

Fakultät für Medizin

---

**Genotyp und Phänotyp von Patienten mit einer hereditären Nierenerkrankung assoziiert mit Skelettauffälligkeiten - Fallserie aus einer Single-Center-Kohorte**

Michaela Sabine Ingeborg Stippel

---

Vollständiger Abdruck von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitzende/-r: Prof. Dr. Marcus Makowski

Prüfende/-r der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Julia Höfele

---

2. Prof. Dr. Lars Maegdefessel

---

Die Dissertation wurde am 14.01.2021 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 11.05.2021 angenommen.

# INHALTSVERZEICHNIS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Einleitung.....</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1 <i>Epidemiologie und Krankheitsrelevanz.....</i>                   | 1         |
| 1.2 <i>Embryologie.....</i>  | 2         |
| 1.2.1 <i>Embryologische Entwicklung der Nieren.....</i>                | 3         |
| 1.2.2 <i>Embryologische Entwicklung der Blase und der Urethra.....</i> | 4         |
| 1.3 <i>Krankheitsbilder.....</i>                                       | 5         |
| 1.3.1 <i>CAKUT.....</i>  | 5         |
| 1.3.2 <i>Ziliopathien.....</i>   | 13        |
| 1.3.3 <i>Glomerulopathien.....</i>                                     | 22        |
| 1.4 <i>Zielsetzung.....</i>  | 26        |
| <b>2. Patienten, Methoden und Materialien.....</b>                     | <b>27</b> |
| 2.1 <i>Patientenkohorte.....</i>                                       | 27        |
| 2.1.1 <i>Erfassung der Patienteninformation.....</i>                   | 27        |
| 2.2 <i>Methoden.....</i>   | 30        |
| 2.2.1 <i>DNA-Isolierung.....</i>                                       | 30        |
| 2.2.2 <i>PCR.....</i>  | 32        |
| 2.2.4 <i>Sanger-Sequenzierung.....</i>                                 | 35        |
| 2.2.5 <i>Exomsequenzierung.....</i>                                    | 37        |
| <b>3. Ergebnisse.....</b>  | <b>41</b> |
| 3.1 <i>Familien mit CAKUT.....</i>                                     | 42        |
| 3.1.1 <i>F14.....</i>  | 42        |
| 3.1.2 <i>F16.....</i>  | 42        |
| 3.1.3 <i>F17.....</i>  | 43        |
| 3.1.4 <i>F18.....</i>  | 44        |
| 3.1.5 <i>F49.....</i>  | 44        |
| 3.1.6 <i>F59.....</i>  | 45        |
| 3.1.7 <i>F67.....</i>  | 45        |
| 3.1.8 <i>F71.....</i>  | 46        |
| 3.1.9 <i>F74.....</i>  | 47        |
| 3.1.10 <i>F75.....</i>   | 47        |
| 3.1.11 <i>F80.....</i>   | 48        |
| 3.1.12 <i>F189.....</i>  | 48        |
| 3.1.13 <i>F192.....</i>  | 49        |
| 3.1.14 <i>F193.....</i>  | 49        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1.15 F194 .....                              | 50        |
| 3.1.16 F195 .....                              | 50        |
| 3.1.17 F197 .....                              | 51        |
| 3.1.18 F207 .....                              | 51        |
| 3.1.19 F215 .....                              | 52        |
| 3.1.20 F220 .....                              | 52        |
| 3.1.21 F221 .....                              | 53        |
| 3.1.22 F240 .....                              | 53        |
| 3.1.23 F241 .....                              | 54        |
| 3.1.24 F255 .....                              | 54        |
| 3.1.25 F262 .....                              | 55        |
| 3.3.18 F305 .....                              | 56        |
| <i>3.2 Familien mit einer Ziliopathie.....</i> | <i>57</i> |
| 3.2.1 F13.....                                 | 57        |
| 3.2.2 F50.....                                 | 57        |
| 3.2.3 F53.....                                 | 58        |
| 3.2.4 F54.....                                 | 58        |
| 3.2.5 F62.....                                 | 59        |
| 3.2.6 F64.....                                 | 59        |
| 3.2.7 F73.....                                 | 60        |
| 3.2.8 F81.....                                 | 60        |
| 3.2.9 F90.....                                 | 61        |
| 3.2.10 F99 .....                               | 61        |
| 3.2.11 F101 .....                              | 62        |
| 3.2.12 F130 .....                              | 63        |
| 3.2.13 F174 .....                              | 63        |
| 3.2.14 F183 .....                              | 64        |
| 3.2.15 F191 .....                              | 64        |
| 3.2.16 F196 .....                              | 65        |
| 3.2.17 F198 .....                              | 66        |
| 3.2.18 F200 .....                              | 67        |
| 3.2.19 F206 .....                              | 67        |
| 3.2.20 F216 .....                              | 68        |
| 3.2.21 F217 .....                              | 69        |
| 3.2.22 F225 .....                              | 69        |
| 3.2.23 F239 .....                              | 70        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.2.24 F256 .....   | 70        |
| 3.2.25 F273 .....   | 71        |
| <b>3.3 Familien mit Glomerulopathien .....</b>  | <b>72</b> |
| 3.3.1 F19.....  | 72        |
| 3.3.2 F22.....  | 72        |
| 3.3.3 F23.....  | 73        |
| 3.3.4 F24.....  | 73        |
| 3.3.5 F25.....  | 74        |
| 3.3.6 F30.....  | 75        |
| 3.3.7 F31.....  | 75        |
| 3.3.8 F32.....  | 76        |
| 3.3.9 F51.....  | 76        |
| 3.3.10 F65 .....  | 77        |
| 3.3.11 F93 .....  | 78        |
| 3.3.12 F97 .....  | 78        |
| 3.3.13 F201 .....   | 79        |
| 3.3.14 F204 .....   | 79        |
| 3.3.15 F227 .....   | 80        |
| 3.3.16 F290 .....   | 80        |
| 3.3.17 F291 .....   | 81        |
| <b>3.4 Molekulargenetische Analyse der Familien mit skelettalem Phänotyp .....</b>              | <b>82</b> |
| 3.4.1 F18.....  | 82        |
| 3.4.2 F51.....  | 82        |
| 3.4.3 F75.....  | 82        |
| 3.4.4 F80.....  | 83        |
| 3.4.5 F191.....   | 83        |
| 3.4.6 F198.....   | 83        |
| 3.4.7 F241 .....  | 83        |
| 3.4.8 F305 .....  | 83        |
| 3.4.9 Zusammenfassung.....  | 84        |
| <b>4. Diskussion .....</b>  | <b>85</b> |
| 4.1 Rückblick auf Zielsetzung dieser Arbeit.....  | 85        |
| 4.1 Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei CAKUT.....   | 87        |
| 4.2. Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei Ziliopathien.....                                 | 87        |
| 4.3. Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei Glomerulopathie.....                              | 89        |
| 4.4. Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei Patienten mit hereditären Nierenerkrankungen..... | 90        |

|  |            |
|--|------------|
| 4.5 Vorteile und Nachteile der (Trio-)Exomsequenzierung..... | 90         |
| 4.6 Limitationen der Studie .....                            | 93         |
| <b>Zusammenfassung .....</b>                                 | <b>94</b>  |
| <b>Abstract.....</b>   | <b>95</b>  |
| <b>Literaturverzeichnis.....</b>                             | <b>96</b>  |
| <b>Abbildungsverzeichnis .....</b>                           | <b>103</b> |
| <b>Tabellenverzeichnis .....</b>                             | <b>104</b> |
| <b>Stammbaumlegende.....</b>                                 | <b>105</b> |
| <b>Lebenslauf.....</b>                                       | <b>106</b> |
| <b>Poster und Publikation.....</b>                           | <b>107</b> |
| <i>Poster.....</i>   | <i>107</i> |
| <i>Paper.....</i>  | <i>107</i> |
| <b>Danksagung.....</b>                                       | <b>108</b> |

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

|       |   |
|-------|---|
| ADPKD | Autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung  |
| ARPKD | Autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung  |
| A.    | Arteria   |
| BBS   | Bardet-Biedl-Syndrom  |
| CAKUT | congenital anomalies of the kidney and urinary tract<br>(angeborene Nieren und Harnwegsfehlbildungen) |
| CCD   | charge-coupled device (ladungsgekoppeltes Bauteil)  |
| CNI   | chronische Niereninsuffizienz   |
| ddNTP | Didesoxyribonukleosidtriphosphat  |
| DMSO  | Dimethylsulfoxid  |
| DNA   | deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)  |
| dNTP  | Desoxyribonukleosidtriphosphat  |
| EDTA  | Ethylendiamintetraacetat  |
| FSGS  | fokal-segmentale Glomerulosklerose  |
| HPLC  | high performance liquid chromatography  |
| JRSD  | Joubert-Syndrom   |
| MCGN  | Minimal change Glomerulonephritis   |
| MKS   | Meckel-Gruber-Syndrom   |
| MODY  | Maturity Onset Diabetes of the Young  |
| NPHP  | Nephronophthise   |
| OD    | optical density (Extinktion)  |
| OFD   | Oro-fazio-digitales-Syndrom   |

|            |  |
|------------|--|
| PC1        | Polycystin 1   |
| PC2        | Polycystin 2   |
| PCR        | polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)     |
| PUV        | posterior urethral valves (posteriore Harnröhrenklappen) |
| SIDS       | sudden infant death syndrome (plötzlicher Kindstod)      |
| SIOD       | Schimke-immunoossäre Dysplasie                           |
| SLS        | Senior-Løken-Syndrom                                     |
| TBE-Puffer | Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan-Borat-EDTA-Puffer         |
| VUR        | vesikoureteraler Reflux                                  |
| WES        | whole-exome sequencing (Exomsequenzierung)               |

## 1. EINLEITUNG

### 1.1 Epidemiologie und Krankheitsrelevanz

Die chronische Niereninsuffizienz (CNI) im Kindes- und Jugendalter tritt in Deutschland mit einer Inzidenz von 100-200/Jahr auf. Sie führt in den meisten Fällen zu einer terminalen Niereninsuffizienz, die nicht nur eine hohe ökonomische Belastung darstellt, sondern auch mit einer gesteigerten Mortalität verbunden ist. Im Kindesalter spielen bei der Entstehung vor allem angeborene Fehlbildungen oder Erkrankungen Nieren und/oder ableitenden Harnwege eine Rolle.

In 40% der Fälle ist die CNI auf eine angeborene Fehlbildung der Nieren oder der ableitenden Harnwege (congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT) zurückzuführen. Weitere angeborene Erkrankungen, die eine CNI verursachen können, sind hereditäre Nephropathien. Hierzu zählen z.B. die Nephronophthise und die polyzystische Nierenerkrankung. Eine CNI, der pathogenetisch eine der bereits genannten Erkrankungen zugrunde liegt, verläuft meist langsam progredient. Dahingegen kann es bei erworbenen Glomerulopathien, wie beispielsweise der sekundären fokal-segmentalen Glomerulosklerose (FSGS), bereits innerhalb weniger Monate zu einer terminalen Niereninsuffizienz kommen (Seikaly 2003, Lange-Sperandio und Dötsch 2013, Kosfeld et al. 2018).

Therapieverfahren der terminalen Niereninsuffizienz sind im Kindesalter wie auch im Erwachsenenalter Hämo- und Peritonealdialyse. Diese sind aufwendige Verfahren und stellen mit ihren Kosten und zusätzlich steigender Inzidenz eine Herausforderung dar (Phair et al. 2018). Hinzu kommt, dass Hämo- und Peritonealdialyse die natürliche Nierenfunktion nicht vollständig ersetzen können, was zu einem erhöhten kardiovaskulären Risiko mit Komplikationen bereits im jungen Erwachsenenalter führt (Sahay 2013).

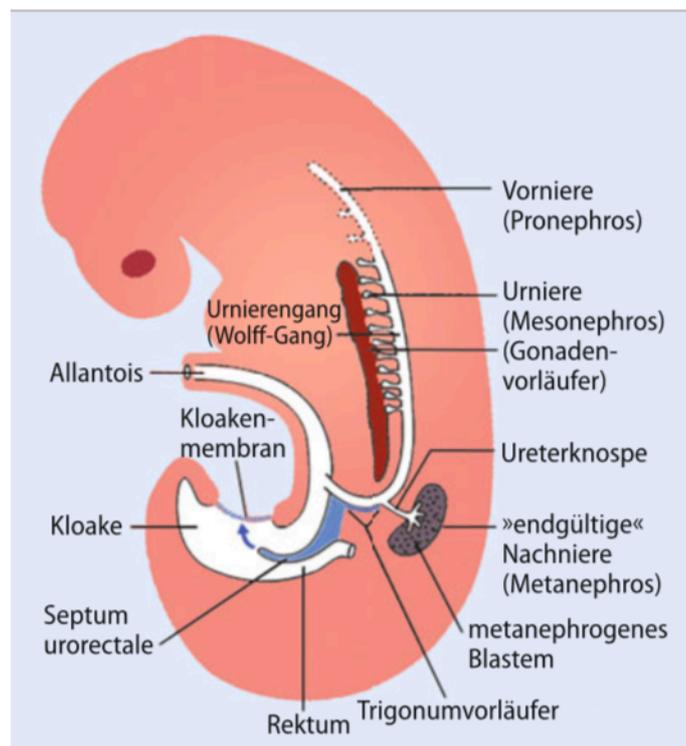
Die optimale kurative Therapie der terminalen Niereninsuffizienz ist die Nierentransplantation. In Deutschland waren im Jahr 2017 3054 Patienten für eine Nierentransplantation angemeldet, davon wurden 1921 transplantiert. Während der Wartezeit verstarben 406 Patienten (Rahmel 2018). Problematisch ist hier demnach die hohe Nachfrage im Vergleich zum geringen Angebot.

Aufgrund der Entwicklungen in der molekulargenetischen Diagnostik hat sich das Verständnis der Pathophysiologie hereditärer Nierenerkrankungen deutlich verbessert. Mittlerweile erreichen viele der erkrankten Kinder das Erwachsenenalter. Daher gewinnt die Kenntnis der genetischen Ursachen zunehmend an Bedeutung (Von Hoyer und Weber 2012).

Zur Entwicklung einer präzisen Diagnostik ist die Kenntnis der genauen Ätiologie unerlässlich. Durch eine frühe Diagnosestellung und eine zeitnahe Therapieoptimierung kann ein positiver Einfluss auf das Fortschreiten der Erkrankung und damit der Entwicklung einer Niereninsuffizienz erreicht werden.

## 1.2 Embryologie

Angeborene Nierenerkrankungen lassen sich auf eine abnorme embryologische Entwicklung zurückführen. Im Folgenden soll daher die Embryologie von Nieren und ableitenden Harnwegen erläutert werden.



**Abbildung 1: Embryo mit Nierenanlagen, Teilung der Kloake durch Septum urorectale, Ausbildung der Allantois, des Trigonums und des Harnleiters (Frohneberg und Westermann 2014)**

### *1.2.1 Embryologische Entwicklung der Nieren*

Die Nieren gehen aus dem intermediären Mesoderm hervor. Zunächst bilden sich im Hals- und Brustbereich sogenannte Nephrotome, in Segmenten angeordnete Zellhaufen. Kaudal davon entwickelt sich der nephrogene Strang, der sich aus undifferenziertem Gewebe zusammensetzt und als Ausgangsmaterial zur Entwicklung der Niere dient. Das fertige Organ entsteht in drei teilweise parallel ablaufenden Stadien von kranial nach kaudal (s. Abbildung 1) (Brand-Saberi und Ulfig 2017).

In der 3. Woche bildet sich im intermediären Mesoderm des Halsbereichs die Vorniere (Pronephros). Sie besteht aus Nephrotomen, in welchen sich tubuläre Strukturen entwickeln. Diese Tubuli haben noch keine sekretorische Funktion, allerdings bilden sich Verbindungen zwischen den Tubuli der Nephrotome. Dieser so gebildete Vornierengang geht nach kaudal in den Urnierengang (mesonephritischer Gang, Wolff-Gang) über. Die Vorniere besteht nur für kurze Zeit und bildet sich im ab Anfang der 5. Woche wieder zurück.

Ab Mitte der 4. Woche beginnt die Entwicklung der Urnieren (Mesonephros) aus dem intermediären Mesoderm des Thorakal- und Lumbalbereichs. Der mesonephritische Gang wächst weiter nach kaudal, bis er schließlich eine Verbindung zur Kloake bekommt. Erneut entstehen tubuläre Strukturen, die sich zu Nephronen weiterentwickeln. Diese Nephronen bestehen aus Glomerulus, Tubulus sowie Sammelrohr und sind bereits funktionstüchtig. Die Urnieren ist in der 6. Woche der Embryonalentwicklung vollständig ausgebildet. Sie degeneriert allerdings wieder, bis auf die kranialen Anteile, die mit der Gonadenanlage fusionieren.

Während der Degeneration der Urnieren beginnt kaudal davon die Entstehung der Nachnieren (Metanephros) aus dem metanephrogenen Blastem, welches wiederum aus dem kaudalen Anteil des intermediären Mesoderms hervorgeht. Aus dem mesonephritischen Gang entsteht kurz vor der Einmündung in die Kloake in der 6. Woche eine Ausstülpung, die Ureterknospe. Sie wächst in das metanephrogene Blastem ein, was zu einer gegenseitigen Induktion und weiteren Differenzierung beider Strukturen führt (Sigel und Ringert 2001, Oswald und Haid 2016, Brand-Saberi und Ulfig 2017).

Nach dem Kontakt zwischen Ureterknospe und metanephrogenem Blastem formen sich dessen Zellen zu Epithelzellen um. Aus diesen Epithelzellen entstehen zunächst Nierenbläschen, aus denen sich im weiteren Verlauf ein Tubulussystem und die Bowmansche Kapsel entwickeln. Unterdessen beginnt die Ureterknospe sich dichotom zu teilen. Aus ihr entstehen Nierenbecken, Nierenkelche und Sammelrohrsystem. Der Stiel der Ureterknospe wird zum Ureter.

Zunächst liegen die Nieren auf Höhe des 1. bis 3. Sakralsegments. Bedingt durch das Längenwachstum des Embryos kommt es allerdings zu einem relativen Aszensus. Hierdurch verlagern sich die Nieren auf die endgültige Höhe vom 12. Brustwirbelkörper bis zum 2. Lendenwirbelkörper, wobei die rechte Niere aufgrund der Leber etwas tiefer zu liegen kommt (Richter 2015, Brand-Saberi und Ulfig 2017).

Während des Aszensus wächst der Ureter in die Länge und ein Lumen wird in der Mitte sichtbar. Die beginnende Urinproduktion ab der 9. Woche löst die muskuläre Aktivität des Ureters aus (Becker 2008).

### *1.2.2 Embryologische Entwicklung der Blase und der Urethra*

Die Kloake stellt in der frühen Embryonalzeit das gemeinsame Ende von Darmrohr und Urogenitaltrakt dar (Schulze 2011). Bis zur 7. Woche ist der Sinus urogenitalis direkt über die Allantois mit der Nabelschnur verbunden. Durch den Einriss der Kloakenmembran entsteht eine Verbindung zwischen Amnionhöhle und Urogenitaltrakt und die Allantois obliteriert. Zurück bleibt ein bindegewebiger Strang an der inneren Bauchwand, das Ligamentum umbilicale medianum (Becker 2008, Frohneberg und Westermann 2014, Brand-Saberi und Ulfig 2017).

In der 4. Woche beginnt die Kloake, sich durch das Septum urorectale in das Rektum und den ventral lokalisierten Sinus urogenitalis zu teilen (s. Abbildung 1). Nach der Aufteilung sind die primitiven Strukturen, aus denen Damm, Rektum, Harnblase und Urethra hervorgehen, angelegt (Becker 2008, Brand-Saberi und Ulfig 2017).

Der Sinus urogenitalis gliedert sich in drei Anteile. Aus dem kranialen, größten Teil des Sinus urogenitalis (Pars vesicalis) entwickelt sich die Harnblase. Aus dem mittleren Teil (Pars pelvina) entsteht beim Mann ein Teil der Urethra, bei der Frau die gesamte

Urethra. Der untere Teil (Pars phallica) ist für die Entwicklung der Genitalorgane von Bedeutung (Schulze 2011, Brand-Saberi und Ulfing 2017).

Während der Teilung der Kloake vergrößern sich die mesonephritischen Gänge und werden mit dem Sinus urogenitalis vereint. Ebenso erweitert sich die Hinterwand des Sinus urogenitalis, wodurch auch der Ureter eine Verbindung dazu bekommt. Die Ureterostien befinden sich supero-lateral der Ostien der mesonephritischen Gänge. Letztere bewegen sich im Laufe der Entwicklung nach medial und das Epithel beider Gänge fusioniert, wodurch später die Harnröhre entsteht. Die beiden Ureterostien und die nahezu fusionierten mesonephritischen Gänge bilden das Trigonum vesicae. Ab der 16. Woche sind bereits zirkulär und longitudinal verlaufende glattmuskuläre Stränge voneinander abgrenzbar, das endgültige Urothel bildet sich in der 21. Woche (Becker 2008, Richter 2015).

Wie bereits erwähnt entwickelt sich die Urethra der Frau gänzlich aus der Pars pelvina des Sinus urogenitalis. Beim Mann entstehen nur Pars intramuralis, Pars prostatica und Pars membranacea der Urethra aus der Pars pelvina. Die Pars spongiosa der Urethra formt sich durch den Verschluss der Urethralfalten, welche wiederum aus der Pars phallica des Sinus urogenitalis entstehen (Schulze 2011, Schulte 2014, Brand-Saberi und Ulfing 2017).

## 1.3 Krankheitsbilder

### *1.3.1 CAKUT*

CAKUT werden bei ca. 3-6 von 1000 Neugeborenen beobachtet und treten beim Menschen als eine der häufigsten in utero diagnostizierten Fehlbildungen auf. Der Begriff umfasst ein breites Spektrum an Malformationen, welches von vesikoureteralem Reflux bis hin zur Nierenagenesie reicht. Sie können als Teil eines Syndroms mit weiteren Anomalien in anderen Organsystemen auftreten (z.B. beim Branchio-oto-renalen Syndrom), bei dem Großteil der Patienten manifestieren sie sich jedoch als isolierte Fehlbildung der Nieren, der ableitenden Harnwege oder beider Systeme (s. Abbildung 2). Grundsätzlich können die Fehlbildungen uni- oder bilateral auftreten, allerdings sind schwerwiegende bilaterale Ausprägungen seltener, da die betroffenen

Feten häufig bereits intrauterin versterben (Weber 2015, John et al. 2017, Kosfeld et al. 2018).

Im Folgenden sollen die verschiedenen Phänotypen und die mögliche Symptomatik erläutert werden.

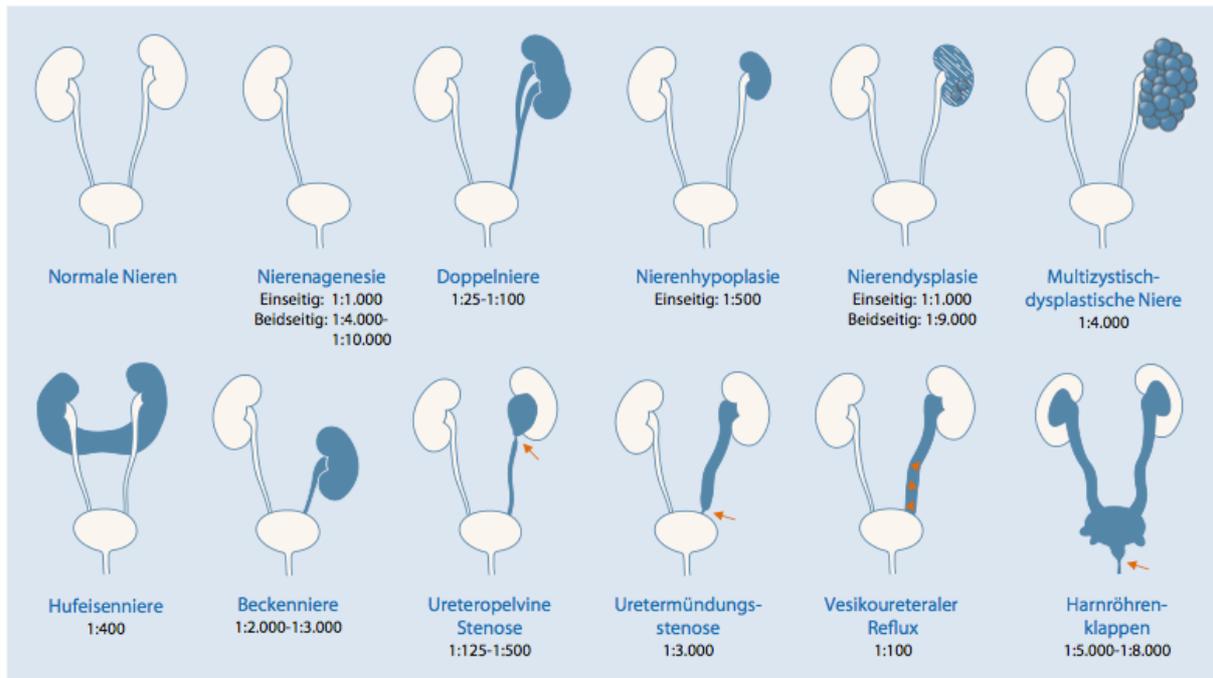


Abbildung 2: Schematische Darstellung verschiedener CAKUT-Phänotypen (Kosfeld et al. 2018)

### 1.3.1.1 Nierenagenesie, -hypoplasie und -dysplasie

Die Nierenagenesie wird definiert als das Fehlen einer (unilateral) oder beider (bilateral) Nieren (Strauss 2008). Die unilaterale Ausprägung tritt wesentlich häufiger auf, wird meist als Zufallsbefund diagnostiziert und verläuft klinisch unkompliziert. Die bilaterale Nierenagenesie hingegen zeichnet sich durch eine schlechte Prognose aus (Conrad et al. 2014, Weber 2015).

Bei der Nierenhypoplasie sind die Nieren angelegt und ausgebildet, allerdings ist die Anzahl der Nephronen vermindert und damit die betroffene Niere trotz unveränderter Struktur im Vergleich zu normalen Nieren verkleinert.

Die Nierendysplasie zeichnet sich durch eine veränderte Struktur der Nieren aus. In der Histologie können sich primitive Tubulusstrukturen, fetale Glomeruli und zystische Veränderungen zeigen, die für eine unvollständige Differenzierung der Niere sprechen (Schärer 2002, Weber 2015).

### **1.3.1.2 Lage- und Verschmelzungsanomalien**

Üblicherweise liegen die Nieren im Retroperitoneum auf Höhe des 12. Brustwirbelkörpers bis zum 2. Lendenwirbelkörper. Bei einer renalen Dystopie oder Ektopie, wie beispielsweise einer Beckenniere, befinden sich die Nieren außerhalb dieser Region. Bei der Hufeisenniere sind meist die unteren Nierenpole miteinander verschmolzen. Die Fusionsstelle besteht aus funktionalem Nierenparenchym, welches ventral von den Ureteren gekreuzt wird. Die Gefäßversorgung der Nieren ist bei Lage- und Verschmelzungsanomalien meist verändert, sie kann durch die A. iliaca oder die Aorta abdominalis erfolgen (Lusch et al. 2007, Conrad et al. 2014, Richter 2015).

### **1.3.1.3 Doppelbildungen der Nieren und der Ureteren**

Doppelnieren zeichnen sich durch zwei Nierenbeckenkelchsysteme, aber ein verbundenes Parenchym aus. Sie können in einen gemeinsamen Ureter münden, werden aber auch mit einer doppelten Anlage des Ureters assoziiert. Hierbei werden Ureter fissus und Ureter duplex unterschieden (Lazarus 2010, Conrad et al. 2014). Ein Ureter fissus bezeichnet eine Vereinigung der beiden Harnleiter vor Eintritt in die Blase. Verlaufen die beiden Ureteren durchgehend getrennt und liegen zwei Ostien vor, spricht man von einem Ureter duplex (Baumbusch und Beck 2006, Gasser 2015).

Bei der Ureterabgangsstenose handelt es sich um eine Verengung am Übergang zwischen Nierenbecken und Ureter. Diese kann zum einen durch kreuzende Gefäße, zum anderen durch eine Fehlbildung der Wand verursacht werden (Conrad et al. 2014, Krajewski et al. 2017).

Der vesikoureterale Reflux (VUR) bezeichnet einen pathologischen Harnfluss von der Blase zurück in den Ureter. Der Rückfluss kann bis in das Nierenbecken oder sogar das Parenchym reichen. Durch den langstreckigen intramuralen Verlauf des Ureters in der Harnblasenwand wird ein Reflux für gewöhnlich verhindert. Ist die Pars intramuralis allerdings verkürzt oder fehlend, kann der Rückfluss bei einer Druckerhöhung nur unzureichend verhindert werden (Beetz 2002, Conrad et al. 2014).

Eine weitere Harnabflussstörung stellt der Megaureter dar, welcher einen dauerhaft dilatierten Harnleiter bezeichnet. Die Erweiterung kann supravesikal durch eine Obstruktion oder einen Reflux entstehen, aber auch subvesikal durch Urethralklappen

bedingt sein. Urethralklappen beschreiben eine durchbrochene Membran, die den abfließenden Urin behindert. Sie stellen bereits intrauterin eine wirksame Harnabflussstörung dar und führen zu pathologischen Veränderungen des gesamten Harntraktes und der Nieren (Beetz 2002, John et al. 2017).

#### **1.3.1.4 Symptomatik**

Die klinische Präsentation von CAKUT ist ebenso wie die phänotypische Ausprägung sehr heterogen und reicht von Beschwerdefreiheit bis hin zur chronischen Niereninsuffizienz (Sahay 2013).

Durch eine beidseitige renale Dysfunktion kann die fetale Urinproduktion fehlen, es entsteht ein Oligo- oder sogar Anhydramnion. Die pathologisch verringerte Fruchtwassermenge ist mit einer Wachstumsretardierung assoziiert und kann zur Ausbildung einer Potter-Sequenz führen. Diese ist gekennzeichnet durch Dysmorphien wie tief ansetzende Ohren, Epicanthus medialis, Hypertelorismus, Mikrogenie und Klumpfüße. Außerdem besteht die Gefahr einer Lungenhypoplasie, die für das Neugeborene lebenslimitierend sein kann (Volante et al. 2004, Klaassen 2010).

Einseitige Malformationen präsentieren sich meist klinisch asymptomatisch, da die kontralaterale Seite die Fehlfunktion ausgleichen kann. Die funktionierende Niere kann in der Sonografie kompensatorisch vergrößert erscheinen, es besteht jedoch kein wesentlicher negativer Einfluss auf die embryonale Entwicklung (Sahay 2013, Kosfeld et al. 2018).

Ebenso bleiben die Lage- und Verschmelzungsanomalien meist klinisch inapparent. Durch die abnorme anatomische Lage und den eingeschränkten Abfluss neigen die Patienten jedoch zu Nierensteinen und Harnwegsinfektionen (Lusch et al. 2007, Richter 2015).

Bei Doppelanlage von Nieren und Ureteren ergeben sich eventuell auftretende Symptome meist durch die veränderten Mündungsstellen der Ureteren in die Harnblase. Diese begünstigen die Entstehung einer Hydronephrose oder eines VUR (Conrad et al. 2014, Gasser 2015).

Harnwegsinfektionen können bei intrarenalem Reflux gravierende Komplikationen verursachen. Der infizierte Urin fließt über das Nierenbecken bis in die Sammelrohre

der Nieren. Es kann zu schweren Pyelonephritiden und ausgeprägter Narbenbildung kommen, wodurch die Niere dauerhaft geschädigt wird (Conrad et al. 2014).

### **1.3.1.5 CAKUT und Skelettauffälligkeiten**

CAKUT wurden bisher als Teilsymptom bei über 500 Syndromen beschrieben, ungefähr ein Drittel der betroffenen Neugeborenen leiden zusätzlich an Fehlbildungen anderer Organsysteme (Kosfeld et al. 2018). Stoll et. al untersuchten in einer Studie an CAKUT erkrankte Kinder bezüglich extrarenaler Anomalien. Am häufigsten fanden sich muskuloskelettale, kardiovaskuläre sowie gastrointestinale Auffälligkeiten und Veränderungen am Zentralnervensystem.

Insgesamt 563 der 1678 untersuchten Kinder zeigten extrarenale Manifestationen. Bei 97 von den 563 Probanden wurden muskuloskelettale Anomalien ohne Anhalt für chromosomale Auffälligkeiten oder ein bestimmtes Syndrom beobachtet. Diese manifestierten sich unter anderem als Reduktionsdefekte der Extremitäten, Poly- und Syndaktylie (Stoll et al. 2014).

Bei Patienten mit Nierenektomie zeigt sich eine erhöhte Inzidenz für Skelettanomalien, weshalb ein eventuell bestehender teratogener Faktor als ursächlich diskutiert wird (Richter 2015). Hertz et. al führten eine Studie an 22 Patienten mit gekreuzter renaler Ektomie durch. Bei dieser seltenen Fehlbildung liegen beide Nieren auf einer Seite. Elf der Patienten wiesen zusätzlich skelettale Auffälligkeiten auf, die sich meist in der Lendenwirbelsäule befanden. Ein Betroffener zeichnete sich durch ein fehlendes Os sacrum aus (Hertz et al. 1977).

Im Rahmen des akrorenalen Syndroms treten häufig Lage- oder Fusionsanomalien der Nieren in Kombination mit Skelettanomalien auf. Der renale Phänotyp kann sich als renale Ektomie, Malrotation, beidseitige Nierenhypoplasie oder Hufeisenniere präsentieren. Skelettal manifestiert sich die Erkrankung vor allem an den Handknochen, die Fusion der Fingerknochen und eine Poly- oder Oligodaktylie können auftreten. Ein weiteres Symptom ist ein Kolobom des Nervus opticus (Mikuz 2018).

Die VACTERL-Assoziation beschreibt verschiedene angeborene Fehlbildungen, die gehäuft miteinander auftreten. Unter anderem kann die Kombination aus Nieren- und Skelettanomalien bestehen. Das Akronym setzt sich aus den Anfangsbuchstaben der

betroffenen Organsysteme zusammen. Der Buchstabe V steht für vertebral, es treten numerische und andere Fehlbildungen der Wirbelsäule oder auch eine Spina bifida auf. Diese gehen gelegentlich mit Rippenanomalien einher. Auch anorektale Malformationen wie die Analatresie sind charakteristisch. C beschreibt kardiovaskuläre Auffälligkeiten, hierunter fällt ein breites Spektrum an angeborenen Herzfehlern. Weiterhin kann eine ösophago-tracheale Fistel (tracheo-ösophageal fistula) mit oder ohne Ösophagusatresie bestehen. Auch renale Malformationen aus dem CAKUT-Spektrum zählen zum Krankheitsbild. Vor allem die Nierenagenesie und -hypoplasie, sowie die zystische Nierendysplasie, die Hufeisenniere und Ureterabgangsstenosen werden beobachtet. Abschließend sind die Extremitätenfehlbildungen (L steht für den englischen Begriff „limb“) zu nennen. Es zeigt sich gehäuft eine Reduktion oder Polydaktylie des radialen Unterarmstrahls.

Um die Definition einer VACTERL-Assoziation zu erfüllen, müssen Fehlbildungen in mindestens drei der genannten Organsysteme vorliegen. Die Ätiologie ist weitgehend ungeklärt. Es bestehen in den meisten Fällen keine Hinweise auf eine familiäre Häufung oder einen Einfluss des Alters der Eltern (Sigel und Ringert 2001, Solomon 2011).

Das Townes-Brocks-Syndrom geht neben CAKUT (42%) vor allem mit Hand- bzw. Daumenanomalien, Analfehlbildungen, Herzfehlern und Wachstumsstörungen einher. Der renale Phänotyp manifestiert sich meist als Nierenagenesie, -hypoplasie oder polyzystische Nieren. Morphologisch können eine präaxiale Polydaktylie, triphalangeale oder hypoplastische Daumen ohne Radiushypoplasie auffallen. Weitere mögliche Skelettanomalien sind vertebrale – und Rippen-Malformationen sowie eine Wachstumsverzögerung. Die genetische Ursache für das Townes-Brocks-Syndrom wird meist auf pathogene Varianten im *SALL1*-Gen zurückgeführt (Kosfeld et al. 2018).

Ein bereits bekanntes CAKUT-Gen, das mit skelettalen Fehlbildungen assoziiert ist, stellt *PBX1* (s. Tabelle 1) dar. *PBX1* kodiert für einen Transkriptionsfaktor und spielt eine wichtige Rolle in der Organogenese. Patienten mit pathogenen Varianten in diesem Gen zeigen häufig eine bilaterale Nierenhypoplasie und eine Entwicklungsverzögerung. In Mausmodellen konnte eine erhöhte Expression von *PBX1* in Chondrozyten festgestellt werden. Pathogene Varianten führen unter anderem zu einem schmalen Thorax,

gekrümmter Statur und weiteren Malformationen des Achsen- und Appendikularskeletts (Selleri et al. 2001, Riedhammer et al. 2017, Kosfeld et al. 2018).

### 1.3.1.6 Genetische Ursachen von CAKUT

Bei den meisten Betroffenen tritt CAKUT sporadisch auf, allerdings lässt sich bei 10% der CAKUT-Patienten eine positive Familienanamnese erheben. Ungefähr 40 verschiedene monogene Ursachen für CAKUT konnten bereits identifiziert werden. Die meisten Gene kodieren für Transkriptionsfaktoren und werden autosomal dominant vererbt. In 18% der Fälle wird die ursächliche Variante in einem der 40 Gene gefunden. An vielen weiteren Kandidatengenen wird derzeit geforscht, allerdings wird die Suche durch variable Expressivität und inkomplette Penetranz erschwert. Verschiedene Individuen mit identischer genetischer Variante können einen unterschiedlichen Phänotyp aufweisen, teilweise kann es trotz vorhandener pathogener Variante zu einer fehlenden Ausprägung kommen. Die embryologische Entwicklung der Nieren und des Urogenitaltraktes kann durch diese Varianten beeinflusst werden und zur Entstehung von CAKUT führen (Weber 2015, Van der Ven et al. 2018).

| Gen          | Protein        | Renaler Phänotyp  | Vererbung |
|--------------|----------------|---|-----------|
| <i>HNF1B</i> | HNF homeobox B | Renale Zysten und Diabetes-Syndrom, geringgradig syndromale CAKUT                               | AD        |
| <i>PAX2</i>  | Paired box 2   | Renales-Kolobom-Syndrom, nicht-syndromale CAKUT   | AD        |
| <i>PBX1</i>  | PBX homeobox 1 | CAKUT mit/ohne Schwerhörigkeit, faziale und skelettale Auffälligkeiten, Entwicklungsverzögerung | AD        |
| <i>SIX2</i>  | SIX homeobox 2 | Hypodysplasie   | AD        |

**Tabelle 1: 4 der bekannten CAKUT-Gene, die für diese Arbeit relevant sind [Tabelle modifiziert nach (Kosfeld et al. 2018)]**

Am häufigsten werden Varianten in den Genen *HNF1B* und *PAX2* bei Patienten mit CAKUT nachgewiesen. *HNF1B* kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der in den Epithelzellen von Nieren, Pankreas, Leber und Lungen exprimiert wird. Dieser ist bei der Entwicklung von tubulären Strukturen von Bedeutung. Bei der Kommunikation zwischen mesonephritischem Gang und metanephrogenem Blastem ist vor allem der Signalweg, der über GDNF („glial cell derived neurotrophic factor“) und die Ko-Rezeptoren RET und GFRA1 vermittelt wird, von Bedeutung. *PAX2* kodiert für Proteine,

die daran beteiligt sind (Sahay 2013, Vivante et al. 2014, Kosfeld et al. 2018, Van der Ven et al. 2018).

### 1.3.2 Ziliopathien

Zilien sind Zellfortsätze, die sich an der Oberfläche fast aller Körperzellen befinden. Sie werden nach Funktion und Struktur in nicht motile (primäre) und motile Zilien unterteilt. Beide enthalten einen Basalkörper und das Axonema, dessen Struktur den Subtyp der Zilien bestimmt. Primäre Zilien sind immotil und bestehen aus Mikrotubuli, die zirkulär in neun Paaren angeordnet sind (9x2+0). Sie detektieren mechanische, osmotische oder chemische Reize im Extrazellulärraum, welche eine intrazelluläre Kaskade auslösen und letztendlich zu Proliferation und Differenzierung oder anderen Zellprozessen führen können. Bei den sekundären Zilien findet sich zusätzlich ein zentrales Mikrotubulipaar (9x2+2). Sie sind motil, da sie Arme besitzen, über die das Motorprotein Dynein an den Mikrotubuli befestigt ist. Durch die Fähigkeit zur Eigenbewegung sorgen sie für einen gerichteten Flüssigkeitstransport im Bronchialsystem, im Eileiter und in den Ependymzellen des liquorbildenden Systems (Adams et al. 2008, Titieni und König 2018, Lüllmann-Rauch und Asan 2019).

Verschiedene genetische Erkrankungen, welche die Zilien betreffen, werden unter dem Begriff „Ziliopathien“ zusammengefasst. Da vor allem die primären Zilien nahezu ubiquitär vorhanden sind, kann die klinische Ausprägung sehr heterogen sein. Sie betrifft verschiedene Organsysteme, so können unter anderem Funktion und Morphologie von Niere, Leber, Nervensystem, Netzhaut und Skelettsystem beeinträchtigt sein (s. Abbildung 4). Die klinischen Ausprägungen reichen von zystischen Veränderungen der Nieren und/oder der Leber über geistige Retardierung bis hin zu Retinadystrophie und Polydaktylie (Lüllmann-Rauch und Asan 2019).

Die primäre Ziliendyskinesie zeichnet sich durch fehlende Dyneinarme und eine folglich eingeschränkte Motilität der sekundären Zilien aus. Die mukoziliäre Clearance der Atemwege ist beeinträchtigt, was klinisch zu chronischen respiratorischen Infekten führt. Bei männlichen Patienten kommt es zusätzlich durch die Immotilität der Spermien zu Unfruchtbarkeit. In der Hälfte der Fälle besteht zusätzlich ein Situs inversus, da die physiologische Seitenverteilung der Organe durch die unbeweglichen Zilien ausbleibt (Harris und Czarnecki 2009, Lüllmann-Rauch und Asan 2019).

Die polyzystischen Nierenerkrankungen zählen zu den vermutlich bedeutendsten Vertretern der Ziliopathien. Es konnte gezeigt werden, dass bei der Entstehung dieser Erkrankungen Gene eine Rolle spielen, die verschiedene Proteine der primären Zilien kodieren (Davenport und Yoder 2006, König et al. 2019).

Auch die Nephronophthise (NPHP) resultiert pathophysiologisch aus einer Ziliendysfunktion. Bei der NPHP handelt es sich um eine seltene, autosomal-rezessiv vererbte tubulointerstitielle Nierenerkrankung. Die Hauptsymptome sind zunächst Polyurie und Polydipsie, die durch ein gestörtes Urinkonzentrationsvermögen zustande kommen. Im Verlauf kann sich eine Niereninsuffizienz entwickeln. Auffällige Befunde in der Sonografie sind ein hyperechogenes Parenchym und eine verwaschene Mark-Rinden-Differenzierung. Im Verlauf können am kortikomedullären Übergang Nierenzysten auftreten. Je nach genetischer Ursache liegt die Erkrankung isoliert oder mit zusätzlichen extrarenalen Manifestationen (20-40% der Fälle) vor. Hierbei können neben Veränderungen in Augen, Leber und ZNS zudem skelettale Deformitäten auftreten (Badano et al. 2006, Titieni und König 2018).

Die NPHP kann auch als eine renale Manifestation verschiedener Syndrome bestehen, diese werden unter dem Begriff „NPHP-assoziierte Ziliopathien“ zusammengefasst. Dazu zählen unter anderem das Bardet-Biedl- (BBS), das Oro-fazio-digitale- (OFD), das Senior-Løken- (SLS), das Meckel-Gruber- (MKS) und das Joubert-Syndrom (JSRD) (s. Tabelle 2). Für diese Ziliopathien wurden mittlerweile ursächliche Varianten in ungefähr 80 Genen identifiziert. Wie im Rahmen der NPHP können auch bei vielen der syndromalen Erkrankungen Nierenzysten auffallen. Der renale Phänotyp kann sich sogar mit zystisch-dysplastischen Nieren und/oder in Form einer tubulointerstitiellen Fibrose mit Zysten manifestieren (Harris und Czarnecki 2009, Titieni und König 2018, König et al. 2019). Im Folgenden werden einige der genannten Ziliopathien genauer erläutert. Sie sind zum Verständnis der Dissertation relevant, da sie in der Studienpopulation auftraten.

| Klinische Ausprägung           | BBS | OFD | SLS | MKS | JSRD |
|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|
| Retinitis pigmentosa           | x   |     | x   | x   | x    |
| Zystennieren                   | x   | x   | x   | x   | x    |
| Polydaktylie                   | x   | x   |     | x   | x    |
| Situs inversus                 | x   |     | x   | x   | x    |
| Entwicklungsverzögerung        | x   | x   |     | x   | x    |
| Hypoplasie des Corpus callosum | x   | x   |     | x   | x    |
| Dandy-Walker-Malformation      | x   |     | x   | x   | x    |
| Posteriore Enzephalozele       | x*  |     |     | x   | x    |
| Leberbeteiligung               | x   | x*  | x   | x   | x    |

Tabelle 2: Mögliche klinische Ausprägungen fünf syndromaler Ziliopathien, \* im Mausmodell [Tabelle modifiziert nach (Badano et al. 2006)]

### 1.3.2.1 Autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung

Die autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD) ist eine hereditäre Nephropathie, die vor allem durch multiple, beidseitige Nierenzysten gekennzeichnet ist. Die Inzidenz wird zwischen 1:400 und 1:1000 angegeben und ist die häufigste monogene Nierenerkrankung, die in eine chronische Niereninsuffizienz resultiert. Sie betrifft über 10 Millionen Patienten weltweit und stellt somit eine nicht unerhebliche Belastung für die Gesundheitssysteme dar (Milutinovic et al. 1984, Bergmann et al. 2018, Haumann et al. 2018).

Die Vererbung erfolgt autosomal-dominant. In den meisten Fällen werden bei den Betroffenen Varianten in den Genen *PKD1* und *PKD2* gefunden. In etwa 80% der Fälle findet sich eine pathogene Variante in *PKD1*, 15% entfallen auf *PKD2*. *PKD1* kodiert für das große Transmembranprotein PC-1, *PKD2* für PC-2, einen nicht-selektiven Kationenkanal. Die Penetranz bei Varianten in diesen Genen liegt bei 100%. Bei etwa einem Viertel ist die Familienanamnese negativ, 15-20% davon können auf *de novo* entstandene Varianten zurückgeführt werden. Bei den anderen liegt vermutlich eine genetische Heterogenie vor.

In 5-10% der Fälle werden keine pathogenen Varianten in oben genannten Genen identifiziert. Diese bleiben entweder ungelöst oder es finden sich seltenere Varianten an anderen Stellen. Diese selteneren Varianten, die zu einem ADPKD ähnlichen Phänotyp führen, liegen unter anderem in *HNF1B*, *GANAB* und *DNAJB11*.

Eine Vergrößerung der Nieren kann in einigen Fällen bereits in utero feststellbar sein, durchschnittlich tritt eine Verminderung der glomerulären Filtrationsrate (GFR)

allerdings erst im Alter von 40 bis 60 Jahren auf. In der Hälfte der Fälle kommt es bis zum sechsten Lebensjahrzehnt zu einer terminalen Niereninsuffizienz. Im Verlauf der Erkrankung kommt es durch verschiedene zelluläre Modifikationen zu einem zystisch-fibrotischen Umbau der Nieren, der letztendlich zum Funktionsverlust führt. Dieser Umbau betrifft lediglich eine geringe Anzahl an Tubulusepithelzellen und findet nicht gleichzeitig statt. Die sogenannte „second-hit-Theorie“ begründet dieses Phänomen damit, dass die Erkrankung erst durch eine zusätzliche Veränderung auf dem ursprünglich gesunden Allel ausgelöst wird.

Trotz einer anfänglich normalen Nierenfunktion tritt bei den Patienten häufig früh eine arterielle Hypertonie auf, welche die kardiovaskuläre Mortalität wesentlich erhöht. Bei der ADPKD handelt es sich um eine systemische Erkrankung, als häufigste extrarenale Manifestation lässt sich die polyzystische Lebererkrankung feststellen. Diese zeichnet sich durch multiple Zysten aus, die das Leberparenchym durchsetzen. In einigen Fällen wurden Pankreaszysten beobachtet. Weitere auftretende Komplikationen sind intrazerebrale Aneurysmata, Hernien, ein Mitralklappenprolaps oder eine Divertikulose (Bergmann et al. 2018, Haumann et al. 2018).

### **1.3.2.2 Autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung**

Die autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung (ARPKD) zeichnet sich ebenso durch eine zystische Veränderung der Nieren aus, wird aber autosomal-rezessiv vererbt. Sie tritt mit einer Inzidenz von 1:20000 Lebendgeburten wesentlich seltener auf als die ADPKD. Die Heterozygotenfrequenz liegt korrespondierend dazu bei 1:70.

Die Erkrankung ist überwiegend auf Varianten im *PKHD1*-Gen zurückzuführen. Es kodiert für das Protein Fibrocystin, dessen molekulare Funktion noch nicht ausreichend geklärt ist. Fibrocystin besteht aus 4074 Aminosäuren und besitzt eine Transmembrandomäne sowie einen zytoplasmatischen Anteil. Eventuell überschneidet sich die Wirkungsweise mit der von PC-1 und PC-2. Ein ARPKD-ähnlicher Phänotyp mit meist milderem Verlauf wurde auch bei Patienten mit Varianten in *DZIP1L* beobachtet.

Im Gegensatz zur ADPKD entstehen die Nierenzysten bei der ARPKD aus dem Sammelrohr und entwickeln sich häufig bereits pränatal. Ist dies der Fall, zeigen sich beim Fetus sonografisch bilateral vergrößerte und echoreiche Nieren. Die Erkrankung

kann ebenso durch ein bestehendes Oligohydramnion während der Schwangerschaft auffallen, wenn die Nierenfunktion bereits intrauterin eingeschränkt ist. Ähnlich der Nierenagenesie kann es hier zu einer Potter-Sequenz mit Lungenhypoplasie kommen.

Die Schwere des Verlaufs kann deutlich variieren, so besteht bei manchen Patienten bereits im Kindesalter die Dialysepflicht, bei anderen erst im Erwachsenenalter. In den meisten Fällen verschlechtert sich die Nierenfunktion stetig, insgesamt entwickeln 58% der Patienten bis zum Erreichen des 20. Lebensjahres eine terminale Niereninsuffizienz.

Als extrarenale Manifestationen sind vor allem Auffälligkeiten des hepatobiliären Systems zu nennen. Hierbei kommt es zu einer portalen Hypertension sowie rezidivierenden Cholangitiden, die durch dilatierte Gallengänge begünstigt werden. Bei einigen Patienten konnten Ösophagusvarizen festgestellt werden. Die Leberfunktion ist meist nicht beeinträchtigt, allerdings haben erwachsene ARPKD-Patienten eventuell ein erhöhtes Risiko, an einem hepatozellulären Karzinom zu erkranken (Bergmann et al. 2018, Haumann et al. 2018).

### **1.3.2.3 Bardet-Biedl-Syndrom**

Das Bardet-Biedl-Syndrom (BBS) zählt zu den syndromalen Ziliopathien und wird autosomal-rezessiv vererbt. Aus diesem Grund tritt es in Regionen, in denen die Bevölkerung isoliert lebt oder konsanguine Eheschließungen üblich sind, gehäuft auf. Die Prävalenz variiert dadurch zwischen 1:13500 in Neufundland und 1:160000 in Europa.

Bisher wurden 21 verschiedene Gene (*BBS1-BBS21*) identifiziert, die ursächlich für das Auftreten eines Bardet-Biedl-Syndroms sein können. Es handelt es sich um ein klinisch und genetisch sehr heterogenes Krankheitsbild, was durch die variable Expressivität und inkomplette Penetranz erklärt werden kann. Die meisten pathogenen Varianten werden in *BBS1* bis *BBS18* gefunden, je nach Region dominieren unterschiedliche Gene. Bei Erkrankten in der europäischen Bevölkerung zeigen sich die meisten pathogenen Varianten in *BBS1* oder *BBS10*.

Die Diagnosestellung erfolgt meist im Kindesalter, da sich einige der typischen Symptome erst im Verlauf manifestieren. Eines der Hauptsymptome stellt die okuläre Beteiligung dar, 90-100% der Patienten leiden an einer Stäbchen-Zapfen-Dystrophie.

Die Sehfunktion nimmt zunehmend ab, viele der Patienten erblinden bis zur zweiten bzw. dritten Lebensdekade. Häufig bestehen außerdem Fehlbildungen der Extremitäten, hier ist insbesondere die Polydaktylie zu nennen. Auch weitere Dysmorphien wie eine Brachy- oder Syndaktylie können auftreten. Bei Neugeborenen mit einer Nierenerkrankung und einer solchen Anomalie muss das Bardet-Biedl-Syndrom differentialdiagnostisch in Erwägung gezogen werden. Zu den weiteren häufigen phänotypischen Ausprägungen zählen ein Hypogonadismus, Adipositas und eine geistige Entwicklungsretardierung (Winger et al. 1999, Priya et al. 2016, Weihbrecht et al. 2017, König et al. 2019).

Häufig entwickelt sich im Verlauf eine Niereninsuffizienz, die zu einer erhöhten Mortalität und Morbidität führt. Dem Nierenversagen liegt der auffällige renale Phänotyp zugrunde. Dieser kann sich durch Anomalien wie Nierenzysten, chronischer Glomerulonephritis oder gestörtem Urinkonzentrationsvermögen manifestieren. Letztere Pathologie stellt eine Gemeinsamkeit mit der NPHP dar. In der Literatur wurden Fälle beschrieben, in denen an einem BBS Erkrankte eine Variante in einem der *NPHP*-Gene zeigten.

Ebenso bestehen Überschneidungen mit CAKUT, so konnte bei BBS-Patienten morphologische Auffälligkeiten wie eine Nierenhypoplasie oder eine Hufeisenniere beobachtet werden (Priya et al. 2016, Zacchia et al. 2017, König et al. 2019).

#### **1.3.2.4 Joubert-Syndrom**

Das Joubert-Syndrom ist eine syndromale Ziliopathie, die autosomal-rezessiv oder X-chromosomal vererbt wird. Bisher bestehen nur unzureichende Daten zur Epidemiologie der Erkrankung.

Seit der Entdeckung des Syndroms 1969 konnten zehn Gene identifiziert werden, die eine Rolle in der Krankheitsentstehung spielen. Dazu zählen *INPP5E*, *TMEM216*, *AHI1*, *NPHP1*, *CEP290*, *TMEM67*, *RPHRIP1L*, *ARL13B*, *CC2D2A* und *OFD1*. Sie alle kodieren für ziliäre Proteine und beeinträchtigen somit die Zilienfunktion. Die Einteilung des Joubert-Syndroms erfolgt in Typ 1 bis 10 und richtet sich nach dem betroffenen Gen.

Phänotypisch fallen die Betroffenen zumeist mit neurologischen Symptomen auf. Eine besondere Bedeutung in der Diagnostik kommt der kraniellen Bildgebung zu, womit

häufig ein sogenanntes „Molar tooth sign“ (s. Abbildung 3) festgestellt werden kann. Dieses radiologisch wie ein Backenzahn imponierende Phänomen entsteht durch verschiedene Fehlbildungen. So zeigt sich bei den Patienten unter anderem eine Vermishypoplasie, eine vertiefte Fossa interpeduncularis und eine Vergrößerung des Pedunculus cerebellaris superior.

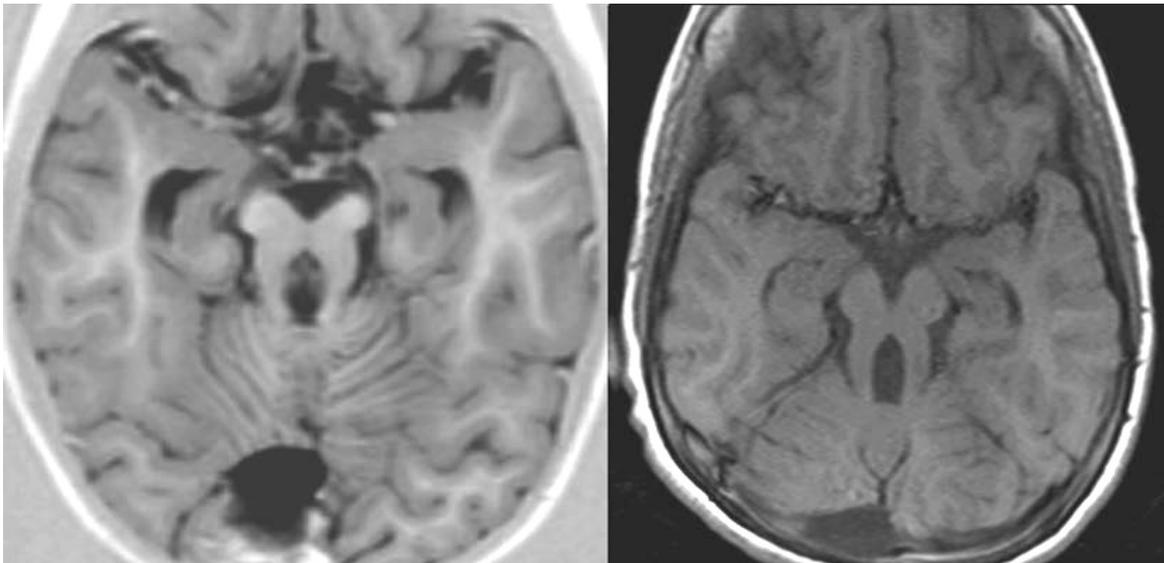


Abbildung 3: Molar tooth sign (Hellenbroich et al. 2010)

Zu den Diagnosekriterien zählen außerdem eine muskuläre Hypotonie, abnormale Augenbewegungen, wie beispielsweise ein Nystagmus, und Veränderungen der Atmung, wie sich abwechselnde Phasen von Apnoe und Tachypnoe.

Mit dem Joubert-Syndrom ist eine Vielzahl weiterer klinischer Ausprägungen assoziiert. In den meisten Fällen bestehen zusätzlich zu den neurologischen Auffälligkeiten Retinopathien und eine Leberzirrhose. Der renale Phänotyp imponiert vor allem als Nephronophthise oder zystisch-dysplastische Nieren (Hellenbroich et al. 2010, Romani et al. 2013).

#### **1.3.2.5 Ziliopathien und Skelettauffälligkeiten**

Wie bereits erwähnt, können im Rahmen einer Ziliopathie die Nieren isoliert oder auch multiple Organsysteme betroffen sein. Insbesondere bei den NPHP-assoziierten Syndromen kann es zu Skelettveränderungen kommen. Hierbei ist vorrangig das im vorhergehenden Kapitel beschriebene Joubert-Syndrom zu nennen. Skelettale Anomalien werden seltener als die oben beschriebenen Anomalien beobachtet und äußern sich meist als eine Skelettdysplasie oder Skoliose. Das Joubert-Syndrom kann in

mehrere Subtypen unterteilt werden, bei Typ 2, 6, 7 und 10 kann eine prä- oder mesaxiale Polydaktylie auftreten (Hellenbroich et al. 2010, Romani et al. 2013, Titieni und König 2018).

Auch im Rahmen des Bardet-Biedl-Syndroms kann es zur Ausprägung von skelettalen Anomalien in Kombination mit einer Nierenerkrankung kommen. Diese sind, wie bereits beschrieben, phänotypisch sehr breit gefächert.

Zu den Erstmanifestationen der Erkrankung zählen die kongenitale Polydaktylie und der Hypogonadismus. Die postaxiale Polydaktylie liefert einen bedeutenden diagnostischen Hinweis, da sie bei 63-81% der Patienten auftritt. Sie betrifft häufiger die Zehen als die Finger. Weitere radiologische Zeichen sind kurze Metakarpal- bzw. -tarsalknochen und Phalangen. Auch eine verkürzte Ulna, ein verbreitertes Os hamatum, eine Klinodaktylie des fünften Fingers und eine vergrößerte Sandalenlücke werden beschrieben (Priya et al. 2016).

Wie der Name vermuten lässt, steht bei den sogenannten skelettalen Ziliopathien der skelettale Phänotyp im Vordergrund. Hierzu zählen unter anderem die „Kurzrippen-Thoraxhypoplasie-Polydaktylie-Syndrome“. Dieser Begriff umfasst verschiedene Syndrome, welche alle durch einen skelettalen Phänotyp auffallen und mit einer NPHP assoziiert sein können. Beim Mainzer-Saldino-Syndrom finden sich beispielsweise im Bereich der Phalangen zapfenförmig umgewandelte Epiphysen, eine NPHP sowie eine Retinadegeneration. Im Rahmen des Jeune-Syndroms kann es zur Ausbildung kurzer Extremitäten, eines hypoplastischen Thorax sowie einer Poly- und Brachydaktylie kommen. Das Bild des Sensenbrenner-Syndroms wird ebenso durch das Bild einer Thoraxdysplasie und Anomalien der Finger geprägt. Außerdem können eine Dolichocephalie, eine Trichterbrust und eine verzögerte Zahnentwicklung auftreten. Weitere Auffälligkeiten sind ein verlangsamtes Nagelwachstum, eine gesteigerte Elastizität der Haut und feines Haar. Das Ellis-van-Creveld-Syndrom zeichnet sich durch Kleinwuchs, kurze Extremitäten und Polydaktylie aus. Eine Nierenbeteiligung in Form einer NPHP ist auch hier möglich.

Die bisher identifizierten pathogenen Varianten finden sich in den sogenannten *IFT*-Genen. Deren Genprodukte spielen eine Rolle in der Zilienfunktion, insbesondere dem intraflagellaren Transport.

Beim RHYNS-Syndrom handelt es sich um eine weitere seltene Erkrankung, bei der die Kombination aus Skelettauffälligkeiten und NPHP auftritt. Der Name setzt sich aus den vorherrschenden Ausprägungen zusammen und steht für Retinitis pigmentosa, Hypopituitarismus, Nephronophthise und Skelettdysplasie (Titieni und König 2018).

### 1.3.2.6 Genetische Ursachen

Ziliopathien werden durch eine genetisch determinierte Störung der Struktur bzw. der Funktion der Zilien verursacht. Die Gemeinsamkeit der klinisch sehr heterogenen Phänotypen liegt demnach in der pathologischen Veränderung eines spezifischen Zellorganells, den Zilien. Die sogenannte Zilien-Theorie beschreibt die Beobachtung, dass je nach zugrundeliegendem Syndrom verschiedene Bestandteile der Zilien betroffen sind. Bisher konnten Varianten in über 180 Ziliengen identifiziert werden, die ursächlich für 35 verschiedene Ziliopathien sind. Die wichtigsten Ziliopathien mit renalem Phänotyp sowie deren häufigste genetische Ursache sind in Abbildung 4 aufgeführt. Derzeit wird an mehr als 240 Kandidatengen geforscht (Titieni und König 2018, König et al. 2019).

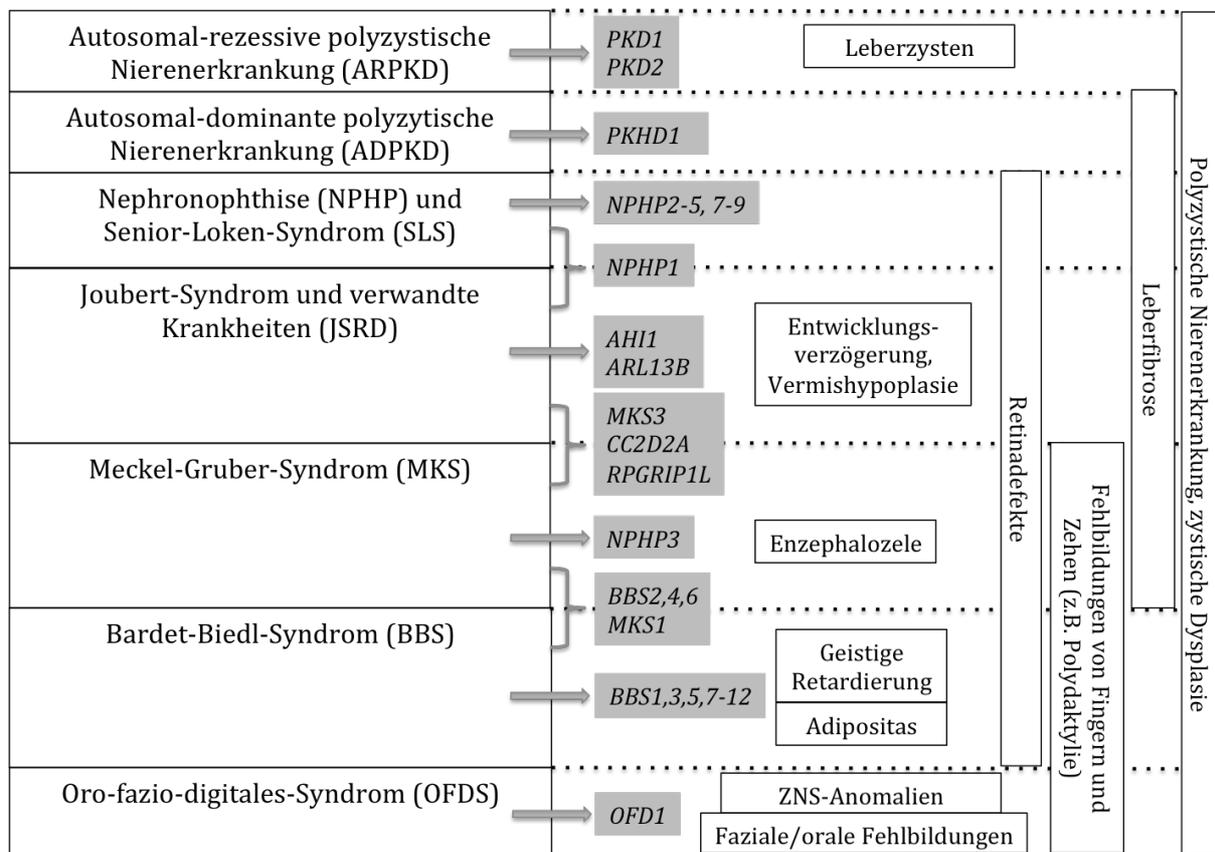


Abbildung 4: Übersicht über Ziliopathien mit renalem Phänotyp: links ursächliche Gene, mittig Krankheiten, rechts mögliche phänotypische Ausprägung [Abbildung modifiziert nach (Harris und Czarnecki 2009)]

### 1.3.3 Glomerulopathien

Glomerulopathien sind Erkrankungen der Nierenkörperchen (Glomeruli) (Amann et al. 2017). Das nephrotische Syndrom (NS), welches hierzu zählt, entsteht durch eine erhöhte Durchlässigkeit der glomerulären Filtrationsbarriere. Die pathologische Permeabilität führt zu einem gesteigerten renalen Proteinverlust. Im Labor lassen sich eine große Proteinurie ( $>40$  mg/m<sup>2</sup>/h) und Hypalbuminämie ( $<2,5$  g/dl) feststellen. In Folge der erhöhten Ausscheidung ist die Albuminkonzentration im Serum vermindert und der onkotische Druck sinkt. Dadurch wird intravasale Flüssigkeit in das Interstitium verlagert und die Entstehung von Ödemen begünstigt. Diese treten vor allem an den Lidern, prätibial oder skrotal auf und führen zu einer merklichen Gewichtszunahme. Auch die Ausbildung von Anasarka, Aszites und Pleuraergüssen ist möglich. Weitere Folgen des erhöhten Eiweißverlusts sind Inappetenz, Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe.

Ätiologisch muss zwischen einer primären und einer sekundären Schädigung des glomerulären Filters unterschieden werden. Im Kindesalter findet sich am häufigsten die primäre Form, das idiopathische nephrotische Syndrom. Bei Patienten mit angeborenem nephrotischen Syndrom liegt meist eine genetische Ursache zugrunde. Verschiedene Grunderkrankungen können ein sekundäres nephrotisches Syndrom verursachen. Es tritt im Rahmen von Systemerkrankungen wie Lupus erythematoses, aber auch infektionsbedingt oder tumorassoziiert auf (Von Schnakenburg und Brandis 2007, Benz und Kemper 2015). In der Pädiatrie stellt die Minimal-Change-Glomerulonephritis (MCGN) mit ca. 90% der Fälle den häufigsten histopathologischen Befund dar. Etwas seltener kann eine fokal-segmentale Glomerulosklerose (FSGS) als ursächlich identifiziert werden (Kemper et al. 2015).

Die Besonderheit bei der MCGN ist ein unauffälliger lichtmikroskopischer Befund. Im Elektronenmikroskop lässt sich allerdings eine Verschmelzung der Fußfortsätze der Podozyten erkennen. Die Behandlung erfolgt mit Prednison, wodurch bei der Mehrzahl der Patienten eine Remission erreicht werden kann. In diesen Fällen spricht man von einem steroid-sensiblen nephrotischen Syndrom. Die Pathogenese ist derzeit noch unklar, allerdings deuten klinische und immunologische Befunde auf eine gestörte T-Zell-Funktion hin (Herold 2013, Piper 2013, Kemper et al. 2015). Da dem nephrotischen Syndrom im Kindesalter in etwa 80% der Fälle eine MCGN zugrunde liegt und diese

meist infolge einer Steroidtherapie remittiert, erfolgt primär keine Nierenbiopsie. Bei einer Erstmanifestation im Alter von unter einem Jahr oder über zehn Jahren tritt jedoch häufiger eine FSGS auf, weshalb eine Biopsie in diesen Fällen indiziert sein kann (Benz und Kemper 2015).

Die FSGS tritt bei insgesamt 20% der Patienten mit nephrotischem Syndrom auf. Im Lichtmikroskop imponiert bei einigen der Glomeruli eine segmentale Schlingenverdichtung durch Ansammlung von hyalinem Material. Die Kapillaren werden eingeeengt, es kommt zu Adhäsionen zwischen den Schlingen und der Bowman-Kapsel und die Fußfortsätze der Podozyten verschmelzen. Ähnlich der MCGN kommt es bei 60% der Patienten durch eine Steroidtherapie zu einer kompletten oder Teil-Remission (Schärer 2002, Herold 2013, Piper 2013). Bei einem steroidresistenten nephrotischen Syndrom findet sich histopathologisch häufig eine FSGS. Ätiologisch kann bei zwei Drittel der Betroffenen ein löslicher Urokinasefaktor gefunden werden, bei einem Drittel zeigen sich genetische Defekte der Strukturproteine der Filtrationsbarriere. Die Therapie erfolgt zunächst mit Prednison 60mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche/Tag für sechs Wochen, anschließend wird das Cortison auf 40mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche an jedem zweiten Tag reduziert. Bei Rezidiven werden Cyclophosphamid, Levamisol, Mycophenolatmofetil, Rituximab oder Kalzineurinhibitoren angewandt.

Die idiopathische FSGS spricht meist auf eine Behandlung mit der Kombination aus Ciclosporin A und Prednison an, zusätzlich werden ACE-Hemmer verabreicht. Die hereditäre FSGS ist durch Immunsuppressiva zwar nicht behandelbar, allerdings tritt bei Transplantation kein Rezidiv auf (Steffl und Huber 2011, Benz und Kemper 2015, Haffner und Petersen 2019).

Das Galloway-Mowat-Syndrom ist ein Vertreter der syndromalen nephrotischen Syndrome. Die Betroffenen leiden an einer Mikrozephalie, Epilepsie und einem frühzeitig auftretenden steroidresistenten nephrotischen Syndrom, das meist in eine chronische Niereninsuffizienz resultiert. Weitere klinische Ausprägungen sind Hiatushernien, Arachnodaktylie und fazialen Dysmorphien (Benz und Kemper 2015, Vodopituz et al. 2015).

### **1.3.3.1 Glomerulopathien und Skelettauffälligkeiten**

Die genetische Form der FSGS kann mit extrarenalen Auffälligkeiten einhergehen. Ist dies der Fall, spricht man von einer syndromalen FSGS. Ein Vertreter der syndromalen FSGS ist z.B. das Schimke-Syndrom (auch Schimke-immunoosäre Dysplasie, SIOD), welches sich unter anderem durch Skelettanomalien kennzeichnet (Haffner und Petersen 2019).

Der skelettale Phänotyp manifestiert sich bei der SIOD mit einer spondyloepiphysären Dysplasie mit dysproportioniertem Kleinwuchs und Hyperlordose. Ein weiteres Leitsymptom ist eine Störung des Immunsystems, hier kommt es zu einer Störung der T-Zellen und rezidivierenden Lymphopenien. Der renale Phänotyp präsentiert sich wie bereits erwähnt als FSGS, die ein steroidresistentes nephrotisches Syndrom bedingt.

Die Patienten fallen durch eine dreieckige Gesichtsform, eine eingesunkene Nasenwurzel sowie Lentigines auf und besitzen ein watschelndes Gangbild. Ebenso werden eine latente Hypothyreose und ein neurologischer Phänotyp beobachtet. Dieser manifestiert sich in Form von Doppelbildern, Aphasie, Hemiparästhesien und -paresen sowie motorischen Störungen.

Die Erkrankung ist sehr selten, bisher gibt es 50 publizierte Fälle. Sie wird autosomal-rezessiv vererbt und verläuft entweder schwer (infantile Verlaufsform) oder mild (juvenile Verlaufsform). Vor allem im Rahmen der schweren Form kommt es bei den betroffenen Kindern bereits früh zu einer Niereninsuffizienz. Als ursächlich konnten bei einigen Patienten Varianten im *SMARCAL*-Gen identifiziert werden (Lücke et al. 2006).

### **1.3.3.2 Genetische Ursachen**

Wie bereits erwähnt, liegt dem nephrotischen Syndrom eine Störung der glomerulären Filtrationsbarriere zugrunde. Diese Filtrationsbarriere enthält drei Schichten; das Kapillarendothel, die glomeruläre Basalmembran und die Podozytenfortsätze. Im Falle des nephrotischen Syndroms ist die Schädigung meist im Bereich der Podozyten lokalisiert (Steffl und Huber 2011). Eine wichtige Rolle in der Pathogenese von genetisch bedingten Glomerulopathien spielen daher bestimmte Podozytenproteine. Verschiedene ursächliche monogene Varianten konnten bisher identifiziert werden. Diese können sowohl je nach Erbgang, als auch nach der klinischen Ausprägung

unterteilt werden (s. Tabelle 3). Einige Varianten führen zu einem isolierten nephrotischen Syndrom, während sich bei anderen stets zusätzliche extrarenale Manifestationen oder syndromale Erkrankungen finden. Bestimmte Varianten können sowohl ein isoliertes nephrotisches Syndrom als auch eine syndromale Erkrankung verursachen (Harita 2018). *LAMB2*, *NPHS1*, *NPHS2* und *WT1* sind in 85% der Fälle für das Auftreten von SRNS in den ersten drei Lebensmonaten bzw. in 66% der Patienten mit Erstmanifestation im ersten Lebensjahr verantwortlich (Heeringa und Hildebrandt 2009). Zur Veranschaulichung wurden diese in anschließender Tabelle gelistet, gemeinsam mit *SMARCAL*, das ursächlich für die SIOD sein kann (s. 1.3.3.1 Glomerulopathien und Skelettauffälligkeiten) und *MYO1E*, in welchem sich pathogene Varianten in der Studienkohorte fanden.

| Gen             | Isoliertes/syndromales NS | Extrarenaler Phänotyp                                  | Vererbung |
|-----------------|---------------------------|--|-----------|
| <i>LAMB2</i>    | isoliert/syndromal        | Pierson-Syndrom  | AR        |
| <i>MYO1E</i>    | isoliert                  | -  | AR        |
| <i>NPHS1</i>    | isoliert                  | -  | AR        |
| <i>NPHS2</i>    | isoliert                  | -  | AR        |
| <i>SMARCAL1</i> | syndromal                 | Spondyloepiphysäre Dysplasie                           | AR        |
| <i>WT1</i>      | isoliert/syndromal        | Wilms-Tumor,<br>Hermaphroditismus,<br>Genitalanomalien | AD        |

**Tabelle 3: Auswahl an für eine FSGS ursächliche Gene [Tabelle modifiziert nach (Harita 2018)]**

## 1.4 Zielsetzung

Hereditäre Nephropathien, zu denen unter anderem CAKUT, Glomerulopathien und Ziliopathien zählen, umfassen ein breites Spektrum klinischer Phänotypen, die zudem eine große genetische Heterogenität zeigen. Auffallend ist, dass bei allen hereditären Nephropathien ein Teil der Patienten extrarenale Manifestationen wie z.B. eine Skelettbeteiligung aufweist. Die Ursache hierfür ist bisher nur unzureichend geklärt. Die vorliegende Arbeit soll daher folgende Aspekte bearbeiten:

- 1) Zusammensetzung einer Münchner Kohorte von Patienten mit Verdacht auf eine hereditäre Nierenerkrankung (CAKUT, Ziliopathien, Glomerulopathien)
- 2) Symptomatik dieser Patienten (jeweils isolierte und syndromale Formen)
- 3) Untersuchung einer Untergruppe an Patienten mit einer hereditären Nierenerkrankung und Fehlbildung des Skeletts

Die Studie soll dazu dienen, einen genaueren Einblick in die genetische Heterogenität von Patienten mit hereditären Nierenerkrankungen und Skelettfehlbildungen zu erhalten und das Krankheitsverständnis zu vertiefen. Klinische und grundlagenorientierte Forschung sollen miteinander verknüpft werden.

## 2. PATIENTEN, METHODEN UND MATERIALIEN

Das Forschungsvorhaben zur Identifizierung von krankheitsverursachenden Genen und Modifiern bei hereditären Erkrankungen der Nieren und ableitenden Harnwege wurde im Institut für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar in München durchgeführt. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Technischen Universität München genehmigt.

### 2.1 Patientenkohorte

Die teilnehmenden Patienten wurden über das Forschungsziel aufgeklärt und willigten in die Erhebung und Speicherung der Daten gemäß dem Datenschutzgesetz für mindestens 10 Jahre ein. Die unterschriebenen Einverständniserklärungen jedes Patienten liegen vor.

Eine Patientenkohorte von 240 Individuen mit dem Verdacht auf eine hereditäre Nierenerkrankung wurde in die Studie eingeschlossen und molekulargenetisch untersucht. Diese sollten zum Einschluss in die Studie mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllen:

- 1) Patienten mit einem syndromalen Phänotyp
- 2) Patienten mit einer bilateralen Affektion
- 3) Patienten mit einer positiven Familienanamnese
- 4) Patienten aus einer konsanguinen Verbindung

#### *2.1.1 Erfassung der Patienteninformation*

Mithilfe eines standardisierten Fragebogens (s. Abbildung 5 und Abbildung 6) wurde der genaue Krankheitsverlauf erhoben. Erfragt wurden Zeitpunkt der Erstdiagnose, früher stattgefundenen Diagnostik, wie eine Nierenbiopsie, und aktuelle Laborwerte. Bereits erfolgte therapeutische Maßnahmen, wie Dialyse oder Transplantation wurden dokumentiert und die Familienanamnese, sowie renale und extrarenale Phänotypen erfasst. Mithilfe dieser Informationen konnte nach der molekulargenetischen Untersuchung eine potentielle Korrelation zu eventuell gefundenen Varianten untersucht werden.

**Institut für Humangenetik  
des Klinikums rechts der Isar  
der Technischen Universität München**

Direktor: Prof. Dr. Th. Meitinger  
Studienleiterin: PD Dr. J. Höfele  
Trogerstr. 32, 81675 München  
Tel. 089/4140-6381; Fax -6382



Klinikum rechts der Isar



Technische Universität München

Labor-Nummer: \_\_\_\_\_

**Fragebogen zur Studie „Identifizierung von krankheitsverursachenden Genen und Modifiern bei hereditären Erkrankungen der Nieren und ableitenden Harnwege“**

| Patientendaten<br>(ggf. Aufkleber) |         |
|------------------------------------|---------|
| Name                               | Vorname |
| Geburtsdatum                       | Tel.:   |
| Straße                             |         |
| PLZ                                | Wohnort |

Sind die Eltern blutsverwandt?

ja       nein

Verwandte mit Nierenerkrankungen?

Mutter       Schwester

Vater       Bruder

Sonstige: \_\_\_\_\_

**Diagnose** (bitte Befunde entsprechend beifügen)

Datum der Erstdiagnose \_\_\_\_\_ (Tag)/ \_\_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_\_ (Jahr)

Diagnose \_\_\_\_\_

Molekulargenetische und zytogenetische Befunde \_\_\_\_\_

**Extrarenale und extraurogenitale Manifestationen** (bitte Befunde entsprechend beifügen)

- |  |   |  |
|--|---|--|
| <input type="checkbox"/> Mikrozephalie             | <input type="checkbox"/> Gehörlosigkeit/Schwerhörigkeit | <input type="checkbox"/> Polydaktylie          |
| <input type="checkbox"/> Vermisaplasie/-hypoplasie | <input type="checkbox"/> Augenfehlbildungen             | <input type="checkbox"/> Skelettfehlbildungen  |
| <input type="checkbox"/> Geistige Retardierung     | <input type="checkbox"/> Herzfehlbildungen              | <input type="checkbox"/> Wachstumsretardierung |
| <input type="checkbox"/> Sonstige: _____           |   |  |

**Laborbefunde bei Diagnosestellung**

**Blut:**

- Serum-Kreatinin \_\_\_\_\_ mg/dl
- Serum-Harnstoff \_\_\_\_\_ mg/dl
- GFR \_\_\_\_\_ ml/min/1,73m<sup>2</sup>
- Immunserologische Auffälligkeiten

→ wenn ja, welche: \_\_\_\_\_

Sonstige: \_\_\_\_\_

**Urin:**

- Kreatinin-Clearance \_\_\_\_\_ ml/min
- Mikrohämaturie    +    ++    +++
- Makrohämaturie
- Proteinurie (Alter) \_\_\_\_\_ g/g Kreatinin

Abbildung 5: Fragebogen Seite 1

Name \_\_\_\_\_ Vorname \_\_\_\_\_ geb. am \_\_\_\_ (Tag)/ \_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)

**Ultraschall**

Unauffällig  Auffällig: \_\_\_\_\_

**Nierenbiopsie** (bitte Befunde entsprechend beifügen)

Wurde eine Nierenbiopsie durchgeführt?  ja  nein  
Erste Biopsie \_\_\_\_\_ (Tag)/ \_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)  
Zweite Biopsie \_\_\_\_\_ (Tag)/ \_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)  
 Minimal-change Nephropathie  Dünne Basalmembran-Nephropathie (TBMN)  
 Fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS)  Alport-Syndrom  
 Diffuse mesangiale Sklerose  Nephronophthise  
 Mesangioproliferative Glomerulonephritis  C3-Glomerulopathie  
 Ohne Befund  Sonstiger Befund: \_\_\_\_\_

**Dialyse und Nierentransplantation**

Besteht Dialysepflicht?  ja  nein  
 Hämodialyse  Peritonealdialyse  
 seit: \_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)  seit: \_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)  
Wurde eine Nierentransplantation durchgeführt?  ja  nein  
Erste Transplantation \_\_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)  
Zweite Transplantation \_\_\_\_\_ (Monat)/ \_\_\_\_ (Jahr)  
Transplantat-Versagen aufgrund von  Rezidiv  Abstoßung  
Bestand vor Dialyse oder Transplantation eine arterielle Hypertonie?  
 ja  nein

**Anmerkungen**

Wir danken Ihnen vielmals für Ihre Mühe.

Bitte füllen Sie noch folgende Zeilen aus, damit wir Sie bei Rückfragen erreichen können.

Name:

Datum:

Unterschrift:

Berufsadresse:

Abbildung 6: Fragebogen Seite 2

Die Familien wurden in der Reihenfolge der Erfassung nummeriert, jedes Individuum erhielt eine bestimmte Studien-ID. Diese setzte sich aus verschiedenen Komponenten zusammen. Vorneweg erfolgte die Zuordnung zur Studienkategorie (HN für hereditäre Nierenerkrankungen), danach die Nummerierung in der Datenbank (F1-F305 für die jeweilige Familie). Um die Individuen innerhalb einer Familie zu unterscheiden, wurden römische Zahlen für die Generation (I für die erste, beispielsweise Eltern; II für die zweite, beispielsweise Kinder) verwendet. Zur Unterscheidung innerhalb der Generationen erhielt anschließend jeder Proband eine Zahl (1 beispielsweise für den Vater oder das erste Kind der Familie, 2 für die Mutter oder das zweite Kind der Familie). Ein Beispiel wäre *HN-F1-I-1* für den Vater, dessen Familie als erste in die Datenbank aufgenommen wurde.

## 2.2 Methoden

Experimentelle Arbeiten dieser Dissertation wurden größtenteils von Mitarbeitern des Instituts für Humangenetik des Helmholtz Zentrums München und des Instituts für Humangenetik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München durchgeführt.

Zur Gewinnung der Desoxyribonukleinsäure (DNA, deoxyribonucleic acid) wurden zunächst von jedem Patienten 2-3ml EDTA-Blut (Ethyldiamintetraacetat) abgenommen. Aus den Lymphozyten des Blutes wurde die DNA isoliert und mithilfe eines Photometers ihre Konzentration und Reinheit bestimmt. Nach der Durchführung einer Polymerasekettenreaktion (PCR) zur Amplifikation der gewonnenen DNA wurde diese mittels Agarose-Gel-Elektrophorese kontrolliert. Die Sequenzierung der DNA erfolgte mittels der Sanger-Sequenzierung oder der Exomsequenzierung (whole-exome sequencing, WES).

### *2.2.1 DNA-Isolierung*

#### **2.2.1.1 Manuelle DNA-Isolierung**

Zur manuellen DNA-Isolierung wird das *Genra Puregene DNA Purification Kit* von *Qiagen* verwendet. Zu Beginn werden die kernlosen Erythrozyten lysiert. Hierzu werden 450µl des Patientenblutes in ein Präparationsgefäß mit 1350µl *Red Blood Cell Lysis*

*Solution (RBC Lysis Solution)* gegeben und vermischt. Es folgen eine fünfminütige Inkubation und eine Zentrifugation von 30 Sekunden bei 16000 x g, wodurch die kernhaltigen Zellen als weißes Präzipitat sichtbar werden. Der Überstand wird abgegossen und der zurückbleibende Inhalt mithilfe eines Vortexers vermischt.

Im Anschluss werden die kernhaltigen Zellen lysiert. In das Gefäß mit den kernhaltigen Zellen werden 450µl *Cell Lysis Solution* und 2µl *Proteinase K* hinzugefügt und gemischt. Dadurch kommt es zur Lyse der kernhaltigen Zellen, einem Proteinabbau und der Freisetzung von Nukleinsäuren. Das Gemisch wird bei 55°C inkubiert und danach abzentrifugiert, bevor eine weitere Inkubation auf dem Kühlblock erfolgt. Dieses Vorgehen führt zu einer vollständigen Lyse der Zellen.

Der Ablauf der nächsten Schritte dient der Fällung der DNA, die Zentrifugation erfolgt jeweils bei 16000 x g für eine Minute.

Zur Probe werden 150µl *Protein Precipitation Solution* hinzugefügt und für 20 Sekunden mittels Vortexer vermischt. Das Gemisch wird zentrifugiert bis ein braunes Präzipitat sichtbar wird. Der Überstand, der die DNA enthält, wird in ein neues Gefäß gegeben und 450µl 100%igem *Isopropanol* sowie 0,5µl *Glycogen Solution* werden hinzugefügt. Es erfolgt die Vermischung mittels Rotator für 5 Minuten bei 15 Umdrehungen/min. Die so ausgefällte DNA imponiert als weißer Faden. Durch die erneute Zentrifugation des Sediments entsteht ein DNA-Pellet. Nach dem Hinzufügen von 450µl 70%igem *Ethanol* wird die Probe erneut zentrifugiert und der Überstand entfernt. Zur Lösung des DNA-Pellets werden 50µl *DNA Hydration Solution* hinzugegeben. Um eine vollständige Lyse der DNA zu erreichen, erfolgt eine 60-minütige Inkubation bei 65° im Hybridisierungssofen.

#### **2.2.1.2 Automatisierte DNA-Isolierung**

Eine weitere Möglichkeit, um DNA zu gewinnen, stellt die automatisierte DNA-Isolierung dar. Diese wird mithilfe des *Hamilton Chemagic STAR* durchgeführt.

Wie bei der bereits beschriebenen manuellen DNA-Isolierung müssen zuerst die Zellen lysiert werden. Zur Probe werden *beads*, kleine, magnetische Kügelchen, hinzugegeben, welche die DNA effizient binden. Eine mit Plastik umhüllte Stahlnadel wird durch einen Elektromagnet magnetisiert und in die Probe getaucht. Die *beads* und die daran

gebundene DNA werden durch die Nadel angezogen. Es folgt eine Aufreinigung der DNA mittels spezieller Puffer, wobei die gewaschene DNA nach Abschluss an der Nadel fixiert bleibt. Anschließend erfolgt im Elutionspuffer das Lösen der DNA. Die leeren *beads* werden mit Hilfe der magnetischen Nadel entfernt. Die gelöste DNA wird im Auffanggefäß gesammelt.

### **2.2.1.3 Prüfung der Reinheit der DNA**

Die isolierte DNA wird mithilfe des *NanoDrop 1000 Spektralphotometers* auf ihre Qualität und Quantität untersucht. Die aromatischen Ringe der Basen absorbieren Licht, die Extinktion wird bei einer Wellenlänge von 260nm (=OD260) und 280nm (=OD280) bestimmt. Mithilfe dieser Werte wird der Extinktionskoeffizient (OD260/OD280) errechnet, er sollte zwischen 1,8 und 2,0 betragen. Liegt er über diesem Bereich, ist eine Verunreinigung mit RNA wahrscheinlich, liegt er darunter, sind Proteine in der Probe vorhanden.

Die DNA-Konzentration einer Probe kann mittels Dreisatz errechnet werden. Ein gemessener OD260-Wert von 1 entspricht einer DNA-Konzentration von etwa 50µg/ml. Daraus folgt:

$$\text{DNA } [\mu\text{g/ml}] = \text{gemessene OD260 } [\mu\text{g/ml}] \times 50 \times \text{Verdünnungsfaktor}$$

### **2.2.2 PCR**

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) wird für die Amplifikation der DNA verwendet. Mithilfe von Enzymen wird in vitro ein bestimmtes Fragment der DNA vervielfältigt. Als Ausgangsmaterial (*Template*) genügen geringe DNA-Mengen.

Die Durchführung der PCR erfordert neben der DNA Primer, eine hitzestabile DNA-Polymerase und Nukleotide. Die Basensequenzen, zwischen denen das gewollte DNA-Fragment liegt, sind bekannt. Passend dazu können komplementäre Oligonukleotide synthetisiert werden, die sogenannten Primer. Sie markieren den Startpunkt der Replikation für die DNA-Polymerase.

Zunächst werden die beiden DNA-Stränge voneinander getrennt. In der sogenannten Denaturierungsphase wird die Probe auf 95°C erhitzt, wodurch die Wasserstoffbrücken,

welche die Stränge zusammenhalten, zerstört werden. Am Ende liegen zwei voneinander getrennte Einzelstränge vor.

Anschließend folgt das Annealing, in diesem Schritt wird die Temperatur auf 50-60°C gesenkt. Bei diesen Temperaturen können sich die Primer an die spezifischen komplementären Sequenzen der entstandenen Einzelstränge anlagern.

Der letzte Schritt, auch als Elongation bezeichnet, läuft bei Temperaturen zwischen 68°C und 72°C ab. Die freie 3'-OH-Gruppe der Primer wird von der DNA-Polymerase erkannt. Von ihr ausgehend synthetisiert sie in 5'→3' Richtung einen neuen Strang jeweils komplementär zu den Einzelsträngen. Hierzu benötigt sie die freien Nukleotide. Dadurch entstehen wieder zwei Doppelstränge. Diese stellen das *Template* für die darauffolgenden Zyklen dar. Insgesamt werden die drei Schritte der PCR 20 bis 30 mal wiederholt, sodass sich die ursprüngliche DNA exponentiell vervielfältigt.

#### **2.2.2.1 Durchführung der PCR**

Für die PCR wird ein sogenannter Mastermix verwendet, dieser setzt sich aus 30µl verschiedener Bestandteile zusammen:

- 1,2µl Primer Mix
- 17,3µl steriles Wasser
- 3,0µl 10xPCR-Puffer
- 3,0µl dNTP (2mM)
- 1,8µl MgCl<sub>2</sub> (25mM): *wird für die Taq-Polymerase zum Einbau von dNTPs benötigt*
- 1,5µl DMSO (Dimethylsulfoxid): *erhöht die Ausbeute an PCR-Produkten*
- 0,2µl Taq-Polymerase (5U/µl)
- 2,0µl DNA (10ng/µl)

Der Mastermix wird in ein Gefäß auf Eis gegeben und für 5-10 Sekunden mittels Vortex vermischt. Nach einer Vorheizphase bei 85°C durchläuft die Probe im Thermocycler folgendes Programm:

| Zyklen    | Temperatur |         | Dauer     |
|-----------|------------|---------|-----------|
|           | 95°C       |         | 4:00 Min. |
| <b>10</b> | 94°C       |         | 0:30 Min. |
|           | Touchdown  | 65-55°C | 0:30 Min. |
|           | 72°C       |         | 0:15 Min. |
| <b>30</b> | 94°C       |         | 0:30 Min. |
|           | 58°C       |         | 0:30 Min. |
|           | 72°C       |         | 0:15 Min. |
|           | 72°C       |         | 3:00 Min. |

Beim Touchdown-Programm sinkt die Temperatur bei jedem Zyklus um 1°C, wodurch die Spezifität der PCR erhöht werden kann.

### 2.2.2.2 Detektion der PCR

Zur Kontrolle der PCR wird eine Agarosegelelektrophorese durchgeführt. Hierbei werden die Nukleinsäuren nach ihrer Größe aufgetrennt.

Zur Herstellung eines 2,7%igen Agarosegels werden zunächst 2,7g Agarosepulver abgewogen. Das Pulver wird in 100ml *1xTBE-Puffer* (Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan-Borat-EDTA-Puffer) gegeben und so lange aufgewärmt, bis eine vollständige Lösung erfolgt ist. Nach dem Gießen des Gels in eine Kammer werden Kämme eingehängt. Diese werden entfernt, sobald das Gel fest ist. Dadurch entstehen kleine Taschen darin.

Bevor die DNA in diese Taschen gegeben werden kann, werden zu 1µl *Loading Dye* 3µl der vervielfältigten DNA hinzupipettiert. Davon werden wiederum 3µl auf das Gel aufgetragen. Außerdem wird das Agarosegel mit Midori Green inkubiert. Dadurch kann das Gel unter UV-Licht fotografiert und die DNA sichtbar gemacht werden.

Schließlich erfolgt die Elektrophorese bei 230V für 30 Minuten. Hierzu wird die Kammer, in welcher sich das Gel befindet, an eine Stromquelle angeschlossen und ein elektrisches Feld erzeugt. Die Phosphatgruppen der DNA tragen eine negative Ladung, folglich wandert die DNA durch das Gel zum Pluspol. Je nach Größe wandern die Moleküle mit unterschiedlicher Geschwindigkeit durch das Gel. Durch das komplexe Netzwerk aus Poren wandern kleine Moleküle schneller zur Anode.

### **2.2.2.3 Aufreinigung der PCR-Produkte**

Das Aufreinigen dient der Trennung der DNA von Rückständen der PCR wie Primern, Nukleotiden, Salzen und Polymerase. Die verwendeten Aufreinigungsplatten sind die *MultiScreen PCR-96-well* Platten von *Millipore*.

Die PCR-Produkte werden zentrifugiert, 190µl *HPLC-Wasser* (high performance liquid chromatography-Wasser) hinzugegeben und vermischt. Die Aufreinigungsplatte wird auf ein Vakuummanifold gestellt und das Gemisch übertragen, bevor sie schließlich mit einem Deckel bedeckt wird. Bei einem Vakuum von 10mmHG binden die PCR-Produkte auf die Membran. Danach wird die Aufreinigungsplatte auf ein Saugpapier gestellt. Es werden 50µl *HPLC-Wasser* hinzugegeben, wodurch sich die PCR-Produkte lösen. Nach dem Verschluss der Platte mit einer Folie wird der Inhalt für 10 Minuten bei 750rpm auf einem Vortexmischer vermischt.

Schließlich wird die gelöste DNA in eine UV-Vermessungsplatte pipettiert und mithilfe der Gelelektrophorese erneut kontrolliert. Am *SpectraMax* wird die Konzentration der PCR-Produkte bei 260nm/230nm und 260nm/280nm bestimmt. Bei Werten zwischen 1,8 und 2,0 kann von einer reinen Probe ausgegangen werden.

### **2.2.4 Sanger-Sequenzierung**

Zur Bestimmung der Reihenfolge der Nukleotide der aufbereiteten DNA wird die Didesoxymethode nach Sanger angewendet. Die Sequenzierung funktioniert hierbei nach dem Prinzip des Kettenabbruchverfahrens. Ähnlich der PCR werden zur Durchführung die DNA, Primer, eine DNA-Polymerase und Nukleotide (Desoxynukleotidtriphosphate, dNTP) benötigt. Neben den dNTPs sind noch Didesoxynukleotide (Didesoxynukleotidtriphosphate, ddNTP) enthalten, die zur Erkennung jeweils mit einem unterschiedlichen Farbstoff fluoreszenzmarkiert werden. Der Unterschied zu den dNTPs ist eine fehlende OH-Gruppe am 3'-C-Atom. Bei einem Einbau der ddNTPs während der Strangsynthese kommt es aufgrund dessen zu einem Abbruch und die DNA kann nicht weiter synthetisiert werden. Da der Einbau zufällig und je nach Strang an einer anderen Stelle erfolgt, entstehen unterschiedlich lange DNA-Stränge. Nach der Reaktion werden die Stränge mittels Elektrophorese (Kapillarelektrophorese) aufgetrennt und über eine optische Detektion der

farbmarkierten Kettenabbruchnukleotide (Laser, CCD-Kamera) wird die Abfolge der Nukleotide festgestellt. Die komplementäre Sequenz entspricht dem untersuchten DNA-Strang.

#### 2.2.4.1 Durchführung

Zur Durchführung wird das *Big Dye Terminator Version 1.1 Cycle Sequencing Kit* verwendet, die Reaktion erfolgt auf einer 96-well Mikrotiterplatte. Folgende Bestandteile werden benötigt:

- 1µl M13-Primer (Forward oder Reverse)
- 2µl 5xSequencing-Buffer
- 0,75µl Big Dye Terminator Mix Version 3,1
- aufgereinigtes PCR-Produkt (Template)
- HPLC - gereinigtes Aqua dest.

Je nach DNA-Konzentration werden unterschiedliche Mengen an HPLC-gereinigtem Wasser und Template zugegeben.

| PCR-Produkt | Template | HPLC-gereinigtes Wasser |
|-------------|----------|-------------------------|
| < 5ng       | 2µl      | 4µl                     |
| 5ng - 20ng  | 1µl      | 5µl                     |
| > 20ng      | 0,5µl    | 5,5µl                   |

Die Probe durchläuft folgendes Programm im Thermocycler:

| Temperatur | Dauer       | Anzahl der Zyklen | Vorgang       |
|------------|-------------|-------------------|---------------|
| 96°C       | 1 Minute    | 25 Zyklen         | Denaturierung |
| 96°C       | 10 Sekunden |                   | Denaturierung |
| 50°C       | 5 Sekunden  |                   | Annealing     |
| 60°C       | 2-3 Minuten |                   | Extension     |
| 15°C       | Dauerhaft   |                   | Kühlen        |

Nach dem Durchlauf der Zyklen werden die Sequenzierprodukte gefällt. Hierfür werden 2,5µl 125mM EDTA und 30µl 100% Ethanol in die Wells pipettiert. Die Probe wird für 15 Minuten im Kühlschrank inkubiert und anschließend auf einer gekühlten Zentrifuge (4°C) zentrifugiert (30 Minuten bei 1500 x g). Nach Entfernung des Scotch-Pads wird die Platte mit einem Taschentuch verschlossen, umgedreht und bei 185 x g zentrifugiert. Erneut wird Ethanol (70%, 30µl) hinzugegeben und die Probe für 15 Minuten

bei 2500 x g (4°C) zentrifugiert. Nach Verschluss mit einem neuen Taschentuch kann der restliche Überstand bei 185 x g für eine Minute abzentrifugiert werden. Schließlich wird die Platte bei 35° C im Vakuum 15 Minuten lang in der Speed-Vac Zentrifuge getrocknet.

#### **2.2.4.2 Sequenzanalyse**

Um die Sequenzanalyse durchführen zu können, erfolgt eine kapillaarelektrophoretische Auftrennung der CycleSeq-Produkte. Hierfür wird der ABI 3730xl-Sequence-Analyz器 verwendet. Mithilfe einer Analysesoftware können vorhandene Sequenzvarianten untersucht werden.

#### **2.2.5 Exomsequenzierung**

Seit der von Sanger entwickelten Didesoxymethode im Jahr 1977 konnten enorme technologische Fortschritte auf dem Gebiet der Sequenzanalyse verzeichnet werden. Mittlerweile ist es möglich, das komplette menschliche Genom oder große Untereinheiten davon zu sequenzieren. Diese Sequenziermethoden werden auch als „Next-Generation-Sequencing“ (NGS) bezeichnet (Weiskirchen 2013, Kuß 2014). Eine Form von NGS stellt die Exomsequenzierung dar. Hierbei wird das gesamte Exom, demnach möglichst alle proteinkodierenden Bereiche der DNA, angereichert und sequenziert. Ein Vorteil im Vergleich zur Genomsequenzierung sind die geringeren Kosten, da das Exom zwar lediglich einen Anteil von 1-2% des Genoms ausmacht, jedoch 85% aller ursächlichen Varianten darin zu finden sind (Lei et al. 2017, Zschocke 2018).

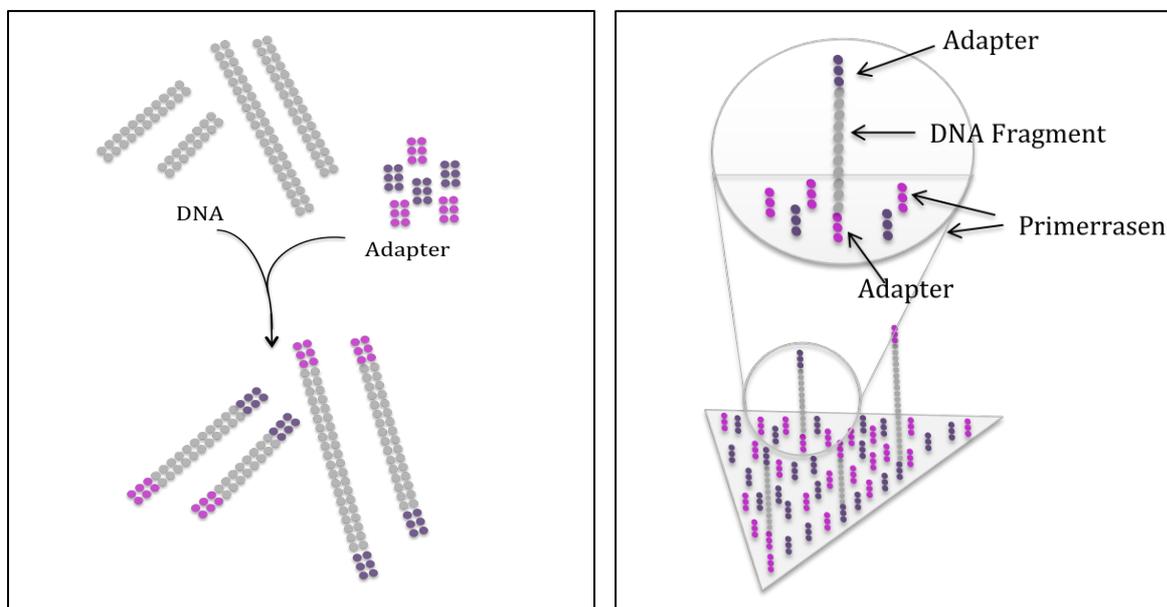
##### **2.2.5.1 Ablauf der Exomsequenzierung**

Zur Durchführung wurden das *SureSelect Human All Exon 60 Mb V6 Kit* (Anreicherung proteinkodierender Bereiche) und der *HiSeq4000* von *Illumina* verwendet. Mit diesem Hochdurchsatz-Sequenziergerät kann ein DNA-Fragment von beiden Enden aus sequenziert werden, wodurch eine höhere Abdeckung erreicht wird. Im Falle des *HiSeq4000* von *Illumina* erhält man eine durchschnittliche 144fache Abdeckung 100-150x „paired-end reads“. Das Alignment der reads erfolgt an das Human Genome Assembly GRCh37 (hg19).

Die Illumina-Sequenzierung funktioniert, ähnlich der Sanger-Sequenzierung, nach dem Prinzip des Sequencing-by-Synthesis. Die verwendeten dNTPs tragen eine fluoreszierende Markierung, welche die DNA-Polymerase bei Einbau des nächsten

Nukleotids hemmt. Die Synthese stoppt, somit kann die Nukleotidabfolge herausgefunden werden.

Die Illumina-Sequenzierung läuft in mehreren Schritten ab. Zunächst muss die isolierte DNA für die Sequenzierung vorbereitet werden. Hierfür wird sie mechanisch (Ultraschall) in etwa 300bp lange Fragmente gespalten, dieser Schritt wird auch als Fragmentation bezeichnet. Anschließend werden an beiden Enden der DNA-Fragmente Adapter angehängt, deren Sequenzen zu den später verwendeten Primern komplementär sind (s. Abbildung 7).



**Abbildung 7: DNA-Fragmentation, Ligierung von Adaptern und Bindung an Flowcell [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)]**

Es folgt die sogenannte Brücken-PCR, hierbei werden die Fragmente über die Adapter auf einer *Flowcell*, eine Platte mit Nanowells, angeheftet (s. Abbildung 7). In diesen Nanowells befinden sich gebundene Primer, an welche sich die komplementären Adapter anlagern. Dadurch entsteht eine „Beugung“ der DNA, weshalb dieser Vorgang als Brücken-PCR bezeichnet wird. Eine DNA-Polymerase synthetisiert, wie bei der normalen PCR, vom Primer ausgehend einen komplementären Strang. Dieser wird anschließend durch Denaturierung wieder abgespalten, wodurch zwei Einzelstränge zustande kommen. Sie werden als Forward-Strang und Reverse-Strang bezeichnet (s. Abbildung 8).

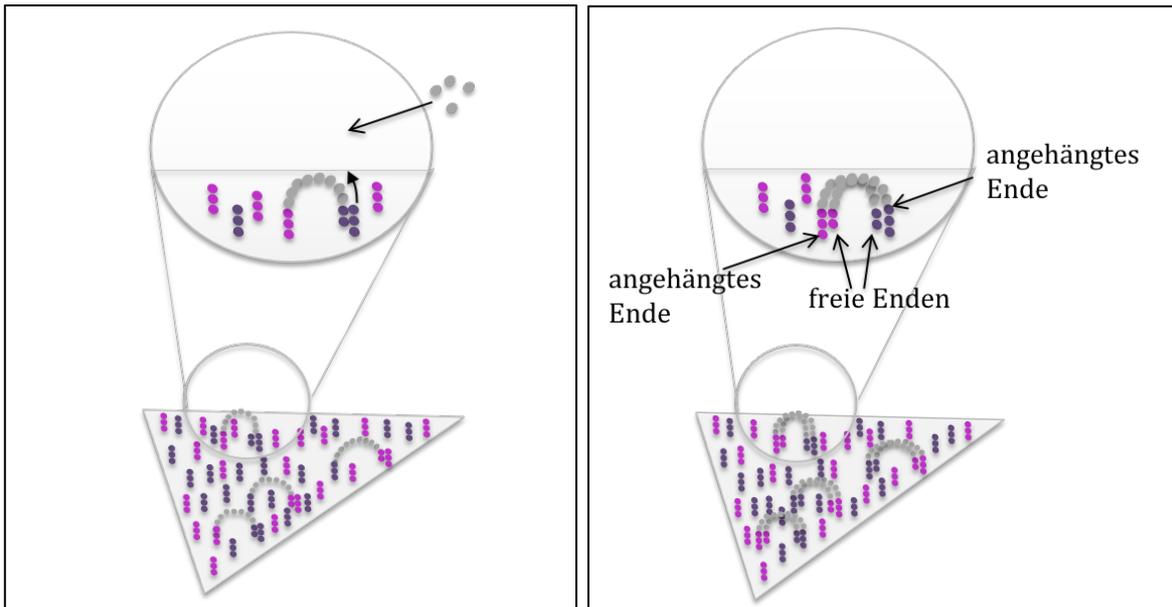


Abbildung 8: Brücken-PCR und Synthese des komplementären Stranges [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)]

Durch Wiederholung dieses Vorgangs entstehen auf der Flowcell sogenannte Cluster, die aus DNA-Strängen mit identischer Sequenz bestehen (s. Abbildung 9).

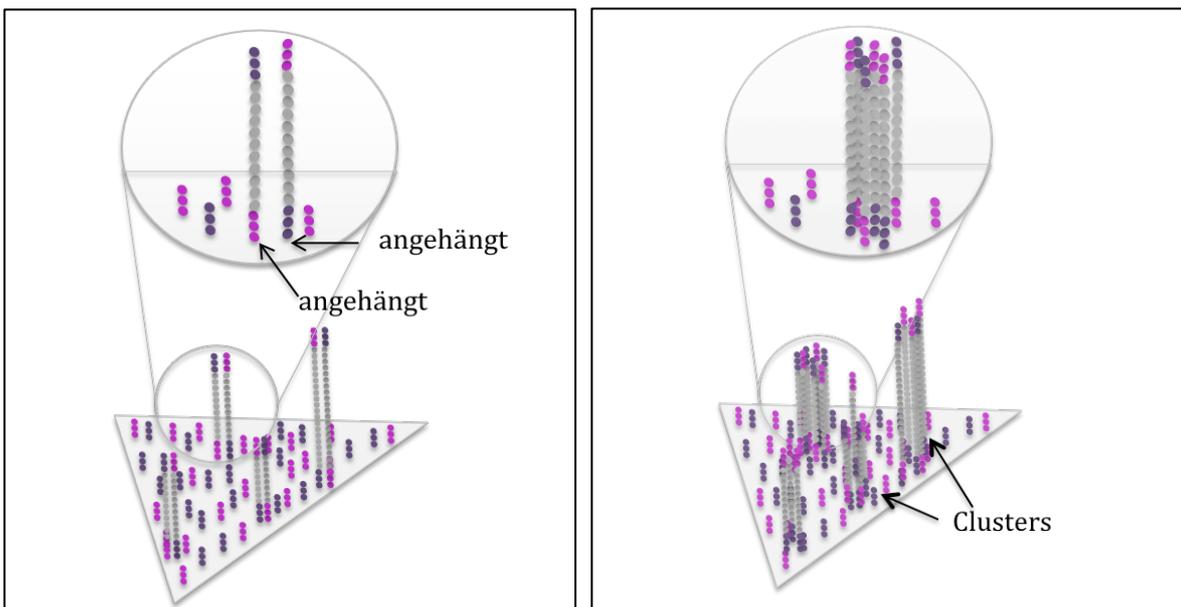


Abbildung 9: Denaturierung der Doppelstränge und Clusterentstehung [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)]

Um die Sequenzierung durchführen zu können, werden Primer, DNA-Polymerase und markierte dNTPs hinzugefügt. Wird eines der dNTPs eingebaut, bricht die Synthese ab. Ein Laser detektiert die fluoreszierenden Markierungen. Mittels einer Kamera wird das Bild gespeichert und die Cluster von einem Programm registriert (s. Abbildung 10). Danach wird die Fluoreszenzmarkierung von dem Nukleotid enzymatisch abgespalten,

damit das nächste dNTP eingebaut werden kann. Dieser Prozess wird so oft wiederholt, bis die DNA-Fragmente fertig synthetisiert sind.

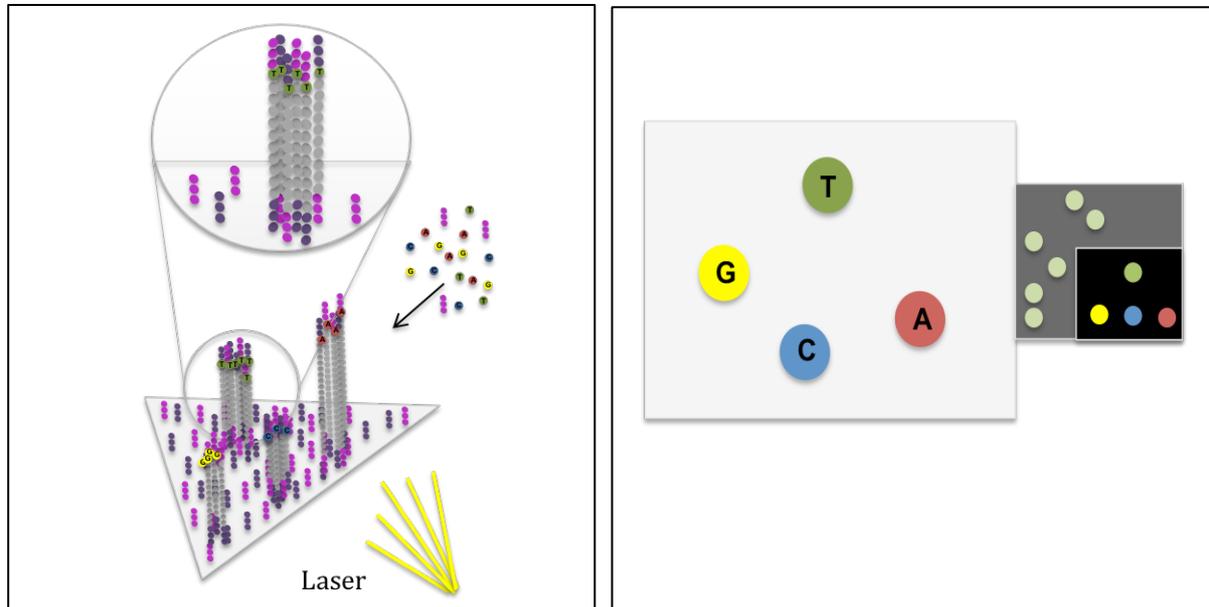


Abbildung 10: Hinzufügen von Primer, Polymerase und dNTPs, Detektion mittels Laser und Bildspeicherung [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)]

Zur Analyse der Sequenzvarianten wurde SAMtools v. 0.1.7 verwendet. Zur Auswertung wurden ein autosomal-rezessiver sowie ein autosomal-dominanter Erbgang zugrunde gelegt. Seltene relevante Varianten wurden mithilfe der in-house Datenbank (16000 Exome) und im Internet verfügbaren Datenbanken wie dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>), Genome Aggregation Database (Exome/Genome von über 135000 Individuen, gnomAD, <http://gnomad.broadinstitute.org>) und Vorhersageprogrammen wie SIFT (<http://sift.jcvi.org>), CADD (<http://cadd.gs.washington.edu>) und PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) bewertet.

### 3. ERGEBNISSE

Insgesamt konnten Daten von 645 Individuen aus 240 Familien erhoben werden. Bei allen Probanden lag in der Familie eine Erkrankung mit Nierenbeteiligung vor, neben CAKUT, Ziliopathien und Glomerulopathien enthielt die Datenbank auch Patienten mit Alport-Syndrom oder weiteren Nierenerkrankungen. Unter den 645 Individuen waren 240 betroffene Patienten, 113 erkrankte Verwandte, 283 gesunde Verwandte und bei neun war der renale Phänotyp unklar. Alle Probanden wurden molekulargenetisch untersucht, bei 127 der 240 betroffenen Personen konnte ein auffälliger molekulargenetischer Befund erhoben werden.

Die untersuchte Subgruppe der Kohorte enthielt 69 Individuen, diese litten klinisch entweder an CAKUT, einer Ziliopathie oder einer Glomerulopathie. Bei 27 davon wurde ein CAKUT-Phänotyp festgestellt, bei 24 eine Ziliopathie und bei 18 eine Glomerulopathie.

Es erfolgte die klinische Aufarbeitung der Patienten mit Fokus auf skelettalen Fehlbildungen. Die Patienten bzw. Familien werden im Folgenden anhand ihrer Grunderkrankung eingeteilt.

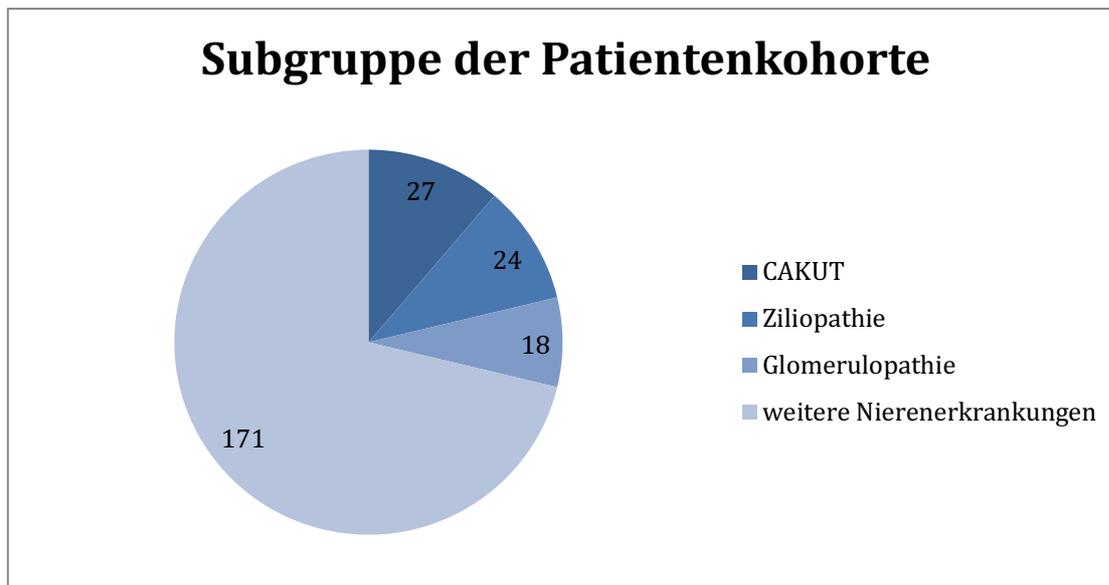


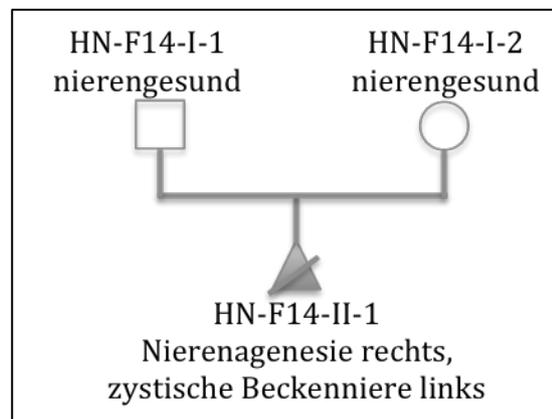
Abbildung 11: Anteil der untersuchten Subgruppe an der Gesamtkohorte

### 3.1 Familien mit CAKUT

Im Folgenden soll auf jene Familien, in denen CAKUT vorliegt, eingegangen werden. Um den Zusammenhang der Familienmitglieder bzw. einen möglichen Erbgang einer Erkrankung anschaulich darzustellen, wurden Stammbäume erstellt (s. S. 105 Stammbaumlegende). Bei Familien, in welchen nur der/die Indexpatient/in betroffen war, wurden lediglich die engsten Familienmitglieder sowie molekulargenetisch untersuchte im Stammbaum berücksichtigt.

#### 3.1.1 F14

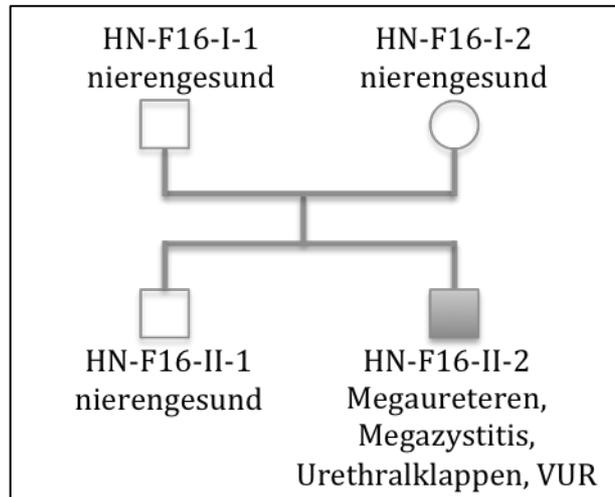
Familie F14 umfasst zwei aus Kolumbien stammende, gesunde Eltern (HN-F14-I-1 für den Vater, HN-F14-I-2 für die Mutter) sowie einen weiblichen Fetus (HN-F14-II-1). Bei der pränatalen sonografischen Kontrolluntersuchung konnten beim Fetus eine Nierenagenesie rechts sowie eine zystische Beckeniere links festgestellt werden, weshalb die Schwangerschaft vorzeitig beendet wurde. Extraurogenitale Manifestationen konnten nicht erhoben werden, ebenso war die Familienanamnese in Bezug auf Nieren- oder Harnwegserkrankungen negativ. Eine Konsanguinität lag nicht vor.



#### 3.1.2 F16

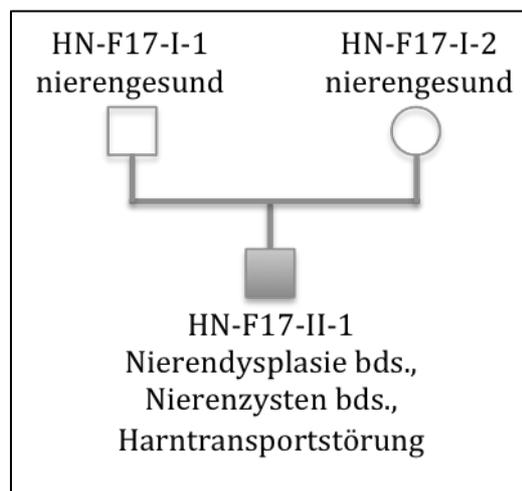
Familie F16 besteht ebenso aus zwei gesunden Eltern (HN-F16-I-1 und HN-F16-I-2) aus Vietnam sowie einem betroffenen Sohn (HN-F16-II-1). Die Erkrankung manifestierte sich beim Sohn in Form von einer Hydronephrose mit vesikoureteralem Reflux (VUR), Megaureteren und einer Megazystitis aufgrund von Urethralklappen. Weitere Auffälligkeiten fanden sich im kardiovaskulären System. Der Patient litt an einer

hypertrophen Kardiomyopathie und konsekutiv einer funktionellen Aortenstenose. Skelettale Auffälligkeiten konnten nicht beobachtet werden. Die Eltern waren nicht konsanguin, in der Familie waren keine weiteren Betroffenen bekannt.



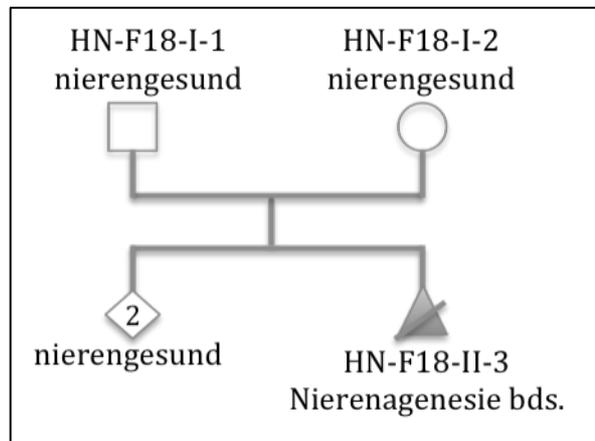
### 3.1.3 F17

Ähnlich der bereits beschriebenen Familien gehören zu F17 zwei gesunde Eltern (HN-F17-I-1 und HN-F17-I-2) sowie deren betroffener Sohn (HN-F17-II-1). Neben einem auffälligen renalen Phänotyp, der sich in Form einer beidseitigen Nierendysplasie mit Nierenzysten und Harntransportstörungen äußerte, wurden angeborene kardiale Fehlbildungen festgestellt. Extrarenal präsentierten sich bei dem Indexpatienten ein persistierendes Foramen ovale und eine milde Trikuspidalklappeninsuffizienz. Auch bestand zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Datenbank der Verdacht auf eine Lymphangiomatose. Skelettale Auffälligkeiten konnten nicht beobachtet werden. Anamnestisch waren keine Nierenerkrankungen in der Familie bekannt, eine Konsanguinität bestand ebenfalls nicht.



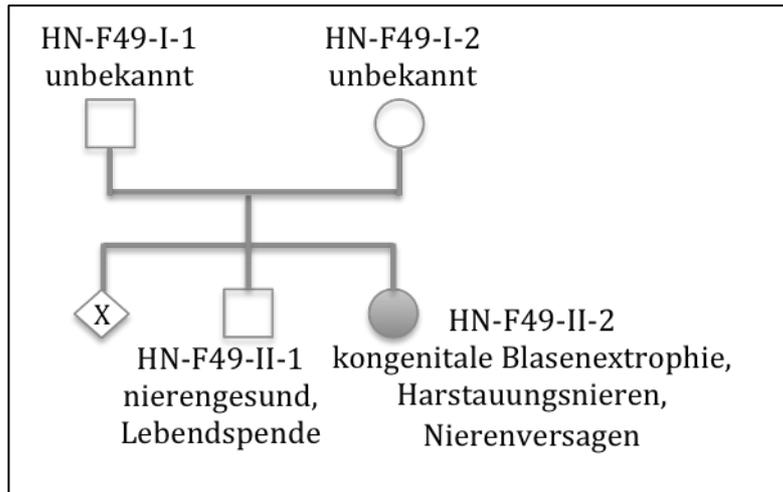
### 3.1.4 F18

In dieser Familie wurde beim dritten, ungeborenen Kind (HN-F18-II-3) der Eltern (HN-F18-I-1 und HN-F18-I-2) intrauterin in der 24. Schwangerschaftswoche eine beidseitige Nierenagenesie festgestellt, woraufhin die Schwangerschaft vorzeitig beendet wurde. In der Familie waren keine weiteren Betroffenen bekannt, Eltern und Geschwister des Indexpatienten waren gesund. Am äußeren Erscheinungsbild konnten dysmorphologische Auffälligkeiten festgestellt werden, wie z.B. Fingerknöchelpolster an den proximalen Interphalangealgelenken beider Hände, kurz und spitz zulaufende Finger und eine Klumpfußhaltung. Im Gesicht waren beidseits hypoplastische Nasenflügel, ein flaches Philtrum und eine Mikrognathie auffällig.



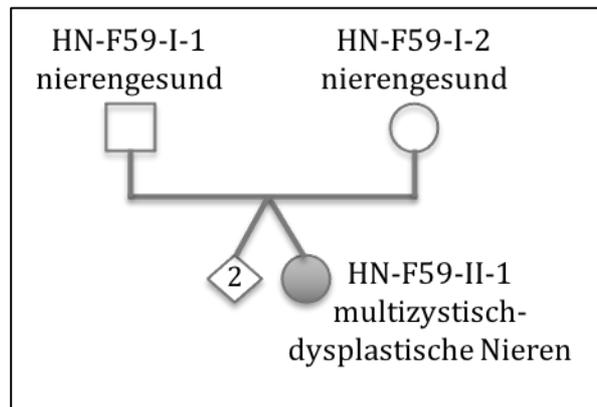
### 3.1.5 F49

Diese Familie stammt aus Saudi Arabien, hier wurde eine erkrankte Tochter (HN-F49-II-2) untersucht. Diese litt an einer kongenitalen Blasenextrophie, chronischen Harnstauungsnieren und einem daraus folgenden postrenalen Nierenversagen. Weitere Betroffene oder eine Konsanguinität waren unbekannt. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung hatte die Patientin bereits eine Lebendnierenspende von einem Bruder erhalten.



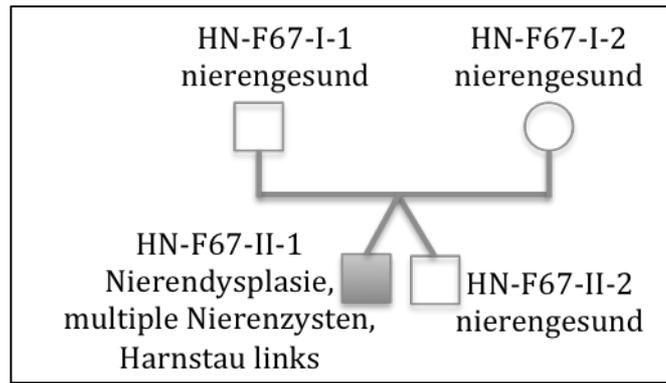
### 3.1.6 F59

In dieser Familie lag bei der Mutter (HN-F59-I-2) eine Drillingsschwangerschaft nach intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (ICSI) bei Samenzellspende vor. Postnatal wurden bei der Indexpatientin (HN-F59-II-1) beidseitig multizystisch-dysplastische Nieren sowie eine Fallot-Tetralogie festgestellt. Weitere extrarenale Auffälligkeiten waren eine Ösophagusatresie und eine Duodenalstenose, jedoch keine Skelettanomalien. Die Geschwister waren nierengesund und auch die weitere Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig. Eine Konsanguinität konnte nicht ermittelt werden.



### 3.1.7 F67

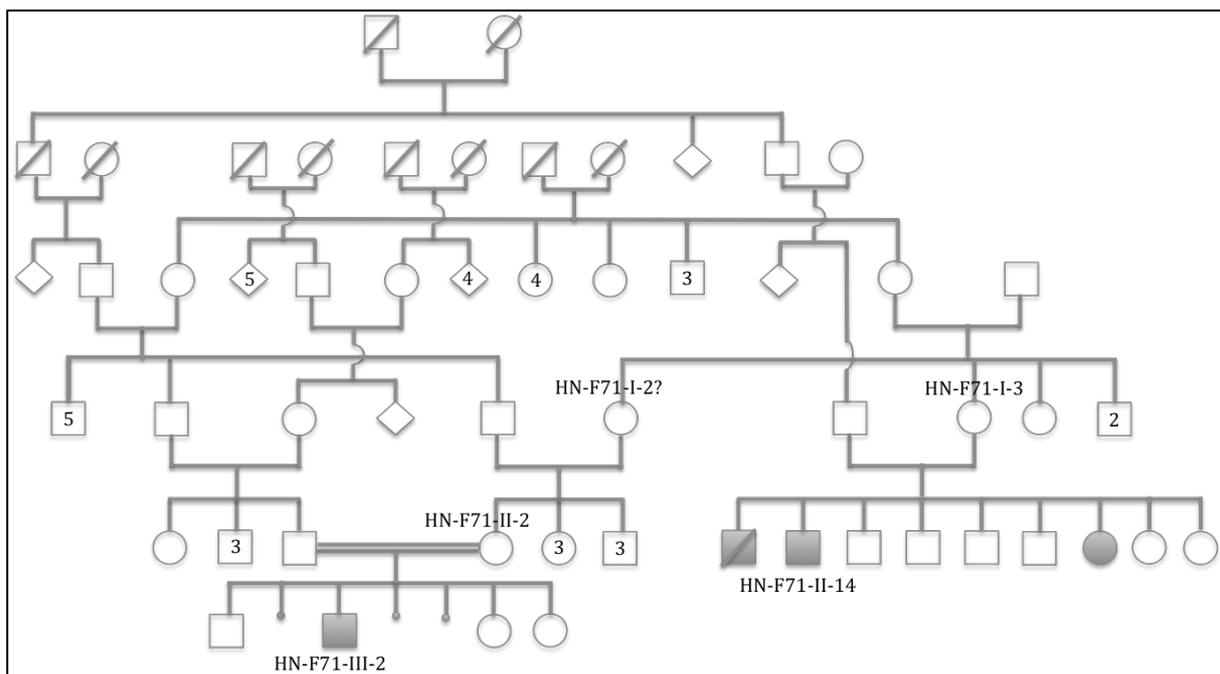
Der Indexpatient dieser Familie (HN-F67-II-1) war an einer beidseitigen Nierendysplasie mit multiplen Nierenzysten erkrankt. Zusätzlich lag links ein Harnstau Grad I-II vor. Weitere Auffälligkeiten konnten nicht festgestellt werden. Die Familienanamnese ergab keine betroffenen Verwandten, die Eltern (HN-F67-I-1 und HN-F67-I-2) waren gesund und nicht konsanguin.



### 3.1.8 F71

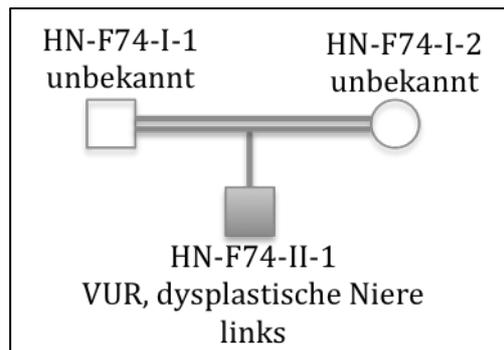
Sechs Individuen dieser Familie wurden in der Datenbank erfasst und molekulargenetisch untersucht. Bei zwei der sechs Individuen, dem Indexpatienten (HN-F71-III-2) sowie einem weiteren Verwandten (HN-F71-II-14), lagen beidseitige hypoplastische Nieren vor. Diese hatten zum Zeitpunkt der Erfassung bereits zu einer Niereninsuffizienz im Stadium IV geführt. Bei dem Patienten HN-F71-III-2 konnten zusätzliche extrarenale Auffälligkeiten festgestellt werden. Zu diesen zählten neben einer Entwicklungsverzögerung auch eine Dysmetrie und eine Gangunsicherheit sowie eine Mikrognathie, welche mitverantwortlich für Artikulationsstörungen war. Skelettauffälligkeiten konnten nicht nachgewiesen werden.

Wie am Stammbaum ersichtlich, waren die Ehepartner über mehrere Generationen konsanguin.



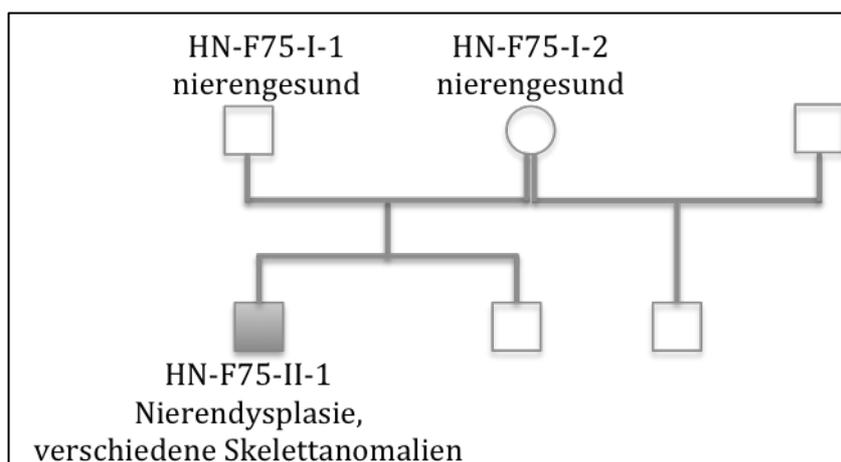
### 3.1.9 F74

Der Indexpatient dieser Familie wies eine dysplastische Niere links sowie einen vesikoureteralen Reflux auf. Hinweise bezüglich Skelettauffälligkeiten gab es keine. Angaben zu Herkunft und weiteren Erkrankten in der Familie waren nicht vorhanden, allerdings konnte ermittelt werden, dass die Eltern konsanguin waren.



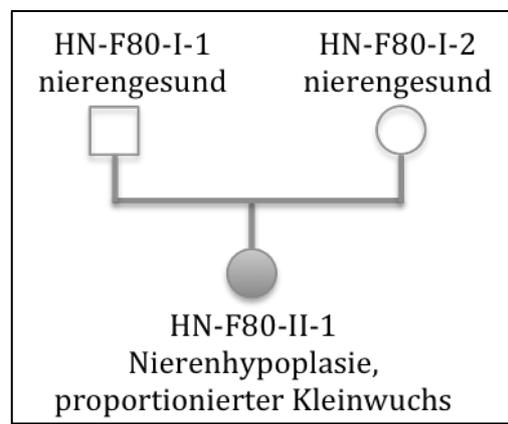
### 3.1.10 F75

In dieser Familie litt der Sohn (HN-F75-II-1) gesunder Eltern (HN-F75-I-1 und HN-F75-I-2) an einer beidseitigen Nierendysplasie mit konsekutiver Niereninsuffizienz im Stadium III. Zusätzlich konnten verschiedene Skelettanomalien, wie hypoplastische Claviculae, eine cleidokraniale Dysplasie, Klinodaktylie und Brachydaktylie der kleinen Finger und eine Verschmälerung des oberen Brustkorbes und der Schultern festgestellt werden. Aus letzterer Anomalie resultierte eine verminderte Beweglichkeit. Neben renalen und skelettalen Auffälligkeiten bestand eine geistige Retardierung, wobei vor allem eine sprachliche Entwicklungsverzögerung sowie eine Einschränkung des auditiven Arbeitsgedächtnisses und der Verarbeitungsgeschwindigkeit verzeichnet werden konnten. Weitere Betroffene in der Familie oder eine mögliche Konsanguinität konnten nicht ermittelt werden.



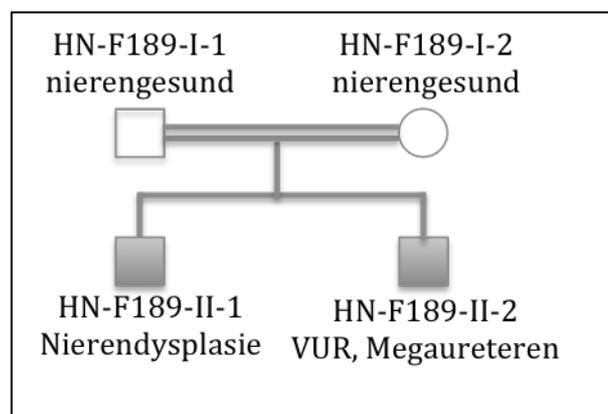
### 3.1.11 F80

Die Indexpatientin dieser Familie (HN-F80-II-1) litt bereits im Kindesalter an einer terminalen Niereninsuffizienz, welche infolge einer Nierenhypoplasie entstand. Extrarenal wurden eine ausgeprägte einseitige Visusminderung und ein proportionierter Kleinwuchs festgestellt. Beide Eltern (HN-F80-I-1 und HN-F80-I-2) waren gesund und nicht konsanguin. In der Familie konnten keine weiteren Erkrankten bestimmt werden.



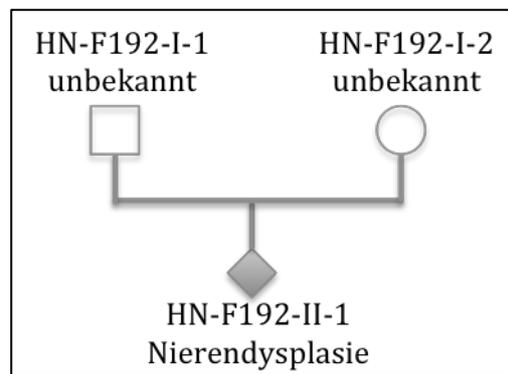
### 3.1.12 F189

Hier war bei beiden Söhnen (HN-F189-II-1 und HN-F189-II-2) gesunder, konsanguiner Eltern (HN-F189-I-1 und HN-F189-I-2) ein auffälliger renaler Phänotyp zu finden. Bei dem Indexpatienten war eine Nierendysplasie bekannt, als weitere Betroffene in der Familie wurden der Bruder und eine Cousine angegeben. Diese litten beide an einem vesikoureteralen Reflux sowie Megaureteren. Laut den vorliegenden Befunden konnten keine Skelettauffälligkeiten festgestellt werden.



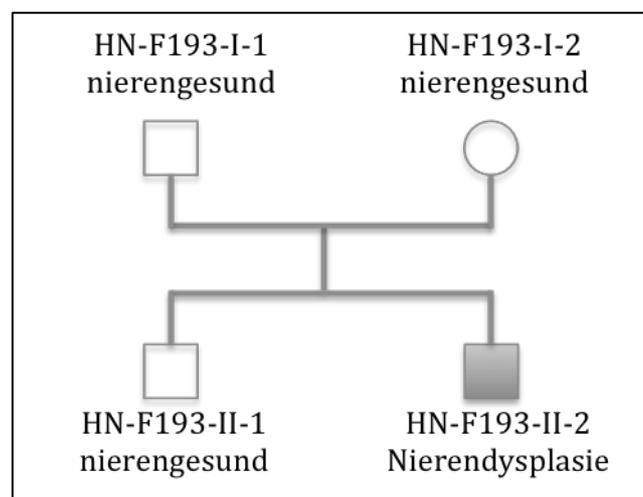
### 3.1.13 F192

In dieser Familie lag beim Indexpatienten (HN-F192-II-2) eine Nierendysplasie vor. Das Geschlecht war unbekannt, ebenso die Familienanamnese und das mögliche Vorliegen einer Konsanguinität. Ein Perikarderguss und eine Kardiomyopathie als Folge eines Oligohydramnions konnten festgestellt werden. Die Cisterna magna war erweitert, außerdem fiel in der Schwangerschaft ein Nackenödem auf. In den Befunden konnten keine skelettalen Auffälligkeiten erhoben werden.



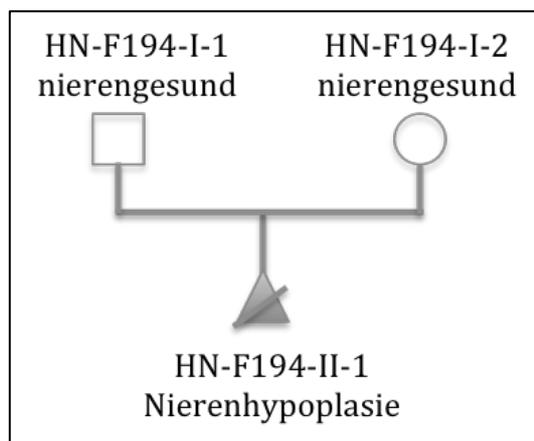
### 3.1.14 F193

In dieser Familie litt der Sohn (HN-F193-II-1) eines gesunden Elternpaares (HN-F193-I-1 und HN-F193-I-2) an einer beidseitigen Nierendysplasie. Als ursächlich konnten im Rahmen einer weiteren Abklärung Urethralklappen identifiziert werden. Als zusätzliche Anomalie stellte sich ein Retroaurikuläranhängsel links dar. Weitere Betroffene in der Familie oder eine Konsanguinität konnten nicht ausgemacht werden.



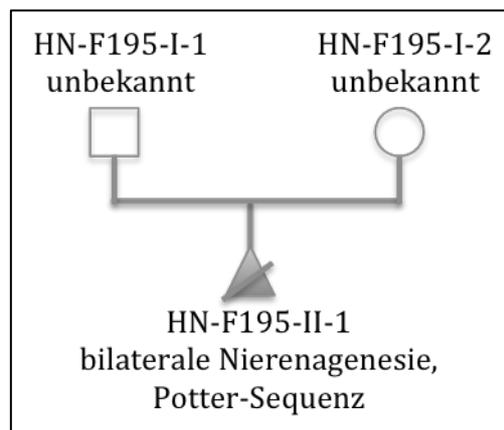
### 3.1.15 F194

Beim Indexpatienten dieser Familie (HN-F194-II-1) wurden bereits pränatal multiple Anomalien festgestellt, weshalb ein Spätabbruch der Schwangerschaft erfolgte. Die Nieren waren hypoplastisch, außerdem fielen eine Halszyste sowie ein Hydrozephalus auf. Hinweise auf Skelettfehlbildungen ergaben sich nicht. Die Eltern (HN-F194-I-1 und HN-F194-I-2) waren gesund, die weitere Familienanamnese sowie das Vorliegen einer Konsanguinität waren unbekannt.



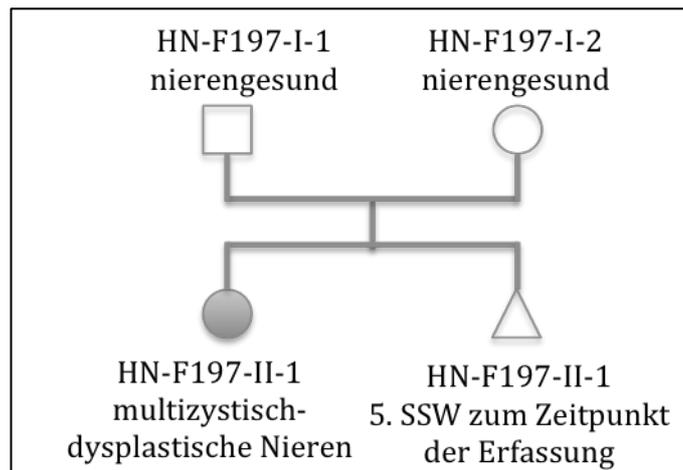
### 3.1.16 F195

Der auffällige renale Phänotyp bei der Indexpatientin bestand hier aus einer bilateralen Nierenagenesie, welche zu einer Potter-Sequenz führte. Zusätzlich konnten beim weiblichen Fetus eine Lungenhypoplasie und eine Uterusagenesie festgestellt werden. Angaben zu Familienanamnese und Konsanguinität waren nicht vorhanden.



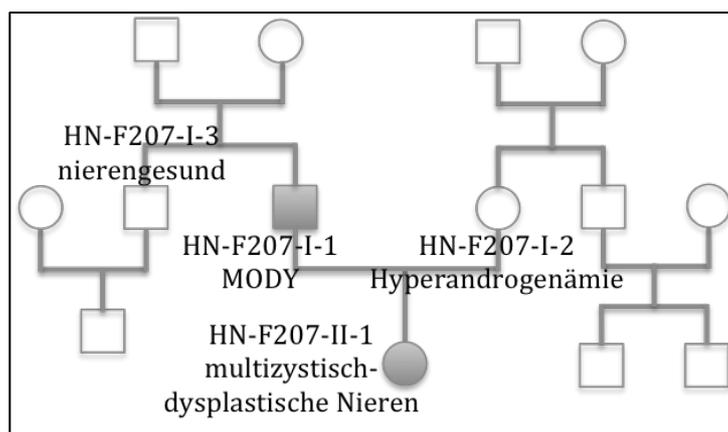
### 3.1.17 F197

In dieser Familie wurden bei der Tochter (HN-F197-II-1) gesunder Eltern (HN-F197-I-1 und HN-F197-I-2) bereits im Kleinkindalter multizystisch-dysplastische Nieren diagnostiziert. Es konnten keine weiteren Auffälligkeiten festgestellt werden. Die Familienanamnese war für Nierenerkrankungen unauffällig und die Eltern waren nicht konsanguin.



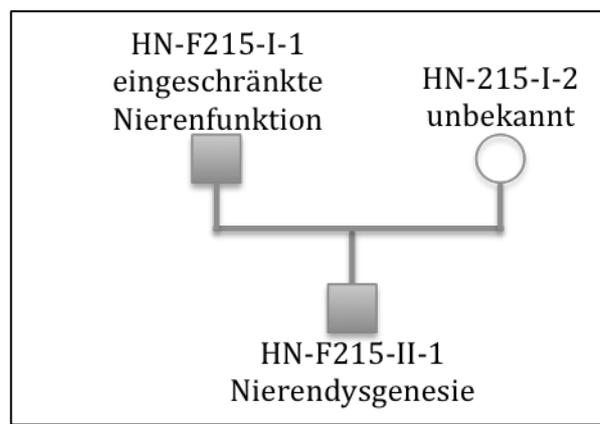
### 3.1.18 F207

Auch bei diesem Indexpatienten (HN-F207-II-1) bestand ein auffälliger renaler Phänotyp in Form von multizystisch-dysplastischen Nieren. Zusätzlich fanden sich eine Sprachentwicklungsstörung, ein motorischer Entwicklungsrückstand, ein Kryptorchismus rechts sowie ein Gleithoden links und ein persistierendes Foramen ovale. Die Eltern waren nierengesund, allerdings litt der Vater (HN-F207-I-1) an einem sogenannten „Maturity Onset Diabetes of the Young“ (MODY) und die Mutter (HN-F207-I-2) an einer Hyperandrogenämie. Es konnten keine weiteren Betroffenen in der Familie ermittelt werden.



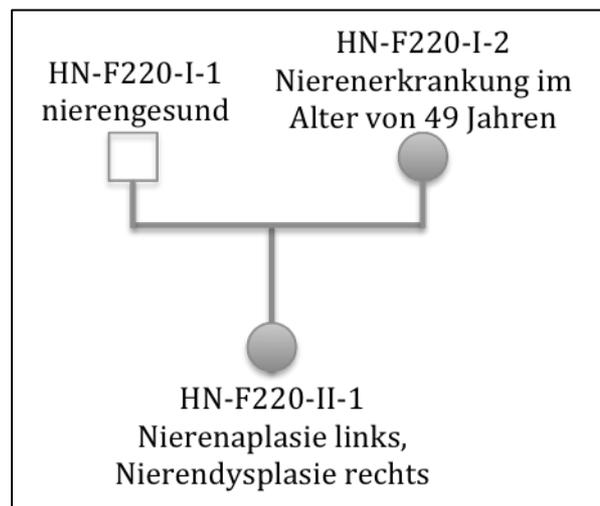
### 3.1.19 F215

Der Sohn (HN-F215-II-1) dieser Familie litt ursprünglich an einer Nierendysgenese, zum Zeitpunkt der Datenerhebung war bereits die dritte Nierentransplantation erfolgt. Zusätzlich auffällig waren eine bikuspidale Aortenklappe sowie ein Faktor-XII-Mangel. Beim Vater (HN-215-I-1) konnte eine auf 70% verringerte Nierenfunktion festgestellt werden, ansonsten war die Familienanamnese unauffällig und die Eltern nicht konsanguin.



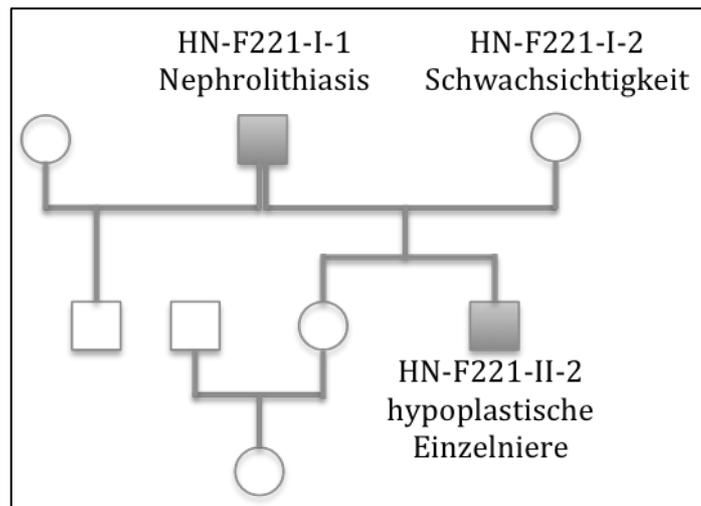
### 3.1.20 F220

Die Indexpatientin (HN-F220-II-1) wurde mit einer Nierenaplasie links und einer dysplastischen Niere rechts geboren. Zum Zeitpunkt der Erfassung hatte bereits die zweite Transplantation in Form einer Lebendspende des nierengesunden Vaters (HN-F220-I-1) stattgefunden. Bei der Mutter (HN-F220-I-2) wurde im Alter von 49 Jahren eine nicht genauer bezeichnete Nierenerkrankung festgestellt. Weitere Auffälligkeiten waren nicht vorhanden, ebenso gab es keine weiteren erkrankten Verwandten. Die Eltern waren nicht konsanguin.



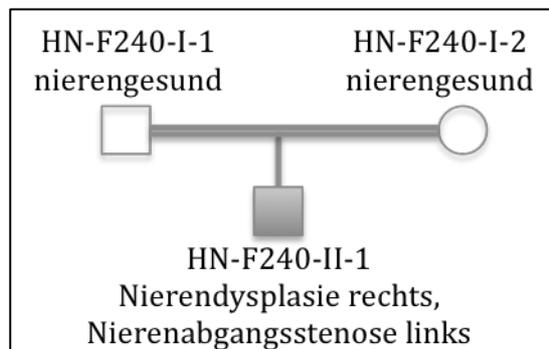
### 3.1.21 F221

Hier lag beim Indexpatienten (HN-F221-II-1) eine hypoplastische Einzelniere vor. Der Vater (HN-F221-I-1) war im Alter von 49 Jahren an einer Nephrolithiasis erkrankt, ein Onkel mütterlicherseits (HN-F221-I-4) war ab dem Alter von 74 Jahren dialysepflichtig. Die Mutter (HN-F221-I-2) litt an Schwachsichtigkeit. Extrarenal fielen keine Anomalien auf, die Eltern waren nicht konsanguin.



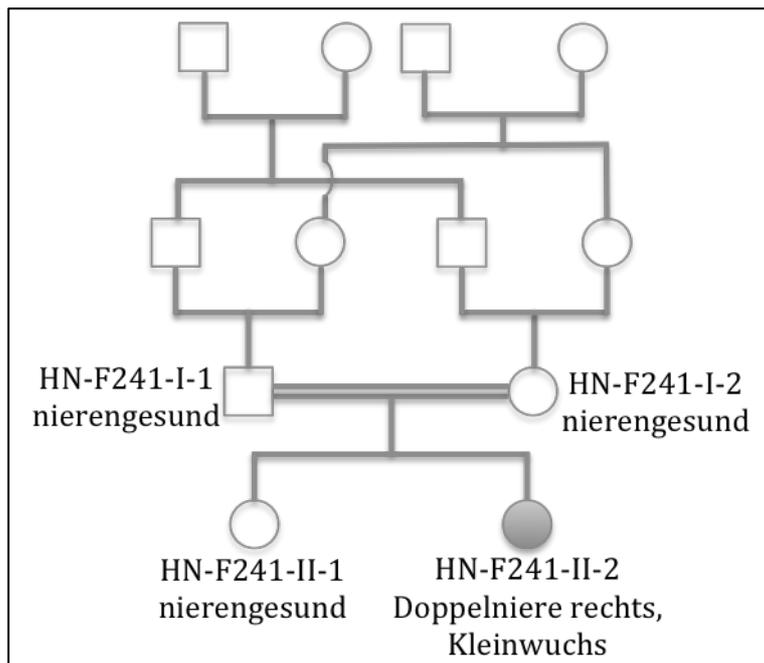
### 3.1.22 F240

In dieser Familie litt der Sohn (HN-F240-II-1) gesunder, konsanguiner Eltern (HN-F240-I-1 und HN-F240-I-2) an einer Nierendysplasie rechts sowie einer Nierenabgangsstenose links. Zum Zeitpunkt der Datenerfassung hatte bereits eine Nephrektomie der linken Niere stattgefunden. Neben dem renalen Phänotyp bestanden eine Ventrikulomegalie und eine Dysgenese des Corpus callosum.



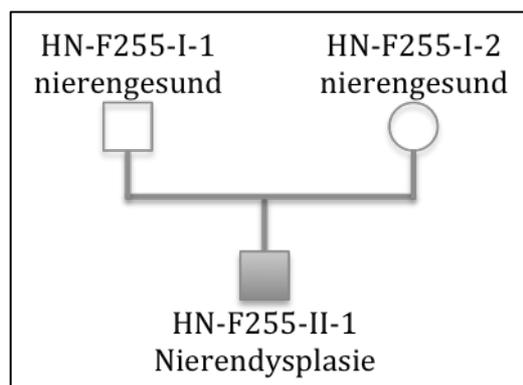
### 3.1.23 F241

In dieser Familie waren die Eltern (HN-F241-I-1 und HN-F241-I-2) ebenfalls konsanguin. Eine der Töchter (HN-F241-II-2) litt an einer Doppelniere rechts sowie einer Dysostosis multiplex. Am äußeren Erscheinungsbild fielen grobe Gesichtszüge und ein Kleinwuchs auf. Schwester und Eltern der Indexpatientin waren nierengesund. Es waren keine weiteren Betroffenen in der Familie bekannt.



### 3.1.24 F255

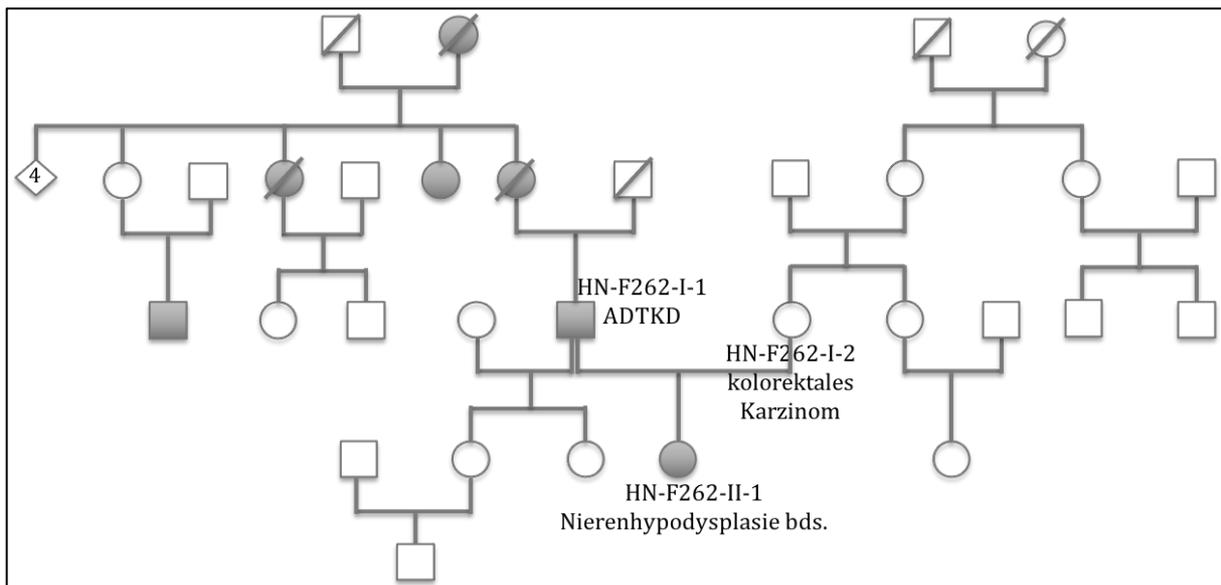
Bereits bei der Geburt wurde beim Sohn (HN-F255-II-1) gesunder Eltern (HN-F255-I-1 und HN-F255-I-2) eine Nierendysplasie festgestellt. Bioptisch war in den Nieren eine leichtgradige globale Glomerulosklerose gesichert worden, zum Zeitpunkt der Erfassung war bereits die zweite Transplantation erfolgt. Außer dem renalen Phänotyp bestanden keine Auffälligkeiten. Weitere Betroffene in der Familie wurden anamnestisch nicht ermittelt, die Eltern waren nicht konsanguin.



## 3.1.25 F262

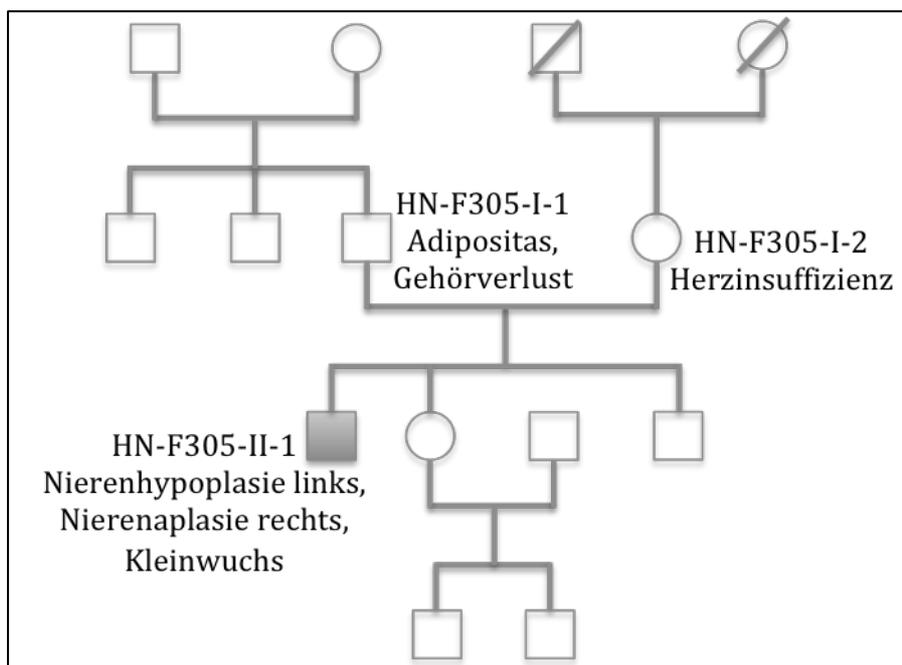
Die Indexpatientin dieser Familie (HN-F262-II-1) litt an einer beidseitigen Nierenhypodysplasie. Die Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen positiv, so litt der Vater (HN-F262-I-1) an einer autosomal-dominanten tubulointerstitiellen Nierenerkrankung (autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease, ADTKD). Bereits im Alter von 14 Jahren erkrankte er an einer Glomerulonephritis und eine Zysten- bzw. Schrumpfniere rechtsseitig wurde festgestellt. Bei der Mutter war anamnestisch die Erstdiagnose eines Rektumkarzinoms im Alter von 27 Jahren zu erheben. Väterlicherseits konnten noch weitere Verwandte mit einem auffälligen renalen Phänotyp ermittelt werden, unter anderem die Großmutter sowie mehrere Großtanten und ein Großcousin (s. Stammbaum). Alle nierenkranken Angehörigen waren zum Zeitpunkt der Erfassung auf die Dialyse angewiesen und teilweise bereits nierentransplantiert worden. Eine Urgroßmutter väterlicherseits (s. Stammbaum) sei ebenso dialysepflichtig gewesen, was nahelegt, dass sie an derselben Erkrankung litt.

Die Mutter der Patientin war nierengesund, allerdings bereits im Alter von 27 Jahren an einem kolorektalen Karzinom erkrankt. Extrarenale Anomalien konnten nicht festgestellt werden, es lag keine Konsanguinität vor.



### 3.3.18 F305

Hier litt der Sohn (HN-F305-II-1) gesunder Eltern (HN-F305-I-1 und HN-F305-I-2) an einer Dysplasie der rechten und einer Hypoplasie der linken Niere. Als extrarenale Anomalien wurden eine Choanalatresie, ein Kleinwuchs und faziale Dysmorphiestigmata festgestellt. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung hatte bereits die zweite Nierentransplantation stattgefunden. Eine Konsanguinität sowie weitere Betroffene in der Familie konnten nicht ermittelt werden.

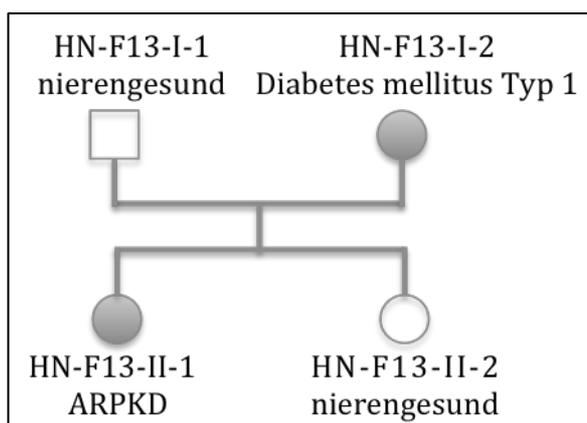


### 3.2 Familien mit einer Ziliopathie

Im Folgenden sollen die 22 Familien, in welchen jeweils mindestens ein Individuum an einer Ziliopathie erkrankt war, betrachtet werden. Hierfür wurden ebenfalls Stammbäume erstellt.

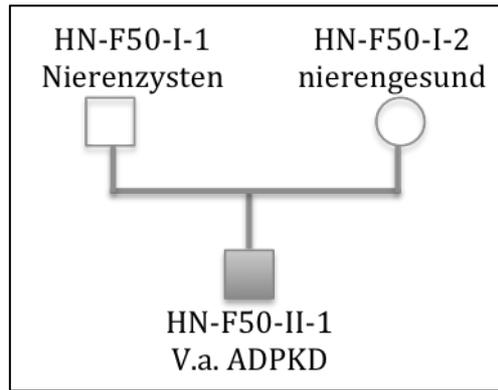
#### 3.2.1 F13

In dieser aus Ungarn stammenden Familie ergab eine postpartal durchgeführte Ultraschalluntersuchung bei der Tochter (HN-F13-II-2) den Verdacht auf eine autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung (ARPKD). Die Mutter (HN-F13-I-2) litt an einem Diabetes mellitus Typ I, der Vater (HN-F13-I-1) war gesund. In der weiteren Familienanamnese konnten keine Auffälligkeiten ausgemacht werden, eine Konsanguinität bestand nicht.



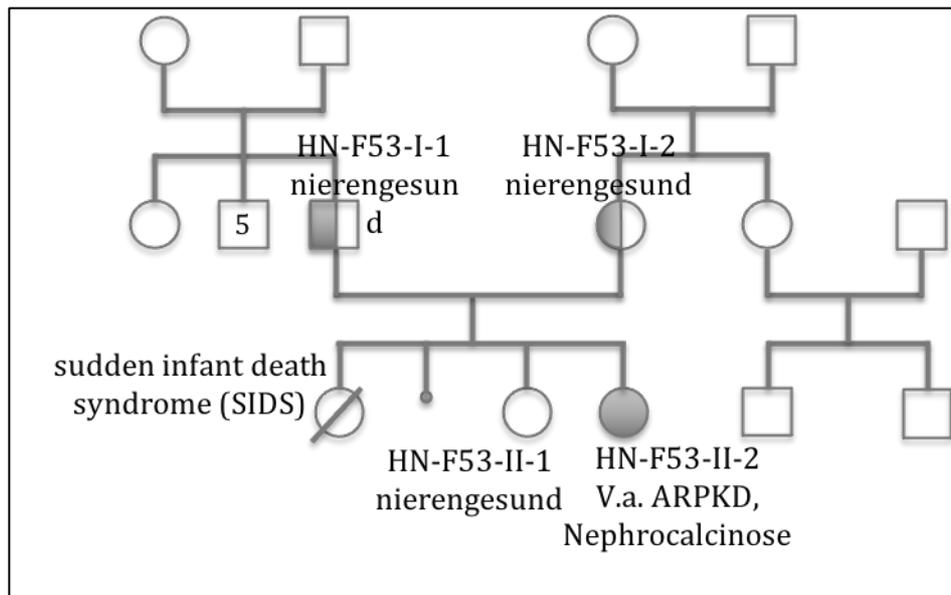
#### 3.2.2 F50

In dieser Familie bestand beim Indexpatienten (HN-F50-II-1) der Verdacht auf eine autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD). Skelettfehlbildungen konnten nicht festgestellt werden. Beim Vater (HN-F50-I-1) waren bereits beidseitige Nierenzysten aufgefallen, dieser war allerdings beschwerdefrei. Die weitere Familienanamnese war unauffällig. Die Eltern waren nicht konsanguin, allerdings waren die Großeltern väterlicherseits zweiten Grades miteinander verwandt.



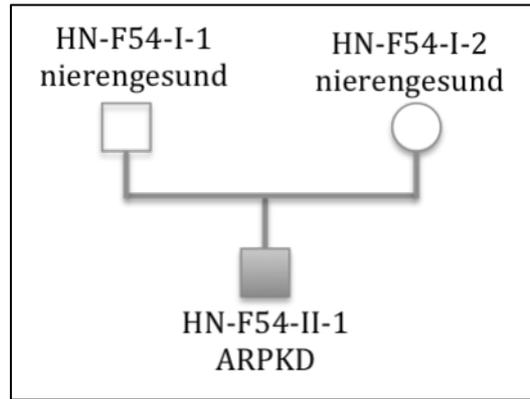
### 3.2.3 F53

Hier bestand bei der Tochter (HN-F53-II-2) gesunder Eltern (HN-F53-I-1 und HN-F53-I-2) aufgrund eines Ultraschallbildes der Verdacht auf eine ARPKD und eine Nephrocalcinose. Die weitere Familienanamnese war unauffällig, die Eltern waren nicht konsanguin.



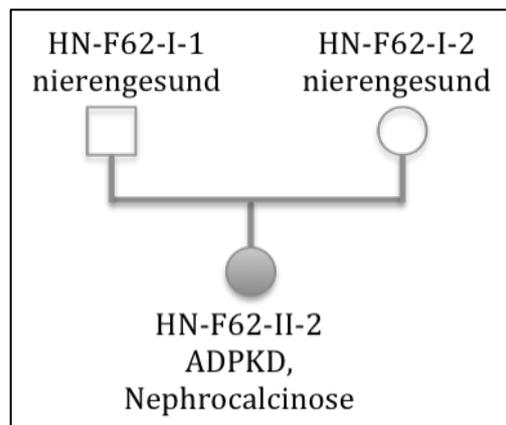
### 3.2.4 F54

Der Indexpatient (HN-F54-II-1) dieser Familie litt an einer ARPKD. Bereits in der pränatalen Sonografie konnten eine Hydronephrose, ein Megaureter und ein Oligohydramnion festgestellt werden, postnatal wurde sonografisch zusätzlich eine Megazystitis ermittelt. Die Eltern (HN-F54-I-1 und HN-F54-I-2) waren beide nierengesund und nicht konsanguin. Phänotypisch fielen nach dorsal rotierte Ohren, ein rundliches Gesicht und ein leicht zurückweichendes Kinn auf.



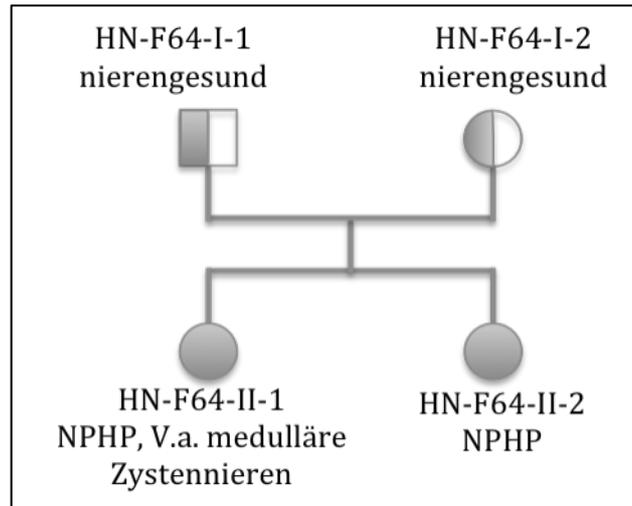
### 3.2.5 F62

Bei der Tochter (HN-F62-II-2) gesunder Eltern (HN-F62-I-1 und HN-F62-I-2) wurden im Alter von einem Jahr multizystische Nieren sowie eine Nephrokalzinose festgestellt. Zusätzlich zum renalen Phänotyp konnten sonografisch Zysten in der Leber nachgewiesen werden. Die Familienanamnese war unauffällig und die Eltern waren nicht konsanguin.



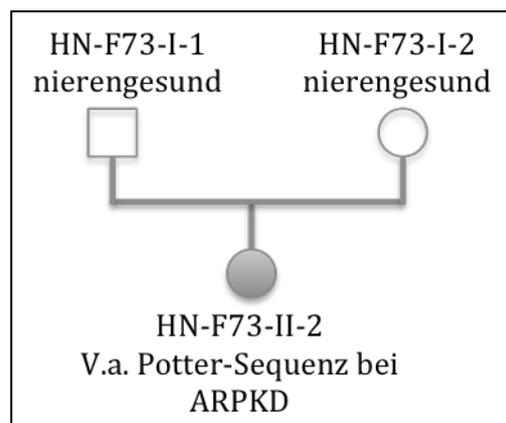
### 3.2.6 F64

In dieser Familie waren beide Töchter gesunder Eltern (HN-F64-I-1 und HN-F64-I-2) an einer Nephronophthise (NPHP) erkrankt. Zum Zeitpunkt der Datenerfassung lag bei der Indexpatientin (HN-F64-II-2) bereits eine Niereninsuffizienz im Stadium V vor, bei der Schwester (HN-64-II-1) bestand der Verdacht auf medulläre Zystennieren. Bei der Indexpatientin waren zusätzlich ein Faktor-V-Leiden sowie ein Restless-Legs-Syndrom bekannt. Die weitere Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig, die Eltern waren nicht konsanguin.



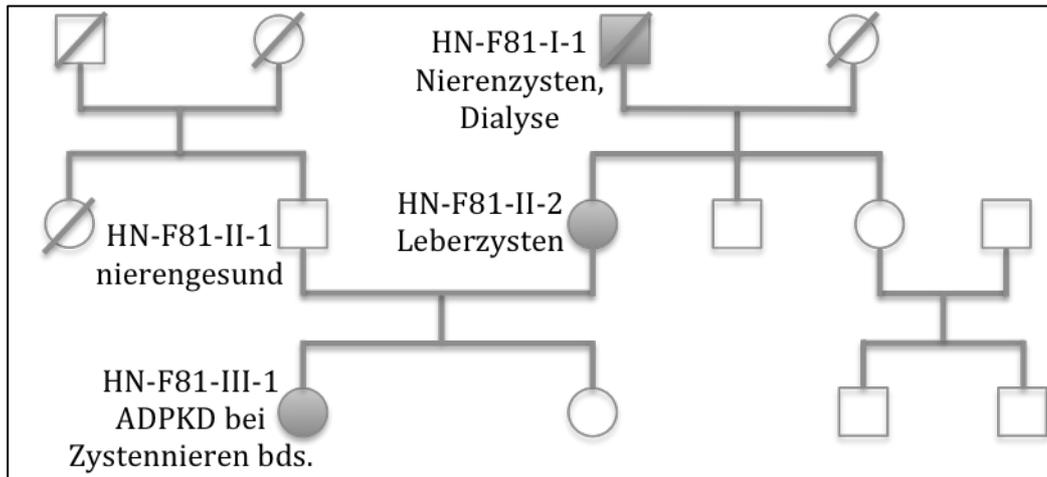
### 3.2.7 F73

Bei dieser Indexpatientin (HN-F73-II-1) bestand der Verdacht auf eine Potter-Sequenz bei ARPKD. Die Verdachtsdiagnose wurde bereits bei Geburt gestellt. Beide Eltern waren gesund und nicht konsanguin, die weitere Familienanamnese war ebenso unauffällig.



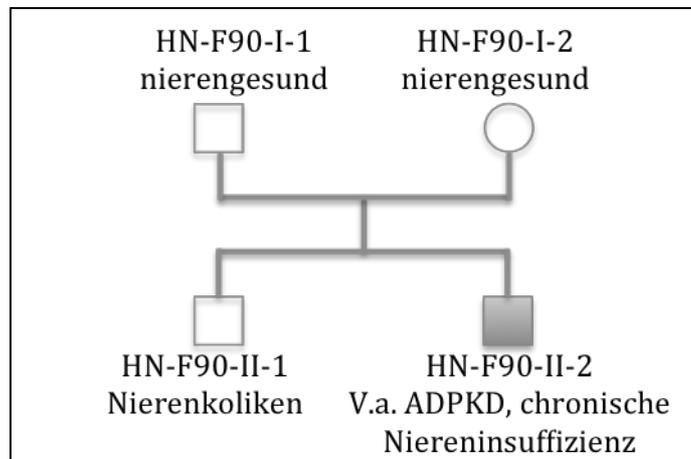
### 3.2.8 F81

Hier wurde bei der Indexpatientin (HN-F81-III-1) im Alter von 35 Jahren eine ADPKD bei beidseitigen Zystennieren diagnostiziert. Zum Zeitpunkt der Erfassung litt die Patientin bereits an arterieller Hypertonie. Bei der Mutter (HN-F81-II-2) konnten Leberzysten festgestellt werden, der Großvater mütterlicherseits (HN-F81-I-1) war ebenso an Nierenzysten erkrankt und mehrere Jahre dialysepflichtig. Der Vater (HN-F81-II-1) war gesund und es lag keine Konsanguinität vor.



### 3.2.9 F90

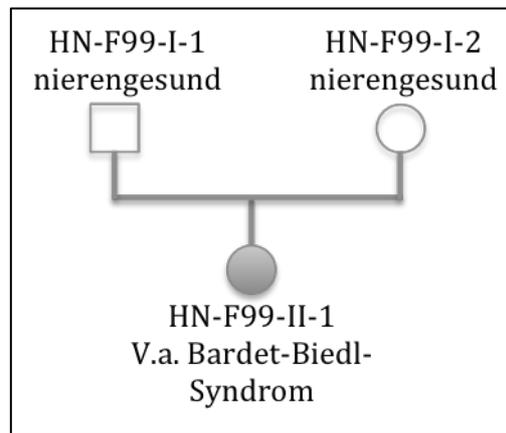
Beim Indexpatienten (HN-F90-II-2) waren im Alter von 15 Jahren erstmals Nierensteine aufgefallen. Ab dem 50. Lebensjahr waren keine Nierensteine mehr aufgetreten, es wurden jedoch zunehmende zystische Veränderungen der Nieren beobachtet. Zum Zeitpunkt der Datenerfassung, mit 68 Jahren, bestand bei dem Patienten bereits eine chronische Niereninsuffizienz im Stadium III. Der ältere Bruder litt an Nierenkoliken.



### 3.2.10 F99

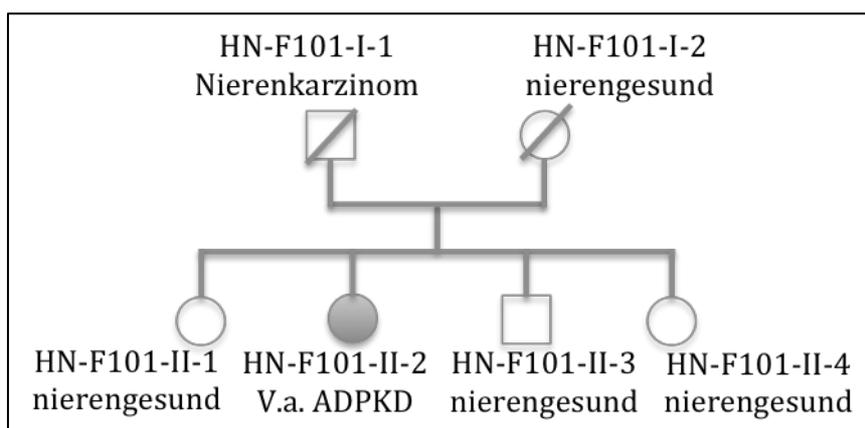
In dieser Familie bestand bei der Tochter (HN-F99-II-1) gesunder Eltern (HN-F99-I-1 und HN-F99-I-2) der Verdacht auf ein Bardet-Biedl-Syndrom mit einer Doppelniere rechts. An extrarenalen Symptomen zeigte sich unter anderem eine Augenbeteiligung in Form von Retinitis pigmentosa, myopem Astigmatismus und Strabismus divergens. Kardiovaskulär konnten verschiedene Anomalien festgestellt werden, unter anderem ein kompletter atrioventrikulärer Septumdefekt, eine Aortenbogenhypoplasie und eine unterbrochene V. cava inferior mit Azygoskontinuität. Des Weiteren bestand bei der

Patientin eine Heterotaxie mit doppelt angelegten Lebervenen und einer Asplenie. Am äußeren Erscheinungsbild fiel eine postaxiale Hexadaktylie auf. Die Eltern waren nicht konsanguin.



### 3.2.11 F101

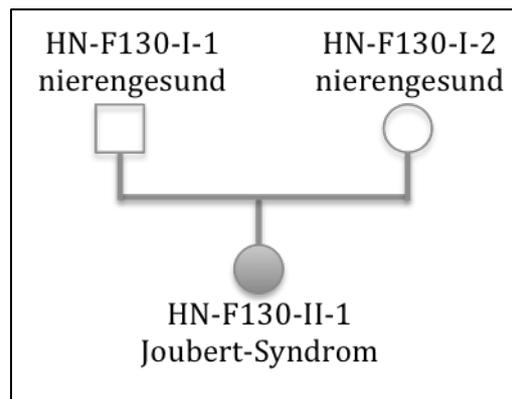
Bei der Indexpatientin (HN-F101-II-2) wurde im Alter von 52 Jahren ein systemischer Lupus erythematodes diagnostiziert, eine Nierenbiopsie zeigte damals eine mesangiale Lupusnephritis. Zum Zeitpunkt der Erfassung, im Alter von 60 Jahren, wurden bei der Patientin sonografisch multiple Zysten in der Leber sowie in der linken Niere nachgewiesen. Der Vater (HN-F101-I-1) wurde im Alter von 74 Jahren aufgrund eines Karzinoms einseitig nephrektomiert. Die weitere Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig.



### 3.2.12 F130

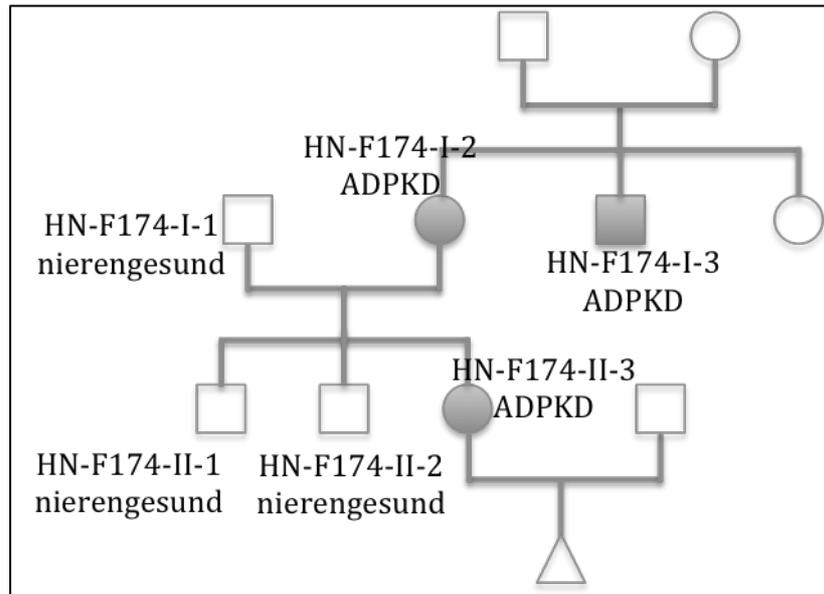
In dieser Familie trat eine syndromale Ziliopathie auf, die Indexpatientin (HN-F130-II-1) war am Joubert-Syndrom erkrankt. In der Familie gab es keine weiteren Betroffenen, ob eine Konsanguinität bestand, konnte nicht eruiert werden. Der renale Phänotyp bestand aus einer Nephronophthise mit Nierenzysten beidseits.

An extrarenalen Manifestationen fiel zum einen der kardiale Phänotyp auf. Bei der Patientin lagen ein Atriumseptumdefekt 2. Grades und eine Abgangsstenose der linken Pulmonalarterie vor. Zum anderen war eine Augenbeteiligung beschrieben. Die Patientin litt an einer retinalen Pigmentepitheldysplasie sowie einer Ptosis links. Weiterhin bestanden eine psychomotorische Entwicklungsretardierung sowie eine Vermishypoplasie. Ein auf das Joubert-Syndrom hinweisender Befund im MRT war das sogenannte „Molar tooth sign“.



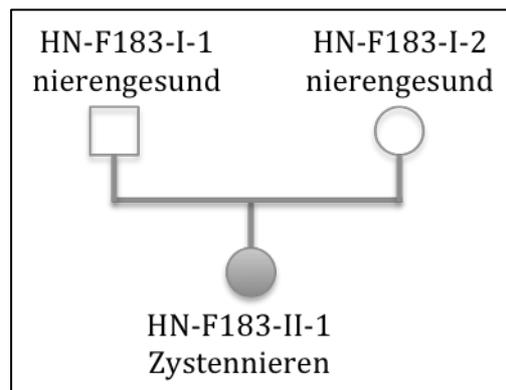
### 3.2.13 F174

Die Indexpatientin (HN-F174-II-3) dieser Familie war an einer ADPKD erkrankt. Ebenso von der Erkrankung betroffen waren die Mutter (HN-F174-I-2) und der Onkel mütterlicherseits (HN-F174-I-3). Der Vater (HN-174-I-1) sowie die Geschwister waren nierengesund. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung war die Patientin schwanger. Es bestanden keine extrarenalen Auffälligkeiten, die Eltern waren nicht konsanguin.



### 3.2.14 F183

Bei der Tochter (HN-F183-II-1) gesunder Eltern (HN-F183-I-1 und HN-F183-I-2) wurden im Alter von 18 Jahren isoliert Zystennieren festgestellt. Eine Konsanguinität oder weitere Betroffene in der Familie konnten nicht ermittelt werden.



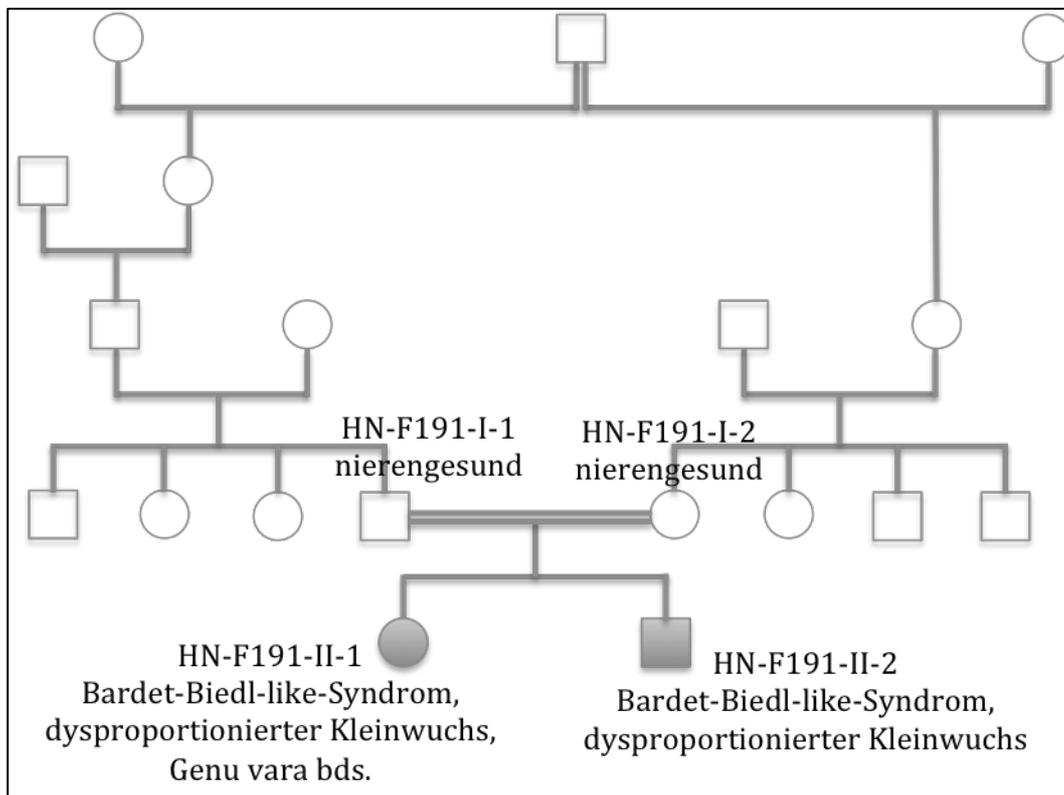
### 3.2.15 F191

In dieser Familie traten zwei Fälle eines Bardet-Biedl-like-Syndroms auf. Bei der Indexpatientin (HN-F191-II-1) sowie ihrem jüngeren Bruder (HN-F191-II-2) fielen bereits bei Geburt verschiedene Anomalien auf. Bei dem Mädchen bestanden unter anderem eine Mitralklappeninsuffizienz, ein Atriumseptumdefekt vom Sekundumtyp, ein persistierender Ductus arteriosus und ein pulmonaler Hypertonus. Weiterhin litt die Patientin unter einer bronchialen Hyperreagibilität mit rezidivierenden pulmonalen Infekten. Ebenso konnten Skelettanomalien festgestellt werden, es bestanden ein dysproportionierter Kleinwuchs und Genu vara beidseits.

Beim Bruder der Indexpatientin wurden ähnliche Auffälligkeiten beobachtet. Er litt ebenfalls unter einer pulmonalen Symptomatik mit rezidivierenden, teils obstruktiven Bronchitiden und einem dysproportionierten Kleinwuchs. Weiterhin zeigte sich eine Hepatomegalie.

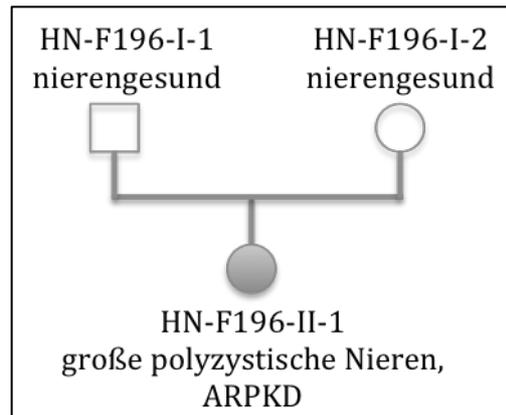
Der renale Phänotyp äußerte sich als Nephropathie unklarer Genese, bei einer Stanzbiopsie konnten histologisch glomeruläre und tubulointerstitielle Vernarbungen sowie eine geringgradige Tubulusektasie der Rinde beobachtet werden.

Die Eltern (HN-F191-I-1 und HN-F191-I-2) waren gesund und konsanguin, die weitere Familienanamnese bezüglich Nierenerkrankungen war unauffällig.



### 3.2.16 F196

Bei der Indexpatientin (HN-F196-II-1) dieser Familie wurden große polyzystische Nieren festgestellt und der Verdacht auf eine ARPKD geäußert. Andere Organsysteme betreffende Erkrankungen waren nicht bekannt. Die Eltern (HN-F196-I-1 und HN-F196-I-2) waren nicht konsanguin, die weitere Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig.

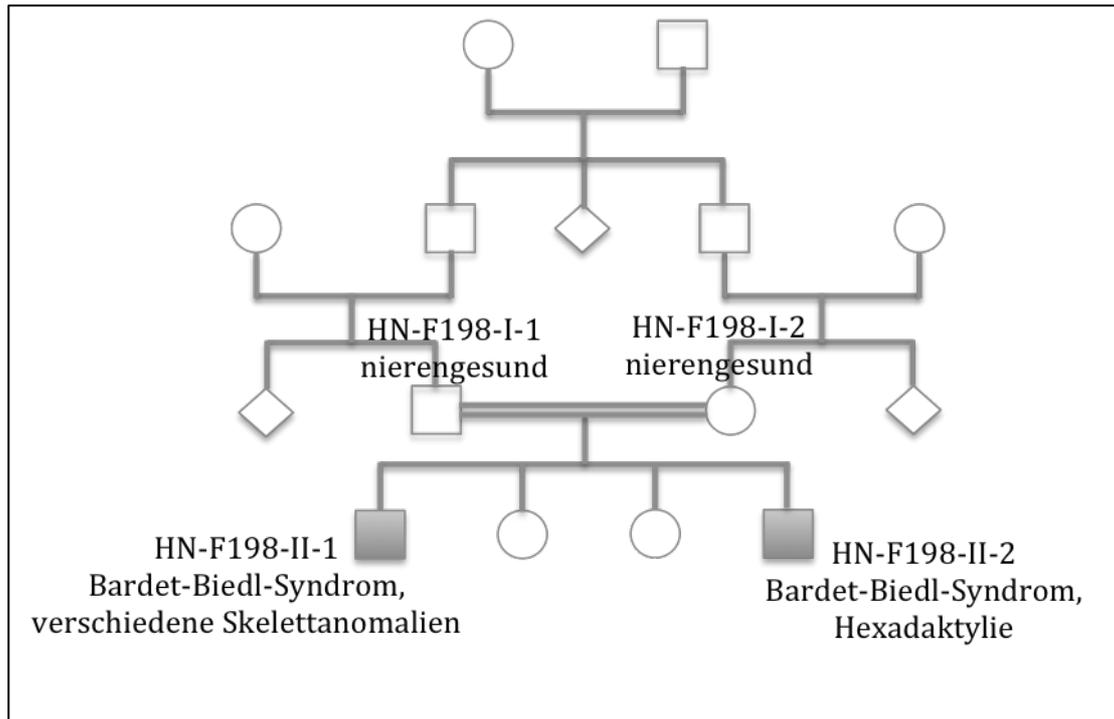


### 3.2.17 F198

In dieser Familie konnte eine syndromale Ziliopathie, ein Bardet-Biedl-Syndrom, diagnostiziert werden. Betroffen waren der Indexpatient (HN-F198-II-1) und sein jüngerer Bruder (HN-F198-II-2). Die Eltern waren gesund und konsanguin, die weitere Familienanamnese bezüglich Nierenerkrankungen war unauffällig.

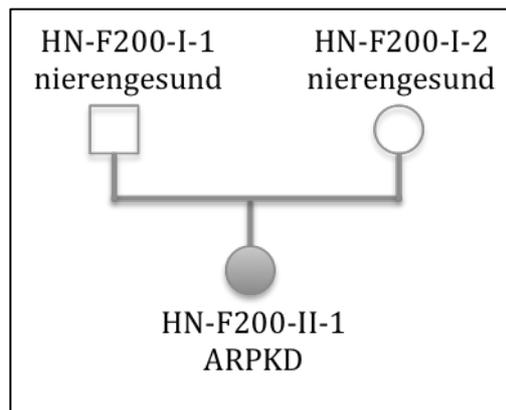
Der Indexpatient litt zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits an einer terminalen Niereninsuffizienz infolge rezidivierender abszedierender Pyelonephritiden bei VUR rechts. Im Alter von vier Jahren hatte deshalb eine Nierentransplantation stattgefunden. Neben dem auffälligen renalen Phänotyp war er an einem okulokutanen Albinismus mit schwerer Sehstörung erkrankt. Zusätzlich konnte eine schwere globale Entwicklungsstörung verzeichnet werden. Am äußeren Erscheinungsbild fielen eine Polydaktylie fibulär beidseits, eine Oligodaktylie der rechten Hand und Spalthandbildung links auf. Weitere bestehende Erkrankungen waren eine Epilepsie, multiple intraabdominelle Abszesse und eine Faktor V Leiden-Mutation. Eine Analatresie wurde als weitere angeborene Fehlbildung aufgeführt.

Beim vierzehn Jahre jüngeren Bruder konnte eine hypoplastisch-zystische Hufeisenniere festgestellt werden. Zusätzlich litt er an einer Leberzirrhose und einer Analatresie. Auffällig war wie beim Indexpatienten eine skelettale Anomalie, in diesem Fall allerdings eine Hexadaktylie an Händen und Füßen beidseits. Äußerlich konnten ein schmaler Thorax und lateralisierte Mamillen beobachtet werden.



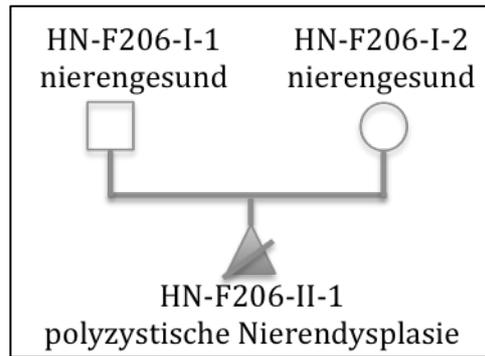
### 3.2.18 F200

Die Tochter (HN-F200-II-1) gesunder Eltern (HN-F200-I-1 und HN-F200-I-2) litt an einer ARPKD. Die Familienanamnese ergab keine weiteren Betroffenen, die Eltern waren nicht konsanguin. Extrarenal auffällig waren eine Hyperurikämie, eine Splenomegalie und Leberparenchymveränderungen.



### 3.2.19 F206

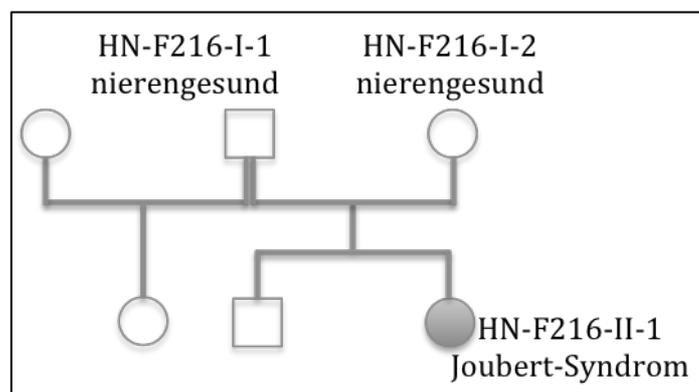
Hier wurde pränatal beim Fetus (HN-F206-II-1) eine polyzystische Nierendysplasie festgestellt. Aufgrund des Befundes wurde die Schwangerschaft vorzeitig beendet. Die Eltern (HN-F206-I-1 und HN-F206-I-2) waren beide gesund und nicht konsanguin, ebenso waren keine weiteren Betroffenen in der Familie bekannt.



### 3.2.20 F216

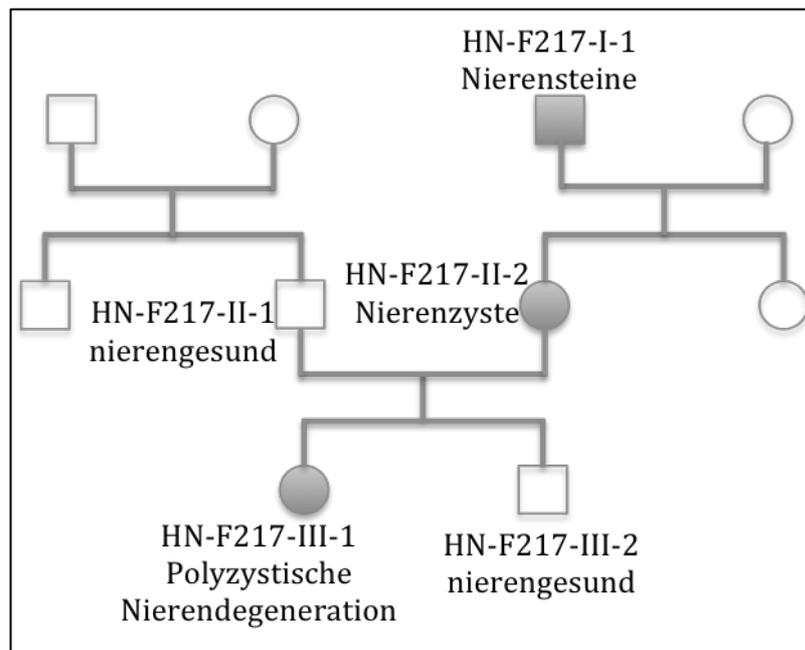
Bei der Tochter (HN-F216-II-1) gesunder Eltern (HN-F216-I-1 und HN-F216-I-2) konnten bereits bei der Geburt Auffälligkeiten, hinweisend auf das Joubert Syndrom, verzeichnet werden. Die zum Zeitpunkt der Datenerhebung neu aufgetretene Niereninsuffizienz konnte auf multizystische Nieren beidseits zurückgeführt werden. Ebenso bestand der Verdacht auf eine Nephronophthise. Extrarenal konnten unter anderem eine hochgradige Sehinderung, eine psychomotorische Retardierung und eine rechtskonvexe Skoliose der Brustwirbelsäule, welche sekundär entstand und nicht als angeborene Skelettfehlbildung angesehen wurde, festgestellt werden. Außerdem litt die Patientin an verschiedenen neurologischen Erkrankungen, unter anderem einer symptomatischen Epilepsie und einer Dandy-Walker-Malformation. Diese Malformation bezeichnet das gleichzeitige Bestehen einer Vermisagenesie, einer zystischen Dilatation des 4. Ventrikels und einer Vergrößerung der hinteren Schädelgrube (Reith und Haussmann 2018). Ein Hydrozephalus war mit einem Ventil versorgt worden, als weitere Fehlbildung war eine okzipitale Myelomeningozele dokumentiert.

Es waren keine weiteren Erkrankten in der Familie bekannt, die Eltern waren nicht konsanguin.



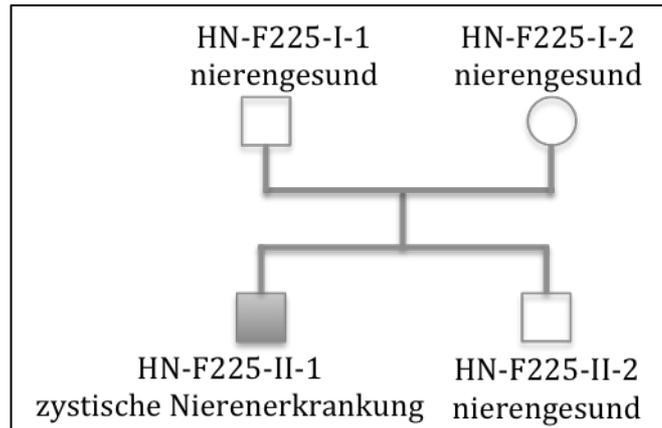
### 3.2.21 F217

In dieser Familie wurde bei der Indexpatientin (HN-F217-III-1) im Alter von 9 Jahren im Rahmen einer Ultraschalluntersuchung eine polyzystische Nierendegeneration festgestellt. Bei der Mutter (HN-F217-II-2) waren eine Hydronephrose links sowie eine Nierenzyste bekannt. Beim Großvater mütterlicherseits (HN-F217-I-1) waren ebenso eine Nierenzyste und Nierensteine festgestellt worden. Der Vater (HN-F217-II-1) und der Bruder (HN-F217-III-2) waren nierengesund. Der Großvater väterlicherseits war an einem Diabetes mellitus Typ II sowie rezidivierenden Nierensteinen erkrankt. Es gab keine extrarenalen Auffälligkeiten, die Eltern waren nicht konsanguin.



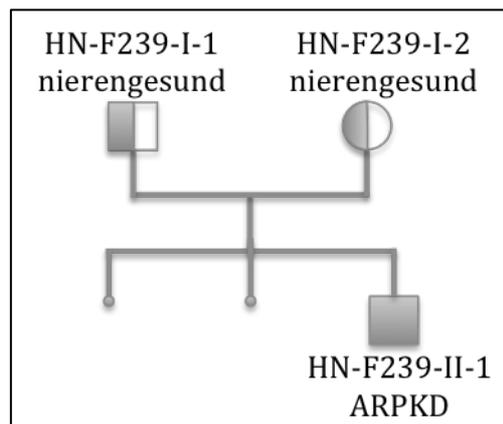
### 3.2.22 F225

Bei diesem Indexpatienten (HN-F225-II-1) wurde erstmals im Alter von 5 Jahren eine zystische Nierenerkrankung diagnostiziert. Die Eltern (HN-F225-I-1 und HN-F225-II-1) sowie weitere Familienmitglieder waren nicht betroffen. Extrarenal fiel eine globale und sprachliche Entwicklungsretardierung auf.



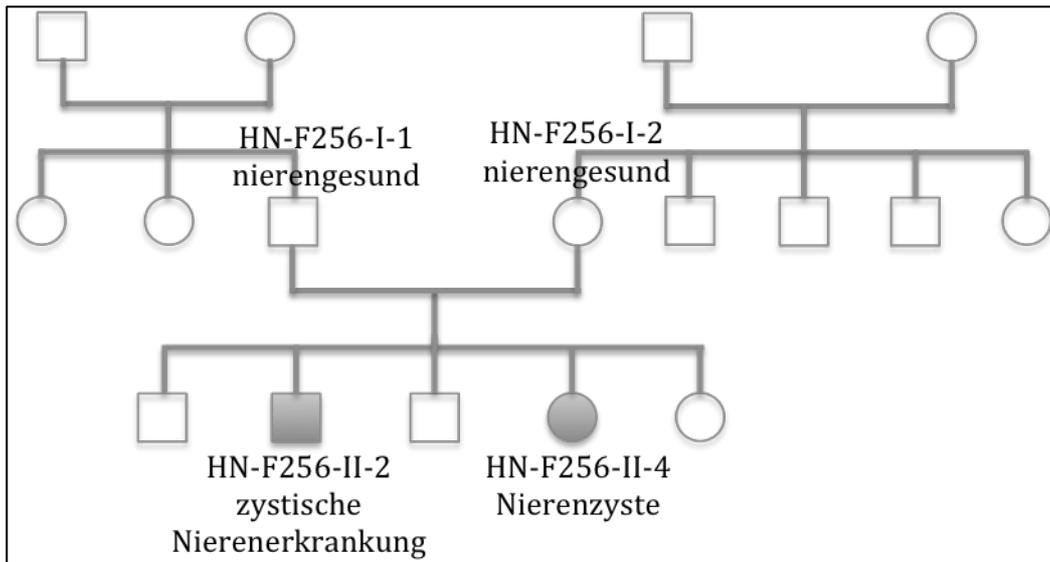
### 3.2.23 F239

Beim Sohn (HN-F239-II-1) gesunder Eltern (HN-F239-I-1 und HN-F239-I-2) wurden bereits pränatal in der 28. Schwangerschaftswoche sonografisch polyzystische Nieren festgestellt, am ehesten hinweisend auf eine ARPKD. Es waren keine weiteren Betroffenen in der Familie bekannt, die Eltern waren nicht konsanguin.



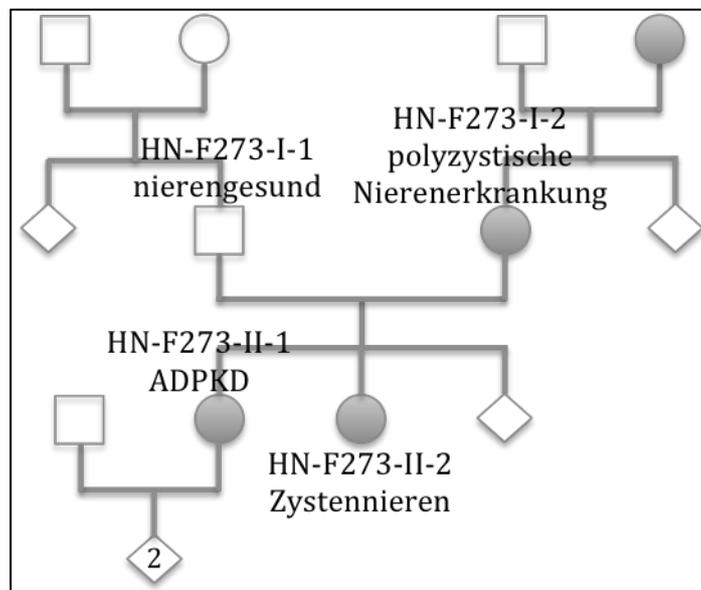
### 3.2.24 F256

In dieser Familie litt der Indexpatient (HN-F256-II-2) an einer polyzystischen Nierenerkrankung. Bei der sechs Jahre jüngeren Schwester (HN-F256-II-4) war eine Nierenzyste rechts festgestellt worden, die weitere Familienanamnese war bezüglich renaler Erkrankungen unauffällig. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, im Alter von 14 Jahren, war der Indexpatient bereits an einer arteriellen Hypertonie erkrankt. Zusätzlich bestanden eine linksventrikuläre Hypertrophie und eine Mitralklappeninsuffizienz ersten Grades. Weitere Auffälligkeiten waren eine Adipositas, eine Psoriasis sowie auffallend kurze Finger. Die Eltern waren nicht konsanguin, es konnten keine extrarenalen Auffälligkeiten gefunden werden.



### 3.2.25 F273

Die Indexpatientin (HN-F273-II-1) dieser Familie war an einer ADPKD erkrankt. Als weitere Betroffene in der Familie wurden die Mutter (HN-F273-I-2), eine Schwester und die Großmutter mütterlicherseits angegeben. Die Eltern waren nicht konsanguin. Weitere Erkrankungen der Patientin zum Zeitpunkt der Erfassung waren eine Hashimoto-Thyreoiditis, eine Osteopenie und Migräne. Zusätzlich bestand der Verdacht auf eine arterielle Hypertonie.

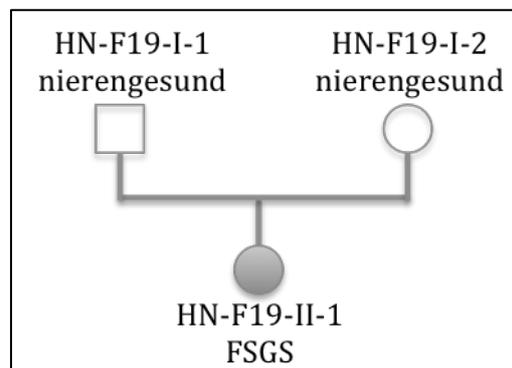


### 3.3 Familien mit Glomerulopathien

In diesem Kapitel soll erneut anhand von Stammbäumen auf jene achtzehn Familien genauer eingegangen werden, in denen mindestens ein Mitglied an einer Glomerulopathie erkrankt war.

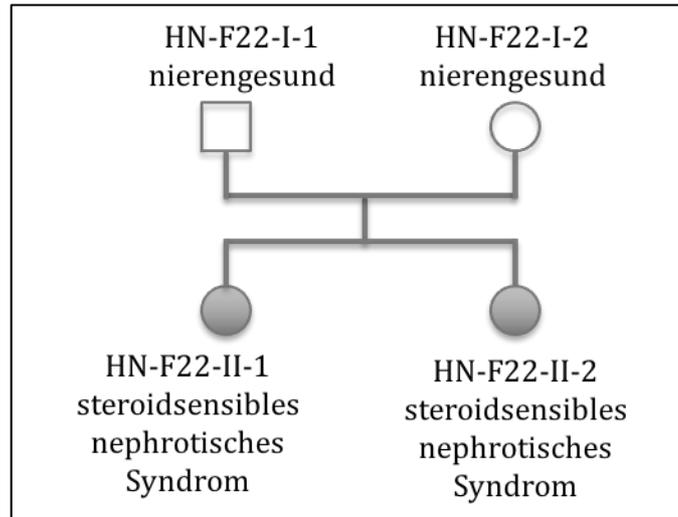
#### 3.3.1 F19

Die Indexpatientin (HN-F19-II-1) litt zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits an einer Niereninsuffizienz und daraus resultierender arterieller Hypertonie, linksventrikulärer Hypertrophie und sekundärem Hyperparathyreoidismus. Zusätzlich bestanden ein Wachstum unterhalb der dritten Perzentile und eine Hypertrichose. Eine Nierenbiopsie ergab das histologische Korrelat einer FSGS. Die Eltern (HN-F19-I-1) waren nicht konsanguin und nierengesund, ebenso war die weitere Familienanamnese bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig.



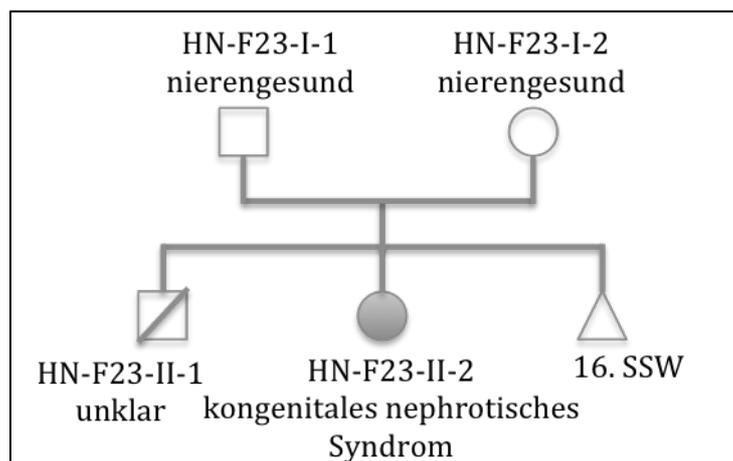
#### 3.3.2 F22

In dieser Familie waren beide Töchter gesunder Eltern (HN-F22-I-1 und HN-F22-I-1) an einem steroidsensiblen nephrotischen Syndrom erkrankt. Zum Zeitpunkt der Datenerfassung hatte die Indexpatientin (HN-F22-II-1) bereits das sechste Rezidiv erlitten. Als weitere Betroffene wurde die Schwester (HN-F22-II-2) angegeben. Die Eltern waren nicht konsanguin.



### 3.3.3 F23

Beide Kinder gesunder Eltern (HN-F23-I-1 und HN-F23-I-2) litten an einem kongenitalen nephrotischen Syndrom. Bereits bei der Geburt fielen bei der Indexpatientin (HN-F23-II-1) Lidödeme und ein aufgetriebener Bauch auf. Anamnestisch konnte ein älterer Bruder (HN-F23-II-2) erhoben werden, der im Alter von 1,5 Jahren mit Fieber und Erbrechen verstorben war. Die zugrundeliegende Erkrankung war unklar. Die Mutter war zum Zeitpunkt der Datenerhebung in der 16. Woche schwanger. Die Eltern waren nicht konsanguin, es konnten keine extrarenalen Manifestationen festgestellt werden.



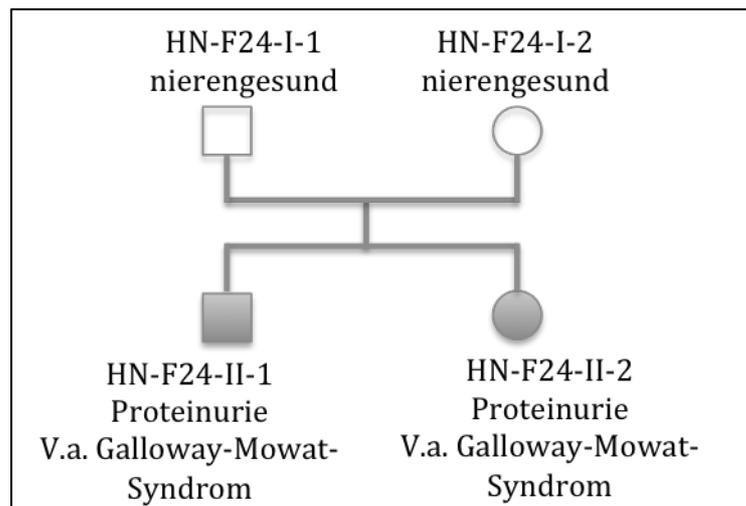
### 3.3.4 F24

In dieser Familie litten beide Kinder an einer Proteinurie. Beim Indexpatienten (HN-F24-II-1) wurde bioptisch die Diagnose einer FSGS gesichert, zum Zeitpunkt der Datenerhebung war er bereits dialysepflichtig. Zusätzlich bestanden einige extrarenale

Manifestationen, unter anderem ein Atriumseptumdefekt II°, eine Trikuspidalklappeninsuffizienz I° sowie eine muskuläre Hypotonie, eine Choanalstenose und Splenomegalie. Eine beidseitig bestehende Innenohrschwerhörigkeit wurde mit Hörgeräten versorgt. Zudem auffällig bei der Inspektion waren halonierte Augen, ein Strabismus convergens und eine Mikrozephalie. Aufgrund der Symptomkonstellation bestand der Verdacht auf ein Galloway-Mowat-Syndrom (s. 1.3.3 Glomerulopathien).

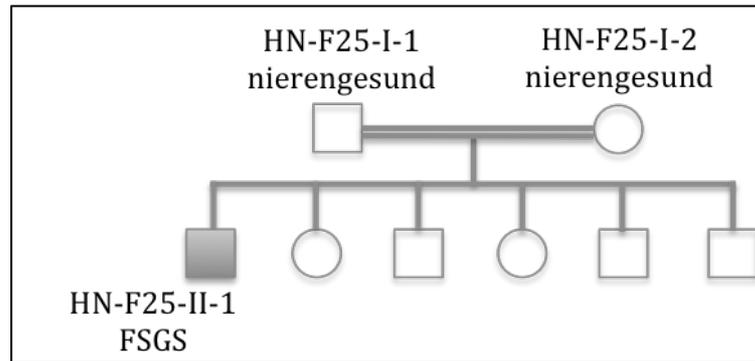
Auch bei der Schwester (HN-24-II-2) des Indexpatienten bestand bei einer ähnlichen klinischen Ausprägung der Verdacht auf ein Galloway-Mowat-Syndrom. Neben der Proteinurie lag ebenfalls eine mit Hörgerät behandelte Innenohrschwierigkeit vor. Eine Mikrozephalie wurde bereits im siebten Schwangerschaftsmonat festgestellt. Informationen zu weiteren extrarenalen Manifestationen lagen nicht vor.

Die Eltern waren nicht konsanguin, weitere Betroffene in der Familie waren nicht bekannt.



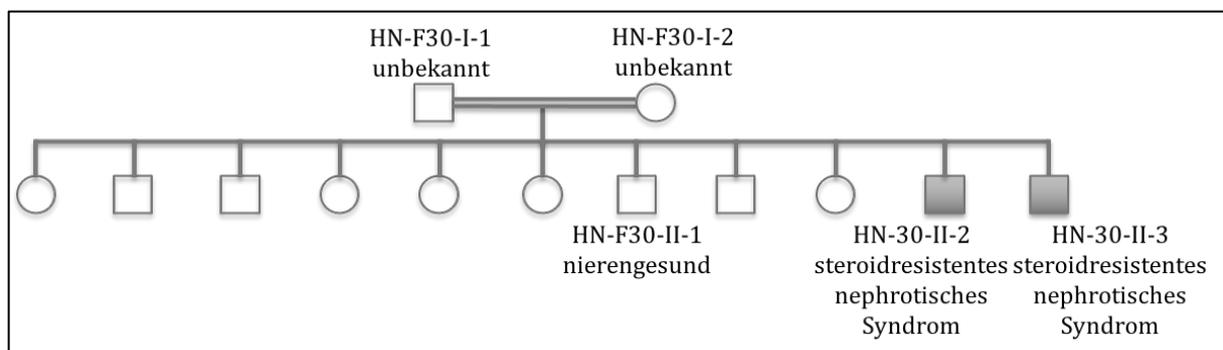
### 3.3.5 F25

Bei dem Indexpatienten (HN-F25-II-1) dieser Familie wurde bioptisch die Diagnose einer FSGS gesichert. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung litt er bereits an den Folgen der eingeschränkten Nierenfunktion, unter anderem einer arteriellen Hypertonie und einem sekundären Hyperparathyreoidismus. Weiterhin bestanden ein Eisenmangel und eine Hyperlipidämie. Im Verlauf war der Patient an einer Perikarditis und einer Epiphysiolysis capitis femoris erkrankt. Die Eltern (HN-F25-I-1 und HN-F25-I-2) waren konsanguin, der Vater war der Cousin ersten Grades des Vaters der Mutter.



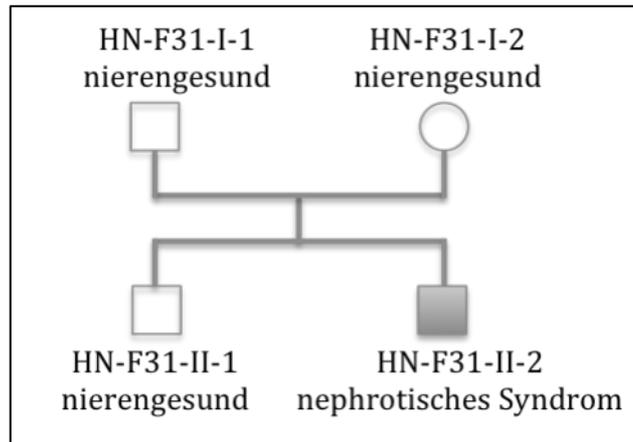
### 3.3.6 F30

In dieser Familie waren zwei Kinder konsanguiner Eltern (HN-F30-I-1 und HN-F30-I-2) an einem steroidresistenten nephrotischen Syndrom erkrankt. Beim Indexpatienten (HN-F30-II-3) war im Alter von vier Jahren eine Biopsie durchgeführt worden, die eine MCGN zeigte. Eine erneute Biopsie im Alter von zehn Jahren wies jedoch auf eine FSGS hin. Im Rahmen der eingeschränkten Nierenfunktion entwickelten sich ein sekundärer Hyperparathyreoidismus und eine renale Anämie. Als weiterer Betroffener wurde ein Bruder (HN-F30-II-2) angegeben. Bezüglich extrarenaler Manifestationen waren keine Angaben vorhanden. Ein weiterer Bruder (HN-F30-II-1) war nicht erkrankt, ebenso waren die anderen Geschwister nierengesund.



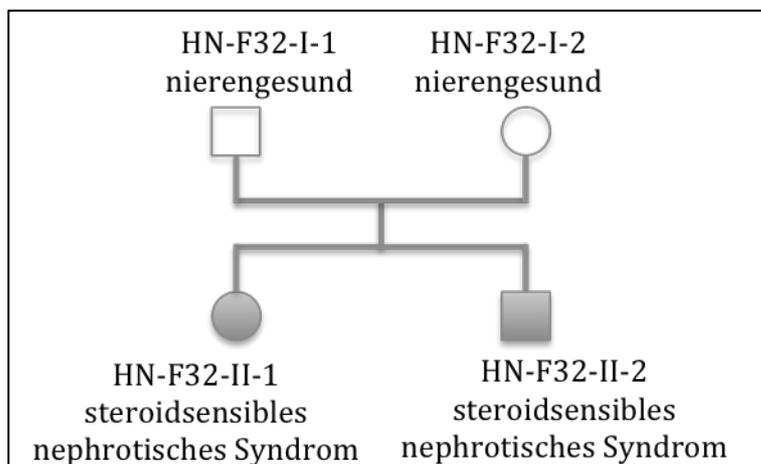
### 3.3.7 F31

Der Indexpatient (HN-F31-II-2) dieser Familie war an einem nephrotischen Syndrom erkrankt. Im Alter von dreizehn Jahren konnte eine komplette Remission unter Prednisolon erreicht werden. Skelett- oder andere extrarenale Auffälligkeiten bestanden nicht. Die Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen negativ, die Eltern waren nicht konsanguin.



### 3.3.8 F32

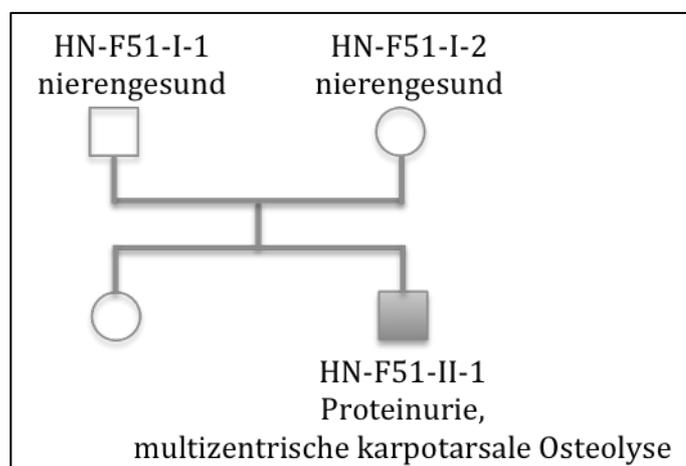
Bei der Indexpatientin (HN-F32-II-1) dieser Familie wurde im Alter von acht Jahren ein steroidsensibles nephrotisches Syndrom diagnostiziert. Im Rahmen der Erkrankung traten Lid- und Beinödeme sowie ein Aszites auf. Zusätzlich litt die Patientin an einem nicht atopischen Asthma bronchiale. In der Familienanamnese wurde der Bruder (HN-F32-II-2) als weiterer Betroffener angegeben. Die Eltern (HN-F32-I-1 und HN-F32-I-2) waren nicht konsanguin, es konnten keine Skelettauffälligkeiten oder andere Anomalien festgestellt werden.



### 3.3.9 F51

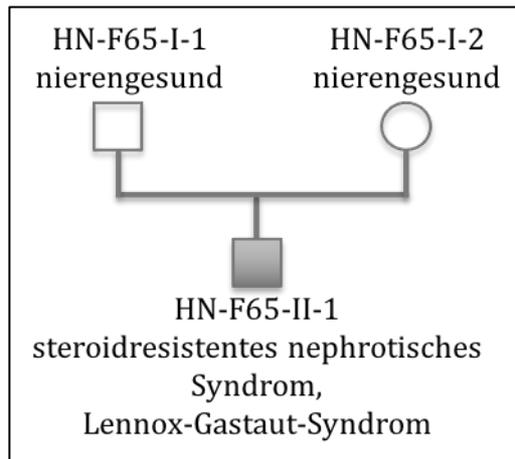
Beim Sohn (HN-F51-II-1) gesunder Eltern (HN-51-I-1 und HN-F51-I-2) bestand der Verdacht auf eine multizentrische karpotarsale Osteolyse. Diese seltene Erkrankung zeichnet sich durch aggressive Osteolysen vor allem im Bereich der karpalen und tarsalen Knochen aus. Sie ist häufig mit einer fortschreitenden Niereninsuffizienz assoziiert (Zankl et al. 2012). Im vorliegenden Fall wurden eine Proteinurie und eine kleine rechte Niere festgestellt. Als skelettale Deformitäten wurden zudem eine

Minusvariante der Ulna und verkürzte Finger beobachtet. Diese waren breit an der Basis und spitz zulaufend. Weitere Dysmorphiestigmata waren eine prominente Nasenwurzel mit kugeliger Nasenspitze, schmale Nasenflügel, ein diskreter Epikanthus, ein verlängertes Philtrum und ein verschmälertes Oberlippenrot. Die Daumenballen waren verdickt und bläulich verfärbt, zusätzlich waren die Hände teigig verändert und die Fußnägel bzw. Zehen hypoplastisch. Der Patient gab Schmerzen in den Handgelenken an. Anamnestisch konnten keine weiteren Erkrankten in der Familie festgestellt werden. Die Eltern waren nicht konsanguin.



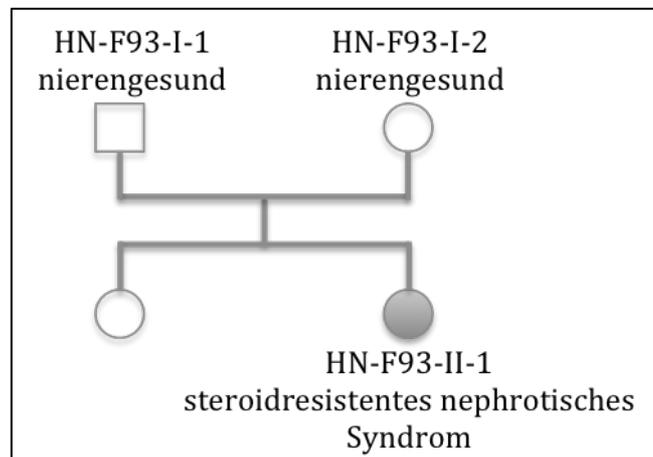
### 3.3.10 F65

Der Indexpatient (HN-F65-II-1) dieser Familie litt an einem steroidresistenten nephrotischen Syndrom, das erstmals durch eine Proteinurie auffiel. Die Nierenbiopsie zeigte eine zugrundeliegende FSGS. Beide Eltern (HN-F65-I-1 und HN-F65-I-2) waren nierengesund, weitere Betroffene in der Familie waren nicht bekannt. Als extrarenale Diagnose war ein Lennox-Gastaut-Syndrom mit enzephalopathischem Verlauf beschrieben. Das Lennox-Gastaut-Syndrom stellt ein heterogenes Epilepsie-Syndrom dar, das sich vor allem im Alter zwischen zwei und fünf Jahren manifestiert. Ätiologisch liegen der Erkrankung Hirnschädigungen zugrunde. In 80% der Fälle kommt es zu einer komplexen psychomotorischen Retardierung (Ernst 2008). Im Fall des Indexpatienten war zum Zeitpunkt der Datenerhebung eine Sprachentwicklungsstörung aufgetreten.



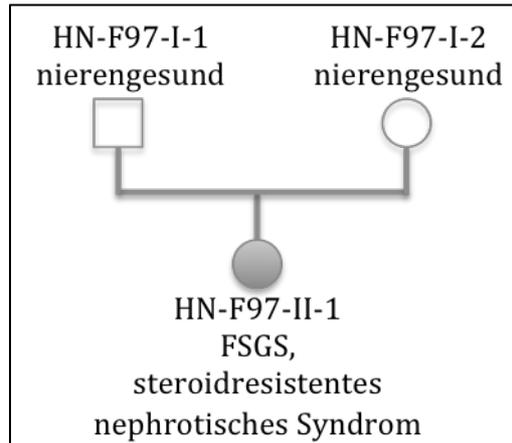
### 3.3.11 F93

Zum Zeitpunkt der Datenerfassung war die Tochter (HN-F93-II-1) dieser Familie bereits an einer Niereninsuffizienz erkrankt. Ursächlich dafür war ein steroidresistentes nephrotisches Syndrom. Im Alter von dreizehn Jahren wurde bioptisch eine MCGN festgestellt, zwei Jahre später jedoch eine FSGS in der Biopsie gesichert. Als extrarenaler Befund wurde eine eosinophile Ösophagitis festgestellt. Die Eltern (HN-F93-I-1 und HN-F93-I-2) waren nierengesund, die weitere Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig.



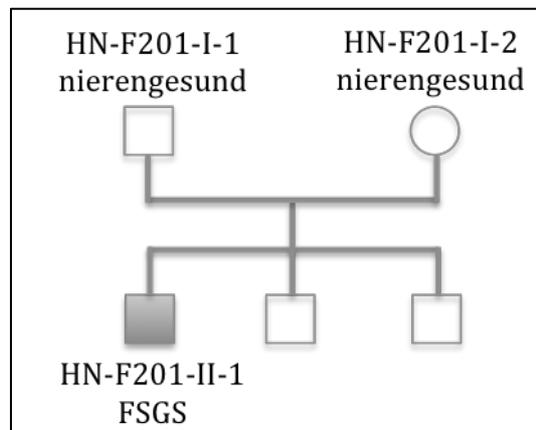
### 3.3.12 F97

Die Indexpatientin (HN-F97-II-1) dieser Familie war zum Zeitpunkt der Datenerfassung bereits zweimal nierentransplantiert worden. Ursächlich für den Verlust der Nierenfunktion war ein steroidresistentes nephrotisches Syndrom. Eine Biopsie der Eigenniere im Kindesalter ergab die Diagnose einer FSGS. Extrarenale Auffälligkeiten bzw. Skelettanomalien wurden nicht beobachtet, die Familienanamnese war bezüglich Nierenerkrankungen unauffällig.



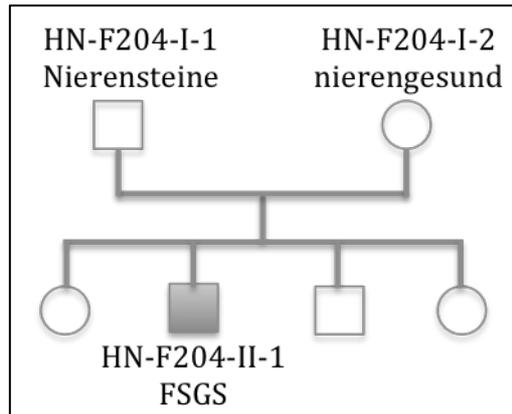
### 3.3.13 F201

Beim Sohn (HN-F201-II-1) gesunder Eltern (HN-F201-I-1 und HN-F201-I-2) hatte ebenfalls bereits die zweite Nierentransplantation stattgefunden. Zum Zeitpunkt der Datenerfassung war der Patient aufgrund einer Transplantatabstoßung dialysepflichtig. Die Biopsie der Eigenniere im Kleinkindalter zeigte eine FSGS als Ursache für den Verlust der Nierenfunktion. Extrarenal fielen eine Splenomegalie und Vitiligo auf. Neben dem Indexpatienten waren keine Betroffenen in der Familie bekannt.



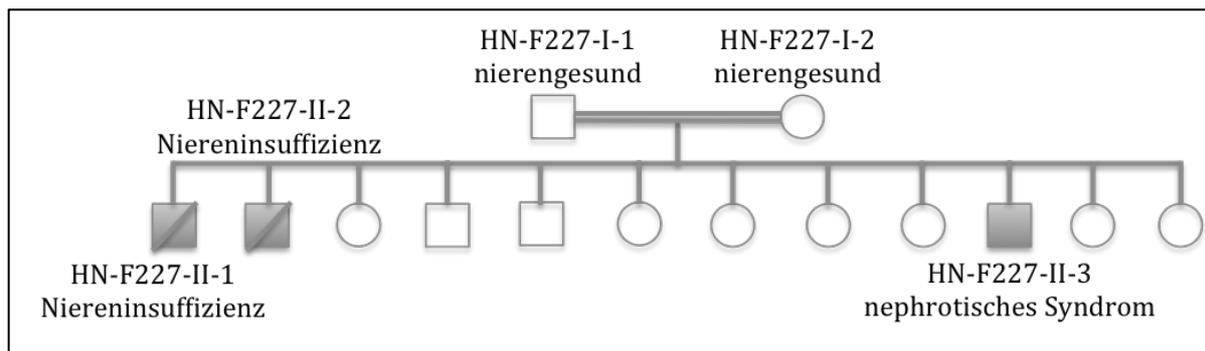
### 3.3.14 F204

Der Indexpatient (HN-F204-II-1) dieser Familie litt an einem steroidsensiblen nephrotischen Syndrom. Im Verlauf der Erkrankung hatte der Patient bereits mehrere Rezidive erlitten. In der ersten Nierenbiopsie im Kindesalter zeigte sich eine MCGN, in einer weiteren Biopsie zehn Jahre später wurde eine FSGS festgestellt. Nach einer Dialysepflichtigkeit von zwei Jahren erhielt der Patient eine Transplantatniere. Es waren keine extrarenalen Auffälligkeiten bekannt. Die Eltern (HN-F204-I-1 und HN-F204-I-2) waren nicht konsanguin. Anamnestisch konnte beim Vater das Vorliegen von Nierensteinen erhoben werden, die Mutter litt an einer Visuseinschränkung.



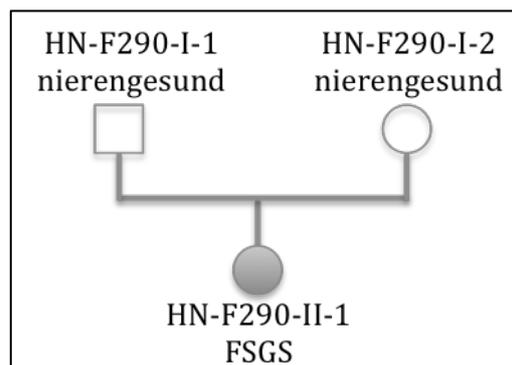
### 3.3.15 F227

In dieser Familie litt der Indexpatient (HN-F227-II-2) an einem nephrotischen Syndrom und erhielt im Alter von zwei Jahren eine Lebendnierenspende vom Vater. Die Eltern (HN-F227-I-1 und HN-F227-I-2) waren konsanguin und hatten weitere Söhne, die bereits im Kindesalter aufgrund einer Niereninsuffizienz verstorben waren. Erkrankungen anderer Organsysteme waren nicht bekannt.



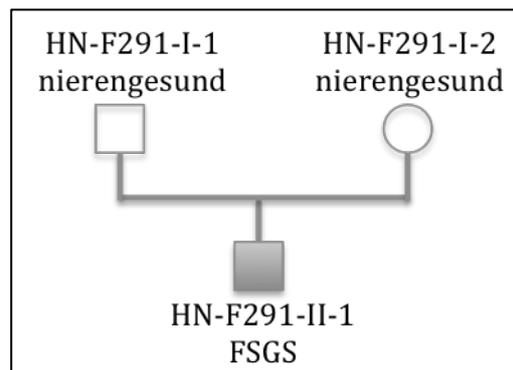
### 3.3.16 F290

In dieser Familie wurde bei der Tochter (HN-F290-II-1) gesunder, nicht konsanguiner Eltern (HN-F290-I-1 und HN-F290-I-2) eine FSGS festgestellt. In der Familie konnten keine weiteren Betroffenen eruiert werden. Abgesehen vom renalen Phänotyp konnten keine weiteren Auffälligkeiten gefunden werden.



### 3.3.17 F291

Beim Indexpatienten (HN-F291-II-1) wurde die FSGS durch eine Nierenbiopsie gesichert. Die Eltern (HN-F291-I-1 und HN-F291-I-2) waren nierengesund und nicht konsanguin. Als weiterer Erkrankter in der Familie wurde ein Onkel des Vaters identifiziert. Extrarenal lagen keine Auffälligkeiten vor, insbesondere skelettale Anomalien waren nicht vorhanden.



### 3.4 Molekulargenetische Analyse der Familien mit skelettalem Phänotyp

Der Fokus dieser Arbeit lag auf jenen Patienten mit einem zusätzlichen skelettalen Phänotyp. Hier konnten bei insgesamt 8 verschiedenen Familien eine Nierenerkrankung in Kombination mit skelettalen Fehlbildungen festgestellt werden. Diese Familien wurden im Rahmen dieser Arbeit molekulargenetisch mittels (Trio-) Exomsequenzierung untersucht. Im Folgenden werden die Ergebnisse erläutert.

#### 3.4.1 F18

Beim Indexpatienten war bereits im Vorfeld eine Chromosomenanalyse durchgeführt worden, allerdings mit unauffälligem Befund. Im Rahmen dieser Studie wurde eine Trio-Exomsequenzierung durchgeführt, die ebenfalls keine Auffälligkeiten ergab.

#### 3.4.2 F51

In der durchgeführten Exomsequenzierung wurde die pathogene Variante c.184A>G (p.(Thr62Ala)) im *MAFB*-Gen identifiziert. Varianten in diesem Gen wurden in der Literatur bereits als ursächlich für die multizentrische karpale Osteolyse beschrieben. Das Gen kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der eine Rolle in der Osteoklastendifferenzierung und -aktivierung sowie der renalen Entwicklung spielt (Zankl et al. 2012).

#### 3.4.3 F75

In der molekulargenetischen Untersuchung bei diesem Patienten mittels Exomsequenzierung konnte eine ursächliche pathogene Variante, die Deletion c.413\_419del (p.(Gly138Valfs\*40)) im *PBX1*-Gen, gefunden werden. *PBX1* stellt ein inzwischen bekanntes Krankheitsgen für CAKUT dar (s. Tabelle 1). Diese Variante konnte bei den Eltern mittels Sanger-Zieldiagnostik nicht nachgewiesen werden, demnach handelt es sich um eine *de novo*-Variante. Mutter und Sohn waren zusätzlich heterozygot für die Missense-Variante c.244T>A (p.(Phe816Tyr)) im Gen *SCN5A*. Dieses Gen kodiert für einen kardialen Natriumtransporter, Veränderungen führen unter anderem zu Herzrhythmusstörungen (Herfst et al. 2004). Die Herzfunktion des Indexpatienten war allerdings zum Zeitpunkt der Erfassung unauffällig. Dieser Fall wurde bereits in der Literatur veröffentlicht (Riedhammer et al. 2017).

#### 3.4.4 F80

Bei dieser Patientin konnte in der molekulargenetischen Untersuchung mittels Trio-Exomsequenzierung eine *de novo* entstandene 2942 Basenpaar lange Deletion im *SIX2*-Gen nachgewiesen werden. Varianten in diesem Gen sind dafür bekannt, Hypodysplasien der Nieren zu verursachen (s. Tabelle 1). Die Indexpatientin war heterozygot für diese Variante.

#### 3.4.5 F191

In der Exomsequenzierung der Indexpatientin konnte eine homozygote Deletion in einem Kandidatengen identifiziert werden. Die Eltern waren heterozygote Anlageträger, der betroffene Bruder wies die Deletion ebenfalls homozygot auf. Inzwischen konnten weitere Patienten mit diesem Krankheitsbild und homozygoten Varianten in dem Kandidatengen weltweit identifiziert werden. Eine Publikation diesbezüglich ist daher aktuell in Vorbereitung.

#### 3.4.6 F198

Die durchgeführte molekulargenetische Diagnostik mittels Duo-Exomsequenzierung beider Betroffener in der Familie zeigte die Varianten c.831-3C>G (p.(?)) und c.1285C>T (p.(Arg429\*)) im *BBS1*-Gen. Die Eltern waren jeweils heterozygot für beide Varianten, die Söhne homozygot dafür, wodurch die komplexe Ausprägung an Fehlbildungen erklärt werden kann. *BBS1* ist bereits bekannt als ursächliches Gen für das Bardet-Biedl-Syndrom (s. Abbildung 4). Die Vererbung erfolgte autosomal-rezessiv.

#### 3.4.7 F241

Beim Indexpatienten wurde eine Exomsequenzierung durchgeführt. Hierbei konnten keine Auffälligkeiten nachgewiesen werden.

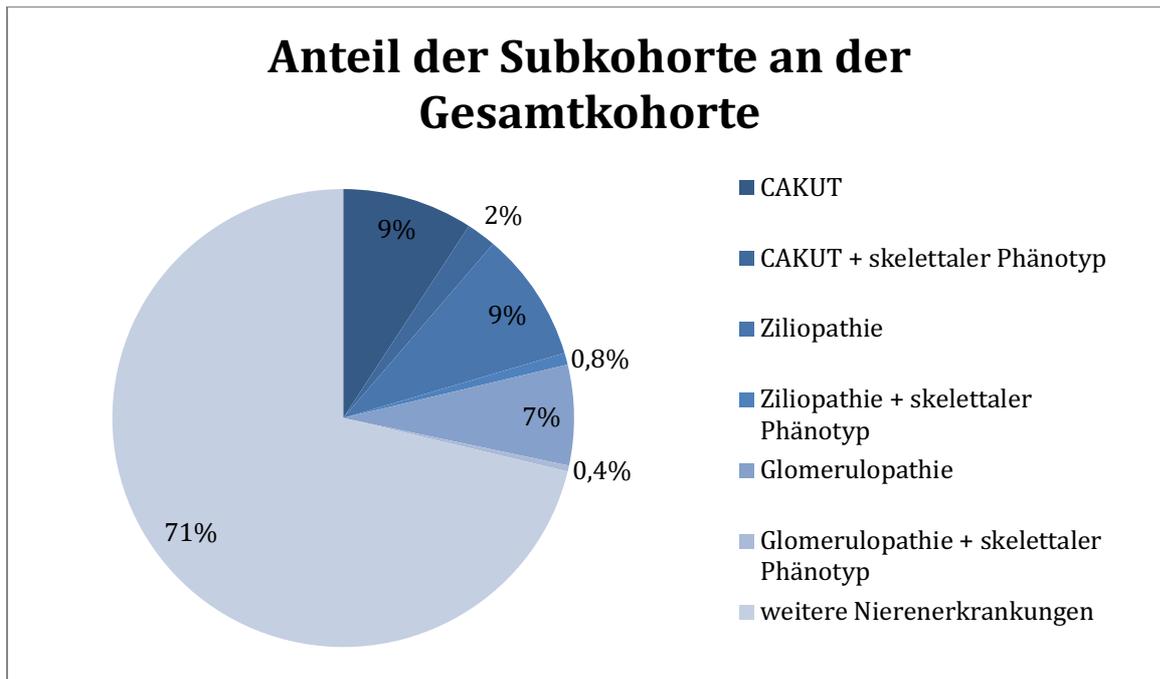
#### 3.4.8 F305

In der Familie wurde eine Trio-Exomsequenzierung durchgeführt, in welcher beim Indexpatienten die Variante c.661G>T (p.(Glu221\*)) im *PBX1*-Gen festgestellt werden konnte. Der Patient war heterozygot für diese pathogene Variante. *PBX1* ist ein bereits bekanntes CAKUT-Gen, das zusätzlich faziale und skelettale Anomalien verursachen

kann (s. Tabelle 1).

### 3.4.9 Zusammenfassung

Insgesamt konnte bei 2/8 (25%) Familien keine molekulargenetische Ursache identifiziert werden, 6/8 (75%) Familien wiesen eine molekulargenetische Ursache auf.



**Abbildung 12: Anteil der Subkohorte an der Gesamtkohorte (Zahlen gerundet)**

Wie bereits erwähnt, wurde die Subkohorte aus einer Gesamtkohorte von 240 betroffenen Patienten gewählt. Von den 69 Patienten der Subkohorte litten 27 Patienten an CAKUT, das entspricht einem Anteil von 11% an der Gesamtkohorte. Ein zusätzlicher skelettaler Phänotyp zeigte sich bei fünf der 27 Fälle, woraus sich ein Anteil von 2% an der Gesamtkohorte ergibt.

Bei zwei der 24 von einer Ziliopathie betroffenen Patienten wurde ein skelettaler Phänotyp beobachtet. Demnach waren 10% der Gesamtkohorte an einer Ziliopathie erkrankt, bei der Berücksichtigung von Skelettanomalien ergaben sich 0,8%.

Eine Glomerulopathie fand sich bei 18 der Probanden, 8% an der Gesamtkohorte. In dieser Gruppe konnte lediglich ein Patient mit Skelettanomalien beobachtet werden, hieraus ergibt sich ein Anteil von 0,4% an der Gesamtkohorte.

## 4. DISKUSSION

### 4.1 Rückblick auf Zielsetzung dieser Arbeit

Mit dieser Arbeit wurde eine Münchner Patientenkohorte mit einer höchstwahrscheinlich hereditären Nierenerkrankungen phänotypisch und molekulargenetisch untersucht. Hierbei wurde der Fokus insbesondere auf jene Probanden gelegt die an CAKUT, einer Ziliopathie oder einer Glomerulopathie erkrankt waren. Diese Erkrankungen können als isolierte und syndromale Form auftreten, wodurch die Klinik ein breites Spektrum an Symptomen umfasst (s. Kapitel 1.3 Krankheitsbilder). Auch bei den eingeschlossenen Patienten konnte diese Heterogenität festgestellt werden. Beinahe alle der in der Einleitung erläuterten klinischen Ausprägungen, die für die jeweiligen Erkrankungen beschrieben wurden, konnten im Patientenkollektiv beobachtet werden.

Ein besonderer Fokus lag auf einer Untergruppe von Patienten die an CAKUT, einer Ziliopathie oder einer Glomerulopathie erkrankt waren und zusätzliche skelettale Anomalien aufwiesen. In der untersuchten Kohorte waren acht Familien mit insgesamt zehn Patienten von einer Kombination dieser Phänotypen betroffen, wobei zwei Geschwisterpaare enthalten waren. Der Anteil der acht Indexpatienten an der Gesamtkohorte ist gering. Die untersuchte Kohorte schloss 240 Patienten mit ein, die alle aufgrund einer vermutlich bestehenden hereditären Erkrankung vorselektiert waren. Zur Veranschaulichung sind die betroffenen Patienten in Tabelle 4 zusammengefasst.

| Patient   | Gen           | Vererbung | Variante  | Zygotität | Diagnose                               | Alter bei Erstdiagnose | Renaler Phänotyp                              | Skelettaler Phänotyp   | Weiterer Phänotyp  | ACMG     | ClinVar  |
|---|---------------|-----------|---|-----------|--|------------------------|---|--|--|----------|--|
| HN-F18-II-1<br>Geschlecht unbekannt                   | -             | -         | -   | -         | CAKUT                                  | 24. SSW                | bilaterale Nierenagenesie                     | Mikrognathie   | Klumpfuß, hypoplastische Nasenflügel, flaches Philtrum, kurze und spitz zulaufende Finger, Fingerknöchelpolster                      | -        | -  |
| HN-F51-II-1<br>männlich                               | MAFB          | AD        | c.184A>G, p.(Thr62Ala) ( <i>de novo</i> )   | het       | multizentrische karpotarsale Osteolyse | 2 Jahre                | kleine rechte Niere, Proteinurie              | Minusvariante der Ulna, verkürzte Finger   | prominente Nasenwurzel mit kugelige Nasenspitze, schmale Nasenflügel, diskreter Epikanthus, verlängertes Philtrum, Oberlippenrot     | pathogen | nicht gelistet   |
| HN-F75-II-1<br>männlich                               | PBX1          | AD        | c.413_419del p.(Gly138Valfs*40) ( <i>de novo</i> )                                      | het       | CAKUT                                  | bei Geburt             | bilaterale Nierendysplasie                    | hypoplastische Claviculae, cleidocraniale Dysplasie, Klinodaktylie, Brachydaktylie des kleinen Fingers | sprachliche Entwicklungsverzögerung (IQ81), auditives Arbeitsgedächtnis (IQ77), Verarbeitungsgeschwindigkeit (IQ74)                  | pathogen | nicht gelistet   |
| HN-F80-II-1<br>weiblich                               | SIX2          | AD        | Deletion - mind. 2,9 kb das komplette Gen SIX2* eingeschlossen ( <i>de novo</i> )       | het       | CAKUT                                  | 6 Monate               | bilaterale Nierenhypoplasie                   | proportionierter Kleinwuchs  | ausgeprägte Visusminderung   | pathogen | nicht gelistet   |
| HN-F191-II-1<br>weiblich                              | Kandidatengen | AR        | Deletion in einem Kandidatengen   | hom       | Bardet-Biedl-like-Syndrome             | bei Geburt             | Nephropathie unklarer Ursache                 | dysproportionierter Kleinwuchs, Genu vara beidseits  | Mitralklappeninsuffizienz, Atriumseptumdefekt, persistierender Ductus arteriosus, pulmonale Hypertonie, bronchiale Hyperreagibilität | -        | -  |
| HN-F191-II-2<br>männlich<br>(Bruder von HN-F191-II-1) | Kandidatengen | AR        | Deletion in einem Kandidatengen   | hom       | Bardet-Biedl-like-Syndrom              | bei Geburt             | Nephropathie unklarer Ursache                 | dysproportionierter Kleinwuchs   | rezidivierende obstruktive Bronchitiden, Hepatomegalie   | -        | -  |
| HN-F198-II-1<br>männlich                              | BBS1          | AR        | compound heterozygot: c.831-3C>G, p.(?) und c..1285C>T, p. Arg429* (maternal, paternal) | hom       | Bardet-Biedl-Syndrom                   | 1 Jahr                 | VUR rechts                                    | Polydaktylie der Füße, Oligodaktylie der rechten Hand, Spalthand links                                 | Mikrozephalie, schwere globale Entwicklungsverzögerung, Analatresie, okulokutaner Albinismus mit schwerer Sehstörung                 | pathogen | c.831-3C>G: pathogen<br>c.1285C>T: wahrscheinlich pathogen |
| HN-F198-II-2<br>männlich<br>(Bruder von HN-F198-II-1) | BBS1          | AR        | compound heterozygot: c.831-3C>G, p.(?) und c..1285C>T, p. Arg429* (maternal, paternal) | hom       | Bardet-Biedl-Syndrom                   | bei Geburt             | hypoplastische Hufeisenniere                  | Hexadaktylie beider Hände und Füße, schmaler Thorax  | Leberzirrhose, Analatresie   | pathogen | c.831-3C>G: pathogen<br>c.1285C>T: wahrscheinlich pathogen |
| HN-F240-II-1<br>weiblich                              | -             | -         | -   | -         | Dysostosis multiplex                   | 2 Jahre                | Doppelniere rechts                            | Kleinwuchs   | grobe Gesichtszüge   | -        | -  |
| HN-F305-II-1<br>männlich                              | PBX1          | AD        | c.661G>T, p.Glu221* ( <i>de novo</i> )  | het       | CAKUT                                  | 1 Jahr                 | Nierenagenesie rechts, Nierenhypoplasie links | Kleinwuchs   | Choanalatresie, faziale Dysmorphiestigmata   | pathogen | nicht gelistet   |

Tabelle 4: Patienten mit renalen und skelettalem Phänotyp sowie ebenfalls betroffene Geschwister

#### 4.1 Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei CAKUT

Wie bereits erwähnt zählten zur Gruppe der an CAKUT-Erkrankten 27 Patienten. Fünf davon zeigten einen zusätzlichen skelettalen Phänotyp, das entspricht einem Anteil von 19% der gesamten CAKUT-Patienten.

In der Literatur ist die Kombination von CAKUT und skelettalen Anomalien bisher nur spärlich beschrieben. Studien zu extrarenalen Manifestationen bei CAKUT beziehen sich häufig nicht auf das gesamte CAKUT-Spektrum, sondern lediglich auf eine der verschiedenen Ausprägungen. So beobachteten Hertz et al. bei 11/22 Probanden mit gekreuzter renaler Nierenektomie Auffälligkeiten in der Lendenwirbelsäule bzw. einen Patienten mit fehlendem Os sacrum. Der Anteil an Patienten mit der Kombination CAKUT und Skelettauffälligkeiten an der Gesamtkohorte beträgt somit 50% und ist im Vergleich zum Anteil der in der Dissertation beschriebenen Kohorte (19%) sehr hoch. Diese Diskrepanz lässt sich eventuell durch den bereits diskutierten teratogenen Effekt bei gekreuzter renaler Dystopie erklären (Hertz et al. 1977).

Stoll et. al untersuchten extrarenale Manifestationen bei mit CAKUT geborenen Kindern in einem Zeitraum von 26 Jahren (1979-2004). Die häufigsten assoziierten Malformationen waren neben dem Skelett im kardiovaskulären System, dem Verdauungstrakt und im Nervensystem zu finden. Die Frequenz an skelettalen Anomalien betrug 97 bei insgesamt 563 von CAKUT und extrarenalen Auffälligkeiten betroffenen Kindern. Die 97 Patienten machen demnach einen Anteil von 17% an der Subkohorte aus. Der Anteil dieser 97 Probanden an der Gesamtkohorte (n=1678) beträgt 6% und ist somit deutlich niedriger als in der Studienkohorte dieser Dissertation (19%) (Stoll et al. 2014). Diese Beobachtung lässt sich eventuell durch die Differenz der untersuchten Patienten (1678 bzw. 27) erklären.

#### 4.2. Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei Ziliopathien

Die Anzahl der an Ziliopathie erkrankten Patienten betrug 24 von 69 Patienten der Subkohorte. Zwei davon präsentierten sich mit einem zusätzlichen skelettalen Phänotyp, was einen Anteil von 8% entspricht.

Die Ziliopathien umfassen ein breites Spektrum an syndromalen Erkrankungen und können mit verschiedenen extrarenalen Manifestationen einhergehen (s. Kapitel 1.3.2 Ziliopathien). Demnach soll nun vor allem auf jenes Syndrom, das auch in der Studienpopulation mit Skelettanomalien assoziiert war, eingegangen und mit den Ergebnissen in der Literatur verglichen werden. In beiden Familien, in denen Betroffene mit einem renalen und einem skelettalen Phänotyp auftraten, waren ein Bardet-Biedl-Syndrom bzw. eine dem Bardet-Biedl-Syndrom ähnliche Erkrankung zugrundeliegend.

Die Angaben zur Prävalenz von Nierenerkrankungen im Rahmen eines Bardet-Biedl-Syndroms variiert. Sie wird in der Literatur zwischen 53-82% angegeben (Forsythe et al. 2018). Da ein Einschlusskriterium der Studienkohorte eine hereditäre Nierenerkrankung war, zeigte sich bei allen in der Dissertation untersuchten Patienten mit Bardet-Biedl-Syndrom eine renale Manifestation.

Ebenso variabel sind die Angaben zur Häufigkeit skelettaler Manifestationen bei einem Bardet-Biedl-Syndrom. Rudling et. al untersuchten radiologisch Hände und Füße von 43 skandinavischen Patienten mit mindestens drei der typischen Zeichen eines Bardet-Biedl-Syndroms: Retinadystrophie, Adipositas, Polydaktylie, Hypogonadismus und geistige Retardierung. 33 der 43 Patienten (77%) zeigten eine Polydaktylie. Die Polydaktylie war in allen Fällen postaxial, demnach auf der ulnaren Seite der Hand bzw. der fibulären Seite der Füße zu finden (Rudling et al. 1996).

In der Subkohorte der Studienpopulation trat in einer Familie ein molekulargenetisch gesichertes Bardet-Biedl-Syndrom auf (F198), in einer Familie war eine dem Bardet-Biedl-Syndrom ähnliche Erkrankung aufgetreten (F191). In diesen beiden Fällen konnte ein molekulargenetisches Korrelat gefunden werden. Beim Indexpatienten einer dritten Familie bestand lediglich der Verdacht (F99). Im Folgenden soll auf die beiden molekulargenetisch gelösten Fälle eingegangen werden. Die Indexpatientin von F191 litt an einem dysproportionierten Kleinwuchs und an Genu vara beidseits. Beim Indexpatienten von F198 wurden eine fibuläre Polydaktylie beidseits, eine Oligodaktylie der rechten Hand und Spalthandbildung links beobachtet.

Ein Vergleich zur Literatur kann nicht direkt gezogen werden, da in Studien meist lediglich die einzelnen Syndrome und Krankheitsbilder, die der Begriff „Ziliopathie“ umfasst, untersucht werden. Aufgrund der geringen Anzahl an Ziliopathie-Patienten mit Skelettauffälligkeiten kann hier keine sichere Aussage getroffen werden.

#### 4.3. Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei Glomerulopathie

In der Subkohorte wurden 18 Patienten mit einer Glomerulopathie erfasst. Einer der 18 Probanden zeigte einen zusätzlichen skelettalen Phänotyp, daraus ergibt sich ein Anteil von 6%.

Die Kombination eines renalen und skelettalen Phänotyps mit der Grunderkrankung einer syndromalen Glomerulopathie ist bisher vor allem im Rahmen des Schimke-Syndroms beschrieben (s. Kapitel 1.3.3.1 Glomerulopathien und Skelettauffälligkeiten). Diesbezüglich konnte kein Fall in der Studienpopulation beobachtet werden.

Beim eingangs erwähnten Patienten mit der Kombination einer Glomerulopathie und Skelettdeformitäten wurden eine Minusvariante der Ulna und verkürzte Finger beobachtet. Renal auffällig war eine große Proteinurie. Eine Nierenbiopsie war nicht erfolgt, weshalb die zugrundeliegenden histologischen Veränderungen unbekannt waren. Molekulargenetisch konnte aufgrund des Nachweises einer pathogenen Variante in *MAFB* die Diagnose einer multizentrischen karpotarsalen Osteolyse (MCTO) gestellt werden.

Zankl et al. publizierten im Jahr 2012 eine Studie über elf Patienten, die an einer autosomal-dominant vererbten MTCO erkrankt waren. Bei jedem Individuum waren für die MTCO typische radiologische Veränderungen vorhanden, wie die Destruktion der Karpalknochen, aber relativ gut erhaltenen Metakarpalknochen und Phalangen. Bei fünf Patienten hatte bereits eine Nierentransplantation stattgefunden, drei litten an einer eingeschränkten Nierenfunktion, waren aber noch nicht dialysepflichtig. Die übrigen drei Patienten, die allerdings alle unter sieben Jahre alt waren, zeigten eine bis dato unauffällige Funktion der Nieren. Demnach lag bei acht der Individuen die Kombination aus Skelettanomalien und einem auffälligen renalen Phänotyp vor, daraus ergibt sich ein Anteil von 73% (Zankl et al. 2012).

Im Tiermodell untersuchten Moriguchi et al. die Funktion von *MAFB* bei der Nierenentwicklung und in den Makrophagen. Bei homozygoten Mäusen wurden im Vergleich zu heterozygoten Mäusen weniger differenzierte Glomeruli und eine Dysgenese der Tubuli mit Zystenformation festgestellt. Außerdem wurden ein dystrophes Aussehen der Nieren und Oberflächenblutungen beschrieben (Moriguchi et al. 2006).

#### 4.4. Frequenz skelettaler Auffälligkeiten bei Patienten mit hereditären Nierenerkrankungen

Die untersuchte Subkohorte enthielt 69 Patienten, die einen auffälligen renalen Phänotyp in Form von CAKUT, einer Ziliopathie oder einer Glomerulopathie zeigten. Bei acht davon wurden zusätzliche skelettale Anomalien beobachtet, das entspricht einem Anteil von 12%.

Die drei Krankheitsentitäten umfassen wiederum ein breites Spektrum an verschiedenen Ausprägungen. Wie bereits erwähnt, wurden Studien zu extrarenalen Manifestationen meist lediglich in Bezug auf ein spezifisches Syndrom oder eine spezifische renale Fehlbildung durchgeführt. Generelle Zahlen zu hereditären Nierenerkrankungen in Kombination mit skelettalem Phänotyp existieren bisher nicht, weshalb sich die Ergebnisse nicht mit der Literatur abgleichen lassen. Deutlich wird jedoch, dass eine genaue Anamnese wie in den verwendeten Fragebögen und dadurch kritische Indikationsstellung für die Exomsequenzierung, die Detektionsrate wesentlich erhöht.

#### 4.5 Vorteile und Nachteile der (Trio-)Exomsequenzierung

Das Exom stellt die Gesamtheit aller proteinkodierenden Anteile der DNA eines Lebewesens dar. Die Exomsequenzierung untersucht spezifisch diese Abschnitte und wird mittlerweile als Standardmethode in der Diagnostik von seltenen, unspezifischen und bisher unbekanntem Erkrankungen verwendet. Der Vorteil der Exomsequenzierung im Gegensatz zu anderen molekulargenetischen Untersuchungsmethoden ist die spezifische Analyse des Exoms, in dem sich die Mehrzahl der ursächlichen pathogenen Varianten befinden. Nach Vergleich des Exoms eines Individuums mit dem

Referenzgenom und Ausschluss nicht pathogener Veränderungen bleiben noch durchschnittlich 100 unbekannte Varianten übrig. Die tatsächlich ursächlichen Varianten können sich dann entweder in bereits bekannten Krankheitsgenen befinden oder auch in Kandidatengen, also Genen, die bisher nicht mit einer Erkrankung assoziiert wurden. So ermöglicht die Exomsequenzierung auch die Diagnostik seltener hereditärer Krankheitsbilder. Die Detektionsrate ist zudem steigend, da kontinuierlich neue, benigne Varianten in den Datenbanken erfasst werden.

Im Rahmen der Trio-Exomsequenzierung wird neben dem Indexpatienten zusätzlich das Exom der Eltern analysiert. Durch einen Vergleich mit der elterlichen DNA wird die Identifizierung pathogener Varianten deutlich vereinfacht. Somit ist es möglich, *de novo*-Varianten oder einen autosomal-rezessiven Erbgang mit homozygoten oder compound-heterozygoten Varianten zu diagnostizieren.

Ein Nachteil ergibt sich dadurch, dass nicht alle Anteile des Genoms berücksichtigt werden. Es besteht eine begrenzte Sensitivität, da pathogene Varianten in bis zu 5% der kodierenden Sequenzen nicht erkannt werden.

Eine weitere, vor allem ethische Problematik stellt die große Anzahl an Information dar, die durch eine Exomsequenzierung erfasst werden. Im Gegensatz zu anderen Methoden wird die Suche nach pathogenen Varianten nicht auf einzelne Gene beschränkt, sondern das gesamte Exom untersucht. Dadurch werden auch Daten erhoben, die nicht primär zur Beantwortung des ursprünglichen Sachverhaltes benötigt werden. Dazu zählen beispielsweise genetische Risikofaktoren für Tumorerkrankungen, Varianten mit Einfluss auf die Verstoffwechselung von Medikamenten oder Varianten für andere monogene Erkrankungen, die sich zum Zeitpunkt der Analyse noch nicht manifestiert haben. Im Rahmen der genetischen Beratung muss daher über das Auffinden von Zufallsbefunden, die in 1-2% der untersuchten Individuen zu beobachten sind aufgeklärt werden (Green et al. 2013, Zschocke 2018).

Dieser Nebeneffekt trat auch in der Subkohorte auf. So konnte beispielsweise in F75 beim Indexpatienten sowie der Mutter mit der Entdeckung einer Variante im *SCN5A-Gen* ein Zusatzbefund erhoben werden. Zwar nicht bei der Indexpatientin, aber bei der Mutter von F262 zeigte sich im Rahmen der Trio-Exomsequenzierung eine genetische

Variante als Ursache für das frühe Auftreten eines Rektumkarzinoms. Demnach stellen die Zusatzbefunde zwar ein seltenes, aber nicht zu vernachlässigendes Problem dar.

Groopman et al. untersuchten den Nutzen der Exomsequenzierung bei 3315 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz. Die Ursache der Niereninsuffizienz war bei 281 Individuen unklar. Insgesamt konnten in 307 Fällen diagnostische Varianten identifiziert werden, was einer Detektionsrate von 9% entspricht. Bei Betrachtung der 281 Patienten mit unklarer Genese ergaben sich diagnostische Varianten in 48 aller Fälle. Demnach erhöhte sich die Ergebnisrate in dieser Subgruppe auf 17%. Diese Ergebnisse verdeutlichen erneut die hohe genetische Heterogenität bei hereditären Nierenerkrankungen (Groopman et al. 2019). Die Heterogenität bezeichnet das Phänomen, dass Varianten in verschiedenen Genen oder Allelen zu einer ähnlichen phänotypischen Ausprägung führen können (Scriver 2006).

Auch die in der Subkohorte beschriebenen hereditären Nierenerkrankungen veranschaulichen die hohe Heterogenität und klinische Variabilität. Das Stellen einer konkreten Diagnose scheint erschwert, was wiederum die Einleitung einer adäquaten Diagnostik verkompliziert. Bei Hinzukommen einer weiteren klinischen Manifestation wie den Skelettauffälligkeiten steigen Heterogenität und Variabilität erneut (s. Tabelle 4).

Obwohl CAKUT, Ziliopathien und Glomerulopathien verschiedene Krankheitsentitäten darstellen, zeigen sich häufig Überschneidungen. So können dieselben Gene die Ausprägung verschiedener renaler Phänotypen bedingen. Diese Beobachtung konnte in der Studienpopulation bestätigt werden. Ein Beispiel: bei beiden Brüdern von F198 lag dieselbe pathogene Variante vor, der Phänotyp war jedoch variabel. Die zugrundeliegende Erkrankung war ein Bardet-Biedl-Syndrom, das zwar zu den Ziliopathie-Syndromen gerechnet wird, im Fall der Brüder zeigte sich jedoch ein renaler Phänotyp des CAKUT-Spektrums.

Bei zwei Patienten zeigte sich eine Variante im *PBX1*-Gen (s. Tabelle 4). Die Beobachtung, dass Varianten in diesem Gen mit skelettalen Auffälligkeiten assoziiert sind (s. Kapitel 1.3.1.5 CAKUT und Skelettauffälligkeiten), kann durch diese Studie demnach bestätigt werden. Obwohl dasselbe Gen betroffen war, zeigte sich ein variabler klinischer Phänotyp.

Die Exomsequenzierung stellt in solchen Fällen eine sinnvolle und bedeutsame diagnostische Methode dar, bei der untersuchten Subkohorte konnte in 75% der Fälle eine ursächliche pathogene Variante identifiziert werden.

#### 4.6 Limitationen der Studie

Der Anteil der Patienten mit renalem und skelettalem Phänotyp an der gesamten Subkohorte scheint mit 12% hoch, allerdings ist die Fallzahl mit lediglich acht Individuen insgesamt eher gering. Hinzu kommt, dass bei jedem der Fälle eine andere ursächliche pathogene Variante identifiziert wurde. Diese Tatsache erschwert es, einen Vergleich zu ziehen. Eine prognostische Aussage ist durch die geringe Zahl nicht möglich. Die Studie müsste auf eine größere Kohorte ausgeweitet werden, um eine valide Aussage treffen zu können.

Nichtsdestotrotz konnte die Studie einige bisher in der Literatur beschriebene Beobachtungen bestätigen und erneut die Heterogenität hereditärer Nierenerkrankungen verdeutlichen.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die chronische Niereninsuffizienz (CNI) im Kindes- und Jugendalter ist in Deutschland eine seltene, aber prognostisch ungünstig verlaufende Erkrankung. Ätiologisch spielen vor allem angeborene Erkrankungen eine Rolle, unter anderem kongenitale Fehlbildungen der Nieren und der ableitenden Harnwege (congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT), Ziliopathien und Glomerulopathien.

In der Studie wurden Genotyp und Phänotyp einer Münchner Kohorte analysiert und eine mögliche Korrelation untersucht. Aufgrund einer bis dato mangelnden Beschreibung in der Literatur wurde ein besonderer Fokus auf Patienten mit einem renalen und zusätzlich skelettalen Phänotyp gelegt.

Eingeschlossen wurden familiäre Fälle (neben erkranktem Individuum betroffene Verwandte und/oder Konsanguinität), Patienten mit syndromalen Erkrankungen und jene, die an isolierter, sporadischer CAKUT mit bilateraler Beteiligung litten. Mithilfe eines standardisierten Fragebogens wurde der genaue Krankheitsverlauf erfasst. Anhand der Informationen konnte nach der molekulargenetischen Diagnostik eine Korrelation zu gefundenen Varianten untersucht werden.

Insgesamt konnten Daten von 240 Familien mit 645 Individuen erhoben werden, 240 davon waren betroffene Patienten, die anderen Verwandte (betroffen und gesund). Die untersuchte Subkohorte enthielt 69 Patienten, diese zeigten das klinische Bild von CAKUT, einer Ziliopathie oder einer Glomerulopathie. Bei acht davon konnten zusätzliche skelettale Fehlbildungen festgestellt werden. Die Verteilung war wie folgt: fünf litten an CAKUT, zwei an einer Ziliopathie und ein Patient an einer Glomerulopathie.

Bei 6 von 8 Patienten konnte eine ursächliche pathogene Variante identifiziert werden, das entspricht einer Detektionsrate von 75%. Durch die Analyse der Phänotypen und Genotypen konnte die Studie die hohe Heterogenität und Variabilität von hereditären Nierenerkrankungen hervorheben, vor allem bei zusätzlicher Fokussierung auf extrarenale Manifestationen, wie Skelettanomalien.

## ABSTRACT

Chronic kidney disease in childhood and adolescence occurs with an incidence of 100 to 200 per year in Germany. Despite the rare occurrence, it is a serious condition as prognosis is poor and treatment is costly. The most frequent causes of kidney disease at a young age are hereditary nephropathies such as congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT), ciliopathies and glomerulopathies. These disease entities are known to present with a vast variety of clinical expression. One kind of extrarenal manifestation, that has been barely described in literature so far, are skeletal anomalies. Thus, this study examined the combination of these two phenotypes in correlation to the genotypes.

The included patients had to meet at least one of the following criteria: patients with a syndromic phenotype, a bilateral affection, a positive family history and/or consanguineous parents. Data was acquired using a standardized questionnaire. Patient DNA as well as occasionally DNA of family members was analyzed using exome sequencing.

Data of a total of 240 families containing 645 individuals was gathered. There were 240 affected index patients, while the others were family members (affected and healthy). The examined subgroup consisted of 69 people, all of which presented the clinical picture of CAKUT, a ciliopathy or a glomerulopathy. Eight of them showed an additional skeletal phenotype, which amounts to 12%. The distribution of the mentioned hereditary kidney diseases was as follows: five suffered from CAKUT, two from a syndromic ciliopathy and one of a glomerulopathy.

In 6 out of 8 patients, a pathogenic variant could be identified. In one individual a candidate gene was discovered. This amounts to 75% solved cases. Analyzing the patients' phenotypes and genotypes, the study once more underlined the heterogeneity and variability of hereditary kidney disorders, especially when emphasizing on extrarenal manifestations such as skeletal anomalies.

## LITERATURVERZEICHNIS

- Adams, M., Smith, U. M., Logan, C. V. und Johnson, C. A.:** Recent advances in the molecular pathology, cell biology and genetics of ciliopathies. *Journal of Medical Genetics* 45(5): 257-267, 2008
- Amann, K., Büscher, A. K., Licht, C., Pohl, M., Riedl, M., Weber, S. und Weber, L. T.:** Glomeruläre Erkrankungen, *Nierenerkrankungen im Kindes- und Jugendalter*. Dötsch, J. und Weber, L. T. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 69-123, 2017
- Badano, J. L., Mitsuma, N., Beales, P. L. und Katsanis, N.:** The ciliopathies: an emerging class of human genetic disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 7: 125-148, 2006
- Baumbusch, F. und Beck, L.:** Komplikationen bei Harnleiterverdoppelung (Ureter duplex). *Der Gynäkologe* 39(8): 656, 2006
- Becker, F.:** Embryologie, Organogenese und Anomalien des Urogenitaltraktes, *Häufige urologische Erkrankungen im Kindesalter: Klinik Diagnose Therapie*. Darmstadt, Steinkopff: 3-11, 2008
- Beetz, R.:** Konnatale Uropathien, *Pädiatrische Nephrologie*. Schäfer, K. und Mehls, O. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 301-325, 2002
- Benz, M. R. und Kemper, M. J.:** Nephrotisches Syndrom im Kindesalter. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 163(4): 310-322, 2015
- Bergmann, C., Guay-Woodford, L. M., Harris, P. C., Horie, S., Peters, D. J. M. und Torres, V. E.:** Polycystic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers* 4(1): 50, 2018
- Brand-Saberi, B. und Ulfig, N.:** Allgemeine Embryologie, *Kurzlehrbuch Embryologie*. Ulfig, N. und Brand-Saberi, B., Georg Thieme Verlag. (3): 34, 2017
- Brand-Saberi, B. und Ulfig, N.:** Urogenitalsystem, *Kurzlehrbuch Embryologie*. Ulfig, N. und Brand-Saberi, B., Georg Thieme Verlag. (3): 115-119, 2017
- Conrad, S., Stein, R. und Thüroff, J.:** Fehlbildungen des Urogenitaltraktes und Kinderurologie, *Urologie*, Springer, Berlin, Heidelberg. (5): 361-435, 2014
- Davenport, J. R. und Yoder, B.:** Davenport JR, Yoder BKAn incredible decade for the primary cilium: a look at a once-forgotten organelle. *Am J Physiol Renal Physiol* 289:F1159-F1169, 2006
- Ernst, J.-P.:** Langzeitverläufe von West- und Lennox-Gastaut-Syndrom. *Zeitschrift für Epileptologie* 21(1): 26-29, 2008
- Forsythe, E., Kenny, J., Bacchelli, C. und Beales, P. L.:** Managing Bardet–Biedl Syndrome—Now and in the Future. *Frontiers in Pediatrics* 6(23), 2018

- Frohneberg, D. und Westermann, D.:** Embryologie – Entwicklung des Urogenitalsystems, *Urologie*. Hautmann, R. und Gschwend, J. E. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 1-11, 2014
- Gasser, T.:** Wichtige Anomalien der Urogenitalorgane, *Basiswissen Urologie*, Springer, Berlin, Heidelberg. (6): 33-46, 2015
- Green, R. C., Berg, J. S., Grody, W. W., Kalia, S. S., Korf, B. R., Martin, C. L., McGuire, A. L., Nussbaum, R. L., O'Daniel, J. M., Ormond, K. E., Rehm, H. L., Watson, M. S., Williams, M. S. und Biesecker, L. G.:** ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 15(7): 565-574, 2013
- Groopman, E. E., Marasa, M., Cameron-Christie, S., Petrovski, S., Aggarwal, V. S., Milo-Rasouly, H., Li, Y., Zhang, J., Nestor, J., Krithivasan, P., Lam, W. Y., Mitrotti, A., Piva, S., Kil, B. H., Chatterjee, D., Reingold, R., Bradbury, D., DiVecchia, M., Snyder, H., Mu, X., Mehl, K., Balderes, O., Fasel, D. A., Weng, C., Radhakrishnan, J., Canetta, P., Appel, G. B., Bomback, A. S., Ahn, W., Uy, N. S., Alam, S., Cohen, D. J., Crew, R. J., Dube, G. K., Rao, M. K., Kamalakaran, S., Copeland, B., Ren, Z., Bridgers, J., Malone, C. D., Mebane, C. M., Dagaonkar, N., Fellström, B. C., Haefliger, C., Mohan, S., Sanna-Cherchi, S., Kiryluk, K., Fleckner, J., March, R., Platt, A., Goldstein, D. B. und Gharavi, A. G.:** Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease. *N Engl J Med* 380(2): 142-151, 2019
- Haffner, D. und Petersen, C.:** Niere und Harnwege interdisziplinär, *Pädiatrie*. Speer, C. P., Gahr, M. und Dötsch, J. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 607-642, 2019
- Harita, Y.:** Application of next-generation sequencing technology to diagnosis and treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Clinical and Experimental Nephrology* 22(3): 491-500, 2018
- Harris, P. C. und Czarnecki, P. G.:** Ziliopathien. *medizinische genetik* 21(1): 14-20, 2009
- Haumann, S., Burgmaier, K., Bergmann, C., Müller, R. U. und Liebau, M. C.:** Erbliche Zystennierenerkrankungen: Autosomal-dominante und autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD und ARPKD). *medizinische genetik* 30(4): 422-428, 2018
- Heeringa, S. F. und Hildebrandt, F.:** Monogene Ursachen des nephrotischen Syndroms. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 157(3): 218-225, 2009

**Hellenbroich, Y., Frost, S. K. und Gillessen-Kaesbach, G.:** Klinik und Genetik des Joubert-Syndroms. *medizinische genetik* 22(3): 345-350, 2010

**Herfst, L. J., Rook, M. B. und Jongsma, H. J.:** Trafficking and functional expression of cardiac Na<sup>+</sup> channels. *J Mol Cell Cardiol* 36(2): 185-193, 2004

**Herold, G. u. M.:** Glomerulonephritiden mit Nephrotischem Syndrom (Spezieller Teil), *Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung: Unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung : mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis.* Köln, Gerd Herold Verlag: 613-614, 2013

**Hertz, M., Rubinstein, Z. J., Shahin, N. und Melzer, M.:** Crossed renal ectopia: Clinical and radiological findings in 22 cases. *Clinical Radiology* 28(3): 339-344, 1977

**Inc., I.:** Illumina Sequencing Technology. *Sequencing, T. S. I.,* Illumina Inc., San Diego, 2010

**John, U., Mentzel, H.-J. und Stehr, M.:** Harntransportstörungen und Harnwegsinfektionen, *Nierenerkrankungen im Kindes- und Jugendalter.* Dötsch, J. und Weber, L. T. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 3-68, 2017

**Kemper, M. J., Müller-Wiefel, D. E. und Tönshoff, B.:** Nephrotisches Syndrom bei Kindern. *Der Nephrologe* 10(5): 368-372, 2015

**Klaassen, I. K., M.:** Oligohydramnion - Immer eine infauste Prognose? *Monatsschrift Kinderheilkunde* 158(12): 1224-1230, 2010

**König, J., Habbig, S. und Liebau, M. C.:** Management von Ziliopathien im Kindes- und Jugendalter. *Der Nephrologe*, 2019

**Kosfeld, A., Martens, H., Hennies, I., Haffner, D. und Weber, R. G.:** Kongenitale Anomalien der Nieren und ableitenden Harnwege (CAKUT). *Medizinische Genetik* 30(4): 448-460, 2018

**Krajewski, W., Wojciechowska, J., Dembowski, J., Zdrojowy, R. und Szydelko, T.:** Hydronephrosis in the course of ureteropelvic junction obstruction: An underestimated problem? Current opinions on the pathogenesis, diagnosis and treatment. *Advances in Clinical and Experimental Medicine* 26(5): 857-864, 2017

**Kuß, A. W.:** Next Generation Sequencing. *medizinische genetik* 26(2): 229-230, 2014

**Lange-Sperandio, B. und Dötsch, J.:** Chronische Niereninsuffizienz im Kindesalter. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 161(11): 988-994, 2013

**Lazarus, J. V., H.:** Duplex Kidney, *ABC of Pediatric Surgical Imaging,* Springer, Berlin, Heidelberg: 34-36, 2010

- Lei, T. Y., Fu, F., Li, R., Wang, D., Wang, R. Y., Jing, X. Y., Deng, Q., Li, Z. Z., Liu, Z. Q., Yang, X., Li, D. Z. und Liao, C.:** Whole-exome sequencing for prenatal diagnosis of fetuses with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Nephrol Dial Transplant* 32(10): 1665-1675, 2017
- Lücke, T., Kanzelmeyer, N., Franke, D., Hartmann, H., Ehrich, J. H. H. und Das, A. M.:** Schimke-immunoossäre Dysplasie. *Medizinische Klinik* 101(3): 208-211, 2006
- Lüllmann-Rauch, R. und Asan, E.:** Zellenlehre, *Taschenlehrbuch Histologie*. Lüllmann-Rauch, R. und Asan, E., Georg Thieme Verlag 2019
- Lusch, A., Koen, M., Becker, T., Engelhardt, P. F. und Riccabona, M.:** Kindliche Beckeniere. *Der Urologe* 46(2): 132-136, 2007
- Mikuz, G.:** Ektopien der Niere, Harnwege und männlichen Geschlechtsorgane. *Der Pathologe* 39(5): 415-423, 2018
- Milutinovic, J., Fialkow, P. J., Agodoa, L. Y., Phillips, L. A., Rudd, T. G. und Bryant, J. I.:** Autosomal dominant polycystic kidney disease: symptoms and clinical findings. *Q J Med* 53(212): 511-522, 1984
- Moriguchi, T., Hamada, M., Morito, N., Terunuma, T., Hasegawa, K., Zhang, C., Yokomizo, T., Esaki, R., Kuroda, E., Yoh, K., Kudo, T., Nagata, M., Greaves, D. R., Engel, J. D., Yamamoto, M. und Takahashi, S.:** MafB is essential for renal development and F4/80 expression in macrophages. *Mol Cell Biol* 26(15): 5715-5727, 2006
- Oswald, J. und Haid, B.:** Embryologie des Urogenitalsystems, *Die Urologie*. Michel, M. S., Thüroff, J. W., Janetschek, G. und Wirth, M. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 1795-1807, 2016
- Phair, G., Agus, A. und Normand, C.:** Healthcare use, costs and quality of life in patients with end-stage kidney disease receiving conservative management: results from a multi-centre observational study (PACKS). *Palliative Medicine* 32(8): 1401-1409, 2018
- Piper, W.:** Krankheiten der Nieren und ableitenden Harnwege, *Innere Medizin*. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 255-325, 2013
- Priya, S., Nampootheri, S., Sen, P. und Sripriya, S.:** Bardet-Biedl syndrome: Genetics, molecular pathophysiology, and disease management. *Indian J Ophthalmol* 64(9): 620-627, 2016
- Rahmel, A. B., T. (2018). Jahresbericht Organspende und Transplantation in Deutschland 2017: 80-81.

- Reith, W. und Haussmann, A.:** Dandy-Walker-Malformation. *Der Radiologe* 58(7): 629-635, 2018
- Richter, H. R., S.; Fisch, M.:** Lage- und Verschmelzungsanomalien der Nieren, *Die Urologie*. Michel, M. S., Thüroff, J. W., Janetschek, G. und Wirth, M. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 1-5, 2015
- Riedhammer, K. M., Siegel, C., Alhaddad, B., Montoya, C., Kovacs-Nagy, R., Wagner, M., Meitinger, T. und Hoefele, J.:** Identification of a Novel Heterozygous De Novo 7-bp Frameshift Deletion in PBX1 by Whole-Exome Sequencing Causing a Multi-Organ Syndrome Including Bilateral Dysplastic Kidneys and Hypoplastic Clavicles. *Frontiers in Pediatrics* 5(251), 2017
- Romani, M., Micalizzi, A. und Valente, E. M.:** Joubert syndrome: congenital cerebellar ataxia with the molar tooth. *Lancet Neurol* 12(9): 894-905, 2013
- Rudling, O., Riise, R., Tornqvist, K. und Jonsson, K.:** Skeletal abnormalities of hands and feet in Laurence-Moon-Bardet-Biedl (LMBB) syndrome: a radiographic study. *Skeletal Radiol* 25(7): 655-660, 1996
- Sahay, M.:** Congenital anomalies of kidney and urinary tract (CAKUT). *Clinical Queries: Nephrology* 2(4): 156-165, 2013
- Schärer, K.:** Chronische Glomerulopathien, *Pädiatrische Nephrologie*. Schärer, K. und Mehls, O. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 229-234, 2002
- Schärer, K.:** Nierenhypoplasie und -dysplasie, *Pädiatrische Nephrologie*. Schärer, K. und Mehls, O. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 149-153, 2002
- Schulte, E.:** Entwicklung des Urogenitalsystems, *Duale Reihe Anatomie*. Aumüller, G., Aust, G., Engele, J. et al., Georg Thieme Verlag 2014
- Schulze, S.:** Basics Embryologie. Elsevier, Urban & Fischer München, 2011
- Scriber, C.:** Allelic and Locus Heterogeneity, *Encyclopedia of Life Sciences*. London, New York, John Wiley and Sons 2006
- Seikaly, M. G. H., P. L.; Emett, L.; Fine, R. N.; Tejani, A.:** Chronic renal insufficiency in children: The 2001 Annual Report of the NAPRTCS. *Pediatric Nephrology* 18(8): 796-804, 2003
- Selleri, L., Depew, M. J., Jacobs, Y., Chanda, S. K., Tsang, K. Y., Cheah, K. S. E., Rubenstein, J. L. R., O’Gorman, S. und Cleary, M. L.:** Requirement for *Pbx1* in skeletal patterning and programming chondrocyte proliferation and differentiation. *Development* 128(18): 3543-3557, 2001

- Sigel, A. und Ringert, R.-H.:** Kinderurologie. *Springer Berlin Heidelberg*, 2001
- Solomon, B. D.:** VACTERL/VATER Association. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 6(1): 56, 2011
- Steffl, D. und Huber, T. B.:** Minimal-Change-Glomerulopathie und fokale segmentale Glomerulosklerose. *Der Nephrologe* 6(3): 231-241, 2011
- Stoll, C., Dott, B., Alembik, Y. und Roth, M. P.:** Associated nonurinary congenital anomalies among infants with congenital anomalies of kidney and urinary tract (CAKUT). *Eur J Med Genet* 57(7): 322-328, 2014
- Strauss, A.:** Ultraschallpraxis. *Springer, Berlin, Heidelberg*, 2008
- Titieni, A. und König, J.:** Nephronophthise und assoziierte Ziliopathien. *medizinische genetik* 30(4): 461-468, 2018
- Van der Ven, A. T., Vivante, A. und Hildebrandt, F.:** Novel Insights into the Pathogenesis of Monogenic Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract. *Journal of the American Society of Nephrology* 29(1): 36-50, 2018
- Vivante, A., Kohl, S., Hwang, D.-Y., Dworschak, G. C. und Hildebrandt, F.:** Single-gene causes of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) in humans. *Pediatric Nephrology* 29(4): 695-704, 2014
- Vodopiutz, J., Seidl, R., Prayer, D., Khan, M. I., Mayr, J. A., Streubel, B., Steiß, J. O., Hahn, A., Csaicsich, D., Castro, C., Assoum, M., Müller, T., Wieczorek, D., Mancini, G. M., Sadowski, C. E., Lévy, N., Mégarbané, A., Godbole, K., Schanze, D., Hildebrandt, F., Delague, V., Janecke, A. R. und Zenker, M.:** WDR73 Mutations Cause Infantile Neurodegeneration and Variable Glomerular Kidney Disease. *Hum Mutat* 36(11): 1021-1028, 2015
- Volante, E., Gramellini, D., Moretti, S., Kaihura, C. und Bevilacqua, G.:** Alteration of the amniotic fluid and neonatal outcome. *Acta Biomed* 75 Suppl 1: 71-75, 2004
- Von Hoyer, P. F. und Weber, S.:** Hereditäre Nierenerkrankungen. *Der Nephrologe* 7(4): 339-355, 2012
- Von Schnakenburg, C. und Brandis, M.:** Nephrotisches Syndrom, *Pädiatrie: Grundlagen und Praxis*. Lentze, M. J., Schulte, F. J., Schaub, J. und Spranger, J. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 1361-1364, 2007
- Weber, S.:** Fehlbildungen der Nieren (inklusive zystischer Nephropathien) und ableitenden Harnwege, *Pädiatrie: Grundlagen und Praxis*. Hoffmann, G. F., Lentze, M. J., Spranger, J. und Zepp, F. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 1-10, 2015

- Weihbrecht, K., Goar, W. A., Pak, T., Garrison, J. E., DeLuca, A. P., Stone, E. M., Scheetz, T. E. und Sheffield, V. C.:** Keeping an Eye on Bardet-Biedl Syndrome: A Comprehensive Review of the Role of Bardet-Biedl Syndrome Genes in the Eye. *Med Res Arch* 5(9), 2017
- Weiskirchen, R.:** Didesoxysequenzierung, *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Gressner, A. M. und Arndt, T. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg. (2): 398, 2013
- Winger, A. M., Bald, M. und Hautkappe, A.:** Das Bardet-Biedl Syndrom Fallberichte und Literaturübersicht. *Der Urologe B* 39(6): 523-525, 1999
- Zacchia, M., Capolongo, G., Trepiccione, F. und Marion, V.:** Impact of Local and Systemic Factors on Kidney Dysfunction in Bardet-Biedl Syndrome. *Kidney and Blood Pressure Research* 42(5): 784-793, 2017
- Zankl, A., Duncan, Emma L., Leo, Paul J., Clark, Graeme R., Glazov, Evgeny A., Addor, M.-C., Herlin, T., Kim, Chong A., Leheup, Bruno P., McGill, J., McTaggart, S., Mittas, S., Mitchell, Anna L., Mortier, Geert R., Robertson, Stephen P., Schroeder, M., Terhal, P. und Brown, Matthew A.:** Multicentric Carpotarsal Osteolysis Is Caused by Mutations Clustering in the Amino-Terminal Transcriptional Activation Domain of MAFB. *The American Journal of Human Genetics* 90(3): 494-501, 2012
- Zschocke, J.:** Genetische Labordiagnostik, *Basiswissen Humangenetik*. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 189-211, 2018

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

|  |    |
|--|----|
| Abbildung 1: Embryo mit Nierenanlagen, Teilung der Kloake durch Septum urorectale, Ausbildung der Allantois, des Trigonums und des Harnleiters (Frohneberg und Westermann 2014) .....                                      | 2  |
| Abbildung 2: Schematische Darstellung verschiedener CAKUT-Phänotypen (Kosfeld et al. 2018) .....   | 6  |
| Abbildung 3: Molar tooth sign (Hellenbroich et al. 2010) .....   | 19 |
| Abbildung 4: Übersicht über Ziliopathien mit renalem Phänotyp; links ursächliche Gene, mittig die Krankheiten, rechts die mögliche phänotypische Ausprägung [Abbildung modifiziert nach (Harris und Czarnecki 2009)] ..... | 21 |
| Abbildung 5: Fragebogen Seite 1 .....  | 28 |
| Abbildung 6: Fragebogen Seite 2 .....  | 29 |
| Abbildung 7: DNA-Fragmentation, Ligierung von Adaptern und Bindung an Flowcell [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)] .....   | 38 |
| Abbildung 8: Brücken-PCR und Synthese des komplementären Stranges [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)] .....  | 39 |
| Abbildung 9: Denaturierung der Doppelstränge und Clusterentstehung [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)] .....   | 39 |
| Abbildung 10: Hinzufügen von Primer, Polymerase und dNTPs, Detektion mittels Laser und Bildspeicherung [Abbildung modifiziert nach (Illumina Inc. 2010)] .....   | 40 |
| Abbildung 11: Anteil der untersuchten Subgruppe an der Gesamtkohorte .....   | 41 |
| Abbildung 12: Anteil der Subkohorte an der Gesamtkohorte (Zahlen gerundet) .....   | 84 |

## TABELLENVERZEICHNIS

|  |    |
|--|----|
| Tabelle 1: 4 der bekannten CAKUT-Gene, die für diese Arbeit relevant sind [Tabelle modifiziert nach (Kosfeld et al. 2018)].....                | 11 |
| Tabelle 2: Mögliche klinische Ausprägungen fünf syndromaler Ziliopathien, * im Mausmodell [Tabelle modifiziert nach (Badano et al. 2006)]..... | 15 |
| Tabelle 3: Auswahl an für eine FSGS ursächliche Gene [Tabelle modifiziert nach (Harita 2018)] .....  | 25 |
| Tabelle 4: Patienten mit renalen und skelettalem Phänotyp sowie ebenfalls betroffene Geschwister .....   | 86 |

## STAMMBAUMLEGENDE

| Symbol  | Bedeutung   |
|---|---|
|    | gesunde Frau  |
|    | gesunder Mann   |
|    | Geschlecht unbekannt/noch nicht bekannt                         |
|    | betreffene Frau   |
|    | betreffener Mann  |
|    | Betroffener mit unbekanntem/noch nicht bekanntem Geschlecht     |
|    | X weitere weibliche Geschwister                                 |
|    | X weitere männliche Geschwister                                 |
|   | X weitere männliche oder weibliche Geschwister                  |
|  | heterozygote, nicht betroffene Überträger                       |
|  | Fehlgeburt  |
|  | Schwangerschaft   |
|  | Konsanguinität  |
|  | verstorbene(r) Mann/Frau/Person mit unbekanntem Geschlecht      |
|  | vorzeitige Beendigung der Schwangerschaft bei betroffenem Fetus |

## POSTER UND PUBLIKATION

### Poster

**Michaela Stippel, Korbinian M. Riedhammer, Matthias C. Braunisch, Pierre Maurice Herr, Michaela Geßner, Roman Günthner, Robin Satanovskij, Martin Bald, Christoph Schmaderer, Lutz Renders and Julia Hoefele:** Next-generation sequencing as a useful diagnostic tool in patients with kidney disorders and skeletal abnormalities. *51<sup>st</sup> Annual scientific meeting of the European Society for Paediatric Nephrology.* 3.10.-6.10.2018.

### Paper

**Michaela Stippel, Korbinian M. Riedhammer, Bärbel Lange-Sperandio, Michaela Geßner, Matthias C. Braunisch, Roman Günthner, Martin Bald, Miriam Schmidts, Peter Strotman, Velibor Tasic, Christoph Schmaderer, Lutz Renders, Uwe Heemann, Julia Hoefele:** Hereditary nephropathies and skeletal anomalies: a case series. *Frontiers in Genetics, submitted.*

## DANKSAGUNG

Zu guter Letzt möchte ich mich bei all jenen bedanken, die zum Gelingen und dem Abschluss der Arbeit beitrugen.

Mein besonderer Dank gilt meiner Betreuerin Frau PD Dr. Julia Höfele, die mir dieses Forschungsprojekt überließ. Bei Fragen und Unklarheiten konnte ich mich jederzeit an sie wenden. Dank ihrer Anmerkungen sowie der Mühe und Zeit, die sie in die Betreuung steckte, gelang es mir, der Arbeit den letzten Schliff zu verpassen.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau PD Dr. Lange-Sperandio bedanken, die mich als Mentorin unterstützte und wesentlich zum Fortschritt des Forschungsprojektes beitrug. Sie bot mir auch die Möglichkeit, erste Ergebnisse zu präsentieren.

Ein großes Dankeschön möchte ich an das gesamte Team des Instituts für Humangenetik am Klinikum rechts der Isar für die Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei verschiedenen Fragestellungen aussprechen.

Ein abschließender Dank gilt allen Patienten, die sich zur Teilnahme bereit erklärten, sowie sämtlichen Ärzten für die Übermittlung klinischer Daten. Ohne sie wäre das Forschungsprojekt nicht durchführbar gewesen.

Zuletzt bedanke ich mich bei meinen Freunden Christina, Maxi-Eileen und Leonard für das Korrekturlesen. Ein großer Dank gilt meiner Familie, allen voran meinen Eltern und meiner langjährigen Freundin Bonnie, die mir nicht nur während der Dissertation, sondern auch in allen anderen Abschnitten des Studiums Rückhalt boten.