

Aus der Klinik für Nephrologie und Internistische Intensivmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Der diagnostische Nutzen von Next Generation
Sequencing-basierten Panels bei Erwachsenen auf der
Nieren-Transplantationswarteliste**

**The diagnostic yield of Next Generation Sequencing-based
panel testing among adults on the kidney transplant
waiting list**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Elisa Kremerskothen

aus Berlin

Datum der Promotion: 03.03.2023

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	4
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	5
Manteltext zur Publikationspromotion	6
<i>Zusammenfassung</i>	<i>6</i>
<i>Abstract</i>	<i>8</i>
1 Einleitung	10
1.1 <i>Epidemiologie.....</i>	<i>10</i>
1.2 <i>Aktueller Stand der Diagnostik und Einblicke in die Nephrogenetik</i>	<i>10</i>
1.3 <i>Ziel der Studie</i>	<i>14</i>
2 Methodik	14
2.1 <i>Studiendesign und Kohorte.....</i>	<i>14</i>
2.2 <i>Vorgehen.....</i>	<i>16</i>
2.3 <i>Next Generation Sequencing Panels.....</i>	<i>18</i>
3 Ergebnisse	19
3.1 <i>Klare und unklare Grunderkrankungen auf der Nieren-Transplantationswarteliste</i>	<i>20</i>
3.2 <i>Ergebnisse der genetischen Diagnostik.....</i>	<i>21</i>
3.3 <i>Erkenntnisgewinn.....</i>	<i>26</i>
4 Diskussion.....	27
4.1 <i>Einordnung der Ergebnisse in den Stand der Forschung</i>	<i>27</i>
4.2 <i>Limitationen der Studie</i>	<i>32</i>
4.3 <i>Klinische und therapeutische Relevanz</i>	<i>34</i>
4.4 <i>Schlussfolgerungen und Ausblick</i>	<i>37</i>
5 Literaturverzeichnis.....	40
Eidesstattliche Versicherung	45
Anteilerklärung	46
Auszug aus der Journal Summary List.....	49
Publikation	50
Lebenslauf.....	56
Publikationsliste	58
Danksagung	59

Abkürzungsverzeichnis

ACMG/AMP	The American College of Medical Genetics and Genomics/The Association for Molecular Pathology
ADAMTS13	A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13
ADPKD	Autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung
ADTKD-UMOD	Autosomal-dominante, tubulointerstitielle Nierenerkrankung, Uromodulin assoziiert
aHUS	Atypisch hämolytisch urämisches Syndrom
Anti-GBM	Anti-glomerular basement membrane – Glomerulus-Basalmembran-Antikörper
ARPKD	Autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung
CAKUT	Congenital anomalies of kidneys and urinary tract – kongenitale Anomalien der Nieren und ableitenden Harnwege
CKD	Chronic Kidney Disease
CMV	Cytomegalievirus
CNV	Copy Number Variation – Kopienzahlvariation
DGKE	Diacylglycerol Kinase Epsilon
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EHEC	Enterohämorrhagischer Escherichia coli
ERA-EDTA	European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association
ESRD	End-Stage Renal Disease – Terminales Nierenversagen
ET	Eurotransplant
FA	Familienanamnese
FSGS	Focal segmental glomerulosclerosis – Fokal Segmentale Glomerulosklerose
GC	Guanin-Cytosin
HBsAg	Hepatitis-B-Virus surface antigen – Hepatitis-B-Virus Oberflächenantigen
HGMD	Human Gene Mutation Database
HUS	Hämolytisch urämisches Syndrom
IgA/IgG	Immunglobulin A/Immunglobulin G
MCP	Membrancofaktorprotein
n.a.	not available – nicht verfügbar
NGS	Next Generation Sequencing
PKD1, PKD2	Polycystin-1 und -2
PMP	Per million population – Pro 1 Million Einwohner*innen
PoC	People of Colour
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RNA	Ribonukleinsäure
T/NT	Transplantabel/Nicht transplantabel
TMA	Thrombotische Mikroangiopathie
Tx	Transplantation
V.a.	Verdacht auf
VUS	Variante unklarer Signifikanz
WES	Whole Exome Sequencing
WGS	Whole Genome Sequencing

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Screening Algorithmus der auf der Eurotransplant-Nieren-Warteliste der Charité Berlin Campus Mitte gelisteten Patient*innen*	18
Abbildung 2: Ergebnisse der Stratifizierung und der genetischen Diagnostik*	21
Abbildung 3: Verteilung der pathogenen Varianten*	23
Abbildung 4: Einfluss der Next Generation Sequencing (NGS) Panels auf die Zusammensetzung der Nieren-Transplantationswarteliste*	27
Tabelle 1: Eindeutige, nicht genetische, Diagnosen, die zum terminalen Nierenversagen geführt haben*	20
Tabelle 2: Mittels NGS-Panels detektierte Varianten*	22
Tabelle 3: Pathogene oder wahrscheinlich pathogene heterozygote Varianten ohne zusätzliche bestätigende Varianten in trans*	24
Tabelle 4: Patient*innen mit aHUS-Verdacht*	25
Tabelle 5: Gegenüberstellung einzelner Studien*	31

Anmerkung:

Gemäß der Vorstandsmeldung vom Oktober 2018 des Vorstands der Charité und der Zentralen Frauen- und Gleichstellungsbeauftragten wird in dieser Promotion eine gendergerechte Sprache verwendet. Zugunsten der Lesbarkeit wird anstatt von Paarformulierungen (Professoren und Professorinnen) die verkürzte Form mit einem Gender-Sternchen (Professor*innen) verwendet, da diese weitere Geschlechtsidentitäten einschließt (1).

Manteltext zur Publikationspromotion

Zusammenfassung

Hintergrund:

Chronische Nierenerkrankungen betreffen eine von zehn Personen weltweit und tragen in hohem Maße zur globalen Morbidität und Mortalität bei. Die häufigsten Gründe für die Entwicklung einer chronischen Nierenerkrankung sind Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie – nichtsdestotrotz ist die Ätiologie der terminalen Niereninsuffizienz in 20 % der Fälle unklar. Wenn eine terminale Niereninsuffizienz im Spätstadium diagnostiziert wird, führen Nierenbiopsien häufig zu uneindeutigen Ergebnissen oder ihre Durchführung ist sogar kontraindiziert. Der diagnostische Nutzen von Next Generation Sequencing (NGS) wurde bislang vorwiegend in pädiatrischen Kohorten demonstriert, da bei Erwachsenen meist keine monogenetische Erkrankung vermutet wird. Eine molekulargenetische Diagnose hat Auswirkungen auf die Therapie, die Prognose und das klinische Management von Patient*innen und ihren Familienangehörigen und ist besonders im Kontext von Nierentransplantationen relevant.

Methodik:

In dieser monozentrischen Studie analysierten wir systematisch die Eurotransplant-Nieren-Warteliste der Charité Berlin Mitte und stratifizierten die vorliegenden Grunderkrankungen in „eindeutig“ und „unklar“. Anhand spezifischer NGS-Panels untersuchten wir die Kohorte der Patient*innen mit unklarer Ätiologie auf Mutationen in über 600 Genen, bei denen ein Zusammenhang mit der Entwicklung einer terminalen Niereninsuffizienz beschrieben ist.

Ergebnisse:

Von den 635 untersuchten Erwachsenen konnten wir bei 245 eine eindeutige Nierengrunderkrankung feststellen (38,6 %), bei 340 (53,5 %) wurde die Klassifikation „unklare Nierengrunderkrankung“ vorgenommen und bei 50 (7,9 %) lag ein Verdacht für eine fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS) oder ein atypisch hämolytisch urämisches Syndrom (aHUS) vor. Die NGS-Panel-Diagnostik wurde in der Kohorte der Patient*innen mit unklaren Ätiologien bei all jenen durchgeführt, die unter dem 40.

Lebensjahr dialysepflichtig wurden. Zusätzlich wurden die 50 Patient*innen mit klinischem Verdacht für eine FSGS oder ein aHUS unabhängig vom Alter in die genetische Testung eingeschlossen. Insgesamt wurden 126 Patient*innen untersucht, genetische Varianten wurden bei 26 Individuen (20,6 %) detektiert. In 14 Fällen (11,1 %) wurden die Varianten als pathogen oder wahrscheinlich pathogen klassifiziert, die übrigen als Varianten unklarer Signifikanz (VUS). Die meisten identifizierten Mutationen betrafen Gene, welche Komponenten der glomerulären Basalmembran kodieren.

Schlussfolgerung:

Mit einer diagnostischen Aufklärungsrate von 11,1 % wurde der Anteil der unklaren Nierengrunderkrankungen um 3,6 % (von 390 auf 376 Fälle) reduziert und damit der Anteil der hereditären Diagnosen um 11,8 % (von 119 auf 133 Fälle) erhöht. Diese Studie zeigt, dass genetische Testungen in Fällen unklarer Grunderkrankungen die Diagnosestellung optimieren. Eine korrekte Diagnose verbessert die Patient*innenversorgung und reduziert sekundäre Kosten für das Gesundheitssystem.

Abstract

Background:

Chronic kidney disease (CKD) is a highly relevant and prevalent condition, affecting approximately 1 in 10 persons globally and increasing the burden of morbidity and mortality worldwide. The main reasons for CKD are diabetes mellitus and arterial hypertension – nonetheless, the etiology for end-stage renal disease (ESRD) remains undetermined in around 20 % of cases. When ESRD is diagnosed at a late stage, kidney biopsies are often inconclusive or even contraindicated. The diagnostic utility of Next Generation Sequencing (NGS) has predominantly been studied among pediatric cohorts, as monogenic kidney disorders are usually not suspected in adults with undetermined ESRD. A concise molecular genetic diagnosis affects therapy, prognosis and clinical management of patients and their family members and is particularly relevant in the context of kidney transplantations.

Methods:

In this single center study we systematically analyzed the Eurotransplant kidney waiting list at Charité Berlin Mitte and manually stratified the patients into cohorts of undetermined and determined causes of CKD. Using targeted NGS-based panel testing we screened patients with undetermined CKD for mutations in 600 genes associated with ESRD.

Results:

Out of the 635 examined patients, 245 had a determined cause of CKD (38.6 %) while 340 patients (53.5 %) were classified as “undetermined ESRD” and 50 (7.9 %) had a clinical suspicion of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) or atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS). We conducted genetic testing using the NGS-panel approach in all those patients with undetermined ESRD requiring dialysis under 40 years of age and additionally in the mentioned 50 patients with FSGS- and aHUS-suspicion irrespective of age. In total, genetic testing was performed in 126 patients and we detected diagnostic variants in 26 individuals (20.6 %). In 14 cases (11.1 %) the variants were classified as pathogenic or likely pathogenic, the remaining were described as variants of unknown significance (VUS). Most of the identified mutations were in genes encoding components of the glomerular basement membrane.

Conclusion:

With a diagnostic yield of 11.1 % we significantly decreased the rate of undetermined ESRD on the kidney transplant waiting list by 3.6 % (from 390 to 376 cases) and increased the proportion of hereditary diagnoses by 11.8 % (from 119 to 133 cases). Our study demonstrates that genetic analysis refines the diagnostic accuracy in patients with undetermined CKD. A concise diagnosis improves the immediate patient care while simultaneously reducing secondary costs for the health care system.

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie

Chronische Nierenkrankheiten zählen zu den relevantesten und mit ca. 850 Millionen betroffenen Individuen zu den prävalentesten Krankheiten weltweit und tragen damit in hohem Maße zu Mortalität und Morbidität bei (2). Betroffen ist ungefähr einer von zehn Erwachsenen (3, 4). Damit verbunden sind aufwändige und kostenintensive Therapien wie Dialysen oder Nierentransplantationen, welche das Gesundheitssystem und die Krankenkassen stark belasten. Laut Jahresbericht zur Qualität in der Dialyse im Auftrag des Gemeinsamen Bundesausschusses waren 2019 insgesamt mehr als 80.000 Patient*innen in Deutschland ständig dialysepflichtig, mehr als 11.000 neue Patient*innen begannen im Berichtsjahr erstmalig eine Nierenersatztherapie mit Hämodialyse oder Peritonealdialyse (5). In der europäischen Population liegt die Prävalenz für Nierenersatztherapien bei 1000 pro 1 Million Einwohner (pmp) (6), eine terminale Niereninsuffizienz ist demnach keine seltene Erkrankung. Im Gegensatz dazu sind einige der eine terminale Niereninsuffizienz verursachenden Grunderkrankungen durchaus selten, was die hohe Zahl spät- oder undiagnostizierter Fälle erklärt (7). In der German Chronic Kidney Disease Studie mit über 5000 eingeschlossenen Patient*innen mit chronischen Nierenerkrankungen als weltweit größte Kohorte ergab sich bei ca. 20 % eine unklare Ursache der Nierenerkrankung (8). Zu ähnlichen Ergebnissen kommt die Europäische Vereinigung für Dialyse und Transplantation (ERA-EDTA) in ihrem Jahresbericht 2018 (6). In einer kleineren Studie des Universitätsklinikums Leipzig wurde sogar bei 40 % der Patient*innen auf der Nieren-Transplantationswarteliste eine ungeklärte Ätiologie ausgemacht (9). Klassifiziert werden diese unklaren Fälle auf den Nieren-Transplantationswartelisten meist als „Chronische Niereninsuffizienz unklarer Ätiologie“, „Andersartige Nierenerkrankung“ oder als „Unspezifizierte Glomerulopathie oder Nephropathie“. Für die Betroffenen steht anstatt relevanter Fragen wie „Welche Therapiemöglichkeiten gibt es?“, „Wie ist die Prognose?“ oder „Ist die Krankheit vererbbar?“ dann die Hauptfrage „Was ist meine Diagnose?“ im Vordergrund.

1.2 Aktueller Stand der Diagnostik und Einblicke in die Nephrogenetik

Woran liegt die hohe Zahl un- oder fehldiagnostizierter Fälle auf den Nieren-Transplantationswartelisten? Laut einer Studie von Wühl et al., welche das ERA-EDTA

Register analysiert haben, ist ein Grund dafür das Vorliegen vieler seltener Krankheiten (Prävalenz $< 1/2000$), welche hinsichtlich der diagnostischen Aufarbeitung sehr aufwändig sind (7). Über 50 % der Kinder und 1/9 der Erwachsenen, die auf eine Nierenersatztherapie angewiesen sind, leiden an einer seltenen Erkrankung gemäß des Orphanet-Klassifikationssystems und mehr als 80 % dieser seltenen Erkrankungen haben einen genetischen Hintergrund (7, 10). Genetisch determinierte Nierenerkrankungen sind, vor allem aufgrund der hohen Prävalenz der autosomal-dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD), nach Diabetes, arterieller Hypertonie, Glomerulonephritiden und Pyelonephritiden der fünfthäufigste Grund für eine terminale Niereninsuffizienz (10). Zu den häufigsten genetischen Nierenerkrankungen zählen, nach ADPKD, kongenitale Anomalien der Nieren und ableitenden Harnwege (CAKUT – congenital anomalies of kidneys and urinary tract) und die fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS) (7).

Klinisch lassen sich nur wenige Erkrankungen, die zu einer terminalen Niereninsuffizienz geführt haben, eindeutig zuordnen. Eine arterielle Hypertonie kann beispielsweise eine terminale Niereninsuffizienz bedingen, kann gleichzeitig aber auch das Resultat einer Nierenerkrankung sein (2). Das führt bei „hypertensiven Nephropathien“ zu einer erschwerten Diagnosestellung und zu vielen Fehldiagnosen. Hinzu kommt, dass Erkrankungen mit rezessivem Vererbungsmuster und solche mit inkompletter Penetranz ein variables Erscheinungsbild haben und dass viele genetische Syndrome mit niedriger Prävalenz wenig bekannt sind (7). Zudem weisen die meisten genetisch determinierten Nierenerkrankungen im Erwachsenenalter kein klares syndromales Erscheinungsbild mit typischen extrarenalen Symptomen auf, was die klinische Diagnostik erschwert. In der Erwachsenen-Nephrologie gilt die Nierenbiopsie aktuell immer noch als Standardprozedur. Allerdings sind die nachzuweisenden Veränderungen meist uneindeutig, da unterschiedliche genetische Mutationen die gleichen histopathologischen Muster hervorrufen können (11). In verschiedenen Studien wird die diagnostische Genauigkeit von Nierenbiopsien mit ca. 80 % angegeben (12, 13). Die niedrige Sensitivität ist unter anderem auch durch die klinisch oft stummen Frühstadien der Erkrankungen zu erklären, sodass Patient*innen sich erst bei Fachärzt*innen vorstellen, wenn sie das Stadium einer terminalen Niereninsuffizienz erreicht haben (14). Das führt dazu, dass Nierenbiopsien häufig zu einem Zeitpunkt durchgeführt werden, an dem sie nur noch unspezifische, fibrotische Veränderungen zeigen, die sich keiner eindeutigen

Ätiologie zuordnen lassen, oder die Durchführung der Biopsie ist aufgrund von Atrophien nicht mehr möglich. Diese „diagnostische Odyssee“ aus klinischen, laborchemischen, bildgebenden und invasiven histopathologischen Untersuchungen bringt hohe zeitliche, finanzielle und psychosoziale Belastungen für die Betroffenen und ihre Familien mit sich und strapaziert das Gesundheitssystem (14).

Die Etablierung der Nephrogenetik als nichtinvasive Untersuchungsmethode hat ihre Ursprünge in der ADPKD-Diagnostik: Zystennieren waren aufgrund ihrer charakteristischen Morphologie schon seit vielen Jahrhunderten bekannt, die Pathogenese blieb jedoch lange unklar (15). 1985 wurde erstmals das PKD1-Gen kartiert, knapp zehn Jahre später wurde auch das PKD2-Gen identifiziert (15). 1990 wurden schließlich zum ersten Mal kausale Varianten für das Alport-Syndrom beschrieben (16). In den Anfängen der genetischen Diagnostik wurden je nach Fragestellung und Verdachtsdiagnose mittels Sanger-Sequenzierung konkrete einzelne Mutationen untersucht und diese anhand einer Segregationsanalyse gegebenenfalls weiter klassifiziert. Auch heutzutage wird die Sanger-Sequenzierung noch zur Bestätigung von Verdachtsdiagnosen eindeutiger monogenetischer Erkrankungen (wie zum Beispiel Mukoviszidose, Neurofibromatose Typ 1 oder Muskeldystrophie Duchenne) verwendet. In diesen Fällen ist die Sanger-Sequenzierung hocheffizient und bietet eine gute klinische Sensitivität und Spezifität (17). Allerdings finden sich im Bereich der Nephrogenetik nicht nur monogenetische, sondern auch viele polygenetische Erkrankungen oder Überschneidungen von beiden. ADTKD-UMOD und die jeweiligen Phänotypen präsentieren sich zum Beispiel sehr heterogen, was eine breitere molekulargenetische Diagnostik notwendig macht. Dank neuer Technologien konnte die Geschwindigkeit der Sequenzier- und Analyseprozesse über die Zeit deutlich gesteigert und die damit verbundenen Kosten massiv gesenkt werden (18). Die Einführung von Next Generation Sequencing (NGS) revolutionierte die klinische Genetik (19). Bei dem Verfahren werden Millionen kurzer DNA-Fragmente gleichzeitig ausgelesen und mit Hilfe bioinformatischer Algorithmen analysiert (18). Hypothesenunabhängig kann mittlerweile auch das gesamte kodierende Exom (Whole Exome Sequencing) oder Genom (Whole Genome Sequencing) ausgelesen werden (18). Dadurch ist auch die Identifikation bislang unbekannter krankheitsrelevanter Gene möglich (18, 20). Als 1990 die erste Sequenzierung des menschlichen Genoms im Human Genome Project durchgeführt wurde, hat dies 13 Jahre gedauert und ca. 2,7 Milliarden US-Dollar gekostet – heute ist

eine Genomsequenzierung innerhalb weniger Tage für ca. 1000 Euro möglich (18). Genetische Diagnostik ist mittlerweile nicht mehr nur Forschungsprojekten vorbehalten, sondern stellt eine sensitive, schnelle und kosteneffiziente Möglichkeit im klinischen Alltag dar.

Routinemäßig wird molekulargenetische Diagnostik in der Erwachsenenephrologie bislang dennoch nicht angewandt, sondern ist eher in der Pädiatrie, vor allem zur Einordnung von metabolischen Störungen und Entwicklungsverzögerungen, aber auch im kindernephrologischen Bereich, verbreitet (21, 22). Dies liegt unter anderem daran, dass monogenetische Erkrankungen lange Zeit nicht als ursächlich für eine terminale Niereninsuffizienz im Erwachsenenalter angesehen wurden (23). Laut einer Studie von Dervla M. Connaughton und Friedhelm Hildebrandt et al. von der nephrologischen Abteilung des Boston Children's Hospital ergab sich hinsichtlich der durch Whole Exome Sequencing erzielten Aufklärungsraten bei monogenetischen Nierenkrankheiten keine eindeutige Häufung des Erkrankungsalters (Aufklärungsrate von 40 % bei Beginn der chronischen Niereninsuffizienz im Kindesalter versus 41 % im Erwachsenenalter) (23, 24). In verschiedenen Publikationen wurde außerdem untersucht, dass bei 10–30 % der erwachsenen Patient*innen mit terminaler Niereninsuffizienz eine positive Familienanamnese zu erheben ist, auch wenn bislang keine hereditäre Ätiologie bekannt war (25-27). In einer niederländischen Studie wurde bei 0,5 % der nierentransplantierten Erwachsenen mit einer terminalen Niereninsuffizienz im Erwachsenenalter eine homozygote Deletion des NPHP1-Gens nachgewiesen – das Gen der juvenilen Nephronophthuse, eine der häufigsten Ursachen einer terminalen Niereninsuffizienz im Kindesalter (28). Nur 12 % dieser Patient*innen hatten vor der genetischen Diagnostik eine korrekte Diagnose (28). In einer anderen Studie konnten bei zwei Familien mit Fällen einer terminalen Niereninsuffizienz nach dem 40. Lebensjahr rezessive Missense-Mutationen im PKHD1-Gen detektiert werden, welches die autosomal-rezessive polyzystische Nierenerkrankung (ARPKD) bedingt – ebenfalls eine klassische Nephropathie des Kindesalters (24). Klassifiziert wurde der eine Fall im Alter von 46 Jahren als "Chronische Nierenkrankheit unklarer Ätiologie" (24). Durch weitergehende Forschungen im Bereich der Nephrogenetik muss die strikte Trennung zwischen kindernephrologischen und nephrologischen Krankheitsbildern demnach mittlerweile revidiert werden.

Der Stellenwert genetischer Diagnostik zeigt sich auch, wenn man die sehr heterogenen Erscheinungsformen genetisch bedingter Nierenerkrankungen berücksichtigt, welche sich klinisch nur selten einem klaren Phänotyp zuordnen lassen. Das klassische „Ein-Gen-Eine-Krankheit“-Modell erscheint mittlerweile vereinfacht und gilt weithin als überholt (29). Ein Beispiel für die unklare Trennschärfe nephrologischer Krankheitsbilder ist das Alport-Syndrom, welches sich in der Histopathologie auch als Bild einer FSGS präsentieren kann (2, 30). Eine zuverlässige Diagnosestellung wird erst durch die molekulargenetische Diagnostik möglich und bedingt dann auch die weitere Therapie sowie eine humangenetische Beratung mit differenzierter Einschätzung der Wiederholungswahrscheinlichkeiten bei weiteren Familienangehörigen (31). In der Publikation von Groopman et al., welche über 3000 Patient*innen anhand eines Whole Exome Sequencings untersucht haben, zeigt sich, dass 16 % der Alport-Syndrom-Patient*innen zuvor unter der Diagnose einer FSGS geführt und behandelt wurden (32).

1.3 Ziel der Studie

In den letzten Jahren gab es mehrere Publikationen zum Nutzen molekulargenetischer Diagnostik bei Patient*innen mit unklaren Nierengrunderkrankungen. Je nach Studie konnte bei 10–40 % der bislang unklaren Fälle eine genetische Diagnose gestellt werden (9, 24, 32, 33), häufig wurde ein Whole Exome Sequencing-Ansatz verfolgt. In unserer Arbeit gehen wir der Hypothese nach, dass sich nach ausführlicher klinischer Selektion die Anzahl von Patient*innen mit unklarer Nierengrunderkrankung auf der Transplantationswarteliste durch eine genetische Analyse mittels spezifischer NGS-Panels deutlich und effizient reduzieren lässt und dass dies zu einer Verbesserung der Patient*innenversorgung führt.

2 Methodik

2.1 Studiendesign und Kohorte

Die Studie ist eine monozentrische Querschnittsstudie der Eurotransplant-Nieren-Warteliste der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie und Internistische Intensivmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte. Gegen die Durchführung der von uns designten Studie zum Thema „Identifizierung von Patienten mit unbekannter Nierengrunderkrankung auf der Eurotransplant-Warteliste in der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Nephrologie und Internistische Intensivmedizin

Charité – Universitätsmedizin Berlin (Charité Campus Mitte und Charité Campus Virchow)“ mit der Antragsnummer EA2/020/18 hat die Ethikkommission der Charité am 15.03.2018 keine Bedenken erhoben und folglich ihre Zustimmung erteilt. Die Datenerhebung fand im Oktober 2016 statt, 635 Patient*innen waren zu diesem Zeitpunkt auf der Nieren-Transplantationswarteliste registriert, sowohl als transplantabel (T) als auch nicht-transplantabel (NT) gelistet. Die Warteliste wurde anschließend von der Doktorandin manuell kuratiert und die Daten in Form einer Excel-Liste (Software-Programm Excel 2019, Microsoft, Redmond WA, USA) gesammelt und kategorisiert. Die Excel-Liste wurde geordnet nach der Patienteninformationsnummer der Transplantationsdatenbank der Charité (TBase) und dem Transplantationsstatus (T und NT). Im Sinne des Datenschutzes wurde die Excel-Liste mit einem Passwort geschützt und lediglich auf Computern der Charité verwendet.

Die erfassten Variablen waren:

- Geburtsdatum
- Zurückliegende oder akute CMV-Infektion (0 = negativ, 1 = positiv)
- Zurückliegende Hepatitis B-Infektion (0 = negativ, 1 = positiv)
- HBsAg (0 = negativ, 1 = positiv)
- Zurückliegende Hepatitis C-Infektion (0 = negativ, 1 = positiv)
- Restdiurese (ml)
- Geschlecht (m oder w)
- Blutgruppe und Rhesusfaktor
- Dialyseart (0 = Hämodialyse, 1 = Peritonealdialyse)
- Grunderkrankung
- Bei Eurotransplant (ET) gelistete Erkrankung
- Datum der erstmalig durchgeführten Dialyse
- Datum des Beginns der aktuellen Dialyseperiode
- Familienanamnese für Nierenerkrankungen (0 = negativ, 1 = positiv)
- Wurde eine Nierenbiopsie durchgeführt, wann und wo (0 = negativ, 1 = positiv)
- Diagnose laut Nierenbiopsie
- Vortransplantiert (0 = negativ, 1 = positiv)
- Anzahl von Transplantationen
- Wurde eine Transplantat-Biopsie durchgeführt (0 = negativ, 1 = positiv)

- Zeichen für eine thrombotische Mikroangiopathie (TMA) im Transplantat (0 = negativ, 1 = positiv)
- Maligne Hypertonie (0 = negativ, 1 = positiv)
- Dialysepflichtigkeit nach einer Schwangerschaft (0 = negativ, 1 = positiv)

2.2 Vorgehen

Es wurden sowohl die elektronischen Patient*innenakten über die klinikinternen Software-Programme SAP (SAP Deutschland SE & Co. KG) und TBase (Transplantations-Datenbank der Charité) als auch die analogen Transplantationsakten inklusive aller Vorbefunde wie Laborwerte, Arztbriefe, Verlaufsberichte und Biopsiebefunde gesichtet. Biopsiebefunde, welche in anderen Krankenhäusern durchgeführt wurden und uns nicht vorlagen, wurden angefordert und auch über die Dialysepraxen konnten ergänzende Informationen gesammelt werden. Patient*innen unter 18 Jahren oder Patient*innen, die während der Datenerhebung verstarben, wurden exkludiert. Anhand der genannten erfassten Variablen wurde eine Stratifizierung vorgenommen, ob eine klare oder eine unklare Grunderkrankung vorliegt. Die Datenakquisition geschah in enger Zusammenarbeit mit Co-Autorin und Studienleiterin Dr. Eva Schrezenmeier.

Patient*innen mit einer eindeutigen Diagnose in der Nierenbiopsie (wie zum Beispiel IgA-Nephropathie, hypertensive Nephropathie, diabetische Nephropathie etc.) sowie Patient*innen mit ADPKD und typischen bildgebenden Befunden oder Patient*innen mit klaren genetischen Syndromen (zum Beispiel zwei Fälle vom Prune-Belly-Syndrom oder eine Sichelzellerkrankung mit entsprechenden Befunden in der Immunelektrophorese) wurden vom weiteren Studienverlauf ausgeschlossen (34). Anhand der Akten konnten auch Patient*innen mit Malignomen, Pyelonephritiden oder hereditären Dysplasien sowie obstruktiven Nierenerkrankungen identifiziert und ausgeschlossen werden (34).

Alle Patient*innen mit uneindeutiger Diagnose, die vor dem 40. Lebensjahr eine terminale Niereninsuffizienz mit Notwendigkeit der Nierenersatztherapie erlitten haben, wurden in die genetische Diagnostik eingeschlossen. Aufgrund der Häufigkeit hereditärer Ätiologien wurden außerdem alle Patient*innen mit klinischem Verdacht auf eine FSGS oder ein aHUS mit Zeichen einer TMA unabhängig vom Alter in die Studie eingeschlossen. Als Zeichen einer TMA galten eine klinische Thrombozytopenie und Hämolyse, der Beginn

des Nierenversagens in Zusammenhang mit einer Schwangerschaft oder der Nachweis einer thrombotischen Mikroangiopathie in Biopsien. Vor allem eine Schwangerschaft, aber auch durchgemachte Viruserkrankungen, werden in der Literatur als mögliche prädisponierende Faktoren für die Entwicklung eines aHUS beschrieben (35).

Die Patient*innen wurden entsprechend des Gendiagnostikgesetzes mittels eines Patient*inneninformationsblattes über die Untersuchung aufgeklärt und es wurde eine schriftliche Einwilligung über die genetische Testung eingeholt. Von den Dialysezentren wurde schließlich eine DNA-Probe (EDTA-Monovette) für die genetische Diagnostik abgenommen. Bei einigen Patient*innen erfolgte die Probenentnahme in der nephrologischen Ambulanz der Charité – Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte. Die notwendige Blutentnahme wurde im Rahmen von ohnehin durchgeführten Blutentnahmen mitgewonnen.

Zusammengefasst waren die Ein- und Ausschlusskriterien:

Einschlusskriterien:

- Patient*innen auf der Eurotransplant-Nieren-Warteliste mit unklarer Grunderkrankung, die unter dem 40. Lebensjahr dialysepflichtig wurden, ohne eindeutigen Biopsiebefund oder ohne durchgeführte Biopsie
- Patient*innen mit V.a. eine FSGS oder ein aHUS und Zeichen einer TMA, unabhängig vom Alter

Ausschlusskriterien:

- Eindeutiger Biopsiebefund (zum Beispiel Systemischer Lupus Erythematodes, ANCA-assoziierte Vaskulitis, IgA-Nephropathie, Membranoproliferative Glomerulonephritis etc.)
- Klar ausgeprägter Phänotyp einer genetischen Erkrankung (ADPKD-Patient*innen mit eindeutiger Bildgebung, Morbus Fabry, Alport-Syndrom, Prune-Belly-Syndrom, Sichelzellanämie etc.)
- Obstruktive Nierenerkrankungen, hereditäre Dysplasien, Pyelonephritiden, Malignome

- Patient*innen unter 18 Jahren oder im Verlauf der Datenerhebung verstorbene Patient*innen

Die gesammelten Proben wurden schließlich an die Medizinische Genetik Mainz zur genetischen Testung weitergeleitet.

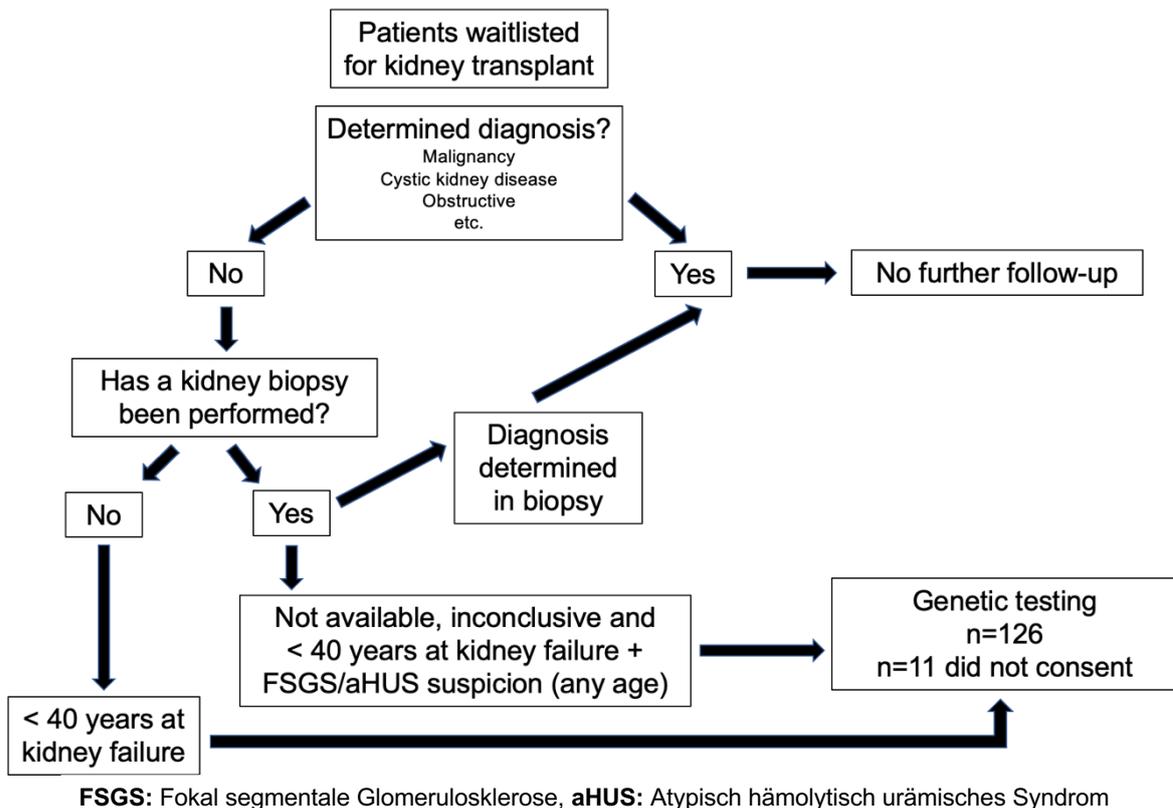


Abbildung 1: Screening Algorithmus der auf der Eurotransplant-Nieren-Warteliste der Charité Berlin Campus Mitte gelisteten Patient*innen*

* Modifizierte Abbildung nach „Fig. 1. Screening algorithm for patients with kidney failure of unknown origin of the Eurotransplant kidney waiting list at Campus Charité Mitte Berlin“ <https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8/figures/1> (34)

2.3 Next Generation Sequencing Panels

Durch Prof. Dr. Carsten Bergmann als Facharzt für Humangenetik und die Medizinische Genetik Mainz wurden die Proben der vorselektierten Patient*innen mittels Next Generation Sequencing-basierter Panels (NGS) analysiert. Im Vergleich zur üblichen Sanger-Sequenzierung werden in der NGS-Technologie Millionen DNA-Fragmente parallel sequenziert. Je nach klinischer Fragestellung können bestimmte Ziel-Sequenzen, welche in bis zu 1000 Genen umfassenden Multigenpanels zusammengefasst sind, untersucht werden. Die vorliegenden DNA-Proben wurden auf mehr als 600 Gene untersucht, welche mit Nierenerkrankungen in Zusammenhang

stehen. Der detaillierte Ablauf der genetischen Diagnostik ist in der zur Promotion vorgelegten Publikation nachzulesen (34). Das Panel-Design wurde unter Berücksichtigung der aktuellen Literatur konstant aktualisiert und anhand von Datenbanken wie Human Gene Mutation Database (HGMD) und ClinVar um Zielsequenzen in nichtkodierenden Regionen bestimmter Varianten ergänzt (34). Die Signifikanz von detektierten Varianten wurde durch Wissenschaftler*innen der Medizinischen Genetik Mainz mithilfe von bioinformatischen Datenbanken und aktuellen Forschungsergebnissen interpretiert und anschließend als „pathogenic“, „likely pathogenic“, „likely benign“, „benign“ oder „variance of unknown significance“ eingeordnet. Außerdem wurden einige Varianten mittels einer Sanger-Sequenzierung zusätzlich validiert (34). Ergänzend wurde, wenn möglich, eine Segregationsanalyse mit den Daten und Proben von Familienmitgliedern durchgeführt, um Varianten als hereditär oder de novo klassifizieren zu können und intrafamiliäre Varianten, die nicht mit dem Phänotyp in Zusammenhang stehen, auszusortieren (34).

Nach abgeschlossener Diagnostik wurden die Proband*innen über die Ergebnisse der genetischen Testung informiert. Die Übertragung der Ergebnisse der genetischen Diagnostik auf das vorliegende Patient*innenkollektiv, die Prüfung der Genotyp-Phänotyp Konkordanz sowie die Datenanalyse wurden schließlich gleichermaßen von Dr. Eva Schrezenmeier sowie Elisa Kremerskothen vorgenommen.

Die vorliegende Publikation, welche in dem peer-reviewed medical journal *Genetics in Medicine* veröffentlicht wurde, wurde von Elisa Kremerskothen, Dr. Eva Schrezenmeier, Prof. Dr. Klemens Budde und Prof. Dr. Carsten Bergmann gemeinsam verfasst. Insbesondere bei Erstellung der Einleitung, des Methodik- und des Ergebnis-Teils hatte die Doktorandin einen großen Einfluss.

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die wesentlichen neuen Ergebnisse der zur Promotion eingereichten Publikation beschrieben und diskutiert (34). Die Basisdaten zur Patient*innenkohorte sind der Publikation zu entnehmen.

3.1 Klare und unklare Grunderkrankungen auf der Nieren-Transplantationswarteliste

Die im Oktober 2016 aus der Nieren-Transplantationswarteliste der Charité Berlin Campus Mitte rekrutierte Kohorte bestand aus 635 erwachsenen Patient*innen mit einem medianen Alter von 58 Jahren (22–88 Jahre). Eine klare Ätiologie, die zur terminalen Niereninsuffizienz geführt hat, war bei 38,6 % (245/635) der Patient*innen dokumentiert. Davon hatten 119 (18,7 % der 635 Patient*innen) einen genetischen Hintergrund: 104 Fälle von ADPKD, 8 Fälle eines Alport-Syndroms und 7 Fälle anderer seltener genetischer Syndrome. Diese 119 Patient*innen wurde in unserer Studie nicht weiter untersucht. Zu den nicht-genetischen, aber eindeutigen Erkrankungen der übrigen 126 Patient*innen, welche ebenfalls nicht weiter untersucht wurden, zählten folgende Diagnosen:

Tabelle 1: Eindeutige, nicht genetische, Diagnosen, die zum terminalen Nierenversagen geführt haben*

Determined diagnoses of non-genetic causes for kidney failure	
IgA nephropathy	30
Obstructive nephropathy	16
Hypertensive nephropathy	13
Diabetic nephropathy	11
Interstitial nephropathy	8
Glomerulonephritis other	8
Malignancy	8
ANCA-associated vasculitis	7
Anti-glomerular basement membrane nephritis	5
Systemic Lupus Erythematosus	5
Amyloidosis	3
Other	12

* Modifizierte Tabelle nach „Supplementary Table 1 Determined diagnosis of non-genetic causes for KF“ <https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8#Sec7> (34)

Bei mehr als der Hälfte der Studienkohorte (53,5 %, 340/635) wurde eine unklare Grunderkrankung ausgemacht. Dies war zum größten Teil durch Nierenbiopsien bedingt: bei 197 der 340 Patient*innen (57,9 %) mit unklarer Ätiologie wurde keine Biopsie durchgeführt, in den übrigen 143 Fällen wurde zwar eine Biopsie durchgeführt, das Ergebnis war jedoch uneindeutig oder der Biopsiebefund war nicht verfügbar. Gemäß unseres Studiendesigns wurden nur die 87 Patient*innen mit unklarer Grunderkrankung, welche unter dem 40. Lebensjahr dialysepflichtig wurden, weiter untersucht. Zusätzlich

schlossen wir 50 Patient*innen mit Verdacht auf ein aHUS oder eine FSGS in unsere Studie ein, sodass insgesamt 137 Patient*innen für die genetische Diagnostik ausgewählt wurden. Von 11 Patient*innen erhielten wir keine Einwilligung, dementsprechend wurde das NGS-Panel schließlich bei 126 Patient*innen durchgeführt.

3.2 Ergebnisse der genetischen Diagnostik

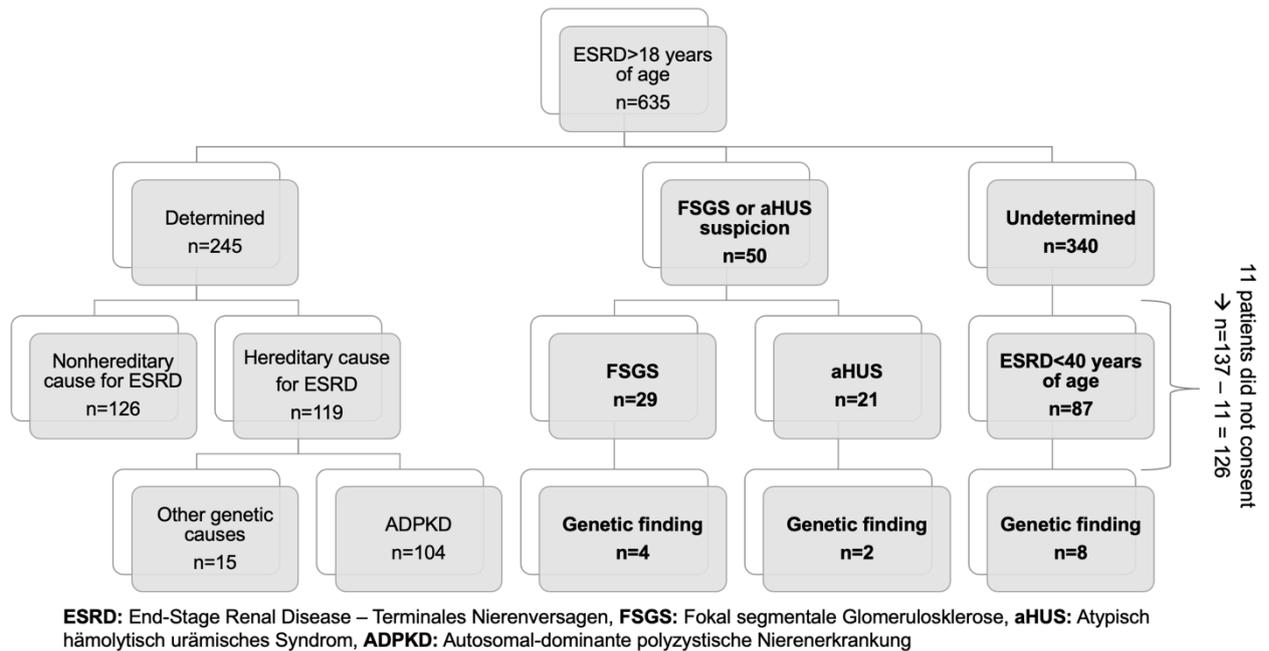


Abbildung 2: Ergebnisse der Stratifizierung und der genetischen Diagnostik*

* Modifizierte Abbildung nach „Fig. 2. Distribution of genetic and nongenetic causes of kidney failure“ <https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8/figures/2> (34)

Bei 11,1 % (14/126) der eingeschlossenen genotypisierten Patient*innen konnte eine pathogene oder wahrscheinlich pathogene Variante detektiert werden. Bei weiteren 9,5 % (12/126) der Patient*innen wurden Varianten unklarer Signifikanz (VUS) festgestellt. Von den Patient*innen mit uneindeutigem Nierenbiopsie-Ergebnis und aHUS- oder FSGS-Verdacht, konnte in insgesamt sechs Fällen mittels NGS-Panels eine genetische Diagnose gestellt werden.

Tabelle 2: Mittels NGS-Panels detektierte Varianten*

Patient ID	Sex	Age at first dialysis	Gene	Variant	Zygoty	ACMG/AMP ²⁶	Causality
1	F	20	<i>CD46</i>	c.286 + 2T>G p.(Lys49_Arg96del)	Hom	P	Causative
2	F	28	<i>COL4A3</i>	c.2083G>A p.(Gly695Arg)	Het	P	Causative
3	F	25	<i>COL4A3</i>	c.3580del p.(Arg1194Glyfs*27) c.4803del p.(Gly1602Alafs*13)	Het Het	P P	Causative
4	M	32	<i>COL4A3</i> <i>COL4A4</i>	Exon 3 deletion Exon 4 deletion	Het Het	P P	Causative
5	F	56	<i>COL4A4</i>	c.4129C>T p.(Arg1377*)	Het	P	Causative
6	F	41	<i>COL4A5</i>	c.3508G>A p.(Gly1170Ser)	Het	P	Causative
7	M	22	<i>COL4A5</i>	c.3482G>A p.(Gly1161Glu)	Hem	P	Causative
8	M	42	<i>INF2</i>	c.652C>T p.(Arg218Trp)	Het	P	Causative
9	F	44	<i>INF2</i>	c.653G>A p.(Arg218Gln)	Het	P	Causative
10	M	21	<i>TTC21B</i>	c.626C>T p.(Pro209Leu)	Hom	P	Causative
11	M	18	<i>TTC21B</i>	c.626C>T p.(Pro209Leu)	Hom	P	Causative
12	M	33	<i>COL4A4</i>	c.481G>C p.(Gly161Arg)	Het	LP	Likely causative
13	M	33	<i>COL4A5</i>	c.1708G>A p.(Gly570Arg)	Hem	LP	Likely causative
14	M	25	<i>NPHP4</i>	c.1124_1125insCC p.(Ser376Leufs*31) c.3766C>T p.(Gln1256*)	Het Het	LP LP	Likely causative
15	M	34	<i>CD2AP</i>	c.682C>T p.(Arg228Trp)	Het	VUS	Possibly causative
16	M	45	<i>CFI</i>	c.950G>A p.Arg317Gln	Het	VUS	Possibly causative
17	F	20	<i>COL4A5</i>	c.4396C>T p.(Arg1466Cys)	Hem	VUS	Possibly causative
18	F	35	<i>GLA</i>	c.352C>T p.(Arg118Cys)	Het	VUS	Possibly causative
19	M	28	<i>INF2</i>	c.*1 + 1G>C p.?	Het	VUS	Possibly causative
20	F	21	<i>INF2</i>	c.2440G>A p.(Asp814Asn)	Het	VUS	Possibly causative
21	M	21	<i>LAMB2</i>	c.2809C>T p.(Arg937Trp)	Hom	VUS	Possibly causative
22	M	18	<i>LMX1B</i>	c.1130G>A p.(Arg377His)	Het	VUS	Possibly causative
23	M	49	<i>MYH9</i>	c.1730T>C p.(Val577Ala)	Het	VUS	Possibly causative
24	M	24	<i>PAX2</i>	c.272C>T p.(Ala91Val)	Het	VUS	Possibly causative
25	F	39	<i>TRPC6</i>	c.26C>A p.(Pro9His)	Het	VUS	Possibly causative
26	M	29	<i>TRPC6</i>	c.1747A>G p.(Arg583Gly)	Het	VUS	Possibly causative

ACMG/AMP American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology, Hem hemizygous, Het heterozygous, Hom homozygous, LP likely pathogenic, P pathogenic, VUS variant of unknown significance.

* Abbildung gemäß „Table 1 Identified putatively pathogenic variants“ [https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8/tables/1\(34\)](https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8/tables/1(34))

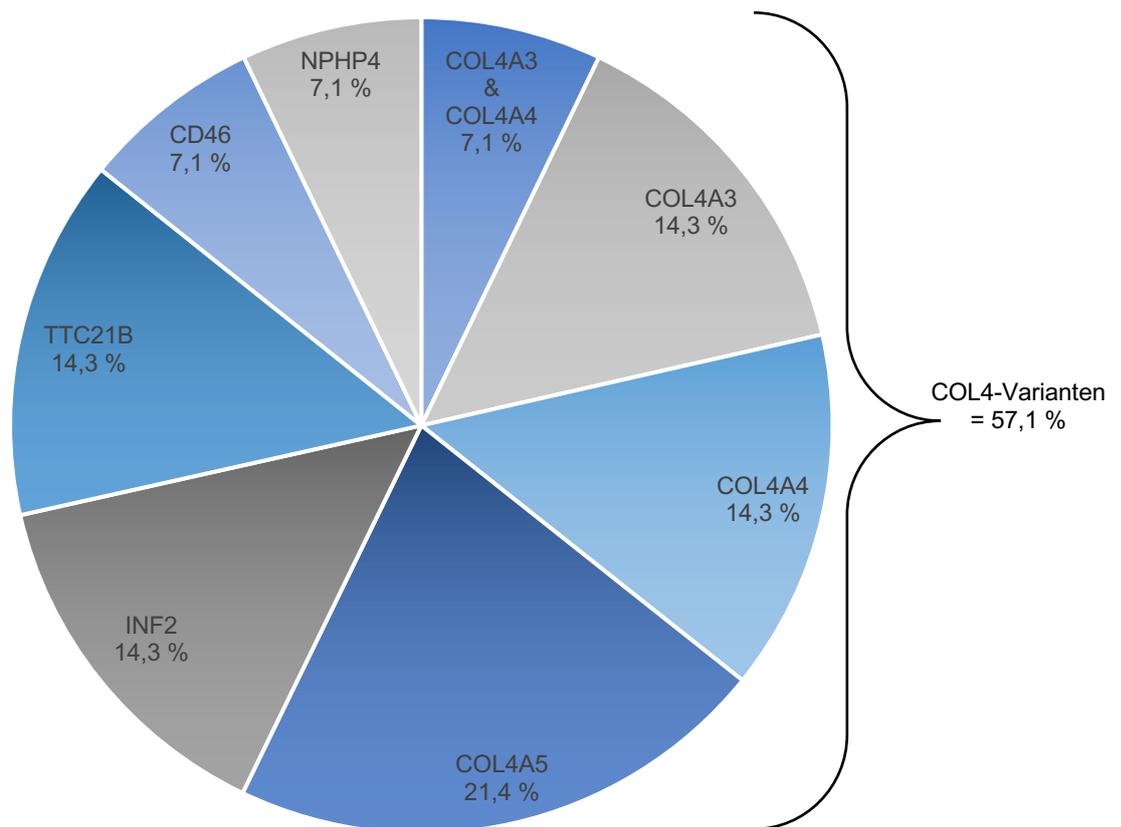


Abbildung 3: Verteilung der pathogenen Varianten*

* Eigene Darstellung

Von den 14 Patient*innen mit pathogenen Varianten wurden bei acht Patient*innen Defekte in Genen festgestellt, welche den Collagen α 345(IV) Trimer kodieren. Typ-IV-Kollagen-Proteine finden sich vor allem in der glomerulären Basalmembran. Zwei Fälle waren im COL4A3-Gen und zwei im COL4A4-Gen lokalisiert, in einem Fall wurden Varianten sowohl im COL4A3-Gen als auch im COL4A4-Gen detektiert (Patient-ID 4). Drei weitere Patient*innen waren Träger*innen von X-chromosomalen Varianten in COL4A5. Mutationen in diesem Gen sind im Zusammenhang mit einem Alport-Syndrom beschrieben. Bei den detektierten COL4-Fällen wiesen jedoch nur zwei Patient*innen einen Hörverlust auf, das klinische Vollbild eines Alport-Syndroms war in keinem Fall zu eruieren. Bei den FSGS-Patient*innen war die diagnostische Aufklärungsrate besonders hoch: Drei der acht Patient*innen mit COL4-Varianten hatten die Diagnose einer FSGS in der Nierenbiopsie. Auffällig war auch die positive Familienanamnese bei zwei Patient*innen: ein betroffener Vater bei einer Patientin mit COL4A5-Variante und eine betroffene Mutter bei einem Patienten ebenfalls mit COL4A5-Variante.

Zwei von den 14 Patient*innen wiesen pathogene Varianten im INF2-Gen auf. In einem Fall war eine deutliche hereditäre Komponente in der Familienanamnese zu eruieren, mit betroffener Mutter, Schwester, Neffen, Nichte, Tante und dem Sohn der Patientin (Patient-ID 9), im anderen Fall war die Familienanamnese unauffällig (Patient-ID 8). Bei zwei Brüdern mit Dialysebeginn im Alter von 18 und 21 Jahren und konsanguinen Eltern (Cousin und Cousine 1. Grades) wurde eine homozygote pathogene Variante im TTC21B-Gen festgestellt. Eine Mutation in diesem Gen wird in der Literatur mit einer familiären FSGS in Verbindung gebracht (36).

Bei einigen Patient*innen konnten zusätzlich wahrscheinlich pathogene heterozygote Varianten in rezessiv vererbaren Genen detektiert werden, bei denen jedoch keine weiteren Veränderungen in den betroffenen Genen in der trans-Konfiguration nachzuweisen waren. In der trans-Konfiguration sind beide homologen Genkopien mutiert, was zu zwei fehlerhaften Proteinen führt, wohingegen in der cis-Konfiguration beide Mutationen im gleichen Chromosom liegen, sodass die zweite Kopie und deren Protein intakt sind.

Tabelle 3: Pathogene oder wahrscheinlich pathogene heterozygote Varianten ohne zusätzliche bestätigende Varianten in trans*

Patient-ID	Sex	Age at first dialysis	Gene	Variant	Zygoty	ACMG/AMP classification
27	m	47	<i>LAMB2</i>	c.1978_1979del p.(Lys660Glyfs*2)	heterozygous	Pathogenic
28	f	28	<i>NUP93</i>	c.1162C>T p.(Arg388Trp)	heterozygous	Likely pathogenic
29	m	34	<i>PLCE1</i>	c.1223G>T p.(Arg408Ile)	heterozygous	Likely pathogenic
30	f	36	<i>SMARCAL1</i>	c.2114C>T p.(Thr705Ile)	heterozygous	Pathogenic

ACMG/AMP classification: The American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology system for variant classification

* Modifizierte Tabelle nach „Supplementary Table 2 Pathogenic or likely pathogenic variants in the heterozygous state in recessive disease genes and no further convincing variant in trans“ <https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8#Sec7> (34)

In einem Fall konnten wir eine Variante unklarer Signifikanz im GLA-Gen nachweisen – Mutationen in diesem Gen sind dafür bekannt, Morbus Fabry zu verursachen. Aufgrund einer echokardiographisch darstellbaren linksventrikulären Hypertrophie wurde nach Übermittlung des genetischen Ergebnisses eine erweiterte Diagnostik initiiert, welche jedoch ohne Hinweise für weitere extrarenale oder renale Manifestationen eines Morbus Fabry blieb.

Bei 3,3 % (21/635) der untersuchten 635 Patient*innen lag aus klinischer Sicht ein aHUS-Verdacht vor. Die entsprechenden Verdachtsvariablen wurden im Methodik-Teil näher erläutert. Bei einer dieser 21 Patient*innen mit dem klinischen Erscheinungsbild einer Hämolyse und Thrombozytopenie konnte eine pathogene homozygote Variante in CD46 nachgewiesen werden. Das Ergebnis der durchgeführten Nierenbiopsie lag uns nicht vor und auch eine Segregationsanalyse konnte aufgrund fehlender Proben der Eltern nicht durchgeführt werden. Vor der genetischen Diagnostik wurde der Fall als „Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP)“ klassifiziert, obwohl keine hochgradig gestörte Aktivität der Metalloprotease ADAMTS-13 und auch keine hemmenden Antikörper nachgewiesen werden konnten. Zudem wurde in einem Fall eine Variante unklarer Signifikanz (VUS) im Komplement-Faktor-I-Gen festgestellt (Patient-ID 16). Hier lag uns der Befund der Nierenbiopsie vor: In diesem wurden Zeichen einer FSGS sowie Zeichen einer TMA beschrieben, klinisch gab es jedoch keinen Anhalt für ein aHUS wie zum Beispiel das Vorliegen einer Hämolyse oder Thrombozytopenie. Insgesamt konnten wir in unserer Studienkohorte nur bei zwei der 21 Patient*innen mit klinischem aHUS-Verdacht eine genetische Variante nachweisen.

Tabelle 4: Patient*innen mit aHUS-Verdacht*

Age at first dialysis	sex	Result of renal biopsy	TMA in allograft biopsy	Associated factors	Variant
54	m	TMA, arteriosclerosis, tubular atrophy, glomerulosclerosis			
31	f	IgA nephropathy, TMA		aHUS occurred after abortion	
20	m	n.a.	TMA in renal allograft	aHUS associated with CMV infection	
35	f	Malignant nephrosclerosis, HUS			
47	m	TMA, diabetic glomerulopathy			
40	m	Intimasclerosis, TMA			
41	m	TMA, malignant nephrosclerosis		Possibly medication triggered by mefloquine	
30	f	FSGS, TMA		Antiphospholipid antibodies positive	
36	f	IgA nephropathy, TMA			
45	m	FSGS, TMA			CFI
57	m	TMA, arteriosclerosis, glomerulosclerosis			
44	m	n.a.	TMA in renal allograft		
20	f	TMA		Preeclampsia in pregnancy	

41	m	TMA, arteriosclerosis, tubular atrophy, glomerulosclerosis		
26	f	TMA		
39	f	FSGS, TMA		
31	m	n.a.	TMA in renal allograft	aHUS associated with CMV infection
26	m	TMA		
36	m	n.a.	TMA in renal allograft	
53	m	TMA		
20	f	n.a.		ADAMTS13 activity 38 % CD46

TMA: Thrombotische Mikroangiopathie, **aHUS:** Atypisch hämolytisch urämisches Syndrom, **CMV:** Cytomegalievirus, **n.a.:** not available, **HUS:** Hämolytisch urämisches Syndrom, **FSGS:** Fokal Segmentale Glomerulosklerose, **ADAMTS13:** A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13

* Modifizierte Tabelle nach „Supplementary Table 3 Clinical features of patients with aHUS suspicion“ <https://www.nature.com/articles/s41436-021-01127-8#Sec7> (34)

3.3 Erkenntnisgewinn

Das Ziel der Studie war es, die Anzahl der Patient*innen mit unklarer Nierengrunderkrankung auf der Transplantationswarteliste durch eine molekulargenetische Analyse mittels NGS-Panels zu reduzieren. Bei 11,1 % (14/126) der untersuchten Patient*innen konnten wir eine pathogene oder wahrscheinlich pathogene Variante nachweisen und so den Anteil der unklaren Fälle auf der Warteliste von 390 auf 376 Fälle minimieren (um 3,6 %). Gleichzeitig erhöhte sich damit der Anteil monogenetischer Diagnosen auf der Warteliste um 11,8 % (von 119 auf 133). Bei zwölf weiteren Patient*innen konnten Varianten aktuell unklarer Signifikanz nachgewiesen werden, welche ebenfalls einen Einfluss auf die Entwicklung der terminalen Niereninsuffizienz gehabt haben könnten. Weiterführende Segregationsanalysen trugen in den meisten Fällen zu keinen tiefergehenden Erkenntnissen bei, da die Eltern verstorben waren oder nur ein Elternteil zur Verfügung stand. Blutproben der Eltern konnten lediglich bei drei Patient*innen gesammelt werden.

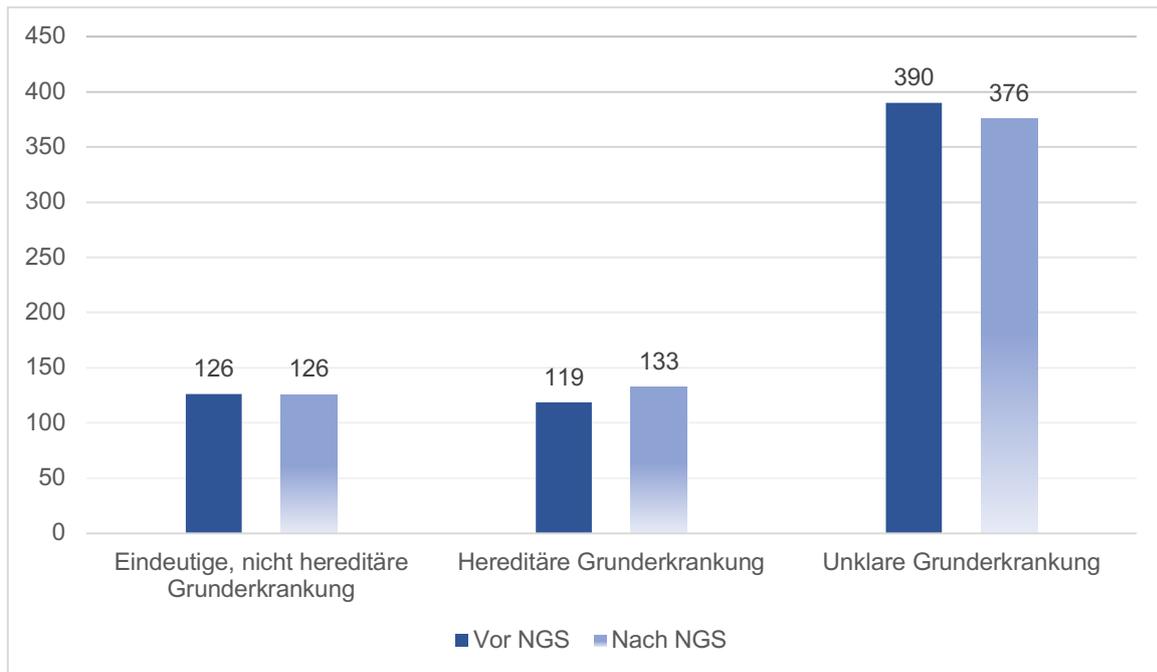


Abbildung 4: Einfluss der Next Generation Sequencing (NGS) Panels auf die Zusammensetzung der Nieren-Transplantationswarteliste*

* Eigene Darstellung

4 Diskussion

4.1 Einordnung der Ergebnisse in den Stand der Forschung

Der Anteil der Patient*innen mit einer unklaren Nierenerkrankung war in unserer Studienkohorte mit 53,5 % (340/635) deutlich höher als die eingangs erwähnten Raten von ca. 20 % (6, 8). Dies ist einerseits auf die ausführliche und umfassende Selektion, andererseits auf die unterschiedlichen angewandten Klassifikationskriterien zurückzuführen, sodass in unserer Kohorte klinisch mögliche, aber nicht eindeutig bewiesene Diagnosen, wie die diabetische oder hypertensive Nephropathie, einen großen Teil der unklaren Grunderkrankungen ausmachen (34).

Durch gezielte NGS-Panels konnten wir bei 11,1 % (14/126) der eingeschlossenen 126 Patient*innen mit terminaler Niereninsuffizienz auf der Eurotransplant-Warteliste eine pathogene oder wahrscheinlich pathogene Variante nachweisen. Diese Aufklärungsquote ist ähnlich zu vergleichbaren Studien der letzten Jahre, welche jedoch zum Teil andere methodische Ansätze verfolgt haben. Auf deren Ergebnisse sowie die Unterschiede und Gemeinsamkeiten im Vergleich zu unserer Publikation soll im Folgenden eingegangen werden. Wichtig ist anzumerken, dass lediglich Studien

diskutiert werden, welche erwachsene Patient*innen untersucht haben, da sich aufgrund der Häufung monogenetischer Erkrankungen in pädiatrischen oder gemischten Kohorten andere Aufklärungsraten ergeben.

In der Studie von Groopman et al. wurden 3315 Patient*innen mit einer chronischen Nierenerkrankung mittels eines Whole Exome Sequencing-Ansatzes untersucht (32). Die Studienkohorte setzte sich zum einen Teil zusammen aus 1128 Patient*innen mit terminaler Niereninsuffizienz zwischen 50–80 Jahren aus 280 medizinischen Zentren in 25 Nationen, welche Teilnehmer*innen der AURORA-Studie zum Nutzen von Rosuvastatin bei der Hämodialyse waren und zum anderen Teil aus 2187 Patient*innen der nephrologischen Abteilung des Columbia University Medical Center, welche Teilnehmer*innen einer Studie zum genetischen Hintergrund von Nierenerkrankungen waren (32). Eine zusätzliche Patient*innenselektion wurde nicht vorgenommen. Mittels Whole Exome Sequencing wurden bei 307 Patient*innen (9,3 %, 307/3315) pathogene oder wahrscheinlich pathogene Varianten detektiert, welche wiederum 66 verschiedene monogenetische Erkrankungen bedingen (32). In 127 Fällen lautete die klinische Diagnose „kongenitale oder zystische Nierenerkrankung“, die diagnostische Aufklärungsrate betrug in diesen Fällen 23,9 % (127 von 531 Fällen) (32). In der Gruppe der „Glomerulopathien“ betrug die Aufklärungsquote 7,2 % (101 von 1411 Fällen) und in der Gruppe der „Nephropathien unklarer Genese“ konnten 48 pathogene Varianten nachgewiesen werden (17,1 %, 48 von 281 Fällen) (32). Bei den genetischen Diagnosen waren 31,1 % auf Mutationen im PKD1- und PKD2-Gen (97/312), 29,5 % auf Mutationen in den COL4A-Genen (92/312) und 2,9 % auf Mutationen im UMOD-Gen (9/312) zurückzuführen (32). Der hohe Anteil von COL4-Varianten deckt sich mit unseren Ergebnissen und ist ähnlich auch in der Literatur zu finden (33). Bei 1,6 % wurden zusätzliche „secondary findings“ nachgewiesen, zum Beispiel BRCA2-Mutationen, welche aufgrund einer Erhöhung der Auftretenswahrscheinlichkeit gynäkologischer Tumorerkrankungen zu weiterer Umfelddiagnostik geführt haben (32). In einer ergänzenden Analyse stellten die Autor*innen dar, dass im Gegensatz zum WES-Ansatz ein Phänotyp-spezifisches-Panel lediglich 44,3 % der diagnostischen Varianten detektiert hätte (32). Fasst man jedoch die Aufklärungsraten des in dem Appendix der Publikation beschriebenen „Zystischen Nierenerkrankungs-Panels“, des „Glomerulopathie-Panels“ und des „Tubulointerstitielle Nephritis-Panels“ zusammen, erreicht man ähnliche Aufklärungsraten wie beim WES-Ansatz (32).

Im Vergleich zu unserer Studie haben Groopman et al. nicht nur ein anderes diagnostisches Verfahren angewandt, sondern auch keine Patient*innenselektion vorgenommen. So wurden Patient*innen mit eindeutigen klinischen Diagnosen genetischer Nierenerkrankungen (wie ADPKD) oder eindeutigen nicht-hereditären Nierenerkrankungen nicht wie in unserem Studiendesign exkludiert, was sich unter anderem in dem hohen Anteil von PKD1- und PKD2-Mutationen widerspiegelt. In einem „Letter to the editor“ reagierten wir auf die Publikation und antworteten mit Verweis auf unsere Studie, dass sich durch eine klinische Vorselektion und die Anwendung nierenerkrankungsspezifischer NGS-Panels ein deutlich kosteneffizienterer Ansatz verfolgen lässt und damit ähnlich bis leichtgradig höhere Aufklärungsquoten erzielt werden können (37). Sollten trotz klinischem Verdacht NGS-Panels keine pathogenen Varianten detektieren, können in einem zweiten Schritt immer noch umfangreichere Panels oder ein WES- oder WGS-Ansatz angewandt werden (14). Ein weiterer Vorteil von NGS-Panels ist, dass sich durch ihre Selektivität „secondary findings“, die damit verbundenen nötigen weiterführenden diagnostischen Maßnahmen und die psychologische Last für Betroffene vermeiden lassen (14). Zudem finden sich beim WES noch mehr Varianten unklarer Signifikanz, welche einen enormen zeit- und personalintensiven Interpretationsaufwand bedingen.

In einer kleineren, in der Zeitschrift *Kidney International* publizierten, Studie von Oettlewski et al. wurden 142 Patient*innen auf der Nieren-Transplantationswarteliste am Universitätsklinikum Leipzig untersucht (9). Ähnlich zu unserem Studiendesign wurde eine Stratifizierung in eindeutige (insgesamt 85) und unklare (insgesamt 57) Fälle vorgenommen (9). Als eindeutige Fälle galten eindeutige Nierenbiopsie-Befunde, morphologisch klare Erkrankungen (wie ADPKD), alle weiteren genetischen und syndromalen Erkrankungen und andere plausible klinische Diagnosen (9). Bei 36 der unklaren Fälle lag keine Nierenbiopsie vor, 14 hatten eine uneindeutige Nierenbiopsie (9). Die unklaren Fälle (aufgrund von sieben dropouts insgesamt 50 Fälle) wurden anhand eines NGS-Panels auf 209 mit einem terminalen Nierenversagen assoziierte Gene untersucht (9). In sechs von 50 Fällen (12 %) konnte eine genetisch determinierte Diagnose gestellt werden, fünf davon wiesen eine positive Familienanamnese auf (9). Zusammenfassend ist die Studie von Oettlewski et al. hinsichtlich Studiendesign und -ergebnis unserer sehr ähnlich, sie schloss jedoch weniger als halb so viele Patient*innen

in die Studienkohorte ein (50 versus 126) und auch das NGS-Panel umfasste deutlich weniger Gene (209 versus 600).

Ein alternatives Studiendesign findet sich in der multizentrischen Studie von Connaughton et al., in der 114 irische Familien mit 138 von terminaler Niereninsuffizienz betroffenen Individuen mittels eines Whole Exome Sequencing-Ansatzes untersucht wurden (24). Familien mit bestätigten genetisch determinierten Erkrankungen oder der klinischen Diagnose einer ADPKD wurden ausgeschlossen (24). Von den eingeschlossenen Familien hatten 78 eine positive Familienanamnese, 16 Familien wiesen extrarenale Symptome auf und 20 Familien waren „unauffällig“ (24). Eine pathogene Variante konnte bei 42 Familien festgestellt werden (36,8 %), vor allem bei denen mit extrarenalen Symptomen oder einer positiven Familienanamnese (24). Nur 15 % der pathogenen Varianten wurden in den „unauffälligen“ Familien detektiert (24). Die häufigsten nachgewiesenen Varianten waren mit ADPKD, CAKUT oder chronischen Glomerulonephritiden assoziiert (24). Das Alter, in dem die terminale Niereninsuffizienz erstmalig auftrat (Kindheit oder Erwachsenenalter), hatte interessanterweise keinen Einfluss auf die diagnostischen Aufklärungsraten (24). Durch das Whole Exome Sequencing wurde bei 40,5 % der Fälle die Diagnose bestätigt, bei 21,4 % die ursprüngliche Diagnose revidiert und bei 38,1 % erstmalig eine Diagnose gestellt (24). Die Autor*innen deklarieren als Limitation jedoch, dass ihre Studienkohorte eine fast doppelt so hohe Prävalenz familiärer chronischer Nierenerkrankungen im Vergleich zur irischen Bevölkerung mit chronischen Nierenerkrankungen aufwies (24).

Die variierenden Aufklärungsraten der dargelegten Studien hängen stark mit den unterschiedlichen Einschlusskriterien, der Vorselektion, der diagnostischen Methodik und der Aufarbeitung der Familienanamnese zusammen. Wenn Studien um Fälle familiärer Häufung, wie bei der Studie von Connaughton et al., angereichert wurden, erhöht dies die Aufklärungsraten und im Gegenzug fallen die Aufklärungsraten bei unselektierten Kohorten niedriger aus.

Tabelle 5: Gegenüberstellung einzelner Studien*

Studie	Studiendesign	Anzahl unklarer Fälle/Gesamtkohorte	Diagnostische Methode	Aufklärungsrate
Groopman, E.E., et al., <i>Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease</i> . N Engl J Med, 2019.	Teilnehmer*innen der AURORA Studie und Patient*innen der nephrologischen Abteilung des Columbia University Medical Center → es wurde keine weitere Selektion vorgenommen	281/3315	WES	9,3 % (307/3315)
Ottlewski, I., et al., <i>Value of renal gene panel diagnostics in adults waiting for kidney transplantation due to undetermined end-stage renal disease</i> . Kidney Int, 2019.	Rekrutiert von der Nieren-Transplantationswarteliste des Universitätsklinikums Leipzig → Stratifizierung in eindeutige und uneindeutige Fälle, die uneindeutigen Fälle wurden weiter untersucht	57/142	NGS-Panels mit 209 Genen	12 % (6/50)
Connaughton, D.M., et al., <i>Monogenic causes of chronic kidney disease in adults</i> . Kidney Int, 2019.	Multizentrische Studie in Irland, Einschluss von Patient*innen mit ESRD und pos. FA oder extrarenalen Symptomen, Ausschluss von Familien mit ADPKD oder anderen bestätigten genetischen Erkrankungen	34/114 Familien	WES	36,8 % (42/114 Familien)
Schrezenmeier, E., et al., <i>The underestimated burden of monogenic kidney disease in adults waitlisted for kidney transplantation</i> . Genet Med, 2021.	Rekrutiert von der Nieren-Transplantationswarteliste der Charité Berlin Campus Mitte → Stratifizierung in eindeutige und uneindeutige Fälle, Einschluss von allen uneindeutigen Fällen mit Dialysepflichtigkeit < 40. Lebensjahr und von Fällen mit V.a. FSGS oder aHUS unabhängig vom Alter	340/635	NGS-Panels mit mehr als 600 Genen	11,1 % (14/126) (+ 9,5 % VUS)
FA: Familienanamnese, VUS: Varianten unklarer Signifikanz, WES: Whole Exome Sequencing, ESRD: End-stage renal disease, Pat.: Patient*innen, V.a.: Verdacht auf				

* Eigene Darstellung

4.2 Limitationen der Studie

Einerseits sind Limitationen hinsichtlich der Patient*innenkohorte zu berichten. Wir verfolgten einen monozentrischen Forschungsansatz und haben dadurch Defizite in der Heterogenität der Patient*innen zu verzeichnen. Während die Patient*innendaten in den Variablen wie Alter, Geschlecht und Alter bei erster Dialyse weitestgehend ausgeglichen waren, konnten wir nur eine relativ niedrige ethnische Variabilität verzeichnen. Dies spielt eine Rolle, wenn man berücksichtigt, dass die Prävalenz einer Niereninsuffizienz bei People of Colour (PoC) deutlich höher ist und dass sich Varianten in den MYH9- und APOL1-Genen, welche zu FSGS und Nephrosklerose führen können, überwiegend bei PoC finden lassen (38, 39). Eine weitere Limitation der Studie ist der Selektionsbias. Wir haben nur Patient*innen eingeschlossen, die vor dem 40. Lebensjahr dialysepflichtig wurden. Durch eine vielmals beschriebene inverse Korrelation zwischen Lebensalter und der Wahrscheinlichkeit der Diagnosestellung einer hereditären Erkrankung haben wir aufgrund dieser Selektion womöglich eine insgesamt höhere Aufklärungsrate erzeugt (2, 40-42). Im Gegenzug haben wir aber auch Patient*innen mit einem mildereren Verlauf einer genetisch bedingten Erkrankung und damit verbunden einer später auftretenden Dialysepflichtigkeit exkludiert. In Kontrast zu unserem Studiendesign steht die Studienkohorte von Groopman et al., in der knapp 1/3 der Patient*innen über 65 Jahre alt waren (32). Insgesamt birgt auch die Klassifikation in eindeutige und unklare Grunderkrankungen, trotz des standardisierten Algorithmus, eine gewisse Subjektivität. Beispielsweise haben wir keine Patient*innen mit interstitiellen Nephritiden in der Nierenbiopsie weiter untersucht, bei welchen in der Studie von Groopman et al. eine genetisch bedingte Erkrankung bei 4,5 % nachzuweisen war (32). Auch Patient*innen mit chronischen Pyelonephritiden haben wir in unserem Studiendesign ausgeschlossen, obwohl die terminale Niereninsuffizienz hereditär durch CAKUT und nicht durch die Pyelonephritis bedingt gewesen sein könnte. In einer Studie mit einem gezielten Panel mit 23 CAKUT-Genen konnte bei ca. 8 % der Patient*innen mit klinischem CAKUT-Verdacht eine genetische Diagnose gestellt werden (14). Defizite hatten wir in unserer Arbeit auch bei der Durchführung der Segregationsanalyse. Diese erbrachte aufgrund fehlender Proben von Familienangehörigen bei den zwölf Patient*innen mit Varianten unklarer Signifikanz bedauerlicherweise nur einen geringen Erkenntnisgewinn. In einigen Fällen mit hoch suggestiver Familienanamnese konnten wir mit dem NGS-Panel-Ansatz

keine genetische Diagnose stellen, diese müssten in einem zweiten Schritt mittels Whole Exome Sequencing nachuntersucht werden.

Auch bezüglich der diagnostischen Methodik sind Limitationen zu verzeichnen. Sowohl ein NGS-Panel-Ansatz als auch ein Whole Exome Sequencing-Ansatz bringen verschiedene Vor- und Nachteile mit sich. Ein Nachteil von NGS-Panels ist es, dass nur bestimmte Gene in den Panels untersucht werden. Das führt dazu, dass man Diagnosen übersehen kann und die eingeschlossenen Gene anhand aktueller Forschungsergebnisse immer wieder auf ihre Relevanz geprüft werden müssen. Außerdem lassen sich aufgrund der unterschiedlichen Panel-Designs Ergebnisse einzelner NGS-Panels nicht mit anderen vergleichen. Sowohl die Zusammenstellung der Panels auch als die Interpretation der Varianten bringt trotz Berücksichtigung aktueller Forschung und bioinformatischer Datenbanken eine gewisse Subjektivität mit sich und birgt die Gefahr, eine falsche Kausalität zwischen Genotyp und Phänotyp herzustellen. Eine weitere Limitation von NGS-Panels ist, dass sich die Selektion der Gene in hohem Maße auf den entsprechenden Phänotyp stützt, obwohl genetisch bedingte Nierenerkrankungen eine hohe phänotypische Heterogenität aufweisen und sich auch atypisch präsentieren können (43). Bei uneindeutigen Phänotypen liefert das Whole Exome Sequencing einen breiteren Ansatz und ermöglicht so den Nachweis von mehr potenziell pathogenen Varianten. Ein breiterer Ansatz führt jedoch auch zu mehr VUS und „secondary findings“, welche dann auf klinische Relevanz geprüft und den Betroffenen überbracht werden müssen. Aufgrund des gezielten Ansatzes kann es bei NGS-Panels keine inzidentellen „secondary findings“ geben. Ein weiterer Vorteil von NGS-Panels ist die Kosten- und Zeiteffizienz. Auch die Detektion von Copy Number Variations (CNV) und großen heterozygoten und homozygoten Deletionen ist anhand von NGS-Panels valider und entgeht Exom-Sequenzierungen häufig (34, 44). Viele prävalente und relevante Gene wie PKD1 (bei ADPKD) und CFH (bei aHUS) liegen in sehr komplexen Regionen des Genoms mit zahlreichen homologen Duplikationen und sind aus diesem Grund ohne ein zielgerichtetes Panel schwierig nachzuweisen (29, 45). Insgesamt ist jedoch zu betonen, dass alle Untersuchungsmethoden, sowohl NGS-Panels als auch Exom- oder Genom-Sequenzierungen, Defizite in GC-reichen (Guanin-Cytosin), repetitiven und homologen DNA-Regionen sowie bei tiefen intronischen Varianten haben (17, 46). Zu guter Letzt ist der für alle diagnostischen Methoden

limitierende Faktor die Geschwindigkeit der Forschung in der Entdeckung neuer, für einen Phänotyp relevanter, Varianten und Gene (44).

4.3 Klinische und therapeutische Relevanz

Wie in der vorliegenden Arbeit deutlich gemacht wurde, sind unklare Nierenerkrankungen in den Kliniken ein alltägliches Problem. Doch warum ist eine zuverlässige Diagnosestellung notwendig? Einerseits hat dies therapeutische Konsequenzen: Wenn keine Ursache für die terminale Niereninsuffizienz festgestellt wird, kann auch keine krankheitsspezifische Therapie begonnen werden. Übrig bleibt die symptomatische Therapie mittels Nierenersatzverfahren oder -transplantation. Je früher eine Diagnose gestellt wird, desto früher kann die entsprechende Erkrankung gezielt behandelt werden und irreversible lebensgefährliche pathologische Veränderungen der Nieren und des gesamten Organismus können vermieden werden.

Wird eine molekulargenetische Diagnose gestellt, können krankheitsspezifische Therapien zum Einsatz kommen – beispielsweise beim atypisch hämolytisch urämischem Syndrom (aHUS). Dieses hat im Vergleich zum typischen HUS, welches durch Infektionen mit dem enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) bedingt ist, einen polygenetischen Hintergrund und gilt als sehr seltene Erkrankung. Beschrieben sind autosomal-dominante und -rezessive Vererbungswege von Genmutationen, welche die Komplementfaktoren H, I, 3 und B sowie CD46 (früher Membrancofaktorprotein MCP) und das Thrombomodulin-Gen betreffen (35). Dies bedingt eine unkontrollierte Aktivierung des alternativen Signalweges des Komplementsystems und geht mit einer thrombotischen Mikroangiopathie (TMA) einher. Klinisch präsentiert sich das aHUS durch die Trias einer Thrombozytopenie, einer hämolytischen Anämie und thrombotischer Endorganschäden, wie ein terminales Nierenversagen (35). Die Relevanz einer schnellen und zuverlässigen Diagnosestellung wird besonders deutlich, wenn man sich die schlechte Prognose von aHUS-Patient*innen vor Augen führt: die Mortalität in der akuten Phase beträgt 10–15 %, bis zu 50 % der Fälle enden im terminalen Nierenversagen und werden damit dialyseabhängig (47). Insgesamt ist die schlechte Prognose eines aHUS auch durch die hohen Rezurrenzzraten von 50–60 % in Transplantaten bedingt (48).

Eine neuere Therapiemöglichkeit, neben der gemeinhin üblichen Plasmatherapie, ist der Einsatz des humanisierten monoklonalen IgG-Antikörpers Eculizumab (Handelsname Soliris). Dieser fungiert als terminaler Komplementsystem-Inhibitor, indem er mit hoher Affinität an das Protein C5 des Komplementsystems bindet und dessen Spaltung in das proinflammatorische Anaphylatoxin Protein C5a und das lytische Protein C5b blockiert, sodass die Bildung des terminalen Komplementkomplexes C5b-9 (sog. Membranangriffskomplex) verhindert wird (49). Dieser aktiviert beim aHUS unkontrolliert Thrombozyten, Leukozyten und Endothelzellen, was in der oben genannten Symptomtrias resultiert. Der Einsatz von Eculizumab beschränkt sich nicht nur auf die Verhinderung einer terminalen Niereninsuffizienz, sondern kann auch präventiv im Rahmen der Rekurrenzprophylaxe nach Nierentransplantation verwendet werden. Allerdings ist ein aHUS nicht immer durch eine unkontrollierte Aktivierung des Komplementsystems bedingt, sondern kann auch durch eine rezessive Loss-of-Function Mutation im DGKE-Gen (Diacylglycerol Kinase Epsilon) hervorgerufen werden. Dabei kommt es ebenso zu thrombotischen Mikroembolien und einem terminalen Nierenversagen, allerdings nicht durch eine Aktivierung des Komplementsystems, sondern über eine Aktivierung der Proteinkinase C durch die Diacylglycerol Kinase. Da der prothrombotische Zustand also durch einen alternativen Mechanismus bedingt ist, ist die Anwendung von Eculizumab bei Patient*innen mit einer Loss-of-Function Mutation im DGKE-Gen nicht wirksam (10, 50). Damit genau die Patient*innen Eculizumab erhalten, die davon profitieren, ist auch unter Berücksichtigung der extrem hohen Jahrestherapiekosten von mehreren hunderttausend Euro eine korrekte molekulargenetische Diagnose unabdingbar.

Aber auch bei anderen Krankheiten, wie zum Beispiel dem Alport-Syndrom, kann durch eine frühzeitige Kenntnis der Diagnose mittels einer gezielten RAAS-Blockade die Notwendigkeit der Dialyse verzögert oder vermieden werden (21). In einer Studie mit Mäusen konnte durch die präemptive Gabe von Ramipril ein deutlich verlängertes Überleben festgestellt werden; je früher der Beginn der Therapie, desto deutlichere Effekte wurden erreicht (51).

Auch bei Morbus Fabry kann eine frühzeitige Diagnosestellung die Lebensqualität der Betroffenen deutlich verbessern und mögliche Organendschäden vermeiden oder zumindest verzögern. Zusätzlich zur Enzyersatztherapie kann eine genotypspezifische Medikamentengabe zum Einsatz kommen. Die Therapie mit Migalastat als

pharmakologisches Chaperon scheint nicht für jeden Patienten wirksam, sondern nur für die, die eine Migalastat-sensitive Mutation des alpha-Galaktosidase A (GLA)-Gens aufweisen (52).

Aber nicht nur von etablierten Therapien würden die Betroffenen profitieren, sie könnten zusätzlich in krankheitsspezifische klinische Studien eingeschlossen werden, wie beispielsweise zur microRNA Inhibition beim Alport-Syndrom (14). Gleichzeitig könnten Patient*innen mit hereditären Formen eines steroid-resistenten nephrotischen Syndroms von einer klinischen Studie, welche den Effekt von Glukokortikoiden untersucht, ausgeschlossen und die Patient*innensicherheit damit erhöht werden (14). Mithilfe einer eindeutigen Diagnose kann außerdem die Immunsuppression nach Transplantation individualisiert werden, um so unter anderem das Risiko von Präkanzerosen und anderen toxischen Effekten zu minimieren (zum Beispiel die Vermeidung von endothelzelltoxischen Calcineurininhibitoren bei aHUS-Patient*innen (53) oder die Vermeidung von Steroiden bei Patient*innen mit Glomerulonephritiden und dem Vorliegen einer COL4A3-5-Mutation (14)).

Von Relevanz ist eine molekulargenetische Diagnose auch zur Abschätzung des Krankheitsverlaufs und zur Rekurrenzprognose, vor allem bei Erkrankungen mit einer hohen Genotyp-Phänotyp-Korrelation. Ein klassisches Beispiel sind Patient*innen mit der autosomal-dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD): PKD1- und PKD2-Träger*innen haben eine unterschiedliche Prognose (54) und Patient*innen mit der erst kürzlich detektierten pathogenen ALG9-Variante weisen insgesamt einen milderen Verlauf auf (55). Die Heterogenität verschiedener Phänotypen einer Krankheit, je nach genotypischem Befund, lässt sich auch am Bartter-Syndrom verdeutlichen. Beim Bartter-Syndrom sind Mutationen im SLC12A1- oder KCNJ1-Gen assoziiert mit einem schwerwiegenden neonatalen Krankheitsbeginn, Mutationen im CLCNKB-Gen mit einem milderen und später einsetzenden Verlauf und Mutationen im BSND-Gen verursachen das Bartter-Syndrom kombiniert mit einer Schallempfindungsschwerhörigkeit (10, 56). Aber auch hinsichtlich der Prognose des aHUS spielt die korrekte molekulargenetische Diagnose eine Rolle: Patient*innen mit einer CD46-Mutation haben meistens eine bessere Prognose als Patient*innen mit einer Komplement-Faktor-H-Mutation oder Komplement-Faktor-I-Mutation und weisen eine höhere Remissionsrate und ein verbessertes Überleben nach Nierentransplantation aufgrund niedrigerer Rekurrenzzraten auf (35). Bei Patient*innen mit einer Komplement-Faktor-Mutation mit Rekurrenzzraten

von 50–100 % gilt eine isolierte Nierentransplantation sogar als kontraindiziert (53). Vor allem Lebendspenden sollten bei entsprechenden Patient*innen unbedingt vermieden werden und auch bei Patient*innen mit niedrigerem Rezurrenzrisiko sollten die Spender*innen auf das Vorliegen von ähnlichen hereditären Varianten untersucht werden (53). Auch die Diagnose einer familiären FSGS hat einen Einfluss auf die Evaluation einer möglichen Transplantation. Für eine Mutation in den Genen INF2 und NPHS2 ist ein sehr niedriges Rezurrenzrisiko beschrieben, sodass eine Nierentransplantation von Organen ohne den entsprechenden Defekt eine kurative Therapieoption darstellt (9). Liegt also Kenntnis über die zugrundeliegende Mutation vor, kann eine bessere Transplantationsindikationsstellung und eine sinnvollere Priorisierung auf der Transplantationswarteliste vorgenommen werden. Ein kostspieliger operativer Eingriff mit vielen Risiken und einer hohen Belastung für den Körper kann bei entsprechenden Patient*innen vermieden und das Organ an andere Patient*innen weitergegeben werden.

Die Patient*innensicherheit wird anhand einer molekulargenetischen Diagnose auch in anderen Bereichen, abseits der Nephrologie, verbessert. Durch „reverse phenotyping“ können engmaschigere Verlaufskontrollen zur Überwachung mit der Diagnose verbundener extrarenaler Komorbiditäten durchgeführt werden, wie beispielsweise das Screening auf das Vorliegen eines Diabetes mellitus und das Monitoring der Leberfunktion bei Patient*innen mit HNF1B-Mutation im Rahmen von CAKUT (14).

Letztlich endet mit dem Vorliegen einer korrekten Diagnose für die Patient*innen und ihre Familien die „diagnostische Odyssee“ sowie die mit einer unbekanntem Krankheit verbundene Unsicherheit und krankheitsspezifische Selbsthilfegruppen können den Betroffenen psychosoziale Unterstützung und Sicherheit bieten.

4.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Aufbauend auf die vorliegende Arbeit sind weitergehende Forschungsprojekte möglich. Beispielsweise könnten die Patient*innen auf der Nieren-Transplantationswarteliste der gesamten Charité Berlin, nicht nur des Campus Mitte, anhand von NGS-Panels untersucht werden. Dabei sollte die Altersbeschränkung von „Erstmalige Dialysepflichtigkeit unter dem 40. Lebensjahr“ aufgehoben und aufgrund der häufigen hereditären Ätiologien auch alle Patient*innen mit der Diagnose einer interstitiellen Nephritis und Fehlbildungen der ableitenden Harnwege eingeschlossen werden. Dies

wäre ein multizentrischer Ansatz mit weit mehr als 1500 Proband*innen. Angeschlossen werden könnte eine Whole Exome Analyse aller Patient*innen mit negativem Ergebnis trotz positiver Familienanamnese. Interessant wäre auch ein Follow-up der Patient*innen, welche durch das NGS-Panel eine genetische Diagnose erhielten, um die damit verbundenen klinischen Implikationen und die therapeutische Relevanz herauszuarbeiten. Ein weiterer Forschungsansatz wäre es, nicht nur die Patient*innen mit unklaren Ätiologien zu untersuchen, sondern die Diagnostik auf die gesamte Warteliste auszuweiten. So könnten mögliche fehldiagnostizierte Fälle herausgefiltert und die Patient*innenversorgung mit reklassifizierten Diagnosen verbessert werden.

Insgesamt gilt es, noch mehr pathogene Varianten zu detektieren, die in nephrologische NGS-Panels eingeschlossen werden können. Durch weitergehende Forschungsprojekte wie das „100,000 Genomes Project“ vom National Institute for Health Research England werden immer mehr Varianten und dazugehörige Phänotypen klassifiziert. Dies kann in Zukunft auch die Interpretation von Varianten unklarer Signifikanz verbessern.

Die vorhandene Heterogenität der Patient*innen spricht dafür, einheitliche systematische Diagnosestandards zu etablieren. Vor allem bei Patient*innen mit unklaren Ätiologien sollte ein standardisierter Algorithmus, beispielsweise wie jener in der vorliegenden Publikation, angewandt werden, welcher je nach Phänotyp bildgebende, histopathologische und genetische Untersuchungsmethoden einschließt. Obwohl Patient*innen mit seltenen Erkrankungen einen deutlichen Anteil an der Transplantationswartelisten-Population ausmachen, ist der Alltag einzelner Nephrolog*innen oder Dialysepraxen eher durch bekanntere Krankheiten wie zum Beispiel diabetische oder hypertensive Nephropathien bestimmt. Auf fünf Dialysezentren kommt ein*e Patient*in mit ARPKD, auf 13 Dialysezentren ein*e Cystinose-Patient*in und auf 27 Dialysezentren ein*e Patient*in mit Morbus Fabry (7). Aus diesem Grund sollten gemäß des Aktionsplans des 2009 gegründeten Europäischen Expertenkomitees für seltene Krankheiten mehr interdisziplinäre Spezialzentren für seltene Krankheiten, in diesem Fall seltene Nierenerkrankungen, etabliert werden, wo eine Betreuung durch Nephrolog*innen und Genetiker*innen gleichermaßen stattfindet (57). Die Behandlung sowohl von Erwachsenen als auch von Kindern in den Spezialzentren könnte den Übergang von der pädiatrischen Nephrologie in die Erwachsenenephrologie erleichtern (7). Eine enge Zusammenarbeit und ein Erfahrungsaustausch zwischen den Zentren in

ganz Europa würde die Qualität der Patient*innenversorgung weiter verbessern. Die Etablierung solcher Spezialzentren würde außerdem die Rekrutierung von Patient*innenkollektiven für weitere Forschungsprojekte deutlich vereinfachen (7). Durch das Bewusstsein für die Krankheitsentitäten und Kenntnis über die diagnostischen Möglichkeiten könnte es schließlich dazu kommen, dass einige der „seltenen Krankheiten“ bald aufgrund häufigerer Diagnosestellung gar nicht mehr so selten sind.

Zusammenfassend konnte unsere Studie zeigen, dass molekulargenetische Diagnostik mit spezifischen NGS-Panels zu einem deutlichen Anteil zur Aufklärung bislang unklarer Nierenerkrankungen beitragen kann. Dies verbessert die Versorgung vor und nach Nierentransplantation, erlaubt eine differenzierte Einschätzung der Wiederholungswahrscheinlichkeiten bei weiteren Familienangehörigen und trägt zu einem längeren Transplantatüberleben bei. Obwohl die Kosten genetischer Diagnostik stetig sinken, sind sie im Vergleich zu herkömmlichen diagnostischen Mitteln weiterhin hoch und damit nicht allen Patient*innen in den verschiedenen Gesundheitssystemen der Welt zugänglich. Werden jedoch auch die sekundären Kosten berücksichtigt, die durch eine späte Diagnosestellung verursacht werden, mildert dies die Kosten einer frühzeitigen und zuverlässigen genetischen Diagnostik.

Insgesamt führt das frühe Wissen einer genetisch determinierten Erkrankung zu einer personalisierten Medizin mit einer deutlich verbesserten Patient*innenversorgung und -sicherheit und minimiert finanzielle Belastungen für das Gesundheitssystem. Durch zukünftige Studien, neue wissenschaftliche Erkenntnisse und technologische Fortschritte und damit verbunden noch höhere Aufklärungsraten, wird die genetische Diagnostik in den kommenden Jahren zu einem Standard in der klinischen Nephrologie werden.

5 Literaturverzeichnis

1. Vorstand der Charité und Zentrale Frauen- und Gleichstellungsbeauftragte. Vorstandsmeldung. 2018. Available from: https://frauenbeauftragte.charite.de/metas/meldung/artikel/detail/geschlechtergerechte_sprache_an_der_charite/. Accessed 23.07.2021.
2. de Haan A, Eijgelsheim M, Vogt L, Knoers N, de Borst MH. Diagnostic Yield of Next-Generation Sequencing in Patients With Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology. *Front Genet.* 2019;10:1264.
3. Coresh J SE, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA.* 2007;298(17):2038-47.
4. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, Hobbs FD. Global Prevalence of Chronic Kidney Disease - A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016;11(7):e0158765.
5. Gemeinsamer Bundesausschuss. Jahresbericht 2019 zur Qualität in der Dialyse. 2020. Available from: https://www.g-ba.de/downloads/39-261-4568/2020-11-20_QSD-RL_IQTIG-Jahresbericht-2019.pdf. Accessed 08.10.2021.
6. ERA-EDTA Registry. Annual Report 2018. 2020. Available from: <https://www.era-online.org/registry/AnnRep2018.pdf>. Accessed 08.10.2021.
7. Wuhl E, van Stralen KJ, Wanner C, Ariceta G, Heaf JG, Bjerre AK, Palsson R, Duneau G, Hoitsma AJ, Ravani P, Schaefer F, Jager KJ. Renal replacement therapy for rare diseases affecting the kidney: an analysis of the ERA-EDTA Registry. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29 Suppl 4:iv1-8.
8. Titze S, Schmid M, Kottgen A, Busch M, Floege J, Wanner C, Kronenberg F, Eckardt KU, investigators Gs. Disease burden and risk profile in referred patients with moderate chronic kidney disease: composition of the German Chronic Kidney Disease (GCKD) cohort. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30(3):441-51.
9. Ottelewski I, Munch J, Wagner T, Schonauer R, Bachmann A, Weimann A, Hentschel J, Lindner TH, Seehofer D, Bergmann C, Jamra RA, Halbritter J. Value of renal gene panel diagnostics in adults waiting for kidney transplantation due to undetermined end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2019;96(1):222-30.
10. Devuyst O, Knoers NVAM, Remuzzi G, Schaefer F. Rare inherited kidney diseases: challenges, opportunities, and perspectives. *The Lancet.* 2014;383(9931):1844-59.
11. Liapis H, Gaut JP. The renal biopsy in the genomic era. *Pediatr Nephrol.* 2013;28(8):1207-19.
12. Cooper S, Flood TA, Khodary ME, Shabana WM, Papadatos D, Lavallee LT, Schieda N. Diagnostic Yield and Complication Rate in Percutaneous Needle Biopsy of Renal Hilar Masses With Comparison With Renal Cortical Mass Biopsies in a Cohort of 195 Patients. *AJR Am J Roentgenol.* 2019;212(3):570-5.
13. Leveridge MJ, Finelli A, Kachura JR, Evans A, Chung H, Shiff DA, Fernandes K, Jewett MA. Outcomes of small renal mass needle core biopsy, nondiagnostic percutaneous biopsy, and the role of repeat biopsy. *Eur Urol.* 2011;60(3):578-84.
14. Groopman EE, Rasouly HM, Gharavi AG. Genomic medicine for kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(2):83-104.
15. Zerres K, Eggermann T, Hildebrandt F, Konrad M, Fuchshuber A, Neumann HPH, Zimmerhackl B, Rudnik-Schoneborn S. Erbliche Nierenkrankheiten-eine Übersicht. *MEDIZINISCHE GENETIK.* 2000;12(2):163-9.

16. Barker DF, Hostikka SL, Zhou J, Chow LT, Oliphant AR, Gerken SC, Gregory MC, Skolnick MH, Atkin CL, Tryggvason K. Identification of Mutations in the COL4A5 Collagen Gene in Alport Syndrome. *Science*. 1990;248(4960):1224-7.
17. Strande NT, Berg JS. Defining the Clinical Value of a Genomic Diagnosis in the Era of Next-Generation Sequencing. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2016;17:303-32.
18. August D, Grimbacher B. Entwicklung der genetischen Diagnostik. *BIOspektrum*. 2017;23(1):37-40.
19. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2013;98(6):236-8.
20. Devuyst O. Genetics of kidney diseases in 2017: Unveiling the genetic architecture of kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(2):80-2.
21. Gross O, Hoefele J. Genetische Ursachen und Therapie beim Alport-Syndrom. *medizinische genetik*. 2019;30(4):429-37.
22. Tarailo-Graovac M, Shyr C, Ross CJ, Horvath GA, Salvarinova R, Ye XC, Zhang LH, Bhavsar AP, Lee JJ, Drogemoller BI, Abdelsayed M, Alfadhel M, Armstrong L, Baumgartner MR, Burda P, Connolly MB, Cameron J, Demos M, Dewan T, Dionne J, Evans AM, Friedman JM, Garber I, Lewis S, Ling J, Mandal R, Mattman A, McKinnon M, Michoulas A, Metzger D, Ogunbayo OA, Rakic B, Rozmus J, Ruben P, Sayson B, Santra S, Schultz KR, Selby K, Shekel P, Sirrs S, Skrypnik C, Superti-Furga A, Turvey SE, Van Allen MI, Wishart D, Wu J, Wu J, Zafeiriou D, Kluijtmans L, Wevers RA, Eydoux P, Lehman AM, Vallance H, Stockler-Ipsiroglu S, Sinclair G, Wasserman WW, van Karnebeek CD. Exome Sequencing and the Management of Neurometabolic Disorders. *N Engl J Med*. 2016;374(23):2246-55.
23. Connaughton DM, Hildebrandt F. Personalized medicine in chronic kidney disease by detection of monogenic mutations. *Nephrol Dial Transplant*. 2020;35(3):390-7.
24. Connaughton DM, Kennedy C, Shril S, Mann N, Murray SL, Williams PA, Conlon E, Nakayama M, van der Ven AT, Ityel H, Kause F, Kolvenbach CM, Dai R, Vivante A, Braun DA, Schneider R, Kitzler TM, Moloney B, Moran CP, Smyth JS, Kennedy A, Benson K, Stapleton C, Denton M, Magee C, O'Seaghdha CM, Plant WD, Griffin MD, Awan A, Sweeney C, Mane SM, Lifton RP, Griffin B, Leavey S, Casserly L, de Freitas DG, Holian J, Dorman A, Doyle B, Lavin PJ, Little MA, Conlon PJ, Hildebrandt F. Monogenic causes of chronic kidney disease in adults. *Kidney Int*. 2019;95(4):914-28.
25. Skrunes R, Svarstad E, Reisaeter AV, Vikse BE. Familial clustering of ESRD in the Norwegian population. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(10):1692-700.
26. McClellan WM, Satko SG, Gladstone E, Krisher JO, Narva AS, Freedman BI. Individuals with a family history of ESRD are a high-risk population for CKD: implications for targeted surveillance and intervention activities. *Am J Kidney Dis*. 2009;53(3 Suppl 3):S100-6.
27. Connaughton DM, Bukhari S, Conlon P, Cassidy E, O'Toole M, Mohamad M, Flanagan J, Butler T, O'Leary A, Wong L, O'Regan J, Moran S, O'Kelly P, Logan V, Griffin B, Griffin M, Lavin P, Little MA, Conlon P. The Irish Kidney Gene Project--Prevalence of Family History in Patients with Kidney Disease in Ireland. *Nephron*. 2015;130(4):293-301.
28. Snoek R, van Setten J, Keating BJ, Israni AK, Jacobson PA, Oetting WS, Matas AJ, Mannon RB, Zhang Z, Zhang W, Hao K, Murphy B, Reindl-Schwaighofer R, Heinzl A, Oberbauer R, Viklicky O, Conlon PJ, Stapleton CP, Bakker SJL, Snieder H, Peters EDJ, van der Zwaag B, Knoers N, de Borst MH, van Eerde AM. NPHP1 (Nephrocystin-1) Gene Deletions Cause Adult-Onset ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(6):1772-9.

29. Hay E, Cullup T, Barnicoat A. A practical approach to the genomics of kidney disorders. *Pediatr Nephrol*. 2021.
30. Yao X-d, Chen X, Huang G-y, Yu Y-t, Xu S-t, Hu Y-l, Wang Q-w, Chen H-p, Zeng C-h, Ji D-x, Hu W-x, Tang Z, Liu Z-h. Challenge in pathologic diagnosis of Alport syndrome: evidence from correction of previous misdiagnosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2012;7(1):100.
31. Beck B, Netzer C. Einführung zum Thema: Erbliche Nierenerkrankungen. Die Nephrogenetik wird erwachsen. *medizinische genetik*. 2018;30(4):389-90.
32. Groopman EE, Marasa M, Cameron-Christie S, Petrovski S, Aggarwal VS, Milo-Rasouly H, Li Y, Zhang J, Nestor J, Krithivasan P, Lam WY, Mitrotti A, Piva S, Kil BH, Chatterjee D, Reingold R, Bradbury D, DiVecchia M, Snyder H, Mu X, Mehl K, Balderes O, Fasel DA, Weng C, Radhakrishnan J, Canetta P, Appel GB, Bomback AS, Ahn W, Uy NS, Alam S, Cohen DJ, Crew RJ, Dube GK, Rao MK, Kamalakaran S, Copeland B, Ren Z, Bridgers J, Malone CD, Mebane CM, Dagaonkar N, Fellstrom BC, Haefliger C, Mohan S, Sanna-Cherchi S, Kiryluk K, Fleckner J, March R, Platt A, Goldstein DB, Gharavi AG. Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease. *N Engl J Med*. 2019;380(2):142-51.
33. Lata S, Marasa M, Li Y, Fasel DA, Groopman E, Jobanputra V, Rasouly H, Mitrotti A, Westland R, Verbitsky M, Nestor J, Slater LM, D'Agati V, Zaniew M, Materna-Kiryluk A, Lugani F, Caridi G, Rampoldi L, Mattoo A, Newton CA, Rao MK, Radhakrishnan J, Ahn W, Canetta PA, Bomback AS, Appel GB, Antignac C, Markowitz GS, Garcia CK, Kiryluk K, Sanna-Cherchi S, Gharavi AG. Whole-Exome Sequencing in Adults With Chronic Kidney Disease: A Pilot Study. *Ann Intern Med*. 2018;168(2):100-9.
34. Schrezenmeier E, Kremerskothen E, Halleck F, Staeck O, Liefeldt L, Choi M, Schuler M, Weber U, Bachmann N, Grohmann M, Wagner T, Budde K, Bergmann C. The underestimated burden of monogenic kidney disease in adults waitlisted for kidney transplantation. *Genet Med*. 2021;23(7):1219-24.
35. Caprioli J, Noris M, Brioschi S, Pianetti G, Castelletti F, Bettinaglio P, Mele C, Bresin E, Cassis L, Gamba S, Porrati F, Bucchioni S, Monteferrante G, Fang CJ, Liszewski MK, Kavanagh D, Atkinson JP, Remuzzi G, International Registry of R, Familial HT. Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood*. 2006;108(4):1267-79.
36. Huynh Cong E, Bizet AA, Boyer O, Woerner S, Gribouval O, Filhol E, Arrondel C, Thomas S, Silbermann F, Canaud G, Hachicha J, Ben Dhia N, Peraldi MN, Harzallah K, Iftene D, Daniel L, Willems M, Noel LH, Bole-Feysot C, Nitschke P, Gubler MC, Mollet G, Saunier S, Antignac C. A homozygous missense mutation in the ciliary gene TTC21B causes familial FSGS. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(11):2435-43.
37. Schrezenmeier E, Budde K, Bergmann C. Diagnostic utility of exome sequencing for kidney disease. *The New England journal of medicine*. 2019;380(21):2078-.
38. Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, Lecordier L, Uzureau P, Freedman BI, Bowden DW, Langefeld CD, Oleksyk TK, Uscinski Knob AL, Bernhardt AJ, Hicks PJ, Nelson GW, Vanhollebeke B, Winkler CA, Kopp JB, Pays E, Pollak MR. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science*. 2010;329(5993):841-5.
39. United States Renal Data System. Annual Data Report 2019: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. 2019. Available from: <https://www.usrds.org/media/2371/2019-executive-summary.pdf>. Accessed 08.10.2021.

40. Sadowski CE, Lovric S, Ashraf S, Pabst WL, Gee HY, Kohl S, Engelmann S, Vega-Warner V, Fang H, Halbritter J, Somers MJ, Tan W, Shril S, Fessi I, Lifton RP, Bockenbauer D, El-Desoky S, Kari JA, Zenker M, Kemper MJ, Mueller D, Fathy HM, Soliman NA, Group SS, Hildebrandt F. A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(6):1279-89.
41. Santin S, Bullich G, Tazon-Vega B, Garcia-Maset R, Gimenez I, Silva I, Ruiz P, Ballarin J, Torra R, Ars E. Clinical utility of genetic testing in children and adults with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(5):1139-48.
42. Halbritter J, Baum M, Hynes AM, Rice SJ, Thwaites DT, Gucev ZS, Fisher B, Spaneas L, Porath JD, Braun DA, Wassner AJ, Nelson CP, Tasic V, Sayer JA, Hildebrandt F. Fourteen monogenic genes account for 15% of nephrolithiasis/nephrocalcinosis. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(3):543-51.
43. Hays T, Groopman EE, Gharavi AG. Genetic testing for kidney disease of unknown etiology. *Kidney Int.* 2020;98(3):590-600.
44. Rehm HL. Disease-targeted sequencing: a cornerstone in the clinic. *Nat Rev Genet.* 2013;14(4):295-300.
45. Ali H, Al-Mulla F, Hussain N, Naim M, Asbeutah AM, AlSahow A, Abu-Farha M, Abubaker J, Al Madhoun A, Ahmad S, Harris PC. PKD1 Duplicated regions limit clinical Utility of Whole Exome Sequencing for Genetic Diagnosis of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Sci Rep.* 2019;9(1):4141.
46. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet.* 2016;17(6):333-51.
47. Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, Daina E, Fenili C, Castelletti F, Sorosina A, Piras R, Donadelli R, Maranta R, van der Meer I, Conway EM, Zipfel PF, Goodship TH, Remuzzi G. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(10):1844-59.
48. Noris M, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy after kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2010;10(7):1517-23.
49. Nester CM, Brophy PD. Eculizumab in the treatment of atypical haemolytic uraemic syndrome and other complement-mediated renal diseases. *Curr Opin Pediatr.* 2013;25(2):225-31.
50. Lemaire M, Fremeaux-Bacchi V, Schaefer F, Choi M, Tang WH, Le Quintrec M, Fakhouri F, Taque S, Nobili F, Martinez F, Ji W, Overton JD, Mane SM, Nurnberg G, Altmuller J, Thiele H, Morin D, Deschenes G, Baudouin V, Llanas B, Collard L, Majid MA, Simkova E, Nurnberg P, Rioux-Leclerc N, Moeckel GW, Gubler MC, Hwa J, Loirat C, Lifton RP. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet.* 2013;45(5):531-6.
51. Gross O, Beirowski B, Koepke ML, Kuck J, Reiner M, Addicks K, Smyth N, Schulze-Lohoff E, Weber M. Preemptive ramipril therapy delays renal failure and reduces renal fibrosis in COL4A3-knockout mice with Alport syndrome. *Kidney Int.* 2003;63(2):438-46.
52. Andreotti G, Citro V, De Crescenzo A, Orlando P, Cammisa M, Correria A, Cubellis MV. Therapy of Fabry disease with pharmacological chaperones: from in silico predictions to in vitro tests. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:66.
53. Zuber J, Le Quintrec M, Sberro-Soussan R, Loirat C, Fremeaux-Bacchi V, Legendre C. New insights into postrenal transplant hemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7(1):23-35.

54. Cornec-Le Gall E, Torres VE, Harris PC. Genetic Complexity of Autosomal Dominant Polycystic Kidney and Liver Diseases. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29(1):13-23.
55. Besse W, Chang AR, Luo JZ, Triffo WJ, Moore BS, Gulati A, Hartzel DN, Mane S, Regeneron Genetics C, Torres VE, Somlo S, Mirshahi T. ALG9 Mutation Carriers Develop Kidney and Liver Cysts. *J Am Soc Nephrol.* 2019;30(11):2091-102.
56. Seyberth HW, Schlingmann KP. Bartter- and Gitelman-like syndromes: salt-losing tubulopathies with loop or DCT defects. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(10):1789-802.
57. Aymé S, Rodwell C. The European Union Committee of Experts on Rare Diseases: three productive years at the service of the rare disease community. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9(30).

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Elisa Kremerskothen, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *„Der diagnostische Nutzen von Next Generation Sequencing-basierten Panels bei Erwachsenen auf der Nieren-Transplantationswarteliste / The diagnostic yield of Next Generation Sequencing-based panel testing among adults on the kidney transplant waiting list“* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autor*innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, 03.03.2023

Elisa Kremerskothen

Anteilerklärung

Elisa Kremerskothen hatte folgenden Anteil an der Publikation mit geteilter Erstautor*innenschaft:

Schrezenmeier E¹, Kremerskothen E¹, Halleck F, Staeck O, Liefeldt L, Choi M, Schuler M, Weber U, Bachmann N, Grohmann M, Wagner T, Budde K, Bergmann C (¹ gleichberechtigte Erstautorinnen). The underestimated burdens of monogenic kidney disease in adults waitlisted for kidney transplantation. Genet Med. 2021;23(7):1219-24. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01127-8>

Beitrag im Einzelnen:

- Ich war zusammen mit Dr. Eva Schrezenmeier wesentlich an der Erarbeitung des Studienkonzeptes beteiligt, insbesondere an der Erstellung der Inklusions- und Exklusionskriterien der Studienkohorte und der Festlegung der zu erfassenden Variablen, wobei die Studienidee von Dr. Eva Schrezenmeier stammt.
- Ich habe 635 digitale und analoge Patient*innenakten eigenständig manuell gesichtet und die entsprechenden Variablen in einer Excel-Tabelle zusammengetragen. Lagen einzelne Informationen nicht vor, erfolgte eine Rücksprache mit den Dialysezentren zur erweiterten Informationsgewinnung und Aufbereitung der Daten.
- Zusätzlich habe ich die Biopsiebefunde in Hinblick auf das Vorliegen einer eindeutigen Grunderkrankung oder Pathologie ausgewertet. Bei nicht vorliegenden Biopsiebefunden erfolgte durch mich erneut eine Kontaktaufnahme mit dem entsprechenden Dialysezentrum.
- Nach Vervollständigung der Excel-Liste mit den Daten der 635 Patient*innen wurde durch mich eine Stratifizierung vorgenommen, ob eine eindeutige oder unklare Grunderkrankung vorliegt. Bei Unklarheiten erfolgte eine Rücksprache mit Dr. Eva Schrezenmeier.
- Zusammen mit Dr. Eva Schrezenmeier wurde ein Studien-Informationsbogen sowie ein Einwilligungsbogen zur genetischen Diagnostik verfasst.
- Durch mich wurden 137 Pakete mit EDTA-Monovetten und Informations- und Einwilligungsmaterial an die Dialysezentren versandt.

- Nachdem wir durch die jeweiligen Kolleg*innen von 126 Proband*innen Proben und Einwilligungen erhalten haben, wurden diese zur weiteren genetischen Diagnostik an Prof. Dr. Carsten Bergmann und das Team der Medizinischen Genetik Mainz weitergeleitet. Die Zusammenstellung der NGS-Panels nahmen Prof. Dr. Carsten Bergmann und sein Team vor, ebenso wie die Interpretation der detektierten Varianten im Anschluss an die genetische Testung.
- In Fällen, in denen eine Segregationsanalyse hilfreich gewesen wäre, erfolgte durch mich und Dr. Eva Schrezenmeier eine erneute Kontaktaufnahme mit den Patient*innen und ihren Dialysezentren zur Gewinnung von genetischem Material der Familienangehörigen.
- Die Daten wurden schließlich von mir und Dr. Eva Schrezenmeier aufbereitet und ausgewertet, wir prüften die Genotyp- und Phänotyp-Konkordanz und nahmen eine statistische Auswertung der Ergebnisse vor.
- Die Ergebnisse wurden gemeinsam auf dem DGfN Kongress 2020 in Berlin sowie dem ERA-EDTA Kongress 2019 in Budapest präsentiert. Zusätzlich verfassten wir einen „Letter to the editor“ (Related Article: Groopman, E.E., et al., Diagnostic Utility of Exome Sequencing for Kidney Disease. N Engl J Med, 2019.).
- Die vorliegende Publikation wurde gemeinsam mit Dr. Eva Schrezenmeier, Prof. Dr. Klemens Budde und Prof. Dr. Carsten Bergmann verfasst, wobei ich vor allem bei der Erstellung der Einleitung, des Methodik- und des Ergebnis-Teils mitgewirkt habe. In den übrigen Abschnitten wirkte ich beratend und revidierend mit. Dr. Eva Schrezenmeier reichte die Publikation schließlich bei dem Journal „Genetics in Medicine“ ein.
- Zusammen mit Prof. Dr. Klemens Budde, Prof. Dr. Carsten Bergmann und Dr. Eva Schrezenmeier nahm ich aktiv an der Revision der Publikation im Rahmen des Peer-Review Prozesses des Journals teil, worunter es schließlich zur Publikation kam.
- Abbildung 1 und 2 sowie Tabelle 1 und 4 wurden gemeinsam von mir und Dr. Eva Schrezenmeier erstellt und finden sich in modifizierter Form auch in der vorliegenden Publikation wieder. Tabelle 2 und 3 wurden von Prof. Dr. Carsten Bergmann, der Medizinischen Genetik Mainz und Dr. Eva Schrezenmeier erstellt. Abbildung 3 und 4 sowie Tabelle 5 habe ich selbstständig im Rahmen dieser Promotionsarbeit erstellt.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers Priv. Doz. Dr. med. Fabian Halleck

Unterschrift der Doktorandin Elisa Kremerskothen

Unterschrift der Co-Autorin und Betreuerin Dr. med. Eva Schrezenmeier

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2019** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"GENETICS and HEREDITY"** Selected Category
 Scheme: WoS

Gesamtanzahl: 177 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE REVIEWS GENETICS	37,390	33.133	0.070320
2	NATURE GENETICS	97,380	27.603	0.207900
3	TRENDS IN ECOLOGY & EVOLUTION	38,175	14.764	0.032330
4	TRENDS IN GENETICS	12,530	11.333	0.022030
5	Annual Review of Genetics	7,800	11.146	0.009710
6	GENOME RESEARCH	41,755	11.093	0.076940
7	MOLECULAR BIOLOGY AND EVOLUTION	50,486	11.062	0.084810
8	GENOME BIOLOGY	44,221	10.806	0.133970
9	Genome Medicine	6,463	10.675	0.026510
10	AMERICAN JOURNAL OF HUMAN GENETICS	36,785	10.502	0.060140
11	GENES & DEVELOPMENT	55,192	9.527	0.063070
12	MOLECULAR THERAPY	17,977	8.986	0.030980
13	GENETICS IN MEDICINE	13,045	8.904	0.040880
14	ONCOGENE	66,303	7.971	0.068320
15	Annual Review of Genomics and Human Genetics	2,679	7.243	0.005190
16	AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART C- SEMINARS IN MEDICAL GENETICS	2,288	7.101	0.005340
17	GENOMICS PROTEOMICS & BIOINFORMATICS	2,224	7.051	0.005980
18	GENOMICS	9,595	6.205	0.005790



ARTICLE

The underestimated burden of monogenic kidney disease in adults waitlisted for kidney transplantation

Eva Schrezenmeier^{1,2,6}, Elisa Kremerskothen^{1,6}, Fabian Halleck¹, Oliver Staeck³, Lutz Liefeldt¹, Mira Choi¹, Markus Schüler¹, Ulrike Weber¹, Nadine Bachmann⁴, Maik Grohmann⁴, Timo Wagner⁴, Klemens Budde¹ and Carsten Bergmann^{4,5}

PURPOSE: Chronic kidney disease (CKD) is a major health-care burden. Increasing evidence suggests that a considerable proportion of patients are affected by a monogenic kidney disorder.

METHODS: In this study, the kidney transplantation waiting list at the Charité was screened for patients with undetermined cause of CKD. By next-generation sequencing (NGS) we targeted all 600 genes described and associated with kidney disease or allied disorders.

RESULTS: In total, 635 patients were investigated. Of these, 245 individuals had a known cause of CKD (38.5%) of which 119 had a proven genetic disease (e.g., ADPKD, Alport). The other 340 patients (53.5%) were classified as undetermined diagnosis, of whom 87 had kidney failure (KF) onset <40 years. To this latter group genetic testing was offered as well as to those patients ($n = 29$) with focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) and all individuals ($n = 21$) suspicious for thrombotic microangiopathy (TMA) in kidney biopsy. We detected diagnostic variants in 26 of 126 patients (20.6%) of which 14 of 126 (11.1%) were pathogenic or likely pathogenic. In another 12 of 126 (9.5%) patients, variants of unknown significance (VUS) were detected.

CONCLUSION: Our study demonstrates the diagnostic value of comprehensive genetic testing among patients with undetermined CKD.

Genetics in Medicine (2021) 23:1219–1224; <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01127-8>

INTRODUCTION

In a high proportion of patients with kidney failure (KF) an underlying cause has never been determined. In large registry data, the proportion of patients with an undetermined diagnosis has been reported to be between 20% and 25%^{1,2}. In smaller cohorts, the percentage of these patients has been reported to be up to 40%³. Usually, patients who do not have a positive family history for kidney disease or a systemic inflammatory disease present late in the progression of chronic kidney disease (CKD) because of its clinically silent character. While a kidney biopsy is still regarded to be part of the diagnostic spectrum for many kidney diseases, there is increasing critical data when and whether to make use of this invasive procedure, especially when no meaningful result is expected. Furthermore, many patients are still often classified as hypertensive glomerulopathy when hypertension and proteinuric kidney disease co-occur. However, hypertension may just be the consequence and not the primary cause of CKD. Beyond patients with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), many individuals suffering from monogenic forms of CKD are misclassified and remain finally undiagnosed. This might be especially true for those patients with unspecific clinical and/or histologic findings. In the past, genetic testing was time-consuming, expensive, and usually only regarded to be promising when a specific clinical phenotype (often with extrarenal features) was present. However, with the introduction and advance of next-generation sequencing (NGS) new possibilities arose and genetic testing became much more cost-effective and accessible⁴. Moreover, turnaround times and detection rates are now much more attractive for the clinical setting than some years ago. Recent data have shown that the number of

monogenic disease-causing variants among patients with CKD is about 20–30%^{5,6}.

In particular, renal transplantation benefits from knowledge of the underlying kidney disease, not only for the selection and potential exclusion of any potential living donor, but also for the management of these patients before and after transplantation. Despite recent progress, genetic testing of waitlisted patients with undetermined kidney disease is still not routinely performed. This single center study aimed to identify patients with prior undetermined genetic primary kidney disease among patients with KF awaiting kidney transplantation by a comprehensive NGS panel approach.

MATERIALS AND METHODS

Study design

The study was conducted as a cross-sectional study of the Eurotransplant kidney waiting list at Campus Charité Mitte Berlin. The Charité Berlin ethics committee approved the study (EA2/020/18). All patients gave their written informed consent for genetic testing. Data were collected at the beginning of October 2016 when 635 patients were listed for kidney transplantation. Patients under 18 years of age or who died during the period of data collection were excluded. All patients had either kidney failure with replacement therapy (KFRT) or CKD G5 without kidney replacement therapy and are summarized as patients with KF⁷.

All patient data were extracted from the patients' medical files, the hospital records, and transplant database TBase. All patients were screened following the algorithm shown in Fig. 1. Considering the medical history and clinical evaluation, the cohort was divided into cases of determined and undetermined KF. ADPKD was assumed in all patients with a typical radiological presentation of ADPKD. No further genetic testing or a positive

¹Charité-Universitätsmedizin Berlin, Department of Nephrology and Medical Intensive Care, Berlin, Germany. ²Berlin Institute of Health (BIH), Berlin, Germany. ³KfH kidney center Berlin Moabit, Berlin, Germany. ⁴Medizinische Genetik Mainz, Limbach Genetics GmbH, Mainz, Germany. ⁵Department of Medicine, Nephrology, University Hospital Freiburg, Freiburg, Germany. ⁶These authors contributed equally: Elisa Kremerskothen, Eva Schrezenmeier. ⁷email: eva-vanessa.schrezenmeier@charite.de; carsten.bergmann@medgen-mainz.de

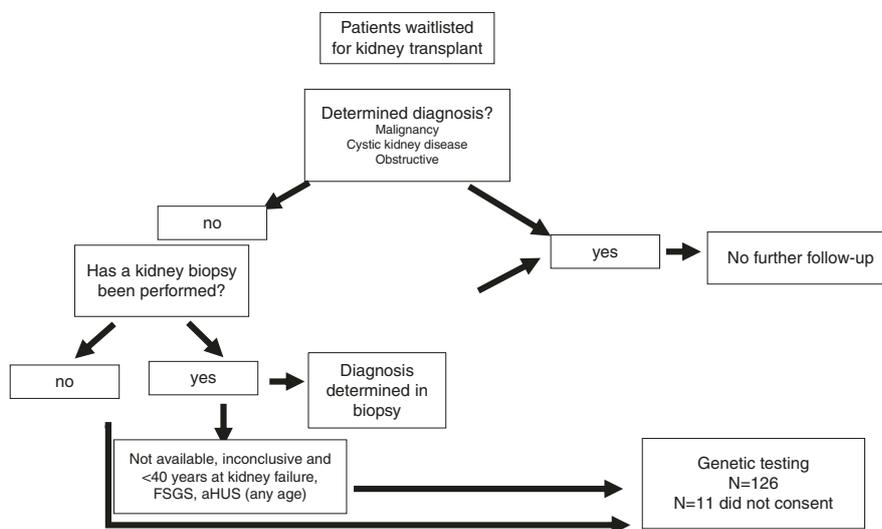


Fig. 1 Screening algorithm for patients with kidney failure of unknown origin of the Eurotransplant kidney waiting list at Campus Charité Mitte Berlin. aHUS atypical hemolytic uremic syndrome, FSGS focal segmental glomerulosclerosis.

family history was required. The other reported genetic kidney diseases have been specified by previously performed genetic analysis, unambiguous syndromic appearance (two patients with prune belly syndrome), hemoglobin electrophoresis (one patient with sickle cell disease) or biochemically, in an individual with cystinosis.

IgA nephropathy, hypertensive nephropathy, diabetic nephropathy, interstitial, amyloidosis, glomerulonephritides, antiglomerular basement membrane glomerulonephritis, systemic lupus erythematosus (SLE), and ANCA-associated vasculitis (AAV) were considered confirmed when seen in a native kidney biopsy. The assignment to obstructive, malignancy, and pyelonephritis was based on evaluation of medical records.

All patients with ambiguous diagnosis due to lack of biopsy or nonconclusive biopsy results were further screened for clinical signs of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) (thrombocytopenia and hemolysis, KF onset associated with pregnancy or delivery, thrombotic microangiopathy [TMA] [also in allograft biopsies]).

All patients with KF onset <40 years of age and undetermined KF were eligible for genetic testing. Further, all patients with focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) as a biopsy result or the suspicion of aHUS due to TMA in a biopsy or other clinical signs were eligible for genetic testing irrespective of age.

Next-generation sequencing

NGS technologies and comprehensive bioinformatic analyses utilized in this project are described in detail elsewhere^{8,9}. In brief, we utilized a customized sequence capture library (e.g., by Twist Bioscience[®]) with curated target regions—currently comprising more than 600 genes described and associated with kidney disease or allied disorders—as well as corresponding flanking intronic sequence according to the manufacturer's recommendations. The panel design is constantly updated by surveillance of current literature as well as enriched by targets in noncoding regions for described variants listed in well-accepted databases like HGMD or ClinVar. Moreover, the design is optimized in low-performance regions as well as in critical regions like in *PKD1* as described in Eisenberger et al.⁹. DNA samples were pooled and sequenced in a multiplexing procedure. DNAs were enriched using a sequence capture approach, and sequenced using Illumina sequencing-by-synthesis technology with an average coverage of more than 300x for a targeted panel setup. Raw data were processed according to bioinformatics best practice procedures. Mapping and coverage statistics were generated from the mapping output files using standard bioinformatics tools (e.g., Picard).

High and reproducible coverage achieved by our sequencing approach enabled copy-number variation (CNV) analysis.

Performance of the wet lab and bioinformatic processes are validated and controlled according to national and international guidelines^{10,11} reaching high sensitivity for single-nucleotide variants (SNVs), indels, and CNVs using well-established reference samples as well as a large cohort of positive controls, especially for CNVs. For interpretation of identified variants, we have developed our own published bioinformatic algorithms using a stepwise filtering process conducted by a very experienced team of scientists and supported by various bioinformatics decision tools. Sequence variants of interest were verified by Sanger sequencing if NGS results failed internal validation guidelines. If other family members were available, segregation of sequence variants with the disease was further assessed.

RESULTS

The cohort is composed of 635 adult patients (394 males, 241 females) with a median age of 58 years (range 22–88 years). Of these, 526 patients were treated with hemodialysis, 81 patients were treated with peritoneal dialysis, whereas 28 patients were pre-emptively listed for kidney transplantation. The median age at first renal replacement therapy was 49 years (range 18–82 years). A kidney biopsy was available in 297 patients (45.5%). A determined cause of KF was documented in 245/635 (38.5%) patients. In total, 119/635 (18.7%) patients had a genetic disease-causing KF with 104/635 (16.4%) cases of ADPKD, 8/635 (1.3%) cases of Alport syndrome, and 7 cases of rare genetic kidney or syndromic diseases. In our study, the cases with a documented genetic cause of KF were not further investigated by NGS. Of the 126 patients that had a documented nongenetic cause of KF a detailed disease distribution is listed in Supplementary table 1. The majority of patients (340/635 [53.5%]) were classified as having an undetermined diagnosis. Among the patients with undetermined diagnosis, a kidney biopsy has not been performed in 197 patients. In 143 patients a biopsy has been performed, but the result has been inconclusive or the biopsy result was not available since performed decades ago. The median age at first dialysis in the group of patients with determined KF was 50 years

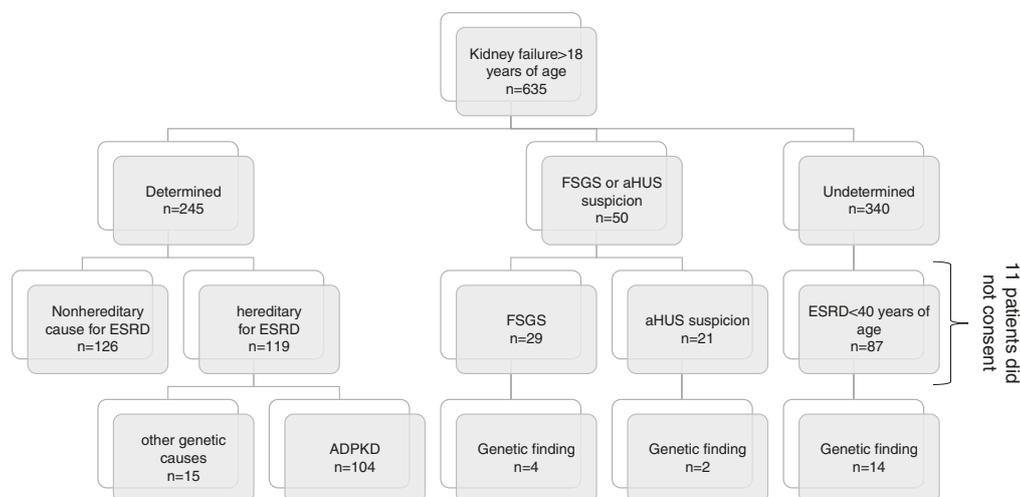


Fig. 2 Distribution of genetic and nongenetic causes of kidney failure. ADPKD autosomal dominant polycystic kidney disease, aHUS atypical hemolytic uremic syndrome, ESRD end stage renal disease, FSGS focal segmental glomerulosclerosis.

(range 18–74 years). The median age of the group of patients with undetermined KF was 49 years (range 20–82 years).

Of the 390 patients with undetermined diagnosis, 87 were <40 of age at KF onset. In addition, 50 patients suspicious for aHUS or FSGS were eligible for genetic testing. Thus, in total 137 patients met the stringent inclusion criteria for genetic testing of our study. Overall, genetic testing was performed in 126 patients, 11 patients did not give their consent to genetic testing. Among genotyped individuals, 14/126 (11.1%) patients carried pathogenic or likely pathogenic variants. In another 12/126 (9.5%) patients, variants of unknown significance (VUS) were detected (Fig. 2, Table 1). Of the patients with a performed biopsy and an inconclusive result, 4.2% (6 patients) had a genetic diagnosis after completion of NGS testing.

Among the 14 patients with (likely) pathogenic variants, eight affected individuals harbored defects in genes encoding the collagen α 345(IV) trimer. Two variants were located in *COL4A3*, two in *COL4A4*, and one patient carried pathogenic variants in each of the two adjacent *COL4* genes on chromosome 2q36 (patient 4). Another three patients (2 males, 1 female) carried X-linked variants in *COL4A5*. The full clinical picture of Alport syndrome was not present in any of those patients and only two individuals (one with a *COL4A3* and one with a *COL4A5* variant) displayed hearing loss as the most common extrarenal manifestation of *COL4*-related disease. Disease onset was between 25 and 56 years in patients with variants in *COL4A3/4* and between 22 and 41 years in patients with *COL4A5* variants. Three of these pathogenic variants were identified when analyzing patients with FSGS as a biopsy result (2× *COL4A4*, *COL4A5*). Two patients had a positive family history with an affected father in a patient with a *COL4A3* variant and an affected mother and uncle in a patient with a *COL4A5* variant.

Two patients were identified to carry likely pathogenic *INF2* variants. One has a clear positive family history of renal disease with early disease onset (patient 9), whereas the family history of the other patients was unremarkable (patient 8). In two brothers with early onset KF, we identified a homozygous pathogenic variant in *TTC21B*. Their parents are consanguineous (first cousins). This variant was previously described to cause familial FSGS. While

one of the brothers displayed severe hyperopia, his brother does not show any evidence for an extrarenal manifestation¹².

Four individuals were heterozygous for the hypomorphic *NPHS2* variant c.686G>A p.(Arg229Gln), which has been intensively studied and demonstrated to be only pathogenic in cases that harbor a C-terminal dominant-negative pathogenic variant in *trans*¹³. In none of our patients such a change in *NPHS2* was present. As outlined in Supplementary Table 2, in a number of additional variant-negative patients we detected class IV or V (likely) pathogenic variants in the heterozygous state, however, all of those individuals lacked a second convincing change in the respective gene in *trans*.

Of the in total 635 patients, 21 (3.3%) patients were clinically suspicious for aHUS. A detailed description of the patients with aHUS are listed in Supplementary Table 3. In one patient suspicious for aHUS a pathogenic variant was detected and one individual was detected with a VUS. Patient 1 presented with hemolysis and thrombocytopenia and harbored a homozygous pathogenic *CD46* change in the alternative complement system. The result of the kidney biopsy was unfortunately not available. The patient was diagnosed with thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) prior to the genetic diagnosis, although ADAMTS13 activity was 38% and no inhibitory antibodies were found. Overall, all parameters are in accordance as reduced ADAMTS13 activity has been described in patients with aHUS¹⁴ especially in familial cases¹⁵. Our patient did not show evidence for a positive family history. While parental samples were not available for segregation, it can be assumed that each parent carries the *CD46* variant in the heterozygous state. However, incomplete penetrance is well known for variants in the complement cascade and explained by a multihit pathomechanism. The other patient (patient 16) was shown to carry a VUS in *CFI*. The biopsy also showed evidence for FSGS combined with signs of TMA. There were no clinical reports describing hemolysis or thrombocytopenia in this individual.

Patient 18 was identified with a VUS in *GLA* known to cause Fabry disease. Since concentric cardiac hypertrophy was previously shown by echocardiography in this patient, clinical workup was initiated after obtaining the genetic result. By this, no further clinical sign of Fabry disease was evident. Measurement of α -galactosidase level yielded a slightly reduced value (11.1 μ mol/h)

Table 1. Identified putatively pathogenic variants.

Patient ID	Sex	Age at first dialysis	Gene	Variant	Zygoty	ACMG/AMP ²⁶	Causality
1	F	20	<i>CD46</i>	c.286 + 2T>G p.(Lys49_Arg96del)	Hom	P	Causative
2	F	28	<i>COL4A3</i>	c.2083G>A p.(Gly695Arg)	Het	P	Causative
3	F	25	<i>COL4A3</i>	c.3580del p.(Arg1194Glyfs*27)	Het	P	Causative
				c.4803del p.(Gly1602Alafs*13)	Het	P	
4	M	32	<i>COL4A3</i> <i>COL4A4</i>	Exon 3 deletion Exon 4 deletion	Het Het	P P	Causative
5	F	56	<i>COL4A4</i>	c.4129C>T p.(Arg1377*)	Het	P	Causative
6	F	41	<i>COL4A5</i>	c.3508G>A p.(Gly1170Ser)	Het	P	Causative
7	M	22	<i>COL4A5</i>	c.3482G>A p.(Gly1161Glu)	Hem	P	Causative
8	M	42	<i>INF2</i>	c.652C>T p.(Arg218Trp)	Het	P	Causative
9	F	44	<i>INF2</i>	c.653G>A p.(Arg218Gln)	Het	P	Causative
10	M	21	<i>TTC21B</i>	c.626C>T p.(Pro209Leu)	Hom	P	Causative
11	M	18	<i>TTC21B</i>	c.626C>T p.(Pro209Leu)	Hom	P	Causative
12	M	33	<i>COL4A4</i>	c.481G>C p.(Gly161Arg)	Het	LP	Likely causative
13	M	33	<i>COL4A5</i>	c.1708G>A p.(Gly570Arg)	Hem	LP	Likely causative
14	M	25	<i>NPHP4</i>	c.1124_1125insCC p.(Ser376Leufs*31) c.3766C>T p.(Gln1256*)	Het Het	LP LP	Likely causative
15	M	34	<i>CD2AP</i>	c.682C>T p.(Arg228Trp)	Het	VUS	Possibly causative
16	M	45	<i>CFI</i>	c.950G>A p.Arg317Gln	Het	VUS	Possibly causative
17	F	20	<i>COL4A5</i>	c.4396C>T p.(Arg1466Cys)	Hem	VUS	Possibly causative
18	F	35	<i>GLA</i>	c.352C>T p.(Arg118Cys)	Het	VUS	Possibly causative
19	M	28	<i>INF2</i>	c.*1 + 1G>C p.?	Het	VUS	Possibly causative
20	F	21	<i>INF2</i>	c.2440G>A p.(Asp814Asn)	Het	VUS	Possibly causative
21	M	21	<i>LAMB2</i>	c.2809C>T p.(Arg937Trp)	Hom	VUS	Possibly causative
22	M	18	<i>LMX1B</i>	c.1130G>A p.(Arg377His)	Het	VUS	Possibly causative
23	M	49	<i>MYH9</i>	c.1730T>C p.(Val577Ala)	Het	VUS	Possibly causative
24	M	24	<i>PAX2</i>	c.272C>T p.(Ala91Val)	Het	VUS	Possibly causative
25	F	39	<i>TRPC6</i>	c.26C>A p.(Pro9His)	Het	VUS	Possibly causative
26	M	29	<i>TRPC6</i>	c.1747A>G p.(Arg583Gly)	Het	VUS	Possibly causative

ACMG/AMP American College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology, *Hem* hemizygous, *Het* heterozygous, *Hom* homozygous, *LP* likely pathogenic, *P* pathogenic, *VUS* variant of unknown significance.

while Lyso-Gb3 has been in normal range with 0.8 ng/ml. Overall, clinical findings do not favor a diagnosis of Fabry disease in this patient.

Overall, our genotyping efforts changed the composition of the kidney waitlist and decreased the number of patients with undetermined kidney disease from 390 to 376 cases. The number of clear monogenic causes on our waitlist increased from 119 to 133 corresponding to 20.9% of our waitlist. An additional 12 patients (1.8%) carry class III variants of currently unclear significance that may well have contributed to KF. Segregation studies were aimed but parents were deceased or only one parent was available.

DISCUSSION

In this study, we could confirm the diagnostic value of genetic testing among patients waitlisted for kidney transplantation. The proportion of patients with undetermined kidney disease has been high with 53.7% in our cohort. This is far above reported rates of about 20% in registry data^{1,2,16}. A rigorous workup as well as a strict classification process and the exclusion of clinically

possible but not proven diagnoses such as diabetic and hypertensive nephropathy contribute to the high number of undetermined cases in our cohort.

Patients with FSGS are known to show a comparably high rate of monogenic pathogenic variants as previously depicted by Yao et al., demonstrating a diagnostic rate of 11% with a gene panel approach. Others have reported even higher rates (21.4%) in adult cohorts with steroid resistant nephrotic syndrome, among them many patients with FSGS¹⁷. Results of these studies are in line with our findings, where most of the patients had variants known to cause FSGS-like lesions. Of the overall eight patients with *COL4*-related disease only two of these individuals showed any extrarenal manifestation, but none of the patients displayed the full clinical picture described for Alport syndrome. The high proportion of *COL4*-related disease is in accordance with current literature findings that describe variants in *COL4A3–5* genes as the second most frequent genetic kidney disease^{18,19}.

Among patients with TMA (encompassing all primary and secondary diagnoses), the rate of patients with a classical diagnosis of primary aHUS carrying a pathogenic variant in one of the complement genes is comparably low. In a retrospective

French cohort of 564 patients with TMA it equaled 1.9%. Whether genetic variants also contribute to TMAs classified as secondary cannot be unequivocally answered from these data²⁰. In our cohort, one patient with a clinical suspicion of aHUS was identified with a pathogenic variant in one of the genes that if altered lead to uncontrolled overactivation of the alternative complement pathway. Many of our other cases might be rather considered as secondary aHUS since an association with exogenous triggers such as transplantation, pregnancy, or *Cytomegalovirus* (CMV) infection has been described in these patients respectively. The patient harboring a VUS in the complement system showed FSGS lesions associated with aHUS on renal biopsy. There are several reports in the literature that proteinuric kidney diseases can act as a trigger for aHUS caused by endothelial dysfunction, but also that aHUS itself can reciprocally aggravate proteinuria^{21–23}.

This study has some limitations. First, we reported a single center approach and focused on patients with disease manifestations early in life. This cutoff excludes all those patients with a disease onset of genetic kidney disease only later in life and thereby likely milder, so-called hypomorphic variants. There is increasing evidence that pathogenic variants can also be identified in elderly patients. Notably, 1/3 of the cohort described by Groopman et al. in their seminal study in the *New England Journal of Medicine* were >65 years of age. Second, we utilized a targeted panel approach. As intensively discussed⁴, there are pros and cons of not only a gene panel, but also an exome-wide approach. The former has the advantage that it will not yield incidental findings in genes unrelated to the primary indication for testing, but also the disadvantage that updating of enrichment-based panels with any newly discovered relevant genes requires a cumbersome redesign and validation of the assay⁶. Thus, virtual phenotype-related gene panels are primarily exome-based and filtered only afterward by respective bioinformatic tools. This exome-based approach is attractive to diagnostic laboratories as it is less cumbersome and allows dynamic gene content update with minimal efforts for design and validation. However, major disadvantages of using exome-based virtual gene panels is that “off the shelf” exome data tend to have less uniform sequence coverage than customized well-balanced, targeted gene panels. Thus, there might be some gaps in important genes that need to be filled by additional sequencing efforts. For a long time, CNVs have been underestimated in their relevance and represent important causes of inherited renal diseases. Sophisticated bioinformatics is necessary to detect CNVs from NGS data, but usually this is more valid from customized gene panel approaches than from exome sequencing. In addition, several important renal disease-causing genes such as the major genes for ADPKD (*PKD1*) and aHUS (*CFH* and its related *CFHR* genes) are located in the most genomically complex regions that require a specific targeted design in order to not miss any disease-causing variant in these genes^{9,24}. Thus, we put major efforts in our NGS methodology to find a compromise and established a customized gene panel that targets all 600 genes described and associated with kidney disease or allied disorders—as well as corresponding flanking intronic sequences. The panel design is constantly updated by surveillance of current literature as well as enriched by targets in noncoding regions for described variants listed in well-accepted databases like HGMD or ClinVar. Moreover, our design is optimized in low-performance regions as well as in critical regions like in *PKD1* and *CFH* as described previously and is validated for CNV detection as well.

In our cohort, even more cases could have been classified as nephropathy of unknown origin with a possible genetic origin²⁵. For example, eight patients diagnosed with interstitial nephritis in our study could be included in a high-risk population for monogenic kidney diseases, since Groopman et al. reported a genetic disorder in 4.5% of patients with tubulointerstitial

disease⁶. Similar studies to ours in the literature often also included patients for genotyping with a clinical diagnosis of ADPKD, Alport syndrome, and/or other rare genetic kidney or syndromic diseases. As is well known, the variant detection rate among those patient cohorts is very high, but much more heterogeneous than still often assumed. Despite these comparably strict inclusion criteria, our approach yielded a genetic diagnosis in more than 20% of cases. As discussed, the detection rate would be significantly higher if patients with determined KF among waitlisted individuals had been incorporated in our study design. Further, the costs are a major obstacle to genetic testing in many parts of the world and were another reason for the age limit of 40 years in our cohort. While the costs for genetic testing are still much higher than for most other diagnostic procedures, fortunately, the cost of NGS is constantly falling and hopefully genetic testing will be soon affordable to more patients and health-care systems. Overall, there is increasing evidence that early use of genetic testing is cost-effective because secondary costs, e.g., related to late diagnosis of disease, are much higher than costs caused by genetic diagnostic testing.

Our study demonstrates the value of customized comprehensive renal gene panel testing among waitlisted patients. The obtained results had direct clinical consequences for some of the affected individuals, e.g., in case of complement variants where respective complement blockers should be used after transplantation or in cases where a specialized workup is indicated. Moreover, extrarenal features of some genetic disorders often remain undetected for many years, but clearly benefit from early detection. For other individuals indirect consequences arise from the obtained results such as concise family counseling. Overall, unequivocal characterization of the underlying disease is of utmost importance with regard to prognosis, clinical management, and the risk of recurrence after transplantation. In contrast to patients with immune-mediated diseases, the prognosis in individuals with most genetic kidney disorders is good with a lack of recurrence. Moreover, therapeutic approaches with steroids and immune suppressive drugs are useless or even contraindicated in patients who harbor a pathogenic variant in an onco- or tumor suppressor gene. Likewise, kidney donation by a family member carrying a dominant pathogenic variant is contraindicated and needs to be avoided. In contrast, heterozygous donors for typical autosomal recessive disorders (in which heterozygotes with a pathogenic variant lack any disease manifestation) can be accepted, which underlines the importance and benefit of a close interdisciplinary collaboration between nephrologist and geneticist.

DATA AVAILABILITY

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Received: 12 December 2020; Revised: 9 February 2021; Accepted: 10 February 2021;
Published online: 12 March 2021

REFERENCES

1. Titze, S. et al. Disease burden and risk profile in referred patients with moderate chronic kidney disease: composition of the German Chronic Kidney Disease (GCKD) cohort. *Nephrol. Dial. Transplant.* **30**, 441–451 (2015).
2. Saran, R. et al. US renal data system 2015 annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States. *Am. J. Kidney Dis.* **67** (3 Suppl 1), S11–S305 (2016).
3. Ottlewski, I. et al. Value of renal gene panel diagnostics in adults waiting for kidney transplantation due to undetermined end-stage renal disease. *Kidney Int.* **96**, 222–230 (2019).

4. Bergmann, C. Advances in renal genetic diagnosis. *Cell Tissue Res.* **369**, 93–104 (2017).
5. Doreille, A., Raymond, L. & Mesnard, L. Diagnostic utility of exome sequencing for kidney disease. *N. Engl. J. Med.* **380**, 2079–2080 (2019).
6. Groopman, E. E. et al. Diagnostic utility of exome sequencing for kidney disease. *N. Engl. J. Med.* **380**, 142–151 (2019).
7. Levey, A. S. et al. Nomenclature for kidney function and disease: report of a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Consensus Conference. *Kidney Int.* **97**, 1117–1129 (2020).
8. Lu, H. et al. Mutations in DZIP1L, which encodes a ciliary-transition-zone protein, cause autosomal recessive polycystic kidney disease. *Nat. Genet.* **49**, 1025–1034 (2017).
9. Eisenberger, T. et al. An efficient and comprehensive strategy for genetic diagnostics of polycystic kidney disease. *PLoS One* **10**, e0116680 (2015).
10. Rehm, H. L. et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet. Med.* **15**, 733–747 (2013).
11. Matthijs, G. et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur. J. Hum. Genet.* **24**, 2–5 (2016).
12. Huynh Cong, E. et al. A homozygous missense mutation in the ciliary gene TTC21B causes familial FSGS. *J. Am. Soc. Nephrol.* **25**, 2435–2443 (2014).
13. Bouchireb, K. et al. NPHS2 mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome: a mutation update and the associated phenotypic spectrum. *Hum. Mutat.* **35**, 178–186 (2014).
14. Feng, S. et al. Partial ADAMTS13 deficiency in atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood.* **122**, 1487–1493 (2013).
15. Remuzzi, G. et al. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Blood.* **100**, 778–785 (2002).
16. Kramer, A. et al. The European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) registry annual report 2016: a summary. *Clin. Kidney J.* **12**, 702–720 (2019).
17. Sen, E. S. et al. Clinical genetic testing using a custom-designed steroid-resistant nephrotic syndrome gene panel: analysis and recommendations. *J. Med. Genet.* **54**, 795–804 (2017).
18. Kashtan, C. E. Alport syndrome: achieving early diagnosis and treatment. *Am. J. Kidney Dis.* **77**, 272–279 (2021).
19. Naylor, R. W., Morais, M., Lennon, R. Complexities of the glomerular basement membrane. *Nat. Rev. Nephrol.* **17**, 112–127 (2021).
20. Bayer, G. et al. Etiology and outcomes of thrombotic microangiopathies. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **14**, 557–566 (2019).
21. Manenti, L. et al. Atypical haemolytic uraemic syndrome with underlying glomerulopathies. A case series and a review of the literature. *Nephrol. Dial. Transplant.* **28**, 2246–2259 (2013).
22. Tkaczyk, M., Czupryniak, A., Owczarek, D., Lukamowicz, J. & Nowicki, M. Markers of endothelial dysfunction in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Am. J. Nephrol.* **28**, 197–202 (2008).
23. Goldberg, R. J., Nakagawa, T., Johnson, R. J. & Thurman, J. M. The role of endothelial cell injury in thrombotic microangiopathy. *Am. J. Kidney Dis.* **56**, 1168–1174 (2010).
24. Ali, H. et al. PKD1 duplicated regions limit clinical utility of whole exome sequencing for genetic diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Sci. Rep.* **9**, 4141 (2019).
25. van der Ven, A. T., Vivante, A. & Hildebrandt, F. Novel insights into the pathogenesis of monogenic congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *J. Am. Soc. Nephrol.* **29**, 36–50 (2018).
26. Richards, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* **17**, 405–423 (2015).

ACKNOWLEDGEMENTS

N.B., M.G., and T.W. are employees of the Medizinische Genetik Mainz, Limbach Genetics GmbH. C.B. holds a part-time faculty appointment at the University of Freiburg in addition to his employment with the Limbach Group for which he heads and manages Limbach Genetics GmbH. His research lab receives support from the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (BE 3910/8-1, BE 3910/9-1, and Collaborative Research Center SFB 1453) and the Federal Ministry of Education and Research (BMBF, 01GM1903I and 01GM1903G).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

E.S. wrote the paper, analyzed data, collected patient samples, and designed the study. E.K. collected patient samples and analyzed the data. F.H., O.S., and L.L. designed the study. M.S., M.C., and U.W. collected patient samples. N.B., M.G., and T.W. analyzed NGS data. K.B. designed the study and wrote the paper. C.B. designed the study, analyzed data, and wrote the paper.

FUNDING

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. ES received a grant from Alexion Pharmaceuticals.

ETHICS DECLARATION

The Charité Berlin ethics committee approved the study (EA2/020/18). All patients gave their written informed consent for genetic testing.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interests.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01127-8>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to E.S. or C.B.

Reprints and permission information is available at <http://www.nature.com/reprints>

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



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

© The Author(s) 2021, corrected publication 2021

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Schrezenmeier E¹, Kremerskothen E¹, Halleck F, Staeck O, Liefeldt L, Choi M, Schuler M, Weber U, Bachmann N, Grohmann M, Wagner T, Budde K, Bergmann C (¹ gleichberechtigte Erstautorinnen). The underestimated burden of monogenic kidney disease in adults waitlisted for kidney transplantation. Genet Med. 2021;23(7):1219-24. <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01127-8>

Schrezenmeier E, Halleck F, Budde K, Bergmann C, Kremerskothen E. SP003 Diagnostic Yield of NGS-based Panel Testing among Waitlisted Patients. Nephrology Dialysis Transplantation. 2019;34(Issue Supplement_1). <https://doi.org/10.1093/ndt/gfz103.SP003>

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei meinen Erstbetreuern Prof. Dr. med. Klemens Budde sowie Priv. Doz. Dr. med. Fabian Halleck bedanken, die mir diese Promotion ermöglicht und mit wertvollen Ratschlägen und fundiertem Wissen wesentlich am Gelingen der Dissertation beteiligt waren.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Betreuerin Dr. Eva Schrezenmeier für die hervorragende Betreuung meiner Promotionsarbeit. Die Zusammenarbeit mit ihr war jederzeit von Kollegialität, enger Kommunikation und überdurchschnittlich hohem Engagement geprägt. Über die Zeit ist sie von meiner Betreuerin zu einem Vorbild und zu einer guten Freundin geworden, die ich sowohl fachlich als auch menschlich sehr schätze.

Auch dem ärztlichen Team der nephrologischen Klinik der Charité Berlin Campus Mitte und Campus Virchow bin ich dankbar – für all die wertvollen Hilfestellungen, aber auch für die freundliche Aufnahme ins Team und die Mitnahme zu verschiedenen nephrologischen Kongressen. Vor allem unsere gemeinsame Reise zum ERA-EDTA Kongress in Budapest werde ich stets in guter Erinnerung behalten. Wertvoller Dank gilt auch Prof. Dr. Carsten Bergmann und dem Team der Medizinischen Genetik Mainz sowie dem Team des Transplantationsbüros der Klinik für Nephrologie und Internistische Intensivmedizin der Charité Berlin Campus Mitte.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Mutter für ihre bedingungslose Förderung, meinem Partner für seine liebevollen Ermutigungen und die uneingeschränkten Hilfestellungen und meinem Freundeskreis für die motivierende und praktische Unterstützung in allen Phasen dieser Doktorarbeit meinen innigsten Dank aussprechen. Ich danke auch meinem Vater, der uns leider viel zu früh verlassen musste und mir dennoch jeden Tag aufs Neue die Kraft gibt, nie aufzugeben und das Beste aus mir herauszuholen. Dass ich deinetwegen nun als Ärztin arbeite, hätte wohl niemand von uns gedacht.