

Warum ist es wichtig, die zugrundeliegende genetische Diagnose zu kennen?

- Eine genaue genetische Beratung des Patienten und ggf. seiner Familie mit Erläuterung des zu erwartenden klinischen Verlaufs, Erkrankungsspektrums und Wiederholungsrisikos ist nur möglich, wenn die zugrundeliegende genetische Ursache bekannt ist.
- Die neue Methodik des Next Generation Sequencing (NGS) bietet deutliche Vorteile in Bezug auf Kosten, Effizienz und Aussagekraft der Diagnostik.
- Die NGS-Analytik für heterogene Erkrankungen hat in der Routine die klassische Stufendiagnostik („Gen für Gen“-Analyse) abgelöst.
- Genetische Diagnostik führt gerade bei jungen Patienten meist zu einer klareren Einschätzung der Erkrankung und einer verbesserten klinischen Betreuung (inklusive frühzeitiger Detektion und Monitoring von beeinflussenden Komplikationen).
- Das Wissen um die zugrundeliegende Mutation hat bei einer zunehmenden Zahl genetischer Erkrankungen direkte Konsequenzen für das therapeutische Vorgehen und ist im Rahmen von Transplantationen für die Prognose und das Rezidivrisiko bedeutsam.

Durchführung der diagnostischen genetischen Untersuchung

Diagnostische genetische Untersuchungen, die bei Patienten und Patientinnen mit klinischen Symptomen durchgeführt werden, können von jedem betreuenden Arzt nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung des Patienten (z. B. Einverständniserklärung auf dem Anforderungsschein des Labors) veranlasst werden. Eine gesonderte Qualifikation oder Fortbildung ist nicht notwendig.

Autor:
Prof. Dr. med. Carsten Bergmann, Limbach Gruppe

Literatur:

1. Lennon R, Torban E, Braun F et al.: From podocyte biology to novel cures for glomerular disease. *Kidney Int* 2019; 96 (4): 850–861.
2. Malone AF, Phelan PJ, Hall G et al.: Rare hereditary COL4A3/COL4A4 variants may be mistaken for familial focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2014; 86 (6): 1253–1259.
3. Moriniere V, Dahan K, Hilbert P et al.: Improving mutation screening in familial hematuric nephropathies through next generation sequencing. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25 (12): 2740–2751.
4. Brown EJ, Schlöndorff JS, Becker DJ et al.: Mutations in the formin gene INF2 cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2010; 42: 72–76.
5. Boyer O, Nevo F, Plaisier E et al.: INF2 mutations in Charcot-Marie-Tooth disease with glomerulopathy. *N Engl J Med* 2011; 365 (25): 2377–2388.
6. Santin S, Ars E, Rossetti S et al.: TRPC6 mutational analysis in a large cohort of patients with focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 (10): 3089–3096.
7. Weins A, Kenlan P, Herbert S et al.: Mutational and biological analysis of alpha-actinin-4 in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (12): 3694–3701.
8. Barua M, Stellacci E, Stella L et al.: Mutations in PAX2 associate with adult-onset FSGS. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25 (9): 1942–1953.
9. Datta S, Kataria R, Zhang JY et al.: Kidney Disease-Associated APOL1 Variants Have Dose-Dependent, Dominant Toxic Gain-of-Function. *JASN* 2020; 31 (9): 2083–2096.

Stand: Februar/2021

Abrechnung und Präanalytik

Humangenetische Leistungen sind Kassenleistungen und werden bei gesetzlich Versicherten entsprechend dem EBM abgerechnet.

Bei Privatpatienten empfehlen wir, eine Kostenübernahmeerklärung der privaten Krankenkassen vorab einzuholen. Die meisten privaten Kassen tragen die Kosten für eine genetische Untersuchung. Ein entsprechender Kostenvoranschlag wird auf Wunsch im Vorfeld erstellt oder spätestens nach Probeneingang an den Patienten verschickt.

Humangenetische Leistungen, wie genetische Diagnostik und Beratung, haben keinen Einfluss auf den Wirtschaftlichkeitsbonus.

Hinweise zu Präanalytik	
Probenmaterial	2–5 ml EDTA-Blut
Probentransport	Standardtransport bei Raumtemperatur

Ihr Ansprechpartner:
Prof. Dr. med. Carsten Bergmann
Facharzt für Humangenetik
Medizinische Genetik Mainz
Limbach Genetics
Haifa-Allee 38 | 55128 Mainz
E-Mail: carsten.bergmann@medgen-mainz.de
Telefon: +49 6131 27661-0

Glomeruläre Erkrankungen mit den Leitsymptomen Proteinurie und Hämaturie

Gezielte genetische Diagnostik in der Nephrologie

Einleitung

Wenn man über die gezielte genetische Diagnostik in der Nephrologie spricht, muss klar zwischen monogenen (primär erblichen) und multifaktoriellen Erkrankungen (mit einer genetischen Beteiligung) unterschieden werden. Genetische Nierenerkrankungen, im Speziellen glomeruläre Erkrankungen (Glomerulopathien), mit einem wichtigen Vertreter wie z. B. dem Alport-Syndrom sind sehr heterogen. Aufgrund dieser Heterogenität und großer klinischer (phänotypischer) Überlappung ist es heutzutage meist essenziell, klinische Verdachtsdiagnosen durch eine genetische Diagnose zu sichern bzw. zu widerlegen.

Genetik

Das Verständnis, wie der Filterapparat genau funktioniert, wurde in den letzten Jahren vor allem durch den großen Erkenntniszuwachs in der Molekulargenetik geprägt. Es werden fortlaufend neue mit Glomerulopathien assoziierte humane Gendefekte identifiziert sowie neue Moleküle entdeckt, die im Filterapparat (v. a. Podozyten) eine unentbehrliche Rolle für die Funktion der Zellen spielen und damit die Entstehung einer fokal segmentalen Glomerulosklerose (FSGS, siehe Abb. 1) direkt induzieren können. Auf diese Erkrankungsgruppe wollen wir im folgenden Abschnitt genauer eingehen.

Pathomechanismen und daraus abgeleitete Therapie

- Folgende zwei Mechanismen liegen diesen Erkrankungen hauptsächlich zugrunde:
- immunologische Veränderungen, die zur Produktion von in der Blutbahn zirkulierenden und die glomeruläre Permeabilität störenden Faktoren führen, oder
 - genetische Veränderungen (Mutationen) in Komponenten bzw. assoziierten Signalwegen der glomerulären Filtrationsbarriere.
- Die Unterscheidung hat meist unmittelbare Bedeutung für den Patienten bzw. dessen Prognose und Therapie. Patienten mit immunologisch bedingten Formen sprechen meist gut auf immunsuppressive Therapie an und weisen jedoch eine hohe Rezidivrate nach Nierentransplantation (NTx) auf. Patienten mit genetisch bedingter Nierenerkrankung hingegen weisen in der Regel kein Rezidivrisiko nach NTx auf und können somit im Gegensatz zur immunvermittelten Glomerulopathie durch eine erfolgreiche Nierentransplantation „geheilt“ werden.

Das Wichtigste auf einen Blick

- Glomeruläre Erkrankungen sind häufig durch genetische Diagnostik ätiologisch zu klären. Eine Panel-Diagnostik ist dabei zu empfehlen und kosteneffizient.
- Genetisch bedingte Formen sprechen meist nicht auf immunsuppressive Therapie an und sind gekennzeichnet durch fehlende Rekurrenz nach NTx.
- Die Identifikation des betroffenen Gens ermöglicht das Screening und Monitoring hinsichtlich zu erwartender Komorbiditäten organübergreifender Komplikationen, welche sich je nach Entität deutlich voneinander unterscheiden.
- Eine gezielte genetische Beratung mit Angabe von Risiken ist nur mit Kenntnis des Genotyps möglich.
- Das Wissen um die genaue Mutation ist bedeutsam für die Art der Betreuung und Therapie.

den. Zudem ist auf eine oftmals nebenwirkungsreiche immunsuppressive Therapie zu verzichten.

Genetische Diagnostik mittels Next Generation Sequencing (NGS)

Durch die Vorteile der neuen Hochdurchsatz-Sequenzierungstechniken (Next Generation Sequencing/NGS wie Multi-Gen Panel oder Whole Exome Sequencing/WES) gewinnt die genetische Diagnostik in der klinischen Betreuung und Patientenversorgung zunehmend an Bedeutung [1].

Die Liste der Gene für erbliche Formen aus dem o. g. Formenkreis für Glomerulopathien, FSGS und nephrotisches Syndrom entwickelt sich ständig weiter und besteht derzeit aus 50 bis 100 Genen. Darunter sind auch Veränderungen in unerwarteten Genen, die ein besseres Verständnis für den Pathomechanismus und die Bandbreite des klinischen Spektrums erlauben. Aufgrund der Vielzahl bekannter Gene für die Gruppe der Glomerulo- und Podozytopathien bietet sich eine sog. Multi-Gen-Panel-Diagnostik mittels NGS an, die deutlich schneller und kosteneffizienter als die konventionelle Sequenzierung ist. Ein weiterer großer Vorteil einer breiteren Herangehensweise ist der klinisch zunehmend geschätzte Aspekt der sog. reversen

Phänotypisierung. Dies bedeutet, dass eine vormalig geäußerte Verdachtsdiagnose durch die genetische Testung korrigiert und die richtige Diagnose und Einordnung mit allen nachfolgenden Implikationen getroffen werden kann.

Meist folgen die bei erwachsenen Patienten auftretenden Formen einem autosomal-dominanten (AD) Erbgang und weisen somit ein 50%iges Wiederholungsrisiko für Nachkommen auf. Aufgrund variabler Expressivität (Ausprägungsgrad) und inkompletter Penetranz (Durchschlagskraft) der Mutationen sowie des Auftretens von Neumutationen bei Patienten ist die Familienanamnese häufig unauffällig. Im Kindes- und Jugendalter sind meist andere, oftmals einem autosomal-rezessiven (AR) Erbgang folgende Gene betroffen. Im Folgenden soll in erster Linie näher auf einige erblich-genetische Formen des Erwachsenenalters eingegangen werden, die sich meist durch ein langsames Fortschreiten als die kindlichen Formen auszeichnen.

Während die Identifizierung von Mutationen in den Genen *NPHS1* und *NPHS2*, die für Nephtrin und Podocin kodieren, eine zentrale Rolle für die glomeruläre Funktion und die Schlitzmembran aufweist, unterstreicht die Identifizierung von Mutationen in Genen, die für Moleküle/Proteine des dynamischen Podozyten-Zytoskeletts kodieren (*ACTN4*, *INF2* und *ANLN*), die Bedeutung eines intakten Podozyten für die physiologische Nierenfunktion (siehe Tabelle).

Mutationen der Kollagen-IV-Gene (*COL4A3-5*) stellen die häufigste genetische Ursache bei Patienten mit familiärer FSGS und anderen Glomerulopathien dar und werden meist erst im Erwachsenenalter diagnostiziert [2, 3]. Diese Mutationen sind ebenfalls für das Alport-Syndrom verantwortlich. Sowohl dominante (*COL4A3* und *COL4A4*) als auch geschlechtsgebunden (*COL4A5*) vererbte Formen der Erkrankung weisen einen hohen Grad an phänotypischer Variabilität mit Hämaturie und ggf. Hörverlust sowie Augenauffälligkeiten auf. Das Alport-Syndrom ist nach der ADPKD die zweithäufigste monogenetische Nierenerkrankung und wahrscheinlich insgesamt stark unterdiagnostiziert, da viele Präsentationen nicht dem o.g. klassischen Muster folgen. Durch ungleichmäßige und zufällige Deaktivierung des zweiten X-Chromosoms können auch weibliche Überträgerinnen (Carrier) der klassischen *COL4A5*-Mutationen signifikant erkranken. Die unterschiedlichen Vererbungsmodi sind in der Praxis aus dem Stammbaum oft nicht ersichtlich, sodass eine Beratung bezüglich Übertragungsrisiko einer molekulargenetischen Sicherung der Diagnose bedarf.

Mutationen im *INF2*-Gen (kodiert für das Protein Inverted Formin 2) wurden bei ca. 10–20 % der Patienten mit autosomal-dominanter FSGS/Glomerulopathie und positiver Familienanamnese nachgewiesen [4, 5]. Wie die meisten dominanten Glomerulopathien weisen auch *INF2*-Mutationen eine unvollständige Penetranz

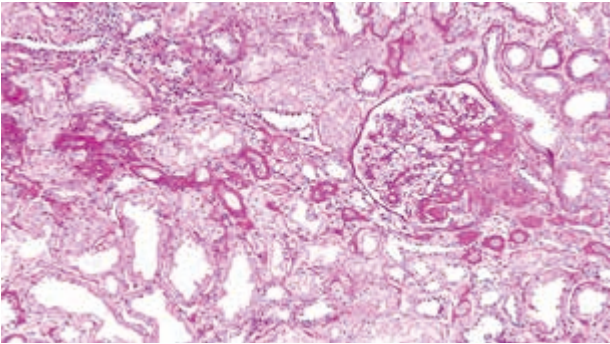


Abb. 1. Gewebeveränderungen bei fokaler segmentaler Glomerulosklerose (FSGS)

und große variable Expressivität auf. Bei einigen Patienten treten ergänzend periphere sensomotorische Symptome im Sinne einer Charcot-Marie-Tooth (CMT) Neuropathie auf. Es ist bekannt, dass *INF2*-Mutationen die Myelinisierung beeinträchtigen und zu Neuropathien führen können.

TRPC6-Genmutationen sind für ca. 5 % der AD-Podozytopathien verantwortlich [6]. Betroffene Patienten weisen im dritten oder vierten Lebensjahrzehnt eine Proteinurie im nephrotischen Bereich auf und entwickeln meist innerhalb von 10 Jahren nach Ausbruch eine terminale Niereninsuffizienz. *TRPC6* (Transient Receptor Potential Channel 6) ist ein kationischer Kanal, der den Kalziumeintritt in die Zellen vermittelt und an der Mechanosensorik beteiligt ist. Diese Entdeckung deutete unerwartet auf eine direkte Implikation des Kalziumsignals in der Pathogenese der FSGS hin. *TRPC6* wird am Podozytenschlitzdiaphragma exprimiert und interagiert dort mit Podocin und Nephtrin.

ACTN4 war eines der ersten lokalisierten Gene für AD-Podozytopathien und implizierte somit früh die Bedeutung des Zytoskeletts bei dieser Art von Erkrankungen. *ACTN4*-Mutationen sind ebenfalls für ca. 5 % aller AD-Podozytopathien verantwortlich [7]. Die Patienten zeigen typischerweise eine Proteinurie im Teenageralter oder später und erreichen eine terminale Niereninsuffizienz im Alter von durchschnittlich 50 Jahren. *ACTN4* kodiert das Aktin-bindende Protein α -Aktinin-4, das in Podozyten hoch exprimiert wird.

PAX2-Mutationen bei Patienten mit AD-FSGS wurden meist im 2. bis 4. Lebensjahrzehnt diagnostiziert [8]. Mutationen in diesem Gen waren bisher primär dafür bekannt, kongenitale Anomalien der Niere und Harnwege (CAKUT) sowie das papillärenale Syndrom (Nierenhypodysplasie und Sehnervkolobom) zu verursachen. *PAX2* ist ein Transkriptionsfaktor, der während der Entwicklung der Niere sowie der otischen und optischen Vesikel und des Hinterhirns exprimiert wird.

Bei über der Hälfte der Erwachsenen afrikanischer bzw. afroamerikanischer Herkunft ist die FSGS durch Trägerschaft einer *APOL1*-Risikovariante auf beiden elterlichen Genkopien mitbedingt [9].

Glomeruläre Erkrankungen mit den Leitsymptomen Proteinurie und Hämaturie (in alphabetischer Reihenfolge)

Gen	Vererbung	Protein	Proteinfunktion	Phänotyp (klinischer Typ)	Häufigkeiten
<i>ACTN4</i>	AD	α -Aktinin-4	Protein des Zytoskeletts des Podozyten	FSGS mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter	Für ca. 5 % aller AD-Glomerulopathien ursächlich
<i>COL4A3</i>	AR/AD	Kollagen, Typ IV, Alpha 3	Typ-IV-Kollagen ist die Hauptstrukturkomponente der glomerulären Basalmembranen (GBM)	FSGS mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter; Alport-Syndrom	Häufigste genetische Ursache bei familiärer FSGS und genetische Ursache bei 15 % der Fälle mit Alport-Syndrom ¹
<i>COL4A4</i>	AR/AD	Kollagen, Typ IV, Alpha 4	Typ-IV-Kollagen ist die Hauptstrukturkomponente der glomerulären Basalmembranen (GBM)	FSGS mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter; Alport-Syndrom	Häufigste genetische Ursache bei familiärer FSGS und genetische Ursache bei 5–10 % der Fälle mit Alport-Syndrom ¹
<i>COL4A5</i>	XL	Kollagen, Typ IV, Alpha 5	Typ-IV-Kollagen ist die Hauptstrukturkomponente der glomerulären Basalmembranen (GBM)	FSGS mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter; Alport-Syndrom	Häufigste genetische Ursache für das Alport-Syndrom (80–85 %) ¹ und familiäre Formen der FSGS
<i>INF2</i>	AD	Inverted formin 2	Beteiligt an der Aktindynamik im Podozyten	FSGS mit Erstmanifestation in der Jugend/im (jungen) Erwachsenenalter	10–20% der Fälle mit AD-FSGS/Glomerulopathien und positiver Familienanamnese
<i>NPHS1</i>	AR	Nephtrin	Element der Schlitzmembran	Kongenitales SRNS	Häufigste Form des kongenitalen nephrotischen Syndroms (NS)
<i>NPHS2</i>	AR	Podocin	Transmembranprotein, wichtig zur Rekrutierung von Nephtrin zur Schlitzmembran	SRNS und FSGS; Erstmanifestation in der Kindheit/Jugend und sogar in jungem Erwachsenenalter möglich	Häufigste Form des Steroid-resistenten nephrotischen Syndroms (SRNS)
<i>PAX2</i>	AD	Paired box protein Pax-2	Transkriptionsfaktor im Rahmen der Differenzierung von Nierenzellen	FSGS mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter; ggf. CAKUT mit Augenbeteiligung (Optikuskolobom)	Meist bei Patienten im jungen bis mittleren Lebensalter und mit AD-FSGS
<i>TRPC6</i>	AD	Transient receptor potential cation channel 6	Kalziumkanal, Interaktion mit Nephtrin und Podocin	FSGS mit Erstmanifestation im Erwachsenenalter	Für ca. 5 % aller AD-Glomerulopathien ursächlich

AD: autosomal-dominant; AR: autosomal-rezessiv; XL: X-chromosomal; FSGS: Fokal-segmentale Glomerulosklerose; SRNS: Steroid-resistentes nephrotisches Syndrom; ; ¹Kashtan CE. Alport Syndrom. – Vgl.: Kashtan CE, Adam MP, Ardinger HH et al. (Hrsg.): Alport Syndrome. In: GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2021 (2001, Aug 28 [updated 2019, Feb 21]).

Vorteile einer gesicherten genetischen Diagnose

- Ermöglicht eindeutige und frühzeitige Diagnosefindung bei heterogenen, klinisch stark überlappenden Erkrankungen (Bestätigung oder Korrektur der Verdachtsdiagnose)
- Führt zur verbesserten Risikoabschätzung und präzisen Prognose des Krankheitsverlaufs
- Ermöglicht richtige Therapiefindung (z. B. bei teuren personalisierten Therapien oder gezielten Behandlungsstrategien, wie z. B. bei Patienten mit Defekten in der Biosynthese des Coenzym Q10) und steigert so den Therapieerfolg
- Stellt Monitoring des Krankheitsverlaufs sicher, (auch extrarenale Manifestationen), um Komplikationen und Spätfolgen zu vermeiden
- Bestätigt oder widerlegt familiäre Veranlagung und ermöglicht somit Einschätzung der Wiederholungsrisiken innerhalb der Familie. CAVE: Wichtig bei der Planung von Lebendnierenspenden.
- Im Rahmen der Transplantationsplanung und Vorbereitung für eine Lebendnierenspende liefert die Genetik wichtige Aussagen zu: Wahl des Spenders, Rekurrenrisiko und Art und Weise der Therapie und Transplantationsnachsorge. Ein Spender-Screening gilt mittlerweile als Goldstandard und ist obligatorisch bei Krankheiten mit dominanter Übertragung, insbesondere bei Entitäten mit erheblicher intra- und interfamiliärer Variabilität und unvollständiger oder altersabhängiger Penetranz. Träger einer heterozygoten Variante in einem autosomal-rezessiven Gen hingegen können in der Regel als Nierenspender herangezogen werden.