

Aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Egbert Herting

**Einfluss der genetisch geschätzten Nierenfunktion auf das Kurzzeitoutcome
sehr kleiner Frühgeborener**

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von
Dorothea Schroth der Zweite
aus Hamburg

Lübeck 2020

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Göpel

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Martin Nitschke

Tag der mündlichen Prüfung: 11.01.2023

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 11.01.2023

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Frühgeburtlichkeit	1
1.2 Nierenfunktion.....	2
1.2.1 Labormedizinische Beurteilung der Nierenfunktion	3
1.2.1.1 Serum-Harnstoff-Stickstoff	3
1.2.1.2 Serumkreatinin	4
1.2.1.3 Glomeruläre Filtrationsrate	4
1.3 Nephropathien	5
1.4 Nierenfunktion bei Frühgeborenen	7
1.5 Genomweite Assoziationsstudien zur Nierenfunktion.....	9
1.6 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	10
2 Patienten, Material und Methoden.....	12
2.1 Die GNN Studie	12
2.2 Erhebung klinischer Daten.....	15
2.3 Erhebung genetischer Daten	16
2.3.1 DNS-Isolierung	16
2.3.2 Chip-Genotypisierung.....	17
2.3.3 Qualitätskontrolle	18
2.3.4 Imputation	18
2.3.5 Berechnung der genetischen Summenscores.....	20
2.4 Definierte Endpunkte und Einflussfaktoren.....	22
2.5 Statistische Analyse.....	24

3	Ergebnisse	25
3.1	Studienpopulation & Berechnung des genetischen Summenscores	25
3.2	Auswertung der Serumkreatininwerte.....	28
3.3	Kurzfristiger Outcome	29
3.3.1	Pränatale Faktoren	29
3.3.2	Perinatale Faktoren	30
3.3.3	Postnatale Faktoren.....	31
3.3.4	Tod oder schwere Komplikationen	33
4	Diskussion	37
4.1	Assoziation zwischen gsGFR und Serumkreatinin	37
4.2	Klinischer Outcome.....	38
4.2.1	Geburt und und extrauterine Anpassung.....	39
4.2.2	Postnatale Komplikationen und Therapie.....	41
4.2.2.1	Pulmonale Komplikationen.....	45
4.2.3	Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“	48
4.3	Stärken und Limitationen der Studie.....	53
4.3.1	Genomweite Assoziationsstudien.....	54
4.3.2	Studienformat	55
4.4	Schlussfolgerung und Ausblick.....	58
5	Zusammenfassung	59
6	Literaturverzeichnis	60
7	Anhang	67
7.1	Dokumentationsbögen	67
7.2	Protokoll zum Isolierungsvorgang von DNS aus Nabelschnur (Gentra® Puregene® Tissue Kit).....	71
7.3	Auflistung der in den Summenscore eingeflossenen SNPs.....	72
8	Danksagungen	74
9	Lebenslauf	75

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Arbeitsschritte bei der Datenerhebung	14
Abbildung 2: Verteilung des genetischen Summscore für eGFR am VLBW- Frühgeborenenkollektiv	26
Abbildung 3: Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“ bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion	35
Abbildung 4: Assoziation von genetisch niedrig geschätzter eGFR mit nephrologischen und metabolischen Erkrankungen am Erwachsenenkollektiv, <i>nach Wuttke et. al, 2019, Abb. 2d</i>	41
Abbildung 5: Assoziationskomplex klinischer Ausprägungen von VLBW- Frühgeborenen mit genetisch hoch geschätzter eGFR.....	44

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gebrauchsgegenstände und -material für DNS-Isolierungsvorgang	17
Tabelle 2: Klinische Daten bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion ..	27
Tabelle 3: Serumkreatininwerte von Lübecker VLBW-Frühgeborenen nach genetisch geschätzter Nierenfunktion	28
Tabelle 4: Geburtsursachen bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion	29
Tabelle 5: Prä- und perinatale Parameter bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion.....	30
Tabelle 6: Extrauterine Anpassung bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion.....	31
Tabelle 7: Postnatale medikamentöse Therapie bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion	32
Tabelle 8: Pulmonale Parameter bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion.....	33
Tabelle 9: Todesrate und schwere Komplikationen bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion	34
Tabelle 10: Logistische Regression zum Endpunkt "schwere Komplikationen oder Tod" bei VLBW	36

Abkürzungsverzeichnis

AKI	Acute Kidney Injury
APGAR	Aussehen, Puls, Gesichtsbewegungen, Aktivität, Respiration
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
BUN	blood urea nitrogen
CKD	Chronic Kidney Disease
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CTG	Kardiotokogramm
DNS	Desoxyribonukleinsäure
eGFR	geschätzte (estimated) glomeruläre Filtrationsrate
ELBW	Extremely low birth weight (< 1.000 Gramm)
ENaC	epithelialer Natriumkanal
FEV1	Forced Expiratory Pressure in 1 Second
FiO ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
FIP	Fokale intestinale Perforation
GA	Gestationsalter
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GNN	German Neonatal Network
gsGFR	genetic score eGFR
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
h	hour(s)
HELLP	hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count
IVH	Intraventrikuläre Hämorrhagie
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcome
KI	Konfidenzintervall
KiGGS	Studie zur Gesundheit von Kindern in Deutschland
LD	Linkage Disequilibrium
MAD	mittlerer arterieller Blutdruck
MW	Mittelwert
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
OR	Odd's Ratio
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck

PVL	Periventrikuläre Leukomalazie
RDS	Respiratory Distress Syndrome
ROP	Retinopathy of prematurity
SCr	Serumkreatinin
SD	Standardabweichung
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SSW	Schwangerschaftswoche
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VLBW	Very low birth weight (< 1.500 Gramm)
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Frühgeburtlichkeit

Die Geburt eines Kindes tritt physiologisch nach 37 bis 40 SSW (Schwangerschaftswochen) post menstruationem auf. Wird ein Kind vor Vollendung der 37. SSW (früher als 259 Tage nach der letzten mütterlichen Regelblutung) geboren, ist es nach Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO, World Health Organisation) frühgeboren.

Weltweit wird etwa jedes zehnte Kind frühgeboren, die Tendenz von 2000 bis 2014 war leicht steigend (Chawanpaiboon et al., 2019).

Die Ursachen für eine Frühgeburt sind vielfältig und häufig nicht genau zu bestimmen. Sicher ist allerdings, dass mit sinkendem Gestationsalter die Erkrankungs- und Sterblichkeitsrate der Neugeborenen steigt (Blencowe et al., 2013). Direkte Komplikationen im Zuge einer Frühgeburt waren im Jahr 2018 global der häufigste Grund für Kindersterblichkeit bei unter Fünfjährigen und machten etwa 16 % der weltweiten Sterberate und 34 % der Sterberate unter Neugeborenen aus (UN IGME, 2019). Hinzu kommen ein erhöhtes indirektes Sterberisiko durch neonatale Erkrankungen sowie die häufig auftretende Notwendigkeit einer intensiven Betreuung in der Entwicklung. Komplikationen durch Frühgeburtlichkeit gehen – neben der individuellen Belastung für Kind und Familie – mit einer finanziellen Belastung für das Gesundheitssystem einher. Die Forschung an und die Optimierung der Versorgung von Schwangeren und Frühgeborenen birgt also nicht nur ein individuelles, sondern auch ein erhebliches gesellschaftlich und ökonomisch vorteilhaftes Potential.

Da die Spannweite zwischen „kleinen“ und „großen“ Frühgeborenen und den damit verbundenen Risiken breit ist, teilt man die Gruppe der frühgeborenen Kinder in Subgruppen ein. Dafür gibt es zwei Möglichkeiten:

Zieht man das Gestationsalter als Maßstab heran, werden die Kinder als frühgeboren (< 37 SSW), sehr frühgeboren (< 32 SSW) oder extrem frühgeboren (< 28 SSW), definiert. Eine weitere Möglichkeit die Gruppe aller Frühgeborenen zu unterteilen ergibt sich, wenn man das Geburtsgewicht als Maßstab nutzt. Demnach spricht man von untergewichtigen (low birth weight, LBW) mit einem Geburtsgewicht unter 2500 g, von sehr untergewichtigen (very low birth weight, VLBW) mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g und von extrem untergewichtigen (extremely low birth weight, ELBW) Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1000 g.

Die vorliegende Arbeit gründet auf einer bundesweiten Untersuchung an einer Kohorte von VLBW-Frühgeborenen. VLBW-Frühgeborene machen etwa 10 % der Frühgeborenen aus (Chawanpaiboon et al., 2019).

1.2 Nierenfunktion

Die paarig angelegten Nieren sind die am besten durchbluteten Organe des menschlichen Körpers. Ihre Kernfunktion besteht in der Filtration des Blutes. Beim Erwachsenen fließen etwa 1800 Liter Blut pro Tag durch beide Nieren.

Im Zuge dieser Filtration sorgen die Nieren für einen ausgeglichenen Flüssigkeits- und Elektrolyt- sowie Säure-Basen-Haushalt und fungieren als Ausscheidungsorgan für harnpflichtige Substanzen (Stoffwechselendprodukte wie Kreatinin, Harnstoff und Harnsäure) und für giftige Substanzen wie Medikamente. Außerdem kommt den Nieren eine Bedeutung als Ort des Metabolismus (z.B. Insulinabbau) und der Hormonproduktion (z.B. Erythropoetin) oder der Vitamin-D-Aktivierung zu (Böhler, 2015).

Eine weitere hervorzuhebende Funktion der Nieren besteht in der Regulation des Blutdrucks. Eine stetige Organperfusion ist unabdinglich für eine intakte Homöostase und wird im Kreislauf vornehmlich durch den arteriellen Blutdruck gewährleistet. Schwankungen des Blutdrucks werden durch zentrale und periphere Rezeptoren registriert und durch lokale oder zentrale Mechanismen reguliert. Während kurzfristige Blutdruckschwankungen vor allem über Widerstandsgefäße,

Kapazitätsgefäße und die Herzaktivität über das vegetative Nervensystem reguliert werden, erfolgt die langfristige Blutdruckregulation vornehmlich über die Steuerung des Wasser- und Elektrolythaushaltes. Von zentraler Bedeutung ist hierbei die Einflussnahme auf die Filtrationsprozesse in der Niere.

Sinkt die Nierendurchblutung, wird das hormonelle Renin-Angiotensin-Aldosteron-System aktiviert, was unter anderem in einer gesteigerten Wasser- und Natriumchloridresorption resultiert. Daneben existieren weitere reflektorisch, enzymatisch und hormonell gesteuerte Mechanismen, die Einfluss auf den Wasser- und Elektrolythaushalt nehmen.

Die funktionellen Einheiten der Niere sind Nephrone – Systeme aus Glomeruli und Tubuli, in denen ununterbrochen Primärharn aus Blutplasma gefiltert und ein Bruchteil letztendlich als Ultrafiltrat Urin in die Harnblase geleitet wird. Ein erwachsener Mensch besitzt etwa 1 – 1,4 Millionen Nephrone. Allerdings fanden Bertram et al. in einer großen Studie 2011 heraus, dass die Anzahl der Nephrone hoch variabel ist und sich in ihrer Studienpopulation, die verschiedene ethnische Gruppen umfasste, von etwa 210.000 bis 2.700.000 erstreckte.

1.2.1 Labormedizinische Beurteilung der Nierenfunktion

Ebenso vielfältig wie die Funktionen der Niere sind die labormedizinischen Parameter, die Aufschluss über die Leistungsfähigkeit der Niere geben. Um Übersichtlichkeit zu gewähren, beschränkt sich die folgende Darstellung auf die für diese Arbeit relevanten Parameter: Serum-Harnstoff-Stickstoff (blood urea nitrogen, BUN), Serumkreatinin (SCr) und die glomeruläre Filtrationsrate (GFR).

1.2.1.1 Serum-Harnstoff-Stickstoff

Im Rahmen des Proteinstoffwechsels entsteht Ammoniak, das zu ungiftigem Harnstoff umgewandelt wird und an Stickstoff gebunden renal ausgeschieden wird. Der BUN gehört zu den Nierenretentionsparametern und wird beeinflusst durch die GFR, die tubuläre Rückresorption und die Harnstoffproduktion.

Die Referenzwerte für BUN sind methodenabhängig und liegen bei 7 – 25 mg /100 mL bzw. 2,5 - 9 mmol/L. Es gilt der vom jeweiligen Labor angegebene Referenzwert. Die Harnstoff-Stickstoff Konzentration im Serum wird in der Regel nicht isoliert, sondern gemeinsam mit dem SCr betrachtet.

1.2.1.2 Serumkreatinin

Kreatinin entsteht im Rahmen des Energiestoffwechsels im Muskelgewebe durch den Abbau von Kreatin. Es ist eine harnpflichtige Substanz und wird nahezu vollständig über glomeruläre Filtration ausgeschieden. Die Summe der Ausscheidungsmenge entspricht dabei weitgehend der filtrierte Menge. Ein Anstieg der Serumkonzentration ist ein Marker für eine Nierenerkrankung. SCr-Werte sollten jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, da sie stark abhängig von der Muskelmasse (Alter, Geschlecht) sind und durch den sogenannten „kreatininblinden Bereich“ als nicht-sensitive Marker inkorrekte Annahmen über die Nierenfunktion implizieren können.

1.2.1.3 Glomeruläre Filtrationsrate

Die Filterleistung der Nieren ist gleichzusetzen mit der Nierenfunktion und kann als Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) angegeben werden. Die GFR ist das pro Zeiteinheit filtrierte Blutplasmavolumen und wird in der Regel in mL/min angegeben. Sie gilt als das beste Maß für die Gesamtnierenfunktion (Böhler, 2015).

Die genaueste Bestimmung der GFR erfolgt über die renale Clearance - das ist die Eliminierung eines Stoffes aus dem Blutplasma – eines exogenen Markers wie Inulin. Inulin wird zu 100 % filtrierte und ausgeschieden und gibt daher direkten Rückschluss auf die GFR. Dazu bestimmt man die Blutplasmakonzentration und die Konzentration des Metaboliten, die innerhalb von 24 Stunden in gesammeltem Urin ausgeschieden wurde. Die GFR-Messung mit einem exogenen Marker wird in der Regel nur im Rahmen klinischer Studien durchgeführt und wegen des höheren Aufwands nur selten im praktischen Alltag (Böhler, 2015).

Analog dazu ist die Bestimmung mittels eines endogenen Markers, der dem Ideal der vollständigen glomerulären Filtration nahekommt, möglich (z.B. Kreatinin).

Die in der Praxis gängige Methode, die GFR zu bestimmen, ist das Abschätzen mit dafür generierten Formeln. In diesem Fall spricht man von der sogenannten geschätzten glomerulären Filtrationsrate (eGFR, estimated glomerular filtration rate), bei der das Sammeln des 24 Stunden Urins entfällt. Die CKD-EPI-Formel (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) wird von der globalen nonprofit Organisation KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcome) zurzeit als Standard für Erwachsene empfohlen (Levin et al., 2013). Sie schätzt die GFR anhand des SCr, des Geschlechts, Alters und einer normierten Körperoberfläche von 1,73 m².

Für Neugeborene und Kinder findet die Schwartz-Formel Verwendung. Sie schätzt die GFR ebenfalls anhand des SCr und des Alters, zudem wird die individuelle Körpergröße herangezogen (Schwartz et al., 2009).

Die GFR ist keine konstante Größe und abhängig von Variablen wie der Größe der Oberfläche, über die filtriert wird und dem dort herrschenden Filtrationsdruck. Bei reifen Neugeborenen beträgt die eGFR im Mittel 18 mL/min / 1,73 m² und steigt erst in den ersten beiden Lebensjahren auf die normierte GFR des Erwachsenenalters (90 – 140 mL/min / 1,73 m²) an (Haffner und Petersen, 2019).

1.3 Nephropathien

Nephropathien können unterschiedlicher Ätiologie sein. Erbliche Faktoren, Fehlbildungen, Infektionen, nephrotoxische Medikamente, Tumore oder Autoimmunerkrankungen sind mögliche Ursachen. Eine Nierenerkrankung kann mit oder ohne Niereninsuffizienz einhergehen und akut oder chronisch verlaufen.

Ein Verlust der Nierenfunktion führt unter anderem zu einer Dysregulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes sowie einer Akkumulation nierenpflichtiger, toxischer Substanzen und endet unbehandelt meist letal.

Das akute Nierenversagen (Acute Kidney Injury, AKI) ist definiert als die plötzliche Abnahme der glomerulären Filtration um mindestens 50 % und ist mit einem Anstieg

der Retentionsparameter SCr und Harnstoff verbunden. Symptome, die häufig damit einhergehen, sind Oligurie oder Anurie.

AKI stellt einen schnell voranschreitenden, jedoch reversiblen Verlust der Nierenfunktion dar, der eine prärenale, renale oder postrenale Ursache haben kann (Haffner und Petersen, 2019).

Die renale und postrenale Form sind vor allem im Kindes- bzw. Erwachsenenalter prävalent und haben oft eine infektiöse oder toxische bzw. obstruktive Pathogenese. Im Neugeborenen und Säuglingsalter hingegen stellt die prärenale Form die vorherrschende dar. Sie wird durch eine ungenügende Perfusion der Niere bspw. als Folge einer Hypotension im Rahmen eines Schocks, Sepsis oder Dehydratation hervorgerufen. Ist die Nierenperfusion langanhaltend kritisch, kommt es durch Ischämie zu einer Schädigung des Nierenparenchyms (Haffner und Petersen, 2019).

Diverse Studien implizieren, dass AKI einen unabhängigen Risikofaktor für das Entwickeln einer chronischen Nierenerkrankung (CKD, Chronic Kidney Disease) darstellt (Mian et al., 2015).

Die sich langsam entwickelnde CKD ist sowohl eine der häufigsten Ursachen für als auch eine Folge der arteriellen Hypertension und ein wichtiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Krankheiten (Lim et al., 2012). Definiert wird die chronische Nierenerkrankung als eine Abnormität der Nierenstruktur- oder Funktion, die länger als drei Monate besteht und negative Auswirkungen auf die Gesundheit hat. Als Maßstab zur Bestimmung einer CKD wird meistens die GFR herangezogen. Ab einer GFR < 80 % der Altersnorm wird von einer CKD ausgegangen (Haffner und Petersen, 2019).

Die CKD ist eine irreversible progrediente Krankheit und mündet in eine Dialyse- oder Transplantationspflichtigkeit.

Liyanage et al. prognostizierten 2015, dass sich die Zahl der dialysepflichtigen oder einer Nierentransplantation bedürftigen Menschen von 2,6 Millionen in 2010 auf 5,4 Millionen in 2030 verdoppeln wird. Im Jahr 2010 verstarben zwischen 2,3 und 7,1 Millionen Erwachsene in Ländern mit niedrigem Einkommen, da ihnen keine Möglichkeit zur Dialyse oder Nierentransplantation gegeben werden konnte (Liyanage et al., 2015).

Prävention und Früherkennung und -behandlung von CKD seien laut Liyanage et al. somit die einzige nachhaltige Möglichkeit, um diesem wachsenden globalen Problem entgegenzutreten, besonders vor dem Hintergrund der enormen Kosten, die eine klinische Behandlung mit sich bringt.

1.4 Nierenfunktion bei Frühgeborenen

Frühgeburtliche Nieren unterscheiden sich in ihrem Leistungsvermögen, ihrer Adaptation und der exogen verursachten Belastung deutlich von den Nieren reifgeborener Kinder.

Die reife Niere leitet sich embryologisch aus zwei Strukturen ab: dem metanephrogenen Blastem, aus dem sich die Glomeruli, die proximalen Tubuli, die Henle-Schleife und die distalen Tubuli entwickeln, und der Ureterknospe, aus der die Nierenkelche, das Nierenbecken und die Sammelrohre entstehen. Die Nephrogenese beginnt in der fünften und endet zwischen der 34-sten und 36-sten SSW. Zu diesem Zeitpunkt weisen die Nieren bereits eine ähnliche Anzahl an Nephronen wie die von Erwachsenen auf (Comité Nacional de Nefrología, 2020).

Während der intrauterinen Entwicklung wird die fetale Homöostase über die Plazenta reguliert. Dennoch sind die fetalen Nieren bereits in Prozesse wie die Urin- und Hormonproduktion und die Lungenreife involviert. Die GFR, der renale Blutfluss und die Funktion des Tubulussystems nehmen im Laufe der Nephrogenese zu (Brophy und Robillard, 2004).

Die meisten Nephrone bilden sich im dritten Schwangerschaftstrimester im Uterus aus, Frühgeburtlichkeit hat folglich Einfluss auf die Anzahl der ausgebildeten Nephrone und damit auf die Effizienz der Niere (Brenner et al., 1996; Luyckx und Brenner, 2015).

Post mortem Studien an Primaten und Menschen (Rodríguez et al., 2004; Sutherland et al., 2011) konnten feststellen, dass sich die Nephrogenese bei Frühgeborenen – nicht aber bei Reifgeborenen – nach der Geburt fortsetzt. Dieser Vorgang ist jedoch begrenzt und eine Nierenreife wie bei Reifgeborenen wurde nie erreicht (Rodríguez et al., 2004). Außerdem wurde bei einem kleinen Teil der obduzierten Nieren eine abnorme Glomerulimorphologie festgestellt (Sutherland et al., 2011).

Bereits im Jahr 1988 stellte Brenner die Hypothese auf, dass eine geringe Ausstattung mit Nephronen durch Hyperfiltration kompensiert würde und einen „circulus vitiosus“ aus progredienter Nierenschädigung und Hyperfiltration hervorrufe (Brenner et al., 1988). Bestätigt wird seine Hypothese durch Studien in den letzten Jahren, die epidemiologisch Zusammenhänge zwischen Frühgeburtlichkeit und einem schlechten renalen Outcome feststellen konnten.

So stellt VLBW einen herausragenden Risikofaktor für ein neonatales akutes Nierenversagen dar, das bei 16 - 40 % der VLBW-Frühgeborenen auftritt (Selewski et al., 2015).

In einer Metaanalyse von White et al. wurde zudem bestätigt, dass LBW das Risiko einer CKD im Vergleich zu normalem Geburtsgewicht um 70 % steigert. Definiert wurde CKD dabei als Albuminurie, als reduzierte GFR oder End-Stage Kidney Disease.

Allein die reduzierte Anzahl der Nephrone oder LBW als Ursache für die Entwicklung einer CKD zu vermuten, scheint zwar zu isoliert betrachtet, aber eine Niere mit einer unvollständigen Nephrogenese ist möglicherweise weniger widerstandsfähig gegen Schädigungen und Erkrankungen der Niere (Luyckx und Brenner, 2015).

Ebenfalls Einfluss auf die Nierenmorphologie und -funktion von Frühgeborenen nehmen exogene Faktoren. Etwa 61 % der auf der neonatalen Intensivstation verwendeten Medikamente werden über die Niere ausgeschieden (Filler et al., 2016). So tritt beispielsweise die intensive Pharmakotherapie als exogener Stressor zu der Unreife der Nieren per se hinzu und fungiert als potentiell schädigend für Organ und die postnatale Nephrogenese.

1.5 Genomweite Assoziationsstudien zur Nierenfunktion

Mit Beginn des 21. Jahrhunderts hielt das Studiendesign der Genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) Einzug in die genetische Epidemiologie. Seitdem haben GWAS eine Vielzahl von Loci identifiziert, die mit einem phänotypischen Merkmal assoziiert sind.

Als genetische Marker fungieren üblicherweise Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) – Substitutionen eines einzelnen Basenpaares in einem komplementären DNA-Doppelstrang, die mit einer Häufigkeit > 1 % in der Bevölkerung vorkommen.

Durch Metaanalyse von genomweiten Assoziationsstudien und unabhängiger Replikation fanden Wuttke et al. 166 neue Loci, die mit der eGFR assoziiert sind. Außerdem zogen sie Ergebnisse aus weiteren GWAS zum BUN heran, um eGFR-assozierte Loci als wahrscheinlich relevant für die Nierenfunktion zu priorisieren. Ergebnis ihrer Studie sind 147 Loci, die wahrscheinlich relevant für die Nierenfunktion sind (Wuttke et al., 2019).

1.6 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die Nierenfunktion von Frühgeborenen wurde bereits in vielen Studien untersucht. Vor dem Hintergrund der Unreife frühgeburtlicher Nieren und dem häufigen Einsatz potentiell nephrotoxischer Medikamente auf neonatalen Intensivstationen ist diese Thematik nach wie vor Gegenstand der Forschung. Diverse Studien zeigen Assoziationen zwischen Frühgeburtlichkeit und dem Risiko für Nierenerkrankungen und damit verbundenen metabolischen Komplikationen.

So rufen beispielsweise Abitbol et al., 2016, Luyckx et al., 2013 und Crump et al., 2019 zu einem alarmierten Bewusstsein darüber auf, dass Frühgeburtlichkeit und ein geringes Geburtsgewicht mit einem lebenslangen Risiko für Hypertension und Nierenerkrankung assoziiert sind. Die Forschungsgruppen fordern klinisch tätige Ärztinnen und Ärzte zur Aufklärung der Patienten und regelmäßigen Nachuntersuchungen der Frühgeborenen auf.

Sowohl Diagnostik- und Therapiekonzepte als auch Daten zum Langzeitoutcome sind wenig untersucht und umstritten. Die Beobachtung jedoch, dass ein hohes SCr mit einem schlechten Outcome assoziiert, ist weitestgehend Konsens.

Die vorliegende Arbeit will einen Beitrag zu dieser Diskussion unter Einbezug genetischer Prädispositionen leisten. Ziel ist es, neue Risikofaktoren, Therapie- und Forschungsansätze für die Behandlung von sehr kleinen Frühgeborenen zu etablieren.

Dafür wurden sowohl klinische als auch genetische Daten von VLBW-Frühgeborenen in Hinblick auf die Nierenfunktion untersucht und ausgewertet. Die folgenden zwei Kernfragen stellen sich dabei:

1. Ist ein Erwachsenen-Risikoscore für hohes Serumkreatinin (eine niedrige eGFR) auch bei VLBW-Frühgeborenen mit hohen Serumkreatininwerten assoziiert?
2. Ist ein genetisch geschätzter hoher Serumkreatininwert mit einem ungünstigen postnatalen Verlauf, definiert als Auftreten einer Hirnblutung (IVH) Grad III oder Grad IV, einer periventikulären Leukomalazie (PVL), einer operationspflichtigen nekrotisierenden Enterokolitis (NEC) einer operationspflichtigen fokalen intestinalen Perforation (FIP), einer therapiepflichtigen Frühgeborenenretinopathie (ROP) oder dem Tod des Frühgeborenen assoziiert?

2 Patienten, Material und Methoden

2.1 Die GNN Studie

Das Deutsche Frühgeborenen Netzwerk (German Neonatal Network, GNN) wurde gegründet mit dem Ziel, in einer Langzeitstudie Faktoren zu ermitteln, die sich günstig auf die Entwicklung sehr kleiner Frühgeborener auswirken.

Zu diesem Zweck werden seit dem Jahr 2009 VLBW-Kinder einem Geburtsgewicht unter 1500 g und einem Gestationsalter unter 37 Schwangerschaftswochen (SSW) in die Studie aufgenommen. Die Einschlusskriterien wurden 2017 eingeschränkt auf ein Gestationsalter $< 28 + 6$ SSW und / oder einem Geburtsgewicht < 1000 g. Eine schriftliche Einverständniserklärung der Eltern ist obligatorisch. Zurzeit sind bundesweit 66 Kliniken in das Netzwerk eingeschlossen, die die Studie publik machen und unterstützen. Um die Qualität und Einheitlichkeit bei der Erstaufnahme der Kinder und Mütter in die Studie zu gewährleisten, findet in den teilnehmenden Kliniken ein Monitoring durch Lübecker Studienpersonal statt. Kinder, die aus einer nicht an der Studie teilnehmenden Klinik verlegt wurden, werden ausgeschlossen, außer wenn die Verlegung innerhalb von 24 Stunden nach der Geburt stattfindet.

Von den Frühgeborenen werden über einen langen Zeitraum klinische Daten gesammelt. Beginnend mit einem ausführlichen Fragebogen, der in der zuständigen Klinik kurz nach der Geburt des Kindes ausgefüllt wird, folgen bis zur Vollendung des fünften Lebensjahrs jährlich Fragebögen, die die Eltern ausfüllen. In diesen werden Fragen zum allgemeinen Gesundheitszustand und der Entwicklung der Kinder gestellt. Die Fragen sind abgeglichen mit denen der KiGGS (Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland) des Robert Koch Instituts.

Gipfel tut die Langzeiterhebung der klinischen Daten in der „5-Jahres-Nachuntersuchung“, in deren Rahmen Kinder im Alter von fünf bis sechs Jahren von Personal der Lübecker Studienzentrale in Hinblick auf ihre Entwicklung getestet werden.

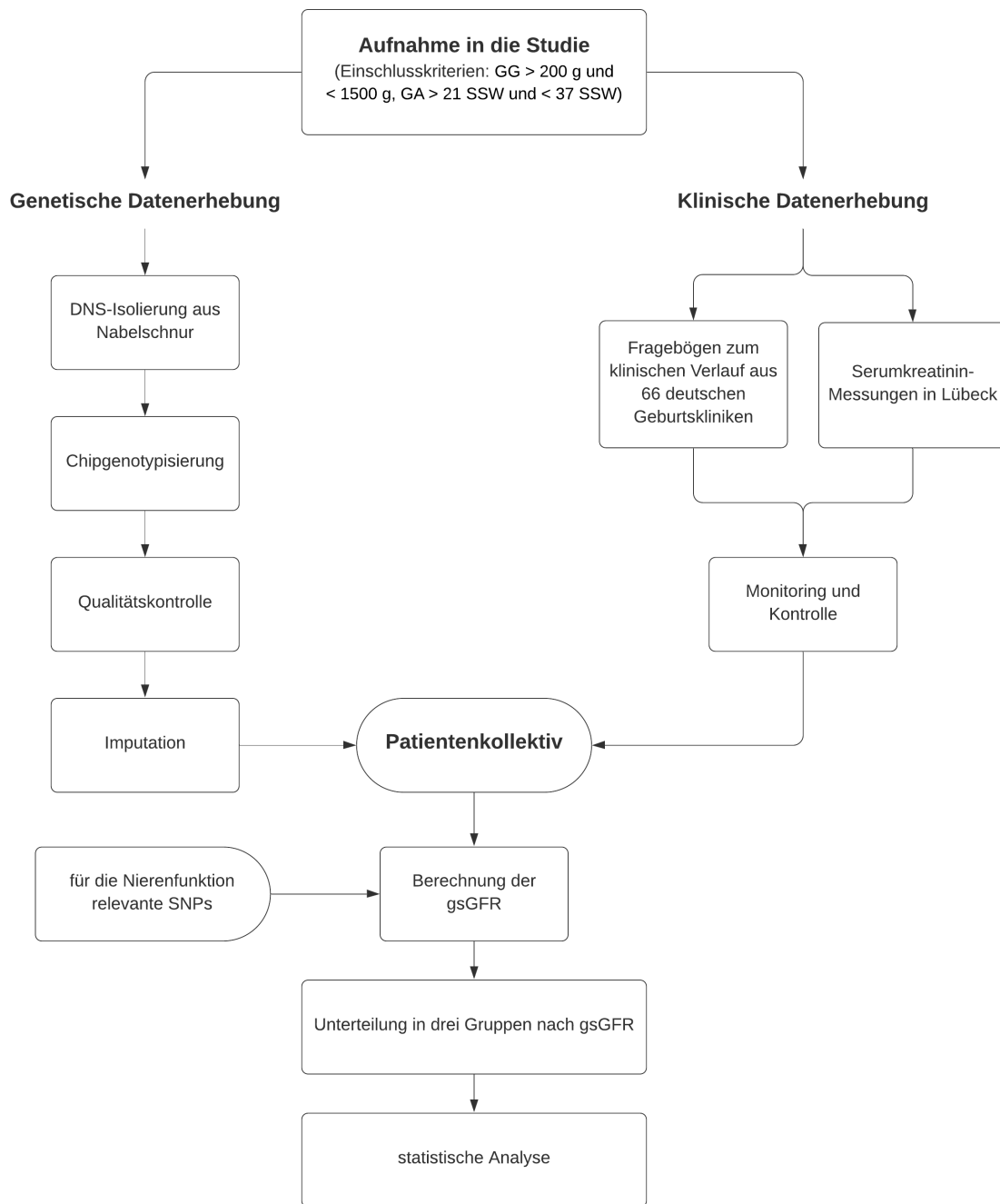
Parallel dazu erfolgt eine Chip-Genotypisierung mittels isolierter DNS aus der Nabelschnur, die nach der Geburt im eingefrorenen Zustand an das Studienlabor gesendet wird.

Um den Datenschutz im Rahmen der Studie zu gewährleisten, werden die gesammelten klinischen und genetischen Daten der Studienteilnehmer unter einer Identifikationsnummer pseudonymisiert. Das Ethikvotum der Universität zu Lübeck und aller teilnehmenden Kliniken liegt vor (Aktenzeichen der Ethikkommission Lübeck 08-022, Votum vom 27.06.2008, Amendement 06.12.2016).

Im Zeitraum von Januar 2009 bis Oktober 2019 wurden 18.642 Kinder in die GNN-Studie eingeschlossen.

Voraussetzung für den Einschluss in die Auswertung für diese Arbeit waren das Vorliegen von Daten für Geschlecht, Mehrlingsgravidität, schweren Komplikationen, Tod, ein Geburtsgewicht > 200 g und < 1500 g sowie ein Gestationsalter > 21 SSW und < 37 SSW. Obligat war auch das Vorhandensein genetischer Daten aus einer qualitätskontrollierten Chip-Genotypisierung.

Das Prozedere um die Datenerhebung und Zusammensetzung des Kollektivs wird im Folgenden erläutert. Eine Übersicht über die Arbeitsschritte gibt Abbildung 1.



GG, Geburtsgewicht; GA, Gestationsalter; SSW, Schwangerschaftswochen; DNS, Desoxyribonukleinsäure; SNPs, single nucleotide polymorphisms; gsGFR, genetic score eGFR

Abbildung 1: Arbeitsschritte bei der Datenerhebung

Die Abbildung dient der Visualisierung des Methodenteils der vorliegenden Arbeit. Dargestellt sind die Arbeitsschritte zur Datenerhebung, die sich in je eine Säule für klinische und genetische Daten unterteilen. Qualitätskontrollierte klinische und genetische Daten fließen zusammen in eine Kohortenstudie. Diese beruht auf einem Patientenkollektiv von VLBW-Frühgeborenen, das auf Grundlage von für die Nierenfunktion relevanten genetischen SNPs nach einem genetischen Score stratifiziert und in Hinblick auf phänotypische Merkmale in der statistischen Analyse untersucht wurde.

2.2 Erhebung klinischer Daten

Die Erhebung der Daten zum klinischen Kurzzeitoutcome erfolgte mittels dafür vorgesehener Fragebögen, die den kooperierenden Kliniken vorliegen.

Mit Einschluss eines Kindes in die Studie wurde direkt nach der Geburt der Dokumentationsbogen 1 (siehe Anhang 1) mit Daten zur Geburt, Mutter, pränatalen Therapie und Erstversorgung von einer / m behandelnden Ärztin / Arzt ausgefüllt und an die Studienzentrale übermittelt. Es folgten die Dokumentationsbögen 2, 3 und ggf. 4 (siehe Anhang 1) nach Entlassung, Versterben oder Verlegung des Kindes in eine andere Klinik. Diese Bögen gaben Auskunft über den weiteren stationären Verlauf und den erfolgten Therapiemaßnahmen.

In der Studienzentrale wurden die Daten unter doppelter Kontrolle in eine Access-Datenbank eingepflegt. Zusätzlich fand an jeder kooperierenden Klinik jährlich ein Monitoring durch Mitarbeiter des GNN statt, um Daten auf Richtigkeit zu überprüfen. Erst nach dem Monitoring wurden die Daten zur Auswertung freigegeben.

Ergänzend zu den klinischen Daten, die aus den Dokumentationsbögen hervorgehen, wurden die für diese Arbeit relevanten SCr-Werte erhoben. Diese entstammen einer Kohorte von VLBW-Frühgeborenen, die im Universitätsklinikum Lübeck betreut wurden. Die Messungen des SCr fanden im Rahmen einer Routinediagnostik auf der neonatologischen Intensivstation statt. Dokumentiert und ausgewertet wurden die zuerst und zuletzt gemessene SCr-Werte sowie der höchste – wenn vorhanden.

2.3 Erhebung genetischer Daten

Neben der Erfassung klinischer Daten erfolgte eine Chip-Genotypisierung durch Genmaterial aus der Nabelschnur der Kinder. Dadurch konnten genetische Faktoren untersucht werden und mit in die Studie einfließen. Ausgangspunkt stellte ein kleines Stück Nabelschnur im tiefgefrorenen Zustand (- 20 °C) dar, das aus teilnehmenden Kliniken an das Lübecker GNN-Labor gesendet wurde. Aus dieser Nabelschnur wurde im Lübecker Studienlabor die Desoxyribonukleinsäure (DNS) isoliert.

2.3.1 DNS-Isolierung

Die Isolierung der DNS aus den Nabelschnüren erfolgte mit Hilfe des Gentra® Puregene Tissue Kits.

Ausgangsprodukt waren etwa 100 mg klein geschnittene Nabelschnur. Die darin enthaltenen Proteine und Ribonukleinsäure (RNA) wurden in mehreren Schritten mit Proteinase, RNase und Protein Precipitation Solution denaturiert, durch Zentrifugieren getrennt und verworfen. Im Anschluss wurde die DNS durch Zugabe von Isopropanol gefällt und zweifach mit Ethanol gewaschen. Endprodukt war ein DNS-Pellet, das nach Trocknung mit DNS Hydratation Solution in Lösung gebracht und im Spectrophotometer auf Reinheit und DNS-Gehalt geprüft wurde. Proben mit einem DNS-Gehalt kleiner 30 ng / μL wurden verworfen.

Der detaillierte Isolierungsvorgang kann dem Protokoll der Firma QIAGEN (Anhang 2) entnommen werden. Diesem wurde weitestgehend gefolgt und die aufgelisteten Geräte, Lösungen und Enzyme wurden dabei eingesetzt:

Tabelle 1: Gebrauchsgegenstände und -material für DNS-Isolierungsvorgang

Gegenstand	Firma
Vortex GENIUS 3	IKA
Zentrifuge Megafuge 1.0R	Heraeus Instruments
TMix	Analytik Jena
Nano Drop 2000 Spectrophotometer	Peqlats Thermo scientific
Protein Precipitation Solution	QIAGEN
Cell Lysis Solution	QIAGEN
DNA Hydratation Solution	QIAGEN
RNAse A	QIAGEN
Proteinase Purgene	QIAGEN

2.3.2 Chip-Genotypisierung

Im Anschluss an die Isolation wurden die DNS-Proben in drei Runden an spezialisierte Labore nach Köln (Daten von 3699 Kindern) und in zwei Runden nach Kiel (Daten von 8254 Kindern) zur Chip-Genotypisierung versendet.

Die weitere Verarbeitungsprozess der Proben bis hin zur Imputation soll nun am Beispiel des in Kiel verwendeten „Infinium Global Screening Array 24-v1.0“ BeadChip der Firma Illumina® dargestellt werden.

In einem insgesamt dreitägigen Prozess wurden die DNS-Proben amplifiziert, fragmentiert und auf dem BeadChip hybridisiert. Dort wurden sie fluoreszierend gefärbt und anschließend vom iScan System der Firma Illumina® ausgemessen und in Farbintensitätsdaten codiert.

Mit den gewonnenen Intensitätsdaten wurde zunächst ein Genotype Calling durchgeführt. Dabei wurden unter Verwendung der Software „GenomeStudio 2.0.3“ die Genotypen der einzelnen Individuen bestimmt. Dieser Schritt sowie die weitere Bearbeitung der Rohdaten einschließlich der Imputation wurden von Statistikern des Instituts für Medizinische Biometrie und Statistik Lübeck durchgeführt.

2.3.3 Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrolle verlief auf drei Ebenen. Anfänglich wurden die Chips auf qualitative Unterschiede geprüft. Dadurch wurden Fehlerquellen bedingt durch die Hardware und den Hybridisierungsvorgang ausgeschlossen.

Anschließend fand eine Kontrolle auf Individuen-Ebene statt. Diese umfasste die Überprüfung, ob quantitativ ausreichend SNPs von einem Kind bestimmt werden konnten. Außerdem fand eine Kontrolle personenbezogene Daten statt – bspw. ob das Geschlecht, das in der Datenbank vermerkt ist, mit dem genetischen Geschlecht übereinstimmte oder ob es Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den Kindern gab. Lagen Daten von eineiigen Mehrlingen vor, d.h. Kindern mit der gleichen DNA, verblieb nur eins von ihnen in der Kohorte, um einer Verzerrung der Ergebnisse entgegenzuwirken. Ebenso wurden Kinder mit Trisomie 21 ausgeschlossen, da unklar ist, inwiefern sich die Trisomie auf das übrige Genom auswirkt.

Die letzte Kontrolle fand auf SNP-Ebene statt. Es wurde überprüft, ob genügend Genotypen von einem SNP bestimmt werden konnten und die Minor Allele Frequency zu einem SNP ausreichend hoch war. Zudem wurden alle SNPs, die nicht auf autosomalen Chromosomen – also auf den Geschlechtschromosomen – liegen, ausgeschlossen.

Lediglich die Chips, Individuen und SNPs, die dieser dreistufigen Qualitätskontrolle standhielten, wurden zur Imputation freigegeben.

2.3.4 Imputation

Im Anschluss an die Qualitätskontrolle fand ein Transfer der Illumina®-Datencodierung in ACTG-Genotypen statt.

Da das Sequenzieren des gesamten Genoms von jedem einzelnen Individuum einer Studie noch zu aufwendig und kostspielig ist, wird üblich nur eine Teilmenge des Genoms untersucht. Ziel der Imputation ist es, SNPs zu bestimmen, die in der Studienprobe nicht direkt genotypisiert wurden. Durch dieses Verfahren können die

Anzahl der SNPs, die zur Assoziation mit einem klinischen Merkmal verwendet werden, erhöht werden; dadurch können ebenfalls die statistische Power erhöht und Meta-Analysen erleichtert werden (Marchini und Howie, 2010).

Die Idee hinter der Imputation ist es, den Haplotyp eines gegebenen Individuums als Mosaik von Haplotypen anderer Individuen darzustellen (Marchini und Howie, 2010). Bekannte Haplotypen einer Bevölkerung – d.h. Allele bestehend aus SNPs, die anscheinend immer zusammen vererbt werden – werden mit Hilfe von Algorithmen zur Ergänzung der Studiendaten herangezogen.

Vor der Imputation wurden die Illumina®-Chip Daten mit der Software „SHAPEIT“ (Version 2, Release 837) gephased. Das bedeutet, dass aus den Genotypdaten die Haplotypen geschätzt wurden (Delaneau et al., 2014).

Die Imputation der Daten erfolgte mit der Software „IMPUTE2“ (Version 2.3.2) (Howie et al., 2009). Die Referenz-Haplotypen für unsere Studienkohorte entstammten dem „1000 Genomes Project, Phase 3“ (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015). Durch die Imputation wurde der Datensatz pro Kind auf 8.787.677 SNPs auf den 22 Autosomen ergänzt.

Die Qualität der einzelnen imputierten SNPs wird durch einen Info-Score beschrieben, der in der Regel Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann. Ist der Info-Score = 1, wurde dieser SNP nicht imputiert, sondern mit dem Chip ermittelt. Ein Wert nahe 1 gibt an, dass der SNP mit einer hohen Genauigkeit imputiert wurde. Einen universalen Grenzwert für das Filtern von SNPs nach der Imputation gibt es nicht (Howie und Marchini, 2014).

In der aktuellen Literatur wird jedoch ein Info-Score $> 0,4$ benutzt, um einen „gut imputierten SNP“ zu definieren (Zheng et al., 2015).

Die Verarbeitung der in Köln untersuchten DNS-Proben fand weitestgehend analog auf der „Axiom® Genome-Wide CEU 1 Array Plate 2.0“ der Firma Affymetrix® statt. Diese ist an ein systemeigenes Kommandozeilenprogramm (Analysis Power Tool, (APT)) gekoppelt, das ein automatisiertes Genotype-Calling durchführte, sodass

dieser Arbeitsschritt durch die Lübecker Arbeitsgruppe ausblieb. Die Imputation fand ebenfalls mit IMPUTE2 (Version 2.3.0) statt.

In unsere finale Auswertung flossen lediglich die SNPs ein, die einen Info-Score > 0,4 vorweisen konnten und sowohl in den Illumina®-Chip- als auch den Affymetrix®-Chip-Kohorten vorlagen.

2.3.5 Berechnung der genetischen Summenscores

Auf Grundlage der Metaanalyse genomweiter Assoziationsstudien von Wuttke et al. aus dem Jahr 2019 wurden aus diesen Datensätzen die beschriebenen SNPs herausgesucht und ihre Genotypen (ATCG) identifiziert.

Des Weiteren wurden die angegebenen beta-Werte der einzelnen SNPs herangezogen. Dies sind die errechneten Effektstärken eines SNPs auf die eGFR.

Für jedes Kind wurde anschließend der genetische Summenscore der beta-Werten der einzelnen SNPs berechnet. Dafür wurde die Summe der beta-Werte des eGFR-Effekts pro SNP jeweils mit der Anzahl der vorhandenen Effekt Allele an dem SNP multipliziert und die Summe gebildet.

Relevant für die Berechnung war dabei, ob das Kind homozygot für das Effekt Allel (EA) oder das Nicht-Effekt Allel (NEA) ist, oder ob es heterozygot ist. Die Genotypen hatten je nach Allel-Zusammensetzung folgende Effekte:

NEA/NEA: 0 x beta-Wert

NEA/EA: 1 x beta-Wert

EA/EA: 2 x beta-Wert

Am Beispiel von drei SNPs und einem chipgenotypisierten Kind soll die Berechnung verdeutlicht werden:

1. SNP1 (rs7474884):
Effect Allel (EA) A mit beta-Wert: 0,0077
2. SNP2 (rs10159261):
EA T beta-Wert: 0,0029
3. SNP3 (rs17413465):
EA A beta-Wert: - 0,0037

Für ein Kind, das auf SNP 1 den Genotyp AA, auf SNP 2 den Genotyp AT, auf SNP 3 den Genotyp GG trägt, berechnete sich der genetische Summenscore dieser drei SNPs demnach:

$$0.0077 \times 2 + 0.0029 \times 1 + (- 0.0037) \times 0 = 0,0183.$$

Nach diesem Beispiel wurde der genetische Summenscore der von Wuttke et al. publizierten SNPs bei allen Frühgeborenen berechnet. Dabei wurden lediglich die eGFR-assoziierten Loci herangezogen, die ebenfalls eine Assoziation mit BUN zeigten und somit in Hinblick auf die Relevanz für die Nierenfunktion Priorisierung erfahren haben (Wuttke et al., 2019).

Anschließend wurden der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (SD) der addierten Summenscores (genetic score GFR – gsGFR, der Übersicht wegen wird für diese Abkürzung auf den Terminus GFR zurückgegriffen, obwohl es sich streng genommen um die eGFR handelt) berechnet.

Abschließend folgte eine Aufteilung der Kinder in drei Gruppen, die untereinander verglichen wurden:

Gruppe 1: Summenscore der Kinder (gsGFR) < MW – 1 SD

Gruppe 2: gsGFR innerhalb des Intervalls MW ± 1 SD

Gruppe 3: gsGFR > MW + 1 SD

2.4 Definierte Endpunkte und Einflussfaktoren

Da eine schlechte Nierenfunktion bei schwer kranken Intensivpatienten mit einer Vielzahl von Komplikationen einhergehen kann, wählten wir als primären Endpunkt dieser Studie den **kombinierten Endpunkt „Tod oder schwere Komplikation“**, definiert als Tod oder IVH Grad III oder IV nach Papile (Papile et al., 1978) oder PVL oder Operation aufgrund einer NEC, FIP oder eine therapiepflichtige ROP.

Dabei wurden die einzelnen Komponenten des primären kombinierten Endpunkts von der Studienleitung wie folgt definiert:

Angelehnt an die nach Papile und von Volpe (Volpe, 2008) modifizierte Klassifizierung beschreibt **IVH Grad III** eine Ventrikeleinbruchblutung von über 50 % des Ventrikelvolumens, **Grad IV** eine periventrikuläre Hämorrhagie (PVH), unabhängig vom Ausmaß der begleitenden intraventrikulären Hämorrhagie.

Da man davon ausgeht, dass IVH Grad I (subependymale Blutung) und Grad II (Ventrikeleinbruchblutung von unter 50 % des Ventrikelvolumens) nicht mit gravierenden langfristigen Schäden einhergeht (Volpe, 2008), zählten wir diese nicht zu den schweren Komplikationen.

Klinisches Korrelat der zystischen **PVL** ist die hypoxisch bzw. ischämische Hirngewebsnekrose, die sich im Gegensatz zur PVH meist in Form von multiplen und kleineren Zysten in der Bildgebung darstellt.

Eine **OP bei NEC** ist definiert als jeglicher chirurgische Eingriff bei NEC wie eine primäre Laparotomie oder primäre Peritonealdrainage.

Eine **OP bei FIP** ist definiert als abdominelle Operation bei fokaler intestinaler Perforation.

Eine **therapiepflichtige ROP** ist definiert als eine Laserkoagulationstherapie bzw. intravitriale Injektion von Bevacizumab oder Ranibizumab bei ROP.

Die *Bronchopulmonale Dysplasie (BPD)* des Frühgeborenen, definiert in Anlehnung an Walsh als zusätzlicher Sauerstoffbedarf oder Atemunterstützung mit 36 Wochen + 0 Tagen postmenstruell (Walsh, 2004), wurde nicht zu den schwerwiegenden Komplikationen gerechnet, da der prädiktive Wert der BPD für den Langzeitoutcome

der Frühgeborenen gering ist, und die BPD von regulatorischen Behörden nicht mehr als Endpunkt für klinische Studien akzeptiert wird (Steinhorn et al., 2017).

Ergänzend zum primären Endpunkt wählten wir weitere prä-, peri- und postnatale klinische Daten, die wir deskriptiv auf einen Zusammenhang mit einer genetisch schlecht geschätzten Nierenfunktion untersuchten.

Analysierte Parameter waren Ursachen der zu frühen Geburt, perinatale Anpassung, postnatale medikamentöse Therapie mit Katecholaminen, Diuretika und Surfactant sowie das Auftreten von pulmonalen Komplikationen und Therapiebedarf. Zu definierende Merkmale und Einflussfaktoren waren dabei folgende:

Small for Gestional Age (SGA) wurde definiert als Geburtsgewicht unter der zehnten Perzentile der für das Gestationsalter entsprechenden Normalverteilung nach Voigt (Voigt et al., 2006).

Als *präinatale Lungenreifebehandlung* wurde definiert die intramuskuläre Gabe von 2 x 12 mg Betamethason im Abstand von 24 Stunden (alternativ 4 x 6 mg Dexamethason) an die Mutter.

Der maximale Sauerstoffbedarf innerhalb der ersten zwölf Lebensstunden wurde definiert als die maximale inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO₂) für mindestens 15 Minuten innerhalb der ersten zwölf Lebensstunden.

Die Variable *Beatmung* wurde definiert als jede Form der trachealen Beatmung unabhängig vom Beatmungsmodus.

Die Variable *Sauerstoffzufuhr* ist definiert als jegliche Sauerstoffzufuhr mit einem Anteil > 21 % im Atemgas.

2.5 Statistische Analyse

Ziel der Arbeit war es, die genetische Prädisposition auf Assoziation mit den erhobenen phänotypischen Merkmalen, das sind die klinischen Daten, zu testen.

Die computergestützte statistische Analyse der Daten fand unter Verwendung der Software SPSS[®] (Version 22.0, IBM, München) statt.

Verglichen wurden Frühgeborene mit einer gsGFR $< MW - 1 SD$ und einer gsGFR $> MW + 1 SD$. Dabei wurde für metrisch skalierte Variablen der nichtparametrische Mann-Whitney-U-Test oder der parametrische t-Test genutzt. Stichproben aus nominal skalierten Variablen wurden beim Vergleichen mit dem Fisher's exact Test oder dem Chi²-Test auf signifikante Unterschiede geprüft.

Zur Beschreibung des quantitativen Einflusses der Variablen eGFR-Summenscore, Wachstumsretardierung, Geschlecht, Mehrlingsgravidität und Gestationsalter auf den kombinierten Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“ wurden abschließend multivariate Regressionsanalysen durchgeführt.

Alle Signifikanztestungen wurden zweiseitig durchgeführt, das Signifikanzniveau wurde dabei mit $p < 0,05$ festgelegt. Da es sich bei der vorliegenden Arbeit um die erste Studie handelt, die einen genetischen Risikoscore für die eGFR bei Frühgeborenen untersucht, wurde nur der oben definierte kombinierte Endpunkt auf Signifikanz getestet. Alle anderen p-Werte sind deskriptiv und wurden nicht für multiples Testen korrigiert.

3 Ergebnisse

3.1 Studienpopulation & Berechnung des genetischen Summenscores

Im Zeitraum von 2009 bis Oktober 2019 wurden 18.642 Kinder in die GNN-Studie eingeschlossen. Eine Chip-Genotypisierung fand in diesem Zeitraum bei 11.953 Kindern statt.

Patientenauswahlkriterien für diese Arbeit waren das Vorliegen von Daten für Geschlecht, Mehrlingsgravidität, schweren Komplikationen, Tod, ein Geburtsgewicht zwischen 200 und 1500 g sowie ein Gestationsalter von 22 - 36 SSW. Weiteres Einschlusskriterium war die erfolgreiche Berechnung des genetischen Summenscores der eGFR auf Grundlage der von Wittman et al. 2019 priorisierten und publizierten SNPs. Insgesamt 10.240 Frühgeborene erfüllten diese Kriterien und stellten damit die Studienpopulation dar.

Als Bindeglied zwischen Genetik und Klinik fungierten im Universitätsklinikum Lübeck gemessene SCr-Werte von 90 Frühgeborenen, die ebenfalls die oben genannten Patientenauswahlkriterien erfüllten.

2019 publizierten Wuttke et al. 147 für die Nierenfunktion relevante SNPs. Davon konnten neun nicht in unsere Studie einbezogen werden, da sie im Prozess der Qualitätskontrolle der Chipgenotypisierung ausgeschlossen wurden. Somit flossen 138 SNPs in den genetischen Summenscore ein. Die in diese Arbeit eingeflossenen SNPs und der Info-Score ihrer Imputation bei unserer Kohorte sind Anhang 3 zu entnehmen.

Aus den addierten Summenscores der 10.240 VLBW-Frühgeborenen berechnete sich ein MW von 0,04713 und eine SD von 0,02354. Als Grenzwerte ergaben sich für minus 1 SD $< 0,02359$ und für plus 1 SD $> 0,07067$.

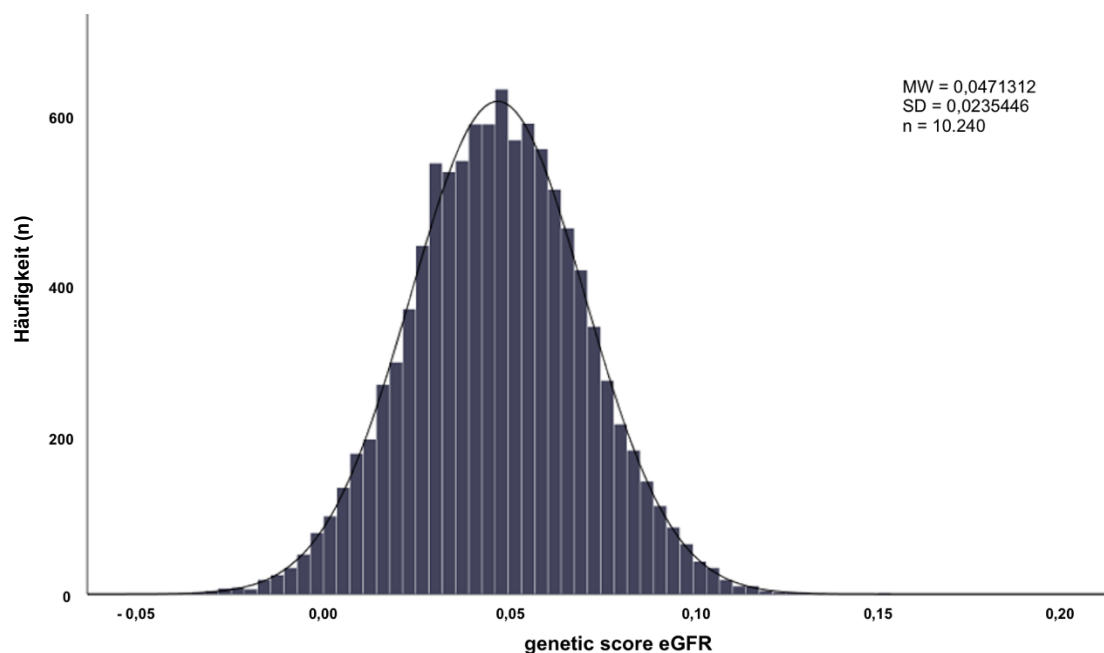
Daraus erfolgte eine Einteilung des Frühgeborenenkollektivs in drei Gruppen, die wir untereinander verglichen:

Gruppe 1: $gsGFR < 0,02359$

Gruppe 2: $gsGFR = [0,02359; 0,07067]$

Gruppe 3: $gsGFR > 0,07067$

Während Gruppe 1 mit einer niedrig geschätzten eGFR ($gsGFR < - 1 SD$) assoziiert ist, ist Gruppe 3 gegenteilig assoziiert mit einer genetisch hoch geschätzten eGFR ($gsGFR > + 1 SD$). Gruppe zwei bildet die Mitte. Das Histogramm in Abbildung 2 veranschaulicht die Verteilung der genetischen Summenscores.



MW, Mittelwert; SD, Standardabweichung

Abbildung 2: Verteilung des genetischen Summenscore für eGFR am VLBW-Frühgeborenenkollektiv

Dargestellt ist die Verteilung des genetische Summenscore für die eGFR am VLBW-Frühgeborenenkollektiv. Ein niedriger Score definiert eine genetisch schlecht geschätzte Nierenfunktion, ein hoher Score eine genetisch gut geschätzte Nierenfunktion. Im Histogramm zeigt sich eine Normalverteilung für das Gesamtkollektiv.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über das Gesamtkollektiv der Frühgeborenen – unterteilt in drei Gruppen nach der Höhe ihres genetischen eGFR-Summscores.

Unter den Kindern mit hohem gsGFR befinden sich mehr Jungen als Mädchen ($p = 0,044$; Chi-Quadrat). Außerdem sind Gestationsalter ($p = 0,006$; t-Test) und Geburtsgewicht ($p = 0,012$; t-Test) niedriger: Kinder mit einer gut geschätzten Nierenfunktion werden im Mittel 1,8 Tage früher geboren und wiegen 27 g weniger bei Geburt.

Tabelle 2: Klinische Daten bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	Gesamt (10240)	gsGFR		
		< - 1 SD (1609)	- 1 bis + 1 SD (7026)	> + 1 SD (1605)
Gestationsalter [Wochen]	28,50 ± 2,66	28,54 ± 2,66	28,54 ± 2,66	28,28 ± 2,65
Geburtsgewicht [Gramm]	1037 ± 305	1041 ± 299	1042 ± 305	1014 ± 307
Junge	51,3	49,8	51,2	53,3
Mehrlinge	33,3	33,0	33,5	32,8
< P10 (Voigt)	18,1	19,0	18,0	17,9

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardabweichung oder % (n)

3.2 Auswertung der Serumkreatininwerte

Die in Tabelle 3 aufgeführten SCr-Werte entstammen einem Kollektiv von Frühgeborenen, die im Universitätsklinikum Lübeck behandelt wurden. Aufgelistet wurden der erst gemessene SCr-Wert („Erstes SCr“) nach Aufnahme und der letzte vor Entlassung („Letztes SCr“). „Höchstes SCr“ beschreibt den höchst gemessenen SCr-Wert, wenn neben erster beiden weitere Bestimmungen durchgeführt worden sind.

Wir konnten keine signifikanten Unterschiede feststellen. Frühgeborene mit niedriger gsGFR hatten allerdings immer die höchsten SCr-Mittelwerte und Frühgeborene mit hoher gsGFR die niedrigsten SCr-Mittelwerte. Frühgeborene mit einer gsGFR von - 1 bis + 1 SD lagen mit ihren SCr-Mittelwerten zwischen den Extremen.

Tabelle 3: Serumkreatininwerte von Lübecker VLBW-Frühgeborenen nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	gsGFR				p [#]
	Gesamt	< - 1 SD	- 1 bis + 1 SD	> + 1 SD	
Erstes SCr [µmol/L]	58,87 ± 28,31 (90)	65,68 ± 19,58 (13)	58,36 ± 29,45 (57)	55,90 ± 30,23 (20)	0,185
Letztes SCr [µmol/L]	40,05 ± 22,25 (55)	44,29 ± 28,43 (10)	40,54 ± 23,36 (32)	35,59 ± 13,25 (13)	0,598
Höchstes SCr [µmol/L]	72,83 ± 38,15 (32)	86,92 ± 41,86 (6)	75,32 ± 39,70 (20)	53,97 ± 26,45 (6)	0,153

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardabweichung (n)

< - 1 SD vs. > + 1 SD, Mann-Whitney-U Test

3.3 Kurzfristiger Outcome

3.3.1 Pränatale Faktoren

Bei der Betrachtung von Geburtsursachen, die mit einem Risikoscore assoziiert sein könnten, wurden die Variablen unhemmbare Wehen, Amnioninfektionssyndrom, Präeklampsie, HELLP-Syndrom (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count), Wachstumsretardierung, pathologisches CTG (Kardiotokogramm) und Plazentalösung herangezogen (siehe Tabelle 4).

Wir konnten keine signifikanten Differenzen zwischen den Kindern mit einer hoch und niedrig geschätzten eGFR feststellen. Weitere Faktoren wie pränatale Lungenreifebehandlung und Notsectio- bzw. Sectorate ergaben ebenfalls keine Differenzen (siehe Tabelle 5).

Tabelle 4: Geburtsursachen bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	gsGFR				p [#]
	Gesamt (10240)	< - 1 SD (1609)	- 1 bis + 1 SD (7026)	> + 1 SD (1605)	
Unhemmbare Wehen	36,0	26,6	35,8	36,3	0,839
Amnioninfektions- syndrom	21,5	21,3	21,2	22,7	0,351
Präeklampsie	7,9	8,0	7,9	8,1	0,880
HELLP	9,1	10,0	9,0	8,4	0,118
Pathologisches CTG	20,8	21,1	20,6	21,4	0,834
Wachstumsretardierung, pathologische Doppler	24,0	23,0	24,5	23,1	0,936
Plazentalösung	7,4	6,4	7,8	6,8	0,656

HELLP, hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count; CTG, Kardiotokogramm

Daten angegeben in % (n)

< - 1 SD vs. > + 1 SD, Chi-Quadrat nach Pearson

Tabelle 5: Prä- und perinatale Parameter bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	gsGFR				p [#]
	Gesamt	< -1SD	-1 bis +1SD	> +1SD	
Sectio	91,5 (9343/10206)	92,5 (1482/1602)	91,3 (6392/7001)	91,6 (1469/1603)	0,363
Notsectio	9,9 (1015/10206)	8,7 (139/1602)	10,3 (722/7001)	9,6 (154/1603)	0,361
Pränatale Lungenreifebehandlung	91,2 (9336/10240)	91,1 (1465/1609)	91,1 (6401/7026)	91,6 (1470/1605)	0,588

Daten angegeben in % (n)

<-1SD vs. >+1SD, Chi-Quadrat nach Pearson

Zusammenfassend lässt sich aus unseren Ergebnissen schließen, dass der genetische Summenscore für eine gute oder schlechte Nierenfunktion keine Assoziationen mit pränatalen Faktoren hat.

3.3.2 Perinatale Faktoren

Um Auffälligkeiten, die sich perinatal zeigen, unter den beiden Kohorten zu vergleichen, wurden der APGAR Score (Aussehen, Puls, Gesichtsbewegungen, Aktivität, Respiration), der niedrigste mittlere arterielle Blutdruck (MAD) sowie der maximale Sauerstoffbedarf in den ersten zwölf Lebensstunden und der Nabelarterien-pH verwendet. Sowohl der APGAR Score nach 5 min ($p = 0,002$) als auch der niedrigste MAD in den ersten zwölf Lebensstunden ($p = 0,003$) ist bei Kindern mit einer genetisch gut geschätzten Nierenfunktion erniedrigt, während sich in derselben Gruppe der maximale Sauerstoffbedarf in den ersten zwölf Lebensstunden ($p = 0,004$) erhöht darstellt (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Extrauterine Anpassung bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	Gesamt	gsGFR			p [#]
		< -1SD	-1 bis +1SD	> +1SD	
APGAR nach 5 min	7,70 ± 1,47 (9911)	7,77 ± 1,45 (1551)	7,71 ± 1,46 (6796)	7,60 ± 1,50 (1564)	0,002
Niedrigster MAD in den ersten 12h [mmHg]	28,07 ± 6,71 (9813)	28,10 ± 6,55 (1554)	28,22 ± 6,79 (6725)	27,40 ± 6,49 (1544)	0,003
Maximaler O₂-Bedarf in den ersten 12h [%]	39,54 ± 22,11 (10063)	38,63 ± 21,58 (1585)	39,42 ± 22,04 (6896)	40,93 ± 22,90 (1582)	0,004
Nabelarterien-pH	7,32 ± 0,09 (9689)	7,32 ± 0,09 (1520)	7,31 / 0,10 (6647)	7,31 ± 0,10 (1522)	0,928

MAD, mittlerer arterieller Blutdruck; APGAR, Score nach Virginia Apgar

Daten angegeben als Mittelwert ± Standardabweichung (n)

<-1SD vs. >+1SD, t-Test

3.3.3 Postnatale Faktoren

Im Folgenden werden der Bedarf medikamentöser Therapien und postnatale klinische Daten dargestellt.

Die Betrachtung der medikamentösen Therapie (Tabelle 7) beschränkt sich auf Diuretika, Surfactant und Katecholamine. Dabei ist der Prozentsatz der Stichprobenmenge n angegeben, der einer entsprechenden Therapie unterzogen wurde. In dieser Statistik ergab sich in der Anwendung der Katecholamine Adrenalin ($p = 0,006$) und Dopamin ($p = 0,034$) ein Unterschied. Ein größerer Prozentsatz von Kindern mit einer hohen gsGFR wurde mit Katecholaminen therapiert.

Auch das Diuretikum Furosemid ($p = 0,024$) und Surfactant ($p = 0,029$) wurde in der Gruppe der Kinder mit hoher gsGFR häufiger eingesetzt.

Tabelle 7: Postnatale medikamentöse Therapie bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	Gesamt (10240)	gsGFR			p#
		< -1SD (1609)	-1 bis +1SD (7026)	> +1SD (1605)	
Furosemid	22,0	20,4	22,0	23,7	0,024
Hydrochlorothiazid	25,4	25,4	24,7	28,1	0,079
Spirolacton	22,1	21,9	22,0	22,9	0,475
Surfactant	63,6	62,2	63,4	65,9	0,029
Dopamin	8,6	7,3	8,7	9,4	0,034
Noradrenalin	5,5	5,7	5,6	5,3	0,600
Adrenalin	5,7	4,8	5,6	7,2	0,006

Daten angegeben in % (n)

< - 1 SD vs. > + 1 SD, Chi-Quadrat nach Pearson

Besonders auffällig zeigten sich das pulmonale Erscheinungsbild der Kinder mit einer genetisch gut geschätzten Nierenfunktion (Tabelle 8). Kinder mit einer hohen gsGFR benötigten häufiger eine maschinelle Beatmung ($p = 0,006$) und Sauerstoffzufuhr ($p = 0,029$) nach Geburt und entwickelten ebenfalls häufiger eine Bronchopulmonale Dysplasie ($p = 0,005$) oder einen Pneumothorax ($p = 0,040$).

Tabelle 8: Pulmonale Parameter bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	gsGFR				p [#]
	Gesamt	< -1SD	-1 bis +1SD	> +1SD	
Sauerstoffzufuhr	79,4 (8127/10232)	79,1 (1272/1609)	78,9 (5539/7020)	82,1 (1316/1603)	0,029
Beatmung	48,5 (4964/10230)	46,5 (747/1607)	48,3 (3393/7019)	51,4 (824/1604)	0,006
BPD	17,2 (1762/10235)	16,0 (258/1608)	16,9 (1185/7022)	19,9 (319/1605)	0,005
Pneumothorax	5,1 (512/10207)	4,6 (74/1603)	4,9 (343/7007)	6,3 (100/1597)	0,040

BPD, Bronchopulmonale Dysplasie

Daten angegeben in % (n)

<-1SD vs. >+1SD, Chi-Quadrat nach Pearson

3.3.4 Tod oder schwere Komplikationen

Die Häufigkeit des Endpunktes „Tod oder schwere Komplikationen“ und seine einzelnen Komponenten sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Frühgeborene mit einer gsGFR > + 1 SD erreichten diesen Endpunkt signifikant häufiger als Frühgeborene mit einer gsGFR < - 1SD. Diese Unterschiede beruhten vor allem auf einer höheren Rate von Kindern mit IVH Grad III / IV und einer höheren Rate an ROP-Therapien.

Abbildung 3 differenziert weiterhin die prozentuale Häufigkeit des Auftretens von schweren Komplikationen oder Tod in Abhängigkeit der gsGFR.

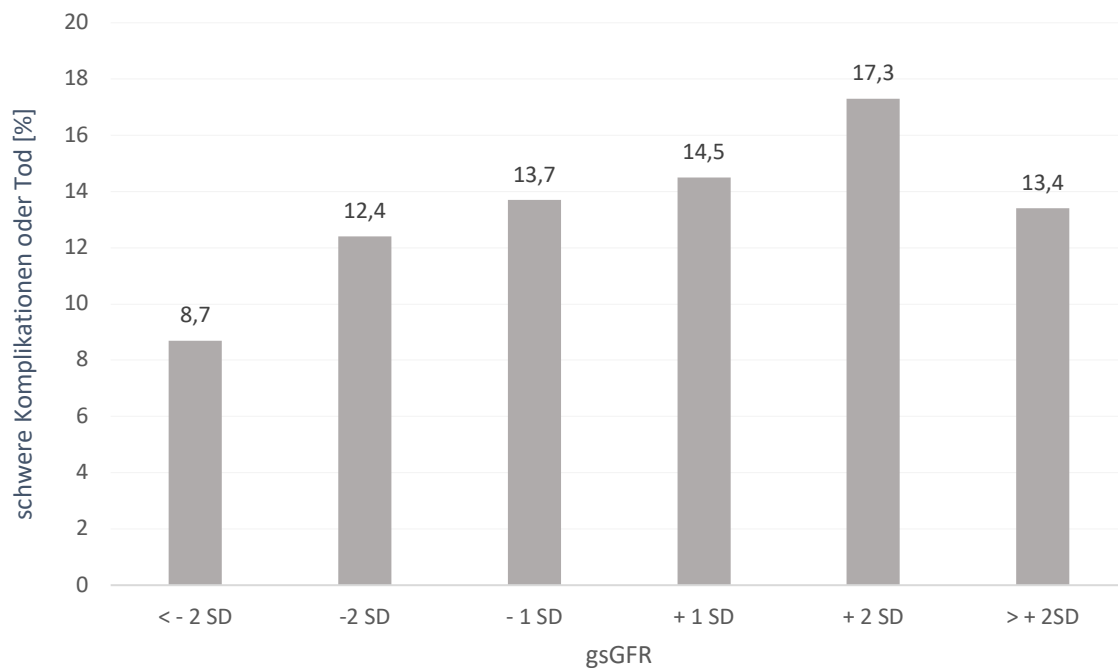
Tabelle 9: Todesrate und schwere Komplikationen bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

	gsGFR				p [#]
	Gesamt	< -1SD	-1 bis +1SD	> +1SD	
Tod oder schwere Komplikation	14,2 (1450/1024)	11,9 (191/1609)	14,1 (990/7026)	16,8 (269/1605)	<0,001
Tod (stationär)	3,3 (341/10240)	2,9 (47/1609)	3,3 (231/7026)	3,9 (63/1605)	0,122
IVH (Grad III / IV)	5,8 (590/10213)	4,7 (75/1603)	5,7 (399/7009)	7,2 (116/1601)	0,002
PVL	2,8 (286/10205)	2,4 (39/1602)	2,9 (201/7004)	2,9 (46/1599)	0,444
ROP	2,6 (358/10240)	3,1 (50/1609)	3,3 (232/7026)	4,7 (76/1605)	0,018
OP NEC	2,3 (240/10240)	1,7 (28/1609)	2,4 (169/7026)	2,7 (43/1605)	0,073
OP FIP	2,1 (218/10240)	2,1 (34/1609)	2,0 (142/7026)	2,6 (42/1605)	0,356

IVH, intraventrikuläre Hämorrhagie; PVL, periventrikuläre Leukomalazie; ROP, Retinopathy of Prematurity; NEC, nekrotisierende Enterokolitis; FIP, fokale intestinale Perforation

Daten angegeben in % (n), fehlende Fälle aufgrund fehlender Sonographie-Daten: IVH Grad III/IV: n =27; PVL: n = 35

<-1SD vs. >+1SD, Fisher's exact test



gsGFR, genetic score eGFR; SD, Standardabweichung

Abbildung 3: Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“ bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion

Dargestellt wurde das prozentuale Auftreten des kombinierten Endpunktes „schwere Komplikationen oder Tod“ bei VLBW nach genetisch geschätzter Nierenfunktion am gesamten Studienkollektiv (n = 10240). Die gsGFR wurde dafür sechsstufig in SD kodiert. Es zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg des Risikos mit zunehmender gsGFR, d.h. genetisch besser geschätzter eGFR. Lediglich in der Randgruppe > + 2 SD fällt das Auftreten des kombinierten Endpunktes „schwere Komplikationen oder Tod“ wieder ab. Anzahl der Fälle: < - 2SD n = 230, - 2SD n = 1379, - 1SD n = 3498, + 1 SD n = 3528, + 2SD n = 1367, > + 2SD n = 238.

In der Zusammensetzung des Studienkollektivs in Tabelle 2 zeigten sich Unterschiede in Hinblick auf Geschlecht, Gestationsalter und Geburtsgewicht. Da die Möglichkeit gegeben ist, dass diese als unabhängige Variablen Einfluss auf den kombinierten binären Endpunkt „schwere Komplikationen und Tod“ haben, führten wir eine logistische Regression durch, um mögliche Confounder aufzudecken und die Relevanz des gsGFR-Effekts herauszustellen (siehe Tabelle 10).

Dabei zeigten alle Variablen einen signifikanten Einfluss auf den Endpunkt. Für wachstumsretardierte Kinder (SGA, small for gestational age), definiert als < P10 (Voigt), stieg das Risiko für einen ungünstigen Outcome um den Faktor 1,780 an (KI 1,518 - 2,087; $p < 0,0001$), für Mehrlinge um den Faktor 1,246 (KI 1,093 - 1,421; $p = 0,001$).

Ein steigendes Gestationsalter und weibliches Geschlecht zeigten einen negativen Einfluss auf das Auftreten des kombinierten Endpunktes. So sank das Risiko für den kombinierten Endpunkt „schwere Komplikationen und Tod“ mit steigendem Gestationsalter um den Faktor 0,620 (KI 0,603 - 0,638; $p < 0,0001$) und bei weiblichem Geschlecht um den Faktor 0,709 (KI 0,627 - 0,803; $p < 0,0001$).

Der für diese Arbeit entscheidende Parameter „gsGFR“ zeigte ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf den kombinierten Endpunkt. Er wurde analog zur Abbildung 3 sechsstufig für das Intervall von - 3 SD bis + 3 SD kodiert, d.h. pro SD höherer gsGFR stieg das Risiko für einen ungünstigen Outcome um den Faktor 1,087 an (KI 1,025 - 1,153; $p = 0,005$).

Tabelle 10: Logistische Regression zum Endpunkt "schwere Komplikationen oder Tod" bei VLBW

	OR schwere Komplikationen	95% KI	p
gsGFR	1,087	1,025 – 1,153	0,005
< P10 (Voigt)	1,780	1,518 – 2,087	< 0,0001
Weibliches Geschlecht	0,709	0,627 – 0,803	< 0,0001
Mehrlinge	1,246	1,093 – 1,421	0,001
Gestationsalter	0,620	0,603 – 0,638	< 0,0001

gsGFR, genetic score eGFR; < P10 (Voigt), unter der zehnten Perzentile nach Voigt

4 Diskussion

In mehreren Studien wurde bisher der Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit und einer verminderten Nierenfunktion im Kurz- und Langzeitoutcome diskutiert. Die vorliegende Arbeit hebt sich insofern von bisherigen Studien ab, als sie genetische Einflüsse auf die Funktion der Niere betrachtet und die bisher größte Studie an sehr kleinen Frühgeborenen in Hinblick auf die Nierenfunktion unter Einbezug genetischer Marker darstellt.

4.1 Assoziation zwischen gsGFR und Serumkreatinin

Die GFR ist der beste Indikator für die Nierenfunktion und ausschlaggebend für die Diagnostik von akuter und chronischer Nierenschädigung bei Erwachsenen und Kindern. Wegen des hohen Kosten- und Zeitaufwands, den die Bestimmung der GFR mittels exogener Marker mit sich bringt, hat sich die Schätzung der GFR mittels Formeln, die auf die SCr-Konzentration und die Kreatinin-Clearance zurückzuführen sind, im klinischen Geschehen durchgesetzt (Schwartz und Work, 2009).

Die Güte des SCr als Prädiktor für die Nierenfunktion und GFR sollen an dieser Stelle diskutiert werden:

Bestimmte Erkrankungen können unabhängig von der GFR den Serumkreatininspiegel verändern, z.B. höheres SCr bei Hypothyreose, niedrigeres bei Hyperthyreose. Zudem ist der „kreatininblinde Bereich“ nicht außer Acht zu lassen. Dieser ist beschrieben durch das Phänomen, dass das SCr auch bei erheblicher Verminderung der GFR (bis zu 50 %) nur wenig ansteigt. Ein Grund dafür kann eine verstärkte tubuläre Sekretion des Kreatinins bei einem initialen geringen GFR-Verlust oder eine kompensatorische Steigerung der Filtration bei einer geringeren Anzahl an Nephronen sein. Strenggenommen ist für die klinische Diagnostik der Blick auf das SCr allein zur Beurteilung der GFR ungenau und ungeeignet. Die Messung der Kreatinin-Clearance aus Sammelurin oder die Anwendung von Schätzformeln ist obligat (Böhler, 2015). Nichtsdestotrotz ist die Höhe der SCr-Konzentration als meist determinierender Parameter für gängige

Schätzformeln ausschlaggebend für die Einschätzung der Nierenfunktion. So bemisst sich die in der Pädiatrie oft verwendete revidierte Schwartz-Formel zur Schätzung der GFR an der Körperlänge und der SCr-Konzentration (Schwartz et al., 2009).

In Unkenntnis der genetischen Prädisposition der Kinder haben wir an einer Kohorte von 90 Frühgeborenen SCr-Konzentrationen gemessen. Ziel war es, die Reproduzierbarkeit der von Wuttke et al. 2019 publizierten SNPs an Frühgeborenen zu überprüfen.

Pränatal sind der kindliche und mütterliche Metabolismus über die Plazenta verbunden. Aufgrund des anfangs persistierenden Einflusses des mütterlichen SCr zeigten sich folglich in allen Gruppen die erst gemessenen Werte im Vergleich zu den letztgemessenen erwartungsgemäß höher.

Der Vergleich unter den Gruppen mit niedriger und hoher gsGFR zeigte einen deutlichen, jedoch nicht signifikanten Zusammenhang zwischen einer schlecht geschätzten Nierenfunktion – berechnet nach den von Wuttke et al. 2019 publizierten SNPs – und einer erhöhten SCr-Konzentration. Dass unsere Ergebnisse keine Signifikanz aufweisen, liegt möglicherweise an der kleinen Stichprobe (n = 90).

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen damit nahe, dass ein genetischer Risikoscore für die Nierenfunktion von Erwachsenen auf Frühgeborene übertragbar ist. Um diese Schlussfolgerung zu stützen, ist jedoch eine Replikation mit einer größeren Studienpopulation notwendig.

4.2 Klinischer Outcome

Da die Nieren als Schlüsselorgan u.a. im Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt fungieren, war ein Einfluss ihrer geschätzten Leistungsfähigkeit auf sie umgebende Organe und Systeme zu erwarten.

Epidemiologische Daten zeigen, dass Frühgeborene ein deutlich erhöhtes Risiko für eine chronische Niereninsuffizienz haben (Abitbol et al., 2016; Crump et al., 2019; Luyckx et al., 2013).

Entgegen der Ausgangshypothese, dass Frühgeborene von einer guten Nierenfunktion profitieren, implizieren die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass Kinder mit einer genetisch gut geschätzten Nierenfunktion ein schlechteres Kurzzeitoutcome haben. Prä-, peri- und postnatale Assoziationen und Auffälligkeiten werden nun im Einzelnen diskutiert.

4.2.1 Geburt und extrauterine Anpassung

Wie im Ergebnisteil dargestellt zeigten Kinder mit einer genetisch hoch geschätzten eGFR eine schlechtere extrauterine Anpassungsfähigkeit – bemessen an APGAR Score, Sauerstoffbedarf und MAD. Da es keine Unterschiede zwischen den verglichenen Kohorten in Hinblick auf Geburtsursachen, pränataler Lungenreife, Nabelarterien-pH oder vollzogener Sectio gab, liegt die Vermutung nahe, dass die genetische Variante „hohe GFR“ erst nach der Entbindung Auswirkungen zeigt.

Der APGAR-Score nach Virginia Apgar dient der schnellen Beurteilung des klinischen Status eines Neugeborenen und wird nach einer, fünf und zehn Minuten erhoben. Dabei werden Hautkolorit, Herzaktion und Grundtonus, Aktivität und Respiration beurteilt. Er fungiert als Maßstab für die Notwendigkeit von Interventionen, um eine Atmung beim Neugeborenen zu initiieren, und dient der Reevaluation im Falle von Wiederbelebungsmaßnahmen (Apgar, 1953).

Der APGAR Score nach fünf Minuten gilt als valider Prädiktor für neonatale Mortalität (Casey et al., 2001). Im Falle einer Frühgeburt ist seine Aussagekraft jedoch stark limitiert, da die Frühgeburtlichkeit per se Einfluss auf die physiologische Reife des Kindes nimmt (Catlin et al., 1986) und die Inzidenz eines niedrigen APGAR Score im inversen Zusammenhang mit dem Geburtsgewicht steht (Hegyí et al., 1998) steht. In diesem Sinne müssen unsere Ergebnisse kritisch gewertet

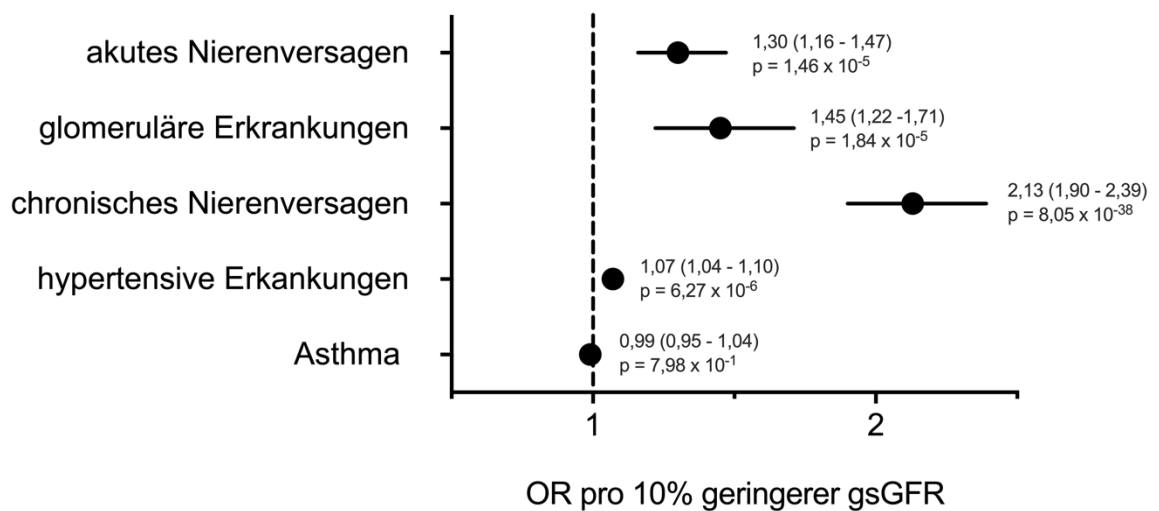
werden. Sie dienen lediglich als vergleichender Parameter zwischen den Kohorten hohe und niedrige gsGFR und bestätigen unsere weiteren Ergebnisse.

Die Parameter MAD und Sauerstoffbedarf sind in ihrer Messung weniger störanfällig und aussagekräftiger als der APGAR-Score.

Übereinstimmend mit bisherigen klinischen Studien konnten Wuttke et al. eine positive und signifikante Korrelation zwischen einer schlechten genetischen Prädisposition und Erkrankung aufzeigen (siehe Abbildung 4). Neben AKI, hypertensiven und glomerulären Erkrankungen wurde eine hervorstechende Korrelation zwischen einer niedrigen gsGFR und dem Auftreten von CKD festgestellt. Ihrer Darstellung zufolge steigt das Risiko für das Auftreten einer CKD im Erwachsenenalter pro 10 % niedrigerer gsGFR um den Faktor 2,13 (KI 1,90 - 2,39; $p < 0,0001$).

Mit einer 45fach höheren Fallzahl stehen die Ergebnisse von Wuttke et al. unseren Ergebnissen, die ein besseres Outcome bei schlechter gsGFR implizieren, entgegen. In zweierlei Hinsicht müssen diese Ergebnisse jedoch differenziert von unseren betrachtet werden:

Zum ersten liegt den Untersuchungen von Wuttke et. al ein Studienkollektiv aus der UK Biobank zugrunde, deren Teilnehmer bei Einschluss 40-69 Jahre alt waren (Sudlow et al., 2015) und damit das Langzeitoutcome der genetischen Varianten widerspiegeln. Zweitens handelt es sich bei unserem Kollektiv um VLBW-Frühgeborene. Eine Population, die vergleichsweise weniger klinisch erforscht ist und bereits beschriebene außerordentliche Eigenschaften in Hinblick auf die Nephrogenese mit sich bringt.



OR, *Odd's Ratio*; gsGFR, *genetic risk score GFR*

Abbildung 4: Assoziation von genetisch niedrig geschätzter eGFR mit nephrologischen und metabolischen Erkrankungen am Erwachsenenkollektiv, *nach Wuttke et. al, 2019, Abb. 2d*

Gezeigt ist die Assoziation einer genetisch niedrig geschätzten eGFR basierend auf den 147 für die Nierenfunktion relevanten SNPs mit ICD-10-basierten klinischen Diagnosen von 452.264 Individuen der UK Biobank. Die Variable Asthma diente als Negativkontrolle. Ihre Ergebnisse stellten Wuttke et al. als OR und 95 % KI pro 10 % geringerer gsGFR dar. Eine genetisch niedrig geschätzte eGFR korrelierte positiv mit den Diagnosen N17 akutes Nierenversagen, N00 - N08 glomeruläre Erkrankungen, N18 chronisches Nierenversagen und I10 - I15 hypertensive Erkrankungen.

4.2.2 Postnatale Komplikationen und Therapie

Sowohl der niedrige MAD als auch der erhöhte O₂-Bedarf stellen Risikofaktoren dar und bilden Bestandteile eines Assoziationskomplex von weiteren postnatalen Komplikationen und Therapien, die durch unsere Ergebnisse aufgezeigt und im Folgenden weiter diskutiert werden soll. Abbildung 5 veranschaulicht dies.

Die erste Säule des Assoziationskomplexes enthält den niedrigeren MAD kurz nach der Geburt. Beobachtungsstudien wie die von Faust et al. aus dem Jahr 2015 beschreiben eine Assoziation zwischen geringem Blutdruck und dem Auftreten von IVH und BPD sowie einem erhöhten Sterblichkeitsrisiko. Unsere Beobachtung unterstützen dies, auch wenn die Frage nach einem kausalen Zusammenhang bestehen bleibt.

Ferner haben Kinder mit einer genetisch gut geschätzten Nierenfunktion häufiger Adrenalin und Dopamin erhalten. Diese Beobachtung reiht sich in den Assoziations- und möglichen Kausalitätskomplex um den niedrigen MAD ein, da diese Arzneistoffe einer hypotensiven Krise entgegenwirken sollen. Adrenalin ist zudem das einzige Medikament, das durch das „International Liaison Committee on Resuscitation“ für die Wiederbelebung von Neugeborenen empfohlen wird.

Im asphyxischem und azidotischem Zustand ist eine Vasodilatation mit sinkendem systemvaskulärem Widerstand sehr wahrscheinlich (Vali et al., 2019). Die Applikation von Adrenalin soll eine periphere Vasokonstriktion mit einer Erhöhung des systemvaskulären Widerstands und des koronaren Perfusionsdruck induzieren (Kapadia und Wyckoff, 2013). VLBW- und SGA-Neugeborene wird während einer Wiederbelebung kurz nach Geburt häufiger Adrenalin appliziert als Reifgeborenen. Unter VLBW-Frühgeborenen ist die Verwendung von Adrenalin im Kreißsaal assoziiert mit einer geringeren Überlebensrate und schwerer intraventrikulärer Hämorrhagie (Savani et al., 2017).

Hinsichtlich der medikamentösen Therapie postnatal zeigten sich Unterschiede zwischen Kindern mit hoher und niedriger gsGFR bei der Applikation von Diuretika und Surfactant.

Zunächst ist ein häufigerer Einsatz dieser Medikamente bei Kindern mit genetisch hoch geschätzter GFR ebenso wie ein geringerer MAD unerwartet.

Diuretika sind harntreibende Arzneistoffe, die zur Behandlung von Ödemen, Bluthochdruck und Herzinsuffizienz verwendet werden. Auf der neonatalen Intensivstation werden Diuretika, vor allem Furosemid, jedoch häufig zur

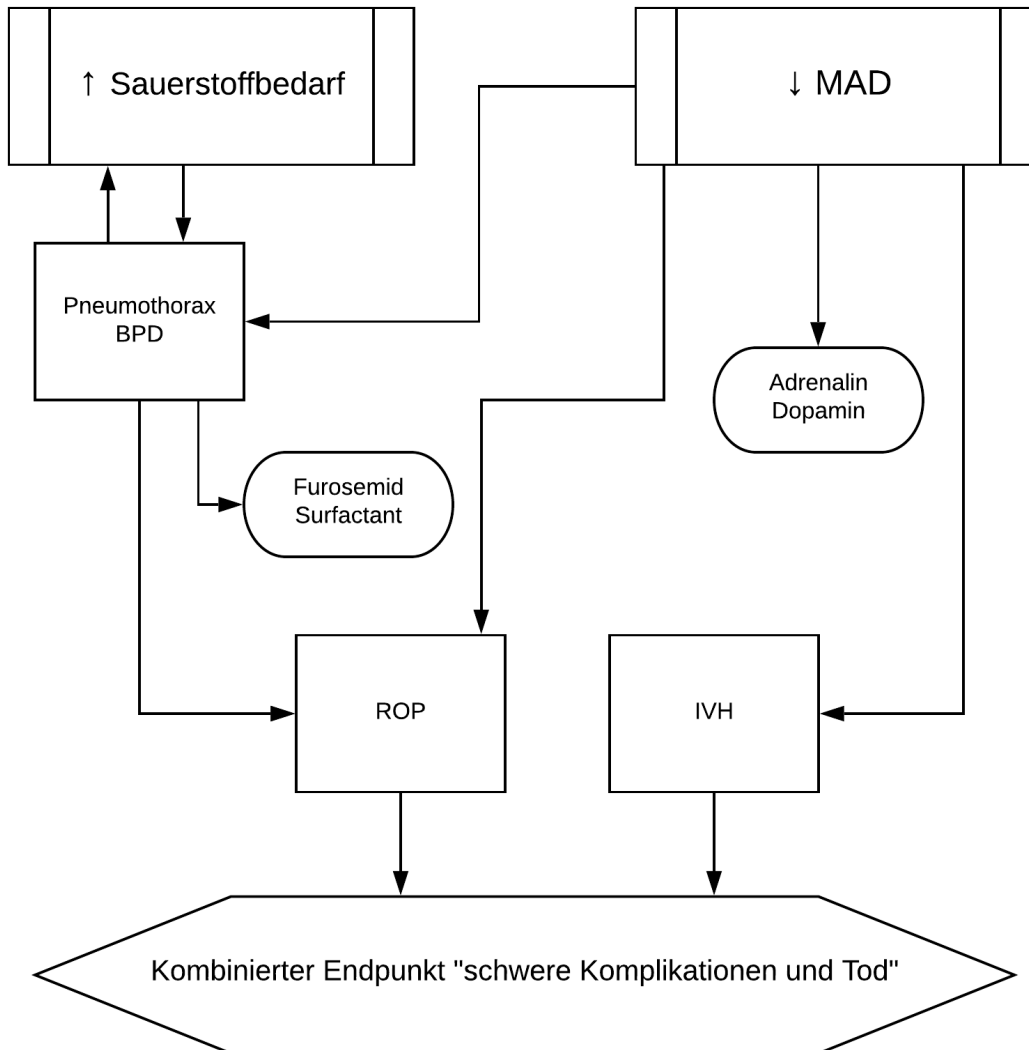
Behandlung und Prävention von Bronchopulmonaler Dysplasie (BPD) eingesetzt (Stewart et al., 2011).

Surfactant ist ein Lipoproteinkomplex, der in den Pneumozyten II produziert wird und sowohl den Kollaps der Alveolen verhindert als auch die Lungencompliance erhöht (Griese, 1999). Damit ist es essentiell für die Lungenfunktion und das Überleben.

Das in der Therapie von Frühgeborenen exogen verabreichte Surfactant wird rekombinant oder aus tierischem Material hergestellt. Indikationen sind u.a. das Atemnotsyndrom bei Frühgeborenen, das durch Surfactant Mangel in Folge einer unreifen Lunge verursacht wird.

Diese Auffälligkeiten in der medikamentösen Therapie reihen sich in den Assoziationskomplex um die auffälligen pulmonalen Komplikationen, die bei einer genetisch gut geschätzten eGFR auftraten, ein.

Risikofaktor "hohe gsGFR"



gsGFR, genetic score eGFR; MAD, mittlerer arterieller Blutdruck; BPD, Bronchopulmonale Dysplasie; ROP, Retinopathy of prematurity; IVH, intraventrikuläre Hämorrhagie

Abbildung 5: Assoziationskomplex klinischer Ausprägungen von VLBW-Frühgeborenen mit genetisch hoch geschätzter eGFR

Veranschaulicht werden die Assoziationen zwischen klinischen Ausprägungen der VLBW-Kohorte mit genetisch hoch geschätzter eGFR. Ausgangspunkt stellen die kritischen phänotypischen Merkmale „erhöhter Sauerstoffbedarf“ und „erniedrigter MAD“ dar. Assoziationen zwischen diesen Merkmalen und Krankheitsbildern (rechteckiger Rahmen) und medikamentöser Therapie (runder Rahmen) wurden durch Pfeile gekennzeichnet. Im kombinierten Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“ addieren sich die Komplikationen.

4.2.2.1 Pulmonale Komplikationen

Die Assoziation zwischen einer genetisch gut geschätzten Nierenfunktion und den pulmonalen Komplikationen stechen besonders aus unseren Ergebnissen heraus.

Die Bronchopulmonale Dysplasie (BPD), eine chronische, aber potentiell reversible Erkrankung Frühgeborener, entwickelt sich häufig auf dem Boden eines neonatalen Lungenversagens (Respiratory Distress Syndrome, RDS), das durch eine frühreife Lunge bedingt ist. Die Ätiologie der BPD ist komplex und umfasst die zugrunde liegende Unreife der Lunge und hinzutretende Effekte und Stressoren wie Infektionen, Überwässerung und mechanisches Trauma durch Beatmung (Askenazi et al., 2015).

Die Diagnose einer BPD erfolgt anhand klinischer Symptome wie persistierender Atemnotsymptomatik, Sauerstoffabhängigkeit und charakteristischen radiologischen Lungenveränderungen (Bancalari et al., 1979).

BPD ist insofern eine relevante Komorbidität von sehr kleinen Frühgeborenen, als sie mit hoher Mortalität in den ersten fünf Lebensjahren und einem lebenslangen Risiko für eine persistierende Lungenfunktionsschädigung einhergeht (Fawke et al., 2010).

Die Wechselwirkungen zwischen Niere und Lunge sind vielfältig und spielen eine entscheidende Rolle für die Homöostase der einzelnen Organe. Experimentelle Daten geben Evidenz, dass Wechselwirkungen zwischen Niere und Lunge existieren und sich in beide Richtungen schädlich zeigen können, obwohl die Details des molekularen Mechanismus noch nicht vollständig verstanden sind (Basu und Wheeler, 2013).

Der Einfluss der Lungenfunktion auf die der Nieren besteht in vielerlei homöostatischen Mechanismen, die durch eine Dysfunktion der Lunge aus dem

Gleichgewicht gebracht werden. So ist die Niere beispielsweise abhängig von einem intakten Gasaustausch in den Lungen. Schwere Hypoxämie – definiert als Sauerstoffpartialdruck (pO_2) < 40 mmHg – führte in einer Studie von Kilburn und Dowell 1971 zu einer Abnahme des renalen Blutflusses.

Die Nieren beeinflussen die Lungenhomöostase v.a. durch die Regulation metabolischer Funktionen. Die Elimination stickstoffhaltiger Moleküle und Substanzen, der Flüssigkeits- und Säure-Basenhaushalt haben direkten Einfluss auf die Funktion der Lunge (Basu und Wheeler, 2013).

Klinische Studien implizieren, dass Urämie einen negativen Einfluss sowohl auf die Funktion der Lungenkapillaren als auch die Vitalkapazität, das forcierte expiratorische Volumen in einer Sekunde (FEV1) und die maximale Atemkapazität hat (Karacan et al., 2004).

Eine Überwässerung bedingt durch Niereninsuffizienz führt zu einer großen Differenz zwischen onkotischen und hydrostatischen Kräften in den Kapillaren. Folge ist ein Flüssigkeitsfluss vom Kapillarbett der Lungen in den Alveolärraum, der sich in Form eines Lungenödems präsentiert (Demling et al., 1993).

In einer prospektiven Kohortenstudie an kritisch kranken Frühgeborenen stellten Askenazi et al. 2015 eine Assoziation zwischen AKI und einer erhöhten Inzidenz von Lungenerkrankungen sowie erhöhter Mortalitätsrate fest. Ähnliche Ergebnisse lieferten Arikian et al. 2012 und Valentine et al. 2012, die einen Zusammenhang zwischen AKI und einem erhöhten Niveau an Beatmungstagen bzw. Sauerstoffzufuhr aufzeigen.

Weitere Forschungsgruppen beschäftigten sich mit den zellulären und molekularen Vorgängen in der Dysregulation der Nieren-Lungen-Homöostase. Es konnten diverse proinflammatorische und apoptotische Prozesse in den Lungen nach isolierter Ischämie der Niere festgestellt werden. Beispielhaft zu nennen seien eine erhöhte Konzentration von proinflammatorischen Cytokinen und Chemokinen im bronchoalveolären Sekret (Klein et al., 2008), eine gestörte T-Zellantwort (Lie et al., 2012), eine Hochregulation der Caspase-abhängigen Apoptose (Hassoun et al.,

2009) und eine Herunterregulation des für die Regulation des Wasser-Elektrolyt-Haushaltes essentiellen epithelialen Natriumkanals (epithelial sodium channel, ENaC) (Rabb et al., 2003).

Sowohl Niere als auch Lunge fungieren als entscheidende Organe in der Regulation des Säure-Basen-Haushaltes. Weicht der arterielle pH-Wert von der Norm ab, werden Kompensationsmechanismen in beiden Organen aktiv. Während dies in der Niere v.a. über die gesteigerte oder verminderte tubuläre Resorption von basischem Bicarbonat geschieht, wird über die Lungen der arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck ($p\text{CO}_2$) durch Hypo- oder Hyperventilation reguliert. Unterliegt eines der Organe einem Schaden, ist die Fähigkeit der Regulation des Säure-Base-Haushalts im Organismus eingeschränkt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Nieren-Lungen-Interaktion einer feinen und komplexen Regulation unterliegt und der Schaden an einem Organ direkte Konsequenzen für das andere birgt. Viele detaillierte molekulare Abläufe sind noch unklar und häufig bleibt die Frage nach Ursache und Wirkung. Wichtig für die weitere Diskussion ist jedoch: klinische und experimentelle Daten zeigen klar, wie schädlich sich eine Niereninsuffizienz auf die Lungenfunktion auswirken kann (Askenazi et al., 2015; Basu und Wheeler, 2013).

Ein eventuelles Target für nachfolgende Forschungen, die auf unsere Ergebnisse aufbauen, könnte der ENaC darstellen. Dieser wird in Organen wie Lunge, Niere und Colon exprimiert und ist am transepithelialen Transport von Natrium aus dem Lumen in das Interstitium beteiligt.

In der Lunge eines Neugeborenen spielt der ENaC eine essentielle Rolle in der Adaptation an die Umwelt: Kurz vor Geburt findet eine ausgeprägte Hochregulation der ENaCs auf der apikalen Seite der pulmonalen Epithelzellen statt. Dieser Prozess ist entscheidend für die Reabsorption des Fruchtwassers aus der Lunge und dem Aufbau eines optimalen Milieus für den Gasaustausch post partum

(Matalon et al., 2015). Tierexperimente zeigten, dass eine Inhibition des porenformenden α ENaC (α -Untereinheit des ENaC) die Clearance der Lungenflüssigkeit herabsetzte (Li und Folkesson, 2006). Ein kompletter Knockout des α ENaC war letal. (Hummler et al., 1996).

Auch in Studien an Menschen wird ein negativer Einfluss von mangelnder ENaC Funktion auf die Lungenhomöostase beschrieben. Demnach spielt eine frühzeitige Geburt mit einer ungenügenden ENaC Expression bei der Pathogenese des RDS eine Rolle (O’Brodvich, 1996).

In den Nieren hingegen zeigte ein weiteres Knockout-Experiment an Mäusen einen positiven Effekt eines α ENaC Mangels: Eine mangelnde Expression des α ENaC war nach ischämischer AKI mit einer schnelleren Regeneration und einem verbesserten Outcome assoziiert (Tarjus et al., 2019).

4.2.3 Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“

Im kombinierten primären Endpunkt „schwere Komplikationen oder Tod“ zeigte sich das schlechte Kurzzeitoutcome von Kindern mit genetisch gut geschätzter Nierenfunktion besonders deutlich.

Als „schwere Komplikationen“ definierten wir das Auftreten von IVH Grad III oder IV, PVL, einer operationspflichtigen NEC oder FIP oder Lasertherapie bzw. intravitriale Injektion von Bevacizumab oder Ranibizumab, bei ROP. Die genannten Erkrankungen gehen häufig mit Frühgeburtlichkeit einher und können langfristige Behinderungen und Einschränkungen hervorrufen oder letal enden.

Wir konnten feststellen, dass das signifikant häufigere Auftreten von „schweren Komplikationen oder Tod“ bei hoher gsGFR vor allem auf einer höheren Rate von Kindern mit IVH Grad III / IV und einer höheren Rate an ROP-Therapien beruht.

ROP ist der häufigste Grund für Sehstörungen im Zusammenhang mit Frühgeburtlichkeit und wird definiert als Sehkrankheit mit abnormer Entwicklung der

retinalen Gefäßversorgung. Häufig ist der Krankheitsverlauf ungefährlich und die Retinopathie bildet sich spontan zurück. Schwerere Verläufe hingegen stellen eine Operationsindikation dar, um einem Sehverlust entgegenzuwirken (Palmer et al., 1991). Eine alternative medikamentöse Therapieoption stellt die intravitriale Applikation der monoklonalen Antikörperfragmente Bevacizumab oder Ranibizumab dar. Diese fungieren als Angiogenesehemmer und wirken einer pathogenen extraretinalen Gefäßbildung entgegen.

Neben SGA und Infektionen ist RDS ein herausragender Risikofaktor für die Entwicklung einer ROP (Hummler et al., 1996; Lee und Dammann, 2012). Ein entscheidender Faktor in der Pathogenese ist die Sauerstoffversorgung. Sowohl Hypoxie als auch Hyperoxie beeinflussen die Angiogenese negativ. Eine vorangehende pulmonale Erkrankung, bei der das Kind Sauerstoff- und beatmungspflichtig wird, stellt folglich ein großes Risiko dar (Hartnett und Penn, 2012).

Intrakranielle Blutungen sind bei Frühgeborenen ein herausragender Risikofaktor für erhöhte Mortalität und Morbidität.

Während IVH Grad I und II keine erheblichen langfristigen Komplikationen mit sich bringen, sind IVH Grad III und IV assoziiert mit langfristigen Folgeschäden wie Hydrozephalus und motorische und intellektuelle Behinderung (Volpe, 2008).

Zu den Risikofaktoren für intrakranielle Blutungen zählen u.a. niedriges GA, Asphyxie, pulmonale und Beatmungskomplikationen mit zerebralen venösen und arteriellen Druckschwankungen, Hyper- oder Hypokapnie sowie Infektionen und Inflammation (Obladen, 2006).

Die Periventrikuläre Leukomalazie ist ischämischer Pathogenese und betrifft die periventrikuläre weiße Substanz. Sie tritt vor allem bei asphyxischen Frühgeborenen auf und steht damit ebenso im Zusammenhang mit pulmonalen Komplikationen. Ebenso wie IVH erhöht PVL das Risiko einer Entwicklungsstörung des Nervensystems (Woodward et al., 2006).

Ein kritischer Faktor in diesem Zusammenhang scheint wiederum der niedrige MAD in der Kohorte mit einer genetischen Prädisposition für eine hohe eGFR zu sein. Verschiedene Studien beschreiben eine Assoziation zwischen Hypotension und dem Auftreten anderer schwerer Komplikationen wie IVH, PVL und auch BPD (Faust et al., 2015; Watkins et al., 1989).

NEC stellt eine häufige und schwerwiegende entzündliche Darmerkrankung dar und ist führende Todesursache unter den gastrointestinalen Erkrankungen bei Frühgeborenen (Stoll et al., 2015). Eine zentrale Rolle in der Pathogenese spielt eine auf die Unreife des Gastrointestinaltraktes zurückführende Dysbiose (Niemark et al., 2015).

Therapiert wird eine NEC zunächst medikamentös, bei schweren Verläufen ist eine Operation mittels Laparotomie und Peritonealdrainage indiziert. Solch ein operatives Vorgehen ist in 20 – 40 % der Fälle notwendig. In 15 – 30 % der Fälle führt eine NEC zum Tod (Lin und Stoll, 2006).

Forschungsgruppen konnten zeigen, dass Inzidenz und Mortalitätsrate der NEC unter einem Zielbereich der Sauerstoffsättigung $> 90\%$ und antenataler Lungenreife gesenkt wird (Roberts et al., 2017; The BOOST II United Kingdom, Australia, and New Zealand Collaborative Groups, 2013). Diese Publikationen gehen einher mit unserem Ergebnis, dass eine hohe gsGFR sowohl mit einer schlechten respiratorischen Anpassung als auch einer höheren Inzidenz von NEC korreliert.

Eine wichtige Differentialdiagnose der NEC ist die FIP, eine in den ersten Lebenstagen auftretende spontane Perforation der Darmwand ohne Nekrosen. Die Diagnose einer FIP ist besser als die einer NEC mit Perforation (Blakely et al., 2006).

Auffällig in unserer statistischen Auswertung des Auftretens von „schweren Komplikationen oder Tod“ bleibt das rückläufige Risiko in der Randgruppe mit einer außerordentlich hohen gsGFR ($> + 2$ SD). Möglicherweise war die Fallzahl in dieser

Randgruppe zu gering, denn der Trend eines steigenden Risikos bei höherer gsGFR bleibt bestehen.

Da auch andere Variablen Einfluss auf den kombinierten Endpunkt nahmen und wir bereits signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen hoher und niedriger gsGFR beim Geschlecht und Gestationsalter feststellen konnten, führten wir eine multiple logistische Regression durch.

Ziel war es, den Einfluss der gsGFR nebst anderer Variablen auf das Auftreten des kombinierten Endpunkts „Tod oder schwere Komplikationen“ zu bemessen. Weitere Variablen, die mit in die multiple logistische Regression flossen, waren Wachstumsretardierung (< P10 nach Voigt), Gestationsalter, Mehrlingsgeburt und Geschlecht.

Durch logistische Regression konnten wir einen erheblichen Einfluss der gsGFR nebst anderer Variablen feststellen: Ein steigendes Risiko für einen ungünstigen Outcome pro SD höherer gsGFR bestätigte unsere vorherigen Ergebnisse.

Dass ein steigendes Risiko für das Auftreten von „schweren Komplikationen oder Tod“ mit Wachstumsretardierung positiv und steigendem GA negativ korrelierte, war zu erwarten, da besonders kleine Frühgeborene häufiger einen schlechten Outcome zeigen (del Río et al., 2020)

Ebenso stellte sich die Variable „Mehrlingsgeburt“ in der multiplen logistischen Regression als signifikanter Risikofaktor für das Auftreten des kombinierten Endpunkts dar. Im Vergleich der Gruppen hohe und niedrige gsGFR ergaben sich keine Unterschiede. Bisherige Studien, die den Outcome von VLBW-Frühgeborenen in Hinblick auf Einlings- und Mehrlingsgeburten verglichen, konnten diesbezüglich auch keine Unterschiede feststellen (Garite et al., 2004; Kirkby et al., 2010).

In verschiedenen Studien wurde bereits beschrieben, dass das männliche Geschlecht einen Risikofaktor für ein schlechtes neonatales Outcome darstellt (Peacock et al., 2012; Stevenson et al., 2000). Peacock et al. hoben zudem hervor, dass männliche VLBW-Frühgeborene ebenfalls ein schlechteres pulmonales Outcome in den Nachuntersuchungen zeigten.

In der multiplen logistischen Regression konnten wir diesen Zusammenhang bestätigen. Komplikationen traten bei Mädchen deutlich seltener auf.

Abschließend lässt sich darlegen, dass die Ergebnisse der multiplen logistischen Regression, die wir durchführten, die These, dass eine genetisch gut geschätzte Nierenfunktion mit einem schlechteren kurzfristigen bei VLBW-Frühgeborenen assoziiert ist, stützen.

Bisher ist unklar, weshalb genetische Varianten, die mit einer reduzierten GFR einhergehen in der Bevölkerung so häufig auftreten. Eine mögliche Erklärung könnten die Daten der vorliegenden Arbeit beitragen. Falls sich die Assoziation zwischen niedriger gsGFR und besserem pulmonalem Outcome in der Neugeborenenzeit auch in anderen Kohorten bestätigen lässt, so wäre dies eine plausible Erklärung für das häufige Auftreten dieser Varianten. Für den arteriellen Hypertonus konnte bei Frühgeborenen bereits ein Überlebensvorteil gezeigt werden (Göpel et al., 2020).

4.3 Stärken und Limitationen der Studie

Die GNN Studie zeichnet sich durch eine große Anzahl an teilnehmenden und chipgenotypisierten VLBW-Frühgeborenen aus. Für die vorliegende Arbeit konnten Daten von 10.240 Kindern herangezogen und ausgewertet werden. Diese Studienpopulation ist nicht auf ethnische Herkunft beschränkt. Eine gewisse Verzerrung der Ergebnisse wird jedoch durch den Umstand bedingt, dass überwiegend Kindesdaten von Müttern europäischer Herkunft ausgewertet wurden und sich somit keine eindeutigen Aussagen auf Kinder anderer ethnischer Herkunft treffen lassen.

Um Störfaktoren zu minimieren und Reproduzierbarkeit zu ermöglichen, unterliegt der Prozess der Datenerhebung und Genotypisierung standardisierten Abläufen und mehrstufigen Qualitätskontrollen.

Standardisierte Fragebögen, zweifache Datenkontrolle und das Monitoring durch ein spezialisiertes Team sichern die Qualität der erhobenen klinischen Daten. Angesichts der Vielzahl der teilnehmenden Kliniken und dort vorherrschenden individuellen Abläufen sind mögliche und unbekannte Einflussgrößen nicht auszuschließen.

Die Verarbeitung der Nabelschnur bis hin zur Chip-Genotypisierung findet ebenfalls nach normierten Abläufen und unter mehrfacher Qualitätskontrolle statt. Fehler bei der Probenbehandlung und unbekannte Fehlerquellen sind jedoch auch in diesem Ablauf möglich. Ein weiterer störanfälliger Prozess ist die Imputation. Es ist zwar möglich mit Hilfe des Info-Scores eine Idee von der Präzision der Imputation zu gewinnen. Nichtsdestotrotz bleibt es schwierig, die Richtigkeit einer Imputation zu bestimmen, da es keine „richtigen Genotypen“ für die SNPs, die nicht genotypisiert sind, gibt (Zheng et al., 2015).

4.3.1 Genomweite Assoziationsstudien

Unsere genetischen Testungen, Ergebnisse und Interpretation basieren auf für die Nierenfunktion relevanten von Wuttke et al. 2019 beschriebenen SNPs, die durch eine GWAS Metaanalyse identifiziert worden sind.

Die Bedeutung von GWAS für die Prädiktion, Prävention und Therapie von Erkrankungen ist nach wie vor kontrovers diskutiert (Tam et al., 2019), da der Studientyp Limitationen birgt. So haben GWAS Loci in der Regel geringe Effektgrößen und liefern damit nur einen Erklärungsansatz zur Merkmalsvererbung (Manolio et al., 2009).

Es ist nicht zu erwarten, dass GWAS die Vererbung von komplexen Merkmalen jemals vollends erklären können. Diese Limitation ist allerdings nicht nur für GWAS gegeben, da zurzeit keine Methode oder Technologie dazu in der Lage ist, alle genetischen Komponenten eines komplexen Merkmals zu identifizieren (Altshuler et al., 2008; Tam et al., 2019).

Eine hervorzuhebende Limitation der GWAS, die auf SNP Arrays basiert, ist die Detektion ultraseltener Varianten, da sie von Referenzpanelen abhängig ist. Das Sequenzieren des gesamten Genoms, das als Goldstandard für GWAS gilt, ist nach wie vor sehr kostspielig. GWAS auf Basis von SNP Arrays kombiniert mit Imputation auf Grundlage von großen Referenzpanelen wie dem „1000 Genomes-Project“ stellen eine erfolgversprechende Alternative für die Identifikation seltener Varianten des Genoms und in der Erforschung komplexer Erkrankungsgenetik dar (Altshuler et al., 2008; Tam et al., 2019).

Der bedeutende Schritt und die Herausforderung bestehen weiterhin darin, die mit einer Krankheit oder einer phänotypischen Ausprägung (bspw. GFR) assoziierten GWAS Loci in eine Risikostratifikation einzubetten und ihnen klinische und therapeutische Relevanz beizumessen.

Mittels Trans-Ancestry GWAS Metaanalyse generierten Wuttke et al. 2019 eine Liste über priorisierte genetische Loci, die mit der eGFR assoziiert sind.

In diese Metaanalyse flossen Daten von über einer Millionen Erwachsenen verschiedener ethnischer Herkunft ein, was eine hohe statistische Power ermöglichte. Zudem wurden GWAS zum alternativen Nierenretentionsparameter BUN für die Priorisierung herangezogen.

Darüber hinaus etablierten sie einen genetischen Risikoscore für eine niedrige eGFR und überprüften dessen Relevanz erfolgreich an 452.264 europäischen Individuen mit klinisch diagnostizierter CKD.

Abschließend führten sie Pfad- und Genexpressionsanalysen sowie ein statistisches Fine-mapping zur weiteren Überprüfung der Validität und Effektstärke der Loci und Ermittlung potentieller Effektorgene und Zielgewebe durch (Wuttke et al., 2019).

Mit ihren Ergebnissen lieferten Wuttke et al. eine vielversprechende Ressource für die Entwicklung potentieller therapeutischer Targets dar, um die Behandlung und Prävention chronischer Nierenerkrankungen zu verbessern.

Es bleibt jedoch zu beachten, dass mögliche Fehler ihrerseits bei der Beschreibung und Priorisierung der SNPs und ihren Effektstärken Einfluss auf die vorliegende Arbeit haben könnten.

4.3.2 Studienformat

Durch Mendelsche Randomisierung können Personen mittels genetischer Marker – wie SNPs oder genetischen Risikoscores – randomisiert werden. Mendelsche Randomisierungsstudien nutzen diese genetischen Variationen, die mit einer Exposition (bspw. GFR) assoziiert sind, als instrumentelle Variable, um ihren Effekt auf einen klinischen Outcome zu untersuchen. Damit liefern Daten aus Mendelschen Randomisierungsstudien Schlussfolgerungen zur Kausalität einer Assoziation und deren quantitativer Ausprägung (Katzmann et al., 2019).

Das Format der Mendelsche Randomisierungsstudie ist für das neonatologische Forschungsfeld von besonderer Bedeutung, da nicht auf einen intermediären Phänotyp (wie eine gemessene GFR) zurückgegriffen werden muss, wenn einmal ein Zusammenhang zwischen dem genetischen Marker und dem intermediären Phänotyp nachgewiesen wurde. Dies ist insofern vorteilhaft, als eine invasive Probengewinnung bei Frühgeborenen sowohl ein Risiko als auch eine Herausforderung darstellt (Göpel et al., 2018). Zudem mangelt es an Referenzwerten wie denen für die Nierenretentionsparametern von VLBW-Frühgeborenen.

Aufgrund der niedrigen Fallzahl von Kindern mit gemessenen Kreatinin-Werten konnte die vorliegende Studie die Voraussetzung, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen genetischem Marker (gsGFR) und dem intermediären Phänotyp (SCr) besteht, nicht erfüllen. Somit stellt sie keine Mendelsche Randomisierung dar, auch wenn eine nicht signifikante Assoziation dargestellt werden konnte. Eine Replikation mit höherer Fallzahl könnte signifikante Ergebnisse hervorbringen und unseren Untersuchungen deutlich mehr Nachdruck verleihen.

Auch wenn unsere Ergebnisse das ausschlaggebende Kriterium für eine Mendelsche Randomisierungsstudie nicht erfüllen konnte, war die Herangehensweise, mit der wir unsere Daten analysierten, die gleiche. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss daher bedacht werden, dass das Prinzip der Mendelschen Randomisierung auf Annahmen beruht, die spezifischen Limitationen unterliegen (Davey Smith und Ebrahim, 2003).

Allen diesen Limitationen liegt zugrunde, dass entgegen der Annahme keine direkte Kausalität zwischen Exposition und klinischem Outcome besteht. Zu diesen Limitationen gehören sogenannte Confounder, unbekannte Störvariablen, die die Beziehung zwischen Exposition und phänotypischer Ausprägung beeinflussen (Katzmann et al., 2019).

Eine weitere Limitation stellt das Linkage Disequilibrium (LD, Kopplungsungleichgewicht) dar. Dieses stellt sich dar, wenn der betrachtete Polymorphismus auf Grund von räumlicher Nähe der Loci häufiger mit einem

anderen Polymorphismus vererbt wird, als es einer zufälligen Verteilung der Allele entspräche. In der Konsequenz wird der Effekt des untersuchten Polymorphismus mit dem eines anderen verwechselt (Davey Smith und Ebrahim, 2003). Fließen mehrere Polymorphismen in einen genetischen Score ein, ist daher eine Kontrolle des LD obligat, um ggf. Genvarianten und somit falsche Schlussfolgerungen auszuschließen.

Zusätzlich ist die Pleiotropie als Limitation zu benennen: Diese liegt vor, wenn das Vorhandensein eines Polymorphismus neben der zu untersuchenden Exposition (eGFR) weitere bekannte oder unbekannte Stoffwechselwege beeinflusst (Katzmann et al., 2019).

Falsche Schlussfolgerungen, die aus den letzten beiden Limitationen der Mendelschen Randomisierung geschlossen werden können, haben wir zum einen durch die Kontrolle des LD, zum anderen durch das Heranziehen der bereits durch Wittmann et. al priorisierte Polymorphismen, die mit der eGFR assoziiert sind, minimiert. Das Vorliegen möglicher Confounder bleibt jedoch nicht ausgeschlossen.

4.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich eine genetisch niedrig geschätzte eGFR bei VLBW-Frühgeborenen nach der Geburt in einem erhöhten Serumkreatininspiegel phänotypisch manifestiert.

Frühgeborene mit einer niedrigen gsGFR zeigten sich kurz nach Geburt anpassungsfähiger und wiesen im stationären Verlauf weniger schwere Komplikationen auf als Kinder mit einer hohen gsGFR.

Dies steht im Kontrast zum bisherigen Konsens der Literatur, dass eine schlechte GFR bzw. ein erhöhter Serumkreatininspiegel mit einem lebenslangen Risiko für Nierenversagen und metabolischen Erkrankungen verbunden ist.

Bisher ist es evolutionär nicht gut verstanden, weshalb genetische Varianten, die zu einer hohen Rate an chronischem Nierenversagen führen, so häufig auftreten. Unsere Beobachtungen implizieren, dass Neugeborenen mit niedriger GFR direkt nach der Geburt besser adaptieren. Damit liefern unsere Ergebnisse ein mögliches Erklärungsmodell für einen Selektionsvorteil für genetische Varianten mit einem ungünstigen Einfluss auf die langfristige Nierenfunktion

Da die genetisch geschätzte GFR eine lebenslange Prädisposition darstellt, sollte ihre Auswirkung jedoch in weiteren Studien validiert und prospektiv untersucht werden.

Ziel ist es, die genetische Prädisposition in diagnostische und therapeutische Maßnahmen einzubeziehen – beispielsweise SNPs als mögliche Targets für personalisierte Therapie – und dadurch die Entwicklung der Frühgeborenen zu optimieren.

5 Zusammenfassung

Die Nieren sind multifunktionelle Organe und eine intakte Nierenfunktion ist essentiell für die Homöostase von Wasser-, Elektrolyt-, Säure- und Basenhaushalt sowie die Regulation des Blutdrucks und Elimination toxischer Substanzen. Die Nephrogenese im Uterus findet bis zum Ende des dritten Schwangerschaftstrimenons statt. Somit stellen insbesondere Frühgeborene eine Risikogruppe für Nephropathien und daraus resultierenden metabolischen Erkrankungen dar.

Ziel dieser Arbeit war es, Assoziationen zwischen Einzelnukleotid-Polymorphismen, die zuvor an Erwachsenen als relevant für die Nierenfunktion erschlossen wurden, und dem kurzfristigen Outcome von VLBW-Frühgeborenen aufzudecken.

Zu diesem Zweck wurden zwischen Januar 2009 und Oktober 2019 Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g aus 66 deutschen neonatologischen Intensivstationen in eine Kohortenstudie eingeschlossen. Mittels standardisierter Dokumentationsbögen zu Geburt, Behandlung und stationärem Verlauf wurden klinische Daten der Frühgeborenen erhoben. Aus einem Stück Nabelschnur wurde die DNS der Kinder isoliert, chipgenotypisiert und auf benannte Polymorphismen untersucht. Auf dieser Grundlage wurde ein genetischer Effektscore der eGFR für 10.240 Frühgeborene berechnet. Anschließend wurden Kinder mit einer genetisch hoch geschätzten eGFR und genetisch niedrig geschätzter eGFR verglichen.

Perinatal wiesen Kinder mit einer genetisch gut geschätzten Nierenfunktion einen schlechteren Allgemeinzustand auf, der sich im weiteren stationären Verlauf fortsetzte: Es fiel eine auffällig schlechte pulmonale Anpassung auf. Zudem zeigten diese Kinder signifikant häufiger schwere Komplikationen (Intraventrikuläre Hämorrhagie, periventrikuläre Leukomalazie, therapiepflichtige Frühgeborenenretinopathie, operationspflichtige nekrotisierende Enterokolitis oder fokaler intestinaler Perforation) und eine erhöhte Todesrate.

Diese Arbeit liefert erste Hinweise, dass eine genetische Prädisposition für eine niedrige GFR einen Überlebensvorteil für sehr kleine Frühgeborene bieten könnte. Dies sollte in weiteren Studien und in der Behandlung von Frühgeborenen berücksichtigt werden.

6 Literaturverzeichnis

Abitbol, C.L., DeFreitas, M.J., and Strauss, J. (2016). Assessment of kidney function in preterm infants: lifelong implications. *Pediatr Nephrol* 31, 2213–2222.

Altshuler, D., Daly, M.J., and Lander, E.S. (2008). Genetic Mapping in Human Disease. *Science* 322, 881–888.

Apgar, V. (1953). A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 32, 260–267.

Arikan, A.A., Zappitelli, M., Goldstein, S.L., Naipaul, A., Jefferson, L.S., and Loftis, L.L. (2012). Fluid overload is associated with impaired oxygenation and morbidity in critically ill children. *Pediatr Crit Care Med* 13, 253–258.

Askenazi, D., Patil, N.R., Ambalavanan, N., Balena-Borneman, J., Lozano, D.J., Ramani, M., Collins, M., and Griffin, R.L. (2015). Acute kidney injury is associated with bronchopulmonary dysplasia/mortality in premature infants. *Pediatr Nephrol* 30, 1511–1518.

Bancalari, E., Abdenour, G.E., Feller, R., and Gannon, J. (1979). Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J. Pediatr.* 95, 819–823.

Basu, R.K., and Wheeler, D.S. (2013). Kidney–lung cross-talk and acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 28, 2239–2248.

Bertram, J.F., Douglas-Denton, R.N., Diouf, B., Hughson, M.D., and Hoy, W.E. (2011). Human nephron number: implications for health and disease. *Pediatr Nephrol* 26, 1529–1533.

Blakely, M.L., Tyson, J.E., Lally, K.P., McDonald, S., Stoll, B.J., Stevenson, D.K., Poole, W.K., Jobe, A.H., Wright, L.L., Higgins, R.D., et al. (2006). Laparotomy versus peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis or isolated intestinal perforation in extremely low birth weight infants: outcomes through 18 months adjusted age. *Pediatrics* 117, e680-687.

Blencowe, H., Lee, A.C., Cousens, S., Bahalim, A., Narwal, R., Zhong, N., Chou, D., Say, L., Modi, N., Katz, J., et al. (2013). Preterm birth–associated neurodevelopmental impairment estimates at regional and global levels for 2010. *Pediatr Res* 74, 17–34.

Böhler, J. (2015). Beurteilung der Nierenfunktion und diagnostische Maßnahmen bei Nierenerkrankungen. In: Kuhlmann U., Böhler J., Luft F., Alscher, M., Kunzendorf U., Walb, D. Hoyer J. (Hrsg.): *Nephrologie: Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren*. 6. Aufl., 30-65, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Brenner, B.M., Garcia, D.L., and Anderson, S. (1988). Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am. J. Hypertens.* 1, 335–347.

- Brenner, B.M., Lawler, E.V., and Mackenzie, H.S.** (1996). The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. *Kidney Int.* 49, 1774–1777.
- Brophy, P.D., and Robillard, J.E.** (2004). Functional Development of the Kidney In Utero. In *Fetal and Neonatal Physiology*, (Elsevier), pp. 1229–1241.
- Casey, B.M., McIntire, D.D., and Leveno, K.J.** (2001). The continuing value of the Apgar score for the assessment of newborn infants. *N. Engl. J. Med.* 344, 467–471.
- Catlin, E.A., Carpenter, M.W., Brann, B.S., Mayfield, S.R., Shaul, P.W., Goldstein, M., and Oh, W.** (1986). The Apgar score revisited: influence of gestational age. *J. Pediatr.* 109, 865–868.
- Chawanpaiboon, S., Vogel, J.P., Moller, A.-B., Lumbiganon, P., Petzold, M., Hogan, D., Landoulsi, S., Jampathong, N., Kongwattanakul, K., Laopaiboon, M., et al.** (2019). Global, regional, and national estimates of levels of preterm birth in 2014: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Glob Health* 7, e37–e46.
- Comité Nacional de Nefrología** (2020). Acute kidney injury in the newborn: a consensus statement. *Arch Argent Pediatr* 118, S50–S58.
- Crump, C., Sundquist, J., Winkleby, M.A., and Sundquist, K.** (2019). Preterm birth and risk of chronic kidney disease from childhood into mid-adulthood: national cohort study. *BMJ* 365, I346.
- Davey Smith, G., and Ebrahim, S.** (2003). ‘Mendelian randomization’: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease?*. *International Journal of Epidemiology* 32, 1–22.
- Delaneau, O., Marchini, J., McVean, G.A., Donnelly, P., Lunter, G., Marchini, J.L., Myers, S., Gupta-Hinch, A., Iqbal, Z., Mathieson, I., et al.** (2014). Integrating sequence and array data to create an improved 1000 Genomes Project haplotype reference panel. *Nature Communications* 5, 3934.
- Demling, R.H., LaLonde, C., and Ikegami, K.** (1993). Pulmonary edema: pathophysiology, methods of measurement, and clinical importance in acute respiratory failure. *New Horiz* 1, 371–380.
- Faust, K., Härtel, C., Preuß, M., Rabe, H., Roll, C., Emeis, M., Wieg, C., Szabo, M., Herting, E., and Göpel, W.** (2015). Short-term outcome of very-low-birthweight infants with arterial hypotension in the first 24 h of life. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* 100, F388–F392.
- Fawke, J., Lum, S., Kirkby, J., Hennessy, E., Marlow, N., Rowell, V., Thomas, S., and Stocks, J.** (2010). Lung function and respiratory symptoms at 11 years in children born extremely preterm: the EPICure study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 182, 237–245.
- Filler, G., Kirpalani, A., and Urquhart, B.L.** (2016). Handling of Drugs in Children with Abnormal Renal Function. In: Avner E., Harmon W.E., Niaudet P., Yoshikawa N., Emma F., and Goldstein S.L. (Hrsg.) *Pediatric Nephrology*. 7. Aufl., 2267–2293, Springer, Berlin.

- Garite**, T.J., Clark, R.H., Elliott, J.P., and Thorp, J.A. (2004). Twins and triplets: the effect of plurality and growth on neonatal outcome compared with singleton infants. *Am. J. Obstet. Gynecol.* *191*, 700–707.
- Göpel**, W., Westermann, E., and Pagel, F. (2018). The Genetic Background of Neonatal Disease. *Neonatology* *113*, 400–405.
- Göpel**, W., Müller, M., Rabe, H., Borgmann, J., Rausch, T.K., Faust, K., Kribs, A., Dötsch, J., Ellinghaus, D., Härtel, C., et al. (2020). Genetic background of high blood pressure is associated with reduced mortality in premature neonates. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* *105*, 184–189.
- Griese**, M. (1999). Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art. *Eur. Respir. J.* *13*, 1455–1476.
- Haffner**, D., and Petersen, C. (2019). Niere und Harnwege interdisziplinär. In *Pädiatrie*, C.P. Speer, M. Gahr, and J. Dötsch (Hrsg.): *Pädiatrie*. 5. Aufl, 607-642, Springer, Berlin.
- Hartnett**, M.E., and Penn, J.S. (2012). Mechanisms and management of retinopathy of prematurity. *N. Engl. J. Med.* *367*, 2515–2526.
- Hassoun**, H.T., Lie, M.L., Grigoryev, D.N., Liu, M., Tudor, R.M., and Rabb, H. (2009). Kidney ischemia-reperfusion injury induces caspase-dependent pulmonary apoptosis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* *297*, F125-137.
- Hegy**, T., Carbone, T., Anwar, M., Ostfeld, B., Hiatt, M., Koons, A., Pinto-Martin, J., and Paneth, N. (1998). The apgar score and its components in the preterm infant. *Pediatrics* *101*, 77–81.
- Howie** B., and Marchini J. (2014). IMPUTE 2 „Details about 'info' metric“. Zugriff: https://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/output_file_options.html#info_metric_details (27.07.2020)
- Howie**, B.N., Donnelly, P., and Marchini, J. (2009). A Flexible and Accurate Genotype Imputation Method for the Next Generation of Genome-Wide Association Studies. *PLoS Genet* *5*, e1000529.
- Hummler**, E., Barker, P., Gatzky, J., Beermann, F., Verdumo, C., Schmidt, A., Boucher, R., and Rossier, B.C. (1996). Early death due to defective neonatal lung liquid clearance in alpha-ENaC-deficient mice. *Nat. Genet.* *12*, 325–328.
- Kapadia**, V.S., and Wyckoff, M.H. (2013). Drugs during delivery room resuscitation – What, when and why? *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* *18*, 357–361.
- Karacan**, O., Tatal, E., Uyar, M., Eyüboğlu, F.O., Sezer, S., and Ozdemir, F.N. (2004). Pulmonary function in uremic patients on long-term hemodialysis. *Ren Fail* *26*, 273–278.
- Katzmann**, J.L., Ference, B.A., and Laufs, U. (2019). Prinzip der mendelschen Randomisierung und Anwendung in der kardiovaskulären Medizin. *Kardiologie* *13*, 146–152.
- Kilburn**, K.H., and Dowell, A.R. (1971). Renal function in respiratory failure. Effects of hypoxia, hyperoxia, and hypercapnia. *Arch. Intern. Med.* *127*, 754–762.

- Kirkby, S., Genen, L., Turenne, W., and Dysart, K. (2010).** Outcomes and milestone achievement differences for very low-birth-weight multiples compared with singleton infants. *Am J Perinatol* 27, 439–444.
- Klein, C.L., Hoke, T.S., Fang, W.-F., Altmann, C.J., Douglas, I.S., and Faubel, S. (2008).** Interleukin-6 mediates lung injury following ischemic acute kidney injury or bilateral nephrectomy. *Kidney Int.* 74, 901–909.
- Lee, J., and Dammann, O. (2012).** Perinatal infection, inflammation, and retinopathy of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med* 17, 26–29.
- Levin, A., Stevens, P. E., Bilous, R. W., Coresh, J., De Francisco, A. L. M., De Jong, P. E. et al. (2013).** Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney International Supplements*, 3(1), 1-150.
- Li, T., and Folkesson, H.G. (2006).** RNA interference for alpha-ENaC inhibits rat lung fluid absorption in vivo. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 290, L649–L660.
- Lie, M.L., White, L.E., Santora, R.J., Park, J.M., Rabb, H., and Hassoun, H.T. (2012).** Lung T lymphocyte trafficking and activation during ischemic acute kidney injury. *J. Immunol.* 189, 2843–2851.
- Lim, S.S., Vos, T., Flaxman, A.D., Danaei, G., Shibuya, K., Adair-Rohani, H., Amann, M., Anderson, H.R., Andrews, K.G., Aryee, M., et al. (2012).** A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380, 2224–2260.
- Lin, P.W., and Stoll, B.J. (2006).** Necrotising enterocolitis. *Lancet* 368, 1271–1283.
- Liyanage, T., Ninomiya, T., Jha, V., Neal, B., Patrice, H.M., Okpechi, I., Zhao, M., Lv, J., Garg, A.X., Knight, J., et al. (2015).** Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review. *Lancet* 385, 1975–1982.
- Luyckx, V.A., and Brenner, B.M. (2015).** Birth weight, malnutrition and kidney-associated outcomes—a global concern. *Nat Rev Nephrol* 11, 135–149.
- Luyckx, V.A., Bertram, J.F., Brenner, B.M., Fall, C., Hoy, W.E., Ozanne, S.E., and Vikse, B.E. (2013).** Effect of fetal and child health on kidney development and long-term risk of hypertension and kidney disease. *The Lancet* 382, 273–283.
- Manolio, T.A., Collins, F.S., Cox, N.J., Goldstein, D.B., Hindorff, L.A., Hunter, D.J., McCarthy, M.I., Ramos, E.M., Cardon, L.R., Chakravarti, A., et al. (2009).** Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461, 747–753.
- Marchini, J., and Howie, B. (2010).** Genotype imputation for genome-wide association studies. *Nat Rev Genet* 11, 499–511.

- Matalon**, S., Bartoszewski, R., and Collawn, J.F. (2015). Role of epithelial sodium channels in the regulation of lung fluid homeostasis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 309, L1229–L1238.
- Mian**, A., Guillet, R., Ruck, L., Wang, H., and Schwartz, G. (2015). Acute Kidney Injury in Premature, Very Low-Birth-Weight Infants. *J Pediatr Intensive Care* 05, 69–78.
- Niemarkt**, H.J., de Meij, T.G.J., van de Velde, M.E., van der Schee, M.P., van Goudoever, J.B., Kramer, B.W., Andriessen, P., and de Boer, N.K.H. (2015). Necrotizing Enterocolitis: A Clinical Review on Diagnostic Biomarkers and the Role of the Intestinal Microbiota. *Inflammatory Bowel Diseases* 21, 436–444.
- Obladen**, M. (2006). Fehlbildungen und Erkrankungen des Nervensystems. In: Obladen M., Maier R.F. (Hrsg.): *Neugeborenenintensivmedizin. Evidenz und Erfahrung*. 7. Auflage, 393-434, Springer Verlag, Heidelberg.
- O’Brodovich**, H.M. (1996). Immature epithelial Na⁺ channel expression is one of the pathogenetic mechanisms leading to human neonatal respiratory distress syndrome. *Proc. Assoc. Am. Physicians* 108, 345–355.
- Palmer**, E.A., Flynn, J.T., Hardy, R.J., Phelps, D.L., Phillips, C.L., Schaffer, D.B., and Tung, B. (1991). Incidence and early course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology* 98, 1628–1640.
- Papile**, L.-A., Burstein, J., Burstein, R., and Koffler, H. (1978). Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: A study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *The Journal of Pediatrics* 92, 529–534.
- Peacock**, J.L., Marston, L., Marlow, N., Calvert, S.A., and Greenough, A. (2012). Neonatal and infant outcome in boys and girls born very prematurely. *Pediatr. Res.* 71, 305–310.
- Rabb**, H., Wang, Z., Nemoto, T., Hotchkiss, J., Yokota, N., and Soleimani, M. (2003). Acute renal failure leads to dysregulation of lung salt and water channels. *Kidney Int.* 63, 600–606.
- del Río**, R., Thió, M., Bosio, M., Figueras, J., and Iriondo, M. (2020). Predicción de mortalidad en recién nacidos prematuros. Revisión sistemática actualizada. *An. Pediatr. (Barc.)* 93, 24-33.
- Roberts**, D., Brown, J., Medley, N., and Dalziel, S.R. (2017). Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 3(3), CD004454.
- Rodríguez**, M.M., Gómez, A.H., Abitbol, C.L., Chandar, J.J., Duara, S., and Zilleruelo, G.E. (2004). Histomorphometric Analysis of Postnatal Glomerulogenesis in Extremely Preterm Infants. *Pediatr Dev Pathol* 7, 17–25.
- Savani**, M., Upadhyay, K., and Talati, A.J. (2017). Characteristics and outcomes of very low birth weight infants receiving epinephrine during delivery room resuscitation. *Resuscitation* 115, 1–4.

- Schwartz, G.J., and Work, D.F.** (2009). Measurement and Estimation of GFR in Children and Adolescents. *CJASN* 4, 1832–1843.
- Schwartz, G.J., Muñoz, A., Schneider, M.F., Mak, R.H., Kaskel, F., Warady, B.A., and Furth, S.L.** (2009). New equations to estimate GFR in children with CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 20, 629–637.
- Selewski, D.T., Charlton, J.R., Jetton, J.G., Guillet, R., Mhanna, M.J., Askenazi, D.J., and Kent, A.L.** (2015). Neonatal Acute Kidney Injury. *Pediatrics* 136, e463-473.
- Steinhorn, R., Davis, J.M., Göpel, W., Jobe, A., Abman, S., Laughon, M., Bancalari, E., Aschner, J., Ballard, R., Greenough, A., et al.** (2017). Chronic Pulmonary Insufficiency of Prematurity: Developing Optimal Endpoints for Drug Development. *The Journal of Pediatrics* 191, 15-21.e1.
- Stevenson, D.K., Verter, J., Fanaroff, A.A., Oh, W., Ehrenkranz, R.A., Shankaran, S., Donovan, E.F., Wright, L.L., Lemons, J.A., Tyson, J.E., et al.** (2000). Sex differences in outcomes of very low birthweight infants: the newborn male disadvantage. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 83, F182-185.
- Stewart, A., Brion, L.P., and Ambrosio-Perez, I.** (2011). Diuretics acting on the distal renal tubule for preterm infants with (or developing) chronic lung disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Stoll, B.J., Hansen, N.I., Bell, E.F., Walsh, M.C., Carlo, W.A., Shankaran, S., Laptook, A.R., Sánchez, P.J., Van Meurs, K.P., Wyckoff, M., et al.** (2015). Trends in Care Practices, Morbidity, and Mortality of Extremely Preterm Neonates, 1993-2012. *JAMA* 314, 1039–1051.
- Sudlow, C., Gallacher, J., Allen, N., Beral, V., Burton, P., Danesh, J., Downey, P., Elliott, P., Green, J., Landray, M., et al.** (2015). UK Biobank: An Open Access Resource for Identifying the Causes of a Wide Range of Complex Diseases of Middle and Old Age. *PLoS Med* 12, e1001779.
- Sutherland, M.R., Gubhaju, L., Moore, L., Kent, A.L., Dahlstrom, J.E., Horne, R.S.C., Hoy, W.E., Bertram, J.F., and Black, M.J.** (2011). Accelerated maturation and abnormal morphology in the preterm neonatal kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22, 1365–1374.
- Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., and Meyre, D.** (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet* 20, 467–484.
- Tarjus, A., González-Rivas, C., Amador-Martínez, I., Bonnard, B., López-Marure, R., Jaisser, F., and Barrera-Chimal, J.** (2019). The Absence of Endothelial Sodium Channel α (α ENaC) Reduces Renal Ischemia/Reperfusion Injury. *IJMS* 20, 3132.
- The 1000 Genomes Project Consortium** (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature* 526, 68–74.
- The BOOST II United Kingdom, Australia, and New Zealand Collaborative Groups** (2013). Oxygen Saturation and Outcomes in Preterm Infants. *N Engl J Med* 368, 2094–2104.

- United Nations Inter-agency Group for Child Mortality Estimation (UN IGME)** (2019). Levels & Trends in Child Mortality: Report 2019, Estimates developed by the United Nations Inter-agency Group for Child Mortality Estimation. 16-19, United Nations Children's Fund, New York.
- Valentine**, S.L., Sapru, A., Higgerson, R.A., Spinella, P.C., Flori, H.R., Graham, D.A., Brett, M., Convery, M., Christie, L.M., Karamessinis, L., et al. (2012). Fluid balance in critically ill children with acute lung injury. *Crit. Care Med.* *40*, 2883–2889.
- Vali**, P., Sankaran, D., Rawat, M., Berkelhamer, S., and Lakshminrusimha, S. (2019). Epinephrine in Neonatal Resuscitation. *Children (Basel)* *6*(4), 51.
- Voigt**, M., Fusch, C., Olbertz, D., Hartmann, K., Rochow, N., Renken, C., and Schneider, K. (2006). Analyse des Neugeborenenkollektivs der Bundesrepublik Deutschland. *Geburtsh Frauenheilk* *66*, 956–970.
- Volpe**, J.J. (2008). Intracranial Hemorrhage: Germinal Matrix–Intraventricular Hemorrhage of the Premature Infant. In: Volpe J.J. (Hrsg.): *Neurology of the newborn*. 5. Aufl., 517-588, Saunders/Elsevier, Philadelphia.
- Walsh**, M.C. (2004). Impact of a Physiologic Definition on Bronchopulmonary Dysplasia Rates. *Pediatrics* *114*, 1305–1311.
- Watkins**, A.M., West, C.R., and Cooke, R.W. (1989). Blood pressure and cerebral haemorrhage and ischaemia in very low birthweight infants. *Early Hum. Dev.* *19*, 103–110.
- White**, S.L., Perkovic, V., Cass, A., Chang, C.L., Poulter, N.R., Spector, T., Haysom, L., Craig, J.C., Salmi, I.A., Chadban, S.J., et al. (2009). Is low birth weight an antecedent of CKD in later life? A systematic review of observational studies. *Am. J. Kidney Dis.* *54*, 248–261.
- Woodward**, L.J., Anderson, P.J., Austin, N.C., Howard, K., and Inder, T.E. (2006). Neonatal MRI to Predict Neurodevelopmental Outcomes in Preterm Infants. *N Engl J Med* *355*, 685–694.
- Wuttke**, M., Li, Y., Li, M., Sieber, K.B., Feitosa, M.F., Gorski, M., Tin, A., Wang, L., Chu, A.Y., Hoppmann, A., et al. (2019). A catalog of genetic loci associated with kidney function from analyses of a million individuals. *Nat Genet* *51*, 957–972.
- Zheng**, H.-F., Rong, J.-J., Liu, M., Han, F., Zhang, X.-W., Richards, J.B., and Wang, L. (2015). Performance of Genotype Imputation for Low Frequency and Rare Variants from the 1000 Genomes. *PLoS ONE* *10*, e0116487.

7 Anhang

7.1 Dokumentationsbögen

Stand: 01.01.2017

Name Kind:

Name Mutter:

Straße; Nr.:

PLZ; Wohnort:

Einschluss 1 / 3

Geb. Kind:

PE Labor:

EV ?:

Klinik: HL

1

1. Einschluss ja nein

Nabelschnurrest eingefroren? Einschluss nur bei
Outborn? → Übernahme am 1. LT!

2. Geschlecht: weiblich männlich

3. Mehrling nein ja

Nr. des Mehrlings: von Mehrlingen

Fetofetales Transfusionssyn.? nein ja ja, mit Laser

4. Informationen zur Geburt nein ja

Blasensprung vor Wehen?

falls "ja": Datum: Uhrzeit: :

Geburtsmodus:

Spontangeburt Sectio Notsectio

APGAR 5 Minuten

APGAR 10 Minuten

Nabelarterien-ph: ,

Nabelarterien BE (+/-): ,

(+ / -)

5. Geburtsdaten / Gestationsalter (GA)

GG: g Körpertemp.: °C

KL: cm GA: +

KU: cm

6. Erstversorgung - Uhrz. Geb.: :

Versorgung in den ersten 60 Minuten:

Sustained Inflation Pufferung

LISA Volumensubstitut. (10 ml/kg KG)

Surfactant über Tubus Adrenalin

Intubation Herzdruckmassage

Keine d. Maßnahmen

7. CRIB-Score (erste 12h)

Niedrigster BE (+/-) min. O2: % max. O2: %

mmol/l % %

→ Wenn "N.-BE" > 0, dann eine "98" dokumentieren.

8. Schwere Fehlbildungen oder Chromosomopathien

nein ja

9. Niedrigster MAD (innerhalb der ersten 24 h)

Manschette Arterie mmHg

10. Katecholamine in d. ersten 24h? nein ja

Von Lübeck auszufüllen: **FB1V7** Eingabe Monitor korrr. Eingabe

11. Lungenreifebeh. v. Geburt nein ja

Betamethason

Dexamethason

Vollständiger Zyklus (2 Dosen + 12h nach 2. Dosis) nein ja

12. Tokolysebehandlung v. Geburt nein ja

Magnesium intravenös Nifedipin (Adalat®)

Fenoterol (Partusisten®)

Atosiban (Tractotile®)

Tokolyse seit (Datum):

13. Weitere Maßnahmen? nein ja

Cerclage in SSW:

Pessar in SSW:

Progesteron seit SSW:

stationärer Aufenthalt der Mutter > 1 Woche SSW:

14. Antenat. Antibiotische Therapie nein ja

Cephalosporine

Metronidazol (Clont®)

Ampicillin und andere Penicilline

Impipenem/Meropenem

15. Ursache der zu frühen Geburt

unhemmbare Wehen patholog. CTG

V.a. Amnioninfektion Wachstumsretard./patholog. Doppler

EPH-Gestose Placentalösung

HELLP Anhydrammie / BS > 5 Tage

Fruchtblasenprolaps

16. Alter und Herkunft der Mutter Alter: Jahre

Deutschland Asien

übriges Europa Afrika

einschl. Russland Naher Osten, einschl. Türkei u. Nordafrika

17. Schulabschluss der Mutter

Hochschulreife Realschule Sonstiges/ Kein Abschluss

18. Vorausgegangene Geburten? nein ja

Wenn ja: keine römischen Zahlen

Gravida: (ohne diese Geburt)

Para: (ohne diese Geburt)

Frühgeburten vor 37 + 0 SSW?: nein ja

(ohne diese Geburt)

Hiemit bestätige ich die Richtigkeit der Angaben:

Name / Unterschrift (dokum. Arzt / Ärztin)

Datenbogen des Kindes bitte ausfüllen und zusammen mit je zwei Mundschleimhautabstrichen von Mutter und Kind an die Studienzentrale senden:
Klinik für Kinder und Jugendmedizin, Prof. Dr. W. Göpel, 23538 Lübeck

67

	<h2 style="margin:0;">Behandlung 2 / 3</h2>	<p>Name Kind:</p> <table border="1" style="width:100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td> </tr> </table>																				
<p>Geburtsdag:</p> <table border="1" style="width:100%; height: 20px;"> <tr> <td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td><td style="width:10%;"></td> </tr> </table>																						<p>Klinik: HL Nr.: 1</p>

1. Prophylaktische Medikamente nein ja

Vitamin K: nein ja oral i.m. i.v. s.c.

Teicoplanin/Vanco zur Sepsis-Prophylaxe

Fluconazol zur Pilzsepsis-Prophylaxe

Indomethacin zur Prophylaxe der IVH

Erythropoetin zur Anämie-Prophylaxe

Vorgegebene Auswahl nicht streichen! -> Textfeld verwenden

2. Antibiotische Therapie nein ja

Amikacin <input type="checkbox"/>	Clarithromycin <input type="checkbox"/>	Meropenem <input type="checkbox"/>
AmphotericinB <input type="checkbox"/>	Erythromycin <input type="checkbox"/>	Metronidazol <input type="checkbox"/>
Ampi/Amoxicillin <input type="checkbox"/>	Floxacillin <input type="checkbox"/>	Mezlocillin <input type="checkbox"/>
Ampi/Subactam <input type="checkbox"/>	Fluconazol <input type="checkbox"/>	Piperacillin <input type="checkbox"/>
Cefazolin <input type="checkbox"/>	Fosfomycin <input type="checkbox"/>	Tazobactam <input type="checkbox"/>
Cefotaxim <input type="checkbox"/>	Gentamicin <input type="checkbox"/>	Teicoplanin <input type="checkbox"/>
Ceftazidim <input type="checkbox"/>	Imipenem <input type="checkbox"/>	Tobramycin <input type="checkbox"/>
Cefuroxim <input type="checkbox"/>	Linezolid <input type="checkbox"/>	Vancomycin <input type="checkbox"/>

Wenn keine Angaben vorhanden, bitte das Zeichen ("0" oder "1") neben das Textfeld setzen !!!

3. Katecholamin-Therapie nein ja

Dopamin Dobutamin

Noradrenalin Adrenalin

4. Analgetika u. Sedativa nein ja

Paracetamol <input type="checkbox"/>	Midazolam <input type="checkbox"/>	Piritramid <input type="checkbox"/>
Morphin <input type="checkbox"/>	Fentanyl <input type="checkbox"/>	Sulfentanil <input type="checkbox"/>
Thiopental <input type="checkbox"/>	Phenobarbital <input type="checkbox"/>	Propofol <input type="checkbox"/>
Pentobarbital <input type="checkbox"/>	Chloralhydrat <input type="checkbox"/>	Diazepam <input type="checkbox"/>

Andere

5. Surfactantgabe nein ja

Wenn ja, bitte **Anzahl** und **Darreichungsform** angeben: X

mit Sonde / Spontanatmung

mit Tubus

6. Diuretika nein ja

Furosemid (Lasix)

Hydrochlorothiazid

Spirolacton (Aldactone)

7. Inhalative Medikamente nein ja

Salbutamol <input type="checkbox"/>	Budesonid <input type="checkbox"/>	Atrovent <input type="checkbox"/>
Furosemid <input type="checkbox"/>	Sultanol <input type="checkbox"/>	Flutide <input type="checkbox"/>
NO <input type="checkbox"/>		Pulmicort <input type="checkbox"/>

8. Transfusionen "bitte komplett ausfüllen" nein ja

	Keine	1x	2x	3x	Anzahl bei > 3 x :
Blut (EK):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> X
FFP:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> X
TK:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> X

Wenn "ja", dann auch "Keine" angeb., da freie Felder als "keine Angabe" geführt werden.

9. Atemanalept. Medikamente nein ja

Coffein Theophyllin Doxapram

10. Sonstige Medikamente nein ja

Acetylcystein <input type="checkbox"/>	Hydrocortison <input type="checkbox"/>	Omeprazol <input type="checkbox"/>
Ambroxol <input type="checkbox"/>	Ibuprofen <input type="checkbox"/>	Phosphat <input type="checkbox"/>
Ca-Gluconat <input type="checkbox"/>	Indomethacin <input type="checkbox"/>	Prednisolon <input type="checkbox"/>
Ca-Glycerolph. <input type="checkbox"/>	Insulin <input type="checkbox"/>	Ranitidin <input type="checkbox"/>
Calcium <input type="checkbox"/>	L_Thyroxin <input type="checkbox"/>	Sildenafil <input type="checkbox"/>
Ca-Phosph. <input type="checkbox"/>	Na-Gluconat <input type="checkbox"/>	Ursodesoxych.-Säure <input type="checkbox"/>
Hexamethason <input type="checkbox"/>	Na-Glyceroph. <input type="checkbox"/>	Vitamine-nicht D <input type="checkbox"/>
Eisen <input type="checkbox"/>	Na-bicarbonat <input type="checkbox"/>	Zink <input type="checkbox"/>
Glucose <input type="checkbox"/>	NaCl <input type="checkbox"/>	Kalium/KCl <input type="checkbox"/>

11. Probiotika nein ja

Lactobacillus + Bifidobacterium (z.B. Inforan®)

Lactobacillus GG (z.B. Infectopharm LGG®)

E-coli (z.B. Mutaflor®)

12. Impfungen (stationär) nein ja

6-fach-Impfstoff (TDP;HiB,IPV,HB)

Pneumokokken-Konjugat

RSV passiv (Palivizumab)

Rotaviren: → Rotarix

 → RotaTeq

13. Medik. Wg. NW abgesetzt? nein ja

wg.

14. Zentr.-venöse Katheter nein ja

Katheterart: ZVK NVK Silastik

Komplikationen?:

15. Arterielle Katheter nein ja

Nabel-Arterienkatheter

periphere Arterienkatheter

⇒ Extremitätennekrosen? nein ja

16. Nahrungsaufbau

Beginn Nahrungsaufbau am . Lebenstag

Erstmals vollständig oral (150 ml/kg) . Lebenstag

Anzahl der Tage mit iv-Zugang Tage

	bei Entlassung		während des Aufenthalts.
Nahrung			
Muttermilch <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Spenderinnenmilch <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
FG-Nahrung (z.B. HuO) <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pre-Nahrung <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Vorgegebene Auswahl nicht streichen!
 Verwenden Sie zur Angabe v. z.B. "Neocate" das Textfeld "andere Nahrung" unten.

Nahrungszusätze : ↓ ↓

Zusätze auf Station:

Zusätze bei Entlassung:

andere Nahrung (Entl. I St.)

→ Felder frei lassen, wenn keine Zusätze !

Von Lübeck ausfüllen:	FB2V7	Eingabe	Monitor	korr. Eingabe
-----------------------	--------------	---------	---------	---------------

Bitte nicht über die Bezeichnung FB2V6 stempeln!

Hiermit bestätige ich die Richtigkeit der Angaben:

Name / Unterschrift (dokum. Arzt/ Ärztin)

Datenbogen des Kindes bitte ausfüllen und zusammen mit dem Bogen 3 (grün) nach Entlassung/Verlegung ohne wieder Aufnahme des Kindes an die Studienzentrale senden: Klinik für Kinder und Jugendmedizin, Prof. Dr. W. Göpel, 23538 Lübeck

Name Kind: _____



Verlauf 3 / 3

Geburtstag: _____

Klinik: **HL** Nr.: **1**

1. Sauerstoffzufuhr nein ja

Beginn : . .

Endg. Beendigung: . .

Wenn das Kind mit O2-Bedarf entlassen wurde, dann entspricht "Endg. Beendigung" dem Entlassungsdatum.

Sauerstoffbedarf bei Entlassung? nein ja

2. Atemhilfe nein ja

CPAP

CPAP mit Beatmungshüben (nasal/pharyngeal)

HFO - CPAP

Highflow

Endg. Beendigung dieser Atemhilfen bitte unten bei Punkt 4 angeben.

3. Beatmungsmodus nein ja

Konventionelle Beatmung (IMV; SIMV; etc.)

Hochfrequenzoszillation (HFO)

4. Tracheale Beatmungszeiten (+ Beatmg. bei OP) nein ja

1. Beatmg. vom . . bis . .

2. Beatmg. vom . . bis . .

3. Beatmg. vom . . bis . .

4. Beatmg. vom . . bis . .

5. Beatmg. vom . . bis . .

6. Beatmg. vom . . bis . .

7. Beatmg. vom . . bis . .

Endg. Beendigung jegl. Langzeit-Atemhilfe (CPAP / tr. Beatmung / u. a.) _____

Beatmung bei Entlassung? nein ja

5. Pneumothorax / PIE nein ja

PIE

Pneumothorax mit Drainage Lebensstag

- unter trachealer Beatmung

- unter CPAP

- Spontanatmung

6. Sepsis/SIRS (Kriterien NEO-KISS) nein ja

Beginn innerhalb 72h ?

!!! Erreger in Blutkultur?

Erreger-Nr. Datum Erregernachweis:

1. Sepsis: _____ → _____ . _____ . _____

2. Sepsis: _____ → _____ . _____ . _____

3. Sepsis: _____ → _____ . _____ . _____

Andere Sepsiserreger: _____ → _____

Erregerkatalog:

kein Keimnachweis	00	00
Enterokokken	ENT	34
Enterobacter	ENB	39
Pseudomonas aeruginosa	PAE	42
Staphyl. epidermidis	KNS	32
Staphyl. aureus	SAU	31
Staphyl. Aureus Oxacillin resist.	MRSA	51
E. coli ESBL bildend	ESBL_ECO	50
Klebsiella ESBL bildend	ESBL_KLE	53
E. feacium/ E. feacalis Vancomycin resist.	VRE	52
Serratia	SER	40
Listeria monocytogenese	LMO	43
Candida	CAN	46
Streptokoko Gruppe B	BST	33

Datenbogen des Kindes bitte ausfüllen und zusammen mit dem Bogen 2 (gelb) nach Entlassung/Verlegung ohne wieder Aufnahme des Kindes an die Studienzentrale senden.
Klinik für Kinder und Jugendmedizin, Prof. Dr. W. Göpel, 23538 Lübeck

Wenn keine Angaben vorhanden, bitte das Zeichen ("0" oder "?") neben das Textfeld setzen !!!

7. Pneumonie / NEC (Kriterien NEO-KISS)

Pneumonie: nein ja vor 72 h nach 72h

NEC II / III (auch ohne OP):

8. Schädelsonogramm nein ja

nein ja Grad: I II III IV

IVH →

PVL

9. Hüftsono nein ja

Hüftgelenksdyspl. >= 2 nach Graf nein ja

10. Ophthalmol. Untersuchung nein ja

max. ROP-Stadium: _____ → Ziffern 0 bis 5; 0 entspricht 0

nein ja Datum: _____ links rechts bds.

Bevacizumab

Lasert

Kryo

11. Apparatives Hörscreening nein ja

unauffällig → auffällig →

12. Operationen nein ja

	nein	ja	Datum
PDA-OP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	. .
NEC-OP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	. .
FIP-OP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	. .
VP-Shunt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	. .
Herniotomie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	. .
Sonst. OPs?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	. .

Art der OP (Freitext in Druckbuchstaben): _____

13. BPD (nach Walsh, 35+0 bis 36+6 SSW) nein ja

O2-Bedarf < 30% (moderat)

O2-Bedarf > 30%, CPAP od. Beatmung (schwer)

14. Entlassung/Verlegung (ohne W i e d e r a u f n a h m e !)

!!! Datum Entlassung: _____ . _____ . _____

Gewicht: _____ Gramm

KU: _____ , _____ cm KL: _____ , _____ cm

nach Hause

Verlegt → Grund: _____

Tod in Klinik → Grund: _____

Von Lübeck ausfüllen: **FB3V7** Eingabe Monitor korr. Eingabe

Hiermit bestätige ich die Richtigkeit der Angaben:
 Name / Unterschrift (dokum. Arzt / Ärztin)

GNN **Verlauf nach Verlegung (4)**

Name Kind: _____

Geburtsdag: _____

Klinik: **HL** Nr.: **1**

1. Sauerstoffzufuhr nein ja

Beginn : . .

Endg. Beendigung: . .

Wenn das Kind mit O2-Bedarf entlassen wurde, dann entspricht "Endg. Beendigung" dem Entlassungsdatum.

Sauerstoffbedarf bei Entlassung? nein ja

2. Atemhilfe nein ja

CPAP

CPAP mit Beatmungshüben (nasal/pharyngeal)

HFO - CPAP

Highflow

Endg. Beendigung dieser Atemhilfen bitte unten bei Punkt 4 angeben.

3. Beatmungsmodus nein ja

Konventionelle Beatmung (IMV; SIMV; etc.)

Hochfrequenzoszillation (HFO)

4. Tracheale Beatmungszeiten (+ Beatmg. bei OP) nein ja

1. Beatmg. vom . . bis . .

2. Beatmg. vom . . bis . .

3. Beatmg. vom . . bis . .

4. Beatmg. vom . . bis . .

5. Beatmg. vom . . bis . .

6. Beatmg. vom . . bis . .

7. Beatmg. vom . . bis . .

Endg. Beendigung jegl. Langzeit-Atemhilfe (CPAP / tr. Beatmung / u. a.) . .

Beatmung bei Entlassung? nein ja

Wenn keine Angaben vorhanden, bitte das Zeichen ("0" oder "x") neben das Textfeld setzen !!!

8. Schädelsonogramm nein ja

IVH Grad: I II III IV

PVL

10. Ophthalmol. Untersuchung nein ja

max. ROP-Stadium: → Ziffern 0 bis 5; 0 entspricht 0

Bevacizumab (Bio-Avastin) nein ja Datum: links rechts bds.

Laser

Kryo

11. Apparatives Hörscreening nein ja

unauffällig → auffällig →

12. Operationen nein ja

	nein	ja	Datum
PDA-OP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
NEC-OP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
FIP-OP	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
VP-Shunt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Herniotomie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sonst. OPs?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Art der OP (Freitext in Druckbuchstaben):

6. Sepsis/SIRS (Kriterien NEO-KISS) nein ja

Beginn innerhalb 72h?

!!! Erreger in Blutkultur?

Erreger-Nr.: Datum Erregernachweis:

1. Sepsis: →

2. Sepsis: →

3. Sepsis: →

Andere Sepsiserreger: →

Erregerkatalog:

keine Keimnachweis	00	00
Enterokokken	ENT	34
Enterobacter	ENB	39
Pseudomonas aeruginosa	PAE	42
Staphyl. epidermidis	KNS	32
Staphyl. aureus	SAU	31
Staphyl. Aureus Oxacillin resist.	MRSA	51
E. coli ESBL bildend	ESBL ECO	50
Klebsiella ESBL bildend	ESBL KLE	53
E. feacium/ E. feacalis Vancomycin resist.	VRE	52
Serratia	SER	40
Listeria monocytogenese	LMO	43
Candida	CAN	46
Streptokokko Gruppe B	BST	33

Datenbogen des Kindes bitte ausfüllen und zusammen mit dem Bogen 2 (gelb) nach Entlassung/Verlegung ohne wieder Aufnahme des Kindes an die Studienzentrale senden.
Klinik für Kinder und Jugendmedizin, Prof. Dr. W. Göpel, 23538 Lübeck

13. BPD (nach Walsh, 35+0 bis 36+6 SSW) nein ja

O2-Bedarf < 30% (moderat)

O2-Bedarf > 30%, CPAP od. Beatmung (schwer)

14. Entlassung/Verlegung (ohne Wiederaufnahme!)

!!! Datum Entlassung:

Gewicht: Gramm

KU: cm KL: cm

nach Hause

Tod in Klinik → Grund: _____

Von Lübeck auszufüllen: **FB4V7** Eingabe Monitor korr. Eingabe

Bitte nicht über die Bezeichnung FB4V6 stempeln!

Hiermit bestätige ich die Richtigkeit der Angaben:
 Name / Unterschrift (dokum. Arzt / Ärztin)

7.2 Protokoll zum Isolierungsvorgang von DNS aus Nabelschnur (Gentra® Puregene® Tissue Kit)

1. Nabelschnur ca. 100 mg kleingeschnitten
+ 3 mL Cell Lysis Solution → auf Eis pipettieren
+ 30 µL Puregene Proteinase K → vortexen
über Nacht bei 55 °C im Thermoschüttler inkubieren, Speed 600
2. + 15 µL RNase A Solution → vortexen
1 Stunde bei 37 °C im Thermoschüttler inkubieren, Speed 600
3. 3 Minuten auf Eis herunterkühlen
4. + 1 ml Protein Precipitation Solution und sofort 20 Sekunden hochtourig vortexen
5. 10 Min bei 5.000 rpm zentrifugieren: Die Proteine sollten sich jetzt in Form eines festen Pellets am Boden des Röhrchens befinden
6. DNS-Überstand in ein neues Röhrchen mit 1 mL Protein Precipitation Solution überführen und die Proteinfällung wiederholen → auf Eis pipettieren
7. 3 mL Isopropanol 100 % in ein neues Röhrchen pipettieren
8. DNS-Überstand dazugeben und das Röhrchen vorsichtig über Kopf schwenken
9. 5 Minuten bei 5.000 rpm zentrifugieren: DNS sollte sich jetzt als Pellet am Boden des Röhrchens befinden
10. Überstand vorsichtig abgießen und das Röhrchen kopfüber auf sauberes Papier abtropfen lassen, dabei auf Pellet achten
11. + 3 ml Ethanol 70 %, Probe vorsichtig durchspülen, um das DNS-Pellet zu waschen
12. 5 Minuten bei 5.000 rpm zentrifugieren
13. Alkohol vorsichtig abgießen, Röhrchen kopfüber auf Papier abtropfen lassen
14. Ethanolwaschschritt wiederholen (11.-13.)
15. Röhrchen kopfüber auf sauberem Papier ca. 2 Stunden lufttrocknen lassen
16. + 150 µL DNS Hydration Solution, vorsichtig mit Pipette durchspülen
17. Inkubation über Nacht bei 25°C im Thermoschüttler, Speed 300
18. DNS-Konzentrationsmessung: Einstellung auf 50 – 70 ng / µL

7.3 Auflistung der in den Summenscore eingeflossenen SNPs

Die Betawerte folgender 138 der 147 für die Nierenfunktion relevanten SNPs (Wuttke et al., 2019) sind in die Berechnung unseres genetischen Summenscores eingeflossen. Ferner angegeben sind die chromosomale Lokalisation (Chr) sowie die Info Scores der Affymetrix-Chip-Kohorten (info_affy) und Illumina-Chip-Kohorten (info_illu).

SNP	Chr	info_affy	info_illu	SNP	Chr	info_affy	info_illu
rs74748843	1	0.546	0.954	rs76272256	3	0.994	0.999
rs10159261	1	0.979	0.985	rs56065557	3	0.984	0.967
rs17413465	1	0.997	0.978	rs11919484	3	0.980	0.999
rs1757915	1	1.000	1.000	rs9823161	3	0.920	0.936
rs679843	1	0.987	0.961	rs3775932	4	0.979	0.981
rs1887252	1	0.986	0.898	rs16874073	4	0.997	0.831
rs7543734	1	0.985	0.949	rs12509595	4	0.978	0.986
rs11166440	1	1.000	0.975	rs223471	4	0.998	0.985
rs3118119	1	0.935	0.956	rs13157326	5	0.963	0.922
rs267738	1	0.947	0.965	rs1362800	5	0.994	0.948
rs4971100	1	0.914	0.992	rs11746506	5	0.999	0.995
rs1011731	1	0.997	0.990	rs12520984	5	0.999	0.998
rs3795503	1	0.953	0.857	rs79760705	5	0.999	0.994
rs3850625	1	1.000	1.000	rs72759880	5	0.987	0.984
rs2808454	1	0.990	0.939	rs2010352	5	0.983	0.985
rs2577134	1	0.957	0.965	rs12777	5	0.993	0.989
rs2490391	1	0.997	0.986	rs12163971	5	1.000	0.875
rs3791221	2	0.996	0.995	rs11743174	5	0.973	0.974
rs807624	2	0.985	0.941	rs3812036	5	0.735	0.945
rs6546869	2	0.991	0.991	rs11755724	6	0.993	1.000
rs11123169	2	0.932	0.948	rs3765502	6	0.983	0.818
rs17050272	2	0.954	1.000	rs144100226	6	0.902	0.995
rs11694902	2	0.998	0.974	rs13200335	6	0.943	1.000
rs7425436	2	0.999	0.993	rs77915916	6	0.970	0.995
rs35472707	2	0.957	0.891	rs720989	6	0.992	0.982
rs187355703	2	0.922	0.934	rs6458868	6	1.000	0.994
rs35284526	2	0.987	0.993	rs3925003	6	1.000	0.995
rs4666821	2	0.994	0.998	rs72912510	6	0.967	0.960
rs7651407	3	0.992	0.987	rs1857859	6	0.997	1.000
rs3774726	3	0.985	0.985	rs1268168	6	0.980	0.993
rs2289746	3	1.000	0.994	rs7740107	6	0.998	1.000
rs9868185	3	1.000	0.995	rs3822939	6	1.000	0.974
rs35320690	3	0.991	0.992	rs9397738	6	0.958	1.000
rs9828976	3	0.998	0.996	rs62435145	7	0.502	0.928

SNP	Chr	info_affy	info_illu	SNP	Chr	info_affy	info_illu
rs6968554	7	0.996	1.000	rs9932625	16	1.000	0.933
rs700753	7	0.999	0.989	rs7203398	16	0.959	0.957
rs55773927	7	0.999	0.999	rs62050038	16	0.983	0.965
rs801193	7	1.000	0.959	rs28581385	16	0.960	0.966
rs41301394	7	0.960	1.000	rs28735420	17	0.909	0.891
rs6973656	7	0.995	0.999	rs2411192	17	0.994	0.992
rs62491533	7	0.999	0.990	rs9903801	17	0.961	0.997
rs10254101	7	0.891	0.983	rs8866	17	0.984	0.988
rs34861762	8	0.997	0.999	rs883541	17	0.996	1.000
rs10102889	8	0.938	0.939	rs16942751	18	0.953	0.868
rs2039424	9	0.999	0.998	rs8096658	18	0.449	0.759
rs1321917	9	0.996	0.989	rs7251730	19	0.999	0.997
rs7024579	9	0.536	0.971	rs78241494	19	0.989	0.980
rs80282103	10	0.983	0.966	rs113445505	19	0.998	0.986
rs7072591	10	0.948	0.992	rs62187537	20	0.979	0.950
rs10821905	10	0.999	0.958	rs1509117	20	0.898	0.788
rs10821944	10	1.000	1.000	rs17216707	20	1.000	0.888
rs7475348	10	0.984	0.980	rs2235826	20	0.964	0.930
rs12240572	10	0.938	0.906	rs1407040	20	0.998	0.988
rs2068888	10	0.948	1.000	rs4408777	20	0.585	0.980
rs4918943	10	0.997	0.996	rs2823139	21	0.978	1.000
rs284859	10	0.980	0.954	rs2834317	21	0.980	0.973
rs1055256	10	1.000	0.977	rs2244237	21	0.997	0.990
rs11564722	11	0.748	0.876	rs4820324	22	0.963	0.998
rs963837	11	0.927	0.926	rs738527	22	0.929	1.000
rs6484504	11	0.987	0.984				
rs61897431	11	0.995	0.993				
rs7127946	11	0.997	0.992				
rs2727040	11	0.980	0.970				
rs1813937	11	0.998	0.992				
rs3892895	11	0.738	0.947				
rs10790452	11	0.997	0.984				
rs500830	13	0.982	0.997				
rs17184313	14	0.997	0.999				
rs690428	15	1.000	0.983				
rs11071738	15	0.999	0.992				
rs11071939	15	0.995	1.000				
rs351237	15	0.845	0.917				
rs2472297	15	0.918	1.000				
rs4886696	15	0.991	0.975				
rs4886755	15	0.990	0.987				
rs166906	15	0.999	0.996				
rs59646751	15	0.986	0.994				
rs438339	16	0.466	0.872				
rs77924615	16	0.929	0.934				

Nicht in unsere Berechnungen eingeflossen sind folgende neun SNPs:

SNP	Chr
rs28817415	4
rs7095954	10
rs11237450	11
rs11062167	12
rs632887	12
rs117113238	12
rs10846157	12
rs12313306	12
rs1275609	12

8 Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein erster Dank gilt Prof. Dr. med. Herting dafür, dass ich an seinem Institut promovieren durfte. Auch meinem Doktorvater, Prof. Dr. Göpel, gilt ein besonderer Dank für seine hervorragende Anleitung und die ansteckende Freude und Begeisterung an der Forschung.

Des Weiteren bedanke ich mich ganz herzlich bei allen Mitarbeitern des GNN. Steffi, Tanja, Birgit, Liane, Petra und Tim: Ihr habt mich nicht nur fachlich wunderbar angeleitet und unterstützt, sondern auch eine herzliche und humorvolle Arbeitsatmosphäre geschaffen. Ich bin sehr dankbar, dass ich dieses Promotionssemester mit euch verbringen durfte.

Natürlich danke ich auch meiner Mutter und meinem Vater, die mich immer unterstützen, aushalten und lieben.

Zu guter Letzt danke ich meinem Gott und Herrn Jesus Christus, aus dessen Händen ich all das Gute empfangen habe.

9 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.