

Diplomarbeit

**Die Harnzytologie als nicht-invasives
Testverfahren bei Patienten/Innen mit chronischen
Lebererkrankungen**

eingereicht von

Julia Fritz

Geb. Dat. : 29.01.1990

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr.ⁱⁿ med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie

unter der Anleitung von

Univ. Ass.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Elisabeth Krones

Univ.-Prof. Dr. Peter Fickert

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 26.6.2014

Julia Fritz

Danksagungen

Ich bedanke mich bei meinem Hauptbetreuer Herrn Univ.-Prof. Dr. Peter Fickert herzlich für die vielen Anregungen und Kritiken, die mir halfen meine Arbeit zu verbessern. Besonders dankbar bin ich auch Frau Univ. Ass.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Elisabeth Krones, die für mich in allen Angelegenheiten die erste Anlaufstelle war und mich in jeder Hinsicht unterstützte. Ich bedanke mich für die viele Zeit die sie aufbrachte und das außerordentliche Bemühen, das sie an den Tag legte.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Christoph Schwarz danke ich für seine Unterstützung bei Fragen im Bereich der Nephrologie, Frau Juliana Buchgraber, BMA, für die Auskünfte und die zur Verfügung gestellten Fotos. Mein Dank gilt auch jenen Mitarbeitern/Innen des LKH Univ.-Klinikums Graz, die bei der Rekrutierung der Patienten/Innen und der Verarbeitung der Proben mithalfen.

Meine Eltern, Mag.^a Maria Elisabeth Fritz und Mag. Walter Fritz, unterstützten mich nicht nur in der Zeit in der ich meine Diplomarbeit verfasste, sondern während des gesamten Studiums in allen Bereichen. Ich möchte ihnen an dieser Stelle danken, dass sie mir Rückhalt geben, wann immer ich ihn brauche.

Auch bei meinem Freund, meinen Schwestern und meinen Freunden und Freundinnen bedanke ich mich für die Motivation und das Verständnis, das sie mir entgegen brachten.

Zusammenfassung

Einleitung

Das akute Nierenversagen ist eine schwerwiegende Komplikation bei chronischen Lebererkrankungen (z.B. Zirrhose). Neben dem hepatorenalen Syndrom (HRS), einem rein funktionellen Nierenversagen, häufen sich die Hinweise für das Vorliegen von strukturellen Nierenschäden bei Zirrhose und Cholestase. Rezent publizierte tierexperimentelle Daten weisen auf die Bedeutung renal eliminiertes Gallensäuren in der Pathogenese tubulärer Nierenparenchymschäden hin. Solche renalen Läsionen können mittels herkömmlicher Labordiagnostik oft nicht erfasst werden. Ziel dieser Studie ist es, herauszufinden, ob die Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose oder Cholestase gegenüber Gesunden häufiger pathologische Ergebnisse aufweist.

Methoden

Von 158 Patienten/Innen aus den 6 Gruppen Zirrhose Child-Turcotte-Pugh (CTP) A, B und C, mechanische Cholestase, HRS Typ 1 und gesunde Nierenlebendspender/Innen, wurden Parameter aus Blut und Harn bestimmt und eine Harnzytologie durchgeführt. Die Mittelwerte der Serumgallensäuren, des Serumkreatinins und der GFR wurden zwischen den Gruppen verglichen. Für jede Gruppe wurden die Ergebnisse der Harnzytologie (i.e. Detektion von Tubulusepithelzellen, Zylindern und dysmorphen Erythrozyten) dargestellt. Auf Basis der Albumin-Kreatinin-Ratio, des Vorkommens von dysmorphen Erythrozyten und der Menge von β -N-Acetylglucosaminidase (β -NAG) im Harn wurden glomeruläre von tubulären Nierenschäden unterschieden. Statistisch wurden die Korrelationen zwischen dem Auftreten einer pathologischen Harnzytologie und der Höhe der Serumgallensäuren bzw. der GFR errechnet.

Ergebnisse

Bei Patienten/Innen mit Zirrhose, Cholestase und HRS wurden vermehrt Tubulusepithelzellen und Zylinder gefunden, während diese in der Kontrollgruppe nicht vorkamen. Interessanterweise waren die Serumgallensäurespiegel in allen Gruppen gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Bei steigenden Serumgallensäuren wurden statistisch signifikant häufiger renale Tubulusepithelzellen detektiert. In der Cholestasegruppe kam die

Mikroalbuminurie vergesellschaftet mit dysmorphen Erythrozyten als Ausdruck von glomerulären Nierenschäden vor. Eine erhöhte β -NAG im Harn als Marker für tubuläre Nierenschäden wurde bei Zirrhose CTP Score B und C, bei Cholestase und beim HRS häufiger beobachtet als bei Zirrhose CTP A. In der Kontrollgruppe wurde die β -NAG in normalen Mengen ausgeschieden.

Schlussfolgerung

Anhand der vorliegenden Daten konnte gezeigt werden, dass bei Patienten/Innen mit Leberzirrhose oder Cholestase im Vergleich zu Gesunden gehäuft eine pathologische Harnzytologie als Ausdruck einer möglichen strukturellen Nierenschädigung vorliegt. Die Höhe der Serumgallensäuren scheint hierbei eine Rolle zu spielen.

Abstract

Introduction

Acute renal injury (AKI) is a severe complication in patients with cirrhosis. Besides hepatorenal syndrome (HRS), a subtype of prerenal AKI which is believed to be functional in its origin, there is increasing evidence of structural renal lesions in patients with cirrhosis and cholestasis. Recent data underline the potential role of renally eliminated bile acids in the pathogenesis of tubular damage in cholestasis. Such renal lesions are poorly reflected by frequently used laboratory parameters such as creatinine. We therefore hypothesized that microscopic urinalysis reveals pathologic findings upon microscopic urinalysis despite preserved renal function in patients with cirrhosis and cholestasis. To address this hypothesis we aimed to perform microscopic urinalysis in patients with cirrhosis and cholestasis and to compare their results to those of healthy individuals.

Methods

A total of 158 patients were recruited for 6 groups (Cirrhosis CTP A, B and C, cholestasis, HRS and healthy living kidney donors). Blood and urine samples were analyzed and microscopic urinalysis was performed. Means of serum bile acids, serum creatinine and GFR were compared between the groups. Results of microscopic urinalysis (i.e. tubular epithelial cells, casts, dysmorphic erythrocytes) were scheduled for each group. Albumin-creatinine-ratio, presence of dysmorphic erythrocytes and level of beta-N-glucosaminidase (β -NAG) were determined to distinguish between glomerular and tubular damage. Statistical correlation of the occurrence of pathological urinalysis and serum bile acids and GFR respectively was calculated.

Results

Tubular epithelial cells and casts occurred in patients with cirrhosis, cholestasis and HRS, but not in healthy individuals. These groups also showed increased serum bile acids compared to healthy controls. Correlation showed that at higher serum bile acid levels the incidence of tubular epithelial cells rose. Some cholestatic patients showed both, microalbuminuria and dysmorphic erythrocytes. β -NAG was more frequently increased in cirrhosis CTP B and C, cholestasis and HRS than at cirrhosis CTP A. In healthy controls it was within normal range.

Conclusions

Taken together, there is evidence of structural kidney injury in patients with cirrhosis and cholestasis reflected by pathologic microscopic urinalysis compared to healthy individuals. These changes might reflect structural kidney damage despite normal renal function. Elevated serum bile acids seem to play a role in the pathogenesis of structural kidney injury.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	ii
Zusammenfassung	iii
Inhaltsverzeichnis	vii
Glossar und Abkürzungen	x
Abbildungsverzeichnis	xii
Tabellenverzeichnis	xiii
1 Einleitung	1
1.1 Leberzirrhose	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Epidemiologie	1
1.1.3 Ätiologie	1
1.1.4 Diagnose	2
1.1.5 Portaler Hypertonus	4
1.1.6 Klassifikation	5
1.1.7 Prognose	8
1.1.8 Therapie	8
1.2 Cholestatische Lebererkrankungen	8
1.2.1 Definition der Cholestase	8
1.2.2 Ätiologie	9
1.2.3 Diagnose	10
1.3 Das akute Nierenversagen bei Leberzirrhose	10
1.3.1 Definition und Klassifikation	11
1.3.2 Therapie	12
1.4 Hepatorenales Syndrom (HRS)	13
1.4.1 Definition	13
1.4.2 Ätiologie und Pathogenese	13
1.4.3 Epidemiologie	13

1.4.4	Diagnose.....	13
1.4.5	Prognose	15
1.4.6	Therapie.....	15
1.5	Bestimmung der Nierenfunktion bei Patienten/Innen mit Leberzirrhose..	16
1.5.1	Kreatinin.....	16
1.5.2	Clearance	17
1.5.3	Limitationen bei der Bestimmung der Nierenfunktion bei Zirrhose....	18
1.6	Strukturelle Nierenschäden bei Zirrhose und Cholestase	19
1.6.1	Harndiagnostik.....	21
1.7	Hypothese	24
1.8	Ziel der Studie	24
2	Methoden	26
2.1	Studiendesign.....	26
2.2	Auswahl der Patienten/Innen.....	26
2.3	Ein- und Ausschlusskriterien	26
2.4	Erhobene Daten	27
2.5	Harnzytologie	27
2.6	Statistische Auswertung der Ergebnisse der Harnzytologie und der Eiweißdiagnostik im Harn	29
3	Ergebnisse	32
3.1	Demographische Daten der Patienten/Innen.....	32
3.2	Analyse der Labordaten - SCr, GFR und Serumgallensäuren.....	33
3.2.1	Deskriptive Statistik	33
3.2.2	Vergleich von SCr, GFR und Gallensäuren zwischen den Gruppen.	37
3.3	Ergebnisse der Harnzytologie – RTEC, GC und dysmorphe Erythrozyten	38
3.3.1	Leberzirrhose.....	38
3.3.2	Cholestase.....	39

3.3.3	Hepatorenales Syndrom (HRS)	40
3.3.4	Kontrollgruppe – gesunde Nierenlebendspender/Innen.....	40
3.3.5	Gruppenvergleich Harnzytologie.....	40
3.4	Korrelation der Gallensäuren und der GFR mit den Parametern der Harnzytologie	42
3.5	Albumin-Kreatinin-Ratio und beta-N-Acetylglucosaminidase	43
4	Diskussion.....	50
4.1	Laborparameter.....	50
4.2	Harnzytologie	51
4.3	Tubuläre und glomeruläre Marker	53
4.4	Schlussfolgerung.....	54
5	Literaturverzeichnis	56

Glossar und Abkürzungen

ACR: Albumin-Kreatinin-Ratio

Alb: Albumin

ALT: Alanin-Aminotransferase

AMA: Antimitochondriale Antikörper

ANA: Antinukleäre Antikörper

pANCA: Perinukleäre Anti-neutrophile cytoplasmatische Antikörper

Anti-HCV: Antikörper gegen Hepatitis C

AP: Alkalische Phosphatase

ATN: Akute Tubulusnekrose

CG: Cockcroft-Gault

CKD-EPI: Chronic kidney disease epidemiology collaboration

⁵¹Cr-EDTA: Chrom-Ethylendiamintetraessigsäure

CTP: Child-Turcotte-Pugh-Score

CysC: Cystatin C

DTPA: Diethylentriaminpentaacetat

EASL: European association for the study of the liver

ECAD: Extrakorporale Albumin Dialyse

EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

ERCP: Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikografie

EUS: Endoskopischer Ultraschall

GFR: Glomeruläre Filtrationsrate

eGFR: estimated glomerular filtration rate

GC: Graunular Casts - granuläre Zylinder

GGT: Gamma-Glutamyltransferase

GN: Glomerulonephritis

HBsAg: Hepatitis B surface Antigen

HBV: Hepatitis B Virus

HRS: Hepatorenales Syndrom

HST: Harnstoff

IgA: Immunglobulin A

IgG: Immunglobulin G

IgM: Immunglobulin M

INR: International normalized ratio

LKM: Liver kidney microsomal antibodies
MDRD: Modification of Diet in renal disease Study Group
MELD: Model of end-stage Liver disease
MRCP: Magnetresonanzcholangiopankreatikografie
NSAR: Nichtsteroidale Antirheumatika
PBC: Primär biliäre Zirrhose
PSC: Primär sklerosierende Cholangitis
Rpm: Rounds per minute
RTEC: Renal tubular epithelial cells - Renale Tubulusepithelzellen
SCr: Serum-Kreatinin
SIRS: Systemic inflammatory response syndrome
SLA: Soluble liver antigen
SMA: Smooth muscle antibodies
SSC: Sekundär sklerosierende Cholangitis
TIPS: Transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt
UDCA: Ursodeoxycholsäure
β-NAG: Beta-N-acetylglucosaminidase

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Normales Harnsediment mit vereinzelt Leukozyten, Zylindern und Epithelzellen (Quelle: Juliane Buchgraber, BMA, Klin. Abt. für Nephrologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz)	28
Abbildung 2. Tubulusepithelzellen im Harnsediment (Quelle: Juliane Buchgraber, BMA, Klin. Abt. für Nephrologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz)	28
Abbildung 3. Serumkreatininkonzentration der Studienpopulation	35
Abbildung 4. Glomeruläre Filtrationsrate nach CKD-EPI Kreatinin	36
Abbildung 5. Konzentration der Serumgallensäuren der Studienpopulation	36

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Labordiagnostik bei Lebererkrankungen modifiziert nach Wiegand et.al. (26).....	3
Tabelle 2. Child-Turcotte-Pugh-Score (44).....	6
Tabelle 3. AKIN Stadien des akuten Nierenversagens nach KDIGO (94)	11
Tabelle 4. Diagnosekriterien des HRS nach EASL Richtlinien (107).....	14
Tabelle 5. Formeln zur Berechnung der GFR.....	17
Tabelle 6. Schema zur Evaluierung des Harnsediments nach Perazella et. al. (142).....	23
Tabelle 7. Interpretation der Harnzytologie nach Perazella et. al. (142).....	23
Tabelle 8. Erhobene Daten der Studienteilnehmer/Innen.....	27
Tabelle 9. Schema zur Auswertung der Harnzytologie. Modifiziert nach Perazella et. al. (142).....	29
Tabelle 10. Interpretation der Harnzytologie, modifiziert nach Perazella et. al. (142)	29
Tabelle 11. Gruppeneinteilung der Studienteilnehmer/Innen.....	32
Tabelle 12. Ätiologie der Lebererkrankungen der Studienpopulation	33
Tabelle 13. Laborparameter der Studienpopulation	34
Tabelle 14. Prüfung der Laborwerte auf Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test.....	37
Tabelle 15. Mittelwertvergleich der Laborparameter	38
Tabelle 16. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose CTP A, n= 39/41;	38
Tabelle 17. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose CTP B, n=35/38;	39

Tabelle 18. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose CTP C, n=25/28;.....	39
Tabelle 19. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Cholestase. N=15/19;.....	39
Tabelle 20. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit HRS. N=6/8;	40
Tabelle 21. Auswertung der Harnzytologie bei der Kontrollgruppe. N=23/24;	40
Tabelle 22. Vorkommen von RTEC, GC und dysmorphen Erythrozyten in den einzelnen Gruppen	41
Tabelle 23. Ergebnisse der Harnzytologie in den einzelnen Gruppen nach dem Score modifiziert nach Perazella et. al.	41
Tabelle 24. Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie.....	42
Tabelle 25. Korrelation der Gallensäuren und der GFR mit den Ergebnissen der Harnzytologie.	43
Tabelle 26. Albumin-Kreatinin-Ratio	44
Tabelle 27. ACR und dysmorphe Erythrozyten	45
Tabelle 28. Patienten/Innen mit normaler ACR	45
Tabelle 29. Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie.....	46
Tabelle 30. Patienten/Innen mit Makroalbuminurie	46
Tabelle 31. β -NAG im Harn der Studienpopulation	47
Tabelle 32. β -NAG bei Patienten/Innen ohne Albuminurie	48
Tabelle 33. β -NAG bei Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie.....	48
Tabelle 34. β -NAG bei Patienten/Innen mit Makroalbuminurie.....	49
Tabelle 35. Tubuläre und glomeruläre Marker im Harn bei Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie	49

1 Einleitung

1.1 Leberzirrhose

1.1.1 Definition

Der Begriff Zirrhose bezeichnet eine Zerstörung des Lebergewebes mit Untergang von Hepatozyten und Verlust der regulären, lobulären Architektur. Im zerstörten Gewebe bilden sich bindegewebige Narben. In der Folge entstehen Regeneratknoten aus Lebergewebe die von Bindegewebssepten umgeben sind. Das Organ erscheint makroskopisch mit unregelmäßiger oft höckeriger Oberfläche (1-5).

1.1.2 Epidemiologie

Laut einer Schätzung der WHO sind 1,8% der Todesfälle in Europa auf die Leberzirrhose zurückzuführen, was einer Anzahl von 170 000 Menschen pro Jahr entspricht. Die Häufigkeit schwankt regional und nimmt in den letzten Jahren vor allem im Osten Europas, aber auch in Großbritannien und Irland stark zu, während sie in den Mittelmeerländern stagniert oder leicht sinkt (6-8).

1.1.3 Ätiologie

Zur Zirrhose und damit oft irreversiblen Schädigung der Leber kann es im Endstadium verschiedener bekannter Lebererkrankungen oder auch kryptogen, d.h. ohne bekannte Ursache, kommen (3,9,10). Zu den häufigsten Gründen für die Entwicklung einer Zirrhose zählen chronischer Alkoholabusus, Hepatitis B und C und das metabolische Syndrom (6). Weitere, seltenere Auslöser sind Autoimmun- und Gallenwegserkrankungen (Autoimmunhepatitis, primär biliäre Zirrhose, primär sklerosierende Cholangitis) sowie genetisch bedingte metabolische Erkrankungen (Morbus Wilson, hereditäre Hämochromatose, Alpha1-Antitrypsin-Mangel). Sehr selten ist eine Zirrhose auch bakteriell, hypoxisch oder vaskulär bedingt (3).

1.1.3.1 Alkoholinduzierte Leberzirrhose

In Europa ist der Missbrauch von Alkohol die häufigste Ursache für Zirrhose. Der mittlere Alkoholkonsum pro Person und Jahr beträgt derzeit mehr als neun Liter

puren Alkohols (6). Es wurde beobachtet, dass in Ländern, in denen der Konsum von Wein und Spirituosen zunimmt, auch die Prävalenz der Zirrhose steigt.

1.1.3.2 Hepatitis B induzierte Zirrhose

In Europa sind laut aktueller Datenlage 0,5% bis 0,7% der Bevölkerung Träger des Hepatitis B Virus. Von den chronisch an Hepatitis B Erkrankten entwickeln 20% - 30% eine Zirrhose (11,12), welche in 25% der Fälle in ein hepatozelluläres Karzinom übergeht (13). Seit Einführung der Impfung gegen Hepatitis B ist die Anzahl der Infektionen stark im Sinken begriffen (6,14,15).

1.1.3.3 Hepatitis C induzierte Zirrhose

Die Prävalenz der Hepatitis C betrug in den letzten Jahrzehnten zwischen 0,1% und 3,2% (16-19). Seit der Entdeckung des Hepatitis C Virus und der Entwicklung eines diagnostischen Tests in den achtziger Jahren sinkt die Zahl der Neuinfektionen und beschränkt sich derzeit vor allem auf Angehörige des Suchtgiftmilieus. Eine Zirrhose als Komplikation bei Hepatitis C entwickelt sich oft erst bis zu 20 Jahre nach der Erstinfektion. Deshalb ist der Anteil der fortgeschrittenen Lebererkrankungen, die durch Hepatitis C hervorgerufen wurden derzeit trotz sinkender Inzidenz noch sehr hoch (20). Bei 10-20% der chronischen Virusträger kommt es zur Zirrhose (21) und bei 7% davon zu einem hepatozellulären Karzinom (6,22).

1.1.4 Diagnose

Die Diagnose der Zirrhose erfolgt bei zwei Drittel der Erkrankten bereits im dekompenzierten Stadium, da sich erst hier die typischen klinischen Symptome zeigen. Wie Autopsiestudien zeigten, werden viele Fälle erst *post mortem* diagnostiziert (9,23,24).

Eine ausführliche Anamnese vor allem im Bezug auf Risikofaktoren für das metabolische Syndrom, den Missbrauch toxischer Substanzen (u.a. Alkohol), Langzeitmedikamente und Risikoverhalten im Bezug auf chronisch virale Hepatitis (z.B. i.v. Drogenabusus) kann eine Grundlage für eine genauere Untersuchung sein und das individuelle Risiko der Patienten/Innen besser abschätzbar machen (4,25,26). Ein wichtiger Bestandteil der Untersuchungen, auch wenn keine

Symptome vorhanden sind, ist das Messen der Serumkonzentration der Alanin-Aminotransferase (ALT) als Entzündungsparameter und der Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) als Indikator für die Cholestase und den gestörten Leberstoffwechsel (26). Klinische Merkmale der Zirrhose sind Leberhautzeichen (Spider Nävi, Weißnägel, Palmarerythem, Caput medusae, Lackzunge), eine tastbare, knotige Leber, eine Splenomegalie durch portalen Hypertonus, und Foetor hepaticus. Bei dekompensierter Zirrhose kann es zu Ikterus, Aszites (eventuell mit der Komplikation einer spontan bakteriellen Peritonitis), „flapping tremor“ als Zeichen der hepatischen Enzephalopathie oder gastrointestinalen Blutungen (Ösophagusvarizenblutung) kommen. Häufig findet man bei Zirrhotikern/Innen Diabetes mellitus Typ II, Hypogonadismus, Gynäkomastie und Dupuytren'sche Kontrakturen. Konstitutionell sind Anorexie, Verlust von Muskulatur und ein dadurch bedingter Gewichtsverlust typisch (4,25). Bei suspekten Lebererkrankungen muss neben den allgemeinen Laborparametern (siehe Tabelle 1) auch auf das Vorliegen von Hepatitis (B,C), Autoantikörpern, Immunglobulinen und Störungen des Eisenstoffwechsels getestet werden.

Tabelle 1. Labordiagnostik bei Lebererkrankungen modifiziert nach Wiegand et.al. (26)

Allgemeine Parameter	Spezifische Parameter
ALT, AST, GGT, AP, Bilirubin	Hepatitisserologie (HBsAg, anti-HCV)
Gesamtes Blutbild Gerinnung	Autoantikörpertest (ANA, SMA, LKM, SLA, AMA)
Gesamteiweiß, Albumin, Serumelektrophorese	Quantitative Immunglobuline (IgA, IgG, IgM, IgG4)
Cholesterin, Triglyceride, Glucose, HbA1c	Ferritin, Transferrinsättigung, Eisen

Die apparativen Untersuchungen, die für ein schnelles und kostengünstiges Screening von Lebererkrankungen sinnvoll sind, sind die Sonografie und die

Elastographie. Wenn die Möglichkeit vorhanden ist, ist es empfehlenswert diese regelmäßig durchzuführen (27,28). Zur Diagnose der Zirrhose ist die Bildgebung durch Ultraschall, Computertomografie (CT) und Magnetresonanztomografie (MRT) allein nicht geeignet, werden aber zusätzlich Klinik und Anamnese berücksichtigt, ist die Spezifität hoch (25). Besonders die Sonografie wird oft angewandt, da sie günstig und fast überall verfügbar ist. Mit dieser Methode kann das Lebergewebe beurteilt werden und die Pfortader auf Durchmesser und Flussgeschwindigkeit untersucht werden. Typischerweise sind eine inhomogene höckerige Leberoberfläche, eine Verminderung der Zentralvenen, ein vergrößerter Lobus caudatus, eine Splenomegalie und/oder Kollateralvenen sowie Aszites zu erkennen (29). Werden im Ultraschall verdächtige Rundherde oder unklare Läsionen entdeckt, muss weiterführend eine Spiral-CT oder eine MRT mit Kontrastmittel erfolgen (30).

Eine moderne Methode zur Bestimmung des Fibrosegrads der Leber ist die Messung der Steifigkeit des Organs durch transiente Elastographie (FibroScan) (31). Gemessen wird die Geschwindigkeit einer auf der Haut generierten Vibrationswelle sowie deren Eindringtiefe in die Leber. Das Untersuchungsergebnis muss immer im klinischen Kontext betrachtet werden (32). Bei Personen mit sehr hohem BMI (>30), höherem Alter, Aszites und metabolischem Syndrom ist die Messung ungenau (33). Ist eine Leberbiopsie - die hilfreich für die Klärung der Krankheitsursache sein kann - von Nöten, kann diese transkutan, transjugulär oder laparoskopisch durchgeführt werden (34). Eine Biopsie ist auch für spezielle Fragen zu Stadium oder Therapieentscheidung (zB Therapieindikation bei Hepatitis B) indiziert (9,23,25,35).

1.1.5 Portaler Hypertonus

Durch Aktivierung von Sternzellen, glatten Muskelzellen in den Gefäßen und Kontraktion der portalen Myofibroblasten und Vermehrung der extrazellulären Matrix kommt es bei Zirrhose zur Änderung des portalen Blutflusses. Der Druck im Pfortadersystem steigt gegenüber dem in den Lebervenen an. Ab einem Gradienten von 12 mmHg spricht man von einem klinisch relevanten portalen Hypertonus. Dieser tritt bereits bei etwa 60% der Patienten/Innen mit kompensierter Zirrhose auf (36,37). Reaktiv kommt es zu einer Vasodilatation im

Splanchnikusgebiet und zur Ausbildung von Kollateralen. Es entstehen Varizen im Magenfundus und Ösophagus, die bei entsprechender Größe und/oder hohem Druck bluten können, was die am meisten gefürchtete - da häufig letale - Komplikation des portalen Hypertonus darstellt (36,38).

Durch die Vasodilatation im Splanchnikusgebiet wird das effektiv zirkulierende Blutvolumen erniedrigt. Als Reaktion der Niere kommt es zu einer renalen Vasokonstriktion und in Folge zu einem rein funktionellen Nierenversagen, dem hepatorenenalen Syndrom (HRS) (39).

Im Lungenkreislauf kann die Dilatation pulmonaler Gefäße zu einem Rechts-Links Shunt und einem Missverhältnis zwischen der Ventilation und der Perfusion führen (Hepatopulmonales Syndrom) (36,40). Häufig findet man bei Patienten/Innen mit portalem Hypertonus eine Leukopenie, eine Thrombozytopenie und eine Anämie, die teilweise durch den Hypersplenismus, im Falle von Hämoglobin und Thrombozyten zusätzlich auch durch die verminderte Bildung verursacht sind (41). Die Zirrhose ist eine Präkanzerose. Das Risiko ein hepatozelluläres Karzinom zu entwickeln ist bei Erkrankten 35 – 120-fach erhöht (3,6).

1.1.6 Klassifikation

Die Leberzirrhose wird klinisch in ein kompensiertes und dekompenziertes Stadium unterteilt. Die dekompenzierte Zirrhose ist durch Aszites, Varizenblutung, Enzephalopathie und/oder Ikterus definiert. Eine weitere Klassifikation anhand des Child-Turcotte-Pugh-Scores (CTP) und des MELD (Model Of End Stage Liver Disease) Scores ist möglich und aus klinisch prognostischer Sicht sinnvoll und anzustreben (9,23).

1.1.6.1 Child-Turcotte-Pugh Score

Der CTP war in den letzten dreißig Jahren das wichtigste Instrument zur prognostischen Einschätzung der Zirrhose. Die einbezogenen Parameter umfassen Aszites, hepatische Enzephalopathie, Bilirubin, Albumin und Prothrombinzeit oder Quick-Wert. Je nach erreichter Punkteanzahl erfolgt die Einteilung in Stadium A, B oder C (Tabelle 2).

Tabelle 2. Child-Turcotte-Pugh-Score (44)

Kriterien	Punkte		
	1	2	3
Enzephalopathie	Keine	Grad I-II	Grad III-IV
Aszites	Keiner	Leicht (spricht auf Diuretika an)	Mittelgradig (refraktär)
Bilirubin (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albumin (g/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
Prothrombinzeit Verzögerung (s) INR	<4 <1,7	4-6 1,7-2,3	>6 >2,3
A	B		C
5-6 Punkte	7-9 Punkte		10-15 Punkte

Obwohl sein prognostischer Wert immer wieder angezweifelt wurde, konnte in Studien gezeigt werden, dass der CTP eine gute Einschätzung der Mortalität ermöglicht (10). Dennoch gibt es Limitationen. Der Aszites und die hepatische Enzephalopathie werden subjektiv durch den Untersucher beurteilt und sind somit nicht objektiv erfassbar. Beide Parameter können auch durch eine etwaige vorherige Therapie wie z.B. durch die Gabe von Diuretika beeinflusst werden (42). Außerdem sind die Grenzwerte für die kontinuierlichen Parameter willkürlich gewählt. Ab der Über-/Unterschreitung einer gewissen Konzentration von Bilirubin, Albumin bzw. ab einer gewissen Prothrombinzeit ergibt sich kein Unterschied mehr in der Punkteanzahl (42). Eine weitere Ungenauigkeit ergibt sich dadurch, dass die Ätiologie, sowie weitere beeinflussende Faktoren und persistierende Schädigungen, beispielsweise durch bestehenden Alkoholkonsum, eine Virushepatitis oder autoimmun bedingte Entzündungsvorgänge, nicht mit einbezogen werden (43,44). Auch die Nierenfunktion, die einen wichtigen

prognostischen Faktor darstellt, kommt in der Klassifikation des CTP nicht vor (45-48).

1.1.6.2 Model of End Stage Liver Disease (MELD)

Der MELD Score wurde 2002 entwickelt, um das Überleben nach Anlage eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) abschätzen zu können (48). Der MELD Score ergibt eine hohe Treffsicherheit in Bezug auf die 3-Monats Mortalität von Patienten/Innen mit Zirrhose. Deshalb ist der Score inzwischen ein etabliertes Instrument für deren Prognose und besitzt weltweit den höchsten Stellenwert bei Listung zur Lebertransplantation (49,50). Der MELD Score bezieht sich auf die Serumparameter Kreatinin, Bilirubin und INR. Um extreme Werte zu relativieren, werden die drei Werte logarithmiert (45).

$$\text{MELD} = 0,957 \times \log(\text{Kreatinin}) + 0,378 \times \log(\text{Gesamtbilirubin}) \\ + 1,120 \times \log(\text{INR}) + 0,6431$$

Ein Vorteil des MELD Scores ist, dass nur objektive Parameter verwendet werden, obwohl auch diese, vor allem das Kreatinin und die INR, je nach Labor und Bestimmungsmethode starken Schwankungen unterliegen (45,51,52). Obwohl sie unabhängige Risikofaktoren darstellen, wirkt sich das Außerachtlassen der hepatischen Enzephalopathie, der Ösophagusvarizenblutung und der spontan bakteriellen Peritonitis nicht nachteilig auf den prognostischen Wert des MELD Scores aus (53). Der MELD Score besitzt bei weit fortgeschrittener Erkrankung eine hohe Aussagekraft, obwohl das Vorhandensein von Aszites nicht berücksichtigt wird. Bei weniger schwer Erkrankten (MELD <21) ist jedoch das Vorliegen von Aszites und Hyponatriämie ein wichtiger unabhängiger Risikofaktor, der mit der 6-Monats Mortalität dieser Patienten/Innen assoziiert ist (45). Um die Aussagekraft bei niedrigerer Punkteanzahl zu verbessern, wurde eine erweiterte Form des MELD Scores - der MELD-Na Score - etabliert, der zusätzlich den Serumnatriumspiegel mit einbezieht (54,55).

Wie beim CTP wurden auch die Parameter für den MELD Score basierend auf empirischen Untersuchungen ausgewählt. Es darf also nicht als gesichert gelten, dass alle relevanten Kriterien im Modell enthalten sind (53).

1.1.7 Prognose

Während Patienten/Innen mit kompensierter Zirrhose eine mittlere Lebenserwartung von mehr als 12 Jahren haben, ist der Übergang in das dekompensierte Stadium (mit einer Rate von rund 5% - 7% pro Jahr) als prognostisch schlecht anzusehen, da dies mit einem verminderten Überleben von nur rund 2 Jahren assoziiert ist (10,56). Die häufigste Todesursache ist das akut-auf-chronische Leberversagen, wozu im weitesten Sinne auch die Entwicklung eines HRS bzw. die Sepsis zählen. Knapp dahinter liegen in ihrer Häufigkeit die akute Varizenblutung und das hepatozelluläre Karzinom (10).

1.1.8 Therapie

Die wichtigste Maßnahme zur Verbesserung des Gesundheitszustandes ist die Beseitigung der auslösenden Faktoren einer Lebererkrankung. Auch in späteren Stadien kann so noch eine signifikante Verbesserung der Prognose erreicht werden (9,57-59). Patienten/Innen, die an einer kompensierten Zirrhose durch chronische Hepatitis C leiden, profitieren von einer antiviralen Therapie. Derzeit befinden sich zahlreiche neue Präparate zur Behandlung der chronischen Hepatitis C, die auch im Stadium der Zirrhose eingesetzt werden können, in klinischer Erprobung (z.B. Sofosbuvir, Daclatasvir, Ledipasvir) (60-62). Bei Hepatitis B wird eine Therapie mit hochpotenten HBV Polymerasehemmern wie Tenofovir oder Entecavir empfohlen. In 74% der Fälle wird nicht nur die Progression der Hepatitis aufgehalten, sondern sogar der Grad der Zirrhose vermindert (63).

1.2 Cholestatische Lebererkrankungen

1.2.1 Definition der Cholestase

Als Cholestase wird die verminderte Sekretion von Galle aus der Leber in den Darm bezeichnet. Meist liegt dieser eine Obstruktion der ableitenden Gallenwege zugrunde. Abhängig von den betroffenen Gallengängen wird differenziert, ob es sich um eine intra- oder extrahepatische Cholestase handelt. Je nach Dauer der

Erkrankung (mehr oder weniger als sechs Monate) wird zwischen akuter und chronischer Cholestase unterschieden (64).

1.2.2 Ätiologie

Eine intrahepatische Cholestase kann durch eine Dysfunktion der Hepatozyten (z.B. isolierte Exkretionsstörungen) oder eine Obstruktion der kleinen intrahepatischen Gallengänge verursacht werden (65). Die primär biliäre Zirrhose (PBC), eine Autoimmunerkrankung, ist eine Erkrankung bei der durch entzündliche Prozesse die kleinen Gallengänge in der Leber zerstört werden, was zur Fibrose und letztendlich zur Zirrhose führt. Üblicherweise schreitet die Erkrankung langsam voran, Komplikationen der Zirrhose, wie der portale Hypertonus und die Varizenblutung können auch noch nach langer Zeit auftreten (66-69). Es sind zu 90% Frauen betroffen. Die Erkrankung beginnt typischerweise im mittleren Alter (66-68,70).

Eine extrahepatische Cholestase ist meist mechanisch bedingt und entsteht als Folge von Steinen, Tumoren, Zysten oder Verengungen im Bereich der ableitenden Gallenwege. Gallensteine sind in der westlichen Welt sehr häufig. Bis zu 20% der Bevölkerung haben einen Stein in der Gallenblase (71-73), bei 10-15% der symptomatischen Patienten/Innen ist zusätzlich ein Gallengangsstein zu finden (71,72). Es gibt, je nach ihrer Zusammensetzung, verschiedene Arten von Gallensteinen. In den westlichen Staaten handelt es sich meist um Cholesterinsteine. Auslösende Faktoren dafür sind cholesterinreiche Ernährung und eine hypermobile Gallenblase (3,74). Die Therapie bei symptomatischen Gallensteinen ist die Entfernung im Zuge der endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikografie (ERCP), da es sonst zu schwerwiegenden Komplikationen kommen kann (71,73) Um eine Neubildung zu verhindern, ist es wichtig zu untersuchen, ob Fehlbildungen oder andere genetische oder erworbene Risikofaktoren vorliegen. Zu den sklerosierenden Cholangitiden, die sowohl eine extra- als auch intrahepatische Cholestase bzw. beides bedingen können, zählen die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) und die sekundär sklerosierende Cholangitis (SSC). Die Bezeichnung umfasst ein Spektrum chronischer, unterschiedlich schnell fortschreitender Gallenwegserkrankungen, die durch das Vorhandensein von Entzündung, Fibrose und Strikturen charakterisiert sind

(64,75,76). Die Ursache der PSC ist bislang unbekannt, die SSC wird durch Traumata bei Operationen im Bereich der Gallenwege, Gallengangssteine, rezidivierende Pankreatitiden, abdominelle Verletzungen, Tumoren oder häufige Infektionen ausgelöst. Selten kommt die SSC auch assoziiert mit erhöhtem Immunglobulin G4 (IgG4) vor (77,78).

1.2.3 Diagnose

Klinisch kommt es zu Juckreiz, Müdigkeit und bei ausgeprägter Cholestase zu Ikterus. Im Labor sind erhöhte Spiegel der alkalischen Phosphatase (AP) und der GGT nachweisbar (69). Im Verlauf kommt es auch zur Hyperbilirubinämie (v.a. konjugiertes Bilirubin) (79).

Nach einer genauen Anamnese, bei der vor allem die Medikamenteneinnahme und die Familienanamnese wichtig sind, wird eine Oberbauchsonografie durchgeführt, mit der gut zwischen mechanischer und nicht mechanischer Cholestase unterschieden werden kann. Weitere Methoden zur Untersuchung des Gallengangsystems sind die Magnetresonanz-Cholangiopankreatographie (MRCP), die endoskopisch retrograde Cholangiopankreatographie (ERCP) und der endoskopische Ultraschall (EUS). Die MRCP stellt eine rein diagnostische Untersuchung dar, die weder den Nachteil der Strahlenbelastung noch der Invasivität mit sich bringt. Im Gegensatz dazu kann die invasive ERCP zu iatrogenen Pankreatitis oder sogar zu Perforation führen. Es ist deshalb sinnvoll, diese Untersuchung nur durchzuführen, wenn einschlägige Hinweise auf mechanische Verengungen (Steine, Stenosen durch Tumoren und andere Verwachsungen) der Gallenwege vorliegen, bei welchen im Rahmen der ERCP sofort interveniert werden kann (80).

1.3 Das akute Nierenversagen bei Leberzirrhose

Bei der Zirrhose kommt es häufig zum akuten Nierenversagen. Im hospitalisierten Bereich tritt dies bei bis zu 20% der Patienten/Innen auf (81-85). Die Nierenfunktion ist neben dem CTP-Score als Parameter für die Leberfunktion ein guter Prädiktor für die Mortalität bei dekompensierter Zirrhose (10,86).

1.3.1 Definition und Klassifikation

Das akute Nierenversagen ist definiert durch eine plötzliche Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) um 50% vom Ausgangswert, dem Anstieg des Serumkreatinins (SCr) um 0,3 mg/dl bzw. um 50% des Normalwertes, oder die Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie in einem zeitlichen Rahmen von Stunden bis Tagen (87-90). Der extrazelluläre Flüssigkeits-, sowie der Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt sind in ihrem Gleichgewicht gestört und übermäßige Mengen von Stickstoff aus dem Proteinkatabolismus fallen an. (89,91-93). Das akute Nierenversagen wird bezüglich seines Schweregrads basierend auf dem Serumkreatininwert oder der Urinausscheidung in verschiedene Stadien eingeteilt. Aktuell werden dazu vor allem die Kriterien der Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group (Tabelle 3) herangezogen (94). Weitere gängige Schemen sind die RIFLE Klassifikation der Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) (95) und die Einteilung des Acute Kidney Injury Network (AKIN) (96).

Tabelle 3. AKIN Stadien des akuten Nierenversagens nach KDIGO (94)

AKIN Stadium	SCr	Harnausscheidung
I	<ul style="list-style-type: none"> Anstieg $\geq 0,3$ mg/dl ($\geq 26,5$ $\mu\text{mol/l}$) Anstieg auf über das 1,5 – 2 fache des Ausgangswertes 	<ul style="list-style-type: none"> $\leq 0,5$ ml/kg/h für 6-12 Stunden
II	<ul style="list-style-type: none"> Anstieg über das 2 – 3 fache des Ausgangswertes 	<ul style="list-style-type: none"> $\leq 0,5$ ml/kg/h für mehr als 12 Stunden
III	<ul style="list-style-type: none"> Anstieg über das 3 fache des Ausgangswertes Kreatinin $\geq 4,0$ mg/dl (≥ 254 $\mu\text{mol/l}$) Nierenersatztherapie 	<ul style="list-style-type: none"> $\leq 0,3$ ml/kg/h für mehr als 24 Stunden Anurie für mehr als 12 Stunden

Ein Nierenversagen kann eine prärenale, renale oder postrenale Ursache haben.

- Das prärenale Nierenversagen, auch als prärenale Azotämie bezeichnet, ist die häufigste Form des akuten Nierenversagens bei Zirrhose (68%). Es wird durch eine Hypoperfusion der Niere hervorgerufen und zeigt keine glomeruläre oder tubuläre Schädigung. Zu den Ursachen des prärenal Nierenversagens bei den Patienten/Innen mit Zirrhose zählen der zentrale Volumenmangel durch die Aszitesbildung und die Konstriktion der renalen Gefäße als Auslöser für ein hepatorenales Syndrom (HRS). Das HRS ist eine Sonderform und macht rund 34% der Fälle von prärenalem Nierenversagen bei den Zirrhotikern/Innen aus (83,93,97,98).
- Zu einem renalen Nierenversagen kommt es bei 32% der hospitalisierten Zirrhotiker/Innen. Dazu zählen die (i) akute Tubulusnekrose, bei der die Tubuluszellen zugrunde gehen, (ii) die Glomerulonephritis (GN), eine Entzündung der Nierenkörperchen mit systemischer Entzündungssymptomatik und (iii) die interstitielle Nephritis, die medikamentöse oder autoimmune Ursachen haben kann (81,83,89,93,97-101).
- Ein postrenales Nierenversagen entwickelt sich infolge einer Obstruktion im Bereich der ableitenden Harnwege. Diese Form ist bei Zirrhose mit etwa 1% eher selten (93,98).

1.3.2 Therapie

Ideal wäre die Vermeidung oder Prophylaxe des akuten Nierenversagens. Risikofaktoren, auf die geachtet werden soll sind Diabetes mellitus, eine vorbestehende chronische Niereninsuffizienz, Herzerkrankungen, höheres Alter und nephrotoxische Medikamente (101,102). Wird ein akutes Nierenversagen dennoch diagnostiziert, gilt es das intravasale Volumen und den mittleren arteriellen Druck zu erhalten und alle nephrotoxischen Substanzen zu vermeiden. Je nach Ätiologie sind die Behandlung der Grunderkrankung und Beseitigung auslösender Faktoren wichtig (101,103).

1.4 Hepatorenales Syndrom (HRS)

1.4.1 Definition

Das HRS ist eine Sonderform des akuten prärenalen Nierenversagens, das im Rahmen einer dekompensierten Zirrhose oder beim akuten Leberversagen auftritt, ohne dass präexistente Einschränkungen der Nierenfunktion vorliegen. Der SCr-Wert erhöht sich dabei um mindestens 50% des Normalwertes (104,105) und der oft ausgeprägte Aszites kann häufig durch Diuretikatherapie nicht vermindert werden.(106,107) Das HRS gilt als rein funktionelles Nierenversagen (89).

1.4.2 Ätiologie und Pathogenese

Durch Vasodilatation im Splanchnikusgebiet bei gleichzeitig erniedrigtem Herzzeitvolumen kommt es zur Hypovolämie, die reaktiv eine renale Vasokonstriktion bedingt (106). Faktoren, die die Entstehung eines HRS begünstigen, sind bakterielle Infekte, das Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), Diarrhoe und Erbrechen, Diuretika, gastrointestinale Blutungen, Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) und Antihypertensiva (86).

1.4.3 Epidemiologie

Ungefähr 17% der Fälle der akuten Nierenversagen bei stationären Patienten/Innen mit Zirrhose sind auf ein HRS zurückzuführen (93). Das Risiko innerhalb eines Jahres ein HRS Typ 1 zu entwickeln liegt bei dekompensierter Zirrhose bei 20%, wird der Zeitraum auf fünf Jahre erweitert, erhöht es sich auf 40% (108,109).

1.4.4 Diagnose

Die Diagnose des HRS bei Zirrhose erfolgt nach den Kriterien der aktuellen EASL Richtlinien (Tabelle 4) (107):

Tabelle 4. Diagnosekriterien des HRS nach EASL Richtlinien (107)

I.	Zirrhose mit Aszites
II	SCr >1,5 mg/dl (133 µmol/l)
III	Ausschluss eines Schockgeschehens
IV	Fehlen von Hypovolämie <ul style="list-style-type: none"> • keine Verbesserung der Nierenfunktion nach Absetzen von Diuretika über mindestens zwei Tage • Keine Verbesserung durch den Einsatz von Albumin als Plasmaexpander
V	Aktuell oder kürzlich keine Gabe von nephrotoxischen Substanzen (z.B. Aminoglycosidantibiotika, NSAR)
VI	Ausschluss eines parenchymalen Nierenschadens <ul style="list-style-type: none"> • Proteinurie <0,5 g/d, • <50 Erythrozyten/HPF, • keine Auffälligkeiten der Nieren im Ultraschall

Es wird beim hepatorenenalen Syndrom zwischen Typ 1 und Typ 2 unterschieden. Das HRS Typ 1 entwickelt sich fulminant. Das SCr steigt rasch auf das Doppelte des Normalwertes an und kann schlussendlich mehr als 2,5 mg/dl betragen. Meist kommt es zu dieser Form des HRS, wenn Komplikationen, wie Infektionen oder Beeinträchtigung anderer Organe zusätzlich zur Grunderkrankung auftreten. Es kann aber auch spontan entstehen.

Das HRS Typ 2 ist eine langsam progrediente Form bei refraktärem Aszites und ist häufig mit vermehrter Natriumretention assoziiert. Die Nierenfunktion ist moderat aber dauerhaft eingeschränkt. Oft kann sich sekundär, spontan oder durch Trigger wie Infektionen, ein HRS Typ 1 daraus entwickeln (107).

1.4.5 Prognose

Obwohl das Nierenversagen durch HRS rein funktioneller Natur und somit potentiell reversibel ist (110), ist die Prognose schlecht. Die Überlebensrate bei HRS Typ 2 ist bedeutend höher als bei Typ 1 und beträgt im Mittel 6 bis 7 Monate. Im Gegensatz dazu beträgt die mittlere Überlebenszeit beim HRS Typ 1 etwa 1 Monat (111).

1.4.6 Therapie

Der Schwerpunkt in der Therapie des HRS Typ 1 liegt derzeit in der gleichzeitigen Anwendung von Plasmaexpandern und Vasokonstriktoren, wobei hier meist Terlipressin zum Einsatz kommt. Terlipressin ist das synthetisch hergestellte Prodrug des im Hypophysenhinterlappen synthetisierten Hormons Vasopressin. Es wird im Körper enzymatisch zu Lysyl-Vasopressin verarbeitet, welches letztendlich eine Vasokonstriktion - vor allem im Splanchnikusgebiet - bewirkt. So sinkt der portale Druck, während der arterielle Druck steigt und die Nierenperfusion verbessert wird. Verglichen mit Vasopressin hat Terlipressin ein besseres Nebenwirkungsprofil und eine längere Halbwertszeit. Vasopressin wirkt ungefähr 4-6 Stunden nach Verabreichung (112). Durch den erhöhten Blutdruck steigt die GFR und die Plasmaninaktivität wird vermindert. Bei Patienten/Innen, die auf diese Therapie nicht ansprechen, gibt es die Möglichkeit, einen TIPS anzulegen. Eine weitere Option ist die extrakorporale Albumin Dialyse (ECAD). Es liegen aber noch zu wenige Daten vor, um diese Methoden mit Sicherheit empfehlen zu können (90,106). Ursprünglich ging man davon aus, dass die Therapie mit Vasokonstriktoren bei HRS Typ 2 nicht wirksam ist. In neueren Studien wurde aber gezeigt, dass es nach Gabe von Terlipressin oder Noradrenalin bei 60 - 75% der Patienten/Innen zu einer signifikanten Besserung der Erkrankung kommt. Auch die Anlage eines TIPS wird empfohlen, um dem refraktären Aszites entgegenzuwirken. (106,107,113). Die endgültige Therapie des HRS beider Typen ist nach wie vor die Lebertransplantation. Durch die neuen Methoden kann die Zeit bis zur Transplantation überbrückt und so die Mortalität gesenkt werden (90,106).

1.5 Bestimmung der Nierenfunktion bei Patienten/Innen mit Leberzirrhose

Die Bestimmung der GFR zur Einschätzung der Nierenfunktion gehört zu den Routineuntersuchungen in medizinischen Einrichtungen. Die GFR gibt an, wie viel Plasmaflüssigkeit pro Zeiteinheit von den Glomerula filtriert wird (114,115). Ein Wert von über 90 ml/min/1,73 m² wird als normal bezeichnet (116). Da sich im Laufe des Lebens die Zahl der Glomerula vermindert, nimmt die GFR auch bei Gesunden mit dem Alter ab (115).

1.5.1 Kreatinin

Standardmäßig wird die GFR aus dem SCr errechnet, einem Stoffwechselprodukt, das im Muskel durch den nicht-enzymatischen Abbau von Kreatin entsteht (114). Der SCr-Wert ist also von der Muskelmasse abhängig (117). Auch die Einnahme bestimmter Medikamente kann das SCr durch Hemmung der tubulären Sekretion erhöhen (87). Die Messung wird meist anhand der Jaffé Methode vorgenommen. Trotz der Verwendung von standardisierten Parametern kann der Wert durch akute wie chronische Nierenerkrankungen verfälscht sein (117,118). Es gibt verschiedene Formeln zur Berechnung der GFR auf Basis von SCr (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5. Formeln zur Berechnung der GFR

Formel	Parameter	Verwendet seit
Cockcroft Gault (CG) Formel (119)	SCr, Alter, Geschlecht, Körpergewicht	1973
Modification of Diet in Renal Disease Study Group (MDRD) Formel (120)	SCr, HST, Alb, Alter, Geschlecht, ethnische Zugehörigkeit	1999
CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) Formel (117)	SCr, Alter, Geschlecht, ethnische Zugehörigkeit	2009
CKD EPI Mix (121)	SCr, CysC, Alter, Geschlecht	2012

Die derzeit genaueste Formel, die nur mit Kreatinin arbeitet, ist die Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) Formel (117). Alternativ zu Kreatinin kann zur Berechnung der GFR auch Cystatin C (CysC), ein Cystein Proteinase Inhibitor, verwendet werden (122,123). Es wurde auch eine Formel entwickelt, die Kreatinin und Cystatin C mit einbezieht (121,124). Noch konnte aber nicht eindeutig bewiesen werden, welche der Formeln das beste Ergebnis liefert, da sich die Studien in diesem Punkt stark widersprechen (121,125-127).

1.5.2 Clearance

Die direkte Messung der GFR erfolgt durch die Clearance harnpflichtiger Substanzen. Ideal dafür sind Marker, die konstant im Plasma vorkommen, glomerulär frei filtriert und weder tubulär sezerniert noch extrarenal eliminiert werden (128). Den Goldstandard stellt derzeit die Verwendung von Inulin, einem Polysaccharid, das alle oben beschriebenen Eigenschaften besitzt, dar (114). Dabei wird den Patienten/Innen Inulin als Bolus oder konstant ins Blut injiziert. Der Harn wird gesammelt und Blut abgenommen. Aus der Menge an Inulin in Harn und Plasma kann dann die Clearance errechnet werden (114). Die Clearance kann auch mit anderen Substanzen durchgeführt werden. Es kommen außerdem noch ⁵¹Cr-EDTA, DTPA, Iohexol und das dem Inulin ähnliche Polyfruktosan

Sinistrin zum Einsatz (117). Auch die Clearance von Kreatinin wird in der Praxis durchgeführt. Im Unterschied zu Inulin wird Kreatinin aber tubulär sezerniert und auch extrarenal eliminiert, was zu einer Ungenauigkeit dieser Messmethode führt. Je niedriger die GFR, desto mehr fällt diese Tatsache ins Gewicht (129). Außerdem hängt Kreatinin stark mit Muskelmasse, Proteinzufuhr in der Nahrung, Alter und Geschlecht zusammen, was weitere Limitationen der Objektivität bedingt (130). Nachteil der Methode ist der große personelle wie auch der finanzielle Aufwand (117).

1.5.3 Limitationen bei der Bestimmung der Nierenfunktion bei Zirrhose

Patienten/Innen mit Zirrhose bilden eine Gruppe, bei der das Serumkreatinin aus verschiedenen Gründen falsch niedrig oder normal sein kann, obwohl die Nierenfunktion bereits eingeschränkt ist. Bei der Bestimmung der GFR treten bei Zirrhotikern/Innen folgende Limitationen auf:

- Da die Leber geschädigt ist, wird weniger Kreatin produziert und folglich weniger in Kreatinin umgewandelt (119).
- Durch den ödematösen Zustand wird Kreatinin im Körper besser verteilt und der Anteil im Serum sinkt (131).
- Einige Medikamente (Glukokortikoide, Cimetidin, Probenecid u.a.) beeinflussen die tubuläre Sekretion von Kreatinin und steigern die Serumkonzentration dadurch sogar. Glukokortikoide führen aber durch Verlust von Muskelmasse sekundär zu einer Erniedrigung des SCr (131).
- Der photometrische Messwert von Kreatinin wird von chromogenen Substanzen - vor allem von Bilirubin - in die negative Richtung beeinflusst. Das relativiert die Aussage des SCr-Wertes im Routinelabor bei ikterischen Patienten/Innen erheblich (119).
- Die Menge des Kreatinins hängt stark von der Proteinzufuhr ab. Bei Alkoholikern/Innen kommt es oft zu einer Malnutrition, da sie ihren Kalorienbedarf durch den Alkohol decken und die übrige Ernährung vernachlässigen. Alkoholische Getränke enthalten aber überwiegend

Kohlenhydrate, die Proteinzufuhr ist sehr gering und es wird wenig Kreatin in der Leber synthetisiert (123,130).

- Rund 40% der Zirrhotiker/Innen haben eine verminderte Muskelmasse. Dadurch kann im Körper weniger Kreatin gespeichert und auch weniger abgebaut werden, wodurch der SCr-Wert erniedrigt ist. Dieser falsch niedrige Wert beeinflusst in weiterer Folge auch die Scores zur Abschätzung des Schweregrades der Zirrhose (z.B. MELD Score), die damit nicht mehr aussagekräftig sind.
- Während die GFR rapide absinken kann, steigt das SCr erst langsam an. Beim akuten Nierenversagen kann es deshalb vorkommen, dass das SCr noch normal ist, während die Nierenfunktion nahezu null ist (131).

Ein Problem bei der Berechnung der GFR mit Kreatinin-basierten Formeln ist also, dass die Ausgangsgröße keinen verlässlichen Wert darstellt. Geschlechterspezifische (und bei der CG Formel ethnische) Unterschiede werden nicht berücksichtigt. Sowohl die CG-, als auch die MDRD Formel wurden nur an gesunden Probanden getestet und evaluiert. Speziell bei der Zirrhose kommt es aber durch die oben beschriebenen metabolischen Veränderungen zu falsch niedrigen SCr-Werten und die Ergebnisse sind somit nicht aussagekräftig. Die Nierenfunktion wird überschätzt, was zu einer groben Fehlinterpretation des Schweregrades der Erkrankung führen kann (119,131-134).

1.6 Strukturelle Nierenschäden bei Zirrhose und Cholestase

In einer Studie von Jouet et. al., in der transjuguläre Nierenbiopsien bei an Zirrhose erkrankten Patienten/Innen durchgeführt wurden, konnte gezeigt werden, dass renale Läsionen bei Zirrhose häufig sind. Von 55 Patienten/Innen waren nur 5 ohne strukturellen Nierenschaden, bei 41 konnten glomeruläre Schäden, bei 7 interstitielle Nephritiden und bei 2 eine Nierenerkrankung im Endstadium nachgewiesen werden. Etwa 55% der Patienten/Innen mit strukturellen Nierenschäden hatten einen normalen SCr-Wert, wobei die Grenze allerdings bei 1,4 mg/dl festgelegt wurde, was vom üblichen Wert mit 1,2 mg/dl abweicht. So konnten Patienten/Innen mit zumindest leicht eingeschränkter Nierenfunktion eingeschlossen werden. Dennoch lässt sich vermuten, dass es möglicherweise

Patienten/Innen gibt, die bei normalen Laborparametern (SCr) eine bereits geschädigte Nierenstruktur aufweisen (135). Trawalé et. al. untersuchten 66 Patienten/Innen mit Zirrhose und zusätzlich entweder Proteinurie $>0,5$ g/Tag, mikroskopischer Hämaturie und/oder erhöhtem SCr $>1,5$ mg/dl auf strukturelle Nierenschäden, indem sie Biopsien aus der Niere entnahmen. Bei allen Probanden/Innen wurden Schädigungen des Parenchyms detektiert. Bei 62% waren zwei oder mehr renale Strukturen geschädigt. Von glomerulären Schäden waren 77% der untersuchten Patienten/Innen betroffen, von tubulointerstitiellen 94% und von vaskulären 69% (136).

Beide Autoren, Jouet et. al. und Trawale et. al., vermuten, dass strukturelle Nierenschäden bei Patienten/Innen mit Zirrhose häufig sind, auch wenn die Laborparameter (noch) keine Hinweise darauf geben (135,136). Eine tierexperimentelle Arbeit von Fickert, Krones et. al. untersuchte die Auswirkung der mechanischen Cholestase auf die Niere (i.e. cholämische Nephropathie). Bei Mäusen, deren Ductus choledochus ligiert wurde, zeigten sich schon nach drei Tagen geschädigte Tubulusepithelzellen, bei längerer Obstruktion kam es zur interstitiellen Nephritis und tubulointerstitiellen Fibrose. Die Tatsache dass der Nierenphänotyp in dieser Arbeit durch Modifikation des Gallensäurepools (z.B. durch die Verwendung von Knock-out Mäusen mit hydrophilerem Gallensäurepool oder Fütterung der hydrophilen *nor*Ursodeoxycholsäure) signifikant verbessert werden konnte, unterstreicht die pathogenetische Wichtigkeit der bei Cholestase renal eliminierten Gallensäuren in der Entstehung der cholämischen Nephropathie (137).

Dass schon kurzzeitige Obstruktionen der Gallenwege zu strukturellen Nierenschädigungen führen können, zeigten auch Uslu et. al. indem sie zwanzig Patienten/Innen mit mechanischer Cholestase perioperativ genau untersuchten. In 19 Fällen betrug der mittlere arteriellen Druck 70 mmHg - 120 mmHg und die Nierenfunktion konnte sehr gut erhalten werden. Trotzdem zeigten sich bioptisch bei allen Patienten/Innen strukturelle Nierenschäden im Sinne einer Dilatation der peritubulären Venolen und einer akuten Tubulusnekrose (138). Van Slambrouck et. al. untersuchten in einer klinisch-pathologischen Studie ikterische Patienten/Innen mit chronischen Lebererkrankungen und/oder HRS in Bezug auf

das Vorhandensein von Galleausgüssen in den Tubuli der Niere, sogenannten Zylindern. Es zeigte sich, dass diese bei 11 von 13 Patienten/Innen (85%) mit HRS in der Niere nachweisbar waren. Bei 42% der Patienten/Innen, in deren Krankengeschichte kein HRS dokumentiert war, war bereits intrarenal abgelagerte Galle nachweisbar. Das Vorkommen der Galleausgüsse korrelierte positiv mit dem Bilirubinwert, was auf die Folgen hepatischer Erkrankungen für die Niere hinweist und eine dahingehende Diagnostik begründet (139).

Es wird in all diesen Studien auf die strukturellen Veränderungen der Niere bei chronischen Lebererkrankungen und Cholestase hingewiesen. Gallensäuren scheinen zumindest in der Pathogenese der cholämischen Nephropathie eine Rolle zu spielen (137). Ihre potentielle pathogenetische Bedeutung in der Entstehung tubulärer Nierenschäden wird durch die rezenten Daten über Nierenschäden bei cholestatischen Lebererkrankungen, welche mit erhöhten Serumgallensäuren einhergehen, die folglich alternativ renal eliminiert werden, unterstrichen (138,139). Ein frühes Erkennen solcher Nierenparenchymschäden, die das Auftreten eines akuten Nierenversagens begünstigen könnten, wäre im klinischen Alltag von Bedeutung, zumal ein akutes Nierenversagen bei Zirrhose eine schwerwiegende Komplikation darstellt. Bei Patienten/Innen mit Zirrhose und/oder Cholestase wurde derzeit neben der invasiven Nierenbiopsie, die erstens bei Zirrhose mit einem erhöhten Blutungsrisiko verbunden ist und zweitens Schäden am distalen Nephron möglicherweise nicht erfasst, keine diagnostische Methode untersucht, die einfach durchzuführen und treffsicher ist. Eine solche Methode könnte neben anderen Parametern im Harn (Eiweißdiagnostik etc.) die Harnzytologie darstellen.

1.6.1 Harndiagnostik

1.6.1.1 Harnzytologie

Die Harnzytologie ist ein Instrument zur Unterscheidung zwischen funktionellem (prärenalem) und strukturellem (Glomerulonephritis, akute Tubulusnekrose) Nierenversagen. Es konnte durch den Vergleich mit Biopsien gezeigt werden, dass die Harnzytologie eine verlässliche Methode ist, mit der die Ursache der Nierenfunktionseinschränkung, sowie ihre Progression gut eingeschätzt werden können (140).

Im Harn werden bei akuter Tubulusnekrose (ATN) im Gegensatz zum prärenalen Nierenversagen üblicherweise renale Tubulusepithelzellen (RTEC), granuläre Zylinder (GC), Eiweißzylinder und gemischte Zylinder gefunden (88,101,141). Perazella et. al. entwickelten ein Schema, mit dem zwischen prärenalem Nierenversagen und akuter Tubulusnekrose differenziert werden kann. In dieses bezogen sie die Anzahl der RTEC und der GC pro high-power-field (HPF) ein. Das Fehlen von RTEC und GC im Harn (1 Punkt) wird als Ausdruck eines prärenalen Nierenversagens interpretiert. Sind RTEC und GC vorhanden, werden je nach Anzahl derselben pro HPF (1-5 oder 6-10/6-20) zwei oder drei Punkte vergeben (Tabelle 6). Die Wahrscheinlichkeit, dass bei ≥ 2 Punkten tatsächlich eine ATN vorliegt, steigt mit Zunahme der Punkteanzahl, während die Wahrscheinlichkeit, dass es sich doch um ein prärenales Nierenversagen handelt, mit steigendem Score sinkt (Tabelle 7) (142).

Tabelle 6. Schema zur Evaluierung des Harnsediments nach Perazella et. al. (142)

RTEC/HPF	GC/HPF	Punkte
0	0	1
0	1-5	2
1-5	0	
1-5	1-5	3
0	6-10	
6-20	0	

Tabelle 7. Interpretation der Harnzytologie nach Perazella et. al. (142)

1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
prärenales Nierenversagen	ATN	ATN

Ein großer Vorteil der Harnzytologie ist, dass sie wenig technischen Aufwand erfordert, dadurch gut verfügbar und schnell durchführbar ist und wenig Kosten verursacht (143). Ein potentieller Nachteil ist der personelle Aufwand. Üblicherweise wird der zentrifugierte Harn gefärbt und von einer spezialisierten Person unter dem Mikroskop begutachtet. Die Resultate von routinemäßig eingesetzten Automaten, z.B. Sysmex UF-500i, UF-1000i u.a. (Sysmex Corporation, Kobe, Japan), Iris IQ Elite (Iris Diagnostics France, Baillet en France, Frankreich), Fast-Read 102 (Biosigma, S.R.L., Italien) etc. sind vielversprechend (144,145).

1.6.1.2 Proteine im Harn

In den Glomerula der Niere werden beim Filtrieren des Primärharns größere und/oder negativ geladene Proteine, wie Albumin oder α 2-Makroglobulin

zurückgehalten. Kleine Proteine, wie beta-N-Acetylglucosaminidase (β -NAG) und alpha-1-Mikroglobulin werden filtriert und von den Nierentubuli wieder aufgenommen. Findet man vermehrt Proteine im Harn, kann deren Größe und Menge Aufschluss über die geschädigte Struktur geben (146,147).

Um die Menge des ausgeschiedenen Albumins zu messen, kann eine Harnsammlung über 24 Stunden durchgeführt werden. Alternativ kann der Quotient von Albumin und Kreatinin (Albumin-Kreatinin-Ratio) berechnet werden (148). Wird im Harn Albumin in einer Konzentration von 30-300 mg/g Kreatinin ausgeschieden, spricht man von einer moderat erhöhten Albumin-Kreatinin-Ratio (ACR) (Mikroalbuminurie), bei über 300 mg/g von einer stark erhöhten ACR (Makroalbuminurie) (149). Während eine Makroalbuminurie ein Zeichen für eine glomeruläre Nierenschädigung ist (147), kann bei der Mikroalbuminurie nicht zwischen glomerulären und tubulären Schädigungen unterschieden werden. Werden zusätzlich zur Mikroalbuminurie dysmorphe Erythrozyten im Harn detektiert, kann man von geschädigten Glomerula ausgehen (148,150).

Das Vorhandensein von β -NAG und α 1-Mikroglobulin im Harn spricht für eine verminderte tubuläre Rückresorption kleiner Proteine im Sinne einer Schädigung der tubulären Strukturen (147,148,151).

1.7 Hypothese

Bei Patienten/Innen mit Zirrhose zeigt sich trotz normaler Nierenfunktion gemessen anhand des Serumkreatinins und der darauf basierenden glomerulären Filtrationsrate eine pathologische Harnzytologie, die auf Vorhandensein einer strukturellen Nierenschädigung hinweist.

1.8 Ziel der Studie

Das Ziel der Studie ist es zu klären, ob die Harnzytologie von Patienten/Innen mit Zirrhose oder Cholestase gehäuft pathologische Befunde gegenüber einem Vergleichskollektiv aufweist, obwohl die Serumparameter keinen Hinweis auf eine funktionelle Einschränkung der Nierenfunktion ergeben. Dies könnte in Zukunft richtungsweisend für die Differentialdiagnose des ANV bei Leberzirrhose bzw. generell für Nierenschädigungen im Rahmen einer Zirrhose sein. Zusätzlich

könnte unsere Studie einen Beitrag zur Identifikation eines Früherkennungsparameters für diese klinische Problematik leisten, da sich chronische Nierenstörungen oft durch einen langen subklinischen Verlauf auszeichnen und so die Patienten oft zu spät erfasst werden.

2 Methoden

2.1 Studiendesign

Die Studie wurde als nicht-interventionelle, kontrollierte klinische Studie durchgeführt. Die Patienten/Innen, die an der Studie teilnahmen, wurden im Rahmen von Routinekontrollen im Ambulanzbetrieb, sowie während stationärer Aufenthalte am LKH Univ.-Klinikum Graz rekrutiert. Die Studie wurde von der Ethikkommission gemäß den Richtlinien der Deklaration von Helsinki bewilligt (EK-Nr: 23-497 ex 10/11).

2.2 Auswahl der Patienten/Innen

Es wurden 158 Patienten/Innen in sechs Gruppen eingeteilt (Leberzirrhose CTP A, Leberzirrhose CTP B, Leberzirrhose CTP C, Cholestase, HRS, Kontrollgruppe/Nierenlebendspender/Innen). Sie wurden mittels schriftlicher Einverständniserklärung umfassend aufgeklärt und erklärten sich freiwillig bereit eine Blut- und Urinprobe abzugeben.

2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

- Alter 16 – 75 Jahre
- Leberzirrhose Stadium CTP A, B, C, Cholestase oder Hepatorenales Syndrom, gesunde potentielle Nierenlebendspender/Innen
- Stabile Nierenfunktion (eGFR ≥ 60 ml/min) außer bei Patienten/Innen mit HRS
- negativer Schwangerschaftstest bei Patientinnen

Ausschlusskriterien:

- Vorbestehende Nierenerkrankung, Nierendysfunktion (eGFR ≤ 60 ml/min) außer bei Patienten/Innen mit HRS
- Diabetes mellitus
- Insuffizient eingestellter arterieller Hypertonus
- Regelmäßige Einnahme von nephrotoxischen Medikamenten (z.B. Aminoglycoside, NSAR) außer Diuretika

- Malignome im Urogenitaltrakt
- Rezidivierende Harnwegsinfekte
- Hepatischen Enzephalopathie Grad II-III (Im Sinne der fehlenden Einwilligungsfähigkeit)
- Schwangerschaft

2.4 Erhobene Daten

Von jedem Patienten/jeder Patientin wurden eine Blut- und eine Urinprobe sichergestellt. Es wurden EDTA-Blut, Serum und Plasma gewonnen (insgesamt ca. 35 ml). Die Urinprobe (ca. 100 ml) wurde sofort ausgewertet, um ein genaues Ergebnis zu erhalten.

Tabelle 8. Erhobene Daten der Studienteilnehmer/Innen

Parameter aus EDTA-Blut, Serum und Plasma	Bilirubin Gallensäuren, Albumin, Serumkreatinin, GFR, Cystatin C, Prothrombinzeit
Parameter aus dem Urin	Protein, Albumin β -NAG

2.5 Harnzytologie

Die Harnzytologie wurde innerhalb von zwei Stunden nach dem Gewinnen des Harns von dafür ausgebildeten Fachkräften durchgeführt und von diesen nach dem unten angeführten Schema (Tabelle 9) ausgewertet.

Für die Durchführung wurde der frische Harn für 10 Minuten bei 1000 rounds per minute (rpm) zentrifugiert und der entstandene Überstand verworfen. Das übriggebliebene Sediment wurde leicht geschüttelt. Zuerst wurde eine automatische Flusszytometrie mit dem Automaten Sysmex UF 1000 (Sysmex Corporation, Europe) durchgeführt. Anschließend wurde ein Ausstrich des Harnsedimentes auf einem Objektträger fixiert und mit der Methode nach Papanicolaou gefärbt. Unter dem Mikroskop wurde der Ausstrich unter

Verwendung der Immersionsöltechnik begutachtet. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen Beispiele für solche Präparate.

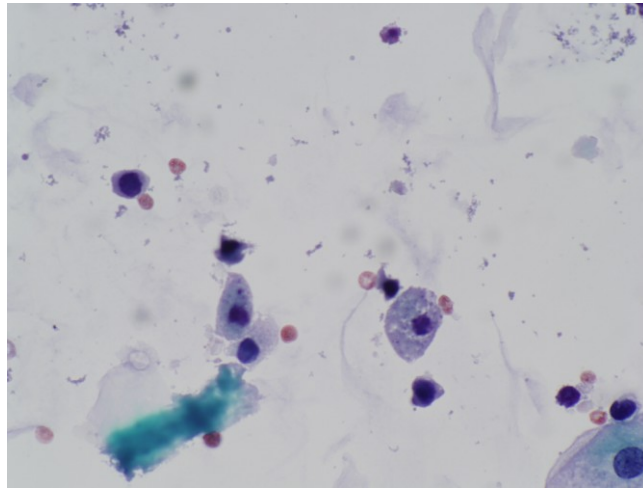


Abbildung 1. Normales Harnsediment mit vereinzelt Leukozyten, Zylindern und Epithelzellen (Quelle: Juliane Buchgraber, BMA, Klin. Abt. für Nephrologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz)

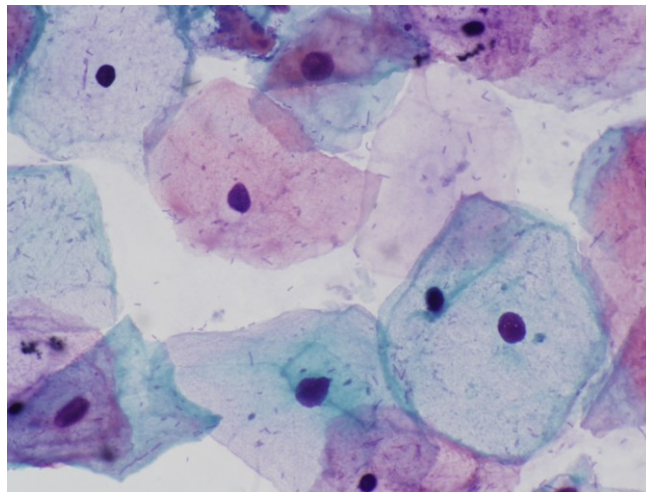


Abbildung 2. Tubulusepithelzellen im Harnsediment (Quelle: Juliane Buchgraber, BMA, Klin. Abt. für Nephrologie, Universitätsklinik für Innere Medizin Graz)

Für die Beurteilung des Präparates im High-Power-Field (HPF) wurde eine 500-fache Vergrößerung eingestellt. Das gesamte Blickfeld in dieser Vergrößerung wurde in 10 Gesichtsfelder unterteilt. Für jedes Gesichtsfeld wurde die Anzahl an RTEC und GC abgezählt und jede dieser Zellen pro Gesichtsfeld (=0,1 Zellen/HPF) mit 0,1 Punkten gewertet. Die gesamte Anzahl der Zellen und Zylinder wurde im Schema gekennzeichnet und die resultierende Punkteanzahl wurde dokumentiert. Bei 0 Punkten wurde kein tubulärer Schaden, bei 1 Punkt ein

leichter tubulärer Schaden und bei zwei oder mehr Punkten ein schwerer tubulärer Schaden angenommen (Tabelle 10). Zusätzlich wurde erhoben, ob sich Leukozyten und Erythrozyten im Harn befanden und bezüglich der Erythrozyten auch die Form analysiert (eumorph oder dysmorph).

Tabelle 9. Schema zur Auswertung der Harnzytologie. Modifiziert nach Perazella et. al. (142)

RTEC/HPF	GC/HPF		
	0-0,9	1-5	>5
0-0,9	0	1	2
1-5	1	2	3
>5	2	3	4

Tabelle 10. Interpretation der Harnzytologie, modifiziert nach Perazella et. al. (142)

0	1	≥2
Kein tubulärer Schaden	Leichter tubulärer Schaden	Schwerer tubulärer Schaden

2.6 Statistische Auswertung der Ergebnisse der Harnzytologie und der Eiweißdiagnostik im Harn

Die Auswertung der Daten erfolgte mittels deskriptiver und analytischer Statistik. Für die Laborparameter SCr, Serumgallensäuren und GFR wurden der Mittelwert und die Standardabweichung der einzelnen Gruppen berechnet. Graphisch wurden die Parameter als Boxplots dargestellt. Es wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft, ob eine Normalverteilung vorliegt. Ergebnisse mit einem p-Wert von über 0,05 wurden als normalverteilt angesehen. Die Mittelwerte der verschiedenen Gruppen wurden mit jenen der Kontrollgruppe auf signifikante Unterschiede verglichen. Für normalverteilte Werte wurde der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet, für nicht normalverteilte der U-Test nach Mann und Whitney. Ergebnisse mit einem p-Wert von unter 0,01 wurden als signifikant angesehen.

Die Ergebnisse der Harnzytologie wurden für die Gruppen einzeln ausgewertet. Der erzielte Score nach dem beschriebenen Auswertungsschema, sowie das Vorkommen von RTEC, GC und dysmorphen Erythrozyten wurden in Tabellen mit absoluten und relativen Zahlen dargestellt. Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen wurden in einer Tabelle zusammengefasst um einen besseren Überblick zu schaffen. Diejenigen Fälle, bei denen eine positive Harnzytologie gefunden wurde, wurden in einer separaten Tabelle mit den Daten Harnzytologie-Score, Gruppe, Ätiologie, Alter, SCr, Gallensäuren und GFR dargestellt.

Es wurde mit einer Korrelationsanalyse untersucht, ob ein linearer Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der Harnzytologie und den Laborparametern Serumgallensäuren und GFR besteht. Der Korrelationskoeffizient gibt die Stärke des Zusammenhanges an, das Vorzeichen + bedeutet einen positiven Zusammenhang, d.h. je höher der eine Parameter, desto höher der andere, ein - gibt einen negativen Zusammenhang an, also je niedriger der eine Parameter, desto höher der zweite. Die Signifikanz, ausgedrückt durch „p“ sagt aus, ob die Irrtumswahrscheinlichkeit gering genug ist, um den Korrelationskoeffizienten als gültig betrachten zu können. Für die Darstellung der Korrelationen zwischen ordinal skalierten Daten, diese waren der Harnzytologie-Score und das Vorhandensein von dysmorphen Erythrozyten, wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet. Die Korrelation der Laborparameter mit der Anzahl von RTEC und GC wurde mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet, da es sich um metrisch skalierte Daten handelt. Bei einem p-Wert von unter 0,05 wurde der Zusammenhang als signifikant gewertet.

Die Patienten/Innen wurden außerdem nach der Höhe der ACR im Harn ausgewertet. Es wurden Tabellen mit der Anzahl der Patienten/Innen ohne Albuminurie, mit Mikroalbuminurie und mit Makroalbuminurie erstellt. Von diesen Patienten/Innen wurde auch erhoben, ob dysmorphe Erythrozyten gefunden worden waren.

Auch das Vorhandensein von β -NAG im Harn wurde für die einzelnen Gruppen ausgewertet. Die ACR, die β -NAG und das Vorhandensein von dysmorphen

Erythrozyten wurde für die Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie noch einmal in einer eigenen Tabelle zusammengefasst um etwaige Gemeinsamkeiten zwischen diesen Patienten/Innen erkennen zu können.

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten der Patienten/Innen

In die Studie wurden 158 Patienten/Innen eingeschlossen, 100 davon männlich (63%) und 58 (37%) weiblich. Das Alter der Patienten/Innen reichte von 17 bis 72 Jahren. Der Mittelwert betrug 52 Jahre. Die Patienten/Innen wurden in die 6 Gruppen Zirrhose CTP A, B und C, mechanische Cholestase, HRS und die Kontrollgruppe, bestehend aus gesunden Nierenlebendspendern/Innen, eingeteilt (Tabelle 11). Die Gruppe der Patienten/Innen mit Zirrhose war mit insgesamt 107 Personen (CTP A=41, CTP B=38, CTP C=28) die größte. Es wurden 19 Patienten/Innen mit Cholestase und 8 mit HRS eingeschlossen. Die Kontrollgruppe der gesunden Nierenlebendspender/Innen umfasste 24 Personen.

Tabelle 11. Gruppeneinteilung der Studienteilnehmer/Innen

Gruppe	Gesamt	Männlich	Weiblich
Zirrhose CTP A	41	30	11
Zirrhose CTP B	38	29	9
Zirrhose CTP C	28	20	8
Cholestase	19	8	11
HRS	8	7	1
Kontrollgruppe (Lebendspender/Innen)	24	6	18
Gesamt	107	100	58

Ätiologisch war die Zirrhose am häufigsten durch Alkoholismus bedingt. Andere Ursachen waren Hepatitis C, Autoimmunhepatitis, PSC sowie Morbus Wilson und Hämochromatose. Die Cholestase war in den meisten Fällen mechanisch, seltener durch PSC, SSC oder unbekannte Ursachen bedingt. Die Mehrheit der Patienten/Innen mit HRS waren, wie schon die Patienten/Innen mit Zirrhose, alkoholbedingt erkrankt, weitere durch Hämochromatose und alkoholische Steatohepatitis. Die Tabelle 12 zeigt die detaillierten ätiologischen Daten der eingeschlossenen Patienten/Innen.

Tabelle 12. Ätiologie der Lebererkrankungen der Studienpopulation

Ätiologie	Zirrhose (n=107)	Cholestase (n=19)	HRS (n=8)
Alkoholbedingt	80	-	6
Hepatitis B	2	-	-
Hämochromatose	1	-	1
PSC	4	4	-
kryptisch	3	1	-
mechanisch	-	12	-
Autoimmunhepatitis	4	-	-
Hepatitis C	8	-	-
Morbus Wilson	2	-	-
Alkoholische Steatohepatitis	1	-	1
SSC	1	2	-
PBC	1	-	-

3.2 Analyse der Labordaten - SCr, GFR und Serumgallensäuren

3.2.1 Deskriptive Statistik

Tabelle 13 zeigt die Mittelwerte und die Standardabweichung des SCr, der Gallensäuren und der GFR einzeln für die verschiedenen Gruppen. Das Einschlusskriterium der GFR von mindestens 60 ml/h/1,73 m² wurde bei zwei

Patienten/Innen aus der Gruppe Zirrhose CTP C (GFR 46 bzw. 56 ml/h/1,73 m²) nicht eingehalten. Sie wurden aber trotzdem in die Auswertung mit einbezogen, da es sich um zwei Ausreißer handelt, die den Mittelwert nur gering beeinflussten. Der Minimalwert in dieser Gruppe betrug 46 ml/h/1,73 m², der Maximalwert 137 ml/h/1,73 m².

Tabelle 13. Laborparameter der Studienpopulation

	SCr mg/dl	Gallensäuren µmol/l	GFR ml/h/1,73 m ²
Zirrhose A (n=39/41)	0,8±0,2	39±42,5	102±15
Zirrhose B (n=37/38)	0,8±0,2	68±61	101±12
Zirrhose C (n=27/28)	0,8±0,2	142±104	95±19
Cholestase (n=18/19)	0,9±0,2	122±103	93±21
HRS (n=8/8)	2±0,8	185±118	42±17
Kontrollgruppe (n=23/24)	0,8±0,1	3,3 ±2,6	94±12

Um den Vergleich der Parameter zwischen den verschiedenen Gruppen anschaulicher zu machen, werden sie in den Abbildungen 3 bis 5 als Boxplots dargestellt. Ersichtlich sind darin der Mittelwert, die erste und dritte Quartile, das Minimum und das Maximum.

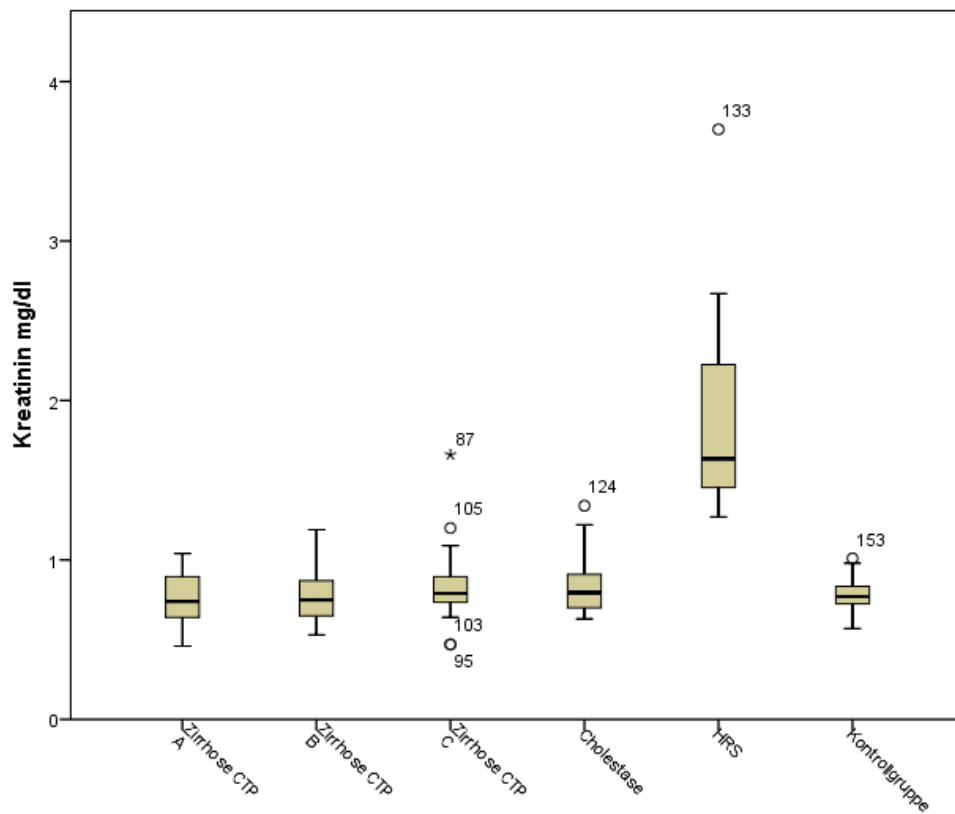


Abbildung 3. Serumkreatininkonzentration der Studienpopulation

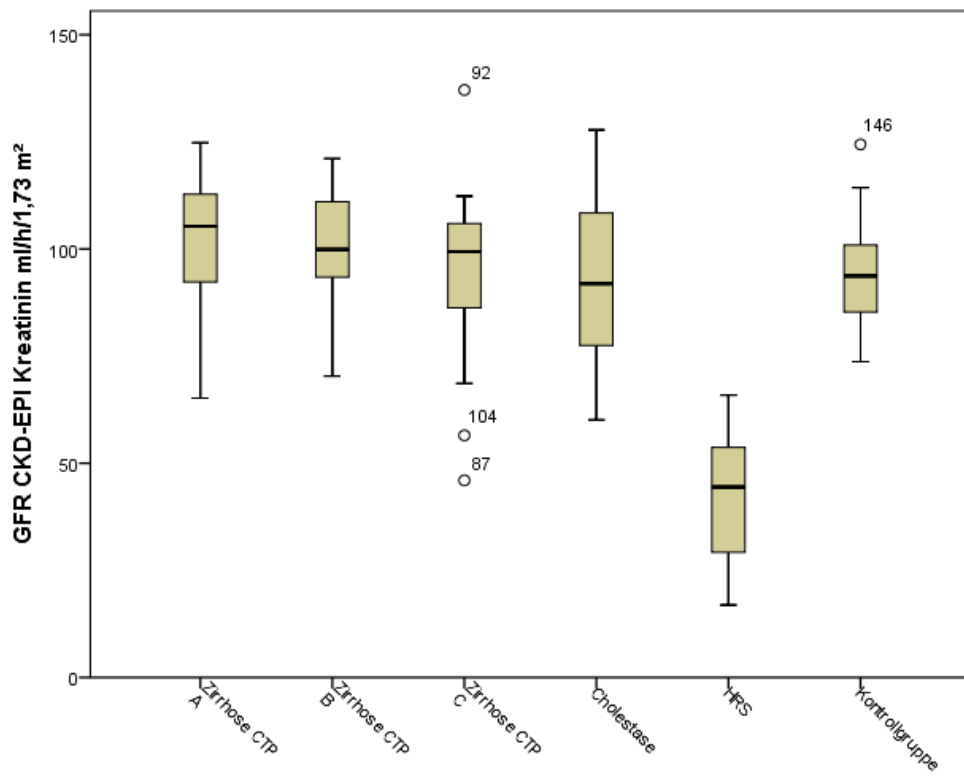


Abbildung 4. Glomeruläre Filtrationsrate nach CKD-EPI Kreatinin

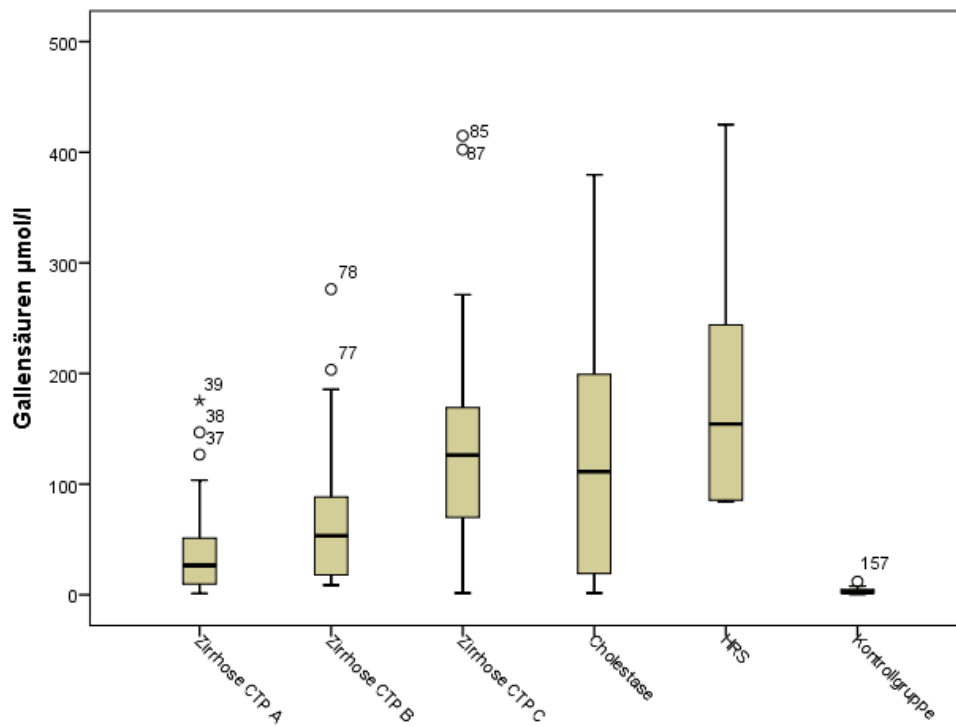


Abbildung 5. Konzentration der Serumgallensäuren der Studienpopulation

3.2.2 Vergleich von SCr, GFR und Gallensäuren zwischen den Gruppen

3.2.2.1 Überprüfung auf Normalverteilung

Die Überprüfung der Parameter auf Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt und ergab, dass die Kreatininkonzentration sowie die GFR und die Konzentration der Serumgallensäuren in allen Gruppen der Studienpopulation normalverteilt sind (Tabelle 14).

Tabelle 14. Prüfung der Laborwerte auf Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test.

	SCr mg/dl	Gallensäuren μmol/l	GFR ml/h/1,73 m ²
Zirrhose A (39/41)	1	0,1	0,6
Zirrhose B (37/38)	0,8	0,2	0,9
Zirrhose C (27/28)	0,2	0,5	0,7
Cholestase (18/19)	0,4	0,9	1
HRS (8/8)	0,3	0,9	1
Kontrollgruppe (23/24)	1	0,2	1

3.2.2.2 Mittelwertvergleich von SCr, GFR und Gallensäuren im Serum

Die Mittelwerte der einzelnen Gruppen wurden mit denen der Kontrollgruppe verglichen. Da die Mittelwerte in allen Gruppen normalverteilt sind, wurde für alle Vergleiche der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet.

In der Gruppe HRS zeigten sich bei allen Werten signifikante Unterschiede auf einem Niveau von $p < 0,01$ im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Gallensäuren unterschieden sich auch in den Gruppen Zirrhose CTP A, B und C und Cholestase auf einem Niveau von $p < 0,001$. In der Tabelle 15 sind die signifikanten Ergebnisse farblich hervorgehoben.

Tabelle 15. Mittelwertvergleich der Laborparameter

	Gallensäuren μmol/l	SCr mg/dl	GFR ml/h/1,73 m ²
Zirrhose A (n=39/41)	39 (p=0,000)	0,76 (p =0,613)	102 (p =0,025)
Zirrhose B (n=37/38)	68 (p=0,000)	0,78 (p =0,958)	101 (p =0,033)
Zirrhose C (n=27/28)	142 (p =0,000)	0,84 (p =0,258)	95 (p =0,789)
Cholestase (n=1/198)	122 (p =0,000)	0,85 (p =0,17)	93 (p =0,89)
HRS (n=8/8)	185 (p =0,000)	1,95 (p =0,000)	42 (p =0,000)
Kontrollgruppe (n=23/24)	3,3	0,78	93

3.3 Ergebnisse der Harnzytologie – RTEC, GC und dysmorphe Erythrozyten

3.3.1 Leberzirrhose

In der Gruppe der Patienten/Innen mit Zirrhose wurde die Harnzytologie in 99 Fällen korrekt ausgewertet. Davon entfallen 39 auf die Gruppe mit CTP A, 35 auf die Gruppe mit CTP B und 25 auf die Gruppe mit CTP C. Eine Harnprobe bei einem Patienten/einer Patientin mit CTP A kann nach dem verwendeten Score als positiv gewertet werden. RTEC fanden sich bei 15 Patienten/Innen, GC bei 8 Patienten/Innen. Die Tabellen zeigen die genaue Aufschlüsselung der Ergebnisse (Tabellen 16-18).

Tabelle 16. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose CTP A, n= 39/41;

	Anzahl positive	Prozent positive
Harnzytologie	1	3%
RTEC	5	13%
GC	3	8%
Dysmorphie	7	18%

Tabelle 17. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose CTP B, n=35/38;

	Anzahl positive	Prozent positive
Harnzytologie	0	0
RTEC	5	14%
GC	2	6%
Dysmorphie	9	26%

Tabelle 18. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose CTP C, n=25/28;

	Anzahl positive	Prozent positive
Harnzytologie	0	0
RTEC	5	20%
GC	3	12%
Dysmorphie	8	32%

3.3.2 Cholestase

Bei den Patienten/Innen mit Cholestase waren 15 Auswertungen gültig. Zwei von diesen Patienten/Innen hatten eine positive Harnzytologie mit dem Score 1. Bei fünf Patienten/Innen wurden RTEC gefunden. Bei drei Patienten/Innen wurden GC pro Gesichtsfeld gefunden. Von den 15 bewerteten Urinproben enthielten 5 dysmorphe Erythrozyten (Tabelle 19).

Tabelle 19. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Cholestase. N=15/19;

	Anzahl positive	Prozent positive
Harnzytologie (Score=1)	2	13%
RTEC	5	33%
GC	3	20%
Dysmorphie	5	33%

3.3.3 Hepatorenales Syndrom (HRS)

In der Gruppe HRS war eine von 6 ausgewerteten Harnzytologien positiv mit einem Punkt laut verwendetem Schema. Bei 5 von 6 Patient/Innen wurden renale Tubulusepithelzellen detektiert. GC wurden in einer Probe gefunden. Keiner der Patienten/Innen hatte dysmorphe Erythrozyten im Harn (Tabelle 20).

Tabelle 20. Auswertung der Harnzytologie bei Patienten/Innen mit HRS. N=6/8;

	Anzahl positive	Prozent positive
Harnzytologie (Score=2)	1	17%
RTEC	4	67%
GC	1	17%
Dysmorphie	0	0

3.3.4 Kontrollgruppe – gesunde Nierenlebendspender/Innen

In der Kontrollgruppe gab es keine positive Harnzytologie. RTEC und GC kamen ebenfalls nicht vor. In 4 von 23 ausgewerteten Harnzytologien wurden dysmorphe Erythrozyten festgestellt (Tabelle 21).

Tabelle 21. Auswertung der Harnzytologie bei der Kontrollgruppe. N=23/24;

	Anzahl positive	Prozent positive
Harnzytologie	0	0
RTEC	0	0
GC	0	0
Dysmorphie	4	17%

3.3.5 Gruppenvergleich Harnzytologie

In den Tabellen 22 und 23 werden die Ergebnisse der Harnzytologie für alle Gruppen dargestellt, um einen besseren Vergleich möglich zu machen. Auffällig ist, dass GC wesentlich seltener in großer Zahl auftreten, als RTEC. In der Gruppe mit HRS kommen dysmorphe Erythrozyten nicht vor, obwohl sie in allen anderen Gruppen häufiger als die anderen Zellen sind.

Tabelle 22. Vorkommen von RTEC, GC und dysmorphen Erythrozyten in den einzelnen Gruppen

	RTEC 0,1-0,9	RTEC ≥ 1	GC 0,1-0,9	GC ≥ 1	Dysmorphie Erythrozyten
Zirrhose A (n=39/41)	4 (10%)	1 (3%)	3 (8%)	0	7 (20%)
Zirrhose B (n=35/38)	5 (14%)	0	2 (6%)	0	9 (26%)
Zirrhose C (n=25/28)	5 (20%)	0	3 (12%)	0	8 (32%)
Cholestase (n=15/19)	3 (13%)	2 (20%)	3 (13%)	0	5 (33%)
HRS (n=6/8)	3 (17%)	2 (50%)	0	1 (17%)	0
Kontrollgruppe (n=23/24)	0	0	0	0	4 (17%)

Tabelle 23. Ergebnisse der Harnzytologie in den einzelnen Gruppen nach dem Score modifiziert nach Perazella et. al.

	Zirrhose	Cholestase	HRS	Kontrollgruppe
Harnzytologie	1 (1%)	2 (13,3%)	1 (16,7%)	0 (0%)

Die Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie anhand des modifizierten Scores nach Perazella werden in der Tabelle 24 dargestellt. Es werden der erreichte Score in der Harnzytologie, die Gruppe, die Ätiologie, das Alter, die GFR, die Gallensäuren und der SCr-Wert aufgelistet. Es bietet sich bei diesen Patienten/Innen bezüglich der genannten Parameter ein buntes Bild, das nicht auf Gemeinsamkeiten schließen lässt.

Tabelle 24. Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie

Harnzytologie Score	Erkrankung	Ätiologie	Alter	GFR ml/h/1,73 m ²	SCr mg/dl	Gallens. µmol/l
1	Zirrhose	Hep B	33	111,83	0,9	2,94
1	Cholestase	Mechan.	69	60,2	1,22	178,82
1	Cholestase	kryptisch	27	72,09	1,34	236,1
2	HRS	äthylisch	59	16,86	3,7	159,72

3.4 Korrelation der Gallensäuren und der GFR mit den Parametern der Harnzytologie

Eine signifikante Korrelation ergab sich bei der statistischen Auswertung zwischen den Gallensäuren und den RTEC. Je höher die Gallensäuren im Serum sind, desto wahrscheinlicher ist es, RTEC im Harn zu finden. Der Korrelationskoeffizient von 0,2 gibt an, dass es sich um eine geringe Korrelation handelt, der p-Wert von 0,015, dass die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 0,05 liegt und die Korrelation signifikant ist.

Auch für die GFR ergaben sich signifikante Korrelationen. Je niedriger die GFR ist, desto häufiger treten RTEC und GC auf. Der Korrelationskoeffizient für die GFR und die RTEC beträgt -0,4. Mit einem p-Wert von unter 0,001 ist das Ergebnis höchst signifikant. Für das Auftreten von GC ergab sich ebenso ein negativer Zusammenhang mit der GFR. Der Korrelationskoeffizient betrug -0,3 bei einer statistischen Signifikanz von $p < 0,001$.

Zusammengefasst bedeutet das Ergebnis, dass bei hohen Gallensäuren im Serum vermehrt RTEC im Harn auftreten. Je niedriger die GFR, desto häufiger treten RTEC und GC im Harn auf.

Das Gesamtergebnis der Harnzytologie korreliert weder mit den Gallensäuren, noch mit der GFR und weist damit keinen linearen Zusammenhang mit diesen Parametern auf. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 25 aufgelistet.

Tabelle 25. Korrelation der Gallensäuren und der GFR mit den Ergebnissen der Harnzytologie.

		Harnzytologie	RTEC	GC	Dysmorphie Erythrozyten
Gallensäuren	Korrelationskoeffizient	0,127	0,207	0,117	-0,07
	Signifikanzniveau	0,136	0,015	0,173	0,417
GFR (CKD-Epi-Crea)	Korrelationskoeffizient	-0,154	-0,404	-0,315	0,036
	Signifikanzniveau	0,071	0,000	0,000	0,679

3.5 Albumin-Kreatinin-Ratio und beta-N-Acetylglucosaminidase

In der Gruppe mit Zirrhose CTP A gab es unter den 26 von 41 Patienten/Innen, bei denen die ACR bestimmt werden konnte, drei mit Mikroalbuminurie und eine/n mit Makroalbuminurie. Bei den Patienten/Innen mit CTP B (21/38) und C (14/28) gab es jeweils eine/n mit Mikroalbuminurie. Fünf der gültigen Patienten/Innen mit Cholestase (14/19) hatten eine Mikroalbuminurie und von den Gewerteten der Gruppe mit HRS (4/8) wurde dreimal eine Mikroalbuminurie diagnostiziert (Tabelle 26).

Tabelle 26. Albumin-Kreatinin-Ratio

	ACR <30 mg/g	ACR 30-300 mg/g	ACR >300 mg/g
Zirrhose A (n=26/41)	22	3	1
Zirrhose B (n=21/38)	20	1	0
Zirrhose C (n=14/28)	13	1	0
Cholestase (n=14/19)	9	5	0
HRS (n=4/8)	1	3	0
Kontrollgruppe (n=14/24)	12	2	0
n=	77	15	1

Die Tabelle 27 zeigt, wie viele der Patienten/Innen mit und ohne Albuminurie auch dysmorphe Erythrozyten im Harn hatten. Von den 70 Patienten/Innen mit normaler ACR hatten 17 auch dysmorphe Erythrozyten, 53 hatten keine. Bei den 13 Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie konnten in drei Fällen dysmorphe Erythrozyten gefunden werden, bei 10 jedoch nicht. Der einzige Patient/die einzige Patientin mit Makroalbuminurie wies dysmorphe Erythrozyten auf.

Tabelle 27. ACR und dysmorphe Erythrozyten

	ACR <30 mg/g	ACR 30-300 mg/g	ACR >300 mg/g	n=
Dysmorphe Erythrozyten <u>JA</u>	17	3	1	21
Dysmorphe Erythrozyten <u>NEIN</u>	53	10	0	63
Dysmorphe Erythrozyten <u>nicht beurteilbar</u>	7	2	0	9
n=	77	15	1	93

Die Tabelle 28 zeigt, wie oft dysmorphe Erythrozyten bei den Patienten/Innen mit normaler ACR in den einzelnen Gruppen vorkamen. In allen Gruppen, außer beim HRS, traten sie auf, ohne dass die ACR erhöht war. Beim größeren Anteil der Patienten/Innen wurden aber keine dysomorphen Erythrozyten detektiert.

Tabelle 28. Patienten/Innen mit normaler ACR

	Dysmorphe <u>JA</u>	Dysmorphe <u>NEIN</u>	Dysmorphe <u>nicht beurteilbar</u>	n=
Zirrhose A	3	18	1	22
Zirrhose B	5	14	1	20
Zirrhose C	5	7	1	13
Cholestase	1	5	3	9
HRS	0	1	0	1
Kontrollgruppe	3	8	1	12
n=	17	53	7	77

Nur drei der 15 Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie (=20%) hatten gleichzeitig auch dysmorphe Erythrozyten, davon eine/r aus der Gruppe mit Zirrhose (20%), zwei mit Cholestase (50%) (Tabelle 29).

Tabelle 29. Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie

	Dysmorphe JA	Dysmorphe NEIN	Dysmorphe nicht beurteilbar	n=
Zirrhose A	1	2	0	3
Zirrhose B	0	1	0	1
Zirrhose C	0	1	0	1
Cholestase	2	2	1	5
HRS	0	2	1	3
Kontrollgruppe	0	2	0	2
n=	3	10	2	15

Es gab nur einen Patienten/eine Patientin mit Makroalbuminurie, diese/r hatte auch dysmorphe Erythrozyten im Harn (Tabelle 30).

Tabelle 30. Patienten/Innen mit Makroalbuminurie

	Dysmorphe JA	Dysmorphe NEIN	Dysmorphe nicht beurteilbar	n=
Zirrhose A	1	0	0	1
Zirrhose B	0	0	0	0
Zirrhose C	0	0	0	0
Cholestase	0	0	0	0
HRS	0	0	0	0
Kontrollgruppe	0	0	0	0
n=	1	0	0	1

Die Studienpopulation wurde auch auf eine erhöhte β -NAG im Harn untersucht, da diese ein Marker für tubuläre Schädigungen der Niere ist (151). Die Tabelle 31 zeigt, dass eine erhöhte β -NAG in den Gruppen mit Zirrhose CTP B (56%) und CTP C (69%) viel häufiger vorkommt, als in der Gruppe mit Zirrhose CTP A (20%).

Auch in der Gruppe mit Cholestase zeigte sich bei 67% eine erhöhte β -NAG, in der Gruppe mit HRS sogar bei 100%. Bei den lebergesunden Patienten/Innen der Kontrollgruppe kam eine erhöhte β -NAG dagegen gar nicht vor.

Tabelle 31. β -NAG im Harn der Studienpopulation

	β -NAG <7 U/l	β -NAG \geq 7 U/l	n=
Zirrhose A (41/41)	33	8	41
Zirrhose B (36/38)	16	20	36
Zirrhose C (26/28)	8	18	26
Cholestase (18/19)	6	12	18
HRS (6/8)	0	6	6
Kontrollgruppe (24/24)	24	0	24
n=	87	64	151

Die Patienten/Innen wurden anschließend wieder getrennt nach der Albumin-Kreatinin-Ratio und den einzelnen Gruppen ausgewertet. Die Tabelle 32 zeigt, dass bei Patienten/Innen ohne Albuminurie in den Gruppen mit Zirrhose CTP B und C, Cholestase und HRS die β -NAG häufig erhöht ist, ohne dass gleichzeitig eine Albuminurie besteht.

Bei den Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie kam in den Gruppen mit Cholestase und HRS häufiger zusätzlich eine erhöhte β -NAG vor, während das in den Gruppen mit Zirrhose nur in vereinzelt Fällen und in der Kontrollgruppe überhaupt nicht auftrat (Tabelle 33). Bei Makroalbuminurie trat auch eine erhöhte β -NAG auf, wie in Tabelle 34 dargestellt wird.

Tabelle 32. β -NAG bei Patienten/Innen ohne Albuminurie

	β -NAG <7 U/l	β -NAG \geq 7 U/l	n=
Zirrhose A (22/22)	16	6	22
Zirrhose B (19/20)	7	12	19
Zirrhose C (13/13)	1	12	13
Cholestase (9/9)	3	6	9
HRS (1/1)	0	1	1
Kontrollgruppe (12/12)	12	0	12
n=	39	37	76

Tabelle 33. β -NAG bei Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie

	β -NAG <7 U/l	β -NAG \geq 7 U/l	n=
Zirrhose A	2	1	3
Zirrhose B	1	0	1
Zirrhose C	0	1	1
Cholestase	1	4	5
HRS	0	3	3
Kontrollgruppe	2	0	2
n=	6	9	15

Tabelle 34. β -NAG bei Patienten/Innen mit Makroalbuminurie

	β -NAG <7 U/l	β -NAG \geq 7 U/l
Zirrhose A	0	1
Zirrhose B	0	0
Zirrhose C	0	0
Cholestase	0	0
HRS	0	0
Kontrollgruppe	0	0
n=	0	1

Bei den Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie waren die Albumin-Kreatinin-Ratio und die β -NAG - sofern messbar - erhöht, wenn auch nur in moderatem Ausmaß. Dysmorphe Erythrozyten waren jedoch nicht immer vorhanden. Die Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie werden in der Tabelle 35 zusammengefasst.

Tabelle 35. Tubuläre und glomeruläre Marker im Harn bei Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie

Harnzytologie	ACR mg/g	β -NAG U/l	Dysmorphe Erythrozyten
1	36	9,5	ja
1	35	8,8	nein
1	Nicht möglich	7,0	ja
2	Nicht möglich	Nicht möglich	nein

4 Diskussion

Eine Stärke der vorliegenden Studie war die große Anzahl an Probanden/Innen, die insgesamt eingeschlossen wurden (n=158). Trotzdem konnten nur 8 Personen mit der Diagnose HRS eingeschlossen werden, was wiederum eine Schwäche der Studie darstellt.

Die kleine Zahl der Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie limitierte die Suche nach bestehenden Gemeinsamkeiten. Die Untersuchung einer größeren Personengruppe mit positiver Harnzytologie wäre notwendig, um solche feststellen zu können. Da keine Untersuchungen vorliegen, die zeigen, ob bei den Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie in unserer Studie zum Zeitpunkt der Probenentnahme strukturelle Nierenschäden vorlagen, kann die Harnzytologie dahingehend nicht evaluiert werden.

Eine Limitation ist auch, dass die GFR schlussendlich nicht, wie in den Einschlusskriterien dargestellt, bei allen Patienten/Innen mindestens 60 ml/h/1,73 m² war, sondern zwei Patienten/Innen mit einem geringeren Wert zum Zeitpunkt der Rekrutierung (46 bzw. 56 ml/h/1,73 m²) in die Analyse einbezogen wurden. Ein weiterer negativer Aspekt ist, dass bei einigen Patienten/Innen Werte im Blut und/oder Harn nicht bestimmt werden konnten, da das Material nicht verwertbar war und die Proben nur einmal, und zwar zum Zeitpunkt des Einschlusses, gewonnen wurden. Dieses Problem trat vor allem bei der ACR auf.

4.1 Laborparameter

Dass die Gruppe mit HRS ein signifikant höheres SCr und eine signifikant niedrigere GFR hatte, als die Kontrollgruppe, war durch die diagnostischen Kriterien des HRS zu erwarten und ist daher kein überraschendes Ergebnis. Aufgrund der Einschlusskriterien (GFR >80 ml/min/1,73 m², keine bekannte Nierenerkrankung) kam es auch in den Gruppen mit Zirrhose zu keiner Abweichung, obwohl schlussendlich zwei Patienten/Innen die ausgewertet wurden eine GFR von <60 ml/min/1,73 m² hatten.

Interessant ist, dass sich bei den Serumgallensäuren in allen Gruppen (Leberzirrhose, Cholestase, HRS) eine signifikante Erhöhung gegenüber der

Kontrollgruppe zeigte, während das SCr und die GFR sich (außer beim HRS definitionsbedingt) nicht unterschieden.

4.2 Harnzytologie

Bei den Patienten/Innen mit Zirrhose und Cholestase kam eine pathologische Harnzytologie häufiger vor als in der Kontrollgruppe. Die Anzahl der positiven Ergebnisse i.S. einer pathologischen Harnzytologie anhand eines angewandten Schemas (modifiziert nach Perazella et al.) betrug 4. Bei weiteren 20 Patienten/Innen in den verschiedenen Gruppen wurden RTEC, bei weiteren 11 GC detektiert, jedoch in zu geringer Anzahl um bei der Auswertung anhand des oben genannten Schemas einen positiven Score zu erreichen. Dem gegenüber konnten bei keinem der Patienten/Innen aus der Kontrollgruppe RTEC oder GC gefunden werden. Fraglich ist, wie das Vorkommen von RTEC und GC in geringerer Zahl bewertet werden soll, da es doch auffällig ist, dass diese bei gesunden Menschen überhaupt nicht auftreten. Demnach sollte die Verwendung einer solchen „strengen“ Klassifikation in Hinblick auf die Bewertung etwaiger struktureller Nierenschäden bei Patienten/Innen mit chronischen Lebererkrankungen überdacht werden.

Während das Gesamtergebnis der Harnzytologie weder mit der GFR, noch mit den Gallensäuren korreliert, kam es zu einem negativen statistischen Zusammenhang sowohl zwischen der GFR und den RTEC, als auch zwischen der GFR und den GC und zu einem positiven Zusammenhang zwischen den Gallensäuren und den RTEC, wobei hier, im Gegensatz zum Gesamtergebnis der Harnzytologie auch geringere Zahlen als 1 pro Gesichtsfeld berücksichtigt wurden. Da es sich bei der Berechnung der Korrelationskoeffizienten aber lediglich um ein statistisches Maß handelt, das den linearen Zusammenhang in dieser Population angibt, kann aus diesem Ergebnis nicht zwingend auf einen kausalen Zusammenhang geschlossen werden. Weitere Forschungsarbeiten bezüglich der Gallensäuren und der GFR im Bezug auf die Harnzytologie bei Patienten/Innen mit Zirrhose und Cholestase wären dahingehend aufschlussreich.

Jouet et. al. zeigten in ihrer Studie, in der sie bei Patienten/Innen mit Zirrhose Biopsien durchführten, dass 28% der Patienten/Innen mit eingeschränkter Nierenfunktion keine oder nur geringe Parenchymschädigungen hatten. Dagegen konnten bei 55% der Patienten/Innen mit normaler Nierenfunktion mittlere oder sogar schwere Schädigungen nachgewiesen werden (152). In unserer Studie hatten zwei der vier Harnzytologie-positiven Patienten/Innen eine vollkommen normale GFR. Auch hier konnten die im Labor bestimmten funktionellen Nierenparameter keinen Hinweis auf eine strukturelle Nierenschädigung geben.

Trawale et. al. untersuchten in ihrer Studie 65 Patienten/Innen mit Zirrhose und Proteinurie oder Hämaturie oder einem Serumkreatinin von über 1,5 mg/dl mittels Nierenbiopsie auf renale Läsionen. Es wurde bei jedem Patienten/jeder Patientin mindestens eine Art von struktureller Schädigung gefunden, bei den meisten mehrere. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass fehlende Proteinurie und Hämaturie eine vorhandene Nierenparenchymschädigung nicht ausschließen können (136). In unserer Studie wurden vorwiegend Patienten/Innen mit normaler Nierenfunktion untersucht. Trotzdem zeigten sich bei einigen RTEC und GC im Harn die als Ausdruck einer potentiellen Schädigung des Nierenparenchyms interpretiert wurden, auch wenn sie in geringer Zahl vorkamen. Es waren auch einige Patienten/Innen mit Mikroalbuminurie und/oder dysmorphen Erythrozyten und/oder erhöhter β -NAG im Harn in der Studienpopulation, was einen weiteren Hinweis auf glomeruläre bzw. tubuläre Schäden darstellt. Ob diese Ergebnisse tatsächlich auf die Allgemeinheit übertragbar sind und eine therapeutische Konsequenz nach sich ziehen sollten, wäre eine interessante Fragestellung für zukünftige Forschungsarbeiten.

Die Arbeiten von van Slambrouck et. al. (139) sowie von Fickert et. al. (137) untersuchten die Auswirkungen der Cholestase auf das Nierenparenchym und entdeckten dabei Zusammenhänge. Auch in unserer Studie gab es eine Gruppe mit Cholestase, bei der die Harnzytologie durchgeführt wurde. Es konnten, verglichen mit den Gruppen der Patienten/Innen mit Zirrhose, gehäuft pathologische Harnzytologien gefunden werden. Auch die positive Korrelation der Höhe der Gallensäuren mit den RTEC weist in die Richtung, dass die alterative

renale Elimination von Gallensäuren oder anderer gallepflichtiger Substanzen bei Cholestase die Niere strukturell schädigen kann.

Sehr aufschlussreich ist auch die Studie von Uslu et. al., in der die Auswirkungen einer kurzzeitigen Gallenwegsobstruktion untersucht wurden. Bei einer mittleren Dauer der Obstruktion von 15 Tagen und trotz normalem arteriellem Blutdruck und guter Nierenfunktion wurden bei allen Patienten/Innen sowohl dilatierte peritubuläre Venolen, als auch akute Tubulusnekrosen gefunden. Dieses Ergebnis zeigt, dass cholestatische Erkrankungen starke Auswirkungen auf die Nierenstruktur haben (138). Dazu passen auch die Ergebnisse unserer Studie, die zeigen, dass auch bei Patienten/Innen mit Cholestase RTEC und GC im Harn vorkommen. Es wurde bei zwei Patienten/Innen eine positive Harnzytologie gefunden, was auf einen leichten Nierenparenchymschaden hinweist. Da, wie die Ergebnisse zeigen, bei Cholestase die Gallensäuren im Serum stark erhöht sind, sollte bei dieser Erkrankung besonders auf die Nierenfunktion geachtet werden.

4.3 Tubuläre und glomeruläre Marker

Bei der Gruppe mit Cholestase wurde das gleichzeitige Auftreten von Mikroalbuminurie und dysmorphen Erythrozyten häufiger beobachtet, als in den anderen Gruppen. Schon 1983 zeigten Emancipator et. al. am Tiermodell, dass sich das Ligieren des Ductus choledochus auf die Nierenstruktur auswirkt. Bei Mäusen, deren Gallenfluss unterbrochen wurde, lagerten sich IgA Immunkomplexe im Mesangium der Glomerula ab, während das bei solchen ohne induzierte Gallenabflussstörung nicht der Fall war. Das bloße Vorhandensein des IgA in der Blutbahn konnte dafür nicht verantwortlich gemacht werden, da bei allen Mäusen der Serumspiegel durch zuvor oral zugeführtes IgA erhöht war. Trotzdem kam es bei den gallengangligierten Mäusen zu einem noch höheren Gesamtwert an IgA im Serum, als bei den nicht ligierten Mäusen, und zu dessen mesangialer Ablagerung. Diese Ergebnisse ließen die Autoren darauf schließen, dass bei obstruktiven Gallenwegserkrankungen sowohl die Clearance erniedrigt, als auch die Produktion von Immunkomplexen gegenüber Gesunden erhöht ist (153). Es wäre möglich, dass es sich bei den Patienten/Innen unserer Studie, die an Cholestase erkrankt sind und ein glomeruläres Muster zeigten, um eine

Ablagerung von IgA Immunkomplexen handelt. Diese Hypothese wäre ein Ausgangspunkt für weitere Studien.

Die hohe Anzahl an Patienten/Innen mit erhöhter β -NAG im Harn lässt vermuten, dass tubuläre Nierenschäden bei Patienten/Innen mit chronischen Lebererkrankungen sehr häufig sind. Sie scheinen, wie die Zahlen zeigen, mit dem Schweregrad der Zirrhose zusammenzuhängen, da mit steigendem CTP ein zunehmender Anteil der Patienten/Innen eine erhöhte β -NAG im Harn aufweist. Auch bei Cholestase und HRS kam eine erhöhte β -NAG häufig vor. Die zuvor erwähnten Studien zeigten schon, dass durch die Zirrhose meist mehrere Strukturen der Niere geschädigt werden. Im Fall der Cholestase könnte das aus dieser Studie auch hervorgehen, da in dieser Gruppe sowohl die tubulären Marker, als auch das Albumin häufiger erhöht waren, als in den anderen Gruppen und öfter dysmorphe Erythrozyten im Harn gefunden wurden. Diese Kombination weist auf eine glomeruläre Schädigung hin. Auch bei dem Patienten/der Patientin mit Makroalbuminurie, einem deutlichen Zeichen für eine pathologisch hohe Durchlässigkeit der glomerulären Membran, fanden sich nicht nur dysmorphe Erythrozyten, sondern auch der tubuläre Marker β -NAG in hoher Konzentration.

4.4 Schlussfolgerung

Der Vergleich der Patienten/Innen mit positiver Harnzytologie (Tabelle 24) lässt darauf schließen, dass auch bei normalen Nierenfunktionsparametern (SCr, GFR) RTEC und GC im Harn auftreten können. Auch die Tatsache, dass die Ergebnisse der Harnzytologie keine statistisch signifikante Korrelation mit der GFR zeigen, weist in diese Richtung. Dass bei vielen Patienten/Innen mit Zirrhose und/oder Cholestase RTEC und GC im Harn vorliegen, wenn auch in zu geringer Zahl, um einen positiven Score zu erreichen, während bei der Kontrollgruppe solche Zellen nicht vorkamen, zeigt, dass die Harnzytologie eine sehr sensitive Untersuchungsmethode ist. Die Kriterien für den Score wurden sehr streng gewählt. Die zentrale Frage für die Anwendung bleibt, wie das Vorkommen von RTEC und GC bei einer negativen Harnzytologie anhand von Scoring Systemen zu bewerten ist.

Die hohe Anzahl an Patienten/Innen mit glomerulären und tubulären Markern zeigt, dass die Niere bei chronischen Lebererkrankungen häufig strukturell geschädigt zu sein scheint. Unsere Ergebnisse lassen vermuten, dass die tubulären Strukturen häufiger betroffen sind, als die glomerulären. Es ist daher sinnvoll, bei Patienten/Innen mit solchen Erkrankungen regelmäßig die Albumin-Kreatinin-Ratio sowie die tubulären Marker zu bestimmen, um Informationen über eine beginnende Nierenschädigung und gegebenenfalls deren Weiterentwicklung zu erhalten.

5 Literaturverzeichnis

- (1) Oxford Textbook of Clinical Hepatology. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 1999.
- (2) Diseases of the Liver and Biliary System. 11th ed. Oxford: Blackwell Science; 2002.
- (3) Greten H, Rinninger F, Greten T editors. Innere Medizin. 13.th ed. 70469 Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2010.
- (4) Berg T. Diagnostik bei erhöhten Leberwerten. Gastroenterologe 2009 01.11.2009;4(6):557-572.
- (5) Schiff's Diseases of the Liver. 9th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2003.
- (6) Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. J Hepatol 2013 Mar;58(3):593-608.
- (7) Leon DA, McCambridge J. Liver cirrhosis mortality rates in Britain from 1950 to 2002: an analysis of routine data. Lancet 2006 Jan 7;367(9504):52-56.
- (8) Zatonski WA, Sulkowska U, Manczuk M, Rehm J, Boffetta P, Lowenfels AB, et al. Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe. Eur Addict Res 2010;16(4):193-201.
- (9) Saunders JB, Walters JR, Davies AP, Paton A. A 20-year prospective study of cirrhosis. Br Med J (Clin Res Ed) 1981 Jan 24;282(6260):263-266.
- (10) D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. J Hepatol 2006 Jan;44(1):217-231.
- (11) Cadranet JF, Lahmek P, Causse X, Bellaiche G, Bettan L, Fontanges T, et al. Epidemiology of chronic hepatitis B infection in France: risk factors for significant

fibrosis--results of a nationwide survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2007 Aug 15;26(4):565-576.

(12) Mota A, Areias J, Cardoso MF. Chronic liver disease and cirrhosis among patients with hepatitis B virus infection in northern Portugal with reference to the viral genotypes. *J Med Virol* 2011 Jan;83(1):71-77.

(13) Hatzakis A, Wait S, Bruix J, Buti M, Carballo M, Cavaleri M, et al. The state of hepatitis B and C in Europe: report from the hepatitis B and C summit conference*. *J Viral Hepat* 2011 Sep;18 Suppl 1:1-16.

(14) Zacharakis G, Kotsiou S, Papoutselis M, Vafiadis N, Tzara F, Pouliou E, et al. Changes in the epidemiology of hepatitis B virus infection following the implementation of immunisation programmes in northeastern Greece. *Euro Surveill* 2009 Aug 13;14(32):19297.

(15) Salleras L, Dominguez A, Bruguera M, Plans P, Espunes J, Costa J, et al. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in pregnant women in Catalonia (Spain). *J Clin Virol* 2009 Apr;44(4):329-332.

(16) Cozzolongo R, Osella AR, Elba S, Petruzzi J, Buongiorno G, Giannuzzi V, et al. Epidemiology of HCV infection in the general population: a survey in a southern Italian town. *Am J Gastroenterol* 2009 Nov;104(11):2740-2746.

(17) Fabris P, Baldo V, Baldovin T, Bellotto E, Rassu M, Trivello R, et al. Changing epidemiology of HCV and HBV infections in Northern Italy: a survey in the general population. *J Clin Gastroenterol* 2008 May-Jun;42(5):527-532.

(18) Quoilin S, Hutse V, Vandenberghe H, Claeys F, Verhaegen E, De Cock L, et al. A population-based prevalence study of hepatitis A, B and C virus using oral fluid in Flanders, Belgium. *Eur J Epidemiol* 2007;22(3):195-202.

(19) Gheorghe L, Csiki IE, Iacob S, Gheorghe C, Smira G, Regep L. The prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in adult population in Romania: a nationwide survey 2006 - 2008. *J Gastrointestin Liver Dis* 2010 Dec;19(4):373-379.

- (20) Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2001 Oct;34(4 Pt 1):809-816.
- (21) Alter MJ. The epidemiology of acute and chronic hepatitis C. *Clin Liver Dis* 1997 Nov;1(3):559-68, vi-vii.
- (22) Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997 Sep;26(3 Suppl 1):34S-38S.
- (23) Gines P, Quintero E, Arroyo V, Teres J, Bruguera M, Rimola A, et al. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology* 1987 Jan-Feb;7(1):122-128.
- (24) Conn H, Atterbury C. *Diseases of the liver*. 7.th ed. Philadelphia: Schiff, L.; Schiff, E.; 1993.
- (25) Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008 Mar 8;371(9615):838-851.
- (26) Wiegand J, Berg T. The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis. *Dtsch Arztebl Int* 2013 Feb;110(6):85-91.
- (27) Roulot D, Costes JL, Buyck JF, Warzocha U, Gambier N, Czernichow S, et al. Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut* 2011 Jul;60(7):977-984.
- (28) Haring R, Wallaschofski H, Nauck M, Dorr M, Baumeister SE, Volzke H. Ultrasonographic hepatic steatosis increases prediction of mortality risk from elevated serum gamma-glutamyl transpeptidase levels. *Hepatology* 2009 Nov;50(5):1403-1411.
- (29) Martinez-Noguera A, Montserrat E, Torrubia S, Villalba J. Doppler in hepatic cirrhosis and chronic hepatitis. *Semin Ultrasound CT MR* 2002 Feb;23(1):19-36.
- (30) Choi D, Kim SH, Lim JH, Cho JM, Lee WJ, Lee SJ, et al. Detection of hepatocellular carcinoma: combined T2-weighted and dynamic gadolinium-

enhanced MRI versus combined CT during arterial portography and CT hepatic arteriography. *J Comput Assist Tomogr* 2001 Sep-Oct;25(5):777-785.

(31) Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005 Jan;41(1):48-54.

(32) Kemp W, Roberts S. FibroScan and transient elastography. *Aust Fam Physician* 2013 Jul;42(7):468-471.

(33) Castera L, Foucher J, Bernard PH, Carvalho F, Allaix D, Merrouche W, et al. Pitfalls of liver stiffness measurement: a 5-year prospective study of 13,369 examinations. *Hepatology* 2010 Mar;51(3):828-835.

(34) Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001 Feb 15;344(7):495-500.

(35) Tannapfel A, Dienes HP, Lohse AW. The indications for liver biopsy. *Dtsch Arztebl Int* 2012 Jul;109(27-28):477-483.

(36) Ashkenazi E, Kovalev Y, Zuckerman E. Evaluation and treatment of esophageal varices in the cirrhotic patient. *Isr Med Assoc J* 2013 Feb;15(2):109-115.

(37) Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace ND, Burroughs AK, Planas R, et al. Beta-blockers to prevent gastroesophageal varices in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 2005 Nov 24;353(21):2254-2261.

(38) Fernandez M, Vizzutti F, Garcia-Pagan JC, Rodes J, Bosch J. Anti-VEGF receptor-2 monoclonal antibody prevents portal-systemic collateral vessel formation in portal hypertensive mice. *Gastroenterology* 2004 Mar;126(3):886-894.

(39) Gines P, Guevara M, Arroyo V, Rodes J. Hepatorenal syndrome. *Lancet* 2003 Nov 29;362(9398):1819-1827.

(40) Ruiz-del-Arbol L, Monescillo A, Arocena C, Valer P, Gines P, Moreira V, et al. Circulatory function and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology* 2005 Aug;42(2):439-447.

- (41) Rios R, Sangro B, Herrero I, Quiroga J, Prieto J. The role of thrombopoietin in the thrombocytopenia of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2005 Jun;100(6):1311-1316.
- (42) Kim WR, Lindor KD, Locke GR, 3rd, Therneau TM, Homburger HA, Batts KP, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology* 2000 Dec;119(6):1631-1636.
- (43) Pessione F, Ramond MJ, Peters L, Pham BN, Batel P, Rueff B, et al. Five-year survival predictive factors in patients with excessive alcohol intake and cirrhosis. Effect of alcoholic hepatitis, smoking and abstinence. *Liver Int* 2003 Feb;23(1):45-53.
- (44) Said A, Williams J, Holden J, Remington P, Gangnon R, Musat A, et al. Model for end stage liver disease score predicts mortality across a broad spectrum of liver disease. *J Hepatol* 2004 Jun;40(6):897-903.
- (45) Kim HJ, Lee HW. Important predictor of mortality in patients with end-stage liver disease. *Clin Mol Hepatol* 2013 Jun;19(2):105-115.
- (46) Longheval G, Vereerstraeten P, Thiry P, Delhaye M, Le Moine O, Deviere J, et al. Predictive models of short- and long-term survival in patients with nonbiliary cirrhosis. *Liver Transpl* 2003 Mar;9(3):260-267.
- (47) Fernandez-Esparrach G, Sanchez-Fueyo A, Gines P, Uriz J, Quinto L, Ventura PJ, et al. A prognostic model for predicting survival in cirrhosis with ascites. *J Hepatol* 2001 Jan;34(1):46-52.
- (48) Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 2000 Apr;31(4):864-871.
- (49) Freeman RB, Wiesner RH, Edwards E, Harper A, Merion R, Wolfe R, et al. Results of the first year of the new liver allocation plan. *Liver Transpl* 2004 Jan;10(1):7-15.

- (50) Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology* 2003 Jan;124(1):91-96.
- (51) Cholongitas E, Marelli L, Kerry A, Senzolo M, Goodier DW, Nair D, et al. Different methods of creatinine measurement significantly affect MELD scores. *Liver Transpl* 2007 Apr;13(4):523-529.
- (52) Leise MD, Kim WR, Kremers WK, Larson JJ, Benson JT, Therneau TM. A revised model for end-stage liver disease optimizes prediction of mortality among patients awaiting liver transplantation. *Gastroenterology* 2011 Jun;140(7):1952-1960.
- (53) Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. *J Hepatol* 2005;42 Suppl(1):S100-7.
- (54) Ruf AE, Kremers WK, Chavez LL, Descalzi VI, Podesta LG, Villamil FG. Addition of serum sodium into the MELD score predicts waiting list mortality better than MELD alone. *Liver Transpl* 2005 Mar;11(3):336-343.
- (55) Heuman DM, Abou-Assi SG, Habib A, Williams LM, Stravitz RT, Sanyal AJ, et al. Persistent ascites and low serum sodium identify patients with cirrhosis and low MELD scores who are at high risk for early death. *Hepatology* 2004 Oct;40(4):802-810.
- (56) D'Amico G, Morabito A, Pagliaro L, Marubini E. Survival and prognostic indicators in compensated and decompensated cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1986 May;31(5):468-475.
- (57) Runyon BA. Historical aspects of treatment of patients with cirrhosis and ascites. *Semin Liver Dis* 1997;17(3):163-173.
- (58) Powell WJ, Jr, Klatskin G. Duration of survival in patients with Laennec's cirrhosis. Influence of alcohol withdrawal, and possible effects of recent changes in general management of the disease. *Am J Med* 1968 Mar;44(3):406-420.

- (59) Orrego H, Blake JE, Blendis LM, Medline A. Prognosis of alcoholic cirrhosis in the presence and absence of alcoholic hepatitis. *Gastroenterology* 1987 Jan;92(1):208-214.
- (60) Lawitz E, Gane EJ. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2013 Aug 15;369(7):678-679.
- (61) Lawitz EJ, Rodriguez-Torres M, Denning J, Mathias A, Mo H, Gao B, et al. All-oral therapy with nucleotide inhibitors sofosbuvir and GS-0938 for 14 days in treatment-naive genotype 1 hepatitis C (nuclear). *J Viral Hepat* 2013 Oct;20(10):699-707.
- (62) Flisiak R, Jaroszewicz J, Parfieniuk-Kowerda A. Emerging treatments for hepatitis C. *Expert Opin Emerg Drugs* 2013 Dec;18(4):461-475.
- (63) Marcellin P, Buti M, Gane E, et. al. Five years of treatment with
tenofovir DF (TDF) for chronic hepatitis B (CHB) infection is associated
with sustained viral suppression and significant regression of
histological fibrosis and cirrhosis . *Hepatology* 2011(54):1011A.
- (64) Jungst C, Lammert F. Cholestatic liver disease. *Dig Dis* 2013;31(1):152-154.
- (65) Chazouille`res O, Housset C. Intrahepatic Cholestasis. In: Rode`s J, editor. *Textbook of hepatology: from basic science to clinical practice*. 3.th ed. Oxford: Blackwell; 2008. p. 1481-1500.
- (66) Hohenester S, Oude-Elferink RP, Beuers U. Primary biliary cirrhosis. *Semin Immunopathol* 2009 Sep;31(3):283-307.
- (67) Neuberger J. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1997 Sep 20;350(9081):875-879.
- (68) Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005 Sep 22;353(12):1261-1273.
- (69) Kremer AE, van Dijk R, Leckie P, Schaap FG, Kuiper EM, Mettang T, et al. Serum autotaxin is increased in pruritus of cholestasis, but not of other origin, and responds to therapeutic interventions. *Hepatology* 2012 Oct;56(4):1391-1400.

- (70) Smyk DS, Rigopoulou EI, Lleo A, Abeles RD, Mavropoulos A, Billinis C, et al. Immunopathogenesis of primary biliary cirrhosis: an old wives' tale. *Immun Ageing* 2011 Dec 2;8(1):12-4933-8-12.
- (71) Frossard JL, Morel PM. Detection and management of bile duct stones. *Gastrointest Endosc* 2010 Oct;72(4):808-816.
- (72) Lammert F, Miquel JF. Gallstone disease: from genes to evidence-based therapy. *J Hepatol* 2008;48 Suppl 1:S124-35.
- (73) Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G. Cholesterol gallstone disease. *Lancet* 2006 Jul 15;368(9531):230-239.
- (74) Tazuma S. Gallstone disease: Epidemiology, pathogenesis, and classification of biliary stones (common bile duct and intrahepatic). *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006;20(6):1075-1083.
- (75) Feldman M, Friedman L, Sleisenger M. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2002.
- (76) Wiesner RH, Porayko MK, Hay JE, LaRusso NF, Steers JL, Krom RA, et al. Liver transplantation for primary sclerosing cholangitis: impact of risk factors on outcome. *Liver Transpl Surg* 1996 Sep;2(5 Suppl 1):99-108.
- (77) Gossard AA, Angulo P, Lindor KD. Secondary sclerosing cholangitis: a comparison to primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2005 Jun;100(6):1330-1333.
- (78) Abdalian R, Heathcote EJ. Sclerosing cholangitis: a focus on secondary causes. *Hepatology* 2006 Nov;44(5):1063-1074.
- (79) Krawczyk M, Mullenbach R, Weber SN, Zimmer V, Lammert F. Genome-wide association studies and genetic risk assessment of liver diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010 Dec;7(12):669-681.
- (80) European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009 Aug;51(2):237-267.

- (81) du Cheyron D, Bouchet B, Parienti JJ, Ramakers M, Charbonneau P. The attributable mortality of acute renal failure in critically ill patients with liver cirrhosis. *Intensive Care Med* 2005 Dec;31(12):1693-1699.
- (82) Hampel H, Bynum GD, Zamora E, El-Serag HB. Risk factors for the development of renal dysfunction in hospitalized patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2001 Jul;96(7):2206-2210.
- (83) Peron JM, Bureau C, Gonzalez L, Garcia-Ricard F, de Soyres O, Dupuis E, et al. Treatment of hepatorenal syndrome as defined by the international ascites club by albumin and furosemide infusion according to the central venous pressure: a prospective pilot study. *Am J Gastroenterol* 2005 Dec;100(12):2702-2707.
- (84) Terra C, Guevara M, Torre A, Gilabert R, Fernandez J, Martin-Llahi M, et al. Renal failure in patients with cirrhosis and sepsis unrelated to spontaneous bacterial peritonitis: value of MELD score. *Gastroenterology* 2005 Dec;129(6):1944-1953.
- (85) Wu CC, Yeung LK, Tsai WS, Tseng CF, Chu P, Huang TY, et al. Incidence and factors predictive of acute renal failure in patients with advanced liver cirrhosis. *Clin Nephrol* 2006 Jan;65(1):28-33.
- (86) Hartleb M, Gutkowski K. Kidneys in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2012 Jun 28;18(24):3035-3049.
- (87) Albright RC, Jr. Acute renal failure: a practical update. *Mayo Clin Proc* 2001 Jan;76(1):67-74.
- (88) Singri N, Ahya SN, Levin ML. Acute renal failure. *JAMA* 2003 Feb 12;289(6):747-751.
- (89) Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996 May 30;334(22):1448-1460.
- (90) Gines P, Schrier RW. Renal failure in cirrhosis. *N Engl J Med* 2009 Sep 24;361(13):1279-1290.

- (91) Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. *Lancet* 1995 Dec 9;346(8989):1533-1540.
- (92) Abuelo JG. Diagnosing vascular causes of renal failure. *Ann Intern Med* 1995 Oct 15;123(8):601-614.
- (93) Garcia-Tsao G, Parikh CR, Viola A. Acute kidney injury in cirrhosis. *Hepatology* 2008 Dec;48(6):2064-2077.
- (94) Bienholz A, Feldkamp T, Kribben A, KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes). Acute kidney injury. *Dtsch Med Wochenschr* 2013 Jun;138(23):1229-1232.
- (95) Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004 Aug;8(4):R204-12.
- (96) Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11(2):R31.
- (97) Fang JT, Tsai MH, Tian YC, Jenq CC, Lin CY, Chen YC, et al. Outcome predictors and new score of critically ill cirrhotic patients with acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2008 Jun;23(6):1961-1969.
- (98) Moreau R, Durand F, Poynard T, Duhamel C, Cervoni JP, Ichaï P, et al. Terlipressin in patients with cirrhosis and type 1 hepatorenal syndrome: a retrospective multicenter study. *Gastroenterology* 2002 Apr;122(4):923-930.
- (99) Pusey CD, Saltissi D, Bloodworth L, Rainford DJ, Christie JL. Drug associated acute interstitial nephritis: clinical and pathological features and the response to high dose steroid therapy. *Q J Med* 1983 Spring;52(206):194-211.

- (100) Galpin JE, Shinaberger JH, Stanley TM, Blumenkrantz MJ, Bayer AS, Friedman GS, et al. Acute interstitial nephritis due to methicillin. *Am J Med* 1978 Nov;65(5):756-765.
- (101) Needham E. Management of acute renal failure. *Am Fam Physician* 2005 Nov 1;72(9):1739-1746.
- (102) Prins JM, Buller HR, Kuijper EJ, Tange RA, Speelman P. Once versus thrice daily gentamicin in patients with serious infections. *Lancet* 1993 Feb 6;341(8841):335-339.
- (103) Agrawal M, Swartz R. Acute renal failure. *Am Fam Physician* 2000 Apr 1;61(7):2077-2088.
- (104) Moreau R, Asselah T, Condat B, de Kerguenec C, Pessione F, Bernard B, et al. Comparison of the effect of terlipressin and albumin on arterial blood volume in patients with cirrhosis and tense ascites treated by paracentesis: a randomised pilot study. *Gut* 2002 Jan;50(1):90-94.
- (105) Sort P, Navasa M, Arroyo V, Aldeguer X, Planas R, Ruiz-del-Arbol L, et al. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *N Engl J Med* 1999 Aug 5;341(6):403-409.
- (106) Salerno F, Gerbes A, Gines P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut* 2007 Sep;56(9):1310-1318.
- (107) European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010 Sep;53(3):397-417.
- (108) Yeung E, Yong E, Wong F. Renal dysfunction in cirrhosis: diagnosis, treatment and prevention. *MedGenMed* 2004 Dec 2;6(4):9.
- (109) Gines A, Escorsell A, Gines P, Salo J, Jimenez W, Inglada L, et al. Incidence, predictive factors, and prognosis of the hepatorenal syndrome in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology* 1993 Jul;105(1):229-236.

- (110) Epstein M, Berk DP, Hollenberg NK, Adams DF, Chalmers TC, Abrams HL, et al. Renal failure in the patient with cirrhosis. The role of active vasoconstriction. *Am J Med* 1970 Aug;49(2):175-185.
- (111) Alessandria C, Ozdogan O, Guevara M, Restuccia T, Jimenez W, Arroyo V, et al. MELD score and clinical type predict prognosis in hepatorenal syndrome: relevance to liver transplantation. *Hepatology* 2005 Jun;41(6):1282-1289.
- (112) Krones E, Zollner G, Fickert P. Vasopressin-Analoga zur Therapie der Ösophagusvarizenblutung und des hepatorenen Syndroms - Günstigeres Nebenwirkungsprofil und längere Halbwertszeit . *Universum Innere Medizin* 2011.
- (113) Ghosh S, Choudhary NS, Sharma AK, Singh B, Kumar P, Agarwal R, et al. Noradrenaline vs terlipressin in the treatment of type 2 hepatorenal syndrome: a randomized pilot study. *Liver Int* 2013 Sep;33(8):1187-1193.
- (114) Glassock RJ, Winearls C. Ageing and the glomerular filtration rate: truths and consequences. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2009;120:419-428.
- (115) Hoang K, Tan JC, Derby G, Blouch KL, Masek M, Ma I, et al. Determinants of glomerular hypofiltration in aging humans. *Kidney Int* 2003 Oct;64(4):1417-1424.
- (116) National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002 Feb;39(2 Suppl 1):S1-266.
- (117) Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009 May 5;150(9):604-612.
- (118) Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006 Jun 8;354(23):2473-2483.

- (119) Cholongitas E, Shusang V, Marelli L, Nair D, Thomas M, Patch D, et al. Review article: renal function assessment in cirrhosis - difficulties and alternative measurements. *Aliment Pharmacol Ther* 2007 Oct 1;26(7):969-978.
- (120) Poge U, Gerhardt T, Palmedo H, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP. MDRD equations for estimation of GFR in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005 Jun;5(6):1306-1311.
- (121) Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med* 2012 Jul 5;367(1):20-29.
- (122) Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, et al. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int* 2009 Mar;75(6):652-660.
- (123) Tangri N, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Beck GJ, Greene T, et al. Changes in dietary protein intake has no effect on serum cystatin C levels independent of the glomerular filtration rate. *Kidney Int* 2011 Feb;79(4):471-477.
- (124) Mindikoglu AL, Dowling TC, Weir MR, Seliger SL, Christenson RH, Magder LS. Performance of chronic kidney disease epidemiology collaboration creatinine-cystatin C equation for estimating kidney function in cirrhosis. *Hepatology* 2013 Jun 6.
- (125) Kilbride HS, Stevens PE, Eaglestone G, Knight S, Carter JL, Delaney MP, et al. Accuracy of the MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) study and CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) equations for estimation of GFR in the elderly. *Am J Kidney Dis* 2013 Jan;61(1):57-66.
- (126) Masson I, Maillard N, Tack I, Thibaudin L, Dubourg L, Delanaye P, et al. GFR estimation using standardized cystatin C in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2013 Feb;61(2):279-284.
- (127) Delanaye P, Cavalier E, Moranne O, Lutteri L, Krzesinski JM, Bruyere O. Creatinine-or cystatin C-based equations to estimate glomerular filtration in the

general population: impact on the epidemiology of chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 2013 Mar 12;14:57-2369-14-57.

(128) Swan SK. The search continues--an ideal marker of GFR. *Clin Chem* 1997 Jun;43(6 Pt 1):913-914.

(129) Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int* 1985 Nov;28(5):830-838.

(130) Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999 Mar 16;130(6):461-470.

(131) Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem* 1992 Oct;38(10):1933-1953.

(132) Mariat C, Alamartine E, Barthelemy JC, De Filippis JP, Thibaudin D, Berthoux P, et al. Assessing renal graft function in clinical trials: can tests predicting glomerular filtration rate substitute for a reference method? *Kidney Int* 2004 Jan;65(1):289-297.

(133) Lamb EJ, O'Riordan SE, Delaney MP. Kidney function in older people: pathology, assessment and management. *Clin Chim Acta* 2003 Aug;334(1-2):25-40.

(134) Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004 Dec 21;141(12):929-937.

(135) Jouet P, Meyrier A, Mal F, Callard P, Guettier C, Stordeur D, et al. Transjugular renal biopsy in the treatment of patients with cirrhosis and renal abnormalities. *Hepatology* 1996 Nov;24(5):1143-1147.

- (136) Trawale JM, Paradis V, Rautou PE, Francoz C, Escolano S, Sallee M, et al. The spectrum of renal lesions in patients with cirrhosis: a clinicopathological study. *Liver Int* 2010 May;30(5):725-732.
- (137) Fickert P, Krones E, Pollheimer MJ, Thueringer A, Moustafa T, Silbert D, et al. Bile acids trigger cholemic nephropathy in common bile-duct-ligated mice. *Hepatology* 2013 Dec;58(6):2056-2069.
- (138) Uslu A, Tasli FA, Nart A, Postaci H, Aykas A, Bati H, et al. Human kidney histopathology in acute obstructive jaundice: a prospective study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010 Dec;22(12):1458-1465.
- (139) van Slambrouck CM, Salem F, Meehan SM, Chang A. Bile cast nephropathy is a common pathologic finding for kidney injury associated with severe liver dysfunction. *Kidney Int* 2013 Jul;84(1):192-197.
- (140) Marcussen N, Schumann JL, Schumann GB, Parmar M, Kjellstrand C. Analysis of cytodiagnostic urinalysis findings in 77 patients with concurrent renal biopsies. *Am J Kidney Dis* 1992 Dec;20(6):618-628.
- (141) Esson ML, Schrier RW. Diagnosis and treatment of acute tubular necrosis. *Ann Intern Med* 2002 Nov 5;137(9):744-752.
- (142) Perazella MA, Coca SG, Kanbay M, Brewster UC, Parikh CR. Diagnostic value of urine microscopy for differential diagnosis of acute kidney injury in hospitalized patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008 Nov;3(6):1615-1619.
- (143) Perazella MA, Parikh CR. How can urine microscopy influence the differential diagnosis of AKI? *Clin J Am Soc Nephrol* 2009 Apr;4(4):691-693.
- (144) Chien TI, Kao JT, Liu HL, Lin PC, Hong JS, Hsieh HP, et al. Urine sediment examination: a comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy. *Clin Chim Acta* 2007 Sep;384(1-2):28-34.
- (145) Ledru S, Canonne JP. Comparison of IRIS IQ ELITE and microscopy for urinalysis and evaluation of performance in predicting outcome of urine cultures. *Ann Biol Clin (Paris)* 2008 Sep-Oct;66(5):555-559.

(146) Silbernagel S, Lang F. Niere, Salz-Wasser-Haushalt. In: Silbernagel S, Lang F, editors. Taschenatlas Pathophysiologie. 3rd ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2009. p. 100-145.

(147) Fraser SD, Roderick PJ, McIntyre NJ, Harris S, McIntyre C, Fluck R, et al. Assessment of proteinuria in patients with chronic kidney disease stage 3: albuminuria and non-albumin proteinuria. PLoS One 2014 May 27;9(5):e98261.

(148) Kreft B, Siemers A. Niere. In: Braun J, Dormann A, editors. Klinikleitfaden Innere Medizin. 11.th ed. München: Urban und Fischer; 2014. p. 411-444.

(149) Stevens PE, Levin A, 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):825-830.

(150) Fogazzi GB, Edefonti A, Garigali G, Giani M, Zolin A, Raimondi S, et al. Urine erythrocyte morphology in patients with microscopic haematuria caused by a glomerulopathy. Pediatr Nephrol 2008 Jul;23(7):1093-1100.

(151) Costigan MG, Rustom R, Bone JM, Shenkin A. Origin and significance of urinary N-acetyl-beta, D-glucosaminidase (NAG) in renal patients with proteinuria. Clin Chim Acta 1996 Nov 29;255(2):133-144.

(152) Jouet P, Meyrier A, Mal F, Callard P, Guettier C, Stordeur D, et al. Transjugular renal biopsy in the treatment of patients with cirrhosis and renal abnormalities. Hepatology 1996 Nov;24(5):1143-1147.

(153) Emancipator SN, Gallo GR, Razaboni R, Lamm ME. Experimental cholestasis promotes the deposition of glomerular IgA immune complexes. Am J Pathol 1983 Oct;113(1):19-26.