurz- und langfristige Outcome verbessern könnte (Basta-Jovanovic et al. 2016; Malyszko et al. 2015).

Bislang stellt die invasive Methode der Nierenbiopsie den Goldstandard zur Diagnostik von Abstoßung, Medikamententoxizität sowie Infektionen der transplantierten Niere dar. Daher besteht der Bedarf nach nichtinvasiven Alternativen wie z.B. Serum-Biomarkern für diverse Fragestellungen im Rahmen von Nierentransplantationen (Basta-Jovanovic et al. 2016; Lohkamp et al. 2016; Universitätsklinikum Leipzig 2015).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass frühe postoperative Serum-CAF-Konzentrationen (Serumwerte 1 - 3 Monate nach Transplantation bei stabilisierter Transplantatfunktion) in univariaten Analysen mit der Gesamtmortalität der Patienten assoziiert sind. Zusätzlich ergaben die Untersuchungen, dass der CAF-Spiegel in multivariaten Analysen einen präziseren Vorhersagewert in Bezug auf Transplantatversagen und kombinierte Endpunkte hat als die eGFR. Von großer Bedeutung war der Nachweis einer Assoziation von CAF (als einzigem der untersuchten Parameter) mit einem signifikanten Risikoanstieg für die Verdopplung der Proteinurie innerhalb des Beobachtungszeitraums.

Das Ergebnis der univariaten Analyse von Serum-CAF und BUN mit der Gesamtmortalität beschrieb zunächst für beide Parameter eine signifikante Assoziation mit diesem

Endpunkt, die nach Adjustierung der zwei Serummarker für multiple Parameter nur noch für BUN nachweisbar war. Weiterführende Daten zu BUN als Prädiktor für das Outcome von nierentransplantierten Patienten und der Langzeit-Transplantatfunktion sind allerdings limitiert, da BUN generell – und vor allem im Rahmen von Transplantationen - primär nicht mehr beim Monitoring der Nierenfunktion zum Einsatz kommt. Gründe hierfür sind vor allem die Abhängigkeit der Serum-BUN-Konzentration vom Ernährungsstatus und die Beeinflussung z. B. durch begleitende Medikamenteneinnahme (z.B. Glukokortikoide) (Bagshaw et al. 2008; Lisowska-Myjak 2010).

Des Weiteren stellte sich in der Studie eine Assoziation von Serum-CAF und Transplantatversagen heraus. Nach Adjustierung aller evaluierten Parameter (CAF, Kreatinin, BUN, eGFR) füreinander, blieb eine signifikante Vorhersagequalität nur noch für CAF und Kreatinin bestehen. Keiner der untersuchten Parameter war dem anderen überlegen, was zu einem ähnlichen prädiktiven Wert der Serum-CAF und -Kreatinin-Konzentrationen im Zusammenhang mit einem Transplantatversagen führt. Für BUN und eGFR hingegen zeigte CAF eine deutliche Vorhersageüberlegenheit, da beide nach der Adjustierung für CAF keine Assoziation mehr mit dem Transplantatversagen aufwiesen. Allgemein wurde die Frage nach dem Langzeit-Transplantatüberleben in anderen Studien umfassend und erfolgreich untersucht: Speziell Kreatinin konnte in verschiedenen Kohorten - mit ähnlichem Risikoprofil wie in dieser Arbeit - als Prädiktor für das Organüberleben nach Transplantation evaluiert werden (Fitzsimmons et al. 2002; Hariharan et al. 2002). Im Vergleich zu Kreatinin scheint CAF allerdings weniger durch Confounder wie Alter und Muskelmasse beeinflussbar zu sein.

Rodrigo et al. beschrieben, dass mit der Kreatinin-Konzentration ein Jahr post transplantationem nach der Adjustierung für multiple Variablen keine Aussage mehr über die voraussichtliche Wahrscheinlichkeit eines Organversagen getroffen werden kann (Rodrigo et al. 2013). Für CAF hingegen blieb die Assoziation mit dem Endpunkt Transplantatversagen auch nach der Adjustierung für Alter, Geschlecht, Art der Transplantation und den Zeitpunkt der Probenentnahme bestehen. Zusätzlich zeigte eine Arbeit von Kaplan et al. einen schlechten prädiktiven Wert von Kreatinin für das Langzeit-Transplantat-Überleben in einer großen Registerkohorte (Kaplan et al. 2003). Für die eGFR beschrieben zahlreiche Studien (He et al. 2009; Kasiske et al. 2011; Lenihan et al. 2008; Tejani et al. 2002) eine gute Vorhersagequalität in Bezug auf das Langzeit-Outcome und -Organüberleben, wobei die AUC mit 0,600 moderat war (He et al. 2009; Kaplan et al.



## **Diskussion**

2003). Allerdings scheint auch die eGFR - ähnlich wie Kreatinin, auf dem die eGFR basiert - nach der Adjustierung für multiple Faktoren ihren prognostischen Wert zu verlieren (Rodrigo et al. 2013). In der ROC-Analyse von CAF zeigt sich im Vergleich eine AUC von 0,721.

In den vorliegenden Ergebnissen war CAF der einzige Parameter, der sowohl in univariaten, als auch in multivariaten Regressionsanalysen signifikant mit der Vorhersage einer Proteinurie assoziiert war. Die Marker Kreatinin, BUN und die eGFR hingegen zeigten für diesen Endpunkt weder in der uni- noch in der multivariaten Analyse eine Assoziation. Eine Assoziation der „Ausgangsproteinuriewerte“ (1 - 3 Monate post transplantationem) mit der Entwicklung einer „Proteinurie am Ende der Follow-up-Zeit“ in der univariaten Analyse konnte festgestellt werden. Daher wurde CAF und die „Ausgangsproteinurie“ füreinander adjustiert, worauf nur die Assoziation von CAF mit der späten Proteinurie weiter bestehen blieb. Da die Proteinurie sowohl bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz als auch bei nierentransplantierten Patienten als guter Prädiktor für die Verschlechterung der Nierenfunktion sowie Transplantatversagen anzusehen ist (Fernandez-Fresnedo et al. 2004; Knoll 2009; Martínez Esteban et al. 2010; Oh et al. 2014; Sancho Calabuig et al. 2009; Shabir et al. 2014), wäre ein Parameter für die Vorhersage der Aggravation einer Proteinurie im klinischen Alltag hilfreich. Allerdings sind Publikationen über prognostische Biomarker für die Entwicklung einer Proteinurie rar. Nur eine Arbeit von Sancho et al. berichtete über den Zusammenhang zwischen höheren Serum-Kreatinin-Werten und einer Proteinurie bei Patienten nach Nierentransplantation (Sancho et al. 2007), in der sich zusätzlich auch Geschlecht und BMI (Body-Mass-Index) als weitere Risikofaktoren für die Entwicklung einer Proteinurie herausstellten. CAF wurde daher in dieser Arbeit für den BMI adjustiert, was das Ergebnis nicht relevant beeinflusste. Zusätzlich ist zu erwähnen, dass keiner der Patienten in dieser Studie mit einem mTOR-Inhibitor (Rapamycin: z.B. Sirolimus) behandelt wurde, da für dieses Medikament negative Einflüsse auf die Proteinurie beschrieben sind (Ponticelli 2014).

Die Zusammenschau der Ergebnisse dieser Arbeit und vorheriger Publikationen führt zu dem Ergebnis, dass es möglich ist, mit frühen postoperativen CAF-Konzentrationen strukturelle (Proteinurie) und funktionelle (glomeruläre Filtrationsrate) Pathologien von Nierentransplantaten in gleichem Maße - nur früher als mit konventionellen Laborparametern (Proteinurie, Kreatinin) - festzustellen. Der Grund dafür, dass CAF den anderen Biomarkern bezüglich der Prognose für Transplantatversagen und speziell bei der

Prognose der Entwicklung einer Proteinurie überlegen ist, könnte eine höhere Sensibilität für Änderungen der Nierenfunktion sein: Bei den Serum-CAF-Konzentrationen zeigte sich in der frühen postoperativen Phase ein signifikant schnellerer Abfall verglichen mit Kreatinin (Steubl et al. 2013).

Darüber hinaus waren die CAF-Konzentrationen 1 - 3 Monate nach Transplantation 86 % niedriger als vor Transplantation und noch um das 2,6-fache höher als bei einer gesunden Vergleichsgruppe, wohingegen Kreatinin nur um 74 % abfiel und um das 2,1-fache höher als bei Gesunden war (Steubl et al. 2013). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Serum-CAF-Konzentrationen schneller und in einem größeren, dynamischeren Wertebereich auf Änderungen der glomerulären Funktion reagieren als Serum-Kreatininkonzentrationen.

Aktuelle tierexperimentelle Studien mit rekombinantem humanem CAF konnten zeigen, dass Serum-CAF mit einer Größe von 22 kDa, analog zu anderen niedermolekularen Proteinen, mit hoher Wahrscheinlichkeit glomerulär filtriert und tubulär reabsorbiert wird und sich somit bei eingeschränkter Nierenfunktion bzw. eingeschränkter GFR der Serum-CAF-Spiegel erhöht (Daryadel et al. 2016; Devetzis et al. 2015). Diese Ergebnisse untermauern die Ergebnisse der bisherigen Arbeiten, die CAF als vielversprechenden Biomarker der Nierenfunktion charakterisieren. Inwiefern der Nachweis einer Assoziation von CAF (als einzigem der untersuchten Parameter) mit einem signifikanten Risikoanstieg für die Verdopplung der Proteinurie innerhalb des Beobachtungszeitraums pathophysiologisch zu erklären ist, bleibt hypothetisch. Eine Möglichkeit wäre ein Anstieg der CAF-Konzentration im Serum auf Grund struktureller Veränderungen des Filterapparats, insbesondere der glomerulären Basalmembran durch z.B. eine Spaltung von Agrin. Toxische Metabolite, die im Rahmen der Nierenerkrankung entstehen bzw. akkumulieren könnten bei der Degradierung von Agrin, und damit erhöhten CAF Werten, auch direkt eine Rolle spielen oder sekundär über eine Aktivierung der Neuropeptidase Neuroytrypsin für die positive Assoziation verantwortlich sein. Studien zu Neuroytrypsin und CAF-Spiegeln bei Nierenpathologien liegen bis dato noch nicht vor und könnten in Zukunft Aufschluss über die Herkunft von erhöhten CAF-Spiegeln bei Nierenpathologien bringen.

Die Studie ist sowohl durch das retrospektive Studiendesign, sowie die Tatsache, dass die Biomarkerkonzentrationen in einem Zeitraum von einem bis drei Monate nach Transplantation und nicht immer zum selben Zeitpunkt abgenommen wurden, limitiert. Hierfür wurde jedoch in multivariaten Analysen adjustiert.

## **Diskussion**

Ähnlich der in dieser Arbeit untersuchten Serum CAF-Spiegel, gibt es eine Reihe weiterer neuer Biomarker, die seit wenigen Jahren in Bezug auf ihre Korrelation mit der Nierenfunktion bzw. in Kohorten von nierentransplantierten Patienten untersucht werden. Zahlreiche Studien belegen die besten Vorhersagewerte für Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), Kidney injury molecule-1 (KIM-1), Interleukin-18 (IL-18), Liver-type fatty acid-binding protein (L-FABP) bei akutem Nierenversagen und Delayed Graft Function (DGF) nach Nierentransplantation (Basta-Jovanovic et al. 2016; Malyszko et al. 2015).

Allerdings zeigen die Untersuchungen auch, dass bisher noch kein idealer Biomarker zur Transplantatanalyse identifiziert wurde, der alle erforderlichen Ansprüche erfüllt. (Basta-Jovanovic et al. 2016). Zusätzlich mangelt es noch an weiterführenden randomisierten Studien zur Bestätigung der bisherigen Ergebnisse, der Übertragbarkeit in den klinischen Alltag sowie an der Kosten-Nutzen-Effektivität (Lohkamp et al. 2016; Malyszko et al. 2015). Daher hat noch keiner der neuauftkommenden Marker den Weg in die Routinediagnostik gefunden (Basta-Jovanovic et al. 2016; Lohkamp et al. 2016).

NGAL ist einer der am häufigsten untersuchten, neueren Biomarker (Malyszko et al. 2015). Viele Studien geben Hinweise auf gute prognostische Werte für Serum-NGAL nach Nierentransplantation (Gil et al. 2016; Liu et al. 2016; Pezeshgi et al. 2016), eine andere Evaluation für NGAL und L-FABP konnte dies nicht bestätigen (Iguchi et al. 2015). In einer Kohorte von Nierentransplantierten nach Lebendspende wurde ein Zusammenhang zwischen frühen Serum-NGAL-Spiegeln und der Erholung der Nierenfunktion festgestellt, ein linearer Zusammenhang mit der eGFR konnte nicht ermittelt werden (Liu et al. 2016). In den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit wies CAF im Vergleich mit den anderen untersuchten Serum-Biomarkern, eine annähernd gleich starke (negative) Korrelation mit der eGFR wie Kreatinin auf. Eine starke Korrelation von CAF mit der eGFR bei nierentransplantierten Patienten wurde bereits in einer Vorgängerarbeit festgestellt (Steubl et al. 2013).

Neben NGAL wurde in derselben Kohorte von Nierentransplantierten nach Lebendspende auch ein positiver prognostische Wert von Cystatin C (ein Biomarker der Nierenfunktion, der in der Routinediagnostik bereits Anwendungsbereiche findet) für die Erholung der Nierenfunktion evaluiert (Liu et al. 2016). Weitere Ergebnisse zeigen einen raschen Abfall von Cystatin C nach Transplantation, der aber oberhalb des Normwertes stagnierte (Liu et al. 2016). Steubl et al. 2013 zeigten, dass die CAF-Konzentration vor Transplantation um

das 19-fache höher als bei Gesunden lagen und nach Transplantation signifikant schneller abfielen als die Kreatininkonzentrationen. Sowohl für CAF als auch für Kreatinin wurden 1-3 Monate nach Transplantation stabile Serumkonzentrationen erreicht (Abbildung 3) (Steubl et al. 2013).

Für einige Biomarker wurden neben den Serumspiegeln, auch die Urinkonzentrationen auf ihren prädiktiven Wert für das Outcome nach Nierentransplantation untersucht. So stellten sich die NGAL-Urinkonzentrationen als guter und genauso sensitiver Marker für akute Abstoßung nach Lebendspende-Nierentransplantation heraus wie die Serum-NGAL-Konzentration (Kohei et al. 2013). Beide könnten sich als prognostische Marker sowohl kurzfristig als auch in Bezug auf das Langzeit-Outcome bewähren (Choi et al. 2013). Die Kombination der Urinkonzentrationen von NGAL und IL-18, sowie Serum-Kreatinin scheinen eine effektive Möglichkeit zur Risikostratifizierung bei Patienten mit DGF zu sein (Cui et al. 2015). Ähnliche Ergebnisse fanden sich für die Urinkonzentration von KIM-1, die sich für die Prognose einer DGF bei Nierentransplantierten nach Lebendspende eignet (Yadav et al. 2015) sowie für die Urinkonzentration von L-FABP, die sich als möglicher Prädiktor für das Langzeit-Outcome nach Nierentransplantation herausstellte (Yang et al. 2014).

Die Urinkonzentration von CAF als Prognoseparameter nach Nierentransplantation wurde bisher nicht untersucht. Da die aufgeführten Studien Hinweise auf positive Korrelationen der neueren Marker mit dem Outcome nach Transplantation liefern, sollte auch CAF diesbezüglich bzw. auch im Vergleich mit den anderen Markern evaluiert werden.

Zur weiteren Evaluation von CAF wäre die Untersuchung der perioperativen Spender-Serum- bzw. Urin-CAF-Spiegel in Bezug auf deren prognostischen Wert sowohl für das Outcome des Spenders als auch des Empfängers, wie bereits für NGAL und L-FABP erfolgt, sinnvoll (Koo et al. 2016; Yoon et al. 2016).

Viele Studien vergleichen die NGAL-, L-FABP- und KIM-1-Konzentrationen (ggf. zusätzliche andere) in Bezug auf deren Korrelation mit der Nierenfunktion. Da sich CAF bereits in einigen Studien als guter Marker der Nierenfunktion erwies, scheint es sinnvoll, auch CAF in weiteren Studien im Vergleich mit den anderen neuen Markern der Nierenfunktion einzubinden.

Zusammengefasst ist C-terminal Agrin-Fragment ein vielversprechender Biomarker zur

## ***Diskussion***

frühen postoperativen Risikoabschätzung für das Langzeitoutcome bei nierentransplantierten Patienten, der noch in größeren Kohorten sowie in Kombination und Vergleich mit anderen neuen Biomarkern evaluiert werden sollte. Darüber hinaus war CAF der einzige Biomarker, der mit der Entwicklung einer Proteinurie assoziiert war und könnte daher für den behandelnden Arzt hilfreich bei der Entscheidung zur frühzeitigen Einleitung einer Therapie - zum Beispiel einer antiproteinurischen Behandlung - sein.

## **5. Zusammenfassung**

Vor kurzem konnte eine Assoziation der Serum-Konzentration von C-terminalem Agrin-Fragment (CAF), einem Spaltprodukt des Agrins, und der Nierenfunktion in einer Kohorte von Nierentransplantierten und anderen Kohorten nachgewiesen werden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit dem prädiktiven Wert von frühen Serum-CAF-Konzentrationen für das Langzeit-Outcome bei Nierentransplantierten.

Dafür wurden im Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München, München (Deutschland) bei 105 nierentransplantierten Patienten 1-3 Monate nach Transplantation (bei stabilisierten Nierenfunktionsparametern) die Serum-Werte von CAF, Kreatinin und Harnstoff-Stickstoff (BUN) bestimmt, sowie die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate eGFR (CKD-EPI) berechnet. Der Median der Beobachtungszeit lag bei 3,1 Jahren. Als Endpunkte wurden Gesamtmortalität, Transplantatversagen, Verdopplung von Kreatinin und Proteinurie, sowie Kombinationen aus diesen festgelegt.

In dieser Arbeit konnte zum ersten Mal nachgewiesen werden, dass die frühen postoperativen CAF-Spiegel in univariaten Analysen signifikant mit der Gesamtmortalität assoziiert sind. Darüber hinaus zeigte sich hinsichtlich Transplantatversagens und der kombinierten Endpunkte in multivariaten Analysen ein präziserer prognostischer Wert für die Serum-CAF-Werte als für die eGFR. Von besonderer klinischer Relevanz für die Abschätzung einer Verschlechterung der Nierenfunktion und Organversagen war der Nachweis, dass CAF - als einziger der untersuchten Parameter - signifikant mit einem Anstieg des Risikos für einer Verdopplung der Proteinurie innerhalb des Beobachtungszeitraums assoziiert war.

In der Konsequenz scheint es sinnvoll, den Einsatzbereich von Serum-CAF-Konzentrationen als neuer Biomarker der Nierenfunktion - wie in vorausgegangenen Studien gezeigt - um die frühe postoperative Risikoabschätzung des Langezeitoutcomes und die Prognose einer Proteinurie bei Nierentransplantierten zu erweitern. Dies muss allerdings noch in größeren Kohorten evaluiert werden.

## **6. Literaturverzeichnis**

1. Aalen O, Johansen S

An empirical transition matrix for nonhomogeneous Markov chains based on censored observations.

Scandinavian journal of statistics. 5 (1978) 141–150

2. Arend S, Mallat M, Westendorp R, van der Woude FJ, van Es L

Patient survival after renal transplantation; more than 25 years follow-up.

Nephrol Dial Transplant. 12 (1997) 1672–1679

3. Bagshaw S, Gibney R

Conventional markers of kidney function.

Crit Care Med. 36 (2008) 152–158

4. Basta-Jovanovic G, Bogdanovic L, Radunovic M, Prostran M, Naumovic R, Simic-Ogrizovic S, Radojevic-Skodric S

Acute Renal Failure - A Serious Complication in Patients After Kidney Transplantation.

Curr Med Chem 23 (2016) 2012–2017

5. Becker J, Friedman E

Renal Function Status.

AJR Am J Roentgenol. 200 (2013) 827–829

6. Belcher J, Edelstein C, Parikh C

Clinical applications of biomarkers for acute kidney injury.

Am J Kidney Dis. 57 (2011) 930–940

7. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV),  
Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF)  
(2010)

Nationale Versorgungsleitlinie Nierenerkrankungen bei Diabetes im Erwachsenenalter -  
Langfassung.

<http://www.leitlinien.de/nvl/diabetes/nierenerkrankungen>

Stand 11.02.16

8. Bütikofer L, Zurlinden A, Bolliger M, Kunz B, Sonderegger P

Destabilization of the neuromuscular junction by proteolytic cleavage of agrin results in precocious sarcopenia.

FASEB J. 25 (2011) 4378–4393

9. Chiu D, Abidin N, Johnstone L, Chong M, Kataria V, Sewell J, Sinha S, Kalra P, Green D

Novel Approach to Cardiovascular Outcome Prediction in Haemodialysis Patients.

Am J Nephrol. 43 (2016) 143–152

10. Choi H, Park K, Lee J, Cho E, Jo S, Cho W, Kim H  
Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts graft outcome up to 1 year after kidney transplantation.  
Transplantation proc. 45 (2013) 122–128
11. Cruz D, Goh C, Haase-Fielitz A, Ronco C, Haase M  
Early biomarkers of renal injury.  
Congest Heart Fail. 16 Suppl 1 (2010) 25–31
12. CTS Collaborative Transplant University of Heidelberg (2015)  
Collaborative Transplant Study.  
<http://www.ctstransplant.org/>  
Stand 15.05.2015
13. Cui L, Zhu X, Yang S, Zhou J, Zhang H, Liu L, Zhang J  
Prognostic Value of Levels of Urine Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin and Interleukin-18 in Patients With Delayed Graft Function After Kidney Transplantation.  
Transplantation proc. 47 (2015) 2846–2851
14. Daryadel A, Haubitz M, Figueiredo M, Steubl D, Roos M, Mader A, Hettwer S, Wagner C  
The C-Terminal Fragment of Agrin (CAF), a Novel Marker of Renal Function, Is Filtered by the Kidney and Reabsorbed by the Proximal Tubule.  
PloS one 11 (2016) e0157905
15. Deutsche Gesellschaft für Kardiologie Herz-und Kreislaufforschung e.V., Deutsche Hochdruckliga e.V. DHL, European Society of Cardiology, European Society of Hypertension ESH (2013)  
Leitlinien für das Management der arteriellen Hypertonie.  
[https://www.hochdruckliga.de/tl\\_files/content/dhl/downloads/2014\\_Pocket-Leitlinien\\_Arterielle\\_Hypertonie.pdf](https://www.hochdruckliga.de/tl_files/content/dhl/downloads/2014_Pocket-Leitlinien_Arterielle_Hypertonie.pdf)  
Stand 06.04.2016
16. Deutsche Gesellschaft für Nephrologie (2014a)  
Chronisches Nierenversagen / (Chronische Niereninsuffizienz). Stadien und Symptome.  
<http://www.dgfn.eu/patienten/was-nieren-krank-macht/chronisches-nierenversagen-chronische-niereninsuffizienz.html>  
Stand 23.01.16
17. Deutsche Gesellschaft für Nephrologie (2014b)  
DGfN Das Nierenportal. Basisinformationen zur Nephrologie.  
<http://www.dgfn.eu/patienten/basisinformationen-zur-nephrologie.html>  
Stand 13.04.2015
18. Deutsche Gesellschaft für Nephrologie (2014c)  
DGfN Das Nierenportal. Nierentransplantation.  
<http://www.dgfn.eu/patienten/behandlungsmoeglichkeiten-bei->



nierenversagen/nierentransplantation.html  
Stand 16.04.2015

19. Deutsche Gesellschaft für Nephrologie DGfN (2014)  
Das Nierenportal. Kardiovaskuläre Komplikationen bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung.  
<http://www.dgfn.eu/presse/downloadbereich/kardiovaskulaere-komplikationen-bei-chronischer-nierenerkrankung.html>  
Stand 30.01.2016

20. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO) (2016)  
Nierentransplantation.  
<https://www.dso.de/organspende-und-transplantation/transplantation/nierentransplantation.html>  
Stand 03.02.16

21. Devarajan P  
Emerging biomarkers of acute kidney injury.  
Contrib Nephrol. 156 (2007) 203–212

22. Devetzis V, Daryadel A, Roumeliotis S, Theodoridis M, Wagner C, Hettwer S, Huynh-Do U, Ploumis P, Arampatzis S  
C-Terminal Fragment of Agrin (CAF): A Novel Marker for Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetics.  
PloS One. 10 (2015) e0143524

23. Drey M, Behnes M, Kob R, Lepiorz D, Hettwer S, Bollheimer C, Sieber C, Bertsch T, Hoffmann U  
C-terminal agrin fragment (CAF) reflects renal function in patients suffering from severe sepsis or septic shock.  
Clin Lab. 61 (2015) 69–76

24. Elfadawy N, Flechner S, Liu X, Schold J, Srinivas T, Poggio E, Fatica R, Avery R, Mossad S  
CMV Viremia Is Associated With a Decreased Incidence of BKV Reactivation after Kidney and Kidney-Pancreas Transplantation.  
Transplantation. 96 (2013) 1097–1103

25. Fernandez-Fresnedo G, Plaza J, Sanchez-Plumed J, Sanz-Guajardo A, Palomar-Fontanet R, Arias M  
Proteinuria: a new marker of long-term graft and patient survival in kidney transplantation.  
Nephrol Dial Transplant. 19 Suppl 3 (2004) iii47-51

26. Fiedler M  
Licht im "Kreatinin-blinden" Bereich.  
Diagnostik im Dialog. 46 (2015) 17–19

27. Fitzsimmons W, Thompson D, Hariharan S, van Veldhuisen P  
Serum creatinine as a surrogate endpoint for graft loss in kidney transplantation: validation efforts from multicentre trials.  
Am J Transplant. 2 (Suppl 3) (2002) 272
28. Frei U, Schober-Halstenberg H (2008)  
Nierenersatztherapie in Deutschland. Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2006/2007.  
[http://www.bundesverband-niere.de/fileadmin/user\\_upload/QuaSi-Niere-Bericht\\_2006-2007.pdf](http://www.bundesverband-niere.de/fileadmin/user_upload/QuaSi-Niere-Bericht_2006-2007.pdf)  
Stand 16.01.16
29. Galichon P, Xu-Dubois Y, Finianos S, Hertig A, Rondeau E  
Clinical and histological predictors of long-term kidney graft survival.  
Nephrol Dial Transplant. 28 (2013) 1362–1370
30. Garritsen H, Schmid C, Cassens U, Mittmann K, Sibrowski W  
Immunologie der akuten und chronischen Abstoßung.  
Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie 16 (2002) 54–57
31. Geiger H  
Funktion der Niere.  
In: Berdel WE, Böhm M, Classen M, Diehl V, Kochsieck K, Schmiegel W (Hrsg.)  
Innere Medizin.  
5. Auflage, Urban&Fischer, München, 2004, 1617–1622
32. Gharishvandi F, Kazerouni F, Ghanei E, Rahimipour A, Nasiri M  
Comparative Assessment of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Cystatin C as Early Biomarkers for Early Detection of Renal Failure in Patients with Hypertension.  
Iran Biomed J. 19 (2015) 76–81
33. Gil A, Brod V, Awad H, Heyman S, Abassi Z, Frajewicki V  
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in a triphasic rat model of adenine-induced kidney injury.  
Ren Fail. (2016) 1–7
34. Go A, Chertow G, Fan D, McCulloch C, Hsu C  
Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization.  
N Engl J Med. 351 (2004) 1296–1305
35. Groffen A, Buskens C, van Kuppevelt, T H, Veerkamp J, Monnens L, van den Heuvel, L P  
Primary structure and high expression of human agrin in basement membranes of adult lung and kidney.  
Eur J Biochem. 254 (1998a) 123–128

36. Groffen A, Ruegg M, Dijkman H, van de Velden, T J, Buskens C, van den Born, J, Assmann K, Monnens L, Veerkamp J, van den Heuvel, L P  
Agrin is a major heparan sulfate proteoglycan in the human glomerular basement membrane.  
J Histochem Cytochem. 46 (1998b) 19–27
37. Halloran P  
Immunosuppressive drugs for kidney transplantation.  
N Engl J Med. 351 (2004) 2715–2729
38. Hariharan S, McBride M, Cherikh W, Tolleris C, Bresnahan B, Johnson C  
Post-transplant renal function in the first year predicts long-term kidney transplant survival.  
Kidney Int. 62 (2002) 311–318
39. Hasegawa T, Nakai S, Moriishi M, Ito Y, Itami N, Masakane I, Hanafusa N, Taniguchi M, Hamano T, Shoji T, Yamagata K, Shinoda T, Kazama J, Watanabe Y, Shigematsu T, Marubayashi S, Morita O, Wada A, Hashimoto S, Suzuki K, Kimata N, Wakai K, Fujii N, Ogata S, Tsuchida K, Nishi H, Iseki K, Tsubakihara Y, Nakamoto H  
Peritoneal Dialysis Registry With 2012 Survey Report.  
Ther Apher Dial. 19 (2015) 529–539
40. He X, Moore J, Shabir S, Little M, Cockwell P, Ball S, Liu X, Johnston A, Borrows R  
Comparison of the predictive performance of eGFR formulae for mortality and graft failure in renal transplant recipients.  
Transplantation. 87 (2009) 384–392
41. Hettwer S, Dahinden P, Kucsera S, Farina C, Ahmed S, Fariello R, Drey M, Sieber C, Vrijbloed J  
Elevated levels of a C-terminal agrin fragment identifies a new subset of sarcopenia patients.  
Exp Gerontol. 48 (2013) 69–75
42. Hoberg E, Galle J, Bjarnason-Wehrens B, Cordes C, Karoff M, Klein G, Willemsen D, Wirth A, Witt T, Völler H  
Umsetzungsempfehlungen von Diagnose- und Therapieleitlinien bei chronischen Nierenerkrankungen.  
Herzmedizin. (2007) 136–146
43. Hörl W  
Diagnostische Verfahren.  
In: Berdel WE, Böhm M, Classen M, Diehl V, Kochsieck K, Schmiegel W (Hrsg.)  
Innere Medizin.  
5. Auflage, Urban&Fischer, München, 2004, 1622–1632
44. Iguchi N, Uchiyama A, Ueta K, Sawa Y, Fujino Y  
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and liver-type fatty acid-binding protein as biomarkers for acute kidney injury after organ transplantation.

45. Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group  
KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.  
Kidney Int Suppl. 3 (2013) 1–150
46. Kaplan B, Schold J, Meier-Kriesche H  
Poor predictive value of serum creatinine for renal allograft loss.  
Am J Transplant. 3 (2003) 1560–1565
47. Kasiske B, Israni A, Snyder J, Skeans M  
The relationship between kidney function and long-term graft survival after kidney transplant.  
Am J Kidney Dis. 57 (2011) 466–475
48. Kim Y, Shin S, Kim K, Choi S, Lee K  
Effect of Urate Lowering Therapy on Renal Disease Progression in Hyperuricemic Patients with Chronic Kidney Disease.  
J Rheumatol. 42 (2015) 2143–2148
49. Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie der Universität Leipzig - Sektion Nephrologie (2015)  
Stadien des Nierenversagens. Chronische Niereninsuffizienz.  
[http://nephrologie.uniklinikum-leipzig.de/nephrologie.site,postext,das-nierenversagen,a\\_id,608.html](http://nephrologie.uniklinikum-leipzig.de/nephrologie.site,postext,das-nierenversagen,a_id,608.html)  
Stand 23.01.16
50. Knoll G  
Proteinuria in kidney transplant recipients: prevalence, prognosis, and evidence-based management.  
Am J Kidney Dis. 54 (2009) 1131–1144
51. Kohei J, Ishida H, Tanabe K, Tsuchiya K, Nitta K  
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a sensitive biomarker for the early diagnosis of acute rejection after living-donor kidney transplantation.  
Int Urol Nephrol. 45 (2013) 1159–1167
52. Koo T, Jeong J, Lee Y, Ko K, Lee K, Lee S, Park S, Park J, Han M, Lim H, Ahn C, Yang J  
Pre-transplant Evaluation of Donor Urinary Biomarkers can Predict Reduced Graft Function After Deceased Donor Kidney Transplantation.  
Medicine (Baltimore) 95 (2016) e3076
53. Lamb K, Lodhi S, Meier-Kriesche H  
Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal.

Am J Transplant. 11 (2011) 450–462

54. Lanot A, Bouvier N, Chatelet V, Dina J, Béchade C, Ficheux M, Henri P, Lobbedez T, Hurault de Ligny B  
Infections à BK virus en transplantation rénale.  
Nephrol Ther. [Epub ahead of print] (2016)

55. Lenihan C, O'Kelly P, Mohan P, Little D, Walshe J, Kieran N, Conlon P  
MDRD-estimated GFR at one year post-renal transplant is a predictor of long-term graft function.  
Ren Fail. 30 (2008) 345–352

56. Levey A, Stevens L, Schmid C, Zhang Y, Castro, Alejandro F 3rd, Feldman H, Kusek J, Eggers P, van Lente F, Greene T, Coresh J  
A new equation to estimate glomerular filtration rate.  
Ann Intern Med. 150 (2009) 604–612

57. Lisowska-Myjak B  
Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury.  
Blood Purif. 29 (2010) 357–365

58. Liu Y, Li H, Ying Z, Guo J, Cao C, Jia W, Yang H  
Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Cystatin C for Assessing Recovery of Graft Function in Patients Undergoing Living-Donor Kidney Transplantation.  
Clin Lab. 62 (2016) 155–163

59. Lohkamp L, Ollinger R, Chatzigeorgiou A, Illigens B, Siepmann T  
Intraoperative biomarkers in renal transplantation.  
Nephrology (Carlton). 21 (2016) 188–199

60. Lüllmann-Rauch R  
Histologie.  
1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2003, 385-388

61. Malyszko J, Lukaszuk E, Glowinska I, Durluk M  
Biomarkers of delayed graft function as a form of acute kidney injury in kidney transplantation.  
Sci Rep. 5 (2015) 11684

62. Martínez Esteban D, Jironda Gallegos C, Cabello Diaz M, Frias P, López Jiménez V, Gutierrez de la Fuente, C, Sola Moyano E, Burgos Rodríguez D, González Molina Alcaide, M, Hernández Marrero D  
Creatinine clearance and proteinuria as early markers of kidney graft survival.  
Transplant Proc. 42 (2010) 2880–2882

63. McCarthy K  
The Basement Membrane Proteoglycans Perlecan and Agrin: Something Old, Something New.  
Curr Top Membr. 76 (2015) 255–303
64. Medizinische Klinik und Poliklinik II des Klinikums der Universität München (2016)  
Endokrinologie Hyperparathyreoidismus.  
[http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Medizinische-Klinik-und-Poliklinik-II/download/inhalt/downloads/klinikleitfaden/kapitel\\_56\\_hyperparathyre.pdf](http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Medizinische-Klinik-und-Poliklinik-II/download/inhalt/downloads/klinikleitfaden/kapitel_56_hyperparathyre.pdf)  
Stand 06.04.2016
65. Meier-Kriesche H, Schold J, Kaplan B  
Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies?  
Am J Transplant. 4 (2004a) 1289–1295
66. Meier-Kriesche H, Schold J, Srinivas T, Kaplan B  
Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era.  
Am J Transplant. 4 (2004b) 378–383
67. Mihatsch M, Khanlari B, Brunner F  
Obituary to analgesic nephropathy--an autopsy study.  
Nephrol Dial Transplant. 21 (2006) 3139–3145
68. Miner J  
Glomerular basement membrane composition and the filtration barrier.  
Pediatr Nephrol. 26 (2011) 1413–1417
69. Morath C, Ritz E, Andrassy K  
Niere.  
In: Greten H, Rinninger F, Greten T (Hrsg.)  
Innere Medizin.  
13. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2010, 276–324
70. Munk P, Larsen A  
Inflammation and C-reactive protein in cardiovascular disease.  
Tidsskr Nor Laegeforen. 129 (2009) 1221–1224
71. Neurotune AG (2015)  
Neurotune products - Neurotune - Drugs for muscles and brains.  
<http://www.neurotune.com/downloads.html>  
Stand 22.04.2015
72. Oh S, Kim S, Na K, Kim K, Chae D, Chin H  
Glomerular filtration rate and proteinuria: association with mortality and renal progression

in a prospective cohort of a community-based elderly population.  
PloS One. 9 (2014) e94120

73. Olowu W

Pre-treatment considerations in childhood hypertension due to chronic kidney disease.  
World J Nephrol. 4 (2015) 500–510

74. Onopiuk A, Tokarzewicz A, Gorodkiewicz E

Cystatin C: a kidney function biomarker.  
Adv Clin Chem. 68 (2015) 57–69

75. Ortega O, Rodriguez I, Gallar P, Carreño A, Ortiz M, Espejo B, Jimenez J, Gutierrez M, Olié A, Vigil A

Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients.  
Nephrol Dial Transplant. 17 (2002) 1105–1109

76. Pai J, Pischon T, Ma J, Manson J, Hankinson S, Joshipura K, Curhan G, Rifai N, Cannuscio C, Stampfer M, Rimm E

Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women.  
N Engl J Med. 351 (2004) 2599–2610

77. Parikh C, Devarajan P

New biomarkers of acute kidney injury.  
Crit Care Med. 36 (2008) 159–165

78. Pezeshgi A, Abedi Azar S, Ghasemi H, Kamali K, Esmailzadeh A, Hajsalimi B, Pour-Asghar S, Behmanesh M, Kiafar M

Role of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an emerging biomarker of acute renal failure following kidney transplantation and its correlation with plasma creatinine.

J Renal Inj Prev. 5 (2016) 98–103

79. Ponticelli C

The pros and the cons of mTOR inhibitors in kidney transplantation.  
Expert Rev Clin Immunol. 10 (2014) 295–305

80. R Core Team (2015)

R: The R Project for Statistical Computing.

<http://www.r-project.org/>

Stand 27.04.2015

81. Raphael K

Approach to the Treatment of Chronic Metabolic Acidosis in CKD.

Am J Kidney Dis. [Epub ahead of print] (2016)

82. Reinecke H, Brandenburg V, Dominiak P, Flöge J, Galle J, Geiger H, Grabensee B, Haan F de, Heun K, Ivens K, Kleophas W, Krian A, Kroll J, Kutkuhn B, Mann J, Philipp T, Rislér T, Strauer B, Thiel W, Breithardt G  
Empfehlungen zur Diagnostik und Behandlung von Patienten mit koronarer Herzkrankheit und Niereninsuffizienz.  
Clin Res Cardiol Suppl. 1 (2006) 8–30
83. Ridker P, Hennekens C, Buring J, Rifai N  
C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women.  
N Engl J Med. 342 (2000) 836–843
84. Rodrigo E, Ruiz J, Fernández-Fresnedo G, Fernández M, Piñera C, Palomar R, Monfá E, Gómez-Alamillo C, Arias M  
Cystatin C and albuminuria as predictors of long-term allograft outcomes in kidney transplant recipients.  
Clin Transplant. 27 (2013) E177-183
85. Sancho A, Gavela E, Avila A, Morales A, Fernandez-Najera J, Crespo J, Pallardo L  
Risk factors and prognosis for proteinuria in renal transplant recipients.  
Transplant Proc. 39 (2007) 2145–2147
86. Sancho Calabuig A, Pallardó Mateu, L M, Avila Bernabeu, A I, Gavela Martínez E, Beltrán Catalán S, Crespo Albiach, J F  
Very low-grade proteinuria at 3 months posttransplantation is an earlier marker of graft survival.  
Transplant Proc. 41 (2009) 2122–2125
87. Schnuelle P, Lorenz D, Trede M, van der Woude, F J  
Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during long-term follow-up.  
J Am Soc Nephrol. 9 (1998) 2135–2141
88. Shabir S, Halimi J, Cherukuri A, Ball S, Ferro C, Lipkin G, Benavente D, Gatault P, Baker R, Kiberd B, Borrows R  
Predicting 5-year risk of kidney transplant failure: a prediction instrument using data available at 1 year posttransplantation.  
Am J Kidney Dis. 63 (2014) 643–651
89. Stephan A, Mateos J, Kozlov S, Cinelli P, Kistler A, Hettwer S, Rüllicke T, Streit P, Kunz B, Sonderegger P  
Neurotrypsin cleaves agrin locally at the synapse.  
FASEB J. 22 (2008) 1861–1873
90. Steubl D, Hettwer S, Dahinden P, Luppá P, Rondak I, Regenbogen C, Stock K, Renders L, Heemann U, Roos M  
C-terminal agrin fragment (CAF) as a serum biomarker for residual renal function in



peritoneal dialysis patients.

Int Urol Nephrol. 47 (2015) 391–396

91. Steubl D, Hettwer S, Vrijbloed W, Dahinden P, Wolf P, Luppá P, Wagner C, Renders L, Heemann U, Roos M

C-terminal agrin fragment--a new fast biomarker for kidney function in renal transplant recipients.

Am J Nephrol. 38 (2013) 501–508

92. Steubl D, Roos M, Hettwer S, Satanovskij R, Tholen S, Wen M, Schmaderer C, Hasenau A, Luppá P, Stecher L, Heemann U, Renders L

Plasma total C-terminal agrin fragment (tCAF) as a marker for kidney function in patients with chronic kidney disease.

Clin Chem Lab Med. [Epub ahead of print] (2016)

93. Svensson M, Dahle D, Mjøen G, Weihrauch G, Scharnagl H, Dobnig H, März W, Jardine A, Fellström B, Holdaas H

Osteoprotegerin as a predictor of renal and cardiovascular outcomes in renal transplant recipients: follow-up data from the ALERT study.

Nephrol Dial Transplant. 27 (2012) 2571–2575

94. Tejani A, Stablein D, Ho P

Calculated Creatinine Clearance (CCC) as the Most Promising Candidate Surrogate End Point for Clinical Trials.

Am J Transplant. 2 (2002) 256

95. Tepel M, van der Giet M, Zidek W

Praktische Therapie der chronischen Niereninsuffizienz durch Progressionshemmung.

Dt Ärztebl. 94 (1997) A-2648-2652

96. Tsai S, Shu K, Ho H, Chen C, Wu M, Wen M

Doubling of serum creatinine as an outcome after renal transplant - pathological evidence of graft biopsy.

Ann Transplant. 18 (2013) 471–481

97. Universitätsklinikum Leipzig (2015)

Nierenbiopsien. Die Nierenbiopsie aus der Sicht des Pathologen.

[http://nephrologie.uniklinikum-](http://nephrologie.uniklinikum-leipzig.de/nephrologie.site,postext,nierenbiopsie,a_id,431.html)

[leipzig.de/nephrologie.site,postext,nierenbiopsie,a\\_id,431.html](http://nephrologie.uniklinikum-leipzig.de/nephrologie.site,postext,nierenbiopsie,a_id,431.html)

Stand 07.09.2016

98. Vadivel N, Tullius S, Chandraker A

Chronic allograft nephropathy.

Semin Nephrol. 27 (2007) 414–429

99. Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, van Biesen W

Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature.

Nephrol Dial Transplant. 28 (2013) 254–273

100. Wasung M, Chawla L, Madero M  
Biomarkers of renal function, which and when?  
Clin Chim Acta. 438 (2015) 350–357

101. Weinreich T, Böhler J, Kribben A, Kuhlmann M, Hollenbeck M, Schettler V, Lonnenmann G, Girndt M, Kleophas W, Backus, Schäfer F (2015)  
Dialysestandard 2015 der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie.  
<http://www.dgfn.eu/aerzte/dialysestandard.html>  
Stand 13.3.2016

102. Yadav B, Prasad N, Agrawal V, Jaiswal A, Agrawal V, Rai M, Sharma R, Gupta A, Bhadauria D, Kaul A  
Urinary Kidney injury molecule-1 can predict delayed graft function in living donor renal allograft recipients.  
Nephrology (Carlton). 20 (2015) 801–806

103. Yang J, Choi H, Seo M, Lee J, Kim K, Jun H, Jung C, Park K, Kim M, Jo S, Cho W, Kim H  
Urine liver-type fatty acid-binding protein predicts graft outcome up to 2 years after kidney transplantation.  
Transplant Proc. 46 (2014) 376–380

104. Yoon Y, Cho Y, Kim S, Lee H, Huh K, Kim Y, Han W  
Plasma Neutrophil Gelatinase-associated Lipoprotein in Living Kidney Donors.  
Transplantation proc. 48 (2016) 738–741

105. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C  
Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients.  
Kidney inter. 55 (1999) 648–658

## ***Danksagung***

### **7. Danksagung**

- Priv.-Doz. Dr. Marcel Roos für die interessante Themenstellung und die stete Förderung und Betreuung dieser Arbeit
- Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Uwe Heemann für die Möglichkeit, die Arbeit in der Abteilung für Nephrologie der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin durchzuführen
- Dr. Dominik Steubl für die engagierte Betreuung, die hervorragende Zusammenarbeit, die unermüdliche Unterstützung und Korrekturlesen der Arbeit.
- Meinen Eltern und Schwiegereltern für die ständige Unterstützung und Hilfe bei der Organisation von Studium/Promotion/Arbeit und Kindern
- Meinem Mann Dominik für seine nie endende Hilfe und Geduld bei (Computer)problemen aller Art und das unermüdliche Korrekturlesen!