

Aus der
Sektion für Nephrologie
Gesamtleitung: Prof. Dr. med. Sibylle von Vietinghoff
Medizinische Klinik und Poliklinik I
Allgemeine Innere Medizin mit den Schwerpunkten Gastroenterologie und Hepatologie,
Nephrologie, Infektiologie, Endokrinologie und Diabetologie
des Universitätsklinikums Bonn
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Christian Strassburg

**Biomarker zur Einschätzung der residualen
Nierenfunktion und zur Prognose kardiovaskulärer
Ereignisse bei Patienten mit terminaler Nierenkrankheit**

Habilitationsschrift
zur Erlangung der venia legendi
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
für das Lehrgebiet
„Innere Medizin“

Vorgelegt von
Dr. med. Sebastian Schwab
Bonn 2026

Übersicht

Die folgenden sechs Originalarbeiten liegen der kumulativen Habilitationsschrift zu Grunde, welche die wesentlichen Ergebnisse der Publikationen zusammenfasst und diskutiert.

1. **Schwab S**, Kleine CE, Bös D, Bohmann S, Strassburg CP, Lutz P, Woitas RP. Beta-Trace protein as a potential biomarker of residual renal function in patients undergoing peritoneal dialysis. *BMC Nephrol.* 2021 Mar 11;22(1):87. DOI: 10.1186/s12882-021-02287-0
2. **Schwab S**, Zachoal CF, Bös, D, Strassburg CP, Woitas RP. Reduction of low-molecular weight proteins under continuous renal replacement therapy in acute renal failure. *Clin Exp Nephrol.* 2018 Aug 24. DOI: 10.1007/s10157-018-1637-4
3. **Schwab S**, Boes D, Hundt, F, Kleine CE, Strassburg CP, Woitas RP. Beta-Trace Protein in hemodialysis – comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers. *Clin Chem Lab Med* 2018 Oct 25; 56(11):265-267. DOI: 10.1515/cclm-2018-0178
4. Ehleiter H, Miranda J, Boes D, Scheidt U, von Vietinghoff S*, **Schwab S***. Peritoneal and renal DKK3 clearance in peritoneal dialysis. *Nephrology (Carlton)*, 2023 Jan;28(1):51-59. DOI: 10.1186/s12882-024-03715-7
5. **Schwab S**, Pörner D, Kleine CE, Werberich R, Werberich L, Reinhard S, Bös D, Strassburg CP, von Vietinghoff S, Lutz P, Woitas RP. Pre-Transplant Serum Beta-Trace Protein indicates risk for post-transplant major cardiac adverse events. *Nephrology (Carlton)*, 2023 Jan;28(1):51-59. DOI: 10.1111/nep.14131
6. **Schwab S**, Pörner D, Kleine CE, Werberich R, Werberich L, Reinhard S, Bös D, Strassburg CP, von Vietinghoff S, Lutz P, Woitas RP. NT-proBNP as predictor of major cardiac events after renal transplantation in patients with preserved left ventricular ejection fraction *BMC Nephrol.* 2023 Feb 11;24(1):32. DOI: 10.1186/s12882-023-03082-9

Inhaltsverzeichnis

1 Abkürzungsverzeichnis.....
2. Einleitung	6
2.1 Die Bestimmung der Nierenfunktion bei chronischer Nierenkrankheit.....	6
2.2 Die Bestimmung der tubulären Nierenfunktion	8
2.3 Die Bestimmung der Nierenfunktion bei akuter Nierenfunktionseinschränkung	9
2.4 Die Restnierenfunktion bei Peritoneal- und Hämodialysepatienten	9
2.5 Nierentransplantation als Nierenersatztherapie.....	13
2.6 Fragestellung	16
3. Ergebnisteil	18
3.1 Beta-Trace Protein in Peritonealdialysepatienten	18
Schwab et al. BMC Nephrol. 2021 Mar 11;22 (1):87	
3.2 Elimination renaler Funktionsmarker bei kontinuierlicher Nierenersatztherapie	29
Schwab et al. Clin Exp Nephrol. 2019 Mar;23(3):429-430	
3.3 Beta-Trace Protein in Hämodialysepatienten	33
Schwab et al. Clin Chem Lab Med 2018 Oct 25;56(11):265-267	
3.4 DKK3 in Peritonealdialysepatienten	42
Ehleiter et al. BMC Nephrol. 2024 Aug 23;25(1):268	
3.5 Beta-Trace Protein und kardiovaskuläres Outcome nach Nierentransplantation	52
Schwab et al. Nephrology (Carlton), 2023 Jan;28(1):51-59	
3.6 NT-proBNP und kardiovaskuläres Outcome nach Nierentransplantation	63
Schwab et al. BMC Nephrol. 2023 Feb 11;24(1):32	
4. Diskussion	76
5. Zusammenfassung.....	86
6. Inhaltliche Überlappung mit anderen Habilitationsschriften.....	88
7. Bibliographie.....	89
8. Danksagung.....	101
9. Erklärung.....	103

Für meine Familie
Gülşah, Isabel und Johanna Schwab
Werner und Claudia Schwab

1 Abkürzungsverzeichnis

CAPD	kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse
CCPD	kontinuierliche zyklische Peritonealdialyse
CKD	chronische Nierenkrankheit (chronic kidney disease)
CVVH	kontinuierliche venovenöse Hämodialyse
CiCa-CVVHD	Citrat-basierte kontinuierliche venovenöse Hämodialyse
DKK-3	Dickkopf 3
eGFR	estimierte glomeruläre Filtrationsrate
HD	Hämodialyse
HDF	Hämodiafiltration
IF/TA	interstitielle Fibrose und Tubulusatrophie
(k)Da	(kilo) Dalton
Kt/V_{urea}	dimensionsloser Parameter zur Beurteilung der Dialyseeffizienz
MACE	major adverse cardiac event
NT-proBNP	Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide
PD	Peritonealdialyse
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

2 Einleitung

Weltweit etwa jeder zehnte Mensch leidet an einer chronischen Nierenkrankheit (CKD), (Hill et al., 2016). Diabetes (42%), arterielle Hypertonie (18%), Glomerulonephritis (18%) sowie „andere Ursachen“ (22%) wurden im Jahr 2016 als Ursache einer Nierenkrankheit angegeben (Xie et al., 2018). Deutschlandweit liegt die CKD-Prävalenz bei Hausärzten bei 27,9% (Gergei et al., 2017).

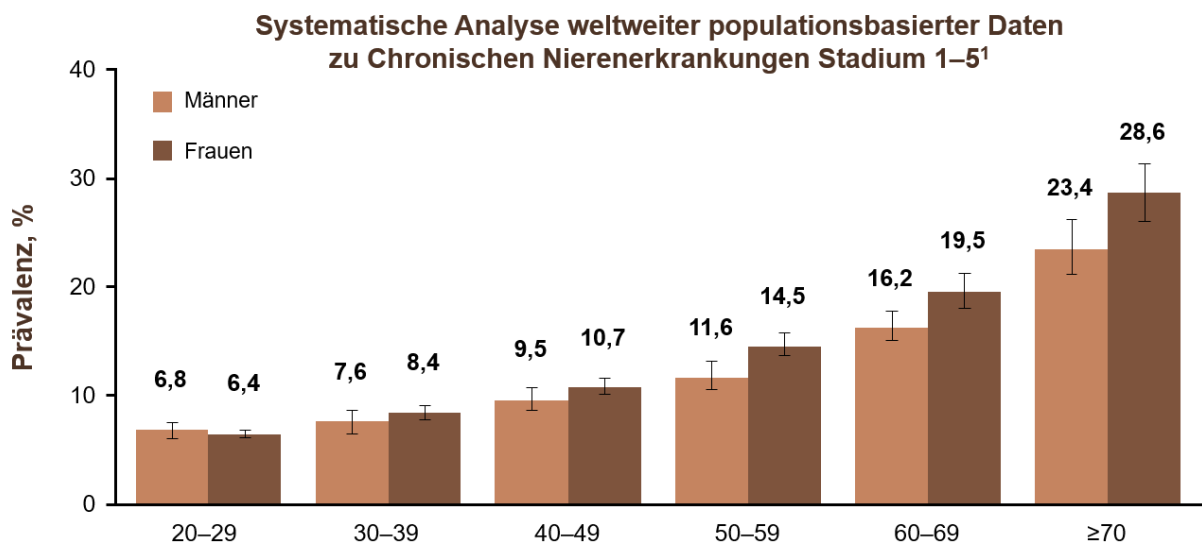


Abbildung 1: Weltweite Prävalenz chronischer Nierenkrankheit (modifiziert nach Mills et al, 2015).

2.1 Die Bestimmung der Nierenfunktion bei chronischer Nierenkrankheit

Die Einschätzung der Nierenfunktion erfolgt überwiegend über die Bestimmung von Serum-Kreatinin, das die Grundlage für die Berechnung der glomerulären Filtrationsrate (eGFR) darstellt und für die Einteilung des Schweregrades, aber auch für die Abschätzung der Prognose der Nierenkrankheit, von Bedeutung ist.

Dies ist von hoher Relevanz, da chronische Nierenerkrankungen aufgrund ihrer hohen Prävalenz und des damit verbundenen Risikos für terminale Nierenkrankheit, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Mortalität eine große globale Gesundheitsbelastung darstellen (Jha etl, 2013 ; Go et al., 2004 ; Matsushita et al., 2010).

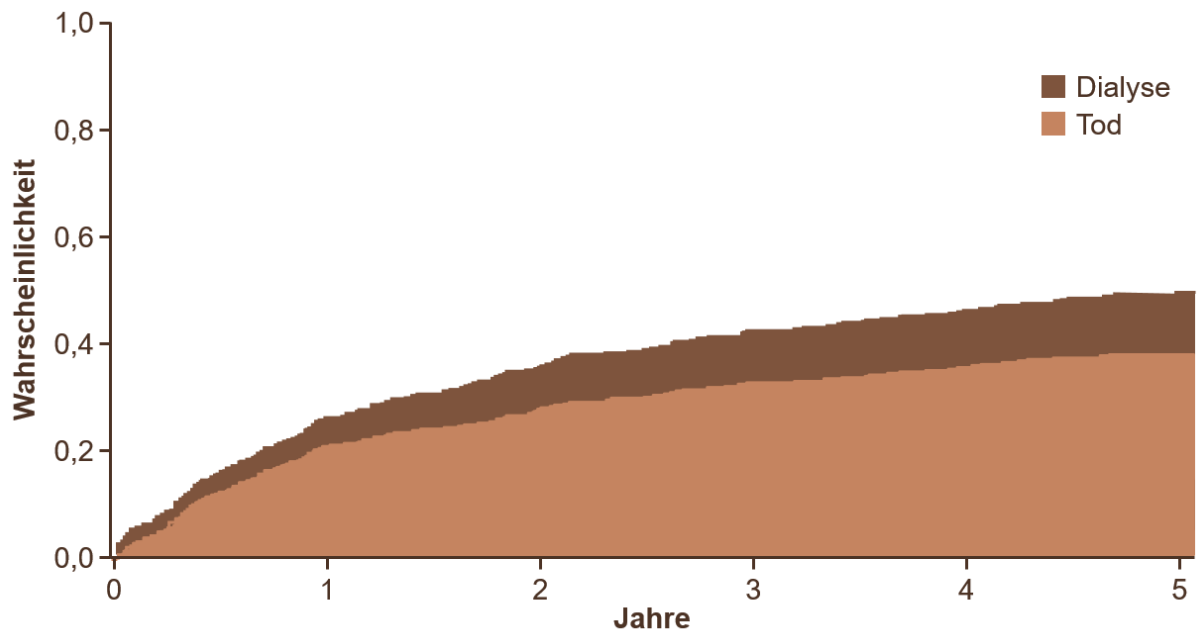


Abbildung 2: Wahrscheinlichkeit für Tod (33%) oder Dialysepflichtigkeit (12%) über einen 5-Jahres-Zeitraum bei CKD-Patient:innen einer französischen kohortenbasierten, epidemiologischen Studie (modifiziert nach Ayav, et al. 2016).

In der klinischen Routine weist Kreatinin Störfaktoren auf, die nicht von der glomerulären Filtrationsleistung abhängen, sodass eine akkurate Bestimmung der exkretorischen Nierenfunktion ausschließlich durch Serumkreatinin-Bestimmungen oft nicht möglich ist. So weist ein junger, körperlich aktiver Patient eine andere Kreatininkinetik als ein geriatrischer, multimorbider und körperlich immobiler Patient auf. Der adipöse Raucher unter Steroidtherapie wird ebenfalls andere Störfaktoren aufweisen als der Patient mit einer dekompensierten Leberzirrhose.

Die eGFR ist ein extrem wichtiger Parameter für klinische Entscheidungen in der Medizin und spielt eine zentrale Rolle bei der Diagnose, Prognose und Behandlung von Patienten mit chronischer Nierenerkrankung. Beispielsweise müssen unzählige Medikamente in der Dosierung an die Nierenfunktion angepasst werden. Die GFR wird anhand der Serumkonzentrationen endogener Marker wie Kreatinin geschätzt. In die Berechnung der eGFR fließen demografische Variablen ein, um Schwankungen der Serumkonzentrationen zu erklären, die nicht auf die Nierenfunktion rückführbar sind. Systematische Fehler und Unterschiede zwischen Gruppen können auf diese Weise reduziert werden (Inker et al., 2021; Levey et al., 2009).

Bereits seit 2012 besteht eine Leitlinienempfehlung (KDIGO 2012), die eine häufigere Verwendung alternativer glomerulärer Biomarker wie Cystatin C vorsieht. Cystatin C ist ein Plasmaprotein, dessen Plasmakonzentration ebenfalls durch viele Faktoren beeinflusst wird und unter anderem von Alter, Raucherstatus, Adipositas, Schilddrüsenfunktion und Inflammation abhängt (Dalfino et al., 2008 ; Couser et al., 2014). Auch gibt es Hinweise auf eine extrarenale Elimination (Praga et al., 2010 ; Kudose et al., 2018).

Passend hierzu legen neuere Erkenntnisse nahe, dass es häufig große Diskrepanzen zwischen der Kreatinin-basierten eGFR ($eGFR_{cr}$) und der Cystatin-C-basierten eGFR ($eGFR_{cys}$) gibt (Chen et al., 2022 ; Potok et al., 2022 ; Potok et al., 2020 ; Carrero et al., 2023).

Aktuelle Arbeiten zeigen, dass die kombinierte eGFR-Messung von Kreatinin und Cystatin C ($eGFR_{cr-cys}$) genauer sind als die $eGFR_{cr}$ (Inker et al., 2021 ; Soveri et al., 2014).

Aktualisierte Leitlinien (KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline) empfehlen daher eine Kombination aus Serumkreatinin und Serum-Cystatin C-Bestimmungen zur Berechnung der eGFR.

2.2 Die Bestimmung der tubulären Nierenfunktion

Serumkreatinin und Albuminurie, die am häufigsten verwendeten Messwerte zur Beurteilung der Nierenfunktion respektive des funktionellen Nierenschadens, spiegeln in erster Linie aber die Integrität der Glomeruli wider und erfassen als „glomerulozentrische“ Betrachtung keine Tubulusfunktionen wie die Reabsorption gefilterter Moleküle, die Abwehr von Infektionen, die Proteinsynthese sowie Sekretion und die Regulation der Säure-Basen-Homöostase (Rule et al., 2010 ; Kassirer, 1971).

Der histologische Begriff interstitielle Fibrose und Tubulusatrophie (IF/TA) beschreibt die Vernarbung des Interstitiums der Niere. Bislang kann eine Einschätzung der IF/TA nur mittels Nierenbiopsie oder indirekt über die eGFR erfolgen.

Sowohl glomeruläre als auch tubuläre Erkrankungen der Niere führen bei chronischem Verlauf zu einer Zunahme der IF/TA, wobei das Ausmaß der Fibrose die Prognose der Erkrankung mitbedingt. Bei eingeschränkter GFR liegen häufig bereits ausgedehnte tubuläre Atrophie und IF-Läsionen vor, da die effektive Filtrationsfläche in der Regel parallel zur Vergrößerung der Oberfläche der IF/TA abnimmt. Es wird angenommen, dass die Messung der GFR indirekt das Ausmaß der IF/TA widerspiegelt (Gilbert et al., 1999).

Bisher konzentrieren sich die Studien zur Einschätzung der Tubulusfunktion auf die Messung unterschiedlicher Biomarker im Urin. Viele verschiedene Biomarker wurden bislang

eingeführt, wobei bis heute kein Biomarker für die Einschätzung der Tubulusfunktion nachhaltigen Eingang in klinische Routine gefunden hat.

Ein relativ neuer tubulärer Biomarker ist Dickkopf 3 (DKK-3). Es ist ein von den Nierentubuli sezerniertes Glykoprotein, welches durch tubulären Stress induziert wird und die Entstehung tubulointerstitieller Fibrose stimuliert (Federico et al., 2016). Bislang konnte gezeigt werden, dass höhere DKK-3 Werte im Urin eine schlechte renale Prognose bei nicht-dialyspflichtiger chronischer Nierenkrankheit voraussagen kann (Zewinger et al., 2018). DKK-3 erscheint bislang als vielversprechendster tubulärer Biomarker zur Vorhersage eines Verlustes der Restnierenfunktion (Schunk et al., 2021).

2.3 Die Bestimmung der Nierenfunktion bei akuter Nierenfunktionseinschränkung

Die Diurese, und in geringerem Maße auch das Serumkreatinin, sind äußerst empfindlich gegenüber dem Gesamtvolumenstatus, sodass eine Hypovolämie direkte Veränderungen der Urinausscheidung auslöst, ohne dass eine Gewebeschädigung erforderlich ist. Funktionsveränderungen können durch Hypovolämie ohne direkte Nierenschädigung oder durch direkte Schäden wie beispielsweise eine Ischämie ausgelöst werden. Es wurde passend hierzu beschrieben, dass bei einer Hypovolämie und einer Ischämie-induzierten Schädigung (z.B. nach großen Operationen) unterschiedliche Gene exprimiert werden (Xu et al, 2017).

Aus Ermangelung sinnvoller Alternativen, sind die Eckpfeiler der Diagnostik einer akuten Nierenfunktionseinschränkung Veränderungen des Serumkreatinins sowie der Urinausscheidung. Diese sind weder sensitiv noch spezifisch, da bei einer gesunden Person fast 50% der GFR verloren gehen muss, bevor diese mittels Serumkreatinin-Bestimmungen messbar sind (Delanaye et al., 2017 ; Ronco et al., 2017). Veränderungen der Urinausscheidung können sensitiver, aber weniger spezifisch als Kreatininveränderungen sein. Beispielsweise kann in einigen Entitäten akuter Nierenfunktionseinschränkungen primär eine Polyurie auftreten, welches die Diagnosefähigkeit einschränkt.

2.4 Die Restnierenfunktion bei Peritoneal- und Hämodialysepatienten

Die Einschätzung der Nierenfunktion bei Dialysepatienten ist im Vergleich zu chronischen, nicht-dialyspflichtigen Patienten sehr viel schwieriger. Theoretisch besteht die Nierenfunktion bei Dialysepatienten aus der Summe der residualen Eigennierenfunktion und der durch die Nierenersatztherapie bereitgestellte Funktion.

Proteine mit niedrigem Molekulargewicht (<500 Dalton) werden durch glomeruläre Filtration aus dem Plasma eliminiert und in proximalen Tubuluszellen reabsorbiert. Eine Beeinträchtigung der Nierenfunktion führt daher zu einem konsekutiven Anstieg des Plasmaspiegels dieser Proteine. In der Regel verläuft der Rückgang der GFR parallel zum Rückgang anderer Nierenfunktionen, aber auch gelöste Moleküle, die durch tubuläre Sekretion ausgeschieden werden, können eine klinische Symptomatik verstärken, falls deren Serumspiegel überproportional zur Verringerung der GFR ansteigt (Sirich et al., 2014 ; Lowenstein, 2017).

Weltweit ist die Peritonealdialyse eine wichtige Methode zur Nierenersatztherapie (Bargmann et al., 2001). Die Bedeutung der Restnierenfunktion ist bei der Peritonealdialyse anerkannt. Die Restnierenfunktion trägt zu einer besseren Clearance gelöster Stoffe, zur Entfernung von Urämietoxinen, zur Volumenkontrolle wie auch zur Kontrolle des Phosphat- und Mineralstoffwechsels bei und ist mit weniger Anämie und weniger Inflammation verbunden (Wang et al., 2016).

Peritonealdialysepatienten mit erheblicher Restnierenfunktion haben einen besseren Ernährungszustand, weniger kardiale Funktionsstörungen und weniger vaskuläre Kalzifizierungen. In der Konsequenz geht die Restnierenfunktion mit einem besseren Gesamtüberleben, kardiovaskulären Ergebnissen und einer besseren Lebensqualität einher (Wang et al., 2006).

Es ist zu betonen, dass die Restnierenfunktion, nicht aber die Dialyседosis der Peritonealdialyse das Gesamtüberleben von Patienten unter Peritonealdialyse vorhersagte. Dies bedeutet, dass diese beiden Komponenten der Gesamtclearance unabhängig der Dialysemodalität nicht gleichwertig sind (Bargman et al., 2001).

Die Restnierenfunktion hat auch bei Hämodialysepatienten eine große Bedeutung. So konnte in einer Studie über einen Zeitraum von zwei Jahren gezeigt werden, dass eine jeweils um 1 ml/min /1,73m² höhere Restnierenfunktion bei Dialyseeinleitung das angepasste Sterberisiko um 56% gesenkt hat (Shemin et al., 2001). Eine höhere Urinausscheidung bei Hämodialysepatienten wurde zudem mit einer besseren Lebensqualität, geringerem Inflammationsniveau und einem geringeren Erythropoetingebrauch assoziiert (Shafi et al., 2010).

In der Netherlands Cooperative Study of Dialysis (NECOSAD) war ein vollständiger Verlust der Restnierenfunktion mit einem um 50% höheren Risiko der Gesamtmortalität verbunden als

bei Patienten, bei denen noch ein gewisses Maß an Restnierenfunktion vorhanden war (van der Wal et al., 2011). Diese Ergebnisse stimmen mit Daten von Patienten unter Peritonealdialyse überein, die einen Zusammenhang zwischen schnellerem Verlust von Restnierenfunktion und Mortalität berichten (Liao et al., 2009).

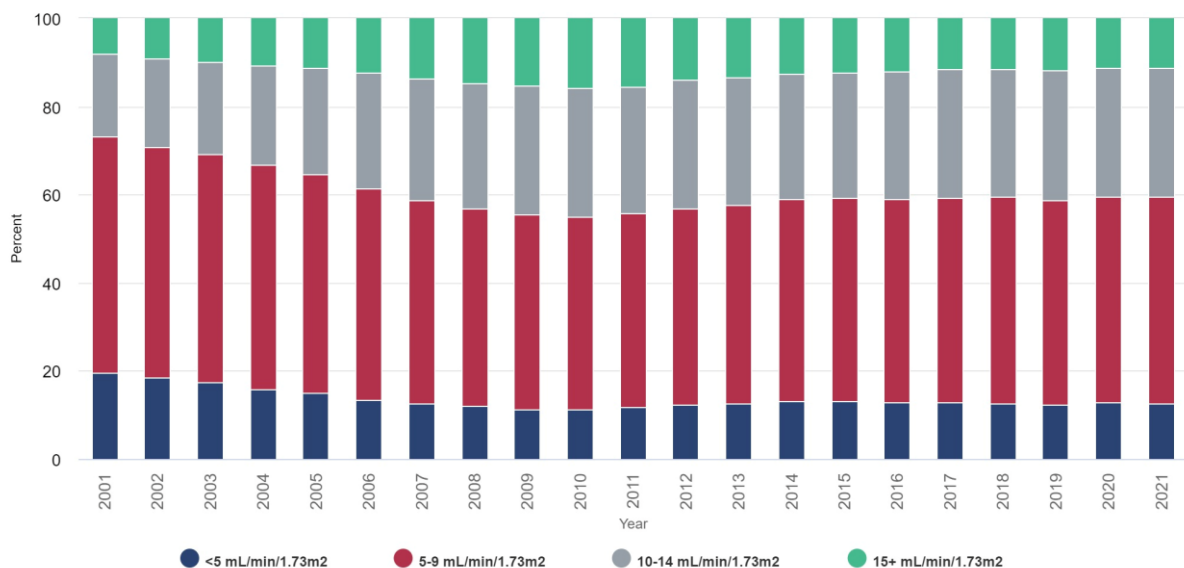
Mehrere große Kohortenstudien haben sich mit der Bedeutung der residualen Nierenfunktion befasst und einen beobachteten Überlebensvorteil der renalen Clearance und nicht der Dialyse-Clearance zugeschrieben (Termorshuizen et al., 2003 ; Bargman et al., 2001 ; Obi et al., 2016). Als ursächlich hierfür wird eine höhere Volumendepletion, eine höhere Clearance von Molekülen im mittleren Molekularbereich (20-25 kilo Dalton (kDa)) und ein geringeres Inflammationsniveau angesehen (Paniagua et al., 2002 ; Shafi et al., 2010).

Analog zu der steigenden Inzidenz bei Patienten mit chronischer Nierenkrankheit steigt auch die Zahl der Menschen, die sich Peritoneal- oder Hämodialyse unterziehen kontinuierlich (Li et al., 2019).

Die Patienten, die eine Dialyseeinleitung erhalten, haben regelhaft eine gewisse, nicht unerhebliche Restnierenfunktion.

Gemäß United States Renal Data System Report von 2022 betrug die geschätzte mittlere GFR bei Beginn der Dialyse im Jahr 2021 in 12,6% der Patienten $<5 \text{ mL/min/1,73m}^2$, in 46,9% der Patienten $5 - <10 \text{ mL/min/1,73m}^2$, in 29,1% der Patienten $10 - <15 \text{ mL/min/1,73m}^2$ und in 11,4% der Patienten $\geq 15 \text{ mL/min/1,73m}^2$ (United States Renal Data System, 2023).

Figure 1.14 Estimated glomerular filtration rate among incident ESRD patients, 2001-2021



Data Source: 2023 United States Renal Data System Annual Data Report

Abbildung 3: eGFR Angaben zu Patienten zum Einleitungszeitpunkt der Nierenersatztherapie (United States Renal Data System, 2023).

Die Restnierenfunktion ist dabei nicht einheitlich definiert. Ohne Nierenfunktion wurde in einer Studie als $GFR < 1 \text{ ml/min/1,73m}^2$ definiert (Paniagua et al., 2002), in einer anderen Studie als Urinvolumen $< 100 \text{ ml/Tag}$ oder einer Kreatinin-Clearance $< 1 \text{ ml/min}$ (Singhal et al., 2000). In der klinischen Praxis ist jedoch jedes Urinvolumen $< 100 \text{ ml}$ oder jede geschätzte $GFR > 1 \text{ ml/min/1,73m}^2$ wertvoll und sollte nicht ignoriert werden (Szeto et al., 2018 ; Mathew et al., 2016 ; Shemin et al., 2001).

Es gibt mehrere Methoden zur Messung der residualen Nierenfunktion bei Dialysepatienten. Bislang wird die Restnierenfunktion von Dialysepatienten im Allgemeinen als Harnstoffclearance oder als gemittelte Harnstoff- und Kreatininclearance angegeben, die aus der interdialytischen Urinsammlung berechnet und auf die Körperoberfläche normalisiert wird (Ono et al., 1994 ; Tattersall et al., 2007). Harnstoff wird jedoch passiv im proximalen Tubulus reabsorbiert und Kreatinin tubulär sezerniert, was dazu führt, dass die Restnierenfunktion bei der Harnstoffclearance unter- und bei der Kreatininclearance überschätzt wird. Da diese Methoden eine Urinsammlung benötigen, sind sie für Patient und Personal belastend und fehleranfällig.

Es ist wichtig zu beachten, dass die (kombinierte) Harnstoff- und Kreatinin-Clearance ausschließlich die Clearance kleiner gelöster Moleküle (Molekulargewicht $< 500 \text{ Da}$) misst, während die Eigennierenfunktion ebenso zur konvektiven Clearance mittlerer Moleküle beiträgt (Mathew et al, 2016).

Vor diesem Hintergrund hat der diffusive Transport bei Hämodialysepatienten einen erheblichen Einfluss auf kleine Moleküle wie Kreatinin und Harnstoff, aber nur einen geringen Effekt auf die Eliminierung von Proteinen mit mittlerem Molekulargewicht. Im Unterschied dazu können konvektive Therapien (HDF - Hämodiafiltration) mehr solcher Proteine entfernen (Leypoldt et al., 1999). Moderne Dialysemembranen sollten Proteine mit einem Molekulargewicht von $> 500 \text{ Da}$ effizient entfernen und so die Funktion der natürlichen Glomeruli nachahmen, die gelöste Moleküle bis zu einem Molekulargewicht von Albumin (67 kDa) reinigen. Eigenschaften der Dialysemembran wie Oberfläche, Dicke, Porengröße und Siebkoeffizient sind für die Entfernung der Mittelmoleküle entscheidend (Kabanda et al., 1994

; Chelamcharla et al., 2005 ; Lindström et al., 2008 ; Clark et al., 2003), jedoch beeinflussen auch molekulare Charakteristika der Proteine ihre Elimination über die Dialysemembran (Kabanda et al., 1994).

Das perfekte Molekül zur Bestimmung der eGFR wird konstant gebildet, frei glomerulär filtrierte, nicht metabolisiert und nicht tubulär sezerniert oder reabsorbiert.

Relevante endogene Biomarker, die diese Kriterien erfüllen, sind Cystatin C, β -2-Mikroglobulin und Beta-Trace Protein.

Cystatin C wird sowohl durch Peritonealdialyse (Steubl et al., 2015) als auch durch High-Flux Membranen an der Hämodialyse (Donadio et al., 2017) entfernt. Infolgedessen befindet sich Cystatin C im interdialytischen Intervall nicht in einem Gleichgewicht und wurde in einer Studie mit einem mittleren interdialytischen Anstieg von 0,3 mg/l pro Tag angegeben (Shafi et al., 2016). β -2-Mikroglobulin ist ein 11,6 kDa großes Protein, das Bestandteil der wichtigsten Histokompatibilitätsmoleküle ist, die auf kernhaltigen Zellen vorhanden sind (Argyropoulos et al., 2017). Seine Plasmakonzentration wird durch Malignität und Entzündungen beeinflusst (Liu et al., 2016 ; Foster et al., 2017) und wie Cystatin C durch High-Flux Membranen bei der Hämodialyse, aber auch bei der Peritonealdialyse entfernt. Der interdialytische Anstieg von β -2-Mikroglobulin wurde mit 1,27 mg/l pro Tag angegeben (Shafi et al., 2016).

Beta-Trace Protein ist ein 23–29 kDa großes Glykoprotein, das von diversen Zellen des Körpers gebildet wird. Beta-Trace Protein wird durch High-Flux-Hämodialyse in viel geringerem Maße entfernt als Cystatin C und β -2-Mikroglobulin (Donadio et al., 2017). Daher scheinen seine Plasmaspiegel bei Patienten, die mit Hämodialyse unter Verwendung von High-Flux-Membranen behandelt werden, im interdialytischen Intervall stabil zu sein (mittlerer interdialytischer Anstieg 0,09 mg/l pro Tag) (Shafi et al., 2016).

Für Super-High-Flux-Membranen, die Proteine bis zu 65 kDa entfernen können, und bei der Hämodiafiltration wurde beschrieben, dass Beta-Trace Protein genauso effektiv entfernt werden kann wie Cystatin C und β -2-Mikroglobulin (Donadio et al., 2017), wenngleich dies weiter differenziert werden muss.

2.5 Nierentransplantation als Nierenersatztherapie

Die Sterblichkeit der Patienten an der Dialyse ist hoch. Etwa 20-25% der Patienten, die mit der Dialyse beginnen, überleben das erste Jahr der Dialyse nicht und nur 50% überleben mehr als drei Jahre (United States Renal Data System, 2016).

Dialysepatienten, die auf einer Warteliste für eine Nierentransplantation gelistet sind, verbringen Jahre auf der Warteliste, bevor sie ein Organangebot für eine Nierentransplantation erhalten. Kardiovaskuläre Ereignisse sind die häufigste Todesursache unter Dialysepatienten. Eine Nierentransplantation reduziert das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse im Vergleich zu den Patienten, die weiterhin an der Dialyse verbleiben. Das Risiko dieser Patienten im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ist dennoch deutlich erhöht (Neale et al., 2015). Die Ursachen hierfür sind heterogen.

Diabetes ist eine der weltweit häufigsten Ursachen für eine Terminalisierung der Nierenfunktion. Diabetes erhöht nicht nur das Risiko einer Arteriosklerose, sondern begünstigt auch die Entwicklung von Kalzifizierungen der Gefäße vor und nach der Transplantation. Diabetes ist daher ein starker Prädiktor für kardiovaskuläre Manifestationen bei Empfängern eines Nierentransplantates (Israni et al., 2010).

Auch Bluthochdruck besteht bei Patienten mit chronischer Nierenkrankheit und bei Dialysepatienten häufig. Kalzifizierungen der Arteria media verringern die Elastizität und fördern die Arteriensteifigkeit und können sowohl Risikofaktor als auch Folge von arterieller Hypertonie sein (Rattazzi et al., 2012). Die meisten dialysepflichtigen Patienten weisen Lipidanomalien in unterschiedlichem Ausmaß auf, wobei Hypercholesterinämien einer der stärksten unabhängigen Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind (Piotti et al., 2019).

Es ist daher nachvollziehbar, dass kardiovaskuläre Erkrankungen die häufigste Todesursache bei Nierentransplantationsempfängern sind (Gill et al., 2005 ; Meier-Kriesche et al., 2004). Es ist die Aufgabe der Transplantationszentren die Dialysepatienten zu identifizieren, die intensiviertere kardioprotektive Maßnahmen benötigen oder aufgrund eines hohen Risikos kardiovaskulärer Ereignisse nicht von einer Transplantation profitieren.

Die American Heart Association schlägt basierend auf einer aktuellen Studie (Bangalore et al., 2020) einen neuen Ansatz für ein kardiovaskuläres Screening vor, nachdem frühere Studien die diagnostische und prognostische Fähigkeiten von Risikofaktoren bei Kandidaten auf der Warteliste widersprüchlich bewertet haben (Lindley et al., 2016 ; Winther et al., 2015 ; Winther et al., 2018 ; Doukky et al., 2018). Dieser Algorithmus wurde rezent in einer externen Kohorte validiert und konnte Patienten mit hohem, mittlerem und niedrigem Risiko diskriminieren (Nielsen et al., 2023).

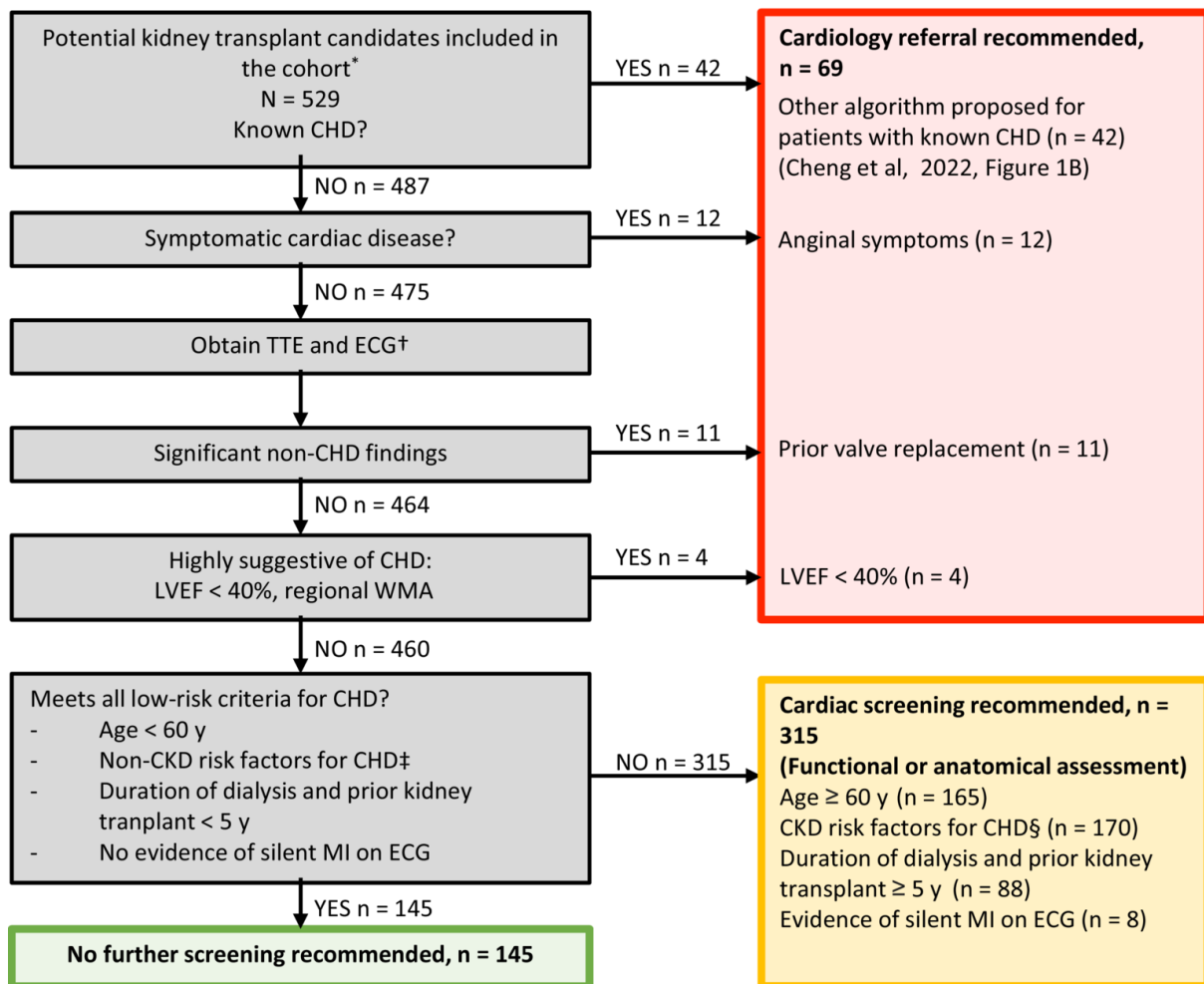


Abbildung 4: Flowchart der American Heart Association (Cheng et al, 2022). Zitiert aus der externen Validierungskohorte von Nielsen et al., 2023.

CHD - coronary heart disease; CKD - chronic kidney disease; LVEF - left ventricular ejection fraction; MI - myocardial infarction; TTE - transthoracic echocardiogram; and WMA - wall motion abnormality.

Auch bei strukturierter und individualisierter Bewertung des kardiovaskulären Risikos von Dialysepatienten, die auf der Warteliste zur Nierentransplantation stehen, kann das Risiko unmittelbar zum Transplantationszeitpunkt nicht adäquat abgeschätzt werden. Dies ist besonders relevant für die Patienten, die aus den verschiedenen Algorithmen der Transplantationszentren nicht herausgefiltert werden. Unter anderem sind dies die Patienten mit erhaltener linksventrikulärer Herzfunktion (siehe Abbildung 4).

NT-proBNP ist ein Marker für Myokardschäden und Volumenüberladung (Vickery et al., 2005 ; Gangji et al., 2008). Asymptomatische und eurolämie Patienten unter Dialyse weisen häufig

NT-proBNP Plasmaspiegel auf, die mehr als das 20-fache des oberen Grenzwertes betragen (Harrison et al., Niizuma et al., 2017). Kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität aller Ursachen können sowohl in der Allgemeinbevölkerung als auch bei chronischer Nierenkrankheit anhand von NTpro-BNP vorausgesagt werden (Sundqvist et al., 2016) ; Wang et al., 2012 ; Apple et al., 2004).

Auch für Beta-Trace Protein haben frühere Studien einen Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration und koronarer Herzkrankheit, Herzinsuffizienz sowie kardiovaskulärer und Gesamtmortalität gezeigt, sodass bei Patienten mit schwerer koronarer Herzkrankheit systemische Beta-Trace Protein Werte erhöht sind (Anwaruddin et al., 2006 ; Wang et al., 2008 ; Oterdoom et al., 2009 ; Heringlake et al., 1985).

2.6 Fragestellung

Die residuale Nierenfunktion bei Dialysepatienten nach Dialysebeginn ist vor allem aufgrund seiner Auswirkungen auf die Volumen- und Stoffausscheidung stark mit Morbidität, Mortalität und der Lebensqualität verbunden.

Demgegenüber stehen standardisierte Dialysedosierungen sowie häufig auch eine Gratwanderung zwischen Erhalt der Eigendiurese und konsequentem Volumenmanagement.

Die Bestimmung der residualen Nierenfunktion bei Dialysepatienten ist schwierig, im Alltag wenig praktikabel und daher unterrepräsentiert.

Auch wenn die Restnierenfunktion mehr impliziert als Biomarker oder Urinvolumina abbilden können, ist eine Verbesserung der Bestimmung der residualen Nierenfunktion bedeutsam, da sie mit harten Endpunkten korreliert. Die verlässliche Bestimmung erfordert jedoch optimierte GFR-Messtechniken und vor allem die Identifizierung neuer endogener Filtrationsmarker, um die Zuverlässigkeit der Bestimmung der residualen Nierenfunktion zu verbessern.

Die Grundlage dieser Arbeit sind daher Studien, die systematisch endogene Biomarker der glomerulären Funktion bei Patienten dialysepflichtiger Nierenkrankheit untersucht haben. Dabei wurden unterschiedliche Dialysemodalitäten, aber auch Nierenkrankheiten unterschiedlicher Akuität betrachtet.

Um die Komplexität der unterschiedlichen Nierenfunktionen zu würdigen, erfolgte auch die Untersuchung tubulärer Nierenfunktionsmarker wie DKK-3 in einer Kohorte von Peritonealdialysepatienten.

Die Optionen einer Nierenersatztherapie sind nicht auf apparative Dialyseverfahren beschränkt. Die beste Nierenersatztherapie stellt die Nierentransplantation dar. Während des Evaluationsprozesses zur Nierentransplantationslistung erfolgen strukturierte Assessments des kardiovaskulären Risikos, die das aktuelle Risiko unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse nach der Transplantation aber nur unvollständig abbilden. Die Identifikation und Stratifizierung von Patienten mit hohem kardiovaskulären Risiko zum unmittelbaren Zeitpunkt der Transplantation betrifft dies jedoch nicht und kann weiter verbessert werden.

Wir haben daher untersucht, inwieweit etablierte Biomarker kardialer und renaler Funktion die Identifikation von Patienten mit Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und Tod verbessern kann.

3. Ergebnisteil

3.1 Beta-Trace Protein in Peritonealdialysepatienten

“Beta-trace protein as a potential biomarker of residual renal function in patients undergoing peritoneal dialysis.”

Schwab S, Kleine CE, Bös D, Bohmann S, Strassburg CP, Lutz P, Woitas RP.

BMC Nephrol. 2021 Mar 11;22 (1):87

Zielsetzung der Arbeit & Methoden

Die Kinetik und die Elimination von Beta-Trace Protein bei Patienten unter peritonealer Dialyse ist weitgehend unbekannt. Die vorgestellte Studie soll diese Lücke füllen und die Entfernung von Beta-Trace Protein bei Peritonealdialysepatienten charakterisieren. Um die Bedeutung von Beta-Trace Protein für die Bewertung der residualen Nierenfunktion zu analysieren, wurden die Beta-Trace Protein Serumkonzentrationen mit Restdiurese und Kreatinin-Clearance korreliert und auch vor zeitlichen Hintergründen bewertet. In einem prospektiven Studiendesign wurden 34 Peritonealdialysepatienten eingeschlossen. 29 Patienten wiesen eine Restdiurese von > 200 ml/24 h auf. Patienten mit einer Diurese von weniger als 200 ml wurden der Anurie-Gruppe zugeordnet.

Beta-Trace Protein, Kreatinin-, Cystatin-C- und Harnstoffkonzentrationen wurden gleichzeitig in Serum, Dialysat und Urin analysiert. Die Kreatinin-Clearance (ClCr) wurde auf eine Standardkörperoberfläche von 1,73 m² normalisiert.

Um Veränderungen der Residualdiurese im Zeitverlauf und die entsprechenden Serumspiegel der Analyten zu beurteilen, berechneten wir die Differenz zwischen dem letzten und ersten Diuresevolumen sowie den Beta-Trace Protein Serumwerten und dividierten sie durch die Anzahl der Nachuntersuchungsquartale.

Ergebnisse

Es gab keine signifikante Korrelation zwischen den Beta-Trace Protein Serumspiegeln und Geschlecht, Body-Mass-Index oder Alter. Die Beta-Trace Protein-Serumkonzentration war bei Patienten mit Anurie höher, wohingegen Kreatinin, Cystatin C und Harnstoff nicht signifikant erhöht war.

Die mittlere peritoneale Entfernung von Beta-Trace Protein betrug 3,36 l/Woche/1,73 m² und die mittlere renale Entfernung 15,14 l/Woche/1,73 m². Die renale und peritoneale Elimination

von Cystatin C und Kreatinin zeigte keine signifikanten Unterschiede. Beta-Trace Protein war der einzige gelöste Stoff, der eine höhere renale als peritoneale Elimination aufwies, was sich in einem signifikant höheren Verhältnis von Beta-Trace Protein im Serum zu Beta-Trace Protein im Dialysat widerspiegelte.

Serum Beta-Trace Protein korrelierte negativ mit Restdiurese, residualer Kreatinin-Clearance und Harnstoff-Clearance. Die Korrelation der anderen untersuchten Analyten mit der Restdiurese war geringer. Cystatin C korrelierte in gleichem Maße wie Beta-Trace Protein mit der Kreatinin-Clearance.

Es konnte eine Serum Beta-Trace Protein Konzentration von 6,7 mg/l als Grenzwert ermittelt werden, um zwischen einer renalen Restkreatinin-Clearance von $< 7 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ und $\geq 7 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ zu unterscheiden.

Im Gegensatz zu den anderen Markern korrelierte die Veränderung des Serum Beta-Trace Protein umgekehrt proportional zur Veränderung der Residualdiurese im Zeitverlauf. Ebenso korrelierte der Anstieg des Serum-Beta Trace Protein mit dem Rückgang der renalen Kreatinin-Clearance.

Schlussfolgerungen

Beta-Trace Protein ist ein zuverlässiger Marker für die Bewertung der Restnierenfunktion bei Patienten unter Peritonealdialyse, da er nur eine relativ moderate peritoneale Elimination zeigt und anderen glomerulären Biomarkern gegenüber überlegen ist. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um den prädiktiven Wert der Beta-Trace Protein Konzentration im Serum zur Beurteilung der residualen Nierenfunktion zu klären.

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Beta-trace protein as a potential biomarker of residual renal function in patients undergoing peritoneal dialysis

Sebastian Schwab^{1,2*}, Carola Ellen Kleine¹, Dominik Bös³, Sylvie Bohmann³, Christian P. Strassburg¹, Philipp Lutz^{1†} and Rainer Peter Woitas^{4†}

Abstract

Background: Residual renal function is closely linked to quality of life, morbidity and mortality in dialysis patients. Beta-trace protein (BTP), a low molecular weight protein, has been suggested as marker of residual renal function, in particular in patients on hemodialysis. We hypothesized that BTP also serves as a marker of residual renal function in peritoneal dialysis patients.

Methods: In this study 34 adult patients on peritoneal dialysis were included. BTP, creatinine, cystatin C and urea concentrations were analyzed simultaneously in serum and dialysate to calculate renal and peritoneal removal of the analytes.

Results: In peritoneal dialysis patients with residual diuresis, mean serum BTP was 8.16 mg/l (SD \pm 4.75 mg/l). BTP correlated inversely with residual diuresis ($r_s = -0.58$, $p < 0.001$), residual creatinine clearance (Cl_{Cr}) ($r_s = -0.69$, $p < 0.001$) and total urea clearance (Cl_{urea}) ($r_s = -0.56$, $p < 0.001$). Mean peritoneal removal of BTP was 3.36 L/week/1.73m² (SD \pm 1.38) and mean renal removal 15.14 L/week/1.73m² (SD \pm 12.65) demonstrating a significant renal contribution to the total removal. Finally, serum BTP inversely correlated with alterations in residual diuresis ($r = -0.41$, $p = 0.035$) and renal creatinine clearance over time ($r = -0.79$, $p = p < 0.001$).

Conclusion: BTP measurement in the serum may be a simple tool to assess residual renal function in peritoneal dialysis patients.

Keywords: Beta-trace protein, Low-molecular weight proteins, Peritoneal dialysis, Residual diuresis

Introduction

In patients with chronic kidney failure requiring dialysis, quality of life and survival are linked to residual renal function (RRF) [1–5]. To assess RRF, timed urea clearances or urea/creatinine clearances are considered the gold standard, but they rely on sampling both urine and serum. Commonly used serum markers, such as

creatinine, cystatin C and urea do not reflect RRF accurately, because they are subject to clearance by the dialysis procedure. Moreover, all these low weight molecular proteins (LWMP) may be influenced by external factors. For instance, creatinine production depends on individual muscle mass, and is related to race, sex and age [6], while cystatin C concentration may be altered by smoking [7], obesity [8], diabetes [9], certain types of cancer [6], inflammation [10] or treatment with prednisone [11]. In addition, there is substantial evidence for a non-renal clearance of cystatin C [12].

* Correspondence: sebastian.schwab@ukbonn.de

†Philipp Lutz and Rainer Peter Woitas contributed equally to this work.

¹Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Bonn, Germany

²Institute of Experimental Immunology, Rheinische-Friedrichs-Wilhelms University of Bonn, Bonn, Germany

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2021 **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Despite significant efforts, no reliable serum biomarker mirroring renal function has been identified yet. However Beta-trace protein (BTP) may be a promising candidate. BTP, with a molecular weight of 23- to 29-kDa, is a small molecule expressed in nearly all tissues involved in prostaglandin metabolism, such as the brain, retina, melanocytes, male reproductive organs, heart and kidney [13–16]. BTP is filtered freely in the kidneys with little if any tubular reabsorption and excreted in the urine. BTP serum levels correlate with GFR [17–19] and with residual kidney function (RRF) in end-stage renal disease (ESRD) [20, 21]. Due to its molecular weight, BTP is generally not removed by hemodialysis, but its elimination increases considerably in hemodiafiltration. In addition, elimination is largely depending on the applied dialysis membrane [22–25].

Little data is available concerning BTP in patients undergoing peritoneal dialysis (PD) [26, 27]. Recently, it was suggested that BTP, unlike other markers for glomerular filtration, is not cleared peritoneally at all [27].

The study presented here aims to characterize BTP removal in PD patients as well as to describe the relationship between serum BTP concentration, residual diuresis and residual creatinine clearance over time. We propose BTP as a useful tool to assess residual function in patients on maintenance peritoneal dialysis.

Patients and methods

Patients and treatment description

This prospective study included a total of 34 consecutive adult dialysis patients undergoing maintenance peritoneal dialysis. Of those, 29 had residual diuresis > 200 ml/24 h.

Dialysis efficiency was estimated using Kt/V ratio. All maintenance dialysis patients were on regular dialysis treatment. PD patients were on automated PD (APD, $n = 2$) or continuous PD (CAPD, $n = 32$). Evaluation of peritoneal membrane characteristics was quarterly performed by using the modified peritoneal equilibrium test (PET). Patients were then categorized into a fast and slow transport type. Patients with a diuresis less than 200 ml were assigned to the anuria group.

Parameters and assays

All patients were routinely subjected to blood sample collections to quantify PD treatment adequacy and to a peritoneal adequacy test.

BTP, creatinine, cystatin C and urea concentrations were analyzed simultaneously in serum, dialysate and urine. Levels of BTP and cystatin C were analyzed by immunonephelometry, levels of urea by photometry, and creatinine concentration by a modification of the Jaffé method. Creatinine Clearance (Cl_{Cr}) was adjusted to a standard body surface area of 1.73 m².

Serum creatinine was measured using a modified Jaffé method; urea by a standard clinical analyzer. Serum cystatin C and BTP were analyzed by fully automated, latex-enhanced immunonephelometry (N latex Cystatin C, N latex BTP, respectively, on a Nephelometer II; Siemens, Erlangen, Germany).

Data on the residual diuresis were documented quarterly. Volumes of residual diuresis were determined by means of a 24-h urine collection as routinely performed at home quarterly.

Renal and peritoneal elimination of LWMP

The calculation of residual renal creatinine clearance was performed and normalized to body surface area (BSA) as follows:

$$\text{Renal Clearance}_{\text{creatinine}} = \frac{(\text{volume}_{\text{urine}} \times \text{concentration}_{(\text{creatinine urine})})}{(\text{concentration}_{(\text{creatinine serum})} \times \text{collection time}_{(\text{minutes})})} \times 1,73/\text{BSA}$$

In PD patients, weekly renal and peritoneal elimination of low molecular weight proteins were calculated and normalized to BSA as follows:

Weekly peritoneal clearance of LWMP:

$$7 \times (\text{concentration}_{\text{Dialysate}} \times \text{volume}_{\text{Dialysate}} / \text{concentration}_{\text{Serum}}) \times 1,73/\text{BSA} (\text{inL}/\text{week}/\text{m}^2)$$

Weekly renal clearance:

$$7 \times (\text{concentration}_{\text{Urine}} \times \text{volume}_{\text{Diuresis}} / \text{concentration}_{\text{Serum}}) \times 1,73/\text{BSA} (\text{inL}/\text{week}/\text{m}^2)$$

Total clearance was calculated as the sum of the peritoneal and the renal clearance.

Calculation of correlation between BTP and diuresis over time

To analyze a correlation between loss of diuresis and increase in serum LWMP over time all patients with residual diuresis and a minimum follow-up of 12 months were included.

Differences between the last and the first BTP serum value as well as the last and first diuresis volume were calculated and divided by the amount of follow-up quarters.

$$(\text{last}_{\text{BTP serum}} - \text{first}_{\text{BTP serum}}) / \text{amount of quarters}$$

$$(\text{last}_{\text{diuresis in ml}} - \text{first}_{\text{diuresis in ml}}) / \text{amount of quarters}$$

In addition, we also investigated likewise the correlation between decline in creatinine clearance and increase in serum BTP over time.

$$(\text{last}_{\text{BTP serum}} - \text{first}_{\text{BTP serum}}) / \text{amount of quarters}$$

$(\text{last}_{\text{CrCl}} - \text{first}_{\text{CrCl}}) / \text{amount of quarters}$

Afterwards, correlation between the values was calculated.

Statistics

Statistical analysis was performed with GraphPad Prism 6 (La Jolla, USA). Results are given as mean with standard deviation (SD) for quantitative variables. T-tests or one-way ANOVA were used for the comparison of quantitative values.

Spearman rank coefficient was used to test the correlation between two variables. By plotting a receiver operating characteristic (ROC) curve, we determined the best cut-off value for a residual renal creatinine clearance of 7 ml / min / 1.73m². Two-sided p-levels < 0.05 were considered statistically significant.

Ethics approval

The study was approved by the local ethics committee, the ethics committee of the medical faculty of the university of Bonn – number 159/17, and informed consent was obtained from all patients enrolled into the study. The study was performed in accordance with the relevant guidelines and regulations.

Results

General characteristics of patients and treatment modality

In total, 34 patients (15 female and 19 male) were included into the study. Patients clinical and biochemical characteristics are listed in Table 1. Major causes of ESRD were glomerulonephritis, renovascular disease and interstitial nephritis. Of the patients with residual diuresis ($n = 29$), mean serum BTP was 8.16 mg/l (SD \pm 4.75 mg/l). Serum BTP level correlated with serum creatinine ($r_s = 0.8$, $p < 0.001$), serum cystatin C ($r_s = 0.79$, $p < 0.001$) and serum urea concentration ($r_s = 0.12$, $p = 0.15$). There was no significant correlation between serum levels of BTP and sex ($r = 0.11$; $p = 0.6$), body mass index ($r = -0.24$; $p = 0.34$) or age ($r_s = -0.3$, $p = 0.17$).

LWMP values in serum and dialysate in patients with and without residual diuresis

Serum BTP concentration was higher in anuric patients (Residual diuresis: mean 8.16 mg/L, SD \pm 4.75 mg/L; anuria: mean 12.2 mg/L, SD \pm 3.84 mg/L, $p < 0.05$). Anuric PD patients had a mean dialysate BTP concentration of 0.6 mg/l (SD \pm 0.32), which was comparable to PD patients with residual diuresis (mean 0.54 mg/l (SD \pm 0.34), but dialysis volume per day was considerably higher in the anuric group (Residual diuresis: mean 8.86 L/day, SD \pm 1.9 versus anuria: mean 13.97 L/day, SD \pm 6.17 L/day). In contrast to creatinine, cystatin C and

Table 1 General characteristics of patients

patients in total	29
sex (male / female)	18/11
age (years)	52.7 \pm 12.15
body weight (kg)	81.16 (SD \pm 14.96)
body mass index	26.88 (SD \pm 4.55)
residual diuresis (ml)	1374 (SD \pm 913)
PD regime (CAPD)	29
serum BTP (mg/L)	8.16 (SD \pm 4.75)
serum Cystatin C (mg/L)	5.78 (SD \pm 1.6)
serum urea (mg/dL)	123.5 (SD \pm 70.3)
serum creatinine (mg/dL)	8.83 (SD \pm 3.59)
dialysate volume (L)	8.86 (SD \pm 1.9)
dialysate BTP (mg/L)	0.54 (SD \pm 0.34)
dialysate Cystatin C (mg/L)	0.64 (SD \pm 0.35)
dialysate urea (mg/dL)	107.9 (SD \pm 42.01)
dialysate creatinine (mg/dL)	7.03 (SD \pm 9.4)
urine BTP (mg/L)	14.7 (SD \pm 9.58)
urine Cystatin C (mg/L)	5.44 (SD \pm 4.53)
urine urea (mg/dL)	382.89 (SD \pm 232.2)
urine creatinine (mg/dL)	51.12 (SD \pm 36.81)
weekly Kt/V	2.28 (SD \pm 0.76)
weekly peritoneal Kt/V	1.4 (SD \pm 0.49)
weekly renal Kt/V	0.86 (SD \pm 0.65)
total creatinine clearance (L/week/1,73 m ²)	91 (SD \pm 51.61)
renal creatinine clearance (L/week/1,73 m ²)	54.82 (SD \pm 52.87)
peritoneal creatinine clearance (L/week/1,73 m ²)	34.29 (SD \pm 12.49)

General characteristics of patients and treatment modality. Data are given as mean and standard deviation

urea, only serum BTP was significantly higher in anuric patients compared to patients with residual diuresis. Anuric patients were excluded from the following analyses.

Renal and peritoneal clearance of LWMP

Mean peritoneal removal of BTP was 3.36 L/week/1.73m² (SD \pm 1.38) and mean renal removal 15.14 L/week/1.73m² (SD \pm 12.65; $p < 0.01$) demonstrating a minor peritoneal removal (Fig. 1, Table 2). Renal and peritoneal removal of cystatin C and creatinine showed no significant differences. BTP was the only solute demonstrating a higher renal than peritoneal elimination, which was reflected by a significantly higher ratio of BTP_{Serum} to BTP_{Dialysate} (Fig. 1 a-c).

LWMPs and residual renal function

Mean residual creatinine-clearance was 6.43 ml/min/1.73m² (SD \pm 0.41), mean residual urea clearance (KRU)

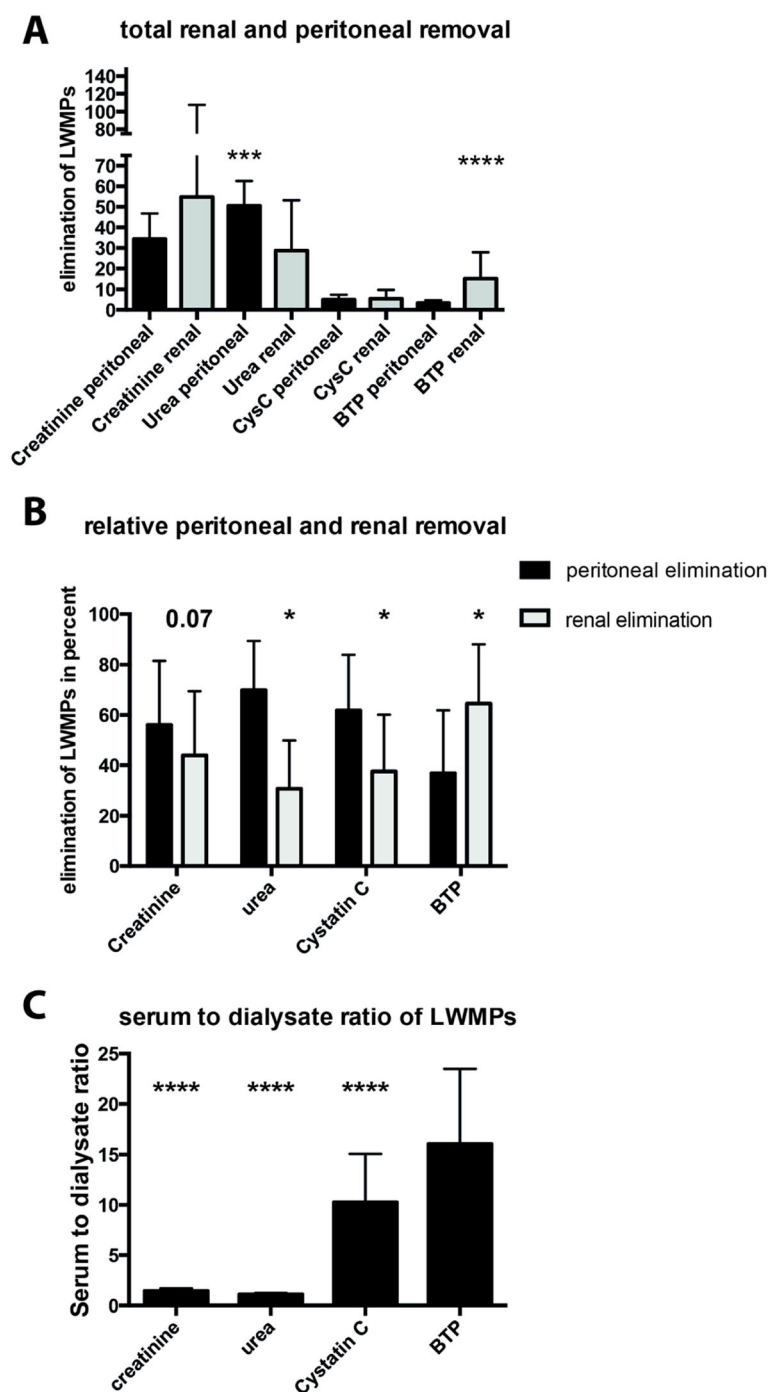


Fig. 1 Renal and peritoneal elimination of analytes in patients with residual diuresis. **a** – total renal and peritoneal removal of analytes [(creatinine and urea in L / week / m²); (cystatin C (CysC) and BTP in L / week / m²)]; **b** – percentage expression of renal and peritoneal elimination. **c** – Quotient of serum and dialysate values for respective analyte. Data are given as mean and standard deviation. *P*-values < 0.05 were considered statistically significant. *p* < 0.05 = *; *p* < 0.001 = **; *p* < 0.0001 = ***; *p* < 0.00001 = ****

2.97 ml/min/1.73m² (SD ± 2.42), mean residual creatinine-urea clearance (KRU/crea) 4.11 ml/min/1.73m² (SD ± 3.65) and mean BTP clearance 1.89 ml/min/1.73 m² (SD ± 1.56) in patients with residual diuresis.

Serum BTP correlated inversely with residual diuresis ($r_s = -0.58$, $p < 0.001$), residual creatinine clearance (Cl_{Cr}) ($r_s = -0.69$, $p < 0.0001$) and urea clearance (Cl_{urea}) ($r_s = -0.56$, $p < 0.001$). The correlation of the other

Table 2 Renal and peritoneal removal of LWMPs. Values are given as mean and standard deviation. Only data of patients with residual diuresis were included

	Creatinine (L/week/1,73m ²)	Urea (L/week/1,73m ²)	Cystatin C (L/week/1,73m ²)	BTP (L/week/1,73m ²)
patients with diuresis				
total clearance / week	91 (± 51.61)	76.83 (± 20.85.9)	10.63 (± 5.68)	18.35 (± 13.37)
renal removal / week	54.82 (± 52.87)	28.68 (± 24.51)	5.43 (± 4.29)	15.14 (± 12.65)
peritoneal removal / week	34.29 (± 12.49)	50.53 (± 12.1)	4.95 (± 2.48)	3.36 (± 1.38)

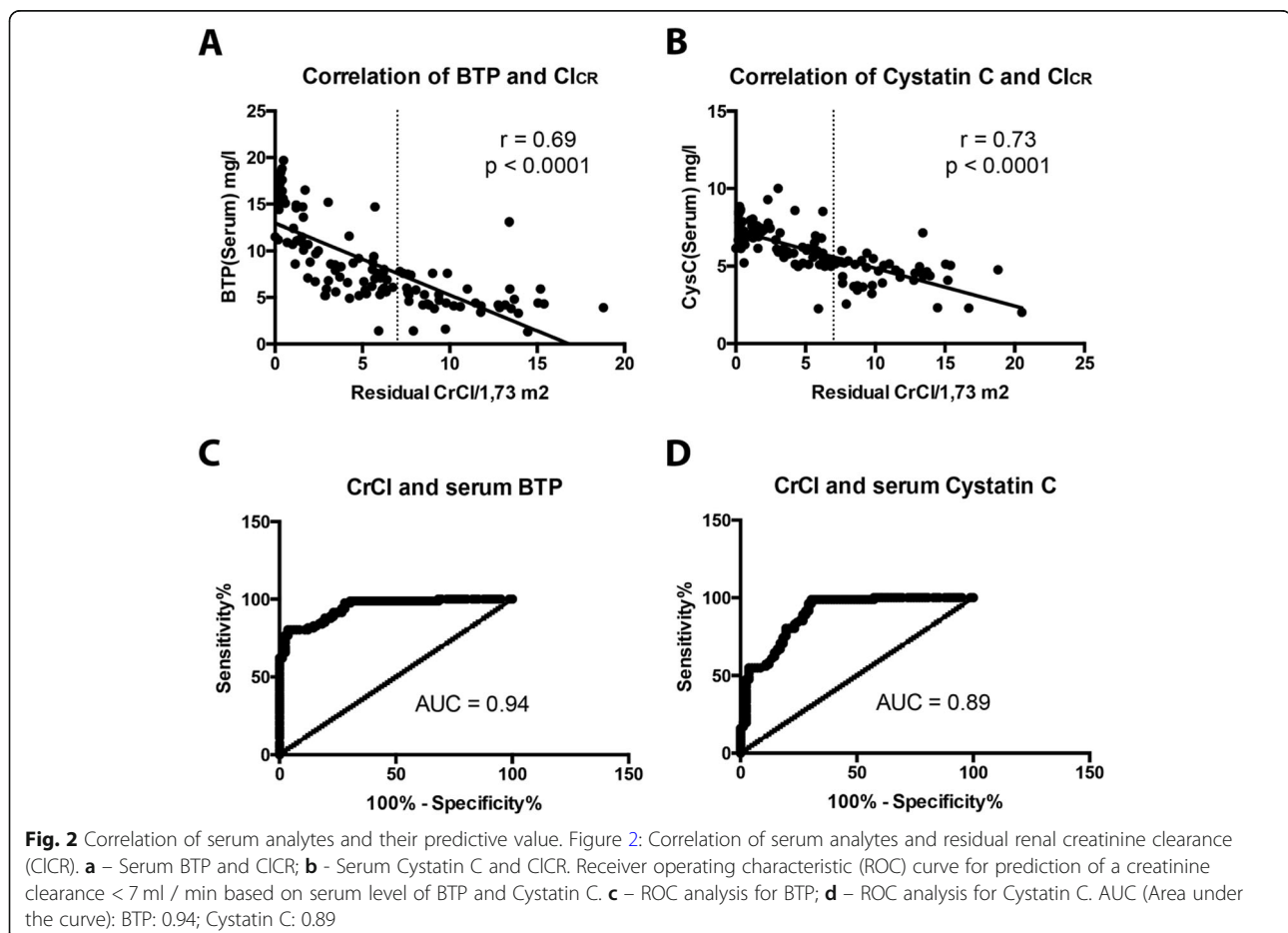
investigated analytes with residual diuresis was lower (Creatinine: $r = -0.5$, $p < 0.001$; Cystatin C: $r = -0.54$, $p = p < 0.001$; Urea: $r = -0.08$, $p = 0.36$). Cystatin C correlated equally well with Cl_{Cr} in comparison to BTP [$r_s = -0.73$, $p < 0.0001$] (Fig. 2).

By applying ROC analysis, a serum BTP concentration of 6.7 mg / l was identified as cut-off value to distinguish between a residual renal creatinine clearance of < 7 ml / min / 1.73 m² and ≥ 7 ml / min / 1.73 m² with a sensitivity of 76.8% (95% CI: 66.2–85.4) and a specificity of 97.6% (91.5–99.7)]. The positive and negative predictive value were calculated as 90.2 and 87.9%, respectively.

In comparison, BTP performed better than Cystatin C with an AUROC of 0.94 compared to 0.89. A serum

cystatin C concentration of 5 mg / l was detected to differentiate between the clearance threshold of 7 ml / min / 1.73m² with a sensitivity of 96.3% (95% CI: 89.7–99.2), a specificity of 70.3% (95% CI: 58.4–79.2), a positive predictive value of 81.4% and a negative predictive value of 46.2% (Fig. 2).

To assess changes of residual diuresis over time and corresponding serum levels of analytes, we calculated the difference between the last and first diuresis volume as well as BTP serum values and divided it by the amount of follow-up quarters. In contrast to the other markers, change in serum BTP correlated inversely with change in residual diuresis ($r = -0.41$, $p = 0.035$) over time (Fig. 3).



Likewise, we further assessed the correlation between changes in renal creatinine clearance and serum levels of LWMPs.

The increase in serum BTP and the decline of renal creatinine clearance over time correlated well ($r = -0.79$, $p < 0.001$). In contrast, changes of serum cystatin C as well as of serum urea did not correlate with residual creatinine clearance over time (Fig. 4).

Peritoneal clearance of LWMP in fast and slow transporters

Fast transporters ($n = 16$) exhibited a higher relative peritoneal clearance for BTP compared to slow transporters ($n = 5$) (fast: $41\% \text{ SD} \pm 22\%$ versus slow $19.9\% \text{ SD} \pm 5.4\%$, $p = 0.06$). We did not note similar differences for creatinine and urea, whereas relative peritoneal elimination of cystatin C showed similar results as for BTP elimination ($p = 0.06$; Fig. 5).

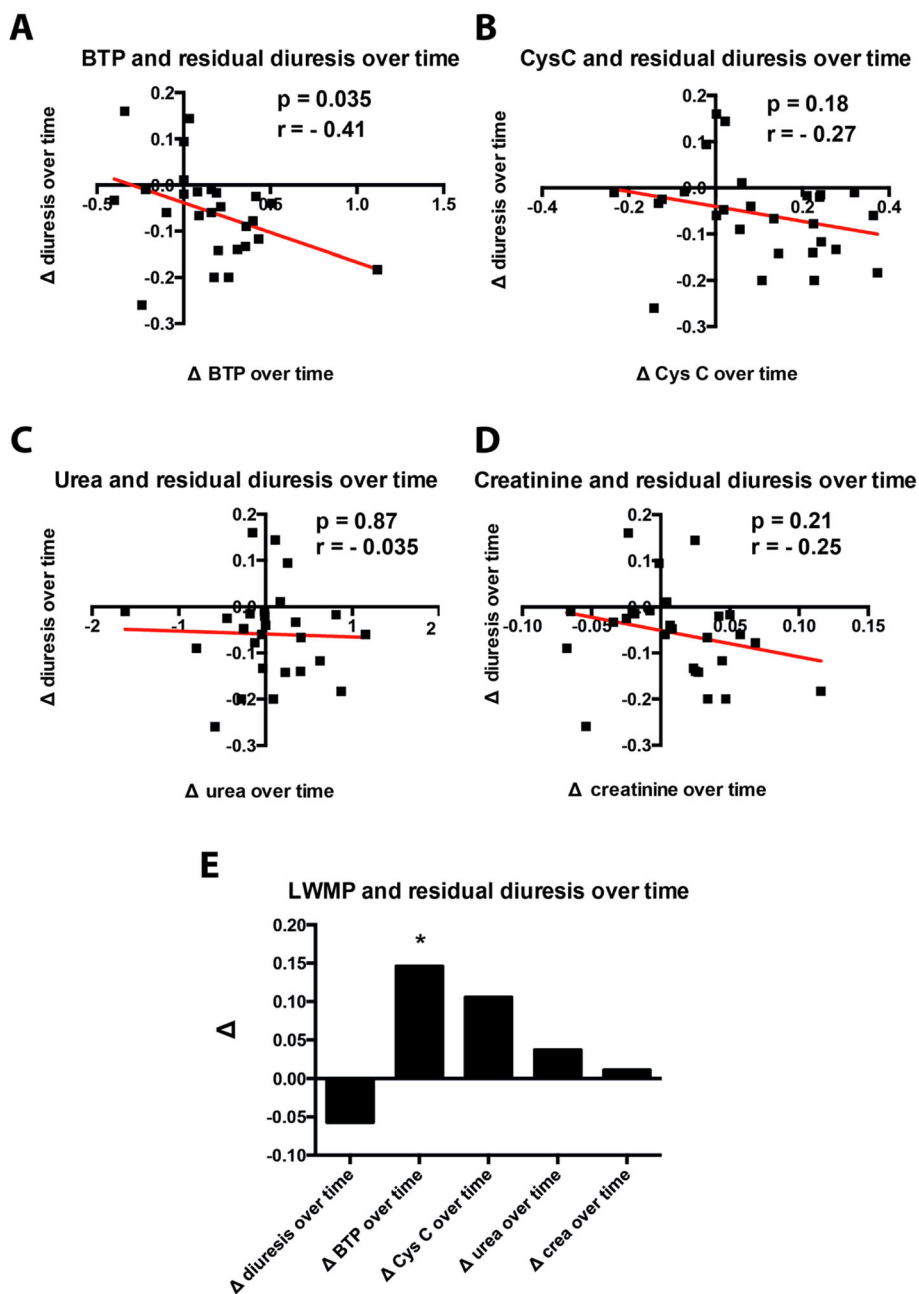
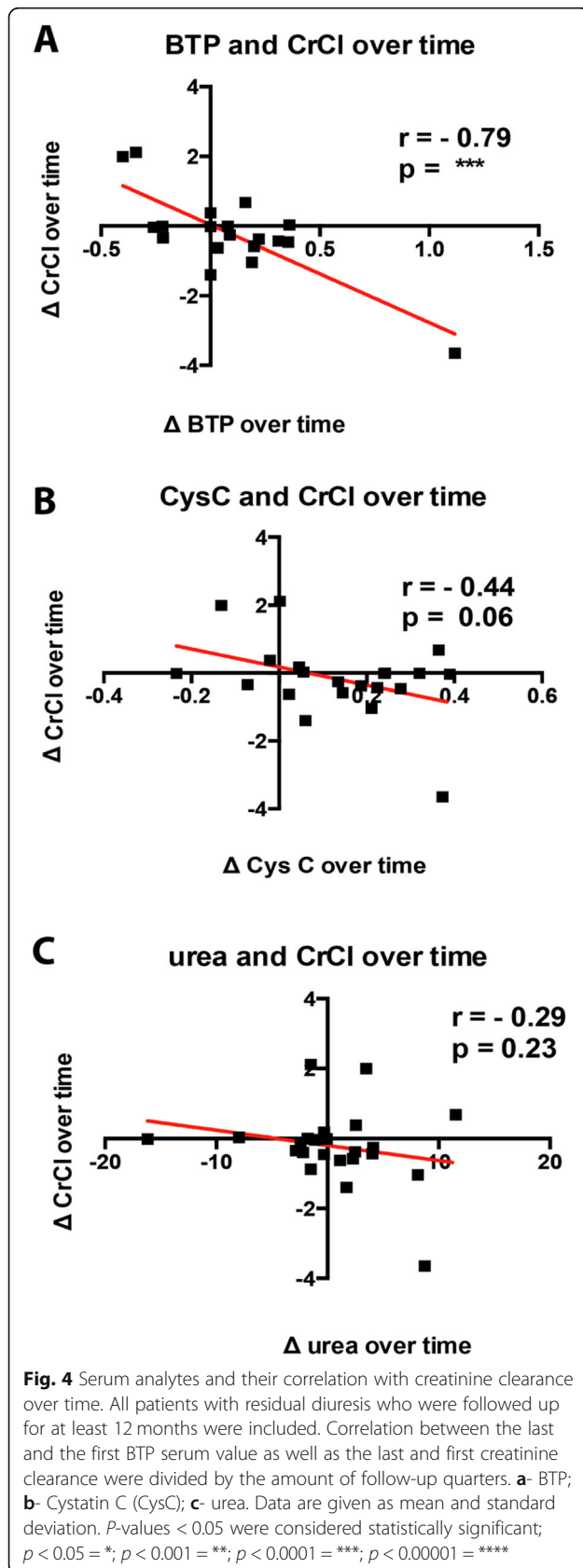


Fig. 3 Serum analytes and their correlation with residual diuresis over time. All patients with residual diuresis who were followed up for at least 12 months were included. Correlation between the last and the first BTP serum value as well as the last and first diuresis volume were divided by the amount of follow-up quarters. **a**- BTP; **b**- Cystatin C (CysC); **c**- urea; **d**- creatinine; **e**- overview over all investigated parameters. Data are given as mean and standard deviation. P -values < 0.05 were considered statistically significant; $p < 0.05 = *$



Discussion

RRF is associated with better survival in dialysis patients [4]. To date, RRF is generally expressed as urinary clearance of urea (United States) or the average of urea and creatinine clearance (European best practice guidelines) calculated from interdialytic urine collection and then corrected to 1.73m^2 [28]. These methods need a timed urine collection, which is regarded a burden for patients and staff and therefore prone to failure or unsound results. Thus, there is a clinical need for simpler methods assessing RRF, such as by endogenous serum markers, in particular BTP and cystatin C [29–32]. Yet, studies of serum markers in PD are lacking. To the best of our knowledge, there are only a few studies investigating BTP as potential biomarker of RRF in PD patients [26, 27, 33].

In our study cohort, serum BTP levels correlated well with established biomarkers of renal function such as serum creatinine, serum cystatin C and total Cl_{Cr} .

However, in contrast to the other parameters, only BTP showed a considerably high renal elimination during peritoneal dialysis. In fact, the renal elimination of BTP exceeds the peritoneal elimination, whereas all other investigated surrogate parameters are predominantly eliminated peritoneally (Fig. 1, Table 2). In line, serum BTP concentration was significantly higher in the anuric group than in patients with RRF, although the considerable difference in dialysis volume between the groups might be a confounding factor.

Serum BTP concentration has been reported to reflect RRF in patients undergoing hemodialysis [22, 23]. In a previous study, we demonstrated that, except for postdilution HDF, the applied dialysis procedures do not affect BTP levels significantly. However, with increasing permeability of the applied membrane, the reliability of BTP as a marker of RRF tends to decrease [23, 25]. For PD patients, peritoneal clearance of small molecules, such as creatinine, was described to be largely dependent on the number of dialysate exchanges. In contrast, peritoneal clearance of middle molecules, such as BTP, is mainly depending on the total dwell hours of PD [34]. Contrary to our findings a previous study reported no BTP removal by PD [27]. However, this study was comprised of only two patients on CAPD treatment, whereas in our study all patients with residual diuresis underwent CAPD. Summarizing our and previous studies' findings on BTP in PD, peritoneal elimination of BTP is likely to depend on the PD modality and to increase with longer dwell time. Nevertheless we propose BTP as a good marker to describe RRF in PD patients due to its superiority over the established markers including creatinine, urea and cystatin C [27, 34].

In addition, our results indicate that peritoneal BTP clearance may depend on the transporter status, as

Peritoneal clearance of LWMP - fast versus slow transporter

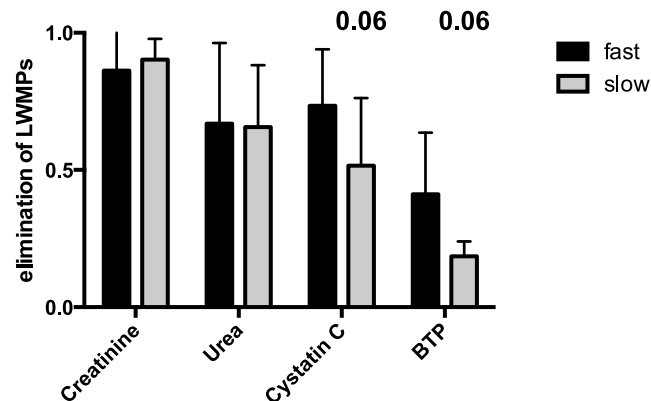


Fig. 5 Peritoneal clearance in fast and slow peritoneal transporter. The cohort was divided into fast ($n = 16$) and slow peritoneal transporter ($n = 5$). Mean and standard deviation of peritoneal elimination are given

peritoneal clearance was lower in the group of slow transporters. Nevertheless, BTP is a valuable marker of RRF independent of transporter status because the majority of our cohort was classified as fast transporters.

We could not demonstrate any gender-associated difference in serum BTP concentrations, which is contrary to a study in kidney transplanted patients [20]. Probably, the effect of kidney function on BTP levels is much more pronounced than the effect of gender, so that gender differences do not become apparent in studies including patient with end-stage renal disease.

Although elimination ratio of LWMP depends on several factors, molecular mass is a factor of outstanding importance in the elimination over membranes. Molecular mass of BTP (23–29 kDa) is larger than cystatin C with a molecular weight of 13.3 kDa, which can partially explain why peritoneal clearance of cystatin C was higher compared to BTP. Cystatin C has shown a considerable non-renal clearance of $22.3 \text{ ml/min}/1.73\text{m}^2$ that greatly exceeds its renal clearance in advanced renal failure [12, 35], which might also explain why BTP performed better as marker of RRF in our study.

In addition to the established association of BTP to residual diuresis in end-stage renal disease, we present longitudinal data on the association of residual diuresis during a follow-up period of at least 12 months. In contrast to the other serum markers, change in BTP serum concentration correlated inversely and significantly with the change of diuresis over time.

Similar results could be demonstrated for the correlation between the increase in serum BTP and the decline of residual creatinine clearance over time, strengthening the concept that BTP might serve as surrogate marker for RRF and suggesting that rising levels of serum BTP over time indicate worsening kidney function.

Our data should be interpreted with a note of caution since our investigation was limited to a rather small study population consisting mostly of Caucasians. However, two other studies indicated that serum BTP might be superior to other serum markers of RRF [33, 34]. Clearly, replication in a larger cohort of PD patients with longer follow up time is needed to define BTP cut-off values for clinical practice.

In addition, our cohort size precludes reliable assessment of clinical outcomes. In a larger cohort, a BTP-based eGFR should be determined and associated with all-cause mortality, cardiovascular mortality and hospitalization, which might reveal if the statistical superiority of BTP over cystatin C translates into a better clinical prognostic prediction.

In summary, our study suggests BTP as a reliable marker of RRF in patients PD. Based on the demonstrated elimination rates of the investigated analytes, BTP seems superior to other markers since it shows a relatively moderate peritoneal elimination. In addition, changes in serum BTP over time reflect changes in residual diuresis. Further investigations are warranted to elucidate the predictive value of testing serum levels of BTP to assess RRF.

Abbreviations

BSA: Body surface area; BTP: Beta-trace protein; ESRD: End stage renal disease; LWMP: Low weight molecular protein; kDa: Kilo dalton; GFR: Glomerular filtration rate; RRF: Residual renal function; KRU: Urea clearance; KRU/crea: Creatinine-urea clearance; SD: Standard deviation

Reference intervals of analytes in our laboratory

BTP: 0.39–0.74 mg/l; cystatin: C 0.61–0.95 mg/l; creatinine: 0.7–1.3 mg/dl; urea: 16.6–48.5 mg/dl

Acknowledgements

Not applicable.

Disclosures

RPW received honoraria from Siemens, Marburg, Germany.

Authors' contributions

Dr. Sebastian Schwab: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. Dr. Carola Ellen Kleine: acquisition, analysis and interpretation of data. Dr. Dominik Bös: acquisition, analysis and interpretation of data. Sylvie Bohmann: acquisition of data, analysis and interpretation of data. Prof. Dr. Christian Strassburg: administrative support, reviewing the manuscript. Dr. Philipp Lutz: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. Prof. Dr. Rainer Peter Woitas: study concept and design, interpretation of data, obtaining funding, administrative support, study supervision. The author (s) read and approved the final manuscript.

Funding

This research did not receive any specific grant from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sector. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations**Ethics approval and consent to participate**

The study was approved by the local ethics committee, the ethics committee of the medical faculty of the university of Bonn – number 159/17, and informed consent was obtained from all patients enrolled into the study.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interest that could be perceived as prejudicing the impartiality of the research reported.

Author details

¹Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Bonn, Germany.

²Institute of Experimental Immunology, Rheinische-Friedrichs-Wilhelms University of Bonn, Bonn, Germany. ³KfH, Renal Center, Bonn, Germany.

⁴Diaverum Deutschland GmbH, Munich, Germany.

Received: 23 November 2020 Accepted: 26 February 2021

Published online: 11 March 2021

References

- Bargman JM et al., Relative Contribution of Residual Renal Function and Peritoneal Clearance to Adequacy of Dialysis: A Reanalysis of the CANUSA Study. *JASN* 2001, 12 (10) 2158–2162.
- Cheung AK, et al. Serum beta-2 microglobulin levels predict mortality in dialysis patients: results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(2): 546–55.
- Rocco M, et al. Peritoneal dialysis adequacy and risk of death. *Kidney Int*. 2000;58(1):446–57.
- Termorshuizen F, et al. Relative contribution of residual renal function and different measures of adequacy to survival in hemodialysis patients: an analysis of the Netherlands cooperative study on the adequacy of Dialysis (NECOSAD)-2. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(4):1061–70.
- Wang AY, et al. Lai, The importance of residual renal function in dialysis patients. *Kidney Int*. 2006;69(10):1726–32.
- McMahon GM, et al. Biomarkers in nephrology: Core curriculum 2013. *Am J Kidney Dis*. 2013;62(1):165–78.
- Knight EL, et al. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int*. 2004; 65(4):1416–21.
- Muntner P, et al. Overweight, obesity, and elevated serum cystatin C levels in adults in the United States. *Am J Med*. 2008;121(4):341–8.
- Stevens LA, et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int*. 2009;75(6):652–60.
- Hokari R, et al. Increased expression and cellular localization of lipocalin-type prostaglandin D synthase in helicobacter pylori-induced gastritis. *J Pathol*. 2009;219(4):417–26.
- Poge U, et al. Time course of low molecular weight proteins in the early kidney transplantation period—influence of corticosteroids. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(11):2858–63.
- Vilar E, et al. Removal and rebound kinetics of cystatin C in high-flux hemodialysis and hemodiafiltration. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(7):1240–7.
- Han F, et al. Induction of lipocalin-type prostaglandin D synthase in mouse heart under hypoxemia. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;385(3):449–53.
- Eguchi Y, et al. Expression of lipocalin-type prostaglandin D synthase (β-trace) in human heart and its accumulation in the coronary circulation of angina pectoris. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:14689–94.
- Nagata N, et al. De novo synthesis, uptake and proteolytic processing of lipocalin-type prostaglandin D synthase, β-trace, in the kidneys. *FEBS J*. 2009;276(23):7146–58.
- Orenes-Pinero E, et al. Beta-trace protein: from GFR marker to cardiovascular risk predictor. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013;8(5):873–81.
- White CA, et al. Estimating GFR using serum beta trace protein: accuracy and validation in kidney transplant and pediatric populations. *Kidney Int*. 2009;76(7):784–91.
- Benlamri A, et al. Development of a beta-trace protein based formula for estimation of glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(3):485–90.
- Spanaus KS, et al. Serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein in diagnostic staging and predicting progression of primary nondiabetic chronic kidney disease. *Clin Chem*. 2010;56(5):740–9.
- White CA, et al. Beta-trace protein: a marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis*. 2015;65(1):131–46.
- Shafi T, et al. Serum beta-trace protein and risk of mortality in incident hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(9):1435–45.
- Gerhardt T, et al. Serum levels of beta-trace protein and its association to diuresis in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(1):309–14.
- Schwab S, et al. Beta-trace protein in hemodialysis - comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(11): 265–7.
- Lindstrom V, et al. Different elimination patterns of beta-trace protein, beta2-microglobulin and cystatin C in haemodialysis, haemodiafiltration and haemofiltration. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008;68(8):685–91.
- Donadio C, et al. Beta-trace protein is highly removed during haemodialysis with high-flux and super high-flux membranes. *BMC Nephrol*. 2017;18(1):68.
- Melegos D, et al. Highly elevated levels of prostaglandin D synthase in the serum of patients with renal failure. *Urology*. 1999;53(1):32–7.
- Bargnoux AS, et al. Estimation of residual renal function using beta-trace protein: impact of dialysis procedures. *Artif Organs*. 2020;44(6):647–54.
- White CA, et al. The estimation, measurement, and relevance of the glomerular filtration rate in stage 5 chronic kidney disease. *Semin Dial*. 2011;24(5):540–9.
- Filler G, et al. β-Trace protein, cystatin C, β2-microglobulin, and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clin Chem*. 2002;48(5):729–36.
- Juraschek SP, et al. Comparison of serum concentrations of beta-trace protein, beta2-microglobulin, cystatin C, and creatinine in the US population. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013;8(4):584–92.
- Bhavsar NA, et al. Comparison of measured GFR, serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein to predict ESRD in African Americans with hypertensive CKD. *Am J Kidney Dis*. 2011;58(6):886–93.
- Poge U, et al. Beta-trace protein-based equations for calculation of GFR in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2008;8(3):608–15.
- See YP, et al. Utility of serum beta-trace protein as a tool for estimating residual kidney function in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*. 2021; 41(2):089686082094546.
- Kim DJ, et al. Dissociation between clearances of small and middle molecules in incremental peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2001;21(5):462–6.
- Sjostrom P, et al. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest*. 2005;65(2):111–24.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

3.2 Elimination renaler Funktionsmarker bei kontinuierlicher Nierenersatztherapie

“Reduction of low-molecular weight proteins under continuous renal replacement therapy in acute renal failure.”

Schwab S. Zachoal CF, Bös, D, Strassburg CP, Woitas RP.

Clin Exp Nephrol. 2019 Mar;23(3):429-430.

Reproduced with permission from Springer Nature

Zielsetzung der Arbeit & Methoden

Das Auftreten eines Nierenversagens hat großen Einfluss auf die Morbidität und Mortalität von Intensivpatienten. Bis heute gibt es keine zuverlässigen Biomarker für eine wiederholte Bewertung der Nierenfunktion bei Patienten mit kontinuierlicher Nierenersatztherapie auf der Intensivstation. Die Arbeit sollte daher einen systematischen Überblick über den Einfluss einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie auf die Elimination von Beta-Trace Protein sowie anderen Nierenfunktionsmarkern geben und seine Eignung als Biomarker für die Restnierenfunktion bei intensivstationspflichtigen Patienten unter kontinuierlicher Nierenersatztherapie beleuchten.

Die Patienten erhielten eine CVVH (kontinuierliche veno-venöse Hämodialyse) (23 Patienten), CiCa-CVVHD (Citrat-basierte kontinuierliche venovenöse Hämodialyse) (6 Patienten) oder beide Behandlungsmodalitäten. Der maximale Beobachtungszeitraum betrug 72 Stunden. Die Biomarker wurden vor Beginn der Nierenersatztherapie und nachfolgend alle 24h bestimmt.

Ergebnisse

Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen Serumspiegeln von Beta-Trace Protein vor der Behandlung mit Alter, Geschlecht oder Körpergewicht gezeigt werden. Beta-Trace Protein war im Vergleich zu β_2 – Mikroglobulin, Cystatin C, Kreatinin und Harnstoff der Biomarker, der die geringste Eliminationsrate aufwies. Die Serumkonzentration von Beta-Trace Protein konnte durch eine 72-stündige Behandlung mittels kontinuierlichem Nierenersatzverfahren um etwa 25% gesenkt werden. Im Vergleich zu Kreatinin und Harnstoff waren diese Unterschiede zu allen Zeitpunkten statistisch signifikant. Es bestanden keine Unterschiede in den Eliminationsraten zwischen den Verfahren CVVH und CiCa-CVVHD. Beta-Trace Protein korrelierte, anders als die anderen analysierten Biomarker, signifikant mit der residualen Diurese.

Schlussfolgerung

Beta-Trace Protein kann als Verlaufsparmeter zur Einschätzung der Nierenfunktion bei intensivpflichtigen Patienten mit dialysepflichtiger, akuter Nierenfunktionseinschränkung dienen.



Reduction of low molecular weight proteins under continuous renal replacement therapy in acute renal failure

Sebastian Schwab^{1,2,4} · Christian Frederic Zachoval³ · Dominik Börs^{1,4} · Christian P. Strassburg¹ · Rainer Peter Woitas^{1,4}

Received: 10 August 2018 / Accepted: 17 August 2018
© Japanese Society of Nephrology 2018

To the Editor

Acute kidney injury (AKI) is one of the most common complications of critically ill patients [1]. Classification of acute renal failure according to KDIGO is based on serum creatinine and urine output thereby limiting timely and accurate AKI diagnosis, especially in critically ill patients [2]. Most importantly, these criteria are insufficient for the assessment of the course of acute renal failure in patients undergoing continuous renal replacement therapy (CRRT) since creatinine cannot predict GFR adequately. Although acute kidney injury has great impact on morbidity and mortality of patients on ICU [3], to date there are no simple tools for its repeated assessment over time. Whereas studies on patients with end-stage renal disease show that beta-trace protein (BTP) is hardly removed by renal replacement therapy (RRT) [4], no studies investigated BTP elimination in AKI in patients undergoing CRRT. Therefore, we analyzed systematically the influence of CRRT on the elimination of low molecular weight proteins with special regard to BTP.

Thirty patients (16 males and 14 females) in an internal medicine intensive care unit with acute renal failure according to the KDIGO were included in this study. The decision to start renal replacement therapy was set individually.

Patients received CVVH (23 patients), CiCa-CVVHD (6 patients) or both treatment modalities (1 patient). Thirty patients were scrutinized for 24 h, twenty-six patients for 48 h and twenty-one patients for 72 h. Ultrafiltration rates

were set individually with a range from 0 ml to 400 ml. Median dialysate and solution flow rate was 2000 ml (range 1000–3000 ml), blood flow rate varied from 100 ml up to 300 ml. To eliminate ultrafiltration effects of the serum levels, reduction of analytes was corrected for body weight loss as previously [5]. For means of standardization we investigated only one polysulfone membrane (Ultraflux AV1000S: effective surface 1.8 m²; wall thickness 35 µm; inner diameter 220 µm; Fresenius Medical Care Germany). All patients underwent therapy via dialysis catheter.

Pre-treatment levels of BTP were 2.4 mg/l. Within 72 h of treatment BTP was reduced on average by 25.36% and thereby was the least eliminated of all investigated analytes [(creatinine 65.45%, urea 71.18%, cystatin C 34.06% and beta-2-microglobulin 45.43%)—data given as mean] by CRRT. CiCa-CVVHD and CVVH treatment modalities performed equally in terms of elimination of low molecular weight proteins.

Additionally, we categorized patients into four groups according to the volume of diuresis on three consecutive days (day 1/day 2/day 3). Assignment was performed as follows: group 1 (anuric: 18/16/13 patients); group 2 (1–499 ml: 6/2/1 patients); group 3 (500–999 ml: 1/5/4 patients); group 4 (> 1000 ml 2/2/1 patients).

Anuric patients tended to have higher BTP serum levels compared to patients with preserved diuresis (*p* values for day 1/day 2/day 3=0.17/0.08/0.1). The other investigated analytes showed no statistical tendency towards an association with diuresis. This is in line with findings we obtained in patients under hemodialysis [4].

In conclusion, BTP is the least reduced low molecular weight protein in CRRT and appears to be a promising marker for the repeated assessment of renal function in acute kidney injury in patients undergoing continuous RRT (Fig. 1).

✉ Sebastian Schwab
sebastian.schwab@ukbonn.de

¹ Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Bonn, Germany

² Institute of Experimental Immunology, University of Bonn, Bonn, Germany

³ Department of Cardiology, University of Bonn, Bonn, Germany

⁴ KfH, Renal Center, Bonn, Germany

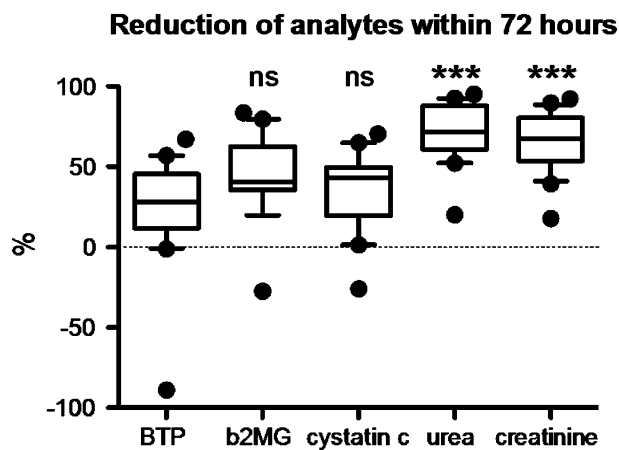


Fig. 1 Percent overall reduction of analytes. Percent overall reduction of analytes within 72 h of continuous RRT. Data are given as box plots indicating 25th and 75th percentile and the median; the whiskers designate 10th and 90th percentile. BTP—beta-trace protein, b2MG—beta-2-microglobulin. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$; ns not significant

Author contributions SS acquisition, statistical analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. CF Zachoval: acquisition, analysis and interpretation of data. DB acquisition, analysis and interpretation of data. CPS administrative support, interpretation of the data, and reviewing of the manuscript. RPW study concept and design, acquisition, statistical analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript, obtaining funding, administrative support, and study supervision.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest Rainer Woitas received honoraria from Siemens, Marburg. The authors have declared that no conflict of interest exists.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional ethics committee at which the studies were conducted (IRB approval number 159/17) and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

- Pickkers P, Ostermann M, Joannidis M, Zarbock A, Hoste E, Bellomo R. The intensive care medicine agenda on acute kidney injury. *Intensive Care Med.* 2017; <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4687-2>.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury: AKI definition. *Kidney Intern Suppl.* 2012;2:19–36.
- Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. *Lancet.* 2012;380:756–66. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61454-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61454-2). (Elsevier Ltd).
- Schwab S, Bös D, Hundt F, Kleine CE, Strassburg CP, Woitas RP. β -Trace protein in hemodialysis: comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers. *Clin Chem Lab Med.* 2018. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0178>
- Bergstrom J, Wehle B. No change in corrected beta 2-microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet.* 1987;1:628–9.

3.3 Beta-Trace Protein in Hämodialysepatienten

Schwab S, Boes D, Hundt, F, Kleine CE, Strassburg CP, Woitas RP

“Beta-Trace Protein in hemodialysis – comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers.”

Clin Chem Lab Med 2018 2018 Oct 25; 56(11):265-267

Zielsetzung der Arbeit & Methoden

Der diffusive Transport bei Hämodialysebehandlungen hat einen erheblichen Einfluss auf die Clearance kleiner Moleküle wie Kreatinin und Harnstoff, aber weniger Einfluss auf die Eliminierung von Mittelmolekülen bis zu einer Molekülmasse von 20-25 kDa. Im Gegensatz zu dem diffusiven Stofftransport bei der Hämodialyse können konvektive Therapien wie die Hämodiafiltration Mittelmoleküle besser entfernen. Ziel dieser Studie war es, Eliminationsmuster für Beta-Trace Protein und andere glomeruläre Biomarker strukturiert zu analysieren.

23 Patienten unter Langzeitdialyse wurden eingeschlossen, sofern eine arteriovenöse Fistel als Dialysezugang diente. Jeder Patient erhielt eine Hämodialyse, prädilution-Hämodiafiltration oder postdilution-Hämodiafiltration mit jeweils drei verschiedenen High-Flux Dialysemembranen. Es wurden zwei Polysulfonmembranen (FX60 und Braun HI-PS 18) sowie eine Polypropylenmembran (Elisio 19) verwendet.

Ergebnisse

Beta-Trace Protein wurde durchschnittlich zu 8,79% eliminiert. Alle anderen getesteten Marker (β_2 – Mikroglobulin, Cystatin C, Kreatinin und Harnstoff) wiesen eine deutlich höhere Elimination auf.

Die Reduktion der Biomarker wird von der Behandlungsmodalität beeinflusst. Die Hämodialyse und prädilutions-HDF führte zu einer geringeren Elimination von Beta-Trace Protein als die postdilutions-HDF (-3,44% für HD; -3,49% für prädilutions-HDF und -18,73% für postdilutions-HDF). Im Gegensatz dazu erhielten wir bei der Eliminationsrate von β_2 – Mikroglobulin, Cystatin C, Kreatinin und Harnstoff vergleichbare Ergebnisse unabhängig der Dialysemodalität.

Die Reduktion der Biomarker wurde auch in Abhängigkeit der verwendeten Dialysatoren bewertet. Auch hier zeigte sich, dass Beta-Trace Protein der Biomarker mit der niedrigsten Elimination unabhängig der verwendeten Dialysemembran oder der Dialysemodalität war.

Wir korrelierten ferner Serumkonzentrationen von Beta-Trace Protein und der residualen Kreatinin-Clearance, sowie der Kreatinin-Harnstoff Clearance und konnten auch hier eine signifikante Korrelation der Serumwerte vor der Behandlung mit den Clearance-Bestimmungen nachweisen. Beta-Trace Protein Serumkonzentrationen und die residuale Diurese korrelierte ebenfalls signifikant miteinander.

Schlussfolgerung

Beta-Trace Protein ist, ungeachtet der zu Grunde liegenden Dialysemodalität, ein zuverlässiger Marker der Restnierenfunktion bei Patienten unter Nierenersatztherapie.

Title: Beta-Trace Protein in hemodialysis – comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers

Sebastian Schwab^{1,3}, Dominik Bös^{1,2}, Felix Hundt^{1,2}, Carola Ellen Kleine^{1,2}, Christian P. Strassburg¹, Rainer Peter Woitas^{1,2}

Affiliations:

¹Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Bonn, Germany.

²KfH, Renal Center, Bonn, Germany

³Institute of Experimental Immunology, Rheinische-Friedrichs-Wilhelms University of Bonn, Germany

Corresponding author:

Dr. med. Sebastian Schwab

Department of Nephrology

Medical Clinic I - University of Bonn

E-Mail: sebastian.schwab@ukbonn.de

Phone: +49 228 287 11038

Fax: +49 228 287 11052

Running head:

Beta-Trace Protein in Dialysis

Abbreviations:

BTP – beta-trace protein ; B2MG – beta-2-microglobulin ; RRT – renal replacement therapy ; ESRD – end stage renal disease ; HD – hemodialysis ; HDF –hemodiafiltration ; LWMP – low weight molecular protein ; kDa – kilo Dalton ; UFC – ultrafiltration capacity ; GFR – glomerular filtration rate ; RKF – residual kidney function ; RD – residual diuresis ; KRU - urea clearance ; KRU/crea - creatinine-urea clearance

Reference intervals of analytes in our laboratory:

BTP: 0.39 – 0.74 mg/l ; B2MG: 1.09 – 2.53 mg/l ; cystatin C: 0.62 – 1.11 mg/l ; creatinine: 0.7 – 1.3 mg/dl ; urea: 15 – 39 mg/dl

Number of tables and figures:

1

Word count: 850

To the editor:

Beta-trace protein (BTP), with a molecular weight of 23- to 29-kDa, is an endogenous surrogate marker for glomerular filtration rate (GFR). Its association with residual kidney function (RKF) in end-stage renal disease (ESRD) has previously been demonstrated (1, 2). RKF in dialysis patients is associated with better survival, however, to date there are no simple tools for its assessment. The objective of this study therefore was to compare elimination patterns for BTP and other low molecular weight proteins (Beta-2-microglobulin (B2MG) ; cystatin C ; urea ; creatinine) in different renal replacement therapies and high flux dialyzers. Furthermore, we investigated the relationship of BTP with residual diuresis (RD) and moreover RKF as determined by mean creatinine/urea-clearance.

In total we performed 207 treatments in 23 dialysis patients (16 males and 7 females) who gave written informed consent. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice.

Each patient received hemodialysis (HD), hemodiafiltration (HDF) in pre- (pre-HDF) and post-dilution (post-HDF) mode with three different high flux dialyzers (FX 60, effective surface 1.4 m², UFC 46 ml/h/mmHg; Fresenius Germany ; HI-PS 18, effective surface 1.8 m², UFC 55 ml/h/mmHg; Braun Germany; Elisio 19, effective surface 1.9 m², UFC 76 ml/h/mmHg; Nipro Germany). The order of dialyzer type but not of the dialysis mode was randomized. Treatment prescriptions were standardized and data were ultrafiltration (UF)-corrected (3).

Serum cystatin C, beta-2-microglobulin (B2MG) and BTP were analyzed by fully automated, latex-enhanced immunophelometry (N latex Cystatin C, N latex B2MG, N latex BTP, respectively, on a Nephelometer II; Siemens, Erlangen, Germany).

The mean serum level of BTP was 8.8 (mg/l) being almost 12-fold the upper normal range. Importantly, BTP showed the lowest reduction of all analytes (on average 8.79%), whereas, all other analytes were reduced considerably [(e.g. creatinine: 67.16%), (urea: 74.46%), (cystatin C: 60.61%) and (B2MG: 65.13%), (fig 1)].

HD and HDF pre-dilution treatment resulted in even smaller BTP elimination (3.14%, $p = 0.03$; 3.73%, $p = 0.018$) than in post-dilution treatment (19.33%, $p = <0.0001$).

Noteworthy, solely for BTP a smaller reduction ratio could be demonstrated by HD and HDF pre-dilution treatment. In contrast, B2MG, cystatin C, urea and creatinine were reduced in similar amounts by HD and HDF [(pre- and post-dilution); ($p = <0.0001$)].

To compensate for heterogeneity of the membranes, we additionally performed a comparison of different dialyzers in each patient. Application of Elisio 19 resulted in highest BTP reduction (mean: -17.14%) followed by FX 60 (mean: -5.5%) and HI-PS 18 (mean: -2.86%). Congruent to the findings comparing different treatment modalities, BTP reduction was the lowest of all analytes regardless of the used dialyzer.

Other published data indicates that the removal of BTP may be higher corresponding to the permeability of the membrane employed (4). This study suggests that BTP removal in low-flux dialysis membranes is negligible but progressively increases to more than 50% reduction ratio in super high flux membranes. Most likely, our reported results in the high flux segment differ due to the use of high-flux dialysis membranes with permeabilities lower than in the study of Donadio et al..

We further analyzed the relation of BTP serum level to mean residual creatinine-clearance, mean residual urea clearance (KRU), mean residual creatinine-urea clearance (KRU/crea) and RD. In our cohort mean residual creatinine-clearance was 2.38 ml/min/1.73m², KRU 1.25 ml/min/1.73m² and KRU/crea 1.84 ml/min/1.73m². BTP pre treatment serum-levels of all

patients with RD correlated significantly with creatinine clearance ($p = 0.02$) as well as with KRU/crea ($p = 0.031$), but not with KRU ($p = 0.074$).

To prove an association of BTP serum levels to RD in our cohort, we categorized patients into groups according to their RD [RD 0ml (group 0, $n=6$), <0.5 l/day (group 1, $n=7$), $0.5-0.999$ l/day (group 2, $n=5$) and >1 l/day (group 3, $n=5$)]. An inverse correlation with RD could be demonstrated between patients of group 0 *versus* group 2 ($p = 0.014$) and group 0 *versus* group 3 ($p = 0.005$). This observation is in line with a study in which individuals with higher levels of BTP were less likely to self-report a RD of more than one cup of urine per day (2).

Clinical reports state that BTP is freely filtered and does not undergo complete reabsorption by tubular cells and is detectable in urine of healthy individuals (5, 6). We therefore measured BTP excretion simultaneously and found at least a correlation to the RD, but not to BTP serum level or RKF.

With our systematic approach we demonstrate that the applied dialysis procedures do not affect BTP levels significantly except post-dilution HDF. Nonetheless, even when post-dilution HDF is used as treatment the utmost resulting decrease of the analyte is roughly 20%, solely.

Furthermore, we saw a close relationship of BTP with the residual diuresis and moreover RKF as determined by mean creatinine/urea-clearance. Based on these data BTP seems to be a reliable marker for RKF in patients undergoing RRT irrespective of the applied dialysis mode. With increasing permeability of the applied membrane, the reliability of BTP as a marker of RKF should to be interpreted with a note of caution.

Author contributions:

Dr. Sebastian Schwab: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript

Dr. Dominik Bös: acquisition, analysis and interpretation of data

Dr. Felix Hundt: acquisition, analysis and interpretation of data

Dr. Carola Ellen Kleine: acquisition, analysis and interpretation of data

Prof. Dr. Christian Strassburg: administrative support, reviewing the manuscript

Prof. Dr. Rainer Peter Woitas: study concept and design, acquisition, analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript, obtaining funding, administrative support, study supervision

Disclosures: RPW received honoraria from Siemens, Marburg, Germany.

References

1. White CA, Ghazan-Shahi S, Adams MA. β -Traceprotein: a marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis* 2015 Jan;65(1):131-46. doi: 10.1053/j.ajkd.2014.06.038.
2. Shafi T, Parekh RS, Jaar BG, Plantinga LC, Oberai PC, Eckfeldt JH et al. Serum β -trace protein and risk of mortality in incident hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012 Sep;7(9):1435-45. doi: 10.2215/CJN.02240312.
3. Bergstrom J, Wehle B. No change in corrected beta 2-microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet* 1987; 1: 628–629.
4. Donadio C, Tognotti D, Caponi L, Paolicchi A . β -trace protein is highly removed during haemodialysis with high-flux and super high-flux membranes. *BMC Nephrol*. 2017 Feb 20;18(1):68.
5. Hoffmann A, Nimtz M, Conradt HS. Molecular characterization of beta-trace protein in human serum and urine: a potential diagnostic marker for renal diseases. *Glycobiology* 1997 Jun;7(4):499-506.

6. Hirawa N, Uehara Y, Yamakado M, Toya Y, Gomi T, Ikeda T et al. Lipocalin-type prostaglandin D synthase in essential hypertension. *Hypertension* 2002 Feb; (39): 449-54.

3.4 DKK-3 in Peritonealdialysepatienten

“Peritoneal and renal DKK-3 clearance in peritoneal dialysis”

Ehleiter H, Miranda J, Boes D, Scheidt U, von Vietinghoff S*, Schwab S*

Nephrology (Carlton), 2023 Jan;28(1):51-59.

*geteilte Autorenschaft

Zielsetzung der Arbeit & Methoden

Die Prognose des fortschreitenden Nierenfunktionsverlustes bei Dialysepatienten ist wichtig, da für die peritoneale Dialyse in der Regel zumindest eine gewisse Restnierenfunktion benötigt wird. DKK-3 ist ein etablierter Faktor in der Entstehung einer renalen Fibrose. Höhere DKK-3/Kreatinin-Werte im Urin wurden bereits mit einem Rückgang der Nierenfunktion bei chronischer Nierenkrankheit und dem Entstehen einer akuten Nierenkrankheit vor Herzoperationen assoziiert. Bei ambulanten Patienten mit einer chronischen Nierenkrankheit zeigten höhere DKK-3 Werte im Urin eine stärkere Abnahme der Nierenfunktion an.

DKK-3 Werte im Peritonealdialysat sowie ihre Beziehung zu systemischen und Urinwerten und zu Peritonealdialyseschemata wurden noch nicht beschrieben. Wir haben daher die DKK-3 Konzentrationen im Serum, Urin und Dialysat einer Kohorte erwachsener Peritonealdialysepatienten untersucht.

Ergebnisse

Das DKK-3/Kreatinin-Verhältnis im Serum war trotz des erwartungsgemäß erhöhten Serumkreatinins bei der Peritonealdialyse deutlich höher als in Urin und Dialysat.

Die DKK-3 Konzentrationen sind bei terminaler Nierenkrankheit im zeitlichen Verlauf stabil. Es konnte keine signifikante Assoziation zwischen der DKK-3 Konzentration und der Dauer der Peritonealdialyse identifiziert werden.

Patienten, die CAPD (kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse) erhielten, wurden mit CCPD-Patienten (kontinuierliche zyklische Peritonealdialyse) verglichen. Die DKK-3 Konzentrationen in Serum und Urin waren bei CAPD und CCPD sehr ähnlich. Die DKK-3 Werte im Peritonealdialysat waren bei CAPD jedoch signifikant höher, wenngleich sich die Beziehung zwischen DKK-3 und Kreatinin im Dialysat, Urin oder Serum der beiden Gruppen nicht unterschied.

Wir untersuchten die Unterschiede in der täglichen Gesamtentfernung von DKK-3 über Urin und Dialysat in den CAPD- und CCPD-Gruppen. Es wurden keine signifikanten Unterschiede

festgestellt. Die täglichen Dialysatvolumina waren bei CCPD signifikant höher als bei CAPD. In Analysen korrelierte die tägliche DKK-3 Entfernung im Verhältnis zu Kreatinin signifikant mit dem Volumen bei CAPD, aber nicht bei CCPD.

Diese Daten zeigen eine unterschiedliche peritoneale Clearance von DKK-3 und Kreatinin bei Patienten, die mit größeren Volumina über CAPD behandelt wurden.

76% der Kohorte erhielten entweder einen ACE-Hemmer oder einen Angiotensin-Rezeptorblocker oder einen Aldosteronantagonisten. Ihre DKK-3 Serumspiegel unterschieden sich nicht von denen der Patienten ohne RAAS-Blockade. Die Urinspiegel waren jedoch sowohl in absoluter DKK-3 Konzentration als auch im Verhältnis von DKK-3/Kreatinin deutlich niedriger. Die RAAS-Blockade hatte somit keinen erkennbaren Einfluss auf die peritoneale DKK-3 Entfernung.

Schlussfolgerung

Die peritoneale Clearance von DKK-3 ist gering. Unsere Daten legen nahe, dass DKK-3 im Urin auch bei Peritonealdialysepatienten auf eine RAAS-Blockade reagiert. Eine erhöhte peritoneale DKK-3 Akkumulation bei CAPD bedarf weiterer Untersuchungen als Indikator für peritonealen Stress und möglicherweise peritonealer Fibrose.

RESEARCH

Open Access



Peritoneal and renal DKK3 clearance in peritoneal dialysis

Hagen Ehleiter^{1†}, Julia Miranda^{1†}, Dominik Boes², Uta Scheidt¹, Sibylle von Vietinghoff^{1†} and Sebastian Schwab^{1*†}

Abstract

Background Urinary Dickkopf 3 (DKK3) excretion is a recently established biomarker of renal functional development. Its excretion into the peritoneal cavity has not been reported. We here studied DKK3 in peritoneal dialysis.

Methods DKK3 was assessed in serum, urine and dialysate in a prevalent adult peritoneal dialysis cohort and its concentration analyzed in relation to creatinine and clinical characteristics.

Results Highest DKK3 concentrations were found in serum, followed by urine. Dialysate concentrations were significantly lower. Dialysate DKK3 correlated with both other compartments. Serum, dialysate and urine values were stable during three months of follow-up. Continuous ambulatory dialysis (CAPD) but not cycler-assisted peritoneal dialysis (CCPD) volume-dependently increased peritoneal DKK3 in relation to creatinine. RAAS blockade significantly decreased urinary, but not serum or peritoneal DKK3.

Conclusion Our data provide a detailed characterization of DKK3 in peritoneal dialysis. They support the notion that the RAAS system is essential for renal DKK3 handling.

Keywords Peritoneal dialysis, DKK3, RAAS blockade

Introduction

Peritoneal dialysis is a major mode of renal replacement worldwide [1]. Patient autonomy, lesser amounts of nursing workforce and independence of local water supply contribute to recent reappreciation in diverse world regions [2]. However, the use of the peritoneal membrane as biological dialysis filter also confers limitations. Functional deterioration with time on dialysis is observed in

most patients [3]. Clearance assessment of different uremic and other solutes is also challenging for a dynamic biological membrane [4]. Diverse dialysis solutions, filling volumes and dwell times further enhance this complexity.

Most patients require at least some residual kidney function to reach an adequate peritoneal dialysis dose. Prediction of velocity of further GFR loss may therefore aid in advising on dialysis modality. Multiple biomarkers are currently studied for CKD and after acute kidney injury, mostly before dialysis commencement [5–7]. Among them, Dickkopf-3 (DKK3), a member of the WNT-beta catenin signaling pathway [8], was primarily investigated as a marker and possible pathophysiologic mediator of heart failure [9, 10], albeit with partially conflicting results. More recently, a DKK3 role in regeneration of various mesodermal tissues was determined [11]. DKK3 is an established promotor of kidney fibrosis [12]

[†]Hagen Ehleiter, Julia Miranda, Sibylle von Vietinghoff and Sebastian Schwab contributed equally to this work.

*Correspondence:

Sebastian Schwab
Sebastian.Schwab@ukbonn.de

¹Nephrology Section, Medical Clinic 1, University Hospital Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Venusberg Campus 1, D-53127 Bonn, Germany

²Kuratorium for Dialysis, KfH Renal Center, Bonn, Germany



© The Author(s) 2024. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

and a well appreciated marker for progression of renal disease [13]. Indeed, DKK3 mechanistically promoted renal fibrosis development in an animal model [14].

In humans, higher urinary DKK3/creatinine ratios associated with renal functional decline in CKD [15] and acute kidney injury after cardiac surgery [16]. In CKD outpatients, levels increased with more severe reduction of kidney function in cross-sectional study [17]. DKK3 is mainly secreted by tubular cells in the kidney. Consistently, urinary DKK3 levels also strongly correlated with cyst development in autosomal dominant polycystic kidney disease [18]. A correlation of urinary DKK3 with GFR loss also applies to children with CKD of diverse etiologies [19]. The latter study introduced the notion that urinary DKK3 is suppressed significantly by RAAS blockade.

Less is known in patients with CKD5. In kidney transplant recipients, DKK3 was successful in predicting future functional decline in one study [20], but not superior to GFR in predicting outcome in another investigation [21]. In patients receiving peritoneal dialysis, one report [22] found a negative association of urinary DKK3 with subsequent renal functional decline with a large variability of individual values.

DKK3 levels in the peritoneal dialysate, their relation to systemic and urinary levels, and to peritoneal dialysis regimens have not been described. We therefore assessed serum, urinary and dialysate DKK3 concentrations in a cohort of adult peritoneal dialysis patients.

Methods

Patient recruitment and treatment description

Prevalent adult peritoneal dialysis outpatients without active infection were recruited after ethics board approval and informed consent at our local center (376/21). Clinical information including standard laboratory values were extracted from the records. Dialysis efficacy was estimated using weekly Kt/V ratio according to the National Cooperative Dialysis Study (NCDS) [23].

DKK3 assessment

Fresh serum, 24 h urine and dialysate samples were centrifuged at 2,000 \times g for 10 min and the supernatant was kept at -80 °C until analysis using Human Dkk-3 Duo-Set ELISA Kit (Cat #DY1118, R&D Systems) originally designed for cell culture supernatant, serum and plasma according to manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Two-tailed student's t-test was used to compare two conditions, Welch's correction for unequal variance or Mann-Whitney for non-parametric values were employed as indicated. If more than two conditions were compared, Dunnet's test after ANOVA or non-parametric test was

employed as appropriate and indicated in the figure legends. These and correlation and regression analyses were calculated using GraphPadPrism (Irvine, CA). Data are expressed as mean \pm SEM. P-values < 0.05 were considered significant and are indicated: * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001.

Results

DKK3 is cleared poorly in peritoneal dialysis fluid

DKK3 concentrations in serum, urine and peritoneal dialysate were assessed in a cohort of prevalent peritoneal dialysis outpatients (Fig. 1). We succeeded in recruiting 85% of patients at our center. Mean age was 56 years and 52% of the patients were female (Table 1). Most common causes of kidney disease were hypertension and glomerulonephritis, while diabetic nephropathy was not among diagnoses. Further standard laboratory values are shown in Table 2. Mean peritoneal dialysis vintage was 1354 days, with similar proportions receiving continuous ambulatory dialysis (CAPD) and cyclical-assisted peritoneal dialysis (CCPD) regimens (Table 2).

DKK3 concentrations were highest in serum (Fig. 2A). Urine absolute concentrations were higher than in peritoneal dialysate. Urinary DKK3/creatinine ratio is the most common measure employed in current literature [9]. It was significantly lower in urine than peritoneal dialysate, driven by urine concentration of creatinine (Fig. 2B). Serum DKK3/creatinine ratio was by far higher than in the two other compartments, despite the expectedly elevated serum creatinine in peritoneal dialysis (Table 2). Dialysate DKK3 levels correlated with both urine and serum (Fig. 2C), while DKK3 in relation to creatinine in dialysate was similar to serum, but not urine (Fig. 2D).

These results establish DKK3 peritoneal dialysate concentrations in a cohort of stable adult outpatients.

DKK3 concentrations are longitudinally stable in end stage kidney disease managed with peritoneal dialysis

DKK3 measurements were longitudinally repeated in a subgroup of 14 patients. During three months, values did not change significantly in either compartment. Sequentially assessed DKK3 levels in serum and peritoneal dialysate significantly linearly correlated (Fig. 3A-E).

We also tested whether dialysate DKK3 concentration was related to time on peritoneal dialysis. There was no significant association with dialysis vintage (Pearson's r for ng DKK3/mL = 0.25, p = 0.22 and for ng DKK3/mg creatinine = -0.046, p = 0.82). However, DKK3 dialysate concentration changes were larger in individual patients that were studied in early peritoneal dialysis (Pearson's r for DKK3 (mg/mL) and dialysis vintage = 0.68, p = 0.007). Dialysate DKK3 in relation to creatinine was unchanged.

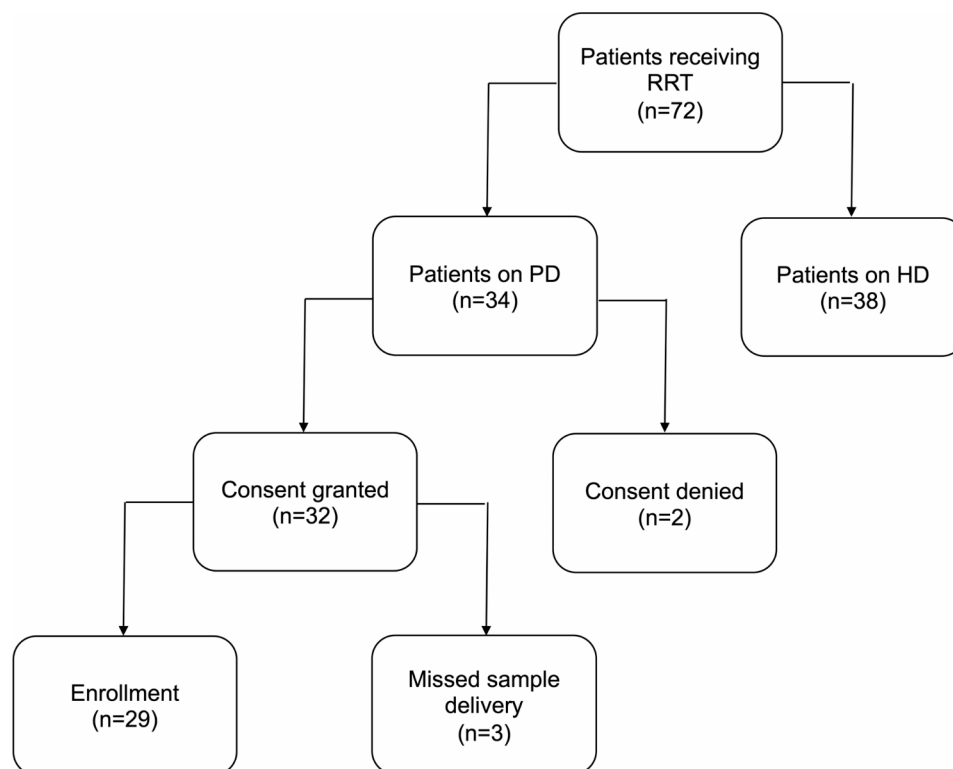


Fig. 1 Flow diagram of patient recruitment. *RRT* renal replacement therapy, *PD* peritoneal dialysis, *HD* hemodialysis

Overall, DKK3 levels were stable in all investigated compartments in this peritoneal dialysis cohort.

Dialysate DKK3 concentrations in CAPD correlate with dialysate volume per day

We next investigated if peritoneal DKK3 clearance associates with peritoneal dialysis modality. Patients receiving CAPD were compared to CCPD. Our cohort also includes two individuals on intermittent PD (IPD), whose results are also shown in Fig. 4.

Serum and urine DKK3 concentrations were very similar for CAPD and CCPD (Fig. 4A). However, peritoneal dialysate DKK3 levels were significantly higher in CAPD. The relation of DKK3 and creatinine did not differ in dialysate, urine or serum of the two groups (Fig. 4B). Dialysate levels were also very similar in patients classified as low average, high average and high transporters (data not shown).

We tested for differences in total daily DKK3 removal via urine and dialysate in CAPD and CCPD groups. No significant differences were found (Fig. 4C). However, daily dialysate volumes were significantly larger for CCPD than CAPD (12 ± 0.9 L versus 9 ± 0.3 L, $p=0.0045$, Mann-Whitney test), as expected. If these groups were investigated separately, daily DKK3 removal in relation to creatinine significantly correlated with volume in CAPD, but not CCPD (Fig. 4D).

These data demonstrate differential DKK3 and creatinine peritoneal recovery in patients treated with larger volumes via CAPD.

Decreased urinary DKK3 during RAAS blockade in peritoneal dialysis patients

To test whether urinary DKK3 excretion is modulated by RAAS blockade also in adult patients with dialysis-dependent renal disease [19], we determined RAAS blockade in our cohort. 76% received either an ACE inhibitor (ACEi) or angiotensin receptor blocker (ARB, $n=18$), or aldosterone antagonist (MRA, $n=4$). Their DKK3 serum levels did not differ from patients without RAAS blockade (Fig. 5A, B). However, urine levels, both absolute concentrations and in relation to creatinine, were significantly lower (Fig. 5C, D). Very similar trends were seen for ACEi, ARB and MRA (data not shown). RAAS blockade did not detectably impact on peritoneal DKK3 removal (Fig. 5E, F).

These data extend a recent observation on urinary DKK3 excretion in children with CKD to a dialysis population.

Discussion

Our data provide a first detailed description of DKK3 peritoneal and urinary excretion in peritoneal dialysis.

DKK3 dialysate concentrations were stable in all studied compartments. Dialysate DKK excretion was

Table 1 Clinical characteristics ($n=29$)

	% (n) or mean \pm SEM
Basic characteristics	
Age	55.8 \pm 3.3 years
Gender	48% (14) female
Dialysis vintage	1354 \pm 265 days
BMI	24.4 \pm 0.7
BSA (DuBois, m ²)	1.86 \pm 0.03
Underlying renal disease	
Diabetic nephropathy	0% (0)
Hypertensive nephropathy	21% (6)
Glomerulonephritis	27% (8)
Miscellaneous (cystic kidney diseases, reflux etc.)	34% (10)
Unknown	17% (5)
Comorbidities	
Diabetes mellitus	7.0% (2)
Hypertension	44.8% (13)
Coronary artery disease	14.0% (4)
Cerebrovascular or peripheral artery disease	21.0% (6)
Malignoma	7.0% (2)
Medication	
Erythropoiesis stimulating agent	58.6% (17)
RAAS blockade (ACEi, ARB or MRA)	76.9% (22)
Diuretic (without MRA)	65.5% (19)

ACEi ACE inhibitor, ARB Angiotensin receptor blocker, MRA aldosterone antagonist

Table 2 Laboratory and dialysis characteristics of the patient cohort ($n=29$)

	% (n) or mean \pm SEM
Laboratory values	
Hemoglobin	10.3 \pm 0.2 g/dL
Leukocytes	7.5 \pm 0.4 $\times 10^3$ / μ l
CRP	5.1 \pm 1.3 mg/dL
Albumin	35.2 \pm 1.0 g/L
Creatinine	9.2 \pm 0.7 mg/dL
Phosphorous	1.8 \pm 0.1 mmol/L
Uric acid	6.0 \pm 0.2 mg/dL
Proteinuria (rel. to creatinine)	0.92 \pm 0.2 g/g
Dialysis	
CAPD/CCPD/IPD	48% (14)/45% (13)/7% (2)
Residual urine output (% of pts)	79% (23)
Mean urine volume (if present)	1268 \pm 138 mL/d
Dialysate volume	10.5 \pm 0.5 L/24 h
Weekly dialysis clearance (Watson's Kt/V)	2.21 \pm 0.2
Renal creatinine clearance	3.9 \pm 0.6 mL/min
Peritoneal creatinine clearance	34.4 \pm 17.9 L/week/m ²

moderate. Urinary excretion levels were similar to recently reported pediatric CKD cohort without dialysis [19]. Our data also confirm the recent negative association of urinary DKK3 excretion with RAAS blockade.

Interestingly, the amount of DKK3 reduction in our adult peritoneal dialysis cohort was in the same order of magnitude as reported for children without renal replacement. RAAS blockade is beneficial for preservation of residual kidney function in peritoneal dialysis [24]. It is conceivable that reduced urinary DKK3 levels reflect diminished renal stress responses also in peritoneal dialysis, however, mechanistic data remain to be obtained. Whether urinary DKK3 predicts preservation of residual kidney function in manners additional to GFR [21] and proteinuria in peritoneal dialysis now needs to be studied prospectively regarding both, urine volume and solute clearance.

DKK3 is produced and secreted in multiple organs, mostly by fibroblasts, but also other cell types including renal tubular epithelium [25]. It was investigated most closely as a fibrotic and cell stress marker in heart and kidney [9]. To the best of our knowledge, our report is first to present data on the peritoneal cavity in peritoneal dialysis. RAAS inhibition with an otherwise beneficial impact on the peritoneal function in dialysis [26] did not affect peritoneal DKK3. We found higher levels in CAPD than CCPD, which may be related to longer dwell times. In addition, peritoneal DKK3 associated with total volumes in CAPD. This is somewhat reminiscent of cardiac DKK3 expression by the strained cardiac tissue in heart failure [10]. Peritoneal mesothelial DKK3 response to strain should be investigated.

Taken together, peritoneal DKK3 removal by dialysis is minor. Our data suggest that DKK3 in urine remains responsive to RAAS blockade also in end stage kidney disease treated with peritoneal dialysis. Increased peritoneal DKK3 accumulation in CAPD warrants further investigation as a peritoneal stress and possibly fibrosis indicator.

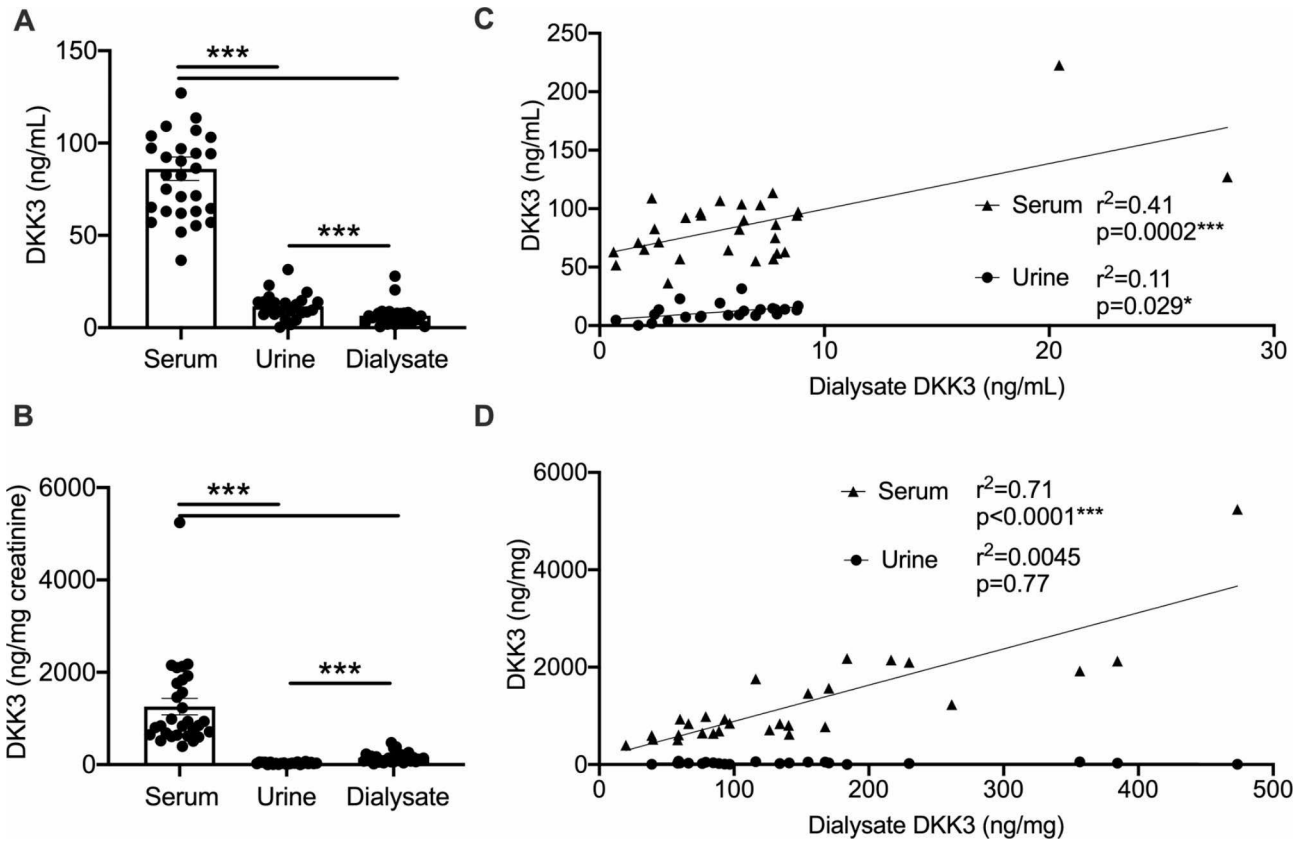


Fig. 2 Peritoneal dialysate DKK3 correlates with serum and urine. (A–D) DKK3 levels were assessed in serum, urine and peritoneal dialysate as absolute concentrations and relative to creatinine. (A, B) Absolute (A) and concentrations relative to creatinine (B) ($n=29$ patients, Tukey's after ANOVA). (C, D) Correlations of absolute (C) and relative to creatinine (D) dialysate concentrations to serum and urine (results of linear regression analyses are shown)

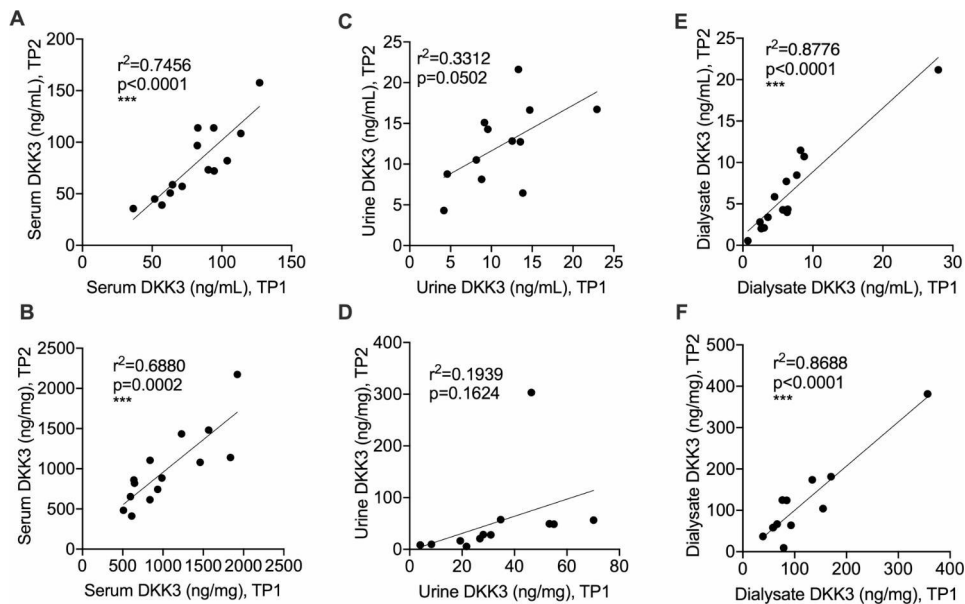


Fig. 3 DKK3 concentrations are stable in peritoneal dialysis outpatients. (A–F) DKK3 levels were assessed in serum, urine and peritoneal dialysate as absolute concentrations and relative to creatinine. Correlations of longitudinal DKK3 assessments at least three months apart in serum (A, B), urine (C, D) and peritoneal dialysate (E, F) are given as absolute concentrations (A, C, E) and relative to creatinine (B, D, F) (results of linear regression analyses are shown). TP time point

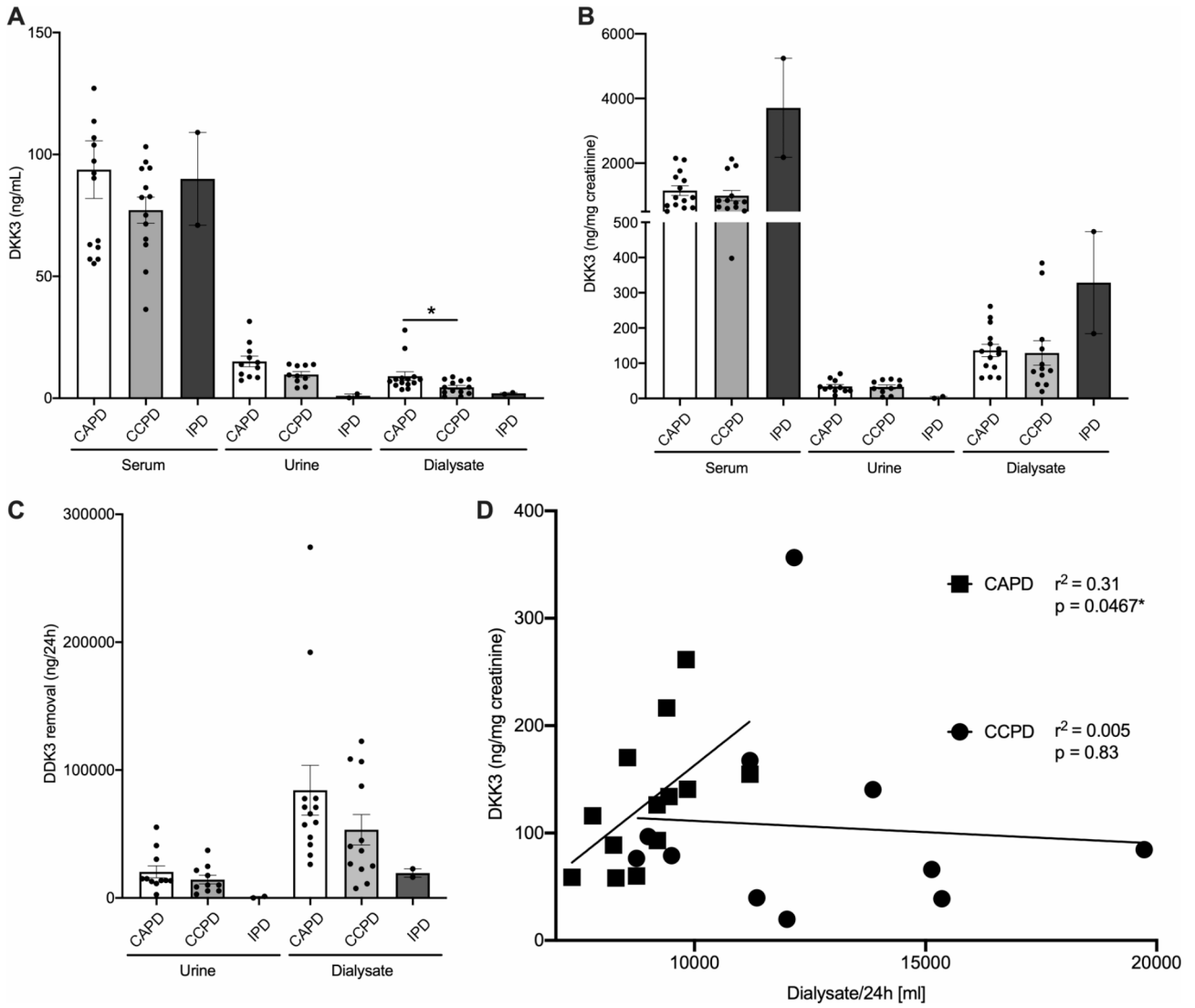


Fig. 4 Peritoneal DKK3 clearance depending on dialysis regimen. **(A, B)** Peritoneal dialysate DKK3 absolute (A) and relative to creatinine (B) levels according to CAPD, CCPD and IPD regimens (statistical analysis of CAPD versus CCPD: t-test with Welch’s correction). **(C)** DKK3 urine and peritoneal removal in mg/24 h according to dialysis regimen. **(D)** Dialysate DKK3 levels in for CAPD and CCPD in relation to dialysate volume (linear regression analyses)

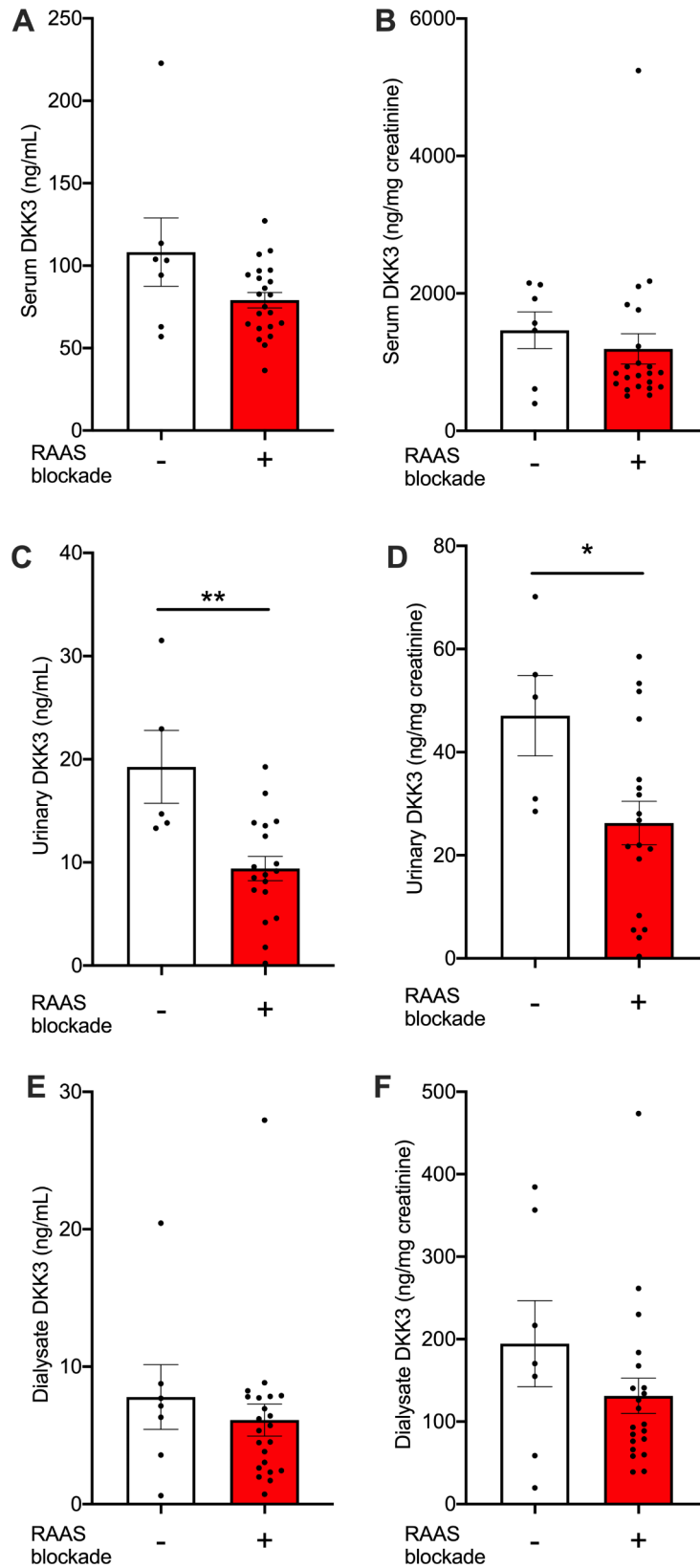


Fig. 5 Decreased urinary DKK3 excretion during RAAS blockade. **(A-E)** DKK3 levels in serum (A, B), urine (C, D) and peritoneal dialysate (E, F) in relation to RAAS blockade are shown as absolute concentrations (A, C, E) and relative to creatinine (B, D, F) ($n=7$ patients without and $n=22$ with blockade ($n=18$ ACEi or ARB, $n=4$ MRA Mann-Whitney tests)

Acknowledgements

We thank all patients for making their samples available for research.

Author contributions

HE, US, SvV and SebS conceived the study, HE and DB recruited patients, HE collected clinical data, JM performed experiments, HE, JM and SvV analyzed data, SvV and SebS wrote the manuscript with support from all coauthors, all authors read and approved the final manuscript.

Funding

SvV was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (450775971). Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Data availability

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the local ethics committee, the ethics committee of the medical faculty of the university of Bonn – number 376/21, and informed consent was obtained from all patients enrolled into the study according to the declaration of Helsinki.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Received: 21 January 2024 / Accepted: 16 August 2024

Published online: 23 August 2024

References

- Maliha G, Burke RE, Reddy YNV. Peritoneal Dialysis: are we approaching a modern Renaissance? *Kidney360*. 2023;4:e1314–7.
- Corbett RW, Beckwith H, Lucisano G, Brown EA. Delivering person-centered peritoneal Dialysis. *CJASN*. 2023. <https://doi.org/10.2215/CJN.000000000000281>.
- Brown EA, Blake PG, Boudville N, Davies S, De Arteaga J, Dong J, et al. International Society for Peritoneal Dialysis practice recommendations: prescribing high-quality goal-directed peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2020;40:244–53.
- Meyer TW, Bargman JM. The removal of Uremic Solutes by Peritoneal Dialysis. *JASN*. 2023;34:1919–27.
- Sarnak MJ, Amann K, Bangalore S, Cavalcante JL, Charytan DM, Craig JC, et al. Chronic kidney Disease and Coronary Artery Disease: JACC State-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74:1823–38.
- Liu C, Debnath N, Mosoyan G, Chauhan K, Vasquez-Rios G, Soudant C, et al. Systematic review and Meta-analysis of plasma and urine biomarkers for CKD outcomes. *JASN*. 2022;33:1657–72.
- Ostermann M, Zarbock A, Goldstein S, Kashani K, Macedo E, Murugan R, et al. Recommendations on acute kidney Injury biomarkers from the Acute Disease Quality Initiative Consensus Conference: a Consensus Statement. *JAMA Netw Open*. 2020;3:e2019209.
- Schunk SJ, Floege J, Fliser D, Speer T. WNT- β -catenin signalling — a versatile player in kidney injury and repair. *Nat Rev Nephrol*. 2021;17:172–84.
- Schunk SJ, Speer T, Petrakis I, Fliser D. Dickkopf 3—a novel biomarker of the ‘kidney injury continuum’. *Nephrol Dialysis Transplantation*. 2021;36:761–7.
- Piek A, Suthahar N, Voors AA, De Boer RA, Silljé HHW. A combined bioinformatics, experimental and clinical approach to identify novel cardiac-specific heart failure biomarkers: is Dickkopf-3 (DKK3) a possible candidate? *Eur J Heart Fail*. 2020;22:2065–74.
- Arnold F, Mahaddalkar PU, Kraus JM, Zhong X, Bergmann W, Srinivasan D, et al. Functional genomic screening during somatic cell reprogramming identifies DKK3 as a roadblock of Organ Regeneration. *Adv Sci*. 2021;8:2100626.
- Tan RJ, Zhou D, Zhou L, Liu Y. Wnt/ β -catenin signaling and kidney fibrosis. *Kidney Int Supplements*. 2014;4:84–90.
- Rodríguez-Iturbe B, Johnson RR, Herrera-Acosta J. Tubulointerstitial damage and progression of renal failure. *Kidney Int*. 2005;68:S82–6.
- Federico G, Meister M, Mathow D, Heine GH, Moldenhauer G, Popovic ZV et al. Tubular Dickkopf-3 promotes the development of renal atrophy and fibrosis. *JCI Insight*. 2016;1.
- Zewinger S, Rauhen T, Rudnicki M, Federico G, Wagner M, Triem S, et al. Dickkopf-3 (DKK3) in urine identifies patients with short-term risk of eGFR loss. *JASN*. 2018;29:2722–33.
- Schunk SJ, Zarbock A, Meersch M, Küllmar M, Kellum JA, Schmit D, et al. Association between urinary dickkopf-3, acute kidney injury, and subsequent loss of kidney function in patients undergoing cardiac surgery: an observational cohort study. *Lancet*. 2019;394:488–96.
- Dziamalek-Macioszczyk P, Winiarska A, Pawlowska A, Wojtacha P, Stompór T. Patterns of Dickkopf-3 serum and urine levels at different stages of chronic kidney disease. *JCM*. 2023;12:4705.
- Arjune S, Späth MR, Oehm S, Todorova P, Schunk SJ, Lettenmeier K, et al. DKK3 as a potential novel biomarker in patients with autosomal polycystic kidney disease. *Clin Kidney J*. 2024;17:sfad262.
- Speer T, Schunk SJ, Sarakpi T, Schmit D, Wagner M, Arnold L, et al. Urinary DKK3 as a biomarker for short-term kidney function decline in children with chronic kidney disease: an observational cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2023;7:405–14.
- Schuster A, Steines L, Müller K, Zeman F, Findeisen P, Banas B, et al. Dickkopf 3—A New Indicator for the deterioration of allograft function after kidney transplantation. *Front Med*. 2022;9:885018.
- Jehn U, Altuner U, Henkel L, Menke A, Strauss M, Pavenstädt H et al. Urinary dickkopf 3 in a kidney transplant and living donor cohort – independent risk factor or merely GFR-related? Preprint. In Review; 2023.
- Torigoe K, Muta K, Tsuji K, Yamashita A, Torigoe M, Abe S, et al. Association of urinary Dickkopf-3 with residual renal function decline in patients undergoing peritoneal Dialysis. *Medicina*. 2021;57:631.
- Gotch FA, Sargent JA. A mechanistic analysis of the National Cooperative Dialysis Study (NCDS). *Kidney Int*. 1985;28:526–34.
- Phatthanasobhon S, Nochaiwong S, Thavorn K, Noppakun K, Panyathong S, Suteeka Y, et al. Effectiveness of renin-angiotensin-aldosterone system blockade on residual kidney function and peritoneal membrane function in peritoneal Dialysis patients: A Network Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2019;9:19582.
- Human proteome atlas. <https://www.proteinatlas.org/ENSG0000050165-DKK3/tissue+cell+type>, accessed 1-15-2024.
- Nessim SJ, Perl J, Bargman JM. The renin-angiotensin-aldosterone system in peritoneal dialysis: is what is good for the kidney also good for the peritoneum? *Kidney Int*. 2010;78:23–8.

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

3.5 Beta-Trace Protein und kardiovaskuläres Outcome nach Nierentransplantation

“Pre-Transplant Serum Beta-Trace Protein indicates risk for post-transplant major cardiac adverse events.”

Schwab S, Pörner D, Kleine CE, Werberich R, Werberich L, Reinhard S, Bös D, Strassburg CP, von Vietinghoff S, Lutz P, Woitas RP
Nephrology (Carlton), 2023 Jan;28(1):51-59.

Zielsetzung der Arbeit & Methoden

Es wurde bereits ein Zusammenhang zwischen Serum Beta-Trace Protein und koronarer Herzkrankheit, Herzinsuffizienz, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Gesamtmortalität gezeigt. Die Serumkonzentration Beta-Trace Protein ist bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit erhöht. Der bekannte Zusammenhang von Beta-Trace Protein mit kardiovaskulären Risiken sowie seine Zuverlässigkeit als Biomarker für die Restnierenfunktion dialysepflichtiger Patienten legen Beta-Trace Protein als Marker nahe, der mit einem höheren Risiko für schwerwiegende kardiale Ereignisse (major adverse cardiac event - MACE) nach der Transplantation assoziiert ist.

MACE wurde definiert als (1) Myokardinfarkt mit ST-Strecken-Hebung, (2) Myokardinfarkt ohne ST-Strecken-Hebung, (3) koronare Herzkrankheit, die einen Eingriff/Bypass-Operation erfordert, (4) Schlaganfall oder vorübergehende ischämische Attacke oder (5) Tod aus kardiovaskulären Gründen. In die Studie wurden 384 Patienten mit terminaler Nierenkrankheit aufgenommen, bei denen am Tag der Transplantation eine Beta-Trace Protein-Messung durchgeführt wurde.

Ergebnisse

Beta-Trace Protein Konzentrationen unterschieden sich signifikant bei Patienten mit MACE von Patienten ohne MACE. Andere Marker der Nierenfunktion wie Kreatinin und Cystatin C zeigten hingegen keinen Zusammenhang mit der Entwicklung von MACE.

Eine Serum Beta-Trace Protein Konzentration vor der Transplantation von >12,7 mg/l wurde, neben Raucherstatus und Alter sowie vorbestehender koronarer Herzkrankheit, als unabhängiger Risikofaktor für MACE bestätigt. Um Patienten mit hohen Beta-Trace Protein Werten besser charakterisieren zu können, verglichen wir Patienten mit einem Beta-Trace Protein Spiegel vor der Transplantation > 12,7 mg/l mit Patienten unterhalb dieses Grenzwertes. Patienten mit Beta-Trace Protein Werten über dem ermittelten Cut-off waren überwiegend

männlich und jüngeren Alters und wiesen eine niedrigere Restnierenfunktion auf, unterschieden sich jedoch nicht hinsichtlich vorheriger MACE oder kardiovaskulärer Risikofaktoren von Patienten mit Beta-Trace Protein Serumwerten $<12,7$ mg/l.

Bei 42,86 % der Patienten mit MACE trat das unerwünschte Ereignis in den ersten 30 Tagen nach der Transplantation auf. 61,43 % der Patienten mit MACE nach der Transplantation erlitten ein MACE innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation und 81,43 % der Patienten innerhalb von 5 Jahren nach der Transplantation.


Kaplan-Meier-Kurven zur Analyse, ob Serum Beta-Trace Protein Werte mit dem MACE-freien Überleben korrelieren, unterschieden sich signifikant.

Wir konnten keine Korrelation zwischen den Beta-Trace Protein Serumwerten vor der Transplantation und dem Gesamtüberleben im Beobachtungszeitraum ableiten.

Schlussfolgerung

Die Serumkonzentration von Beta-Trace Protein vor Nierentransplantation ist mit dem Auftreten von MACE nach der Transplantation assoziiert. Die Identifizierung von Patienten mit einem Risiko für MACE nach der Transplantation kann mit Hilfe von Beta-Trace Protein verbessert werden.

Pre-transplant serum Beta Trace Protein indicates risk for post-transplant major cardiac adverse events

Sebastian Schwab^{1,2}  | Daniel Pörner¹ | Carola-Ellen Kleine¹ |
 Roxana Werberich¹ | Louisa Werberich¹ | Stephan Reinhard¹ | Dominik Bös³ |
 Christian P. Strassburg¹ | Sibylle von Vietinghoff¹ | Philipp Lutz¹ | Rainer P. Woitas⁴

¹Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Bonn, Germany

²Institute of Experimental Immunology, University of Bonn, Bonn, Germany

³Kuratorium for Dialysis, KfH Renal Center, Bonn, Germany

⁴Diaverum Deutschland GmbH, Munich, Germany

Correspondence

Sebastian Schwab, Department of Internal Medicine I, University of Bonn, Bonn, Germany.

Email: sebastian.schwab@ukbonn.de

Abstract

Background: Beta Trace Protein (BTP) is a biomarker for residual kidney function which has been linked to cardiovascular and all-cause mortality in haemodialysis patients. Following renal transplantation, recipients remain at increased risk for cardiovascular events compared with the general population. We aimed to determine the relationship of pre-transplant BTP to major adverse cardiac events (MACE) in patients following kidney transplantation.

Methods: We included 384 patients with end-stage renal disease who received a kidney transplant. MACE was defined as myocardial infarction (ST-segment elevation or non-ST-segment elevation, stroke or transient ischemic attack), coronary artery disease requiring intervention or bypass or death for cardiovascular reason. The association between pre-transplant serum BTP concentration and post-transplant MACE was evaluated by Kaplan–Meier and Cox regression analyses.

Results: Post-transplant MACE occurred in 70/384 patients. Pre-transplant BTP was significantly higher in patients with post-transplant MACE (14.36 ± 5.73 mg/l vs. 11.26 ± 5.11 mg/l; $p < .01$). Next to smoking (HR 1.81), age > 56.38 years (HR 1.97) and pre-existing coronary heart disease (HR 8.23), BTP above the cut off value of 12.7 mg/l was confirmed as independent risk factor for MACE (HR 2.02, all $p < .05$). MACE-free survival inversely correlated with pre-transplant BTP levels.

Conclusions: Pre-transplant serum BTP concentration may identify renal transplant recipients with higher risk of post-transplant MACE.

KEYWORDS

Beta Trace Protein, major cardiovascular event, renal transplantation

Summary at a Glance

We aimed to determine the association between pre-transplant serum Beta Trace Protein (BTP) and post-transplant major adverse cardiac events. Pre-transplant serum

Philipp Lutz and Rainer P. Woitas contributed equally to this work.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2022 The Authors. *Nephrology* published by John Wiley & Sons Australia, Ltd on behalf of Asian Pacific Society of Nephrology.

BTP concentration was associated with post-transplant cardiovascular risk. Therefore, identifying pre-transplant patients at risk for post-transplant adverse cardiac events based on BTP level might improve outcomes.

1 | INTRODUCTION

Reduced kidney function is commonly associated with cardiovascular disease and mortality,¹ in particular reduction in GFR has been recognized as independent cardiovascular risk factor.²⁻⁵

Beta trace Protein (BTP), a 23–29 kilo Dalton molecule, is an endogenous marker of renal function.⁶ It is freely filtered by the glomerulus and reabsorbed in the proximal tubular system. Because it shows virtually no non-renal elimination, declining GFR is associated with an increasing serum BTP concentration.⁷⁻¹⁰ Previous studies have shown an association between serum BTP and coronary heart disease, heart failure, cardiovascular, and all-cause mortality.¹¹⁻¹⁴ Systemic BTP levels are increased in patients with severe coronary artery disease.¹⁵ In addition, BTP concentration was a predictor of re-hospitalization in patients admitted to the hospital with decompensated heart failure.¹⁶ Apart from reflecting kidney function, BTP may be directly linked to cardiac disease. Amongst other tissues, BTP is found in myocardial cells, endocardial cells, both coronary arteries and atherosclerotic plaques.¹⁷

BTP has also been shown to be a reliable biomarker for the assessment of residual renal function in patients with end-stage renal disease.¹⁸⁻²⁰ ESKD patients being waitlisted for kidney transplantation are likely to spend years on the waiting list before receiving a kidney transplant. Even though renal transplantation in ESKD reduces the risk of cardiovascular complications in comparison to patients remaining on dialysis, the risk remains increased in comparison to the general population.²

Transplant centres routinely screen their waitlisted patients for cardiovascular disease, but stratification for patients at high cardiovascular risk at the time of kidney transplantation may still be improved. Therefore, biomarkers might help to identify those patients that will benefit from a more meticulous cardiovascular post-transplant follow-up.

The known association of BTP with cardiovascular risk as well as its reliability as a marker for residual kidney function due to its poor elimination by various renal replacement therapies^{18,21} suggest BTP as a potential serum pre-transplant biomarker to identify patients at a higher risk for major adverse cardiac events (MACE) in the post-transplant period. Therefore, we aimed to determine the association between pre-transplant serum BTP and post-transplant MACE.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study population and data source

This retrospective study was performed at the university hospital of Bonn, Germany. Patients suffering from ESKD who were at least

17 years old at the time of kidney transplant and with pre-transplant BTP measurement were included into the study.

We excluded patients without MACE who were lost to follow-up before 6 months. In total, we included 384 patients being transplanted between the year 2000 and 2015. BTP was measured in 272 of 384 patients (70.83%).

2.2 | Demographic, clinical, and laboratory measurements

Baseline patient characteristics of this study cohort (including date of birth sex and aetiology of kidney disease) were extracted from medical files and records. Concentrations of pre-transplant serum BTP, C-reactive protein, cholesterol, triglycerides, creatinine, calcium, phosphate, and uric acid were also extracted from medical records. All biomarkers were measured before transplant and evaluated retrospectively. BTP was analysed by fully automated latex-enhanced immunonephelometry (N Latex Beta Trace Protein, Dade Behring, Marburg, Germany).

2.3 | Outcome assessment

The outcomes of interest were post-renal transplant major cardiovascular event (MACE) and post-transplant all-cause mortality. MACE was defined as (1) ST-segment elevation myocardial infarction, (2) non-ST-segment elevation myocardial infarction, (3) coronary artery disease requiring intervention/bypass operation, (4) apoplexy or transient ischemic attack, or (5) death for cardiovascular reason. Information on MACE and cause of death were obtained from medical records. Patients were followed from the date of kidney transplant until death, loss to follow-up or the last date of query of the medical records (1st May 2015).

2.4 | Statistical analysis

Baseline characteristics were reported as absolute number and frequency (%) for categorical variables and as mean \pm standard deviation (SD) for continuous data.

Groups were compared using Chi-square, Student's *t* test or Mann-Whitney's *U* test, as appropriate. receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to identify cut-off values for continuous variables. The cut-off values were derived from the point on the ROC curve with minimal distance to the upper left corner of the unit square of the ROC diagram. Analysis of survival and time to MACE was performed using the Kaplan–Meier method based on pre-transplant BTP groupings.

TABLE 1 Patient characteristics

	All (n = 384)	No MACE (n = 314)	MACE (n = 70)	p
General parameters				
Age (years)	51.24 ± 12.73	49.89 ± 12.86	57.30 ± 10.20	<.01
Sex (w/m)	153/231	137/177	16/54	<.01
Cardiovascular risk factors				
Arterial hypertension	92.43% (354/383)	92.33% (289/313)	92.86% (65/70)	.88
Diabetes	20.05% (77/384)	19.11% (60/314)	24.29% (17/70)	.33
Hyperlipidaemia	19.01% (73/384)	19.11% (60/314)	18.57% (13/70)	.92
Active smoking or smoking history	24.87% (95/382)	21.79% (68/312)	38.57% (27/70)	<.01
Pre-existing conditions				
Coronary disease	21.67% (83/383)	13.1% (41/313)	60% (42/70)	<.01
Prior myocardial infarction	7.83% (30/383)	5.11% (16/313)	20% (14/70)	<.01
Atrial fibrillation	11.75% (45/383)	8.95% (28/313)	24.29% (17/70)	<.01
HFrEF	10.97% (35/319)	8.43% (22/261)	22.41% (13/58)	<.01
Prior stroke	5.74% (22/383)	5.11% (16/313)	8.57% (6/70)	.26
Peripheral arterial disease	10.44% (40/383)	7.99% (25/313)	21.43% (15/70)	<.01
Laboratory values				
Creatinine (mg/dl)	8.13 ± 2.84	8.10 ± 2.92	8.23 ± 2.38	.71
Cystatin C (mg/l)	5.95 ± 1.71	5.88 ± 1.84	6.24 ± 1.07	.54
Beta Trace Protein (mg/l)	11.86 ± 5.37	11.26 ± 5.11	14.36 ± 5.73	<.01
Phosphate (mmol/l)	1.59 ± 0.56	1.61 ± 0.56	1.54 ± 0.53	.39
Calcium (mmol/l)	2.34 ± 0.20	2.35 ± 0.20	2.33 ± 0.19	.6
PTH (pg/ml)	252.70 ± 272.62	247.05 ± 277.85	279.52 ± 250.29	.61
Cholesterol (mg/dl)	193.71 ± 49.52	193.46 ± 49.01	194.94 ± 52.37	.84
HDL-Cholesterol (mg/dl)	46.02 ± 12.72	45.43 ± 13.15	48.27 ± 11.16	.51
LDL-Cholesterol (mg/dl)	117.25 ± 61.97	117.50 ± 63.02	116.27 ± 60.51	.95
Triglycerides (mg/dl)	209.13 ± 135.25	206 ± 126.19	224.78 ± 174.22	.35
HbA1c (%)	5.74 ± 1.14	5.68 ± 1.20	6.07 ± 0.75	.42
Uric acid (mg/dl)	4.64 ± 1.73	4.68 ± 1.74	4.42 ± 1.70	.3
CRP (mg/l)	7.68 ± 15.88	7.63 ± 16.59	7.89 ± 12	.91

Statistical significance was assessed using log-rank test. 1- and 5-year MACE-free survival rates (Kaplan–Meier estimates) are presented in percentage with 95% confidence interval in square brackets.

Univariate Cox regression analysis was performed to identify predictors of survival or MACE. Selection of variates for multivariate Cox regression analysis was based on backward elimination of non-significant variates with $p > .05$.²² Analyses were considered significant at a 2-tailed p -value of $<.05$. All calculations were performed using SPSS (version 28.0; IBM, Armonk, New York).

3 | RESULTS

3.1 | Patient characteristics

In total 384 patients were included in our study, of those 60.2% were male. Patients were followed up over a mean of 55.52 months (± 43.5 months). Mean age of the cohort was 51.24 ± 12.73 years. Pre-existing cardiovascular disease was common. Clinical and laboratory characteristics are shown in Table 1.

When we compared patients who developed MACE ($n = 70$) to patients without MACE ($n = 314$), we found—as expected—that patients with smoking or a smoking history as well as patients with pre-existing cardiovascular disease showed higher frequency of MACE during follow-up (Table 1).

Interestingly, of all the analysed laboratory values only BTP was significantly different in patients with MACE compared with those with no MACE (BTP no MACE: 11.26 ± 5.11 mg/l; BTP MACE: 14.36 ± 5.73 mg/l; $p < .01$). Most importantly, other markers of kidney function such as creatinine and cystatin C showed no association to development of MACE (Table 1). In addition, aetiology of kidney disease was not linked to occurrence of MACE (Table S1).

3.2 | Risk factors for MACE

We next aimed to identify risk factors for the incidence of MACE during follow-up. Univariate analysis identified age, male sex, smoking, coronary heart disease, and prior myocardial infarction as risk factors for MACE (Table 2).

TABLE 2 Risk factors for MACE in a kidney transplantation cohort

	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	<i>p</i>	HR	95% CI	<i>p</i>
General parameters						
Age > 56.38 year	3.38	2.08; 5.50	<.01	1.97	1.08; 3.57	.03
Male sex	2.40	1.38; 4.20	<.01	-	-	-
Cardiovascular risk factors						
Arterial hypertension	1.05	0.42; 2.60	.92	-	-	-
Diabetes	1.25	0.72; 2.16	.42	-	-	-
Hyperlipidaemia	0.94	0.51; 1.72	.84	-	-	-
Active smoking or smoking history	2.23	1.38; 3.62	<.01	1.81	1; 3.25	.049
Pre-existing conditions						
Coronary disease	8.02	4.94; 13.02	<.01	8.23	4.50; 15.06	<.01
Prior myocardial infarction	4.55	2.51; 8.24	<.01	-	-	-
Atrial fibrillation	2.63	1.52; 4.54	<.01	-	-	-
HFrEF	2.91	1.56; 5.42	<.01	-	-	-
Prior stroke	1.78	0.77; 4.12	.18	-	-	-
Peripheral arterial disease	2.77	1.56; 4.91	<.01	-	-	-
Laboratory values						
Creatinine (mg/dl)	1.00	0.92; 1.09	.93	-	-	-
Cystatin C (mg/l)	1.08	0.74; 1.55	.70	-	-	-
BTP > 12.7 mg/l	1.90	1.10; 3.28	.02	2.02	1.13; 3.60	.02
Phosphate (mmol/l)	0.78	0.49; 1.26	.31	-	-	-
Calcium (mmol/l)	0.55	0.16; 1.91	.35	-	-	-
PTH (pg/ml)	1.00	1.00; 1.00	.64	-	-	-
Cholesterol (mg/dl)	1.00	1.00; 1.01	.75	-	-	-
HDL-cholesterol (mg/dl)	1.02	0.97; 1.06	.48	-	-	-
LDL-cholesterol (mg/dl)	1.00	0.99; 1.01	.66	-	-	-
Triglycerides (mg/dl)	1.00	1.00; 1.00	.27	-	-	-
HbA1c (%)	1.17	0.66; 2.05	.60	-	-	-
Uric acid (mg/dl)	0.88	0.75; 1.04	.13	-	-	-
CRP (mg/l)	1.00	0.99; 1.02	.65	-	-	-

By plotting a ROC curve, we determined the best cut-off value for BTP to predict MACE at 12.7 mg/l (area under the curve 0.66, sensitivity: 54.72%, specificity: 67.58%, positive predictive value: 29%, negative predictive value: 86.04%). Pre-transplant serum BTP concentration >12.7 mg/l was identified as risk factor for MACE in univariate analysis (Table 2).

In multivariate analysis, BTP above 12.7 mg/l was confirmed as independent risk factor for MACE (HR 2.02; *p* = .02) next to smoking (HR 1.81; *p* = .049), age > 56.38 years (HR 1.97; *p* = .03) and pre-existing coronary heart disease (HR = 8.23; *p* < .01) (Table 2).

To better characterize patients with high BTP levels, we compared patients with a pre-transplant BTP level > 12.7 mg/l to those below this threshold. Patients with BTP levels above the identified cut off were predominantly male and of younger age and—as expected—displayed worse residual renal function parameters, but did not differ with regard to previous MACE or cardiovascular risk factors compared

with patients with BTP serum levels <12.7 mg/l, as already suggested by the multivariate analysis (Table 3).

3.3 | Serum BTP and MACE over time

In 42.86% of patients with MACE, the adverse event occurred in the first 30 days after transplantation. 61.43% of patients with post-transplant MACE experienced MACE within the first year after transplantation and 81.43% of patients within 5 years after transplantation.

Patients with MACE within the first 30 days were comparable to patients with later MACE (Table S2).

Figure 1A illustrates the MACE-free survival of all patients despite their pre-transplant serum BTP levels. To analyse whether or not serum BTP levels correlate with MACE-free survival, we plotted Kaplan-Meier curves for patients with BTP below and above the

TABLE 3 Comparison of the cohorts BTP < 12.7 mg/l and BTP > 12.7 mg/l

	BTP < 12.7 mg/l (n = 172)	BTP > 12.7 mg/l (n = 100)	All (n = 272)	p
General parameters				
Age (years)	53.05 ± 12.95	49 ± 11.51	51.56 ± 12.57	.01
Sex (f/m)	75/97	27/73	102/170	<.01
Cardiovascular risk factors				
Arterial hypertension	93.02% (160/172)	95.96% (95/99)	94.10% (255/271)	.32
Diabetes	17.44% (30/172)	13% (13/100)	15.81% (43/272)	.33
Hyperlipidaemia	21.51% (37/172)	19% (19/100)	20.59% (56/272)	.62
Active smoking or smoking history	22.67% (39/172)	29% (29/100)	25% (68/272)	.25
Pre-existing conditions				
Coronary disease	18.60% (32/172)	24% (24/100)	20.59% (56/272)	.29
Prior myocardial infarction	8.14% (14/172)	9% (9/100)	8.46% (23/272)	.81
Atrial fibrillation	12.21% (21/172)	11% (11/100)	11.76% (32/272)	.77
HFrEF	11.19% (16/143)	10.59% (9/85)	10.96% (25/228)	.89
Prior stroke	4.65% (8/172)	8% (8/100)	5.88% (16/272)	.26
Peripheral arterial disease	11.63% (20/172)	10% (10/100)	11.03% (30/272)	.68
Laboratory values				
Creatinine (mg/dl)	7.85 ± 2.89	9.10 ± 2.67	8.31 ± 2.88	<.01
Cystatin C (mg/l)	5.70 ± 1.51	7.36 ± 1.44	6.32 ± 1.67	<.01
Beta Trace Protein (mg/l)	8.62 ± 2.73	17.44 ± 4.03	11.86 ± 5.37	<.01
Phosphate (mmol/l)	1.54 ± 0.53	1.65 ± 0.55	1.58 ± 0.54	.12
Calcium (mmol/l)	2.33 ± 0.18	2.35 ± 0.20	2.34 ± 0.19	.43
PTH (pg/ml)	239.91 ± 211.05	302.61 ± 468.35	251.54 ± 275.76	.33
Cholesterol (mg/dl)	194.01 ± 45.40	189.77 ± 48.22	192.43 ± 46.42	.49
HDL-Cholesterol (mg/dl)	44.29 ± 12.25	46.62 ± 11.91	45.02 ± 12.04	.57
LDL-Cholesterol (mg/dl)	129.77 ± 72.19	108.85 ± 50.99	123.44 ± 66.60	.35
Triglycerides (mg/dl)	224.01 ± 145.57	210.32 ± 142.49	218.90 ± 144.30	.47
HbA1c (%)	5.61 ± 1.05	5.95 ± 0.93	5.69 ± 1.02	.37
Uric acid (mg/dl)	4.60 ± 1.75	4.39 ± 1.72	4.52 ± 1.74	.34
CRP (mg/l)	9.20 ± 19.99	5.71 ± 6.98	7.92 ± 16.52	.04

identified cut off value of 12.7 mg/l (Figure 1B). The Kaplan–Meier curves differed significantly (log rank test: $p = .02$). For patients with a pre-transplant BTP concentration of <12.7 mg/l, 1- and 5-year MACE-free survival rates were 88.90% [84.20%–93.60%] and 86.23% [80.78%–91.68%], respectively. 1- and 5-year MACE-free survival rates were 83% [75.63%–90.37%] and 75.79% [66.66%–84.92%] for patients with a pre-transplant BTP concentration of >12.7 mg/l. To specify on this finding, we further stratified the patients according to their BTP levels (Figure 1C). The corresponding Kaplan–Meier curves differed significantly (pooled log rank test: $p = .02$) and 1- and 5-year MACE-free survival rates inversely correlated with BTP levels. 1- and 5-year MACE-free survival rates were highest in patients with BTP ≤6.35 mg/l (both 92.86% [85.08%–100%]) and lowest for patients with BTP > 19.05 mg/l (1-year MACE-free survival rate: 75.76% [61.14%–90.38%]; 5-year MACE-free survival rate: 71.97% [56.31%–87.63%]). Patients with serum BTP between 6.35 and 12.7 mg/l (1-year MACE-free

survival rate: 87.62% [81.94%–93.30%], 5-year MACE-free survival rate: 84.14% [77.44%–90.84%]) as well as between 12.7 and 19.05 mg/l (1-year MACE-free survival rate: 86.57% [78.40%–94.74%]; 5-year MACE-free survival rate: 77.80% [66.69%–88.91%]) fitted in accordingly (Figure 1C).

3.4 | Serum BTP and survival

To analyse a possible correlation between BTP serum values and overall survival, we again plotted Kaplan–Meier curves with respect to the patients' pre-transplant BTP serum values. The Kaplan–Meier curves for patients with pre-transplant BTP levels under/above the cut-off value of 12.7 mg/l did not differ significantly (log rank test: $p = 0.93$). 1- and 5-year overall survival rates were 96.35% [93.49%–99.21%] and 81.83% [74.70%–88.96%] for patients with BTP < 12.7 mg/l and 96.48% [92.56%–100%] and

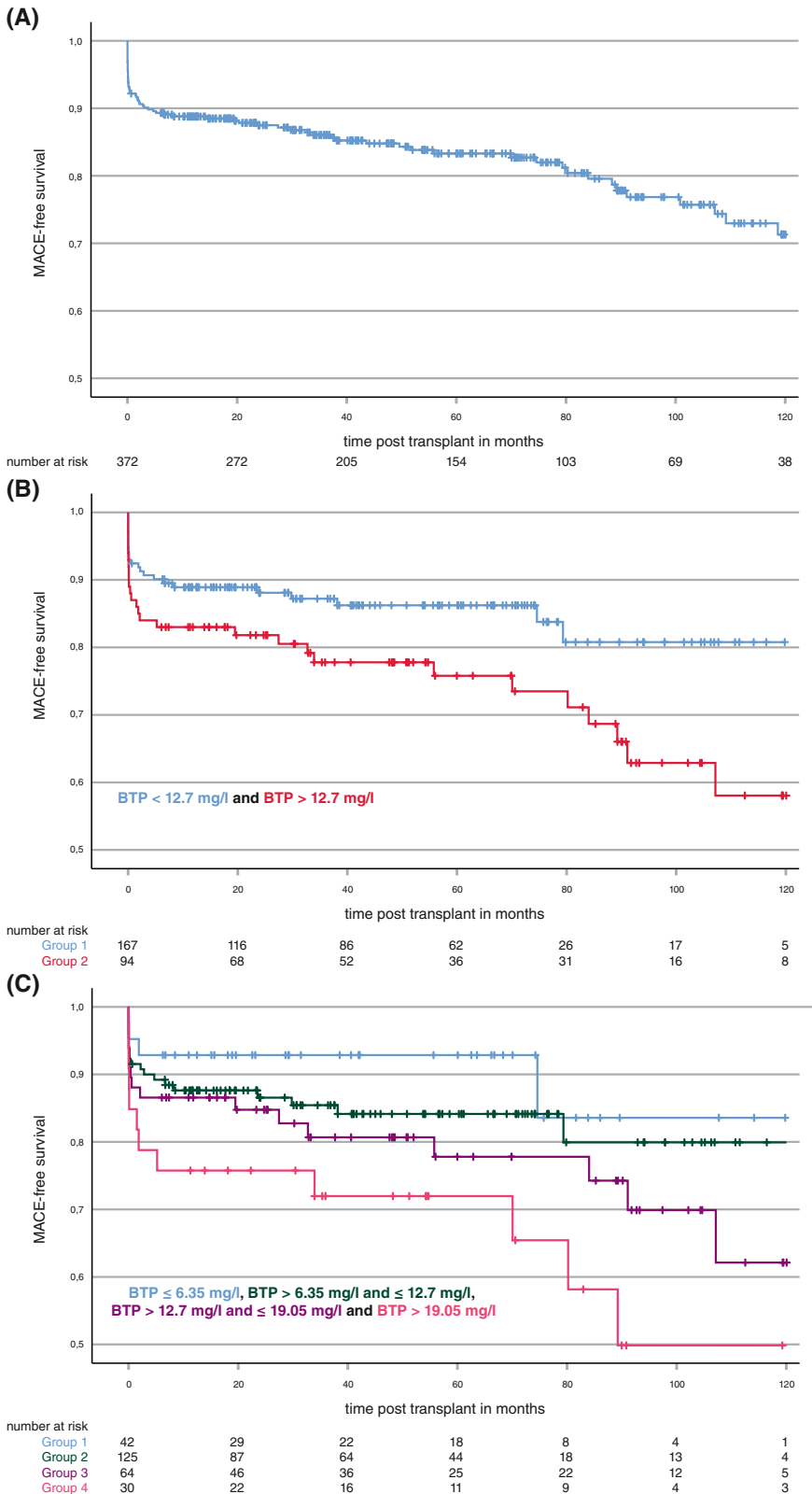


FIGURE 1 BTP and incidence of MACE in a kidney transplantation cohort. (A) Kaplan–Meier curve of MACE-free survival in our cohort; (B) MACE-free survival of patients with BTP serum level lower or above 12.7 mg/l ($p = .02$); (C) MACE-free survival of patients with given BTP serum values ($p = .02$). BTP ≤ 6.35 mg/l, BTP > 6.35 mg/l, and ≤ 12.7 mg/l, BTP > 12.7 mg/l and ≤ 19.05 mg/l and BTP > 19.05 mg/l.

80.12% [70.52%–89.72%] for patients with BTP > 12.7 mg/l. Furthermore, the Kaplan–Meier curves for the earlier mentioned four BTP subgroups did not differ significantly (pooled log rank test: $p = .83$). Hence, we could not derive a correlation between pre-transplant BTP serum values and overall survival.

4 | DISCUSSION

In our cohort of 384 adult renal transplant recipients we demonstrated a significant association between pre-transplant serum BTP and post-transplant MACE. Interestingly, pre-transplant residual renal

function assessed by serum creatinine and serum cystatin C values were not significantly associated with MACE, while serum BTP concentration was. BTP was confirmed as independent risk factor for MACE in multivariate analysis. Analysis over time further confirmed the discriminatory function of BTP, indicating additionally that the risk for MACE increased step-wise with BTP values.

Cardiovascular events are frequent in kidney transplant recipients,²³ but simple risk prediction tools are lacking. Dyslipidaemia and screening for asymptomatic cardiovascular disease, for example, have poor discriminatory capacity.²⁴ In times of organ shortage, it is obligatory to protect patients as best as possible after a successful transplantation. Ideally, this is done precisely, non-invasively and inexpensively suggesting biomarker as a promising tool.

It is well established that elevated BTP is associated with cardiovascular risk and that this association is not singularly attributable to the established association between GFR and MACE.⁷ In a large observational study BTP levels have been associated more strongly with coronary heart disease, heart failure, and death than creatinine-based CKD-EPI eGFR.¹² Regardless of kidney function, a large multicentre study showed that BTP serum level was elevated in patients with stable coronary artery disease and that the level increased with the number of affected coronary arteries.¹⁴ On a local level, BTP concentrations in the coronary artery decreased after coronary intervention.²⁵ Also in patients with hypertension, serum and urinary BTP values were demonstrated to be much higher than in normotensive subjects.^{15,26} At a molecular level, animal models hint at a protective role for BTP in the heart, where it is highly expressed.²⁷ In line, BTP was reported as a prognostic biomarker in patients with atrial fibrillation.²⁸ Although aetiology of ESKD might be linked to the risk to develop MACE, we did not detect a statistically significant difference between different causes of renal failure. Possibly, the long period patients had to undergo dialysis before transplant might have mitigated the effect of the ESKD aetiology.

Within our study we used pre-transplantation BTP levels for analysis. Before transplantation, BTP levels are not a simple result of well-known cardiovascular risk factors or previous MACE, as we did not find a difference between the groups with different BTP-levels concerning pre-existing MACE or cardiovascular risk factors at the time of blood analysis (Table 3). After transplantation, the multi-faceted negative impact of ESKD on the cardiovascular system has been diminished, so that the aspect of BTP reflecting cardiovascular health may become more evident. One could speculate that BTP is a surrogate parameter for MACE in patients with ESKD both due to its good correlation with residual kidney function and reflection of cardiovascular health, but might also serve as a cardiovascular biomarker in patients after transplantation.

This suggests BTP as a good parameter for assessing the cardiovascular risk in both waitlisted and transplanted patients.

Supporting this hypothesis, serum BTP was found to be associated with both all-cause and cardiovascular mortality in a cohort of dialysis patients.²⁹ Contrary to this study linking BTP concentration to all-cause mortality in haemodialysis patients,^{13,29} we could not establish a significant association between pre-transplant BTP

concentration and post-transplant all-cause mortality in our cohort of renal transplant recipients, although MACE correlated with survival. Although this discrepancy might be due to the limited size of our study cohort, it is conceivable that mortality in transplant patients may include a substantial amount of non-cardiovascular, but infectious or malignant causes and that the high standard of care for MACE in our patients reduced mortality considerably.

We suggest BTP as a promising biomarker for the assessment of post-transplant MACE. To identify a potential biomarker in ESKD patients, it has to be kept in mind that its serum level might largely depend on the time between the last dialysis treatment session and the pre-transplant blood analysis, a time interval that may differ among the patients between 0 and 72 h. Therefore, an optimal biomarker should not be influenced by renal replacement therapy. Previous studies as well as our previous work showed that serum BTP concentration is not substantially eliminated by low- or high-flux haemodialysis membranes but only reduced by hemodiafiltration and that BTP might be a valuable marker for residual diuresis in patients undergoing peritoneal dialysis.^{18,20,21,30}

Some limitations of our study should be noted. We only included waitlisted ESKD patients, which might represent a relatively “healthy subgroup” of ESKD patients. Moreover, we cannot exclude sources of residual confounding by unmeasured variables such as inflammatory biomarkers, lifestyle including diet and genetic predisposition. We do not have data on cardiovascular medication as well as functional cardiovascular testing.

In 42.86% of patients with MACE, the adverse event occurred in the first 30 days after transplantation, which might be associated with potential peri-operative complications. Concerning MACE occurring during the first month post-transplant, there might be manifold procedure-related factors contributing to the occurrence of these adverse events, which may confound the presented results. Perioperative MACE may differ from the usual form of MACE, but very rarely occurs within the perioperative period only due to perioperative complications, but on the background of advanced atherosclerosis. Patients with early MACE were comparable to patients with later MACE concerning all parameters with only coronary artery disease tending to be even more frequent in patients with early MACE (Table S2). Because a single biomarker will hardly be able to predict MACE only occurring spontaneously and not related to triggering events, we believe that BTP is an easy tool for identification of patients at high cardiovascular risk.

We believe that our work adds information on the value of BTP in laboratory diagnostic not only as a marker of residual renal function, but also as a surrogate parameter for cardiovascular risk.

BTP might be used for identification of patients at cardiovascular risk in two different ways. First, it could be used in waitlisted patients as standard parameter for routine screening just before registration on the waiting list to tailor intervals of the cardiac follow-up screening and to prompt clinicians to achieve a stricter control of cardiovascular risk factors in patients with high BTP serum levels. Second, it could be used pre-transplantation to more tightly monitor patients at risk after transplantation. The value of BTP measurement should be investigated in a

prospective trial to validate the cut-off threshold and assess the utility of BTP-guided cardiovascular risk assessment.

In conclusion, pre-transplant serum BTP concentration was associated with post-transplant MACE. Identifying pre-transplant patients at risk for post-transplant MACE might improve outcomes.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sebastian Schwab: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. **Daniel Pörner:** analysis and interpretation of data. **Carola Ellen Kleine:** acquisition, analysis and interpretation of data. **Roxana Werberich:** acquisition and analysis of data. **Louisa Werberich:** acquisition and analysis of data. **Stephan Reinhard:** acquisition and analysis of data. **Dominik Bös:** acquisition and analysis of data. **Christian Strassburg:** administrative support, reviewing the manuscript. **Sibylle von Vietinghoff:** administrative support, reviewing the manuscript. **Philipp Lutz:** analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. **Rainer Peter Woitas:** study concept and design, interpretation of data, administrative support, study supervision.

ACKNOWLEDGMENT

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

CONFLICT OF INTEREST

No funding was received for conducting this study. On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

ETHICS STATEMENT

The study was approved by the local ethics committee, the ethics committee of the medical faculty of the university of Bonn—number 159/17.

ORCID

Sebastian Schwab <https://orcid.org/0000-0001-7504-4436>

REFERENCES

- Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351:1296-1305. doi:10.1056/NEJMoa041031
- Neale J. Cardiovascular risk factors following renal transplant. *World J Transplant*. 2015;5(4):183. doi:10.5500/wjt.v5.i4.183
- Sarnak MJ, Amann K, Bangalore S, et al. Chronic kidney disease and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(14):1823-1838. doi:10.1016/j.jacc.2019.08.1017
- Valdivielso JM, Rodríguez-Puyol D, Pascual J, et al. Atherosclerosis in chronic kidney disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(10):1938-1966. doi:10.1161/atvbaha.119.312705
- Wanner C, Amann K, Shoji T. The heart and vascular system in dialysis. *Lancet*. 2016;388(10041):276-284. doi:10.1016/s0140-6736(16)30508-6
- Woitas RP, Stoffel-Wagner B, Poegel U, Schiedermaier P, Spengler U, Sauerbruch T. Low-molecular weight proteins as markers for glomerular filtration rate. *Clin Chem*. 2001;47:2179-2180.
- White CA, Ghazan-Shahi S, Adams MA. beta-Trace protein: a marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis*. 2015;65(1):131-146. doi:10.1053/j.ajkd.2014.06.038
- Poge U, Gerhardt T, Bokenkamp A, et al. Time course of low molecular weight proteins in the early kidney transplantation period—influence of corticosteroids. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(11):2858-2863. doi:10.1093/ndt/gfh341
- Poge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, et al. Beta-trace protein-based equations for calculation of GFR in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2008;8(3):608-615. doi:10.1111/j.1600-6143.2007.02117.x
- Nagata N, Fujimori K, Okazaki I, et al. De novo synthesis, uptake and proteolytic processing of lipocalin-type prostaglandin D synthase, β -trace, in the kidneys. *FEBS J*. 2009;276(23):7146-7158. doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07426.x
- Foster MC, Inker LA, Levey AS, et al. Novel filtration markers as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in US adults. *Am J Kidney Dis*. 2013;62(1):42-51. doi:10.1053/j.ajkd.2013.01.016
- Astor BC, Shafi T, Hoogveen RC, et al. Novel markers of kidney function as predictors of ESRD, cardiovascular disease, and mortality in the general population. *Am J Kidney Dis*. 2012;59(5):653-662. doi:10.1053/j.ajkd.2011.11.042
- Enko D, Meinitzer A, Scharnagl H, et al. Prospective cohort studies of beta-trace protein and mortality in haemodialysis patients and patients undergoing coronary angiography. *Nephrol Dialysis Transplant*. 2018;33(11):1984-1991. doi:10.1093/ndt/gfy025
- Inoue T, Eguchi Y, Matsumoto T, et al. Lipocalin-type prostaglandin D synthase is a powerful biomarker for severity of stable coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2008;201(2):385-391. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.03.010
- Orenes-Pinero E, Manzano-Fernandez S, Lopez-Cuenca A, Marin F, Valdes M, Januzzi JL. beta-Trace protein: from GFR marker to cardiovascular risk predictor. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013;8(5):873-881. doi:10.2215/CJN.08870812
- Manzano-Fernández S, Januzzi JL, Boronat-García M, et al. β -trace protein and cystatin c as predictors of long-term outcomes in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(7):849-858. doi:10.1016/j.jacc.2010.08.644
- Eguchi Y, Eguchi N, Oda H, et al. Expression of lipocalin-type prostaglandin D synthase (β -trace) in human heart and its accumulation in the coronary circulation of angina patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:14689-14694.
- Schwab S, Bos D, Hundt F, Kleine CE, Strassburg CP, Woitas RP. beta-Trace protein in hemodialysis - comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(11):265-267. doi:10.1515/cclm-2018-0178
- Schwab S, Zchoval CF, Bös D, Strassburg CP, Woitas RP. Reduction of low molecular weight proteins under continuous renal replacement therapy in acute renal failure. *Clin Exp Nephrol*. 2018;23(3):429-430. doi:10.1007/s10157-018-1637-4
- Schwab S, Kleine CE, Bös D, et al. Beta-trace protein as a potential biomarker of residual renal function in patients undergoing peritoneal dialysis. *BMC Nephrol*. 2021;22(1):87. doi:10.1186/s12882-021-02287-0
- Gerhardt T, Poge U, Stoffel-Wagner B, et al. Serum levels of beta-trace protein and its association to diuresis in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(1):309-314. doi:10.1093/ndt/gfm510
- Chowdhury MZI, Turin TC. Variable selection strategies and its importance in clinical prediction modelling. *Fam Med Community Health*. 2020;8(1):e000262. doi:10.1136/fmch-2019-000262
- Prasad GVR, Huang M, Silver SA, et al. Metabolic syndrome definitions and components in predicting major adverse cardiovascular events after kidney transplantation. *Transpl Int*. 2015;28(1):79-88. doi:10.1111/tri.12450

24. Kim JE, Yu M-Y, Kim YC, et al. Ratio of triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol and risk of major cardiovascular events in kidney transplant recipients. *Clin Exp Nephrol*. 2019;23(12):1407-1417. doi:[10.1007/s10157-019-01776-9](https://doi.org/10.1007/s10157-019-01776-9)
25. Segal J, Kern MJ, Scott NA, et al. Alterations of phasic coronary artery flow velocity humans during percutaneous coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*. 1992;20(2):276-286. doi:[10.1016/0735-1097\(92\)90091-z](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90091-z)
26. Hirawa N, Uehara Y, Yamakado M, et al. Lipocalin-type prostaglandin D synthase in essential hypertension. *Hypertension*. 2002;39:449-454.
27. Urade Y. Biochemical and structural characteristics, gene regulation, physiological, pathological and clinical features of lipocalin-type prostaglandin D2 synthase as a multifunctional lipocalin. *Front Physiol*. 2021;12:718002. doi:[10.3389/fphys.2021.718002](https://doi.org/10.3389/fphys.2021.718002)
28. Vílchez JA, Roldán V, Manzano-Fernández S, et al. β -trace protein and prognosis in patients with atrial fibrillation receiving anticoagulation treatment. *Chest*. 2013;144(5):1564-1570. doi:[10.1378/chest.13-0922](https://doi.org/10.1378/chest.13-0922)
29. Shafi T, Parekh RS, Jaar BG, et al. Serum beta-trace protein and risk of mortality in incident hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(9):1435-1445. doi:[10.2215/CJN.02240312](https://doi.org/10.2215/CJN.02240312)
30. Lindstrom V, Grubb A, Alquist Hegbrant M, Christensson A. Different elimination patterns of beta-trace protein, beta2-microglobulin and cystatin C in haemodialysis, haemodiafiltration and haemofiltration. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008;68(8):685-691. doi:[10.1080/00365510802047693](https://doi.org/10.1080/00365510802047693)

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Schwab S, Pörner D, Kleine C-E, et al. Pre-transplant serum Beta Trace Protein indicates risk for post-transplant major cardiac adverse events. *Nephrology*. 2023;28(1):51-59. doi:[10.1111/nep.14131](https://doi.org/10.1111/nep.14131)

3.6 NT-proBNP und kardiovaskuläres Outcome nach Nierentransplantation

“NT-proBNP as predictor of major cardiac events after renal transplantation in patients with preserved left ventricular ejection fraction.”

Schwab S, Pörner D, Kleine CE, Werberich R, Werberich L, Reinhard S, Bös D, Strassburg CP, von Vietinghoff S, Lutz P, Woitas RP

BMC Nephrol. 2023 Feb 11;24(1):32

Zielsetzung der Arbeit & Methoden

NT-proBNP sagt kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität sowohl in der Allgemeinbevölkerung als auch bei Patienten mit chronischer Nierenkrankheit voraus. Trotz der bekannten Assoziation mit MACE und Mortalität bei Patienten mit terminaler Nierenkrankheit ist weitgehend unbekannt, ob diese Assoziation auch für Patienten nach Nierentransplantation gilt. Da Herzinsuffizienz ein Risikofaktor für MACE und Mortalität ist, wurden in dieser Studie nur Patienten mit erhaltener linksventrikulärer Ejektionsfraktion eingeschlossen. Um die Assoziation von NT-proBNP und dem Risiko für MACE zu analysieren, untersuchten wir NT-proBNP vor der Transplantation als potenziellen Prädiktor für MACE und Mortalität bei Patienten mit erhaltener linksventrikulärer Ejektionsfraktion nach Nierentransplantation. Insgesamt erfüllten 176 Patienten die Einschlusskriterien. MACE wurde definiert als (1) Myokardinfarkt mit ST-Strecken-Hebung (STEMI), (2) Myokardinfarkt ohne ST-Strecken-Hebung (NSTEMI), (3) koronare Herzkrankheit, die einen Eingriff/Bypass-Eingriff erfordert, (4) Schlaganfall oder vorübergehende ischämische Attacke oder (5) Mortalität aufgrund einer kardiovaskulären Ursache (definiert als Tod aufgrund einer koronaren Herzkrankheit, eines plötzlichen Herztods oder Schlaganfalls).

Ergebnisse

Insgesamt traten bei 15,91 % der eingeschlossenen Patienten MACE auf. Alle diese beobachteten MACE waren Herzinfarkte. NT-proBNP zeigte höhere Plasmaspiegel bei Patienten mit zukünftigem MACE, erreichte aber keine statistische Signifikanz. Basierend auf eGFR und Serumkreatinin war die Nierenfunktion bei Patienten mit und ohne MACE vergleichbar. NT-proBNP-Wert vor der Transplantation bei Patienten, die nach der Transplantation keine MACE entwickelten, betrug 2829,50 pg/ml, während Patienten, die nach

der Transplantation ein MACE entwickelten, einen mittleren NT-proBNP-Wert von 7452 pg/ml aufwiesen.

Wir konnten den besten Cut-off-Wert für NT-proBNP zur Vorhersage eines MACE bei 4350 pg/ml bestimmen. In der multivariaten Analyse wurde ein NT-proBNP-Spiegel über 4350 pg/ml als unabhängiger Risikofaktor für MACE bestätigt. Interessanterweise waren Serumkreatinin, sowie die auf Kreatinin basierende eGFR, nicht mit MACE assoziiert.

Patienten mit NT-proBNP-Werten über 4350 pg/ml hatten 1- und 5-Jahres-Überlebensraten von 90,67 % und 68,20 %, während Patienten mit NT-proBNP-Werten unter 4350 pg/ml 1- und 5-Jahres-Überlebensraten von 100 % und 90,48 % aufwiesen.

Die MACE-freien Überlebensraten für 1 und 5 Jahre wurden mit 93,33 % bzw. 91,21 % für Patienten mit NT-proBNP < 4350 pg/ml und mit 78,82 % bzw. 74,68 % für Patienten mit NT-proBNP > 4350 pg/ml berechnet.

Schlussfolgerung


NT-proBNP vor der Transplantation ist mit MACE nach der Transplantation sowie dem Überleben assoziiert. Eine Bestimmung von NT-proBNP vor der Transplantation könnte helfen, Patienten mit hohem Risiko für ein unerwünschtes kardiovaskuläres Ereignis zu identifizieren.

RESEARCH

Open Access



NT-proBNP as predictor of major cardiac events after renal transplantation in patients with preserved left ventricular ejection fraction

Sebastian Schwab^{1*} , Daniel Pörner¹, Carola-Ellen Kleine¹, Roxana Werberich¹, Louisa Werberich¹, Stephan Reinhard¹, Dominik Bös², Christian P. Strassburg¹, Sibylle von Vietinghoff¹, Philipp Lutz^{1†} and Rainer P. Woitas^{3†}

Abstract

Background For the improvement of outcome after renal transplantation it is important to predict future risk of major adverse cardiac events as well as all-cause mortality. We aimed to determine the relationship of pre-transplant NT-proBNP with major adverse cardiac events and all-cause mortality after transplant in patients on the waiting-list with preserved left ventricular ejection fraction.

Patients and methods We included 176 patients with end-stage renal disease and preserved left ventricular ejection fraction who received a kidney transplant. MACE was defined as myocardial infarction (ST-segment elevation [STEMI] or non-ST-segment elevation [NSTEMI]), stroke or transient ischemic attack, coronary artery disease requiring intervention or bypass or death from cardiovascular causes.

Results MACE occurred in 28/176 patients. Patients with NT-proBNP levels above 4350 pg/ml had 1- and 5-year survival rates of 90.67% and 68.20%, whereas patients with NT-proBNP levels below 4350 pg/ml had 1- and 5-year survival rates of 100% and 90.48% ($p < 0.01$). 1- and 5-year MACE-free survival rates were calculated as 78.82% and 74.68% for patients with NT-proBNP > 4350 pg/ml and 93.33% and 91.21% for patients with NT-proBNP < 4350 pg/ml ($p < 0.01$).

Conclusions Pre-transplant NT-proBNP might identify renal transplant candidates at risk for MACE after transplant.

Keywords NT-proBNP, Renal transplantation, Major cardiovascular event

Introduction

Renal transplantation is a treatment of end-stage kidney disease (ESKD), which largely improves quality of life and prolongs survival [1]. Recipients of a kidney transplant have a decreased incidence of cardiovascular events compared to patients remaining on the waiting list, whereas their cardiovascular risk is still higher than in the general population [2]. To improve outcome for renal transplant patients, estimation of future cardiovascular risk is therefore important. However, compared to the general population, risk assessment is inadequately delineated for patients with ESKD [3], especially for the period

[†]Philipp Lutz and Rainer P. Woitas contributed equally to this work.

*Correspondence:

Sebastian Schwab
sebastian.schwab@ukbonn.de

¹ Department of Internal Medicine I, Nephrology Section, University of Bonn, Bonn, Germany

² Kuratorium für Dialyse, KfH Renal Center, Bonn, Germany

³ Diaverum Deutschland GmbH, Munich, Germany



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

after kidney transplant in patients with preserved cardiac function. A widely available, simple biomarker to predict major adverse cardiac events (MACE) in renal transplant recipients would be very helpful to counsel patients and tailor individual preventive strategies.

Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) is a marker of myocardial damage and fluid volume overload [4, 5]. Asymptomatic and euvolemic patients on maintenance dialysis often show NT-proBNP plasma levels greater than 20 times of the upper limit [3, 6]. NT-proBNP predicts cardiovascular morbidity and all-cause death both in the general population, and in chronic kidney disease [7–10]. However, the value of NT-proBNP as a reliable cardiac marker in patients with renal failure has been questioned [11–13], because NT-proBNP is at least partially cleared from the circulation by the kidneys [14, 15].

NT-proBNP was identified as a risk factor for mortality with an even stronger association in a cohort of renal transplant recipients than the general population [13]. In spite of its well-known association with major cardiac events (MACE) and mortality in ESKD patients, it is largely unknown if this association holds true for patients once they received kidney transplantation. Only few studies investigated this association. In contrast to the previous study [13], NT-proBNP was measured before transplantation in our cohort. Additionally, NT-proBNP at transplantation was found to be significantly higher in patients suffering from MACE very early after transplant, but this analysis comprised only few patients and analyzed MACE only within the first days after transplant [16]. Because cardiac insufficiency may be considered as a risk factor for MACE and mortality, we focused on patients without impaired left ventricular ejection fraction.

To further clarify the relationship between NT-proBNP and risk for MACE, we investigated pre transplantation NT-proBNP as potential predictor of MACE and mortality in patients with preserved left ventricular ejection fraction following renal transplantation.

Patients and methods

Study population

This retrospective study was performed at the University Hospital Bonn, Germany. Patients suffering from ESKD and wait-listed for kidney transplantation were included, if they were at least 17 years old at the time of kidney transplantation. NT-proBNP was measured during routine laboratory evaluation directly before kidney transplantation in every patient without a specific clinical event to trigger the analysis. Because the time-point of analysis was determined by the availability of a donor organ, there was no specific interval to the dialysis

sessions apart from the fact that specimens were not collected during dialysis. The period between NT-proBNP measurement and transplantation was no longer than 24 h.

For this study, only patients with pre-transplant measurement of NT-proBNP and with preserved left ventricular ejection fraction (assessed by echocardiography and defined as $\geq 55\%$) were included. Information on diastolic dysfunction was not collected.

We excluded patients without MACE who were lost to follow-up within the first six months after transplant. In total, 176 patients being transplanted between the year 2000 and 2015 met these inclusion criteria. In our cohort, only a minority of 4% of the patients (7/176) were transplanted pre-emptively while the vast majority of the patients (96%, 169/176) were on dialysis.

Baseline patient characteristics of this study cohort as well as pre-transplant biomarkers were extracted from medical files and records. Biomarkers were measured before transplant and evaluated retrospectively. The reference range for normal NT-proBNP values was < 125 pg / ml for patients under 75 years of age and < 450 pg / ml for patients older than 75 years.

Calculation of eGFR based on Cockcroft-Gault equation while body surface area was estimated according to Du Bois.

Outcome assessment

Post-renal transplant major cardiovascular event (MACE) and post-transplant all-cause mortality were the outcomes of interest. MACE was defined as (1) ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI), (2) non-ST-segment elevation myocardial infarction (NSTEMI), (3) coronary artery disease needing intervention/bypass surgery, (4) stroke or transient ischemic attack, or (5) mortality due to a cardiovascular cause (defined as death due to coronary artery disease, sudden cardiac death or stroke).

Medical data were used to obtain information on MACE and the cause of death. Follow-up time was defined from the time of kidney transplant until death, loss to follow-up, or the last time their medical records were queried (1st May 2015).

Statistical analysis

For categorical variables, baseline characteristics were presented as absolute number and frequency (percent). For normally distributed, continuous data, results are given as mean and standard deviation (SD). Non-normally distributed, continuous data are presented as median with interquartile range (IQR). Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to assess the capacity of several continuous parameters

to predict MACE. When suitable, cut-off values were derived from the point on the ROC curve with minimum distance to the upper-left corner.

Patients were divided into groups based on their pre-transplant serum NT-proBNP value and groups were compared using Chi-square, Fisher's exact test or Student's *t* test, as appropriate.

Univariate Cox regression analysis was applied to identify potential determinants of MACE. The variables derived from univariate analysis were considered for multivariate analysis. Definite variable selection by multivariate Cox regression analysis was then based on backward elimination of variables with $p > 0.05$. Fulfilment of the assumption of proportional hazards was graphically assessed by analysis of the Kaplan–Meier curves and the corresponding log-minus-log plots. For the testing for proportional hazards, continuous data were stratified into two groups according to their means or the earlier identified cut-off values. Assumption of proportional hazards was considered as fulfilled when Kaplan–Meier curves did not cross and log-minus-log plots were parallel. All variates considered for and eventually included in the multivariate Cox regression model fulfilled the assumption of proportional hazards. Results of the Cox regression analyses were reported as hazard ratios (HR) with 95% confidence intervals and the corresponding *p*-value.

The Kaplan–Meier method was used to plot and analyse survival curves and to provide survival rates reported as Kaplan–Meier estimates including 95% confidence interval in square brackets. Comparison of the survival curves was performed using the log rank test.

A two-tailed *p*-value of 0.05 was considered statistically significant. SPSS version 28 was used for statistical analyses.

Results

Characteristics of the cohort

We included 176 patients in our study. Patients were followed-up over a median observation time of 38.23 months (IQR: 15.58 to 71.30 months) and mean age was 52.12 years (± 12.52 years). 56.25% of the cohort was male. In total, MACE occurred in 15.91% of included patients. All of these observed MACE were myocardial infarctions (3 ST-segment elevation myocardial infarctions, 22 non-ST-segment elevation infarctions and 3 not further specified myocardial infarctions). Patient characteristics as well as pre-existing conditions and laboratory values are given in Table 1.

Pre-existing conditions such as coronary artery disease, history of myocardial infarction, atrial fibrillation and peripheral arterial disease were more common in transplanted patients who developed MACE. NT-proBNP

showed higher plasma levels in patients with future MACE, but shortly failed statistical significance (NT-proBNP without future MACE: $7878 \pm 15,929$ pg/ml versus NT-proBNP with future MACE: $16,922 \pm 26,486$ pg/ml; $p = 0.09$). Figure 1 visualizes the distribution of NT-proBNP levels for the cohort without vs. with future MACE. Based on eGFR and serum creatinine, kidney function was comparable between those with and without MACE (Table 1).

NT-proBNP levels in patients with and without MACE

Median pre-transplant NT-proBNP level of patients who did not develop post-transplant MACE was 2829.50 pg/ml (IQR: 1173.88 to 5652.50 pg/ml) while patients who developed MACE post-transplant had a median NT-proBNP level of 7452 pg/ml (IQR: 2976.63 to 14,595.90 pg/ml). Note the logarithmic *y*-axis. Outliers are depicted as circles.

Risk factors for MACE

Concerning laboratory markers no statistically significant differences between the groups with and without MACE could be observed (Table 1). Receiver operating characteristic curve determined the best cut-off value for NT-proBNP to predict MACE at 4350 pg/ml (area under the curve 0.69, sensitivity: 67.86%, specificity: 64.86%, positive predictive value: 26.76%, negative predictive value: 91.43%). Similarly, ROC curve analysis provided suitable cut-off values for recipient's age at transplant (56.60 y, area under the curve 0.70, sensitivity: 67.86%, specificity: 66.22%, positive predictive value: 27.54%, negative predictive value: 91.59%) and cholesterol (200 mg/dl, area under the curve 0.62, sensitivity: 61.54%, specificity: 62.77%, positive predictive value: 23.88%, negative predictive value: 89.58%). Pretransplant triglyceride levels did not predict posttransplant MACE.

Univariate analysis identified age, male sex, coronary artery disease, prior myocardial infarction, atrial fibrillation and peripheral artery disease as risk factors of MACE (Table 2). Furthermore, pre-transplant serum NT-proBNP concentration > 4350 pg/ml was identified as risk factor for MACE in univariate analysis (Table 2). Interestingly, serum creatinine as well as creatinine-based eGFR did not associate with MACE.

In multivariate analysis, NT-proBNP above 4350 pg/ml was confirmed as independent risk factor for MACE (HR 3.04; $p = 0.01$). Beside NT-proBNP, also recipient's age at transplant > 56.60 years (HR 2.47; $p = 0.04$), cholesterol above 200 mg/dl (HR 4.03; $p < 0.01$), coronary artery disease (HR 9.87; $p < 0.01$) and history of myocardial infarction (HR 2.82; $p = 0.04$) (Table 2) could be identified as risk factors for MACE.

Table 1 Patients characteristics

	no MACE (n = 148)	MACE (n = 28)	all (n = 176)	p
General parameters				
Age [years]	50.76 ± 12.69	59.32 ± 8.75	52.12 ± 12.52	< 0.01
Sex (f/m)	70/78	7/21	77/99	0.03
Cardiovascular risk factors				
Arterial hypertension	94.56% (139/147)	96.43% (27/28)	94.86% (166/175)	1
Diabetes	12.16% (18/148)	21.43% (6/28)	13.64% (24/176)	0.23
Hyperlipidemia	20.95% (31/148)	21.43% (6/28)	21.02% (37/176)	0.95
Active smoking or smoking history	27.70% (41/148)	39.29% (11/28)	29.55% (52/176)	0.22
Pre-existing conditions				
Coronary disease	10.14% (15/148)	67.86% (19/28)	19.32% (34/176)	< 0.01
Prior myocardial infarction	5.41% (8/148)	25% (7/28)	8.52% (15/176)	< 0.01
Atrial fibrillation	9.46% (14/148)	32.14% (9/28)	13.07% (23/176)	< 0.01
Prior stroke	5.41% (8/148)	7.14% (2/28)	5.68% (10/176)	0.66
Peripheral arterial disease	7.43% (11/148)	25% (7/28)	10.23% (18/176)	0.01
Laboratory parameters				
Creatinine [mg/dl]	8 ± 2.73	7.42 ± 2.05	7.91 ± 2.64	0.29
eGFR [ml/min/m ²]	6.22 ± 2.39	6.46 ± 2.50	6.26 ± 2.40	0.64
NT-proBNP [pg/ml]	7878.28 ± 15,929.28	16,921.98 ± 26,485.87	9317.05 ± 18,231.27	0.09
Phosphate [mmol/l]	1.58 ± 0.50	1.44 ± 0.44	1.56 ± 0.49	0.17
Calcium [mmol/l]	2.34 ± 0.20	2.36 ± 0.20	2.35 ± 0.20	0.76
PTH [pg/ml]	228.66 ± 295.98	255.25 ± 226.60	232.25 ± 286.64	0.77
Cholesterol [mg/dl]	191.29 ± 48.18	210.96 ± 48.95	194.43 ± 48.69	0.06
HDL-Cholesterol [mg/dl]	45.97 ± 13.06	41.40 ± 11.15	45.33 ± 12.76	0.47
LDL-Cholesterol [mg/dl]	110 ± 45.33	122.80 ± 54.55	111.78 ± 46.06	0.57
Triglycerides [mg/dl]	208.34 ± 123.28	258.42 ± 224.53	216.19 ± 144.14	0.10
HbA1c [%]	5.36 ± 0.68	5.85 ± 0.48	5.43 ± 0.67	0.18
Uric acid [mg/dl]	4.29 ± 1.70	3.97 ± 1.49	4.24 ± 1.67	0.37
CRP [mg/l]	7.83 ± 19.19	7.64 ± 11.34	7.80 ± 18.17	0.96

To better characterize patients with high NT-proBNP levels, we compared patients with a pre-transplant NT-proBNP level > 4350 pg/ml to those below this threshold. Patients with NT-proBNP levels above the identified cut-off were of older age, suffered more often from atrial fibrillation and had lower triglyceride and uric acid level (Table 3).

NT-proBNP and survival

Patients developing MACE over time showed a 1- and 5-year survival rate of 73.95% [62.70%; 85.20%] and 25.88% [13.40%; 38.37%], respectively. 1- and 5-year survival rates for patients without MACE were 98.65% [97.70%; 99.60%] and 88.25% [84.98%; 91.51%] (log rank test: $p < 0.01$, see Fig. 2A).

To analyse if our identified NT-proBNP cut-off discriminates between patients at higher risk of death, we plotted Kaplan–Meier curves for patients with NT-proBNP below and above our threshold of 4350 pg/ml.

Patients with NT-proBNP levels above 4350 pg/ml had 1- and 5-year survival rates of 90.67% [87.04%; 94.30%] and 68.20% [61.38%; 75.03%], whereas patients with NT-proBNP levels below 4350 pg/ml had 1- and 5-year survival rates of 100% and 90.48% [86.68%; 94.27%] (log rank test: $p < 0.01$, see Fig. 2B).

To further address this finding, we stratified the patients according to their NT-proBNP levels in four groups based on the earlier identified cut-off value. NT-proBNP levels inversely correlated with survival (pooled log rank test: $p < 0.01$, see Fig. 2C).

NT-proBNP and MACE-free survival

Figure 3 illustrates MACE-free survival of all patients irrespective of their pre-transplant serum NT-proBNP levels. To analyze whether or not serum NT-proBNP levels correlate with MACE-free survival, we again plotted Kaplan–Meier curves for patients with NT-proBNP below and above the identified cut-off value

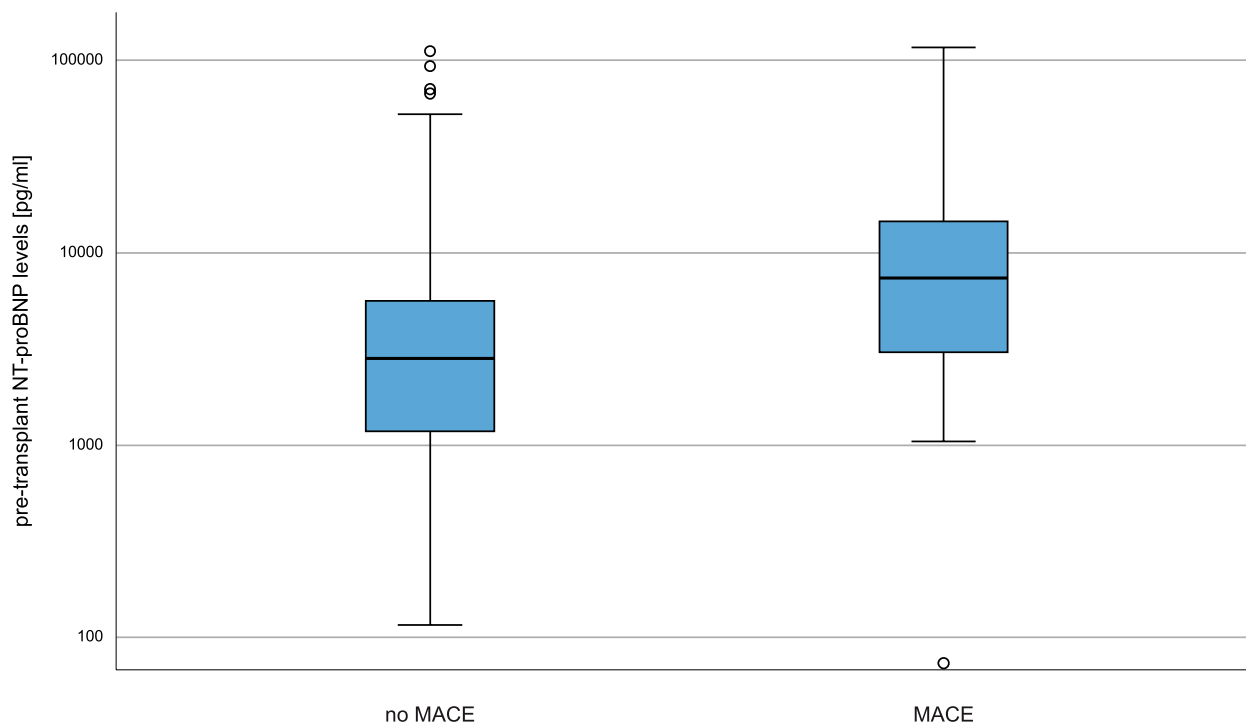


Fig. 1 Distribution of pre-transplant NT-proBNP levels

of 4350 pg/ml (Fig. 3B). 1- and 5-year MACE-free survival rates were calculated as 93.33% [90.90%; 95.77%] and 91.21% [88.04%; 94.38%] for patients with NT-proBNP < 4350 pg/ml and 78.82% [73.97%; 83.68%] and 74.68% [69.26%; 80.10%] for patients with NT-proBNP > 4350 pg/ml (log rank test for the Kaplan–Meier curves: $p < 0.01$). Again, we further stratified the patients according to their NT-proBNP levels in four groups (Fig. 3C). The corresponding Kaplan–Meier curves differed significantly (pooled log rank test: $p = 0.01$) and MACE-free survival inversely correlated with NT-proBNP levels.

1- and year MACE-free survival rates were the highest in patients with NT-proBNP ≤ 2175 pg/ml (both 93.94% [91%; 96,88%]) and the lowest in patients with NT-proBNP ≥ 6525 pg/ml (78.20% [72.10%; 84.30%] and 71.54% [64.34%; 78.74%], respectively). Patients with NT-proBNP between 2175 pg/ml and 4350 pg/ml (1- and 5-year MACE-free survival rates: 92.31% [88.04%; 96.57%] and 85.71% [78.23%; 93.20%], respectively) and between 4350 and 6525 pg/ml (1- and 5-year MACE-free survival rates: both 80% [72%; 88%]) showed intermediate MACE-free survival rates compared to the groups of low and high NT-proBNP (Fig. 3C).

Discussion

Pre transplant systolic dysfunction is associated with mortality after transplantation [17]. But even within the group of patients with preserved left ventricular ejection fraction, significant differences concerning the risk for future cardiovascular events exist. Therefore, biomarkers at the time of transplantation may identify patients at greater risk for cardiovascular complications and for death. In a recent study, NT-proBNP, renal function and the need for anti-hypertensive medication have been identified as stronger risk factors for mortality in a cohort of renal transplant recipients in comparison to the general population [13], but all laboratory parameters have been measured at various time points after transplantation. In our study aiming at the identification of a predictive factor, NT-proBNP was measured shortly before transplantation.

In our cohort of 176 adult renal transplant recipients with preserved left ventricular ejection fraction we demonstrated a significant association between pre-transplant NT-proBNP and post-transplant MACE and confirmed NT-proBNP as independent risk factor for MACE and survival. Our findings are in line with previous studies, which showed that greater elevations of NT-proBNP were associated with higher risk

Table 2 Risk factors of MACE

	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	p	HR	95% CI	p
General parameters						
Age > 56,60 y	3.79	1.71; 8.40	<0.01	2.47	1.05; 5.79	0.04
Male sex	2.46	1.05; 5.79	0.04	-	-	-
Cardiovascular risk factors						
Arterial hypertension	1.33	0.18; 9.83	0.78	-	-	-
Diabetes	1.87	0.76; 4.62	0.17	-	-	-
Hyperlipidemia	1.00	0.40; 2.46	0.99	-	-	-
Active smoking or smoking history	1.80	0.84; 3.87	0.13	-	-	-
Pre-existing conditions						
Coronary disease	12.89	5.77; 28.79	<0.01	9.87	3.97; 24.51	<0.01
Prior myocardial infarction	4.40	1.87; 10.39	<0.01	2.82	1.04; 7.63	0.04
Atrial fibrillation	3.18	1.43; 7.06	<0.01	-	-	-
Prior stroke	1.24	0.29; 5.24	0.77	-	-	-
Peripheral arterial disease	3.45	1.45; 8.16	<0.01	-	-	-
Laboratory parameters						
Creatinine [mg/dl]	0.93	0.80; 1.08	0.36	-	-	-
eGFR [ml/min/m ²]	1.02	0.88; 1.19	0.80	-	-	-
NT-proBNP > 4350 pg/ml	3.55	1.60; 7.88	<0.01	3.04	1.29; 7.14	0.01
Phosphate [mmol/l]	0.59	0.25; 1.37	0.22	-	-	-
Calcium [mmol/l]	1.21	0.18; 8.16	0.85	-	-	-
PTH [pg/ml]	1.00	1; 1	0.76	-	-	-
Cholesterol > 200 mg/dl	2.59	1.17; 5.73	0.02	4.03	1.70; 9.56	<0.01
HDL-Cholesterol [mg/dl]	0.98	0.90; 1.06	0.57	-	-	-
LDL-Cholesterol [mg/dl]	1.01	0.99; 1.02	0.48	-	-	-
Triglycerides [mg/dl]	1.00	1; 1	0.07	-	-	-
HbA1c [%]	2.24	0.63; 7.96	0.21	-	-	-
Uric acid [mg/dl]	0.89	0.69; 1.13	0.33	-	-	-
CRP [mg/l]	1.00	0.98; 1.02	1.00	-	-	-

for cardiovascular mortality [3]. Since NT-proBNP is released upon ventricle stretch as well as myocardial damage and is at least partially cleared by the kidneys, it is usually measured above thresholds in ESKD. This raises two main questions. Firstly, if a new biomarker stratification is needed especially for wait-listed patients, because the common thresholds do not apply in these patients. Secondly, how to interpret pre-transplant NT-proBNP results in patients after renal transplantation.

Here we could identify a pre-transplant NT-proBNP cut-off of 4350 pg/ml to predict MACE-free survival as well as overall survival in patients after renal transplantation. Therefore, NT-proBNP might help to identify renal transplant recipients at greater risk for cardiovascular mortality.

We further suggest that NT-proBNP as a widely available biomarker can be used for identification of patients at cardiovascular risk pre-transplantation regardless of their medical history or preexisting coronary artery

disease. In our cohort, one third of patients with a typical history did not develop MACE after kidney transplant, so that NT-proBNP measurement may help to stratify patients better. However, our identified cut-off value has to be validated in a larger cohort and a prospective study design.

The relatively low overall NT-proBNP value are most likely due to the inclusion of patients with preserved left ventricular ejection fraction. For patients with heart failure and reduced ejection fraction (HfrEF) NT-proBNP values are much higher, so that NT-proBNP is an established diagnostic and prognostic marker of congestive heart failure and left ventricular systolic dysfunction [18]. Therefore, it is essential for the use of NT-proBNP as a prognostic marker to define appropriate subgroups according to the heart function. Within our study, we do not have information on diastolic dysfunction or signs of cardiac hypertrophy leading to increased NT-proBNP levels. However, since BNP was not closely related to

Table 3 Comparison of cohorts with NT-proBNP above and below cut-off

	Pro-BNP ≤ 4350 pg/ml (n = 105)	Pro-BNP > 4350 pg/ml (n = 71)	all (n = 176)	p
General parameters				
Age [years]	50.24 ± 12.44	54.90 ± 12.20	52.12 ± 12.52	0.02
Sex (w/m)	42/63	35/36	77/99	0.22
Cardiovascular risk factors				
Arterial hypertension	48.02% (97/105)	49.64% (69/70)	48.68% (166/175)	0.32
Diabetes	11.76% (14/105)	12.35% (10/71)	12% (24/176)	0.89
Hyperlipidemia	17.32% (22/105)	17.44% (15/71)	17.37% (37/176)	0.98
Active smoking or smoking history	23.36% (32/105)	21.98% (20/71)	22.81% (52/176)	0.74
Pre-existing conditions				
Coronary disease	13.22% (16/105)	20.22% (18/71)	16.19% (34/176)	0.10
Prior myocardial infarction	7.08% (8/105)	8.97% (7/71)	7.85% (15/176)	0.60
Atrial fibrillation	5.41% (6/105)	19.32% (17/71)	11.56% (23/176)	< 0.01
Prior stroke	4.55% (5/105)	6.58% (5/71)	5.38% (10/176)	0.53
Peripheral arterial disease	7.08% (8/105)	12.35% (10/71)	9.28% (18/176)	0.16
Laboratory values				
Creatinine [mg/dl]	8.06 ± 2.74	7.69 ± 2.49	7.91 ± 2.64	0.37
eGFR [ml/min/m ²]	6.31 ± 2.21	6.17 ± 2.67	6.26 ± 2.40	0.70
Phosphate [mmol/l]	1.53 ± 0.47	1.60 ± 0.53	1.56 ± 0.49	0.37
Calcium [mmol/l]	2.35 ± 0.20	2.34 ± 0.19	2.35 ± 0.20	0.62
PTH [pg/ml]	186.97 ± 169.43	321.30 ± 423.70	232.25 ± 286.64	0.10
Cholesterol [mg/dl]	198.97 ± 40.86	187.76 ± 58.02	194.43 ± 48.69	0.15
HDL-Cholesterol [mg/dl]	44.83 ± 14.20	46.23 ± 10.21	45.33 ± 12.76	0.76
LDL-Cholesterol [mg/dl]	104.26 ± 34.83	125.08 ± 60.52	111.78 ± 46.06	0.27
Triglycerides [mg/dl]	236.79 ± 134.56	186.50 ± 153.09	216.19 ± 144.14	0.03
HbA1c [%]	5.36 ± 0.76	5.55 ± 0.51	5.43 ± 0.67	0.47
Uric acid [mg/dl]	4.50 ± 1.73	3.87 ± 1.52	4.24 ± 1.67	0.02
CRP [mg/l]	8.28 ± 21.75	7.08 ± 10.91	7.80 ± 18.17	0.67

diastolic dysfunction in a population based study, the presence of diastolic dysfunction would not be expected to bias our results considerably [19]. Up to date, there is a lack of published data regarding the relationship between NT-proBNP concentrations and diastolic dysfunction in ESKD patients [20]. In conclusion, we could demonstrate that especially in our cohort of relatively healthy patients with preserved left ventricular ejection fraction, pre-transplant NT-proBNP is a valuable tool to identify transplant recipients at high cardiovascular risk.

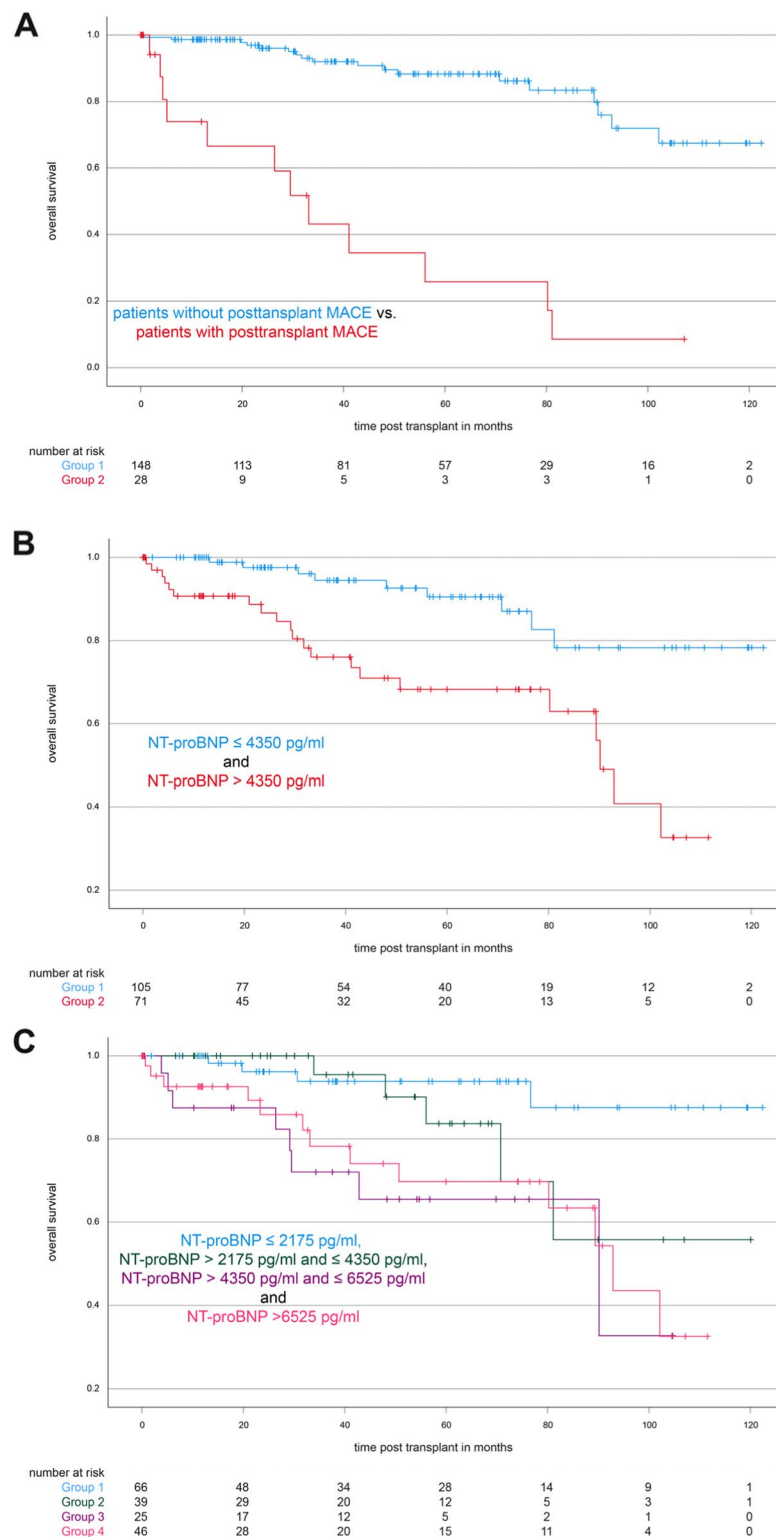
We found that extreme NT-proBNP values classified patients better than intermediate values. In studies comprising even larger number of patients, these less marked differences may become more prominent.

Although we cannot provide longitudinal data, analysis of NT-proBNP trajectory after renal transplantation might be of great interest. As demonstrated previously, an association of change in NT-proBNP at various time points and mortality is well established [21–23]. This effect was not limited to cohorts of dialysis patients. Also

in a cohort of patients with CKD 3–4, patients with the greatest change in NT-proBNP had the poorest survival [24].

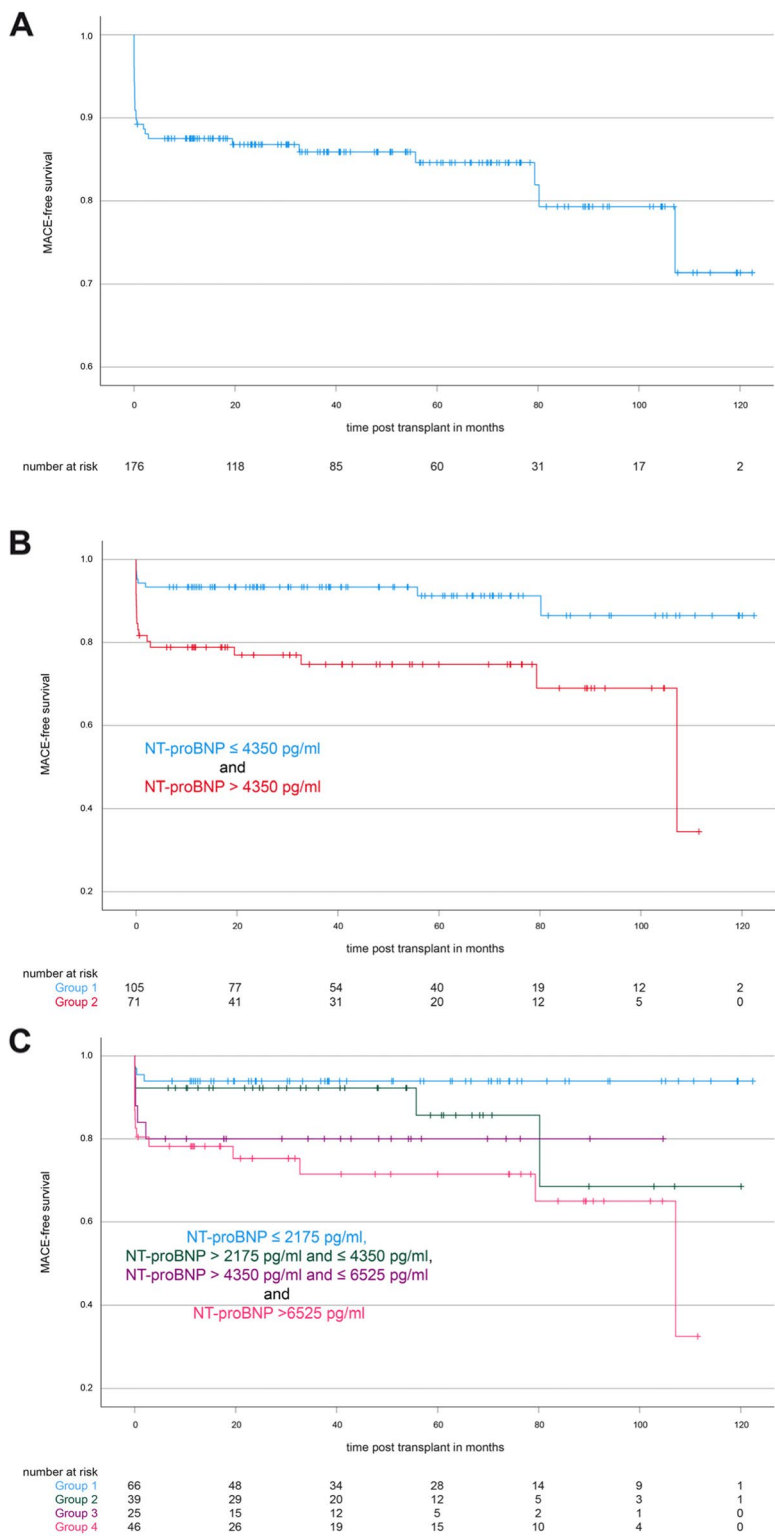
In our cohort, serum creatinine as well as creatinine-based eGFR did not show any difference between the groups of patients with and without MACE. Creatinine-based eGFR is of limited accuracy in describing residual renal function in ESKD patients. Interestingly, it has been shown that NT-proBNP had more influence on the difference in mortality between renal transplant recipients and the general population than creatinine clearance [13].

This is in line with a most recent published study of our group [25]. Pre-transplant residual renal function assessed by serum creatinine and serum cystatin C values were not significantly associated with MACE, whereas another biomarker of kidney function Beta-Trace protein (BTP) was. BTP has been demonstrated to be tightly associated with cardiovascular risk [26], which might explain these findings. In the cohort analyzed here, BTP



log rank test: all $p < 0.01$

Fig. 2 Overall survival. NT-proBNP and survival in a kidney transplantation cohort. **A** Kaplan–Meier curve of overall survival of patients with and without MACE; **B** survival of patients with NT-proBNP level lower or above 4350 pg/ml ($p = < 0.01$); **C** survival of patients with given NT-proBNP values ($p = < 0.01$)



log rank test: all $p < 0.01$

Fig. 3 MACE-free survival, NT-proBNP and incidence of MACE in a kidney transplantation cohort. **A** Kaplan–Meier curve of MACE-free survival in our cohort; **B** MACE-free survival of patients with NT-proBNP level lower or above 4350 pg/ml ($p = < 0.01$); **C** MACE-free survival of patients with given NT-proBNP values ($p = < 0.01$)

was not associated with cardiovascular risk (data not shown), most likely because only patients with preserved left ventricular ejection fraction were included.

Also limitations of our study should be mentioned. Due to the observational design of our study, we cannot draw conclusions about the causal associations between pre-transplant NT-proBNP levels and post-transplant MACE as well as survival. Blood was taken immediately before transplantation, however we cannot rule out moderate differences with regard to excess volume depending on the last dialysis treatment, which might have taken place from 0 up to 72 h before transplantation. All patients were treated to the standard of care, so that an imbalance in cardioprotective medication between the NT-proBNP groups, which was not related to the previous diagnosis of cardiovascular disease, is unlikely. However, no prescribing information is available.

In conclusion, pre-transplant serum NT-proBNP as a widely available biomarker is associated with post-transplant MACE as well as survival. Interpretation of pre transplant NT-proBNP might help to identify patients at high risk for an undesired outcome.

Acknowledgements

Not applicable.

Authors' contributions

SS: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript. DP: analysis and interpretation of data. CEK: acquisition, analysis and interpretation of data, RW: acquisition and analysis of data, LW: acquisition and analysis of data, SR: acquisition and analysis of data, DB: acquisition and analysis of data, CS: analysis and interpretation of data, reviewing the manuscript, SvV: analysis and interpretation of data, reviewing the manuscript, PL: analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript, RPW: study concept and design, interpretation of data, administrative support, study supervision. The author(s) read and approved the final manuscript.

Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. No funding was received for conducting this study.

Availability of data and materials

The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Ethics approval and consent to participate

The study and waiver of the informed consent was approved by the local ethic committee (Ethics Committee of the Medical Faculty, University Hospital Bonn, University of Bonn, Building 74/4th floor, Venusberg-Campus 1, 53105 Bonn, Germany, Number of ethic committees statement concerning this study: 159/17). The study was conducted according to the principles of the declaration of Helsinki.

We confirm that no organs were obtained from prisoners. Deceased donor organs were allocated by Eurotransplant. Living donor kidney transplantation was conducted at the university hospital of Bonn.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interest

The authors declare no competing interests.

Received: 31 December 2022 Accepted: 6 February 2023

Published online: 11 February 2023

References

1. Wolfe RAV, Milforf E, Ojo A, Ettenger R, Agodoa L, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999;341(23):1725–30.
2. Lentine KL, Brennan DC, Schnitzler MA. Incidence and predictors of myocardial infarction after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(2):496–506. <https://doi.org/10.1681/asn.2004070580>.
3. Harrison TG, Shukalek CB, Hemmelgarn BR, Zarnke KB, Ronksley PE, Irargorri N, et al. Association of NT-proBNP and BNP with future clinical outcomes in patients With ESKD: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2020;76(2):233–47. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.12.017>.
4. Vickery S, Price CP, John RI, Abbas NA, Webb MC, Kempson ME, et al. B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy. *Am J Kidney Dis.* 2005;46(4):610–20. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.06.017>.
5. Gangji AS, Helal BA, Churchill DN, Brimble KS, Margetts PJ. Association between n-terminal propeptide b-type natriuretic peptide and markers of hypervolemia. *Perit Dial Int.* 2008;28(3):308–11. <https://doi.org/10.1177/089686080802800319>.
6. Niizuma S, Iwanaga Y, Yahata T, Miyazaki S. Renocardiovascular biomarkers: from the perspective of managing chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Front Cardiovasc Med.* 2017;4. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00010>.
7. Jha V, Sundqvist S, Larson T, Cauliez B, Bauer F, Dumont A, et al. Clinical value of natriuretic peptides in predicting time to dialysis in stage 4 and 5 chronic kidney disease patients. *Plos One.* 2016;11(8):e0159914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159914>.
8. Jha F, Wu Y, Tang L, Zhu W, Chen F, Xu T, et al. Brain natriuretic peptide for prediction of mortality in patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2012;16(3):R74. <https://doi.org/10.1186/cc11331>.
9. Herzog CA, Pearce LA, Murakami MM, Apple FS. Multi-biomarker risk stratification of n-terminal pro-b-type natriuretic peptide, high-sensitivity c-reactive protein, and cardiac troponin t and i in end-stage renal disease for all-cause death. *Clin Chem.* 2004;50(12):2279–85. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.035741>.
10. Srisawasdi P, Jacobs LH, Mingels AM, Wodzig WK, van Dieijen-Visser MP, Kooman JP, et al. Renal dysfunction, hemodialysis, and the NT-proBNP/BNP ratio: the authors' reply. *Am J Clin Pathol.* 2010;134(3):516–7. <https://doi.org/10.1309/ajcpizhtdsr2oggg>.
11. Anwaruddin S, Lloyd-Jones DM, Baggish A, Chen A, Krauser D, Tung R, et al. Renal function, congestive heart failure, and amino-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(1):91–7. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.08.051>.
12. Wang AY-M, Lai K-N. Use of cardiac biomarkers in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19(9):1643–52. <https://doi.org/10.1681/asn.2008010012>.
13. Oterdoom LH, de Vries APJ, van Ree RM, Gansevoort RT, van Son WJ, van der Heide JJH, et al. N-terminal pro-b-type natriuretic peptide and mortality in renal transplant recipients versus the general population. *Transplantation.* 2009;87(10):1562–70. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181a4bb80>.
14. Heringlake M, Heide C, Bahlmann L, Eichler W, Pagel H, Schmucker P, et al. Effects of tilting and volume loading on plasma levels and urinary excretion of relaxin, NT proANP and NT proBNP in male volunteers. *J Appl Physiol.* 2004;97:113–79.
15. Schou M, Dalsgaard MK, Clemmesen O, Dawson EA, Yoshiga CC, Nielsen HB, et al. Kidneys extract BNP and NT-proBNP in healthy young men. *J Appl Physiol.* 2005;99(5):1676–80. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00641.2005>.

16. Hausken J, Klingenberg O, Morkrid L, Rollag H, Foss A, Midtvedt K. Elevated troponin I and NT-proBNP at the time of transplantation may predict a major adverse cardiac event in the early postoperative period after renal transplantation. *Transplantation*. 2012;94(2):e13–5. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31825b75df>.
17. Siedlecki A, Foushee M, Curtis JJ, Gaston RS, Perry G, Iskandrian AE, et al. The impact of left ventricular systolic dysfunction on survival after renal transplantation. *Transplantation*. 2007;84(12):1610–7. <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000295748.42884.97>.
18. McCullough PA, Duc P, Omland T, McCord J, Nowak RM, Hollander JE, et al. B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the breathing not properly multinational study. *Am J Kidney Dis*. 2003;41(3):571–9. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2003.50118>.
19. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC, plasma brain natriuretic peptide to detect preclinical ventricular systolic or diastolic dysfunction. *Circulation*. 2004;109(25):3176–81. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000130845.38133.8f>.
20. Memon L, Spasojevic-Kalimanovska V, Stanojevic NB, Kotur-Stevuljevic J, Simic-Ogrizovic S, Giga V, et al. Are levels of NT-proBNP and SDMA useful to determine diastolic dysfunction in chronic kidney disease and renal transplant patients? *J Clin Lab Anal*. 2013;27(6):461–70. <https://doi.org/10.1002/jcla.21628>.
21. Leuchte HH, Baumgartner RA, Nounou ME, Vogeser M, Neurohr C, Trautnitz M, et al. Brain natriuretic peptide is a prognostic parameter in chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173(7):744–50. <https://doi.org/10.1164/rccm.200510-1545OC>.
22. Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Benedetto FA, Parlongo S, Cataliotti A, et al. Diagnostic potential of cardiac natriuretic peptides in dialysis patients. *Kidney International*. 2001;59:1559–66.
23. Nakatni T, Naganuma T, Masuda X, Uchida J, Suimura T, Sugimura K. Significance of brain natriuretic peptides in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Int J Mol Med*. 2002;10:457–61.
24. Roberts MA, Srivastava PM, Macmillan N, Hare DL, Ratnaik S, Sikaris K, et al. B-type natriuretic peptides strongly predict mortality in patients who are treated with long-term dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(4):1057–65. <https://doi.org/10.2215/cjn.05151107>.
25. Schwab S, Pörner D, Kleine CE, Werberich R, Werberich L, Reinhard S, et al. Pre-transplant serum beta trace protein indicates risk for post-transplant major cardiac adverse events. *Nephrology*. 2022. <https://doi.org/10.1111/nep.14131>.
26. White CA, Ghazan-Shahi S, Adams MA. beta-Trace protein: a marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis*. 2015;65(1):131–46. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.06.038>. PubMed PMID: 25446025.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



4. Diskussion

Die residuale Nierenfunktion ist der Entfernung verschiedener Moleküle mit mittlerer und großer Molekülgröße durch Dialyseverfahren überlegen. Die Dialysequalität wird routinemäßig mithilfe von Kt/V_{urea} beurteilt, das die fraktionelle Clearance von Harnstoff aus dem Körper während der Dialyse widerspiegelt (National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practical Guidelines für Hemodialysis Adequacy). Die alleinige Ausrichtung am Kt/V_{urea} ist dahingehend problematisch, dass eine alleinige Orientierung an der Harnstoff-Clearance Implikationen auf die Clearance der Mittelmoleküle nicht abbilden kann.

Um dieses Problem ohne die alltagsuntaugliche Urinsammlung zu adressieren, wurden dialysespezifische Gleichungen auf Basis von β_2 – Mikroglobulin, Cystatin C und Beta-Trace Protein oder einer Kombination von zwei dieser Moleküle entwickelt, um die residuale Nierenfunktion abschätzen zu können (Shafi et al., 2016 ; Wong et al., 2016). Die Clearance dieser Biomarker werden jedoch unterschiedlich während der Hämodialysebehandlung abhängig der verwendeten Dialysemembran oder der Dialysemodalität beeinflusst. β_2 – Mikroglobulin und Cystatin C werden mittels High-Flux-Hämodialyse und Hämodialfiltration (Krieter et al., 2010 ; Lindström et al., 2008 ; Donadio, et al., 2017) sowie Peritonealdialyse (Krishnamurthy et al., Bammens et al., 2003 ; Steubl et al., 2016) entfernt. Zu der Elimination von Beta-Trace Protein während der Hämodialyse- und Hämodiafiltrationsbehandlung wurden auf den ersten Blick widersprüchliche Daten veröffentlicht (Lindström et al., 2008 ; Donadio et al., 2017 ; Gerhardt et al., 2008 ; Schwab et al., 2018).

Daten zur Entfernung von Beta-Trace Protein bei Peritonealdialysepatienten wurden bislang in zwei Studien erhoben (Bagnoux et al. 2020 ; See et al., 2021).

Beta-Trace Protein in Peritonealdialysepatienten

In einer Kohorte von Patienten unter Peritonealdialyse korrelierten die Serum Beta-Trace-Protein-Werte gut mit etablierten Serumbiomarkern der Nierenfunktion wie Kreatinin, Cystatin C und Kreatinin-Clearance. Ausschließlich Beta-Trace Protein zeigte im Gegensatz zu den anderen Biomarkern eine hohe renale Elimination, die die peritoneale Elimination überstieg. Die anderen untersuchten Biomarker wurden überwiegend peritoneal eliminiert. Serum Beta-Trace Protein Konzentrationen waren in der Gruppe der Patienten mit Anurie konsekutiv höher. Die Aussagekraft dessen wird jedoch durch teilweise erhebliche Unterschiede der Dialysedosierung in der Kohorte eingeschränkt.

Bei Peritonealdialysepatienten ist die peritoneale Clearance kleiner Moleküle wie Kreatinin oder Harnstoff überwiegend abhängig der Anzahl der Dialysatwechsel. Im Gegensatz dazu ist

die peritoneale Clearance mittlerer Moleküle wie Beta-Trace Protein maßgeblich von der Verweildauer des Dialysates abhängig (Kim et al., 2001).

Eine frühere Studie in Peritonealdialysepatienten konnte keine Entfernung von Beta-Trace Protein zeigen (Bagnoux et al., 2020). Diese Studie ist jedoch von der Patientenkohorte nicht mit unserer Studienkohorte vergleichbar, da die Kohorte nur zwei CAPD-Patienten (alle anderen Patienten CCPD) umfasste, wohingegen unsere Studie nur aus CAPD-Patienten bestand.

Die peritoneale Elimination ist wahrscheinlich abhängig von der Peritonealdialyse-Modalität und nimmt mit längerer Verweildauer des Dialysats zu. Aufgrund der Überlegenheit von Beta-Trace Protein gegenüber anderen etablierten Biomarkern der Nierenfunktion wie Kreatinin, Harnstoff und Cystatin C, erscheint Beta-Trace Protein, zumindest bei CAPD Patienten als zuverlässiger Marker zur Einschätzung der residualen Nierenfunktion bei Peritonealdialysepatienten.

Obwohl die Eliminationsrate glomerulärer Biomarker von mehreren Faktoren abhängt, ist die molekulare Masse ein Faktor von herausragender Bedeutung für die Elimination über Membranen. Die Molekülmasse von Beta-Trace Protein ist größer als die von Cystatin C, was teilweise erklären kann, warum die peritoneale Clearance von Cystatin C im Vergleich zu Beta-Trace Protein in unserer Studie höher war.

In der vorgelegten Studie wurden ebenfalls longitudinale Daten für den Zusammenhang zwischen Beta-Trace Protein Serumkonzentrationen und der residualen Diurese während eines Beobachtungszeitraumes von mindestens 12 Monaten präsentiert. Im Gegensatz zu den anderen Biomarkern korrelierte die Veränderung der Beta-Trace Protein Serumkonzentrationen umgekehrt und signifikant mit der Veränderung der Diurese während des Beobachtungszeitraumes. Ähnliche Ergebnisse konnten für die Korrelation zwischen dem Anstieg des Serum Beta-Trace Proteins und dem Rückgang der residualen Kreatinin-Clearance im Zeitverlauf gezeigt werden.

Unsere Ergebnisse stimmen mit zwei anderen Studien überein, die darauf hinweisen konnten, dass Serum Beta-Trace Protein anderen Serummarkern zur Bestimmung der Restnierenfunktion bei terminaler Nierenkrankheit überlegen sein kann (See et al., 2021 ; Kim et al., 2001).

Beta-Trace Protein in Hämodialysepatienten

Mit der vorgelegten Arbeit zur Analyse der Elimination von Beta-Trace Protein in Hämodialysepatienten konnten wir in einem systematischen Ansatz zeigen, dass die angewandten Dialyseverfahren die Beta-Trace Protein Werte mit Ausnahme der postdilutions-

HDF nicht signifikant beeinflussen. Dennoch beträgt selbst bei Verwendung einer postdilutions-HDF die maximale Elimination von Beta-Trace Protein nur ca. 20%. Unveröffentlichte Daten ergaben, dass β_2 – Mikroglobulin und Cystatin C unabhängig der Behandlungsmethode und des verwendeten Dialysefilters hohe Eliminationsraten gezeigt haben, während nur die postdilutions-HDF Beta-Trace Protein relevant entfernen konnte.

Dies steht im Einklang mit einer besseren Entfernung von Proteinen im Bereich von 12-33 kDalton durch postdilutions-HDF im Vergleich zu prädilutions-HDF (Kim, 1994 ; Ono et al., 1994 ; Ahrenholz et al., 1998). Um die Heterogenität der Dialysemembranen auszugleichen, führten wir zusätzlich einen Vergleich verschiedener Dialysemembranen bei jedem Patienten durch. Die beobachteten Eliminationsraten der Biomarker waren unabhängig der angewendeten Dialysemembranen konsistent (unveröffentlichte Daten).

In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass mit steigender Permeabilität der Dialysemembran auch die Elimination von Beta-Trace Protein steigt und damit die Verlässlichkeit als Marker der Restnierenfunktion sinkt. In diese Studie wurden Super High-Flux Membranen mit einem hohen Ultrafiltrationskoeffizienten eingeschlossen, die zu vergleichbaren Eliminationsraten wie Cystatin C und β_2 – Mikroglobulin geführt haben (Donadio et al., 2017).

Ferner wurde bei Dialysepatienten gezeigt, dass Serumkonzentrationen von Beta-Trace Protein umgekehrt proportional zu Alter, Körperoberfläche und GFR ist. In Übereinstimmung mit unseren erhobenen Daten berichten die Autoren auch von einem Unterschied zwischen Patienten, die mit Hämodialyse und Hämodiafiltration behandelt wurden, was unterstreicht, dass die Clearance von Beta-Trace Protein mit konvektiven Therapien assoziiert ist (Wong et al., 2016). Ebenso ergab eine andere Studie keinen Zusammenhang zwischen Serumkonzentrationen von Beta-Trace Protein, Kt/V_{urea} und der durchschnittlichen Dauer einer Dialysesitzung (Shafi et al., 2012).

In Anbetracht der häufig vorhandenen chronischen Inflammation bei Dialysepatienten ist wichtig, dass Beta-Trace-Protein nicht mit C-reaktiven Protein korreliert, was wiederum darauf hindeutet, dass entzündliche Erkrankungen keinen signifikanten Einfluss auf Serumspiegel von Beta Trace Protein haben (Shafi et al., 2012).

Da Beta-Trace Protein durch die Nierenersatztherapie nicht wesentlich eliminiert wird und weitgehend unabhängig der Determinanten der Nierenersatztherapie ist, analysierten wir zusätzlich seine Beziehung zu der gemittelten Kreatinin-/ Harnstoff-Clearance und der residualen Diurese. Die Beta-Trace Protein Serumkonzentration korrelierte mit der gemittelten

Kreatinin-/ Harnstoff-Clearance, was auf eine Assoziation von Beta-Trace Protein im Serum mit der residualen Nierenfunktion bei Hämodialysepatienten hindeutet. Ähnlich einer vorausgehenden Studie (Gerhardt et al., 2008) konnten auch wir eine inverse Korrelation der residualen Diurese mit Beta-Trace Protein, aber auch Cystatin C und β_2 – Mikroglobulin, nachweisen.

DKK-3 in Peritonealdialysepatienten

Biomarker der tubulären Funktion sind bei dialysepflichtigen Patienten wenig untersucht. Es gibt nur eine Studie, die den Zusammenhang von DKK-3-Spiegeln im Urin mit dem Verlust der residualen Nierenfunktion untersucht hat. Es konnte gezeigt werden, dass eine höhere DKK-3 Exkretion mit dem jährlichen Abfall des Kt/V_{urea} korrelierte (Torigoe et al., 2021), wengleich der Beobachtungszeitraum der Studie nur 12 Monate betrug und in der Analyse keine Mittelmoleküle analysiert wurden.

Bei Nierenkrankheit ist DKK-3 an der Entstehung einer tubulointerstitiellen Fibrose beteiligt, die für die Prognose der Nierenkrankheit von großer Bedeutung ist (Rodriguez-Iturbe et al., 2005). Unsere vorgelegten Daten zeigen nun eine erste detaillierte Beschreibung der peritonealen und renalen DKK-3 Ausscheidung bei Peritonealdialysepatienten. Die peritoneale Elimination ist dabei gering. Interessanterweise fanden wir höhere peritoneale DKK-3 Spiegel bei Patienten unter CAPD als bei CCPD, was mit den längeren Verweilzeiten zusammenhängen könnte. DKK-3 war bei CAPD zudem mit dem Gesamtvolumen bei CAPD assoziiert, was an die bekannte kardiale DKK-3 Expression bei Herzinsuffizienz erinnert (Piek et al., 2020).

Eine RAAS-Blockade ist vorteilhaft für den Erhalt der Restnierenfunktion bei Peritonealdialyse (Phatthanasobhon et al., 2019). Wir konnten in unserer Studie zeigen, dass Patienten unter RAAS-Blockade niedrigere Urin-DKK-3 Werte aufweisen.

Die Wirkung von ACE-Hemmern und Angiotensin-Rezeptor-Blockern bei der Verlangsamung des Fortschreitens von Patienten mit chronischer Nierenkrankheit ohne Dialyse ist gut belegt. Der Schutz durch ACE-Hemmer scheint dabei zusätzlich zur Blutdruckkontrolle zu wirken (Moist et al, 2000 ; Suzuki at al., 2004). Eine Metaanalyse berichtete, dass die langfristige Anwendung (>12 Monate) von ACE-Hemmern oder Angiotensin-Rezeptor-Blockern im Vergleich zu anderen blutdrucksenkenden Medikamenten zusätzliche und ähnliche Vorteile bei der Erhaltung der residualen Nierenfunktion aufweist, die über die antiproteinurische Wirkung hinausgehen (Zhang et al., 2014).

Es kann daher hypothetisiert werden, dass reduzierte DKK-3 Spiegel im Urin auch bei Peritonealdialyse verminderten tubulären Stress widerspiegeln und möglicherweise die Entstehung von interstitieller Fibrose reduziert ist.

Ob DKK-3 im Urin bei Patienten unter Peritonealdialyse den Erhalt der Restnierenfunktion voraussagen kann, muss prospektiv hinsichtlich Diurese und Clearance gelöster Stoffe untersucht werden.

Elimination renaler Funktionsmarker bei kontinuierlicher Nierenersatztherapie

In den letzten Jahren sind neben DKK-3 viele neue Biomarker zur Diagnostik der akuten Nierenkrankheit eingeführt worden. In der klinischen Praxis werden Diurese, Kreatinin und Cystatin C verwendet, um die Erholung der Nierenfunktion bei Patienten mit akuter Nierenfunktionseinschränkung zu beurteilen. Ihre Verwendung während einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie ist jedoch schwierig, da Kreatinin und Cystatin C durch die Nierenersatztherapie entfernt werden können (Kiers et al., 2011 ; Royackers et al., 2011) und das Urinvolumen von der Ultrafiltration und der Gabe von Diuretika beeinflusst werden kann (Uchino et al., 2009). Die Eignung des Serumkreatinins ist bei Patienten auf Intensivstationen noch schlechter, insbesondere aufgrund des erhöhten Muskelstoffwechsels und der reduzierten Proteinaufnahme (Coca et al., 2008).

Studien haben zur Diagnostik einer akuten Nierenkrankheit unter anderem Serum Cystatin C (Herget-Rosenthal et al., 2004), Interleukin-18 (Parikh et al., 2005) oder neutrophiles Gelatinase-assoziiertes Lipocalin (NGAL) (Mishra et al., 2005) vorgeschlagen. Im Vergleich zum Serumkreatinin und Cystatin C hat NGAL ein höheres Molekulargewicht und wird durch eine kontinuierliche Nierenersatztherapie nur gering entfernt (Shao et al., 2017 ; de Geus et al., 2010 ; Schilder et al., 2014). Serum-NGAL wurde als Prädiktor einer erfolgreichen Beendigung der kontinuierlichen Nierenersatztherapie bei nichtseptischen AKI-Patienten identifiziert (Chen et al., 2019). Eine weitere aktuelle Studie ergab jedoch, dass NGAL kein unabhängiger Prädiktor für eine erfolgreiche Entwöhnung von der kontinuierlichen Nierenersatztherapie ist (Kim et al., 2018). Der größte Unterschied der untersuchten Kohorten beider Studien ist die fehlende Unterteilung in Sepsis- und Nicht-Sepsis Kollektive. Es ist daher wahrscheinlich, dass der prädiktive Wert von NGAL nur bei der Gruppe der nicht-septischen Patienten vorhanden ist, da er nach ischämischen oder toxischen Schäden freigesetzt wird. Bis heute ist NGAL im klinischen Alltag nicht repräsentiert.

In unserer vorgelegten Studie zur Analyse von Beta-Trace Protein unter kontinuierlicher Nierenersatztherapie wurden Patienten mit heterogenen Akutkrankheiten aufgenommen, sodass die Ergebnisse allgemeine Gültigkeit besitzen, wenngleich die Kohorte klein war.

Wir konnten in der vorgelegten Studie nachweisen, dass Serumkonzentrationen von Beta-Trace Protein innerhalb von 72 Stunden nach Beginn einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie um etwa 25% abnehmen und Beta-Trace Protein damit als einfacher und vielversprechender Biomarker zur Beurteilung des Verlaufes einer akuten Nierenfunktionseinschränkung bei Patienten unter kontinuierlicher Nierenersatztherapie dienen kann.

Basierend auf den nachgewiesenen Eliminationsraten scheinen nur Beta-Trace Protein und Cystatin C hierzu geeignet zu sein. β_2 – Mikroglobulin zeigte in unserer Studie hohe Eliminationsraten und ist unter anderem bei Entzündungen, Mangelernährung und malignen Erkrankungen erhöht (Roumelioti et al., 2016) und neigt zusätzlich dazu, reduzierte Serumkonzentrationen unter Steroidbehandlungen aufzuweisen (Bökenkamp et al., 2002). Cystatin C ist im Vergleich zu Kreatinin weniger abhängig von Alter, Geschlecht, Muskelmasse und Leberfunktion (Delanaye et al., 2014 ; Leelahavanichkul et al., 2014 ; Ostermann et al., 2016) und wurde zum Zeitpunkt der Beendigung einer kontinuierlichen Nierenersatztherapie als Prädiktor für die erfolgreiche Entwöhnung bei Intensivpatienten identifiziert (Kim et al., 2018). Es wurde jedoch auch berichtet, dass Cystatin C-Werte bei einigen Patienten mit maligner Erkrankung, Schilddrüsenfunktionsstörungen, Rauchern und unter Steroidbehandlung verändert sind (Kos et al., 1998 ; Fricker et al., 2003 ; Knight et al., 2004). Bei Patienten unter Hämodialyse zeigt Cystatin C eine beträchtliche nicht-renale Clearance, die die renale Clearance bei weitem übersteigt (Sjöström et al., 2005). Ob dies auch bei akuter Nierenfunktionseinschränkung der Fall ist, muss noch untersucht werden. Unabhängig dieser Überlegungen wurde Cystatin C in unserer Studie nach 72 Stunden zu mehr als 30% eliminiert, was seine Anwendbarkeit für wiederholte Beurteilungen der Nierenfunktion weiter einschränkt.

Aufgrund der kleinen Kohorte lassen sich keine allgemeingültigen Rückschlüsse ziehen. Von den bekannten und hier diskutierten glomerulären Funktionsmarkern erscheint Beta-Trace Protein dennoch aufgrund der vergleichsweise niedrigen Eliminationsrate vielversprechend. Aufgrund der heterogenen Pathophysiologie der akuten Nierenkrankheit auf Intensivstationen ist eine rein glomeruläre Betrachtung unzureichend. Für die komplementäre Bewertung der Tubulusfunktion ist es wahrscheinlich, dass in dem pathophysiologischen Kontinuum von

tubulären Schaden, tubulärer Inflammation, IF/TA und fehlender tubulärer Reserve jeweils unterschiedliche Marker bedeutsam sind.

Beta-Trace Protein und kardiovaskuläres Outcome nach Nierentransplantation

Die Retention harnpflichtiger Substanzen hat durch die Vermittlung von endothelialer Dysfunktion, die Aufrechterhaltung einer Inflammation sowie eine erhöhte Thrombogenität (Valkenburg et al., 2021) ungünstige Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System.

Beta-Trace Protein beeinflusst die Pathophysiologie kardiovaskulärer Erkrankungen. Es wurde beschrieben, dass Beta-Trace Protein vor Atherogenese, Inflammation, Thrombosierung und vaskulärer Endothelzellapoptose schützt (White et al., 2015 ; Orenes-Pinero et al., 2013). In Bezug auf die Assoziation von Beta-Trace Protein mit kardialen Endpunkten gibt es heterogene Daten. Bei Patienten, die aufgrund einer dekompensierten Herzinsuffizienz stationär behandelt wurden, waren höhere Beta-Trace Protein Spiegel im Blut signifikant mit einem schlechteren Gesamtüberleben nach einem Jahr und dem Risiko einer erneuten kardialen Dekompensation assoziiert (Manzano-Fernandez et al., 2011). Patienten mit Vorhofflimmern und Antikoagulation weisen bei erhöhten Beta- Trace Protein Serumkonzentrationen, unabhängig klassischer Risikofaktoren gemäß CHAD2DS2-VASc, auch ein erhöhtes Risiko für embolische Ereignisse und Mortalität auf (Roldan et al., 2014). Konträr hierzu konnte bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom keine prognostische Assoziation mit Beta-Trace Protein nachgewiesen werden (Sert et al., 2020).

In einer Kohorte aus Hämodialysepatienten konnte ein Zusammenhang zwischen Beta-Trace Protein im Serum und der Gesamtüberlebensrate nach drei Jahren hergestellt werden (Huang et al., 2024).

Erhöhte Beta-Trace Protein Werte sind mit kardiovaskulären Risiken verbunden, die sich jedoch nicht ausschließlich auf den bekannten Zusammenhang zwischen GFR und MACE zurückführen lassen (White et al., 2015).

Da Beta-Trace Protein eine verlässliche Beurteilung der Restnierenfunktion bei akuter, chronischer und terminaler Nierenkrankheit ermöglichen kann und nur abhängig der Dialysemodalität moderat dialysierbar ist, erscheint es vor allem aufgrund der Assoziation mit kardialen Endpunkten eine sinnvolle diagnostische Ergänzung zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit terminaler Nierenkrankheit.

In unserer Kohorte von 384 erwachsenen Nierentransplantationsempfängern konnten wir einen signifikanten Zusammenhang zwischen Serumkonzentrationen von Beta-Trace Protein

unmittelbar vor der Transplantation und MACE nach der Transplantation nachweisen. Andere Nierenfunktionsmarker waren hingegen nicht mit MACE assoziiert. Beta-Trace Protein konnte in der multivariablen Analyse als unabhängiger Risikofaktor für MACE identifiziert werden. Das Risiko für ein MACE stieg dabei schrittweise mit höheren Beta-Trace Protein Werten an.

Das ideale kardiale Screening von nierentransplantierten Patienten ist präzise, nicht-invasiv und kostengünstig. Unmittelbar vor der Transplantation sind die Beta-Trace Protein Werte nicht das Ergebnis bekannter kardiovaskulärer Risikofaktoren oder früherer MACE, da wir zum Zeitpunkt der Blutentnahme keinen Unterschied zwischen den Gruppen mit unterschiedlichen Beta-Trace Protein Werten in Bezug auf vorbestehende MACE oder kardiovaskuläre Risikofaktoren festgestellt haben.

Es ist wahrscheinlich, dass sich nach der Transplantation die negativen Auswirkungen der terminalen Nierenkrankheit auf das Herz-Kreislauf-System verringert, sodass die Bedeutung von Beta-Trace Protein als Ausdruck kardialer Gesundheit steigt.

Basierend auf den vorgelegten Ergebnissen erscheint Beta-Trace Protein aufgrund seiner guten Korrelation mit der verbleibenden Nierenfunktion und der Assoziation zur kardiovaskulären Gesundheit als ein guter Biomarker für Patienten mit terminaler Nierenkrankheit, aber auch wertvoll in der Einschätzung des kardiovaskulären Risikos sowohl bei Wartelisten- als auch bei transplantierten Patienten.

Um einen potenziellen Biomarker bei Dialysepatienten zu identifizieren, muss berücksichtigt werden, dass der Serumspiegel im interdialytischen Intervall Schwankungen unterliegen kann. Daher sollte der Biomarker nicht durch die Nierenersatztherapie beeinflusst werden. Wir haben gezeigt, dass die Serumkonzentrationen von Beta-Trace Protein nicht durch Hämodialyse, sondern ausschließlich durch postdilutions-HDF reduziert wird und dass Beta-Trace Protein ein wertvoller Marker in der Einschätzung der Restnierenfunktion bei Hämodialyse- und Peritonealdialysepatienten ist (Schwab et al., 2018 ; Schwab et al., 2020 ; Gerhardt et al., 2008 ; Lindstrom et al., 2008).

In unserer Studie beziehen wir uns auf Dialysepatienten, die zu einer Transplantation gelistet sind und daher eine Kohorte darstellt, die im Vergleich eine etwas geringere Krankheitslast aufweist. Weitere Störfaktoren wie Inflammationsniveau, Lebensstil und Ernährung, aber auch sportliche Aktivität und genetische Prädisposition konnten nicht berücksichtigt werden. Ebenso haben wir keine Daten zur Medikation sowie kardialen Belastungsuntersuchungen.

Ungeachtet dessen wird ein einzelner Biomarker kaum in der Lage sein, kardiovaskuläre Ereignisse vorherzusagen. Eine Implementierung von Beta-Trace Protein in die klinische

Routine für Patienten auf der Warteliste zur Nierentransplantation, um Intervalle der kardiovaskulären Nachuntersuchungen anzupassen und eine strengere Kontrolle der Patienten mit hohem kardiovaskulären Risiko zu erreichen, aber auch als Biomarker unmittelbar zum Transplantationszeitpunkt, ist basierend auf den vorgelegten Daten sinnvoll, um Patienten mit Risiko nach der Transplantation strenger zu überwachen.

NT-proBNP und kardiovaskuläres Outcome nach Nierentransplantation

Neben Beta-Trace Protein haben wir auch NT-proBNP in einer Kohorte von nierentransplantierten Patienten analysiert. Höhere NT-proBNP Werte sind mit diastolischer Dysfunktion (Memon et al., 2013) und reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (Huang et al., 2021) assoziiert. Wir haben ausschließlich Patienten eingeschlossen, die eine erhaltene linksventrikuläre Ejektionsfraktion aufwiesen. Wir konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen NT-proBNP Konzentrationen, die unmittelbar vor der Transplantation bestimmt wurden, und MACE nach der Transplantation nachweisen und NT-proBNP als unabhängigen Risikofaktor für MACE und Überleben identifizieren.

Neben unserer Studie gibt es eine weitere, die diesen Zusammenhang nachweisen konnte. Der Unterschied der Arbeiten war der Messzeitpunkt von NT-proBNP. In unserer Studie wurde NT-proBNP unmittelbar vor Transplantation bestimmt, während in der anderen Studie NT-proBNP nach der Transplantation gemessen wurde und ebenfalls eine signifikante Assoziation mit Herzinsuffizienz und Gesamtmortalität gezeigt werden konnte. NT-proBNP, jedoch keiner der erhobenen echokardiografischen Parameter (linksventrikulärer Massenindex, linksatrialer Volumenindex, Ejektionsfraktion und die E:é Ratio) zur Bestimmung des linksventrikulären enddiastolischen Drucks, war mit Herzinsuffizienz und Tod bei nierentransplantierten Patienten assoziiert (Emrich et al., 2022).

NT-proBNP wird bei Ventrikeldehnung sowie Myokardschäden freigesetzt und zumindest teilweise über die Nieren ausgeschieden, sodass der gemessene Wert bei Dialysepatienten über den üblichen Grenzwerten liegt.

Bei Peritonealdialysepatienten wurde beschrieben, dass eine Volumenüberladung eher durch erhöhte NT-proBNP-Werte als durch die echokardiografischen Parameter einer Herzfunktionsstörung erkannt wird (Papakrivopoulou et al., 2012). Ähnliche Ergebnisse wurden bei Hämodialysepatienten beobachtet (Booth et al, 2010), was suggeriert, dass eher der Volumenstatus und nicht die echokardiografischen Parameter die NT-proBNP-Werte bestimmen (Afsar et al., 2024). Werden diese Ergebnisse nun auf den in Abbildung 4

vorgeschlagenen Algorithmus übertragen, liegt nahe, dass viele Patienten mit hohem Risiko nicht erkannt werden.

Bei nierentransplantierten Patienten sinken die NT-proBNP-Werte nach der Transplantation ab (Slubowska et al., 2014 ; Prasad et al., 2018) und korrelieren negativ mit der GFR (Roberts et al., 2008 ; Becker – Cohen et al., 2006 ; Bodlaj et al., 2009 ; Chan et al., 2014). Höhere NT-proBNP-Werte sind mit renalen Endpunkten wie einer längeren Ischämiezeit und verzögerter Transplantatfunktion (Bodlaj et al., 2009 ; Yeung et al., 2020), erhöhtem systolischen Blutdruck (Emrich et al., 2022) und höheren Inflammationsparametern (u.a. CRP und Interleukin-6) (Memon et al., 2013) assoziiert.

In unserer Kohorte zeigte Serum-Kreatinin und die Kreatinin-basierte eGFR jedoch keinen Unterschied zwischen den Patientengruppen mit und ohne MACE.

Interessanterweise hat sich gezeigt, dass NT-proBNP einen größeren Einfluss auf den Unterschied in der Sterblichkeit zwischen Nierentransplantationsempfängern und der Allgemeinbevölkerung hatte als die Kreatinin-Clearance (Oterdoom et al., 2009), welches die hier präsentierten Ergebnisse zu Beta-Trace Protein und MACE unterstützt.

Beta-Trace Protein konnte in dieser Kohorte nicht mit dem kardiovaskulären Risiko assoziiert werden. Höchstwahrscheinlich, da nur Patienten mit erhaltener Pumpfunktion eingeschlossen wurden.

Wir schlagen demnach vor, dass NT-proBNP in einer Kohorte terminal nierenkranker Patienten mit erhaltener systolischer Herzfunktion als allgemein verfügbarer Biomarker zur Identifizierung von Patienten mit hohem kardiovaskulären Risiko, unabhängig ihrer Krankheitsgeschichte oder einer vorbestehenden koronaren Herzerkrankung, vor der Transplantation verwendet werden kann, um die Patienten mit einem hohen kardiovaskulären Risiko nach der Transplantation zu identifizieren. NT-proBNP kann eine günstige, verfügbare Ergänzung zu bekannten Screening-Algorithmen und lokalen Standards darstellen.

5. Zusammenfassung

Der Zusammenhang zwischen Restnierenfunktion und verbesserter Überlebensrate bei Dialysepatienten ist seit Jahrzehnten gut belegt. Eine Restnierenfunktion, unabhängig ihres Ausmaßes, trägt zur Elektrolytregulierung, Volumenkontrolle, Erythropoetinbildung und Clearance gelöster Moleküle unterschiedlicher Größe bei und ist in der Entfernung der Moleküle mit großer Molekülgröße der Entfernung durch die Dialyse deutlich überlegen.

Die Bestimmung der Restnierenfunktion über Clearance-Messungen erfordert eine Urinsammlung und ist im klinischen Alltag oftmals fehlerbehaftet.

Wir haben in den vorgelegten Arbeiten Beta-Trace Protein als zuverlässigen endogenen Biomarker identifiziert, da er kaum von den üblichen Determinanten der Nierenersatztherapie abhängt und allenfalls im Rahmen einer Behandlung mittels Hämodiafiltration moderat eliminiert wird.

Bei Peritonealdialysepatienten konnten wir zeigen, dass Beta-Trace Protein aufgrund seiner peritonealen Elimination ebenfalls anderen Markern der Nierenfunktion überlegen ist und Veränderungen von Beta-Trace Protein auch Veränderungen der Restdiurese widerspiegeln können. Für intensivstationäre Patienten unter kontinuierlicher Nierenersatztherapie konnten wir Hinweise generieren, die eine Verlaufsbeurteilung einer akuten Nierenfunktionseinschränkung durch wiederholte Messungen von Serum Beta-Trace Protein ermöglicht.

Angesichts der Bedeutung der Restnierenfunktion und ihres Rückgangs, müssen wir die Faktoren besser verstehen, die den Verlust der residualen Nierenfunktion bei Dialysepatienten vorhersagen können. Eine Behandlung mit Inhibitoren des RAAS-Systems gilt als die wirksamste Strategie zur Erhaltung der Restnierenfunktion in Dialysepatienten. Wir konnten eine negative Assoziation von DKK-3 im Urin mit einer RAAS-Blockade zeigen. Nach unserer systematischen Charakterisierung von DKK-3 in einer Kohorte von Peritonealdialysepatienten sollte nun untersucht werden, ob DKK-3 zusätzlich zur GFR und Proteinurie den Erhalt der Restnierenfunktion vorhersagen kann.

In Zukunft müssen einfache Methoden zur Einschätzung der Restnierenfunktion standardisiert werden, um eine regelmäßige Einschätzung der Patienten zu ermöglichen, die noch Urin ausscheiden. Davon ausgehend müssen Therapien und Strategien für den Erhalt der Restnierenfunktion bei Dialysepatienten erarbeitet werden.

Keine Strategie für den Erhalt der Eigennierenfunktion bei Dialysepatienten wird so gut wie eine Nierentransplantation sein. Eine Nierentransplantation senkt das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen im Vergleich zu einer Dialyse, jedoch besteht bei den Patienten nach Transplantation im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Patienten, die auf der Warteliste zu einer Organtransplantation stehen, werden im Rahmen von strukturierten Vorsorgeuntersuchungen hinsichtlich ihres kardiovaskulären Risikos untersucht. Diese Untersuchungen spiegeln jedoch nicht das Risiko zum unmittelbaren Transplantationszeitraum wider. Es bedarf daher neben den gängigen apparativen und invasiven Verfahren auch einfacher Möglichkeiten, das kardiovaskuläre Risiko zum Transplantationszeitpunkt einzuschätzen.

Wir haben mit NT-proBNP und Beta-Trace Protein zwei einfach zu bestimmende endogene Biomarker eingeführt und konnten zeigen, dass diese abhängig ihrer Konzentration zum Transplantationszeitpunkt mit kardiovaskulären Endpunkten assoziiert sind.

Zusammenfassend erweitern die hier vorgelegten Arbeiten das Verständnis und die diagnostischen Möglichkeiten für eine Einschätzung und Prognose der Restnierenfunktion bei Dialysepatienten. Zudem wurden Biomarker vorgestellt, die zur Stratifizierung des kardiovaskulären Risikos nach Nierentransplantation beitragen. Es wird mutmaßlich niemals den perfekten Biomarker geben, der jeden Patienten in jedem Krankheitsstadium verlässlich abbilden kann. Es wird entscheidend sein, zukünftig validierte Grenzwerte und Strategien zu implementieren, die eine Einschätzung und Prognose der Restnierenfunktion wie auch des Risikos nach Transplantation erlaubt.

Biomarker können hier eine verlässliche und kostengünstige Ergänzung sein, um die Behandlung terminal nierenkranker Patienten zu verbessern und Dialyseeffizienz zu steuern.

6. Inhaltliche Überlappung mit anderen Habilitationsschriften

Inhaltliche Überlappungen mit anderen Habilitationsschriften sind ausgeschlossen, da jede der hier kumulierten Originalarbeiten ausschließlich in dieser und keiner anderen Habilitationsschrift eingereicht wurden.

7. Bibliographie

Afsar B, Afsar RE, Caliskan Y, Lentine KL. Brain natriuretic peptide and N-terminal pro b-type natriuretic peptide in kidney transplantation: More than just cardiac markers. *Transplant Rev (Orlando)*. 2024 Jun 21;38(4):100869.

Ahrenholz P, Winkler RE, Ramlow W, Tiess M, Thews O.: On-line hemodiafiltration with pre-And postdilution: impact on the acid-base status. *Int J Artif Organs* 1998; 21: 321–327

Anwaruddin S, Lloyd-Jones DM, Baggish A, Chen A, Krauser D, Tung R, Chae C, Januzzi JL Jr. Renal function, congestive heart failure, and amino-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement: results from the ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) Study. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Jan 3;47(1):91-7.

Apple FS, Murakami MM, Pearce LA, Herzog CA. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. *Clin Chem*. 2004 Dec;50(12):2279-85.

Argyropoulos CP, Chen SS, Ng YH, Roumelioti ME, Shaffi K, Singh PP, Tzamaloukas AH. Rediscovering Beta-2 Microglobulin As a Biomarker across the Spectrum of Kidney Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2017 Jun 15;4:73.

Ayav C, Beuscart JB, Briançon S, Duhamel A, Frimat L, Kessler M. Competing risk of death and end-stage renal disease in incident chronic kidney disease (stages 3 to 5): the EPIRAN community-based study. *BMC Nephrol*. 2016 Nov 15;17(1):174.

Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Removal of middle molecules and protein-bound solutes by peritoneal dialysis and relation with uremic symptoms. *Kidney Int*. 2003 Dec;64(6):2238-43.

Bangalore S, Maron DJ, O'Brien SM, Fleg JL, Kretov EI, Briguori C, Kaul U, Reynolds HR, Mazurek T, Sidhu MS, et al. ISCHEMIA-CKD Research Group. Management of Coronary Disease in Patients with Advanced Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2020 Apr 23;382(17):1608-1618.

Bargman JM, Thorpe KE, Churchill DN. Relative contribution of residual renal function and peritoneal clearance to adequacy of dialysis: a reanalysis of the CANUSA study. *J Am Soc Nephrol*. 2001 Oct;12(10):2158-2162.

Bargnoux AS, Buthiau D, Morena M, Rodriguez A, Noguera-Gonzalez ME, Gilbert O, Le Quintrec M, Kuster N, Cristol JP. Estimation of residual renal function using beta-trace protein: Impact of dialysis procedures. *Artif Organs*. 2020 Jun;44(6):647-654.

Becker-Cohen R, Nir A, Rinat C, Feinstein S, Algur N, Farber B, Frishberg Y. Risk factors for cardiovascular disease in children and young adults after renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 Nov;1(6):1284-92.

Bodlaj G, Hubmann R, Saleh K, Biesenbach G, Pohanka E, Stojakovic T, Berg J. Serum levels of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide are associated with allograft function in recipients of renal transplants. *Wien Klin Wochenschr*. 2009;121(19-20):631-7.

Bökenkamp A, van Wijk JA, Lentze MJ, Stoffel-Wagner B. Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and beta2-microglobulin concentrations. *Clin Chem*. 2002 Jul;48(7):1123-6.

Booth J, Pinney J, Davenport A. N-terminal proBNP--marker of cardiac dysfunction, fluid overload, or malnutrition in hemodialysis patients? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Jun;5(6):1036-40.

Carrero JJ, Fu EL, Sang Y, Ballew S, Evans M, Elinder CG, Barany P, Inker LA, Levey AS, Coresh J, et al. Discordances Between Creatinine- and Cystatin C-Based Estimated GFR and Adverse Clinical Outcomes in Routine Clinical Practice. *Am J Kidney Dis*. 2023 Nov;82(5):534-542.

Chan W, Bosch JA, Jones D, McTernan PG, Inston N, Moore S, Kaur O, Phillips AC, Borrows R. Hypervolemia and blood pressure in prevalent kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2014 Aug 15;98(3):320-7.

Chelamcharla M, Leyboldt JK, Cheung AK. Dialyzer membranes as determinants of the adequacy of dialysis. *Semin Nephrol*. 2005 Mar;25(2):81-9.

Chen DC, Shlipak MG, Scherzer R, Bauer SR, Potok OA, Rifkin DE, Ix JH, Muir AN, Hsu CY, Estrella MM. Association of Intraindividual Difference in Estimated Glomerular Filtration Rate by Creatinine vs Cystatin C and End-stage Kidney Disease and Mortality. *JAMA Netw Open*. 2022 Feb 1;5(2):e2148940.

Chen X, Chen Z, Wei T, Li P, Zhang L, Fu P. The Effect of Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin on the Discontinuation of Continuous Renal Replacement Therapy in Critically Ill Patients with Acute Kidney Injury. *Blood Purif*. 2019;48(1):10-17.

Cheng XS, VanWagner LB, Costa SP, Axelrod DA, Bangalore S, Norman SP, Herzog CA, Lentine KL; American Heart Association Council on the Kidney in Cardiovascular Disease and Council on Cardiovascular Radiology and Intervention. Emerging Evidence on Coronary Heart Disease Screening in Kidney and Liver Transplantation Candidates: A Scientific Statement From the American Heart Association: Endorsed by the American Society of Transplantation. *Circulation*. 2022 Nov 22;146(21):e299-e324.

Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium; Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Gansevoort RT. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010 Jun 12;375(9731):2073-81.

Clark WR, Winchester JF.: Middle Molecules and Small – Molecular-Weight Proteins in ESRD: Properties and Strategies for Their Removal. *Adv Ren Replace Ther*. 2003 Oct;10(4):270-8.2003

Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury : A systematic review. *Kidney Int*. Elsevier Masson SAS; 2008;73: 1008–1016.

Couser WG, Johnson RJ. The etiology of glomerulonephritis: roles of infection and autoimmunity. *Kidney Int*. 2014 Nov;86(5):905-14.

Dalfino, L., Tullo, L., Donadio, I. *et al.* Intra-abdominal hypertension and acute renal failure in critically ill patients. *Intensive Care Med* 34, 707–713 (2008).

de Geus HR, Betjes MG, Bakker J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin clearance during veno-venous continuous renal replacement therapy in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2010 Dec;36(12):2156-7.

Delanaye P, Cavalier E, Pottel H. Serum Creatinine: Not So Simple! *Nephron.* 2017;136(4):302-308. doi: 10.1159/000469669. Epub 2017 Apr 26.

Delanaye P, Cavalier E, Morel J, Mehdi M, Maillard N, Claisse G, et al. Detection of decreased glomerular filtration rate in intensive care units : serum cystatin C versus serum creatinine. *BMC Nephrol.* 2014 Jan 13;15:9.

Donadio C, Tognotti D, Caponi L, Paolicchi A. β -trace protein is highly removed during haemodialysis with high-flux and super high-flux membranes. *BMC Nephrol.* 2017 Feb 20;18(1):68.

Doukky R, Fughhi I, Campagnoli T, Wassouf M, Kharouta M, Vij A, Anokwute C, Appis A, Ali A. Validation of a clinical pathway to assess asymptomatic renal transplant candidates using myocardial perfusion imaging. *J Nucl Cardiol.* 2018 Dec;25(6):2058-2068.

Emrich I.E., Scheuer A.L., Rogacev K.S., Mahfoud F., Wagenpfeil S., Fliser D., Schirmer S.H., Böhm M., Heine G.H. Plasma biomarkers outperform echocardiographic measurements for cardiovascular risk prediction in kidney transplant recipients: Results of the HOME ALONE study. *Clin. Kidney, J.* 2022;15:693–702.

Federico G, Meister M, Mathow D, Heine GH, Moldenhauer G, Popovic ZV, Nordström V, Kopp-Schneider A, Hielscher T, Nelson PJ et al. Tubular Dickkopf-3 promotes the development of renal atrophy and fibrosis. *JCI Insight.* 2016 Jan 21;1(1):e84916.

Foster MC, Levey AS, Inker LA, Shafi T, Fan L, Gudnason V, Katz R, Mitchell GF, Okparavero A, Palsson R et al. Non-GFR Determinants of Low-Molecular-Weight Serum Protein Filtration Markers in the Elderly: AGES-Kidney and MESA-Kidney. *Am J Kidney Dis.* 2017 Sep;70(3):406-414.

Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int.* 2003 May;63(5):1944-7.

Gangji AS, Helal BA, Churchill DN, Brimble KS, Margetts PJ. Association between N-terminal propeptide B-type natriuretic peptide and markers of hypervolemia. *Perit Dial Int.* 2008 May-Jun;28(3):308-11.

Gergei I, Klotsche J, Woitas RP, Pieper L, Wittchen H-U, Krämer BK, et al. Chronic kidney disease in primary care in Germany. *J Public Health.* 2017;25(2):223–30.

Gerhardt T, Pöge U, Stoffel-Wagner B, Klein B, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP. Serum levels of beta-trace protein and its association to diuresis in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Jan;23(1):309-14.

Gilbert RE, Cooper ME. The tubulointerstitium in progressive diabetic kidney disease: more than an aftermath of glomerular injury? *Kidney Int.* 1999 Nov;56(5):1627-37.

Gill JS, Ma I, Landsberg D, Johnson N, Levin A. Cardiovascular events and investigation in patients who are awaiting cadaveric kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Mar;16(3):808-16.

Go AS, Chertow GM, Fan D, et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* 2004;351:1296–1305.

Harrison TG, Shukalek CB, Hemmelgarn BR, Zarnke KB, Ronksley PE, Iragorri N, Graham MM, James MT. Association of NT-proBNP and BNP With Future Clinical Outcomes in Patients With ESKD: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2020 Aug;76(2):233-247.

Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, Philipp T, Kribben A. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 2004 Sep;66(3):1115-22.

Heringlake M, Heide C, Bahlmann L, Eichler W, Pagel H, Schmucker P, Wergeland R, Armbruster FP, Klaus S. Effects of tilting and volume loading on plasma levels and urinary excretion of relaxin, NT-pro-ANP, and NT-pro-BNP in male volunteers. *J Appl Physiol* (1985). 2004 Jul;97(1):173-9.

Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, Hobbs FD. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016 Jul 6;11(7):e0158765.

Huang, F., Connelly, P.W., Prasad, G.V.R. et al. Evaluation of left atrial remodeling in kidney transplant patients using cardiac magnetic resonance imaging. *J Nephrol* **34**, 851–859 (2021).

Huang PY, Hsu BG, Wang CH, Tsai JP. The Prognostic Role of Serum β -Trace Protein Levels among Patients on Maintenance Hemodialysis. *Diagnostics (Basel).* 2024 May 7;14(10):974.

Inker LA, Eneanya ND, Coresh J, Tighiouart H, Wang D, Sang Y, Crews DC, Doria A, Estrella MM, Froissart M et al. Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. New Creatinine- and Cystatin C-Based Equations to Estimate GFR without Race. *N Engl J Med.* 2021 Nov 4;385(19):1737-1749.

Israni AK, Snyder JJ, Skeans MA, Peng Y, Maclean JR, Weinhandl ED, Kasiske BL; PORT Investigators. Predicting coronary heart disease after kidney transplantation: Patient Outcomes in Renal Transplantation (PORT) Study. *Am J Transplant.* 2010 Feb;10(2):338-53.

Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet.* 2013;382:260–272.

Kabanda A, Jadoul M, Pochet JM, Lauwerys R, van Ypersele de Strihou C, Bernard A. Determinants of the serum concentrations of low molecular weight proteins in patients on maintenance hemodialysis. *Kidney Int.* 1994 Jun;45(6):1689-96.

Kassirer JP. Clinical evaluation of kidney function--glomerular function. *N Engl J Med*. 1971 Aug 12;285(7):385-9.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med*. 2013 Jun 4;158(11):825-30.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2024 Apr;105(4S):S117-S314.

Krieter DH, Hackl A, Rodriguez A, Chenine L, Moragues HL, Lemke HD, Wanner C, Canaud B. Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jan;25(1):212-8.

Kiers HD, de Sévaux R, Pickkers P. Cystatin C is not a reliable marker of residual glomerular filtration rate during continuous renal replacement therapy. *Intensive Care Med*. 2011 Nov;37(11):1893-4; author reply 1897-8.

Kim CS, Bae EH, Ma SK, Kim SW. A Prospective Observational Study on the Predictive Value Of Serum Cystatin C for Successful Weaning from Continuous Renal Replacement Therapy. *Kidney Blood Press Res*. 2018;43(3):872-881.

Kim DJ, Do JH, Huh W, Kim YG, Oh HY. Dissociation between clearances of small and middle molecules in incremental peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2001 Sep-Oct;21(5):462-6.

Kim ST. Characteristics of protein removal in hemodiafiltration. *Contrib Nephrol*. 1994;108:23-37.

Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int*. 2004 Apr;65(4):1416-21.

Kos J, Stabuc B, Cimerman N, Brünner N. Serum cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression. *Clin Chem*. 1998 Dec;44(12):2556-7.

Krishnamurthy, N., Arumugasamy, K., Anand, U. *et al*. Effect of hemodialysis on circulating cystatin c levels in patients with end stage renal disease. *Indian J Clin Biochem* **25**, 43–46 (2010).

Leelahavanichkul A, Souza AC, Street JM, Hsu V, Tsuji T, Doi K, Li L, Hu X, Zhou H, Kumar P et al. Comparison of serum creatinine and serum cystatin C as biomarkers to detect sepsis-induced acute kidney injury and to predict mortality in CD-1 mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014 Oct 15;307(8):F939-48.

Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-612.

Leypoldt JK, Cheung AK, Carroll CE, Stannard DC, Pereira BJ, Agodoa LY, Port FK. Effect of dialysis membranes and middle molecule removal on chronic hemodialysis patient survival. *Am J Kidney Dis.* 1999 Feb;33(2):349-55.

Li T, Wilcox CS, Lipkowitz MS, Gordon-Cappitelli J, Dragoi S. Rationale and Strategies for Preserving Residual Kidney Function in Dialysis Patients. *Am J Nephrol.* 2019;50(6):411-421.

Liao CT, Chen YM, Shiao CC, Hu FC, Huang JW, Kao TW, Chuang HF, Hung KY, Wu KD, Tsai TJ. Rate of decline of residual renal function is associated with all-cause mortality and technique failure in patients on long-term peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2009 Sep;24(9):2909-14.

Lindley EM, Hall AK, Hess J, Abraham J, Smith B, Hopkins PN, Shihab F, Welt F, Owan T, Fang JC. Cardiovascular Risk Assessment and Management in Prerenal Transplantation Candidates. *Am J Cardiol.* 2016 Jan 1;117(1):146-50. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.10.016.

Lindström V, Grubb A, Alquist Hegbrant M, Christensson A. Different elimination patterns of beta-trace protein, beta2-microglobulin and cystatin C in haemodialysis, haemodiafiltration and haemofiltration. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008;68(8):685-91.

Liu X, Foster MC, Tighiouart H, Anderson AH, Beck GJ, Contreras G, Coresh J, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T et al. CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) Study Investigators. Non-GFR Determinants of Low-Molecular-Weight Serum Protein Filtration Markers in CKD. *Am J Kidney Dis.* 2016 Dec;68(6):892-900. Epub 2016 Sep 20. Erratum in: *Am J Kidney Dis.* 2024 Jun;83(6):840.

Lowenstein J, Grantham JJ. Residual renal function: a paradigm shift. *Kidney Int.* 2017 Mar;91(3):561-565.

Manzano-Fernández S, Januzzi JL Jr, Boronat-Garcia M, Bonaque-González JC, Truong QA, Pastor-Pérez FJ, Muñoz-Esparza C, Pastor P, Albaladejo-Otón MD, Casas T et al. β -trace protein and cystatin C as predictors of long-term outcomes in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2011 Feb 15;57(7):849-58.

Mathew AT, Fishbane S, Obi Y, Kalantar-Zadeh K. Preservation of residual kidney function in hemodialysis patients: reviving an old concept. *Kidney Int.* 2016 Aug;90(2):262-271.

Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Reed A, Kaplan B. Kidney transplantation halts cardiovascular disease progression in patients with end-stage renal disease. *Am J Transplant.* 2004 Oct;4(10):1662-8.

Memon, L., Spasojevic-Kalimanovska, V., Stanojevic, N.B., Kotur-Stevuljevic, J., Simic-Ogrizovic, S., Giga, V., Dopsaj, V., Jelic-Ivanovic, Z. and Spasic, S. (2013), Are Levels of NT-proBNP and SDMA Useful to Determine Diastolic Dysfunction in Chronic Kidney Disease and Renal Transplant Patients?. *J. Clin. Lab. Anal.*, 27: 461-470.

Mills KT, Xu Y, Zhang W, Bundy JD, Chen CS, Kelly TN, Chen J, He J. A systematic analysis of worldwide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010. *Kidney Int.* 2015 Nov;88(5):950-7.

Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M,

Bean J, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005 Apr 2-8;365(9466):1231-8.

Moist LM, Port FK, Orzol SM, Young EW, Ostbye T, Wolfe RA, Hulbert-Shearon T, Jones CA, Bloembergen WE. Predictors of loss of residual renal function among new dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2000 Mar;11(3):556-564.

National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy: 2015 update. *Am J Kidney Dis*. 2015 Nov;66(5):884-930.

Neale J, Smith AC. Cardiovascular risk factors following renal transplant. *World J Transplant*. 2015 Dec 24;5(4):183-95.

Nielsen MB, Dahl JN, Jespersen B, Ivarsen P, Birn H, Winther S. External Validation of Proposed American Heart Association Algorithm for Cardiovascular Screening Before Kidney Transplantation. *J Am Heart Assoc*. 2023 Dec 19;12(24):e031150.

Niizuma S, Iwanaga Y, Yahata T, Miyazaki S. Renocardiovascular Biomarkers: from the Perspective of Managing Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2017 Mar 6;4:10.

Obi Y, Streja E, Rhee CM, Ravel V, Amin AN, Cupisti A, Chen J, Mathew AT, Kovesdy CP, Mehrotra R et al. Incremental Hemodialysis, Residual Kidney Function, and Mortality Risk in Incident Dialysis Patients: A Cohort Study. *Am J Kidney Dis*. 2016 Aug;68(2):256-265.

Ono M, Taoka M, Takagi T, Ogawa H, Saito A. Comparison of types of on-line hemodiafiltration from the standpoint of low-molecular-weight protein removal. *Contrib Nephrol*. 1994;108:38-45.

Orenes-Piñero E, Manzano-Fernández S, López-Cuenca Á, Marín F, Valdés M, Januzzi JL. β -Trace protein: from GFR marker to cardiovascular risk predictor. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013 May;8(5):873-81.

Ostermann M., Joannidis M.: Acute kidney injury 2016 : diagnosis and diagnostic workup. *Crit Care. Critical Care*; 2016; 1–13.

Oterdoom LH, de Vries AP, van Ree RM, Gansevoort RT, van Son WJ, van der Heide JJ, Navis G, de Jong PE, Gans RO, Bakker SJ. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and mortality in renal transplant recipients versus the general population. *Transplantation*. 2009 May 27;87(10):1562-70.

Paniagua R, Amato D, Vonesh E, Correa-Rotter R, Ramos A, Moran J, Mujais S. Effects of increased peritoneal clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: ADEMEX, a prospective, randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol*. 2002 May;13(5):1307-1320.

Papakrivopoulou E, Lillywhite S, Davenport A. Is N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide a clinically useful biomarker of volume overload in peritoneal dialysis patients? *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Jan;27(1):396-401.

Parikh CR, Abraham E, Ancukiewicz M, Edelstein CL. Urine IL-18 Is an Early Diagnostic Marker for Acute Kidney Injury and Predicts Mortality in the Intensive Care Unit. *J Am Soc*

Nephrol. 2005 Oct;16(10):3046-52.

Phatthanasobhon S, Nochaiwong S, Thavorn K, Noppakun K, Panyathong S, Suteeka Y, Hutton B, Sood MM, Knoll GA, Ruengorn C. Effectiveness of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blockade on Residual Kidney Function and Peritoneal Membrane Function in Peritoneal Dialysis Patients: A Network Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2019 Dec 20;9(1):19582

Piek A, Suthahar N, Voors AA, de Boer RA, Silljé HHW. A combined bioinformatics, experimental and clinical approach to identify novel cardiac-specific heart failure biomarkers: is Dickkopf-3 (DKK3) a possible candidate? *Eur J Heart Fail*. 2020 Nov;22(11):2065-2074.

Piotti G, Gandolfini I, Palmisano A, Maggiore U. Metabolic risk profile in kidney transplant candidates and recipients. *Nephrol Dial Transplant*. 2019 Mar 1;34(3):388-400.

Potok OA, Ix JH, Shlipak MG, Katz R, Hawfield AT, Rocco MV, Ambrosius WT, Cho ME, Pajewski NM, Rastogi A et al. The Difference Between Cystatin C- and Creatinine-Based Estimated GFR and Associations With Frailty and Adverse Outcomes: A Cohort Analysis of the Systolic Blood Pressure Intervention Trial (SPRINT). *Am J Kidney Dis*. 2020 Dec;76(6):765-774.

Potok OA, Ix JH, Shlipak MG, Bansal N, Katz R, Kritchevsky SB, Rifkin DE. Cystatin C- and Creatinine-Based Glomerular Filtration Rate Estimation Differences and Muscle Quantity and Functional Status in Older Adults: The Health, Aging, and Body Composition Study. *Kidney Med*. 2022 Jan 25;4(3):100416.

Praga M, González E. Acute interstitial nephritis. *Kidney Int*. 2010 Jun;77(11):956-61.

Prasad GVR, Yan AT, Nash MM, Kim SJ, Wald R, Wald R, Lok C, Gunaratnam L, Karur GR, Kirpalani A et al. Determinants of Left Ventricular Characteristics Assessed by Cardiac Magnetic Resonance Imaging and Cardiovascular Biomarkers Related to Kidney Transplantation. *Can J Kidney Health Dis*. 2018 Nov 9;5:2054358118809974.

Rattazzi M, Bertacco E, Puato M, Faggini E, Pauletto P. Hypertension and vascular calcification: a vicious cycle? *J Hypertens*. 2012 Oct;30(10):1885-93.

Roberts MA, Srivastava PM, Macmillan N, Hare DL, Ratnaike S, Sikaris K, Ierino FL. B-type natriuretic peptides strongly predict mortality in patients who are treated with long-term dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008 Jul;3(4):1057-65.

Rodríguez-Iturbe B, Johnson RJ, Herrera-Acosta J. Tubulointerstitial damage and progression of renal failure. *Kidney Int Suppl*. 2005 Dec;(99):S82-6.

Roldán V, Vílchez JA, Manzano-Fernández S, Jover E, Gálvez J, Puche CM, Valdés M, Vicente V, Lip GY, Marín F. Usefulness of N-terminal pro-B-type natriuretic Peptide levels for stroke risk prediction in anticoagulated patients with atrial fibrillation. *Stroke*. 2014 Mar;45(3):696-701.

Ronco, C., Bellomo, R. & Kellum, J. Understanding renal functional reserve. *Intensive Care Med* **43**, 917–920 (2017).

Roumelioti ME, Nolin T, Unruh ML, Argyropoulos C. Revisiting the Middle Molecule Hypothesis of Uremic Toxicity : A Systematic Review of Beta 2 Microglobulin Population Kinetics and Large Scale Modeling of Hemodialysis Trials In Silico. *PLoS One*. 2016 Apr 7;11(4):e0153157.

Royakkers AA, Korevaar JC, van Suijlen JD, Hofstra LS, Kuiper MA, Spronk PE, Schultz MJ, Bouman CS. Serum and urine cystatin C are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med*. 2011 Mar;37(3):493-501.

Rule AD, Amer H, Cornell LD, Taler SJ, Cosio FG, Kremers WK, Textor SC, Stegall MD. The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults. *Ann Intern Med*. 2010 May 4;152(9):561-7.

Schilder L, Nurmohamed SA, Bosch FH, Purmer IM, den Boer SS, Kleppe CG, Vervloet MG, Beishuizen A, Girbes AR, Ter Wee PM et al. CASH study group. Citrate anticoagulation versus systemic heparinisation in continuous venovenous hemofiltration in critically ill patients with acute kidney injury: a multi-center randomized clinical trial. *Crit Care*. 2014 Aug 16;18(4):472.

Schunk S, Speer T, Petrakis I, Fliser D. Dickkopf 3—a novel biomarker of the ‘kidney injury continuum’, *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 36, Issue 5, May 2021, Pages 761–767.

Schwab S, Bös D, Hundt F, Kleine CE, Strassburg CP, Woitas RP. β -Trace protein in hemodialysis - comparison of different therapy modalities and high flux dialyzers. *Clin Chem Lab Med*. 2018 Oct 25;56(11):265-267.

Schwab S, Kleine CE, Bös D, et al. Beta-trace protein as a potential biomarker of residual renal function in patients undergoing peritoneal dialysis. *BMC Nephrol*. 2021;22(1):87.

Sert ET, Akilli N, Köylü R, Cander B, Kokulu K, Köylü Ö. The Effect of Beta-Trace Protein on Diagnosis and Prognosis in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Cureus*. 2020 Feb 28;12(2):e7135.

See YP, Htay H, Teixeira-Pinto A, Pascoe EM, Hawley C, Cho Y, Zhao E, Johnson DW. Utility of serum beta-trace protein as a tool for estimating residual kidney function in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int*. 2021 Mar;41(2):226-235.

Shao Y, Fan Y, Xie Y, Yin L, Zhang Y, Deng L, Sun X, Shao X, Tan X, He J, Zhao S. Effect of continuous renal replacement therapy on kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with septic acute kidney injury. *Exp Ther Med*. 2017 Jun;13(6):3594-3602.

Shemin D, Bostom AG, Laliberty P, Dworkin LD. Residual renal function and mortality risk in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2001 Jul;38(1):85-90.

Shafi T, Jaar BG, Plantinga LC, Fink NE, Sadler JH, Parekh RS, Powe NR, Coresh J. Association of residual urine output with mortality, quality of life, and inflammation in incident hemodialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for End-Stage Renal Disease (CHOICE) Study. *Am J Kidney Dis*. 2010 Aug;56(2):348-58.

Shafi T, Michels WM, Levey AS, Inker LA, Dekker FW, Krediet RT, Hoekstra T, Schwartz GJ, Eckfeldt JH, Coresh J. Estimating residual kidney function in dialysis patients without urine collection. *Kidney Int.* 2016 May;89(5):1099-1110.

Shafi T, Parekh RS, Jaar BG et al.: Serum β -trace protein and risk of mortality in Incident hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012 Sep;7(9):1435-45.

Singhal MK, Bhaskaran S, Vidgen E, Bargman JM, Vas SI, Oreopoulos DG. Rate of decline of residual renal function in patients on continuous peritoneal dialysis and factors affecting it. *Perit Dial Int.* 2000 Jul-Aug;20(4):429-38.

Sirich TL, Meyer TW, Gondouin B, Brunet P, Niwa T. Protein-bound molecules: a large family with a bad character. *Semin Nephrol.* 2014 Mar;34(2):106-17.

Sjöström P, Tidman M, Jones I. Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005;65(2):111-24.

Slubowska K, Sadowska A, Kwiatkowski A, Durlik M. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP) assessment in the first year after renal transplantation and its relationship with graft function and left ventricular hypertrophy. *Transplant Proc.* 2014 Oct;46(8):2729-32.

Soveri I, Berg UB, Björk J, Elinder CG, Grubb A, Mejare I, Sterner G, Bäck SE; SBU GFR Review Group. Measuring GFR: a systematic review. *Am J Kidney Dis.* 2014 Sep;64(3):411-24.

Steubl D, Hettwer S, Dahinden P, Lupp P, Rondak IC, Regenbogen C, Stock KF, 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.* 2015 Feb;47(2):391-6.

Steubl D, Roos M, Hettwer S, Angermann S, Wen M, Schmaderer C, Lupp P, Heemann U, Renders L. Comparison of Peritoneal Low-Molecular-Weight-Protein-Removal in CCPD and CAPD Patients Based on C-Terminal Agrin Fragment Clearance. *Kidney Blood Press Res.* 2016;41(2):175-85.

Sundqvist S, Larson T, Cauliez B, Bauer F, Dumont A, Le Roy F, Hanoy M, Fréguin-Bouilland C, Godin M, Guerrot D. Clinical Value of Natriuretic Peptides in Predicting Time to Dialysis in Stage 4 and 5 Chronic Kidney Disease Patients. *PLoS One.* 2016 Aug 22;11(8):e0159914.

Suzuki H, Kanno Y, Sugahara S, Okada H, Nakamoto H. Effects of an angiotensin II receptor blocker, valsartan, on residual renal function in patients on CAPD. *Am J Kidney Dis.* 2004 Jun;43(6):1056-64.

Szeto CC. The new ISPD peritonitis guideline. *Ren Replace Ther.* 2018;4(1):7.

Tattersall J, Martin-Malo A, Pedrini L, Basci A, Canaud B, Fouque D, Haage P, Konner K, Kooman J, Pizzarelli F et al. EBPG guideline on dialysis strategies. *Nephrol Dial Transplant.* 2007 May;22 Suppl 2:ii5-21.

Termorshuizen F, Korevaar JC, Dekker FW, van Manen JG, Boeschoten EW, Krediet RT; NECOSAD Study Group. The relative importance of residual renal function compared with peritoneal clearance for patient survival and quality of life: an analysis of the Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis (NECOSAD)-2. *Am J Kidney Dis.* 2003 Jun;41(6):1293-302.

Torigoe K, Muta K, Tsuji K, Yamashita A, Torigoe M, Abe S, Ota Y, Mukae H, Nishino T. Association of Urinary Dickkopf-3 with Residual Renal Function Decline in Patients Undergoing Peritoneal Dialysis. *Medicina.* 2021; 57(6):631.

Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, Bouman C, Macedo E, Gibney N, Tolwani A et al. Discontinuation of continuous renal replacement therapy: a post hoc analysis of a prospective multicenter observational study. *Crit Care Med.* 2009 Sep;37(9):2576-82.

United States Renal Data System. 2016 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; Bethesda, MD: 2016.

United States Renal Data System. USRDS 2018 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States. Volume 2. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Institutes of Diabetes and Digestive and Kidney Disease; 2018.

United States Renal Data System. 2023 USRDS Annual Data Report: Epidemiology of kidney disease in the United States. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2023.

Valkenburg S, Glorieux G, Vanholder R. Uremic Toxins and Cardiovascular System. *Cardiol Clin.* 2021 Aug;39(3):307-318.

van der Wal WM, Noordzij M, Dekker FW, Boeschoten EW, Krediet RT, Korevaar JC, Geskus RB; Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis Study Group (NECOSAD). Full loss of residual renal function causes higher mortality in dialysis patients; findings from a marginal structural model. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Sep;26(9):2978-83.

Vickery S, Price CP, John RI, Abbas NA, Webb MC, Kempson ME, Lamb EJ. B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy. *Am J Kidney Dis.* 2005 Oct;46(4):610-20.

Wang AY. Preserving Residual Kidney Function in Hemodialysis Patients-Back in the Spotlight. *J Am Soc Nephrol.* 2016 Dec;27(12):3504-3507.

Wang AY, Lai KN. The importance of residual renal function in dialysis patients. *Kidney Int.* 2006 May;69(10):1726-32.

Wang AY, Lai KN. Use of cardiac biomarkers in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008 Sep;19(9):1643-52.

Wang F, Wu Y, Tang L, Zhu W, Chen F, Xu T, Bo L, Li J, Deng X. Brain natriuretic peptide for prediction of mortality in patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2012 May 6;16(3):R74.

White CA, Ghazan-Shahi S, Adams MA. β -Trace protein: a marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis*. 2015 Jan;65(1):131-46.

Winther S, Svensson M, Jørgensen HS, Bouchelouche K, Gormsen LC, Pedersen BB, Holm NR, Bøtker HE, Ivarsen P, Bøttcher M. Diagnostic Performance of Coronary CT Angiography and Myocardial Perfusion Imaging in Kidney Transplantation Candidates. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2015 May;8(5):553-562.

Winther S, Svensson M, Jørgensen HS, Rasmussen LD, Holm NR, Gormsen LC, Bouchelouche K, Bøtker HE, Ivarsen P, Bøttcher M. Prognostic Value of Risk Factors, Calcium Score, Coronary CTA, Myocardial Perfusion Imaging, and Invasive Coronary Angiography in Kidney Transplantation Candidates. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018 Jun;11(6):842-854.

Wong J, Sridharan S, Berdeprado J, Vilar E, Viljoen A, Wellsted D, Farrington K. Predicting residual kidney function in hemodialysis patients using serum β -trace protein and β 2-microglobulin. *Kidney Int*. 2016 May;89(5):1090-1098.

Xie Y, Bowe B, Mokdad AH, Xian H, Yan Y, Li T, Maddukuri G, Tsai CY, Floyd T, Al-Aly Z. Analysis of the Global Burden of Disease study highlights the global, regional, and national trends of chronic kidney disease epidemiology from 1990 to 2016. *Kidney Int*. 2018 Sep;94(3):567-581.

Xu K, Rosenstiel P, Paragas N, Hinze C, Gao X, Huai Shen T, Werth M, Forster C, Deng R, Bruck E et al. Unique Transcriptional Programs Identify Subtypes of AKI. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Jun;28(6):1729-1740.

Yeung SMH, van Londen M, Nakshbandi U, Said MY, Eisenga MF, Hepkema BG, Nolte IM, Berger SP, de Borst MH, Bakker SJL. Pretransplant NT-proBNP, Dialysis Vintage, and Posttransplant Mortality in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation*. 2020 Oct;104(10):2158-2165.

Zewinger S, Rauen T, Rudnicki M, Federico G, Wagner M, Triem S, Schunk SJ, Petrakis I, Schmit D, Wagenpfeil S, Heine GH, Mayer G, Floege J, Fliser D, Gröne HJ, Speer T. Dickkopf-3 (DKK3) in Urine Identifies Patients with Short-Term Risk of eGFR Loss. *J Am Soc Nephrol*. 2018 Nov;29(11):2722-2733.

Zhang L, Zeng X, Fu P, Wu HM. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers for preserving residual kidney function in peritoneal dialysis patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jun 23;2014(6):CD009120.

8. Danksagung

Ich blicke nun mehr auf fast 10 Jahre ununterbrochene Tätigkeit am Universitätsklinikum Bonn zurück. Über einen so langen Zeitraum durfte ich den Weg mit vielen Menschen teilen und gemeinsam beschreiten. Mit einigen darf ich auch heute noch zusammenarbeiten.

Viele schöne Erinnerungen werden für immer bleiben. Sei es als Berufsanfänger die herzliche Aufnahme in das Behandlungsteam der Station Nasse, wo ich derzeit als Oberarzt tätig sein darf, sei es die Zeit auf der Intensivstation, die Zeit in der Forschungsfreistellung, vor allem aber die kleinen Momente im Alltag, die dazu führen, dass ich weiterhin viel Freude am Arztberuf habe.

Der Raum für eine Danksagung ist immer knapp. Viele Menschen haben mich auf diesem Weg nachhaltig geprägt, die nicht namentlich erwähnt werden können.

Meine wissenschaftliche Karriere begann mit der Promotion bei Professor Dr. Philipp Steven an der Augenklinik der Universität zu Köln. Deine Fähigkeit, Begeisterung in und mit der täglichen Arbeit zu transportieren, war immer ansteckend und führte dazu, dass ich als motivierter, aber unerfahrener Medizinstudent trotz Rückschlägen und Frustration das Ziel nicht aus den Augen verloren habe.

Ich habe auf verschiedenen Ebenen viel von Dir lernen können und werde die Zeit in Deinem Labor und insbesondere unsere gemeinsamen Projektanträge, die alle erfolgreich beschieden wurden, nicht vergessen.

Neben den klinischen Fragestellungen, die Grundlage dieser Arbeit sind, durfte ich auch grundlagenwissenschaftlich im Institut und Labor von Professor Christian Kurts arbeiten. Hier durfte ich mehr als nur über den sprichwörtlichen Tellerrand hinausschauen und durfte mit viel Freiraum eigene Ideen und Fragestellungen verfolgen. Die Zeit in Deinem Labor will ich nicht missen.

Ich möchte Professor Dr. Christian Strassburg danken. Sie haben mich auf meinem klinischen und wissenschaftlichen Weg immer unterstützt und mir bereits in frühen Jahren Karriereoptionen aufgezeigt. Mit der Ernennung zum Oberarzt haben Sie mir früh Verantwortung übertragen. Dies war und ist für mich nicht selbstverständlich.

Während meiner klinischen Ausbildung durfte ich von vielen erfahrenen Klinikern lernen. Meinem ersten Chef Professor Dr. Rainer Woitas danke ich für die Ausbildung in meinen ersten

Berufsjahren. Es war oft „harte Schule“, die ich aber immer als respektvoll und mit der Sicherheit eines erfahrenen Oberarztes im Hintergrund empfunden habe. Durch Dich ist meine Begeisterung für die Nephrologie gewachsen, sodass ich mich bereits früh für dieses schöne Fach entschieden habe. Herzlichen Dank für die klinische Ausbildung und die wissenschaftliche Förderung durch unsere spannenden gemeinsamen Projekte, die alle erfolgreich zu Ende gebracht werden konnten.

Frau Professorin Sibylle von Vietinghoff danke ich für die klinische Aus- und Weiterbildung und die Unterstützung mich früh mit der verantwortungsvollen Position als Oberarzt zu betrauen. Ich danke Ihnen für die fortwährende Unterstützung, die ich täglich erfahre und freue mich über die positive Entwicklung unserer Abteilung seit Sie die Gesamtleitung der Nephrologie übernommen haben.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Philipp Lutz danke ich für eine herausragende klinische Ausbildung über viele Jahre meiner Assistenzarztzeit und die vielen gemeinsamen wissenschaftlichen Projekte, die wir zusammen durchgeführt haben.

Daniel Pörner und Carola Ellen Kleine danke ich für die gemeinsame Arbeit an den Projekten, die alle durch Eure Mühen und Euer Können gelungen sind.

Nichts von alledem, was hier präsentiert wurde, wäre ohne die Unterstützung meiner Familie möglich gewesen.

Ich danke meinen Eltern für bedingungslose Unterstützung in allen Lebenslagen und Alltagssituationen.

Danke für das Vorleben von Anstand und Respekt! Danke für das Aufzeigen, dass harte Arbeit sich lohnt. Danke für das Verzeihen von dem ein oder anderen Quatsch, den ich gemacht habe. Danke, für die Unterstützung und Hilfe in der Betreuung von Isabel und Johanna. Es ist schön zu sehen, wie viel Freude ihr mit der Betreuung Eurer Enkelkinder habt.

Nicht zuletzt danke ich meiner Frau Gülşah und meinen Töchtern Isabel und Johanna.

Danke für die Unterstützung und das Vertrauen. Danke für Dein Verständnis für meine manchmal herausfordernde Art. Danke für die Liebe und Emotionalität im Alltag.

Ihr seid das wichtigste in meinem Leben.

9. Erklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die Richtlinien zur guten wissenschaftlichen Praxis der Universität Bonn, laut Habilitations-Ordnung, zur Kenntnis genommen habe und ich versichere an Eides statt, dass ich diese Habilitationsschrift selbst abgefasst habe und die hier behandelten wissenschaftlichen Untersuchungen von mir ausgeführt wurden. Insbesondere versichere ich, dass ich alle in der Habilitationsschrift benutzten Quellen und Hilfsmittel angegeben habe.