

Aus der Klinik für Nephrologie und Rheumatologie
(Prof. Dr. med. M. Zeisberg)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Entwicklung von Nierenfunktion und Nierenschädigung bei
Patienten mit Alport-Syndrom in Abhängigkeit des Beginns einer
nephroprotektiven Therapie**

**- eine retrospektiv-prospektive Verlaufsbeobachtungsstudie anhand
labordiagnostischer Parameter -**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Joseph Erich Sonntag
aus
Heilbad Heiligenstadt

Göttingen 2022

Dekan: Prof. Dr. W. Brück

Referent/in: Prof. Dr. O. Gross

Ko-Referent/in: PD Dr. Dr. M. Schnelle

Datum der mündlichen Prüfung: 04.04.2023

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "**Entwicklung von Nierenfunktion und Nierenschädigung bei Patienten mit Alport-Syndrom in Abhängigkeit des Beginns einer nephroprotektiven Therapie** - eine retrospektiv-prospektive Verlaufsbeobachtungsstudie anhand labordiagnostischer Parameter -" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....
(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Kollagen Typ IV und die glomeruläre Basalmembran	1
1.1.1 Aufbau und Funktion von Kollagen Typ IV	1
1.1.2 Aufbau und Funktion der glomerulären Basalmembran	3
1.2 Das Alport-Syndrom	4
1.2.1 Pathogenese	4
1.2.2 Diagnostik und Stadieneinteilung	7
1.2.3 Klassifikation, Genetik und Klinik	9
1.2.3.1 Genetische Grundlagen und Klassifikation	9
1.2.3.2 X-chromosomal hemizygoter Träger	12
1.2.3.3 X-chromosomal heterozygoter Träger	13
1.2.2.4 autosomal rezessive homozygote oder compound heterozygote Träger ..	14
1.2.2.5 autosomal dominante Träger	15
1.2.2.6 digener Vererbungsmodus	16
1.2.4 Therapie.....	16
1.3 Zielsetzung und Fragestellung	22
2 Patientenkollektiv, Material und Methoden	23
2.1 Datenerfassung, Patienteneinwilligung und Ethikkommission	23
2.2 Studiendesign, Einschlusskriterien und Ausschlusskriterien	23
2.3 Untersuchtes Patientenkollektiv	24
2.4 Erhobene Parameter	25
2.4.1 Serumkreatinin	25
2.4.2 Kreatinin-Clearance	25
2.4.3 Proteinurie und Albuminurie	26
2.4.4 Krankheitsstadium.....	26
2.4.5 Therapie.....	27
2.5 Statistische Auswertung	28
3 Ergebnisse.....	29
3.1 Patientenkollektiv	29
3.2 Ausschluss erhobener Patientendaten bei Lebensalter größer 40 Jahre	30
3.3 Krankheitsstadien zu Beginn und Ende des Beobachtungszeitraums.....	31
3.4 Einflussfaktor Krankheitsstadium bei Therapiebeginn.....	33

3.5 Regressionsmodelle für Laborparameter	36
3.5.1 Nierenfunktionsparameter	36
3.5.2 Nierenschädigungsparameter	38
4 Diskussion	41
4.1 Einleitung.....	41
4.2 Entwicklung von Nierenfunktion und Nierenschädigung.....	42
4.2.1 Entwicklung der Nierenfunktion in Abhängigkeit von Alter und Therapiebeginn ..	42
4.2.2 Entwicklung der Nierenschädigung in Abhängigkeit von Alter und Therapiebeginn	44
4.3 Schwächen und Limitationen dieser Verlaufsbeobachtungsstudie	45
4.4 Gründe für Datenexklusion ab einem Patientenalter größer 40 Jahre mit nachgewiesener oder mutmaßlich günstiger Mutation	46
4.5 Harte versus weiche Studienendpunkte bei Patienten mit Kollagen Typ IV Erkrankung	48
4.6 Empfehlungen zur frühzeitigen Diagnosestellung und regelmäßigem Krankheitsmonitoring.....	49
4.7 Prognosefaktoren und Biomarker	49
4.8 Therapieindikation, Zeitpunkt des optimalen Therapiebeginns und Therapiesicherheit	50
4.9 Vergleichbare Verlaufsbeobachtungsstudien, aktuelle Interventionsstudien; Notwendigkeit von Registerstudien	51
5 Zusammenfassung.....	54
6 Anhang.....	56
Tabellenverzeichnis Anhang	56
7 Literaturverzeichnis	57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vom Protomer bis zur Netzwerkbildung (modifiziert nach Kalluri (2003))	2
Abbildung 2: Effektoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und Möglichkeiten der medikamentösen Inhibition (modifiziert nach Robles et al. (2014)).....	17
Abbildung 3: Therapeutische Möglichkeiten und negative Einflussfaktoren des Alport-Syndroms (modifiziert nach Gross et al. (2014))	20
Abbildung 4: Schematische Darstellung des Krankheitsverlaufs von Patient D086 anhand Laborparametern, Stadieneinteilung und Therapie	30
Abbildung 5: Stadienverteilung bei Beginn und Ende der Verlaufsbeobachtung	33
Abbildung 6: Serumkreatinin (mg/dl) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation.	36
Abbildung 7: Kreatinin-Clearance (ml/min) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS. Klassifikation	37
Abbildung 8: Proteinurie Sammelurin (g/d) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation.	38
Abbildung 9: Proteinurie (g/g Kreatinin) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation.	39
Abbildung 10: Albuminurie Sammelurin (g/d) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation.	40
Abbildung 11: Schematische Darstellung des Krankheitsverlaufs von Patient D114 ((X-chromosomale Vererbung, G624D- (Glycin missense) Mutation)) anhand Laborparametern, Stadieneinteilung und Therapie	48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Krankheitsstadien beim Alport-Syndrom (modifiziert nach Kruegel et al. (2013))	9
Tabelle 2: Neue Klassifikation des Alport- Syndroms (modifiziert nach Kashtan et al. (2018))	11
Tabelle 3: Einschluss- und Ausschlusskriterien	24
Tabelle 4: Erhobene labordiagnostische Parameter	25
Tabelle 5: Abgeänderte Stadieneinteilung (modifiziert nach Kruegel et al. (2012))	27
Tabelle 6: Stadienverteilung bei Beginn und Ende der Verlaufsbeobachtung	31
Tabelle 7: Deskriptive Statistiken für kategorielle Parameter stratifiziert nach RAAS-Klassifikation.	34
Tabelle 8: Deskriptive Statistiken für kontinuierliche Parameter stratifiziert nach RAAS-Klassifikation.	35
Tabelle 9: Aktuelle Observationsstudien Alport-Syndrom (modifiziert nach ClinicalTrials.gov, Stand 31.01.2021)	52
Tabelle 10: Aktuelle Interventionsstudien Alport-Syndrom (modifiziert nach ClinicalTrials.gov, Stand 31.01.2021)	53

Abkürzungsverzeichnis

ACE	<i>angiotensin converting enzyme</i>
ACEi	<i>angiotensin converting enzyme inhibitor</i>
ADAS	autosomal dominantes Alport-Syndrom
ARAS	autosomal rezessives Alport-Syndrom
ARB	Angiotensinrezeptorblocker
AS	Alport-Syndrom
AT1	Angiotensinrezeptor 1
COL	<i>collagen</i>
ECM	<i>extracellular matrix</i>
EMT	epitheliale-mesenchymale Transformation
ESRD	<i>end stage renal disease</i>
GBM	glomeruläre Basalmembran
GFM	glomeruläre Filtrationsmembran
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
MMP	Matrixmetalloproteinase
NC	<i>noncollagenous</i>
N-Terminus	Amino-Terminus
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SGLT2	<i>sodium dependent glucose transporter 2</i>
TGF β	<i>transforming growth factor β</i>
XLAS	<i>X-linked Alport syndrome</i>

1 Einleitung

1.1 Kollagen Typ IV und die glomeruläre Basalmembran

1.1.1 Aufbau und Funktion von Kollagen Typ IV

Kollagene stellen die wichtigste Gruppe von Strukturgebenden Proteinen dar. 28 verschiedene Subtypen von Kollagenen und 43 verschiedene α -Ketten konnten bisher isoliert werden (Khoshnoodi et al. 2006; 2008). Neben ihrer Eigenschaft als Strukturprotein spielen sie eine essentielle Rolle in verschiedenen Prozessen wie Zellmigration und Differenzierung als auch bei Tissue-Remodeling und Wundheilung (Myllyharju und Kivirikko 2004). Während Kollagen I das am häufigsten vorkommende Protein im menschlichen Körper ist, besitzt Kollagen IV mit einem Substanzanteil von ca. 50 % größte Bedeutung im Aufbau von Basalmembranen (LeBleu et al. 2007).

Kefalides et al. (1966) konnte erstmalig Kollagen Typ IV aus der glomerulären Basalmembran (GBM) von Hunden isolieren. Für dessen Bildung stehen 6 verschiedene α -Ketten zur Verfügung. Daraus werden 3 verschiedene Protomere gebildet. Protomere, bestehend aus den Ketten $\alpha1\alpha1\alpha2$, kommen ubiquitär in allen Basalmembranen vor und werden im Rahmen des „Developmental Switch“ in der GBM durch die $\alpha3\alpha4\alpha5$ -Protomere ausgetauscht (Miner und Sanes 1994). Deren Verteilung wiederum ist auf die Basalmembranen von Auge, Ohr, Lunge, Hoden und Niere beschränkt. Die 6 verschiedenen α -Ketten haben eine strukturelle Ähnlichkeit untereinander von 50-70 % Übereinstimmung. Jede α -Kette besteht aus einer 7S-Domäne am Amino (N)-Terminus, einem großen „kollagenen“ Abschnitt und einem „nonkollagenen“-Bestandteil am Carboxy-Terminus (Abreu-Velez und Howard 2012). Der Hauptanteil jeder α -Kette des Kollagen Typ IV besteht aus einer kollagenen Domäne mit ca. 1400 Aminosäuren. Jede dritte Aminosäure ist Glycin. Diese kleinste Aminosäure ist von großer Bedeutung für die Struktur der Tripelhelix (Leinonen et al. 1994). Weitere, häufig vorkommende Aminosäuren sind Prolin und Hydroxyprolin. Die kollagene Domäne weist, je nach α -Kette, eine Anzahl von 21 – 26 Unterbrechungen auf. Diese sorgen für eine vermehrte funktionelle Flexibilität, aber dienen auch als Zellbindungsstellen und besitzen Bedeutung in der Quervernetzung untereinander (Vandenberg et al. 1991). Der nonkollagene (NC)-terminale Teil der α -Ketten besteht aus ca. 230 Aminosäuren und ist reich an Cystein und Lysin, enthält jedoch kein Hydroxyprolin (LeBleu et al. 2007). Diese C-terminale Domäne kann in seiner Eigenschaft andere NC-

1 Einleitung

Termini erkennen und interagiert mit diesen während der Bildung der Heterotrimeren. Die Synthese der α -Ketten stellt einen äußerst komplexen Prozess dar. Es erfolgt eine co- und posttranslationale Modifikation der α -Ketten. Im endoplasmatischen Retikulum erfolgt unter anderem die Hydroxylation von Prolin und Lysin, als beispielsweise auch eine Glykosylierung von Hydroxylysin (Khoshnoodi et al. 2008). Bereits intrazellulär erfolgt die Bildung von Heterotrimeren aus Monomeren. Drei linksgängige α -Ketten werden, beginnend am C-Terminus in Richtung N-Terminus fortschreitend, zu einer rechtsgängigen Tripelhelix geformt (Khoshnoodi et al. 2008; Myllyharju und Kivirikko 2004). Nach Sekretion in die extrazelluläre Matrix (ECM) bildet sich durch Interaktion mit verschiedenen Bestandteilen der Basalmembran, vor allem aber mit weiteren Kollagen IV Heterotrimeren, ein irreguläres polygonales Netzwerk. Heterotrimeren verbinden sich mit weiteren Heterotrimeren über den N-Terminus mittels Disulfidbindungen zu tetrameren Strukturen. Über den C-terminalen Teil wiederum erfolgt eine Dimerbildung (Abreu-Velez und Howard 2012; Khoshnoodi et al. 2008; Sage 1982).

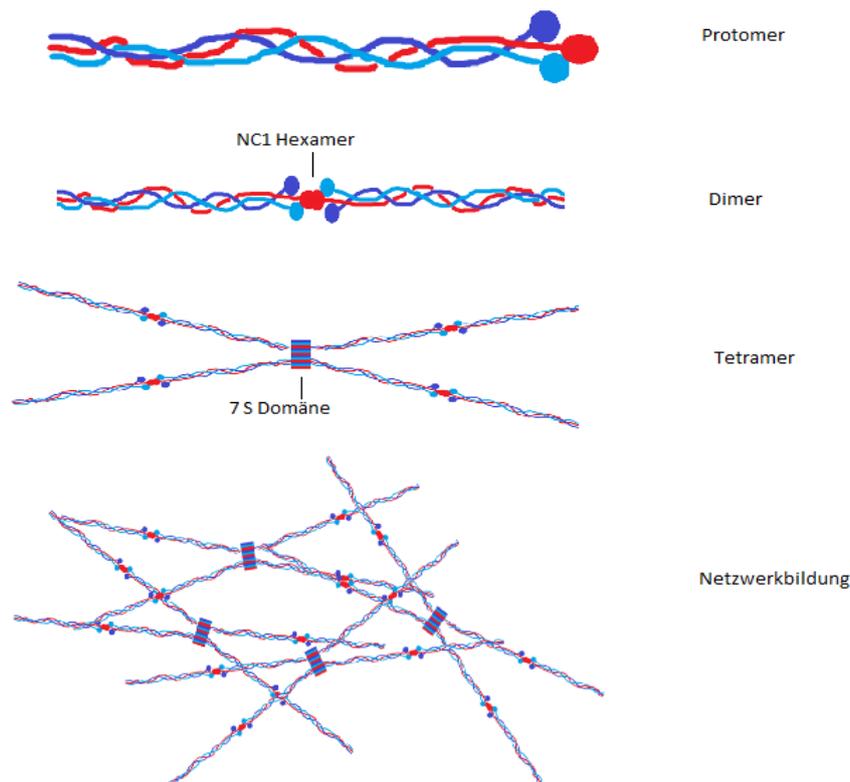


Abbildung 1: Vom Protomer bis zur Netzwerkbildung (modifiziert nach Kalluri (2003))

Für einige Autoimmunerkrankungen stellt das Kollagen IV eine pathologische Autoantikörperzielstruktur dar. So sind Autoantikörper des Goodpasture-Syndroms gegen

1 Einleitung

den NC-Terminus der α 3-Ketten gerichtet. Weitere Erkrankungen wie zum Beispiel die Juvenile Rheumatoide Arthritis oder der Systemische Lupus Erythematoses weisen Autoantikörper gegen kollagene Strukturen auf (Abreu-Velez und Howard 2012).

1.1.2 Aufbau und Funktion der glomerulären Basalmembran

Basalmembranen werden durch endotheliale und epitheliale Zellreihen gebildet und grenzen diese vom Bindegewebe ab. Neben einer mechanischen Stabilität tragen sie auch wesentliche Bedeutung im Rahmen von Tumorinvasion und Metastasierung. Des Weiteren erfolgt in Interaktion mit Basalmembranen die Steuerung von Zellmigration und Zelldifferenzierung (Kalluri 2003; LeBleu et al. 2007).

Die Basalmembran des Glomerulums ist ein essentieller Bestandteil der renalen Filtrationsbarriere. Als spezialisierte Membran trennt die GBM in dieser Eigenschaft Endothel und Epithel voneinander, ist gleichzeitig aber auch Produkt beider Zellreihen (Kashtan 2000). Im Zusammenwirken von Endothel, GBM und Podozytenfußfortsätzen erfolgt die Ultrafiltration von Blutplasma und Abscheidung des Harns (Pollak et al. 2014). Ein Defekt jeder einzelnen Barriere kann in die pathologisch erhöhte Ausscheidung von Albumin und anderen, physiologischerweise nicht filtrierte Proteinen münden (Miner 2012). Die glomeruläre Filtrationsmembran (GFM) stellt einen größen- und ladungsselektiven Filter dar. Substanzen mit einem Durchmesser $> 4,2$ nm werden im physiologischen Zustand nicht filtrierte, kleinere Substanzen werden in Abhängigkeit ihrer Ladung ausgeschieden. So wird beispielsweise Albumin mit einer Größe von ca. 3,6 nm aufgrund seiner Ladung nicht filtrierte (Pollak et al. 2014). Das glomeruläre Endothel besitzt, in seiner Eigenschaft als Bestandteil des renalen Filters, spezielle Fenestrierungen und weist zudem eine ausgeprägte Glykokalix auf. Der äußere Teil der GFM hingegen wird durch die Podozyten und ihre Fußfortsätze gebildet. Durch diese besondere Form von Zellkontakten kommt es zur Ausprägung der Schlitzmembran (Miner 2012).

Unter morphologischen Gesichtspunkten zeigt sich eine dreischichtige glomeruläre Basalmembran (GBM), bestehend aus den sogenannten Lamina rara interna, Lamina densa und Lamina rara externa (Pollak et al. 2014). Die physiologische Ausdehnung der humanen GBM beträgt ca. 430nm. Betrachtet man die molekulare Zusammensetzung, so findet man anteilig verschiedene Formen von Laminin, Kollagen und Integrinen zusammen mit Nidogen, Agrin und Perlecan (Suleiman et al. 2013).

1 Einleitung

Die ca. 400 nm langen $\alpha3\alpha4\alpha5$ -Heterotrimere werden nur durch podozytäre Zellen produziert und in die ECM sezerniert. Im Gegensatz zu anderen Kollagenarten liegt beim Kollagen Typ IV in der GBM keine fibrilläre, sondern eine netzartige Anordnung vor. Die Vernetzung einzelner Protomere untereinander gelingt durch eine Bindung über die 7S-Domäne im N-Termini und C-terminal (Abrahamson 2012). Es erfolgt eine Anordnung der $\alpha3\alpha4\alpha5$ -Protomere im Zentrum der Basalmembran (Suleiman et al. 2013). Das Vorhandensein verschiedener Heparansulfatproteoglykane in der GBM bedingt deren negative Ladung. Häufigste Vertreter der Heparansulfatproteoglykane sind Agrin und Percelan (Miner 1999). Es wird debattiert, ob der funktionalen Ladungsselektivität der endothelialen Glykokalix mehr Bedeutung zu Ungunsten der GBM beigemessen werden muss (Harvey et al. 2007).

1.2 Das Alport-Syndrom

1.2.1 Pathogenese

Die Pathogenese des Alport-Syndroms (AS) ist durch den genetischen Defekt und die daraus resultierende, fehlerhafte Bildung der 3 verschiedenen Kollagen Typ IV α -Ketten bedingt (Kashtan 2000). Dies ist nicht nur den fehlenden oder nur bedingt funktionsfähigen Kollagen Typ IV-Ketten geschuldet, sondern einem komplexen Zusammenspiel der einzelnen glomerulären Komponenten untereinander (Cosgrove et al. 2000). Das Nierenparenchym versucht durch verschiedene Strategien in Form von ablaufenden Reparaturmechanismen, die fehlerhafte GBM wiederherzustellen (Gross et al. 2010). Dies resultiert in einer fortlaufenden Entzündungsreaktion mit Proliferation von Bindegewebsstrukturen und zunehmenden Funktionsverlust (Miner und Sanes 1994). Die im Krankheitsverlauf auftretende Proteinurie verstärkt diese Vorgänge, sodass es zu einer Fibrosierung und terminalem Nierenversagen kommt (Noone und Licht 2013).

Die sichtbaren Veränderungen im histologischen Präparat lassen hier ebenfalls stadienartige Veränderungen erkennen. Jedoch sollte zur diagnostischen Beurteilung neben der lichtmikroskopischen Untersuchung auch eine elektronenmikroskopische Begutachtung erfolgen (Haas 2009).

Lichtmikroskopische Untersuchungen zeigen nur eingeschränkt unspezifische Veränderungen der Glomeruli und können in den ersten Jahren des Krankheitsverlaufs

1 Einleitung

vollkommen fehlen (Rumpelt 1987). Das mikroskopische Bild kann von einer segmentalen Glomerulosklerose, interstitiellen Fibrosierung und tubulären Atrophie gezeichnet sein (Miner und Sanes 1994). Miner und Sanes (1994) beschrieben den tubulären Schaden als Folge der glomerulären Pathologie, hielten jedoch auch einen Verlust von $\alpha3\alpha4\alpha5$ -Ketten in der tubulären Basalmembran als mögliche kausale Ursache. Es finden sich Ansammlungen von Lymphozyten, Plasmazellen und Schaumzellen (Rumpelt 1987). Weitere diagnostische Hinweise im mikroskopischen Präparat sind vorhandene, sogenannte „Fetal-like Glomeruli“ sowie pathologisch veränderte Kapillarschlingen und Auffälligkeiten der glomerulären Basalmembran (Rumpelt 1987).

Eine elektronenmikroskopische Begutachtung lässt eine Fokussierung auf einzelne Strukturen und Bestandteile der GFM zu. Besonders auffallend ist die Struktur der glomerulären Basalmembran (Haas 2009). Diese zeigt eine teilweise altersabhängige Charakteristik. Wohingegen Patienten mit Alport-Syndrom in jungen Jahren eine Ausdünnung der Basalmembran auf bis zu 100 – 200nm und gleichzeitig verbreiterten Segmenten aufweisen, dominiert im weiteren Krankheitsverlauf die typischerweise stark verdickte, auf bis zu 800 – 1200nm verbreiterte Basalmembran (Gubler 2008). Diese Verbreiterung wurde von Spear und Slusser (1972) näher charakterisiert. Vor allem die Lamina densa zeigt fokale Läsionen in Kombination mit Aufspaltungen und Zersplitterungen (Spear und Slusser 1972).

Statt des physiologischen Austausches der fetalen $\alpha1$ und $\alpha2$ Ketten in der GBM durch die $\alpha3\alpha4\alpha5$ -Ketten des Kollagen Typ IV verbleiben diese in situ und lassen eine Verteilung innerhalb der gesamten GBM erkennen. Im bioptischen Befund einer normalen adulten Niere lassen sich $\alpha1$ und $\alpha2$ nur noch subendothelial nachweisen (Kashtan et al. 2001). Gunwar et al. (1998) konnten zeigen, dass die $\alpha1$ und $\alpha2$ -Ketten weniger resistent gegenüber proteolytischem Abbau und mechanischem Stress sind. Begründet wird dies durch die in den $\alpha3\alpha4\alpha5$ Ketten vorhandenen Disulfid-Brücken, die als kovalente Bindungen innerhalb des Protomers auftreten. Im Stadium des chronischen Nierenversagens sind nur noch wenige $\alpha1$ und $\alpha2$ -Ketten immunhistochemisch in der GBM nachweisbar (Kashtan et al. 2001). Dem entgegen steht eine Vermehrung von Kollagenfasern Typ V und VI in der GBM, physiologischer Weise im Mesangium und im Subendothel vorkommend (Miner und Sanes 1994). Gunwar et al. (1998) postulierten zudem eine zentrale Rolle der $\alpha5$ Kette des

1 Einleitung

Kollagen Typ IV. Bei einem X-chromosomal bedingten Alport-Syndrom ist nicht nur die $\alpha 5$ -Kette innerhalb der Basalmembran mittels Antikörpertests nicht nachweisbar, sondern ebenso die $\alpha 3$ und $\alpha 4$ Ketten. Durch noch nicht vollständig bekannte Mechanismen spielt die $\alpha 5$ Kette eine zentrale Rolle bei der Bildung eines Tripel-helikalen Protomers (Gunwar et al. 1998).

Abrahamson et al. (2009) konnten zeigen, dass einzig die Podozyten für die Bildung von $\alpha 3$, $\alpha 4$ und $\alpha 5$ -Ketten verantwortlich sind. Somit spielt diese Zellart eine ganz besondere Rolle in der Pathogenese des Alport-Syndroms. Ebenso wichtig ist die Interaktion zwischen Podozyt und GBM via verschiedener Zellmembran- und Transmembranrezeptoren (Cosgrove et al. 2000; Curat und Vogel 2002; Gross et al. 2010).

In einer Arbeit von Cosgrove et al. (2000) wurde weiterhin die Bedeutung von Transforming Growth Factor β (TGF β) in der Pathogenese von Kollagen Typ IV Erkrankungen untersucht. TGF β ist ein Zytokin, was eine wesentliche Rolle im Rahmen von Wundheilung und Fibrose spielt, vermittelt durch eine Proliferationsstimulation der ECM (Border und Ruoslahti 1992). TGF- $\beta 1$ ist auch an der Induktion von Matrixmetalloproteinasen (MMP) beteiligt (Strutz et al. 2002). Diese gehören zu den neutralen Proteinasen, eine Familie mit mehr als 20 verschiedenen Subtypen. Die Rolle von MMPs wird kontrovers diskutiert (Zhao 2013). Zeisberg et al. (2006) untersuchten die Funktion von MMP 2, 3 und 9 im Tiermodell der Kollagen (*COL4a3*-defizienten Mäuse. MMP 2, 3 und 9 sind mit ihrer proteolytischen Eigenschaft zur Zersetzung von glomerulären Basalmembranen fähig (Bejarano et al. 1988; Zeisberg et al. 2006).

Die Epitheliale Mesenchymale Transition (EMT) ist ein Modell zur Erklärung des Verlusts von Parenchym und Umwandlung zu bindegewebspezifischen Zellen und daraus resultierend, ein Fortschreiten der Fibrosierung (Cheng und Lovett 2003). Grundsätzlich erfolgt eine Veränderung der Morphologie von epithelialen Zellen hin zu spindelförmigen, mesenchymalen Zellen (Flier et al. 2010). Zusätzlich kommt es zu einer verringerten Ausbildung von Zell zu Zell-, als auch Zell zu Matrixkontakten. Ebenso erfolgen eine Abnahme der zellulären Polarität und eine Veränderung der Genexpression. Lange-Sperandio et al. (2007) postulierten in ihrer Arbeit zudem die wesentliche Bedeutung der

1 Einleitung

Infiltration von monozytären Zellen zur Progression der EMT, zeigten aber auch gleichzeitig Möglichkeiten der erfolgreichen Blockade der Leukozyteninfiltration.

Weiteren Einfluss auf die Progression des Alport-Syndroms bis hin zum terminalen Nierenversagen hat der Tumornekrosefaktor α . Studien zeigten eine signifikant erhöhte messenger-Ribonukleinsäure-Expression in den podozytären und mesangialen Zellen von Alport-Maus-Glomeruli. Des Weiteren konnten mittels Immunhistochemie vermehrt TNF α positive Leukozyten gefunden werden, wie zum Beispiel T-zellen, dendritische Zellen, neutrophile Granulozyten und Makrophagen (Ryu et al. 2012).

Die im Krankheitsverlauf auftretende Mikroalbuminurie und Proteinurie sind nicht nur Zeichen für die stadienartige Progression des AS, sondern tragen selbst zu einer Aggravation der hereditären Nephritis bei (Noone und Licht 2013). Dabei ist auch hier das Ausmaß der Proteinurie ein wichtiger prognostischer Marker und lässt zugleich auch ein erhöhtes kardio-vaskuläres Risiko abschätzen (Alani et al. 2014; Gross et al. 2014). Die REIN-Studie konnte eine Korrelation der Reduktion der Proteinurie mit der Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) unter Ramipril-Therapie aufzeigen (The GISEN Group 1997). In vitro kommt es nach Kontakt von proximalen tubuloepithelialen Zellen mit humanen Plasmaproteinen zur Ausschüttung von Endothelin 1 und konsekutiver Infiltration von Monozyten, sowie zu einer vermehrten Zellproliferation und Wachstumsstimulation der extrazellulären Matrix (Noone und Licht 2013). Verschiedene Studien lassen die Vermutung zu, dass eine unselektive, große Proteinurie eine schlimmere Schädigung des tubulointerstitiellen Systems bedingt, als eine reine Albuminurie (Abbate et al. 2006). Die Proteinurie führt des Weiteren zu einer erhöhten Synthese von Komplementfaktoren in den proximalen tubuloepithelialen Zellen (Abbate et al. 2006; Tang et al. 1999).

1.2.2 Diagnostik und Stadieneinteilung

Für die Diagnose des Alport-Syndroms können klinische Charakteristika, molekulargenetische Untersuchungen als auch renale und dermale Biopsien verwendet werden. Werden aus dieser Kombination von diagnostischen Mitteln eine Anzahl von Kriterien erfüllt, so gilt die Diagnose des Alport-Syndroms als sehr wahrscheinlich (Flinter et al. 1987).

1 Einleitung

Zu den klinisch und anamnestisch zu erhebenden Diagnosepunkten zählen eine positive Familienanamnese bezüglich Hämaturie und Nierenversagen, eine sensorineurale Hörminderung und das Vorhandensein von Augenveränderungen (Flinter et al. 1987; Gubler 2007). Bei entsprechender Bejahung dieser Kriterien kann zur ergänzenden Diagnostik eine Untersuchung des Urins auf eine Mikroalbuminurie oder Proteinurie erfolgen. Weitere audiologische und ophthalmologische Untersuchungen können hilfreich sein (Savige et al. 2013). Das Auftreten von einer Leiomyomatose wurde als diagnostisches Kriterium in den letzten Jahren hinzugefügt (Gubler 2007).

Eine molekulargenetische Untersuchung wurde als diagnostischer Goldstandard etabliert und liefert zudem wichtige Informationen zur genetischen Beratung von Patienten und Angehörigen und erlaubt eine mögliche Prognose der Krankheitsschwere (Gross et al. 2002; Nagel et al. 2005; Savige et al. 2016). Ein Nachweis einer Mutation im Gen *COL4A5* erlaubt mit 90 %iger Sicherheit die Diagnose eines X-linked Alport Syndrome (XLAS). Zwei homozygote oder komplex heterozygote Mutationen in den Genen für *COL4A3* und *COL4A4* führen zur Bestätigung des autosomal rezessiven Alport-Syndroms (ARAS) (Savige et al. 2013).

Die Nierenbiopsie ist weiterhin eine wichtige Säule der Diagnosesicherung, vor allem, wenn bei typischer Klinik kein Mutationsnachweis erfolgen kann (Kashtan et al. 2018). Lichtmikroskopische Begutachtungen können unspezifische Zeichen einer mesangialen Substanzvermehrung, Glomerulosklerose und Tubulusatrophie zeigen (Gale 2013). Laut Yao et al. (2012) ist die häufigste Fehldiagnose nach Biopsie bei weiblichen Patienten mit XLAS die fokal-segmentale Glomerulosklerose und bei männlichen Patienten eine mesangiale proliferative Glomerulonephritis. Aufgrund dessen ist eine elektronenmikroskopische Beurteilung der GBM essentiell. Je nach Krankheitsprogress kann eine Verdünnung oder Verdickung der GBM mit und ohne Lamellierung und Aufspaltung gesehen werden (Haas 2009). Auch immunhistochemische Tests auf das Vorhandensein der entsprechenden α -Ketten können zur Diagnose beitragen, besitzen jedoch auch keine 100 %ige Sensitivität (Gale 2013). Alternativ kann anstelle der Nierenbiopsie beim XLAS auch eine Hautprobe zur Diagnostik entnommen werden. Hier erfolgt eine Anfärbung für die beim XLAS in der Haut nicht vorhandenen α 5-Ketten des Kollagen Typ IV. Allerdings können nicht-pathologische

1 Einleitung

Ergebnisse kein X-chromosomales Alport-Syndrom ausschließen. Zudem sollte bei Negativität ein ARAS abgeklärt werden (Haas 2009).

Eine Stadieneinteilung dieses Krankheitsbildes anhand der Proteinausscheidung und der Filtrationsleistung der Niere stellten Kruegel et al. (2013) in einer Übersichtsarbeit zum AS wie folgt vor:

Tabelle 1: Einteilung der Krankheitsstadien beim Alport-Syndrom (modifiziert nach Kruegel et al. (2013))

Stadium 0	Mikrohämaturie (<30 mg Albumin/g Kreatinin oder 24h)
Stadium 1	Mikroalbuminurie (30 – 300 mg Albumin/g Kreatinin oder 24h)
Stadium 2	Makroalbuminurie (>300 mg Albumin/g Kreatinin oder 24h)
Stadium 3	Eingeschränkte Nierenfunktion (GFR <60 ml/min/1,73m ²)
Stadium 4	End Stage Renal Disease

1.2.3 Klassifikation, Genetik und Klinik

1.2.3.1 Genetische Grundlagen und Klassifikation

Das Alport-Syndrom, als häufigste hereditäre Nephritis, unterliegt verschiedenen Erbgängen mit einer Vielzahl von potentiell ursächlichen Genmutationen (Kashtan 2000). Neben einer X-chromosomalen und autosomalen Vererbung wurden zuletzt auch Hinweise für digene, nicht-mendelsche Vererbungsmodi publiziert (Daga et al. 2019; Kashtan et al. 2018; Mencarelli et al. 2015).

Die genetische Information für die 6 verschiedenen α -Ketten des Kollagen Typ IV ist auf unterschiedlichen Chromosomen lokalisiert. Die α_1 und α_2 -Ketten werden durch Chromosom 13 codiert, die Ketten α_3 und α_4 hingegen durch Chromosom 2. Genetische Informationen für die Ketten α_5 und α_6 befinden sich auf dem X-Chromosom (Khoshnoodi et al. 2008; Mariyama et al. 1992; Zhou et al. 1994).

Eine genetische Untersuchung aller 3 Genabschnitte mittels Next Generation Sequencing wird empfohlen. Hiermit kann eine Detektionsrate von ca. 95 % erzielt werden (Savige et al. 2019).

1 Einleitung

Nach Savige et al. (2016) werden am häufigsten Nonsense- oder Missense-Mutationen detektiert. Dabei sind Nonsense-Mutationen häufig mit einem ausgeprägteren Phänotyp verbunden als Missense-Mutationen (Gross et al. 2002; Savige et al. 2016).

Eine Differenzierung anhand des Vererbungsmodus ist von besonderer Bedeutung, vor allem bei der Beratung der Patienten bezüglich der Wahrscheinlichkeit der Weitergabe der Erkrankung an ihre Nachkommen, verbunden mit dem Risiko der terminalen Niereninsuffizienz (Kashtan et al. 2018; Wang et al. 2014). Daher sollte stets eine ausführliche Familienanamnese samt Stammbaumerstellung erhoben werden, als auch eine genetische Analyse erfolgen (Kashtan et al. 2018; Wang et al. 2014).

Wurden zuvor heterozygote Genträgerinnen, oftmals als „Carrier“ bezeichnet (Savige et al. 2013), vom sogenannten „Vollbild“ des Alport-Syndroms abgegrenzt, erfolgte durch Kashtan et al. (2018) ein Vorschlag zur neuen Klassifikation von Kollagen Typ IV-Erkrankungen. Jegliche Erkrankung, resultierend aus Mutationen von Kollagen Typ IV $\alpha 3 - 5$, soll fortan als Form des Alport-Syndrom klassifiziert werden. Auch die benigne familiäre Hämaturie wurde nun dieser Klassifikation untergeordnet. Eine Differenzierung entsprechend des Vererbungsmodus in X-chromosomal, autosomal und digen wurde postuliert. Alle Vererbungsformen können potentiell in einer End Stage Renal Disease münden. Bei fehlendem Mutationsnachweis kann bei Vorhandensein von klinischen Merkmalen, positiven Stammbaum oder bioptischem Nachweis trotzdem eine Diagnosestellung erfolgen (Kashtan et al. 2018).

1 Einleitung

Tabelle 2: Neue Klassifikation des Alport- Syndroms (modifiziert nach Kashtan et al. (2018); ESRD= End Stage Renal Disease)

Vererbungsmodus	Betroffene Gene	Genetischer Status	Bemerkung	Geschätztes Risiko End Stage Renal Disease
X-chromosomal	COL 4A5	hemizygot	ESRD und extrarenale Manifestationen in Abhängigkeit vom Genotyp	100 %
		heterozygot	Risikofaktoren für ESRD: Makrohämaturie, Schwerhörigkeit Proteinurie, GMB Verbreiterung, Lamellierung	Bis zu 25 %
autosomal	COL 4A3/COL 4A4	Rezessiv homozygot /compound heterozygot	ESRD und extrarenale Manifestationen in Abhängigkeit vom Genotyp	100 %
		dominant	Risikofaktoren für ESRD: Hämaturie, Proteinurie, FSGS, GBM Verbreiterung, Lamellierung	Bis zu 20 %
digen	COL 4A3/ COL 4A4/ COL 4A5	COL 4A3/COL 4A4 in trans	Klinik und Stammbaum simulieren eine autosomal rezessive Vererbung	Bis zu 100 %
		COL 4A3/COL 4A4 in cis	Klinik und Stammbaum simulieren eine autosomal dominante Vererbung	Bis zu 20 %
		Mutationen in COL4A5 und in COL4A3/COL 4A4	Vererbung ohne Hinweis auf Mendelsche Gesetze	Bis zu 100 %

1 Einleitung

1.2.3.2 X-chromosomal hemizygoter Genträger

Der X-chromosomale Erbgang tritt mit einer Prävalenz von ca. 1:5000 auf und liegt bei ca. 80 % aller, am Alport-Syndrom erkrankten, Patienten vor (Flinter 1997; Hasstedt und Atkin 1983). Die Neumutationsrate beim XLAS ist mit einem Anteil von ca. 12 % als gering zu bewerten (Jais et al. 2000; Wang et al. 2014). Aufgrund des Vererbungsmodus ist mit einer Vielzahl von betroffenen Familienmitgliedern zu rechnen. Da sich das „Vollbild“ des AS vorrangig bei männlichen Patienten zeigt, gibt es beim Auftreten dieses Krankheitsbildes einen Generationsübersprung bei erstgradig verwandten Familienmitgliedern. Frauen fungieren als Konduktorinnen der hereditären Nephritis, können aber auch selbst symptomatisch werden (Jais et al. 2003; Wang et al. 2014). So sind alle weiblichen Nachfahren eines am XLAS erkrankten, männlichen Patienten für die Mutation heterozygot, wohingegen alle erstgradig männlichen Nachkommen mutationsfrei sind (Savige et al. 2013). Bei annähernd allen männlichen Betroffenen und bei 95 % der Frauen lässt sich eine Mikrohämaturie nachweisen. Ebenso entwickeln bei Krankheitsprogress fast alle männlichen Patienten und 75 % der heterozygoten Genträger eine Proteinurie (Kashtan und Segal 2011). Das Patientenalter bei Beginn des terminalen Nierenversagens, das Vorhandensein einer Hochtonschwerhörigkeit und Augenveränderungen als auch das Auftreten einer Leiomyomatose sind von der jeweiligen Mutationsart abhängig. Das mittlere Alter bis zum Beginn des terminalen Nierenversagens wird von verschiedenen Quellen mit ca. 25 Jahren beschrieben (Gross et al. 2002; Jais et al. 2000; Kashtan und Segal 2011). Dabei ist aber auch eine sowohl intra- als auch interfamiliäre Variation von bis zu 20 Jahren festzustellen (Jais et al. 2000). Mit ungefähr 40 Jahren haben 90 % der männlichen Patienten das Stadium des terminalen Nierenversagens erreicht, mit 60 Jahren sind es annähernd 100 %. Bei männlichen Patienten konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Mutationsart und der Alter bis zum Erreichen der End Stage Renal Disease (ESRD) gezeigt werden (Gross et al. 2002; Judith Savige et al. 2016).

Gross et al. (2002) veröffentlichten eine Metaanalyse bezüglich der Korrelation zwischen Geno- und Phänotyp bei Patienten mit AS. Ziel war es, verschiedenen Mutationsarten eine Prognose und Klinik zuzuordnen. Large Rearrangements bedingen laut Gross et al. (2002) in bis zu 95 % der Patienten das frühzeitige Erreichen des Stadiums der terminalen Niereninsuffizienz. Verbunden damit ist eine Hochtonschwerhörigkeit bei 77 % der Untersuchten. Bei einer Vielzahl der Patienten konnte ein Lenticonus nachgewiesen.

1 Einleitung

Patienten mit sowohl einer frameshift- als auch einer inframe-Mutation zeigten besonders häufig die Ausbildung eines rasch fortschreitenden Krankheitsbilds. Lediglich missense-Mutationen resultierten, in Abhängigkeit vom Ort der Mutation, in einen „adulten Typ“ des AS mit vergleichsweise geringerer Begleitsymptomatik (Gross et al. 2002).

Ca. 6 % aller X-chromosomal bedingten Mutationen des AS sind große Deletionen mit einer auf das benachbarte, 435 Kilobasen große Gen *Col4A6* übergreifenden Schädigung (Zhang et al. 1996). Eine Deletion des 5' Endes von *COL4A5* und *COL4A6* kann eine Diffuse Ösophageale Leiomyomatose zur Folge haben (Jais et al. 2000). Diese kann sich auch im Bronchialsystem und am äußeren weiblichen Genitale manifestieren (Kashtan und Segal 2011; Miner 1999). Die Ösophageale Leiomyomatose kann je nach Ausprägung ein asymptomatisches Krankheitsbild bis hin zu schweren Schluckproblemen bedingen (Antignac et al. 1992).

1.2.3.3 X-chromosomal heterozygote Genträger

Bedingt durch die zufällige X-Inaktivierung weisen Frauen mit XLAS ein Mosaik an defekten und funktionsfähigen Kopien von *COL4A5* auf (Migeon 2008). Tierexperimentell konnte bei weiblichen Mäusen mit XLAS ein Zusammenhang zwischen X-Inaktivierung und Ausprägung des Alport-Krankheitsbildes nachgewiesen werden (Rheault et al. 2010). Biopsische Untersuchungen von Nierengewebe zeigen ein weites Spektrum von unauffälligen lichtmikroskopischen Befunden über eine mesangiale Proliferation bis hin zur interstitiellen Fibrose (Rheault 2012). Elektronenmikroskopisch kann eine partielle Verdickung und Lamellierung der GBM beobachtet werden. Bei fast allen Betroffenen kann eine Hämaturie nachgewiesen werden. 75 % der Patientinnen mit XLAS entwickeln im Laufe ihres Lebens eine Proteinurie. Zwischen 15 % und 40 % der Patientinnen erreichen durchschnittlich ab einem Alter von 60 Jahren das Stadium der ESRD (Jais et al. 2003; Rheault 2012; Savige et al. 2013; Temme et al. 2012a).

Hörverlust und Augenveränderungen zählen zur Symptomatik, sind jedoch nicht bei allen Patientinnen vorhanden. Eine Korrelation zwischen dem Genotyp und dem Phänotyp ist hier, im Gegensatz zu den männlichen XLAS-Patienten, nicht möglich. Obwohl wesentlich mehr Frauen als Männer X-chromosomale Alport -Mutationen tragen, werden sie seltener diagnostiziert (Jais et al. 2003; Savige et al. 2016). Eine jährliche Kontrolle auf Albuminurie und Hypertension wird empfohlen (Savige et al. 2016). Eine Organspende an erkrankte

1 Einleitung

Kinder sollte sehr kritisch betrachtet und im Zweifelsfall von ärztlicher Seite abgelehnt werden (Kashtan 2007). Es konnte gezeigt werden, dass eine frühzeitig begonnene Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)-Blockade die Zeit bis zum Erreichen des Stadiums der Niereninsuffizienz bei proteinurischen Patientinnen hinauszögern kann. Ebenso könnte möglicherweise die Gesamtlebenserwartung durch eine RAAS-Blockade verlängert werden. (Stock et al. 2017; Temme et al. 2012a). Savige et al. (2016) empfehlen den Einsatz von Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-Hemmer ab dem Stadium der Albuminurie.

1.2.2.4 autosomal rezessive homozygote oder compound heterozygote Genträger

Eine autosomal rezessive Vererbung liegt in ca. 15 % aller AS-Erkrankungen vor und tritt mit einer Häufigkeit von ungefähr 1:50000 auf (Hertz et al. 2015). Patienten mit homozygoten oder komplex heterozygoten Mutationen in den Erbinformationen für *Collagen 4A3* oder *Collagen 4A4* können das Bild eines „klassischen“ Alport-Syndroms aufweisen. Es wird davon ausgegangen, dass 1 % der Bevölkerung für das ARAS heterozygot veranlagt ist (Gross et al. 2003a). Von dem Vorliegen eines ARAS muss bei typischer Symptomatik und einer unauffälligen Familienanamnese ausgegangen werden. Zudem spricht eine gleichartig schwere Ausprägung des Krankheitsbildes bei Frauen wie bei Männern für eine autosomale Vererbung (Storey et al. 2013). Eine Konsanguinität der Eltern macht das Vorliegen eines ARAS wahrscheinlicher. Wie beim XLAS ist auch beim ARAS eine Vielzahl von verschiedenen Mutationen beschrieben. Aufgrund des oftmals vorliegenden, komplex heterozygoten Mutationsstatus ist es schwierig, die Bedeutung einzelner Mutationen zu erfassen. Heidet et al. (2001) beschrieben in einer Studie die Struktur von *COL4A3* und untersuchten gleichzeitig Patienten mit Verdacht auf Kollagen Typ IV -Erkrankung auf Mutationen im bereits genannten Genabschnitt. Für das betroffene Gen *COL4A3* konnten missense-, frameshift-, nonsense-, und splice-Mutationen detektiert werden. Storey et al. (2013) konnten ebenso wie Heidet et al. (2001) für *COL4A3* und für *COL4A4* die bereits genannten Mutationen als auch zusätzlich weitere kleine Deletionen und Duplikationen nachweisen. Wie bereits Gross et al. (2002) beim XLAS konnten Storey et al. (2013) beim ARAS eine Korrelation zwischen Mutationen und Beginn des terminalen Nierenversagens feststellen. Nonsense-Mutationen und in Stop-Condons-resultierende Mutationen führen zu einem frühen Nierenversagen, wohingegen Missense-Mutationen einen leichteren Krankheitsverlauf bedingen. Nach den Daten von Wang et al. (2014) erreichen Patienten

1 Einleitung

mit autosomal rezessiven AS im Mittel mit einem Alter von 27 Jahren das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz. Storey et al. (2013) konnten einen Beginn der ESRD beim ARAS schon mit 22,5 Jahren aufzeigen. In dieser Studie wurde bei 66 % der Betroffenen eine Schwerhörigkeit und bei 56 % ein Lenticonus diagnostiziert. Daten von Wang et al. (2014) lassen hingegen auf eine wesentlich häufiger vorkommende Augenbeteiligung bei ARAS-Patienten schließen. In dieser Studie wurde bei 80 % der Patienten ein Lenticonus diagnostiziert und sogar zu je 87 % das Vorhandensein einer zentralen oder peripheren Retinopathie.

1.2.2.5 autosomal dominante Genträger

Mit einem Anteil von nur 5 % an allen Alport-Erkrankungen stellt der autosomal-dominante Erbgang denjenigen mit der geringsten Häufigkeit dar (Rosado et al. 2014). Aufgrund der Dominanz des krankhaft veränderten Gens genügt das Vorliegen eines heterozygoten Mutationsstatus von *COL4A3* oder *COL4A4* auf Chromosom 2 zur Ausprägung der Symptomatik (Jefferson et al. 1997). Eine klare Abgrenzung zum ARAS wird von diversen Autoren als schwierig beschrieben (Longo et al. 2002; Marcocci et al. 2009). In der Ausprägung von Krankheitszeichen ist auch dieser Erbgang sehr variabel. Jedoch zeigen 100 % der Betroffenen eine Mikrohämaturie und etwa 5 % der Patienten ebenfalls eine Makrohämaturie. Bei ungefähr der Hälfte aller Erkrankten liegt eine Proteinurie vor (Marcocci et al. 2009). Veränderungen der GBM sind bei nahezu allen Patienten nachweisbar. Die elektronenmikroskopisch beobachteten Veränderungen reichen von einer Verdickung, Aufspaltung und Lamellierung der GBM bis zu einer nur isoliert vorliegenden Verdünnung (Jefferson et al. 1997; Marcocci et al. 2009; Pescucci et al. 2004). Männer und Frauen sind gleichermaßen betroffen. Eine mögliche Vater zu Sohn-Vererbung kann als hinweisend auf das autosomal dominante Alport-Syndrom (ADAS) angesehen werden (Colville et al. 2000; Pescucci et al. 2004). Marcocci et al. (2009) berichten in ihrer Arbeit von einem Progress der Erkrankung bis hin zur ESRD bei etwa 25 % der Erkrankten. Das mittlere Alter bei Beginn der terminalen Niereninsuffizienz liegt zwischen 51 und 56 Jahren (Fallerini et al. 2014; Marcocci et al. 2009). Nur etwa 13 – 14 % der Patienten haben eine Hochtonschwerhörigkeit. Typische Augenveränderungen kommen beim ADAS nicht vor (Colville und Savige 1997; Marcocci et al. 2009; Pescucci et al. 2004). Das Gesamt-Outcome der Patienten ähnelt dem der heterozygoten Merkmalsträger beim XLAS. Von Marcocci et

1 Einleitung

al. (2009) wurden Frameshift-, Missense- und Splicemutationen beschrieben in kollagenen und C-terminalen Regionen. Von einigen Autoren wird das Vorhandensein eines autosomal-dominanten Erbgangs auch kritisch betrachtet. So beschrieben Jefferson et al. (1997) auch die Möglichkeit von zweiten, nicht detektierten Mutationen und dem nicht erkannten Vorliegen eines eigentlich autosomal-rezessiven Erbgangs. Generell sollte beim ADAS nach eventuell weiteren, parallel vorhandenen Nierenerkrankungen gesucht werden (Jefferson et al. 1997).

1.2.2.6 digener Vererbungsmodus

Digene Vererbungsmodi werden beim AS in Betracht gezogen, wenn sich der Vererbungsmodus schlecht mittels klassischer Stammbaumanalyse erklären lässt. Betroffene zeigen eine variierende Klinik bei inkompletter Penetranz. Zwei Mutationen an unterschiedlichen Loci der Kollagen Typ IV $\alpha 3-4-5$ Gene weisen auf eine digene Vererbungsform hin (Fallerini et al. 2017; Mencarelli et al. 2015; Schäffer 2013). Der Nachweis erfolgt ebenso mittels Next-Generation-Sequencing. In Abhängigkeit von der Cis-Trans-Wirkung ergibt sich die Ausbildung des Phänotyps. Auch digene Mutationen für nicht kollagen-kodierende Gene können die Ausbildung des Phänotyps beim Alport-Syndrom beeinflussen (Daga et al. 2019; Kashtan et al. 2018).

1.2.4 Therapie

Die Therapie des AS hat sich in den letzten Jahrzehnten grundlegend verändert und bedeutend weiterentwickelt. Während lange Zeit die Nierentransplantation den einzig kurativen Therapieansatz darstellte, existieren heute verschiedene Konzepte bis hin zur theoretisch möglichen Heilung des AS durch eine Stammzell- oder Gentherapie (Daga et al. 2020; Gross und Kashtan 2009; Lin et al. 2014). Aufgrund der Knappheit an Spenderorganen und des natürlichen Progress dieser Erkrankung ist für viele Patienten mit terminaler Nierenfunktionsstörung die Dialyse die einzige Option (Temme et al. 2012b). Umso bedeutender in Hinblick auf die Lebenserwartung und Lebensqualität ist das maximale Hinauszögern des Beginns der terminalen Niereninsuffizienz. Hier hat sich die medikamentöse Blockade des RAAS als effiziente Therapieoption etabliert (Gross et al. 2003b; Proesmans und Van Dyck 2004; Temme et al. 2012a).

1 Einleitung

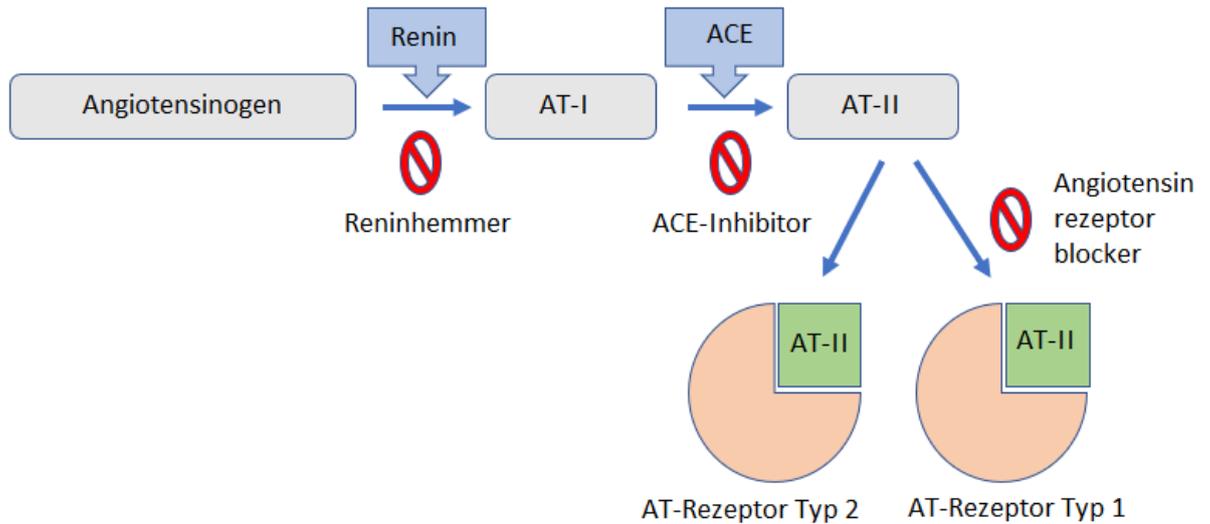


Abbildung 2: Effektoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und Möglichkeiten der medikamentösen Inhibition (modifiziert nach Robles et al. (2014); AT: Angiotensin, ACE: Angiotensin Converting Enzyme)

Die renoprotektive Wirkung von ACE-Hemmern ist seit längerer Zeit bekannt. Tiermodellstudien und retrospektive Daten zeigen das Potential von ACE-Inhibitoren zur signifikanten Verzögerung des Eintretens der Dialysepflicht und eine Verlängerung des Gesamtüberlebens (Gross et al. 2012a; 2003b). Kleinere prospektive klinische Studien zeigten auch bei der Anwendung am Menschen eine signifikante Reduktion der Proteinurie (Proesmans und Van Dyck 2004). Proesmans und Van Dyck (2004) publizierten eine Studie zur Enalapril-Therapie bei Kindern mit AS. Insgesamt wurden 10 pädiatrische Patienten über ca. 5 Jahre mit dem ACE-Hemmer Enalapril therapiert. Neben einer Senkung des Blutdrucks konnte ebenfalls eine signifikante Reduktion der Proteinurie festgestellt werden. Eine retrospektive Studie analysierte die Lebenserwartung von Patienten mit Alport-Syndrom und deren Alter beim Beginn von Nierenersatzverfahren (Gross et al. 2012a). Unbehandelte Patienten wurden mit einem mittleren Alter von 22 Jahren terminal niereninsuffizient und hatten eine mittlere Lebenserwartung von 55 Jahren. Bei spätem Beginn einer medikamentösen RAAS-Blockade durch ACE-Inhibitoren konnte der Beginn der Dialysepflicht um immerhin 3 Jahre hinausgezögert werden. Sehr viel bessere Ergebnisse konnten bei frühzeitig behandelten Alport-Patienten beobachtet werden. Diese Patientengruppe wurde durchschnittlich ab einem Alter von 13 Jahren medikamentös behandelt. Eine terminale Niereninsuffizienz trat hier mit einer Verzögerung von ca. 18 Jahren bei einem Alter von ungefähr 40 Jahren auf. Gross et al. (2012a) postulierten somit die positive Wirkung einer frühzeitigen RAAS-Inhibition zur signifikanten Verzögerung des

1 Einleitung

Krankheitsprogresses beim AS. Die Therapie mit ACE-Hemmern besitzt ein günstiges Nebenwirkungsprofil. Bei nur ungefähr 1,8 % der Therapierten konnte laborchemisch eine leichte Hyperkaliämie festgestellt werden. Von einem trockenen Reizhusten und einem symptomatisch erniedrigten Blutdruck berichteten 0,7 % der Patienten (Gross et al. 2012a). Die Studie EARLY PRO-TECT Alport, eine randomisierte, Placebo kontrollierte, doppelblinde, multizentrische Phase III Studie, konnte eine sichere Anwendung von Ramipril bei Kindern und Jugendlichen mit AS aufzeigen (Gross et al. 2020).

Sollten trotz guter Verträglichkeit Nebenwirkungen auftreten oder Kontraindikation für die Therapie mit ACE-Hemmern vorliegen, kann die Behandlung auf Angiotensin 1 (AT1)-Antagonisten umgestellt werden. Kashtan et al. (2013) bewerten den Einsatz von Angiotensinrezeptorblockern als geeignete Alternative im Rahmen einer Second-line Therapie. Auch eine mögliche Kombination von ACE-Inhibition und AT1-Antagonisten wird beschrieben. Ergebnisse der ONTARGET-Studie zeigten eine verminderte Proteinausscheidung bei dualer RAAS-Inhibition gegenüber einer Monotherapie mit Ramipril oder Telmisartan bei Patienten mit arteriosklerotisch und diabetisch bedingten Endorganschäden. Allerdings wurden in dieser Studie bei dualer Blockade vermehrt unerwünschte Ereignisse beschrieben (Mann et al. 2008). Webb et al. (2011) veröffentlichten eine Subgruppenanalyse zur Therapie von Kindern mit Alport-Syndrom mit dem Angiotensin Rezeptor Blocker (ARB) Losartan. In dieser Studie wurden 30 Kinder für 12 Wochen mit entweder Losartan, einem Placebo oder mit Amlodipin behandelt. In der Losartan-Behandlungsgruppe konnte eine signifikante Reduktion der Proteinurie festgestellt werden. Die Verträglichkeit von Losartan bei pädiatrischen Patienten wurde als gut tolerabel bezeichnet.

Ebenso wie die Angiotensinrezeptorblocker werden auch Aldosteron-Antagonisten als Add-On-Therapie beim AS eingesetzt (Kashtan et al. 2013). Giani et al.(2013) untersuchten in ihrer Studie einen möglichen Nutzen von Spironolacton zur Reduktion der Proteinurie bei Patienten mit Alport-Syndrom. 10 Kinder mit diagnostiziertem AS wurden ein halbes Jahr lang täglich mit 25 mg Spironolacton zusätzlich zu einem ACE-Inhibitor behandelt. Aldosteron kann den Progress der renalen Fibrose durch die Stimulation von Fibronectin und TGF β -1 fördern (Ku und Campese 2009). Durch die Add-On-Gabe von Spironolacton konnte bei allen Studienteilnehmern die Proteinurie signifikant gesenkt werden. GFR, Plasmaproteinkonzentration und Kaliumwerte blieben nahezu unverändert (Giani et al.

1 Einleitung

2013). Ähnliche Ergebnisse konnten Kaito et al. (2006) zeigen. Auch hier konnte bei Alport-Patienten durch die Zugabe von Spironolacton die Proteinausscheidung im Urin signifikant reduziert werden.

Neben der Inhibition des RAAS stehen weitere therapeutische Ansätze zur Verzögerung des Nierenversagens beim Alport-Syndrom zur Verfügung. Koepke et al. (2007) wiesen mit ihrer Studie auf einen möglichen renoprotektiven Effekt des Statins Cerivastatin zur Verlangsamung des Krankheitsprogresses bei *COL4A3* Knockout Mäusen hin. Die Behandlung mit Cerivastatin lässt eine antifibrotische Wirkung im Alport-Tiermodell erkennen. Statine können sich protektiv auf die endotheliale Funktion auswirken. Zudem hemmen sie die Proliferation von mesangialen Zellen und wirken negativ auf Zellen des Immunsystems und Entzündungsmediatoren (Shahbazian et al. 2015).

Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen weisen zumeist auch Störungen im Vitamin D- Metabolismus auf. Der selektive Vitamin D-Rezeptor-Aktivator Paricalcitol besitzt neben seiner Wirkung als Agonist am Vitamin D-Rezeptor zur Behandlung des sekundären Hyperparathyreoidismus auch wichtige antiinflammatorische Eigenschaften (Donate-Correa et al. 2014). In der Studie von Rubel et al. (2014) an *COL 4A3*-defizienten Mäusen wurde das antifibrotische Potential von Paricalcitol untersucht. Die gemeinsame Gabe von Calcitriol mit dem ACE-Hemmer Ramipril konnte die Überlebenszeit im Vergleich zur alleinigen Anwendung von Ramipril nicht verbessern. Die Kombination von Ramipril und Paricalcitol hingegen zeigte einen zusätzlichen Gewinn an Reduktion von Proteinurie, Verzögerung der Urämie und längeres Überleben.

Auch der potenzielle Nutzen des Immunsuppressivums Cyclosporin zur Behandlung des AS wurde im Tiermodell als auch am Menschen erprobt (Callís et al. 1992; 1999). Eine kleinere Studie zur Behandlung von Alport-Patienten mit Cyclosporin A wurde 2007 publiziert (Charbit et al. 2007). 9 Patienten in einem bereits fortgeschrittenen Krankheitsstadium wurden für 6 Monate mit 5 – 6,7 mg Cyclosporin A pro kg Körpergewicht behandelt. Neben einem Anstieg der Plasmaalbuminwerte konnte eine Erniedrigung der Proteinurie und Inulin-Clearance festgestellt werden. Die Auswertung der fraktionellen Dextran-Clearance zeigte keine behandlungsabhängigen Veränderungen der glomerulären Filtrationsbarriere. Biopsien nach bis zu 27-monatiger Nachbehandlung zeigten charakteristische, interstitielle, behandlungsbedingte Schädigungen (Charbit et al. 2007). Callís et al. (1999) wiederum konnten bioptisch keine Cyclosporin A bedingten Läsionen nach mehrjähriger

1 Einleitung

Behandlungsdauer feststellen. Massella et al. (2010) beschrieben ähnliche Verläufe von mit Cyclosporin A behandelten Patienten, berichteten jedoch zusätzlich von einem Anstieg des Blutdrucks unter Therapie. Die Reduktion der Proteinurie wurde von Massella et al. (2010) unter anderem mit hämodynamischen Veränderungen im Glomerulus begründet.

Mabillard und Sayer (2020) sehen im Einsatz von Natrium Abhängiger Glucose Transporter 2 (SGLT2)-Inhibitoren einen weiteren potentiellen therapeutischen Ansatz zur Behandlung von Patienten mit AS.

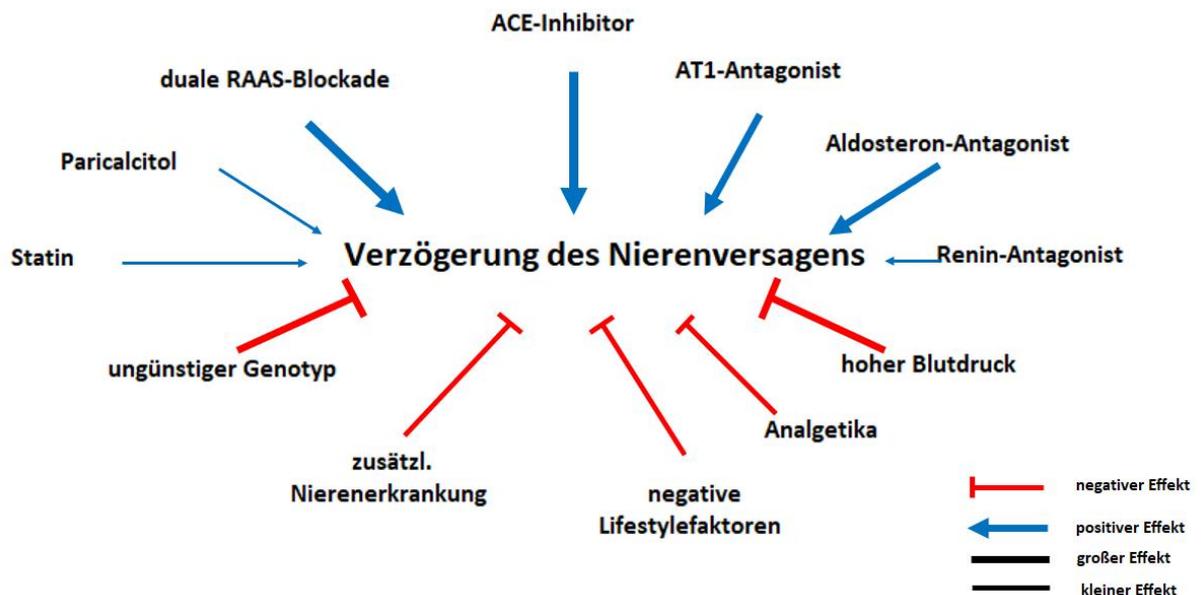


Abbildung 3: Therapeutische Möglichkeiten und negative Einflussfaktoren des Alport-Syndroms (modifiziert nach Gross et al. (2014); ACE=Angiotensin Converting Enzyme, AT1=Angiotensin 1)

Trotz vielfältiger medikamentöser Möglichkeiten zur Verlangsamung des Krankheitsprozesses erreichen fast alle Patienten mit Alport-Syndrom das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz (Jais et al. 2000). Somit wird der Einsatz von Nierenersatzverfahren unabdingbar und die Betroffenen müssen sich einer regelmäßigen Dialyse oder, wenn möglich, einer Nierentransplantation unterziehen. Temme et al. (2012b) untersuchten das Outcome von 456 Patienten mit Alport-Syndrom unter Nierenersatztherapie über den Zeitraum von 1990 – 2009. Gegenüber einer Vergleichspatientengruppe konnte ein verbessertes Gesamtüberleben von Alport-Patienten festgestellt werden. Ebenso zeigten Patienten mit Typ IV Kollagenerkrankungen ein längeres Überleben unter Hämo- und Peritonealdialyse. Obwohl Temme et al. (2012b) eine relativ geringere Transplantationsrate bei Patienten mit AS beschrieben haben, zeigten diese doch ein verbessertes Gesamt- und Transplantatüberleben. Das überlegene Outcome

1 Einleitung

von Patienten unter Nierenersatzverfahren begründeten die Autoren durch eine geringere Anzahl an Komorbiditäten. Die Auftretenswahrscheinlichkeit einer Transplantat-Anti-GBM-Nephritis ist als gering einzustufen (Kashtan et al. 2018). Die Autoren beobachteten einen Anstieg des Alters ab Beginn der Dialysepflicht ab dem Jahr 2000. Die medikamentöse Blockade des RAAS könnte hierfür ursächlich sein (Temme et al. 2012a). Mallett et al.(2014) publizierten eine ähnliche Studie mit einem Patientenkollektiv aus Australien und Neuseeland. Der gesamte Beobachtungszeitraum wurde in eine frühe (1965 – 1995) und eine späte (1996 – 2010) Patientenkohorte geteilt. Wie in der Studie von Temme et al. (2012b) konnte auch hier in der frühen Patientengruppe ein besseres Gesamtüberleben bei Patienten mit AS im Vergleich zu einer entsprechenden Kontrollgruppe gezeigt werden. Die spätere Kohorte zeigte keinen Überlebensvorteil von Patienten mit AS. Männer benötigten frühzeitiger eine Nierenersatztherapie als Frauen. Die Überlebenszeit unter der Dialyse zeigte keine geschlechtsspezifischen Unterschiede innerhalb der Alport-Patientengruppe. Auch bezüglich des Transplantatüberlebens konnte für Patienten mit AS in der frühen Kohorte ein Vorteil nachgewiesen werden, in der späteren Kohorte jedoch nicht. In 0,3 % der transplantierten Patienten mit AS wurde eine Anti-GBM-Nephritis nachgewiesen (Mallett et al. 2014).

1 Einleitung

1.3 Zielsetzung und Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit soll der Krankheitsverlauf von Patienten mit Kollagen Typ IV Erkrankung näher charakterisiert werden. Dabei geht es um eine Darstellung des Krankheitsgeschehens mit Hilfe von Laborparametern zur Bestimmung der renalen Funktionsfähigkeit und des Ausmaßes der Nierenschädigung. Mittels retrospektiver und prospektiver Patientendaten soll der Krankheitsprogress bei Patienten mit Alport-Syndrom aufgezeigt werden. Besonderer Fokus soll auf den Einfluss von Therapie und Therapiebeginn mittels RAAS-Blockade gelegt werden. Insbesondere soll dargestellt werden, inwieweit sich ein früher Therapiebeginn im Vergleich zu einem späteren und späten Therapiebeginn auf die Entwicklung von Nierenfunktion und Schädigung auswirkt. Studien mit sogenannten „harten Kriterien“ als Endpunkte, wie zum Beispiel das Gesamtüberleben, die Zeit bis zum Eintritt der Dialysepflichtigkeit und das Überleben unter Dialyse wurden bereits publiziert (Temme et al. 2012b).

2 Patientenkollektiv, Material und Methoden

2.1 Datenerfassung, Patienteneinwilligung und Ethikkommission

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte eine Erhebung von prospektiven und retrospektiven Patientendaten. Diese Daten waren als Zusatzdatenbestand des Europäischen Alport-Registers (ClinicalTrials.gov Identifikationsnummer: NCT02378805) vorhanden beziehungsweise wurden über einen Zeitraum von weiteren 4 Jahren von 2014 bis 2018 erhoben.

Das Europäische Alport-Register wurde im Jahr 2006 von Prof. Dr. med. Oliver Gross gegründet und wird seitdem in regelmäßigen Abständen aktualisiert (Gross et al. 2012a, Temme et al. 2012a, Stock et al. 2017). Patienten mit Kollagen Typ IV Erkrankungen werden nach erfolgter Aufklärung und Einwilligung in das Register eingeschlossen und Daten bezüglich Alter, Geschlecht, Genetik, Therapie und Krankheitsstadium erhoben. Ziel ist die Charakterisierung des Krankheitsverlaufs als auch die Identifikation von Risikofaktoren und des Einflusses verschiedener Therapieoptionen auf den Krankheitsprogress (Gross et al. 2012b).

Patienten mit bioptisch oder mutationsanalytisch gesicherter Diagnose einer Kollagen Typ IV-Erkrankung wurden in das Register aufgenommen. Ergebnisse der Registerauswertung wurden zuletzt durch Stock et al. (2017) publiziert.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Daten wurden aus vorliegenden Arztbriefen und Laborbefunden entnommen. Es erfolgte eine Pseudonymisierung der Patienten mittels einer, durch das Alport-Register zugeordneten Patientenidentifikationsnummer.

Diese Promotionsarbeit wurde von der Ethikkommission der Universitätsmedizin Göttingen positiv am 03.03.2014 votiert, Antragsnummer DOK_22_2014.

2.2 Studiendesign, Einschlusskriterien und Ausschlusskriterien

Diese Studie wurde sowohl als retrospektive als auch prospektive multizentrische Beobachtungsstudie konzipiert. Die Datensätze der eingeschlossenen Patienten entstammen dem Europäischen Alport-Register. 105 Patienten mit Kollagen-Typ IV- Erkrankungen wurden für diese Beobachtungsstudie gescreent. Als Einschlusskriterium galt die genetisch (X-chromosomal hemizygot oder autosomal rezessiv homozygot bzw. compound heterozygot) oder bioptisch nachgewiesene Diagnose eines Alport-Syndroms und das Vorhandensein von Patientenunterlagen in Form von Labordaten zu Nierenfunktion (Serumkreatinin und Kreatinin-Clearance) und Schädigungsparameter (Albuminurie und Proteinurie).

2 Patientenkollektiv, Material und Methoden

Ausschlusskriterien waren eine fehlende Einwilligung, unsichere Diagnose bzw. das Vorliegen einer „milden“ Krankheitsausprägung, vormals als heterozygote „Carrier“ bzw. als Patienten mit „benigner familiärer Hämaturie“ bezeichnet. Weitere Ausschlusskriterien waren ein Zustand nach Nierentransplantation oder laufende Nierenersatztherapie. Renale und nicht-renale Begleiterkrankungen wurden kritisch bewertet. Vorhandene Unterlagen wurden bezüglich der Verfügbarkeit von Laborergebnissen und Behandlungsempfehlungen durchsucht. Es erfolgte eine zeitliche Auftragung erhobener Parameter hinsichtlich des Patientenalters. In Hinblick auf die Inhomogenität der retrospektiven aber auch der prospektiven Daten als auch auf die Vergleichbarkeit erfolgte, insofern vorhanden, eine quartalsweise Darstellung und Zusammenfassung der erhobenen Parameter. Bei mehrfach vorhandenen Daten erfolgte eine Mittelung der Werte pro Quartal. Die Einteilung der Quartale wurde kalendarisch (Januar bis März, April bis Juni, Juli bis September, Oktober bis Dezember) vorgenommen und entsprechend des Lebensalters des Patienten aufgetragen. Bis einschließlich August 2018 wurden geeignete Patienten neu in die Studie aufgenommen. Bereits eingeschlossene Datensätze wurden zum genannten Zeitpunkt aktualisiert. Von 105 gescreenten Patienten wurden 90 Patienten in diese Beobachtungsstudie aufgenommen.

Tabelle 3: Einschluss- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Diagnose und „Vollbild“ Alport-Syndrom: anhand Biopsie ODER Genetik - X-chromosomal hemizygot - autosomal rezessiv (homozygot oder compound heterozygot)	X-chromosomal heterozygot autosomal heterozygot
Vorhandene Einwilligung	Fehlende Einwilligung
	Nierenersatztherapie
	Zustand nach Nierentransplantation
	Zusätzliche Nierenerkrankung

2.3 Untersuchtes Patientenkollektiv

Das in dieser Beobachtungsstudie eingeschlossene Kollektiv umfasst 90 Patienten mit gesicherter Diagnose eines Alport-Syndroms. Patienten wurden unabhängig von Geschlecht oder Alter in diese Verlaufsbeobachtung aufgenommen. Die hier abgebildeten Patienten

durften weder einen Zustand nach Nierentransplantation noch eine aktuell bestehende Nierenersatztherapie aufweisen.

2.4 Erhobene Parameter

Zur Charakterisierung der Studienpopulation wurden biometrische Daten zu Geschlecht, Alter bei Beginn und Ende des Beobachtungszeitraums und jeweiliges Alter bei Datenauftragung erhoben. Zudem wurden Informationen bezüglich der Art der Diagnosestellung (bioptisch vs. genanalytisch) und des (mutmaßlich) zu Grunde liegenden Vererbungsmechanismus als auch Genmutation gesammelt. Von maßgeblichem Interesse waren zudem Alter und Krankheitsstadium bei Therapieeinleitung. Folgende labordiagnostische Parameter wurden erhoben:

Tabelle 4: Erhobene labordiagnostische Parameter

Parameter zur Charakterisierung des Nierenschadens	Parameter zur Charakterisierung der Nierenfunktion
Proteinurie in g/24h im Sammelurin, Proteinurie in g/g Kreatinin	Serumkreatinin in mg/dl
	Kreatinin-Clearance in ml/min
Albuminurie in g/24h im Sammelurin, Albuminurie in g/g Kreatinin	

2.4.1 Serumkreatinin

Das Serumkreatinin war der am häufigsten zu erhebende Parameter. Teilweise wurde in Arztbriefen das Serumkreatinin bei unauffälligem Befund nicht quantitativ, sondern qualitativ als „normwertig“ beschrieben. In Anlehnung an die Serumkreatininreferenzwerte wurde der Terminus „normwertig“ bei Patienten unter 18 Jahren mit 0,8 mg/dl und bei Patienten älter als 18 Jahren mit 1,0 mg/dl geschlechtsunabhängig ersetzt (Tabelle A1, modifiziert nach Speer und Gahr (2013)). In $\mu\text{mol/l}$ angegebene Werte wurden zwecks besserer Vergleichbarkeit in mg/dl umgerechnet. Hierfür wurde ein Online- Laborwertrechner der Firma Labor Limbach, Heidelberg genutzt.

2.4.2 Kreatinin-Clearance

Die Kreatinin-Clearance stellt einen wichtigen Parameter zur Einschätzung der Nierenfunktion dar und dient der annähernden Bestimmung der Glomerulären Filtrationsrate. Die Kreatinin-Clearance kann durch eine direkte Messung oder durch eine Schätzung mit Hilfe verschiedener Formeln bestimmt werden (Cockcroft und Gault 1976; Pierrat et al. 2003; Work und Schwartz

2008). Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde nicht zwischen gemessener oder geschätzter Clearance differenziert. Als normwertig beschriebene Werte wurden in Anlehnung an entsprechende Referenzparameter ersetzt (Tabelle A2; modifiziert nach Thomas (2005)).

2.4.3 Proteinurie und Albuminurie

Proteinurie und Albuminurie zählen als wichtige Parameter zur Bewertung des Krankheitsstadiums beim AS (Kruegel et al. 2013). Fast alle Patienten mit Vollbild des AS und die Mehrzahl aller heterozygoten Anlageträger entwickeln im Krankheitsverlauf eine Proteinurie (Kashtan und Segal 2011). Die Proteintagesausscheidung wurde in g/Tag erfasst. Für die Stadieneinteilung wurden nur Angaben zur Tagesausscheidung in g/Tag oder Proteinurie in g/g Kreatinin berücksichtigt. Eine Studie aus dem Jahr 2010 zeigte, dass der Parameter Proteinurie in g/g Kreatinin gut vergleichbare Informationen zur Gesamtproteintagesausscheidung liefern kann (Methven et al. 2010).

Die Albuminurie wurde als gesonderter Parameter in g/24h oder g/g Kreatinin erfasst. Auch hier wurden in g/mol Kreatinin erhobene Werte mit Hilfe des Labortwertrechners der Firma Labor Limbach, Heidelberg, in Werte in g/g Kreatinin umgewandelt.

2.4.4 Krankheitsstadium

Eine Stadieneinteilung wurde zur leichteren Einschätzung des Krankheitszustandes der Patienten, zur besseren Beurteilung des Krankheitsprogresses und zur Vergleichbarkeit der Patienten untereinander vorgenommen (Kruegel et al. 2013). Es erfolgte eine modifizierte Stadieneinteilung mittels Proteinurie an Stelle der Albuminurie aufgrund der hier höheren Datendichte. Hervorzuheben ist, dass in frühen Stadien primär ein Organschaden zu beobachten ist, spätere Stadien werden jedoch durch die organische Funktionseinschränkung charakterisiert. Die Stadieneinteilung erfolgte auf folgender Basis:

Tabelle 5: Abgeänderte Stadieneinteilung (modifiziert nach Kruegel et al. (2012))

Stadium	Definierende Kriterien	Organschaden vs. Funktionsverlust
0	Hämaturie, Normalbuminurie	Organschaden
1	30 – 300 mg Proteinurie/Tag	
2	> 300 mg Proteinurie/Tag	
2.1	< 3,5 g Proteinurie/Tag	
2.2	> 3,5 g Proteinurie/Tag	
2.3	Kreatinin-Clearance 60 – 80 ml/min	
3	Kreatinin-Clearance < 60 ml/min	Organschaden mit Funktionsverlust
3.1	30 – 60 ml/min	
3.2	< 30 ml/min	
4	End Stage Renal Disease, Dialyse	

Ein aktuelles Krankheitsstadium konnte aufgrund der Datenlage nicht immer jedem Beobachtungspunkt zugeordnet werden. Zur Beurteilung der Proteinurie wurde bei nicht vorhandener Tagesausscheidung auch die Proteinurie in g/g Kreatinin als nominal gleichwertig erachtet (Methven et al. 2010). Oftmals konnte eine Stadieneinteilung nur auf Basis der Proteinurie-Tagesausscheidung bzw. Proteinurie in g/g Kreatinin vorgenommen werden. Dabei wurde die Kreatinin-Clearance, wenn nicht anders angegeben, als normwertig betrachtet. Dies kann eine zu milde abgebildete Stadieneinteilung in dieser Studie bedingen.

2.4.5 Therapie

Es existieren bereits zahlreiche Studien am Tiermodell, einige kleinere prospektive Studien am Menschen und mehrere retrospektive Studien mit Alport-Patienten, die einen protektiven Effekt einer RAAS-Blockade bezüglich des Gesamtüberlebens, der Zeit bis zum Eintritt der Dialysepflichtigkeit und des Überlebens unter Dialyse vermuten lassen (Gross et al. 2003b; 2012a; 2020; Proesmans und Van Dyck 2004; Stock et al. 2017; Temme et al. 2012a).

Daten bezüglich des Zeitpunkts des Beginns der RAAS-Inhibition wurden ebenfalls dem Alport-Register entnommen. Von besonderem Interesse war die Information, in welchem Krankheitsstadium sich der Patient bei Therapiebeginn befand. Hiernach erfolgte eine

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Von insgesamt 105 gescreenten Patienten wurden 90 Individuen mit bioptischer oder genetischer Diagnose mit X-chromosomal hemizygoten oder autosomal-rezessiv homozygoten/ compound heterozygoten Status und klinischem Vollbild des Alport-Syndroms in diese Verlaufsbeobachtungsstudie aufgenommen. Bei den verbliebenen 15 Patienten wurde das Vorliegen eines milden Krankheitsbildes festgestellt, somit wurden Ausschlusskriterien erfüllt. Die in die Studie aufgenommenen Patienten teilen sich in 78 männliche und 12 weibliche Individuen auf. Bei 65 Studienteilnehmern konnte eine genetische Zuordnung vorgenommen werden. Hiervon wiederum wurden 46 Patienten dem X-chromosomalen Erbgang zugeordnet und 19 Patienten dem autosomal rezessiven. Die Beurteilung des genetischen Hintergrunds wurde als bereits vorhandene Information dem Alport-Register entnommen. Bei Beginn des dokumentierten Beobachtungszeitraums war der jüngste, aufgenommene Patient ein Vierteljahr alt, der älteste Patient bei Beginn der Aufzeichnung hatte ein Alter von ca. 59,5 Jahren. Das mittlere Alter der Patienten bei Beginn der Verlaufsbeobachtung lag bei ca. 16,78 Jahren (Standartabweichung 12,43 Jahre; Range 59,25). Das durchschnittliche Alter bei Ende des Datenerfassungszeitraumes lag bei 21,39 Jahren (Standartabweichung 12,77 Jahre; Range 61,25 Jahre). Somit ergibt sich ein mittlerer Beobachtungszeitraum von ca. 4,9 Patientenjahren pro Studienteilnehmer beziehungsweise ein Gesamtbeobachtungszeitraum von 343 Patientenjahren. Der Beobachtungszeitraum ist definiert durch den ersten bis zum letzten dokumentierten Visitenzeitpunkt. Auf den zuvor genannten Zeitraum bezogen kommt eine gemittelte Zahl von ca. 5,88 Visiten (= Datenerhebungspunkte) pro Patienten. Nachfolgend exemplarisch dargestellt ist die Datenauftragung für Patient D086. Hierbei handelt es sich um einen männlichen Patienten mit X-chromosomaler Vererbung und bekannter Schwerhörigkeit.

3 Ergebnisse

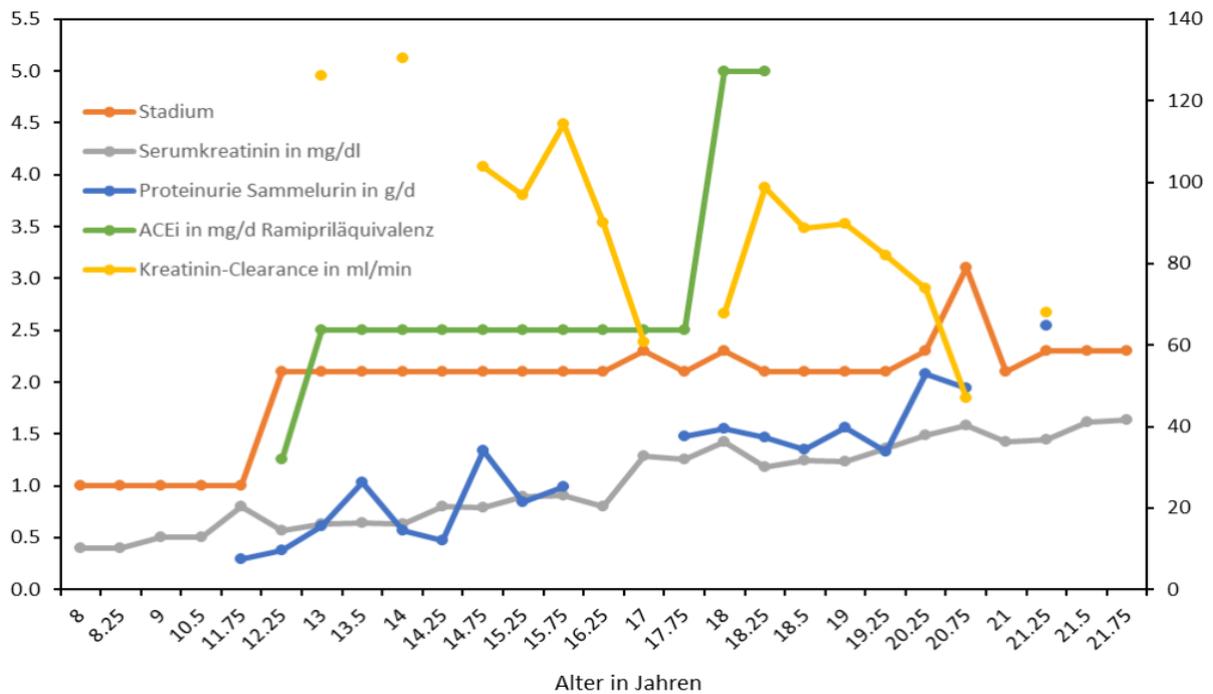


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Krankheitsverlaufs von Patient D086 anhand Laborparametern, Stadieneinteilung und Therapie

3.2 Ausschluss erhobener Patientendaten bei Lebensalter größer 40 Jahre

Aufgrund des Genotyp-Phänotypzusammenhangs und dem Vorkommen sogenannter „milder Mutationen“ wurden Patientendaten bei einem Alter größer 40 Jahre aus der statistischen Analyse ausgeschlossen. Dies erfolgte, um eine mögliche Verzerrung durch eine überproportionale Abbildung von Datenpunkten von Patienten mit günstigem Genotyp zu verhindern. Es wurde hierbei angenommen, dass bei Patienten, älter als 40 Jahre und nicht bestehender Dialysepflichtigkeit, ein solch günstiger Genotyp vorliegen muss (Demosthenous et al. 2012; Pierides et al. 2013; Żurowska et al. 2020). Insgesamt wurden somit Parameter von fünf verschiedenen Individuen, entsprechend total 52 Datenpunkten (=Visiten), ausgeschlossen. Daten dieser Patienten werden in den nachfolgenden Grafiken dargestellt, wurden jedoch von der Modellation der Regressionsgraden ausgenommen.

3.3 Krankheitsstadien zu Beginn und Ende des Beobachtungszeitraums

Tabelle 6: Stadienverteilung bei Beginn und Ende der Verlaufsbeobachtung

Stadium	Individuen zu Beginn des Beobachtungszeitraums	Individuen zu Ende des Beobachtungszeitraums	Stadienprogress
gesamt	63	63	
0	0	0	
1	16	10	11
2	38	37	10 major, 3 minor
2.1	30	28	
2.2	5	7	
2.3	3	2	
3	9	15	0 major, 2 minor
3.1	6	10	
3.2	3	5	
4	0	1	
major= Stadienwechsel			
minor= Substadienwechsel			

Eine Bewertung des Krankheitsstadiums erfolgte nach der modifizierten Einteilung publiziert von Kruegel et al. (2013). Die nähere Charakterisierung erfolgte anhand von Informationen zu Proteinurie und Kreatinin-Clearance. Nicht immer konnte jedem Beobachtungspunkt ein Stadium zugeteilt werden, da Parameter oftmals nur lückenhaft nachvollzogen werden konnten. Die Stadieneinteilung erfolgte dieser Arbeit leicht abgeändert. Nicht die Albuminurie, sondern die Proteinurie wurde als Stadium-definierender Wert genutzt. Informationen zu Proteinurie waren häufiger verfügbar als zu Albuminurie. Zudem erfolgte die Bildung von Sub-Stadien, um Unterschiede im Krankheitsprogress näher herausarbeiten zu können. Patienten, deren Daten nur zu einem Beobachtungspunkt erhoben wurden oder bei denen zu Beginn

3 Ergebnisse

oder Ende des Beobachtungszeitraums keine Stadieneinteilung erzielt werden konnte, wurden in Tabelle 6 nicht berücksichtigt. Die Information bezüglich eines Stadienprogresses im Beobachtungszeitraum bezieht sich auf das jeweilige Krankheitsstadium bei Beginn und Ende des Beobachtungszeitraums. Stadienprogress innerhalb der Verlaufsbeobachtung oder gar Stadienregresse wurden nicht dargestellt. In 63 von 90 Patienten konnte ein Stadium zu Beginn und Ende der Aufzeichnung erfasst werden. Patienten mit Mikrohämaturie im Stadium 0 ließen sich in diesem Kollektiv nicht identifizieren. Ebenso gehörten keine Patienten mit Stadium IV (zu Beginn der Aufzeichnung) dem Kollektiv an, da dies als Ausschlusskriterium dieser Untersuchung definiert wurde. Patienten im Krankheitsstadium 2 stellten die Majorität dar, gefolgt von der Gruppe im Stadium 1. Somit sind Patienten in frühen und mittleren Stadien mehrheitlich vertreten. Zum Ende der Beobachtungspunkte zeigten sich annähernd genauso viele Patienten in Stadium 2 wie zu Beginn. Allerdings wurde eine leicht geminderte Patientenzahl in Stadium 1 gesehen und eine leicht angestiegene Zahl in Stadium 3. 11 Patienten in Stadium 1 zu Beginn der Aufzeichnung zeigten einen Stadienprogress. 10 Patienten aus Stadium 2 zeigten einen Krankheitsfortschritt zu Stadium 3, 3 weitere dieser Gruppe zeigten einen Subgruppenprogress innerhalb von Stadium 2. Patienten mit Anfangsstadium 3 zeigten einen scheinbar stabilen Verlauf, lediglich 2 Patienten zeigten einen Subgruppenprogress. Hierbei gilt jedoch zu beachten, dass Patientendaten im Stadium 4 nicht zu Abbildung kamen, somit die Datenaufzeichnung ab eingetretener terminaler Niereninsuffizienz nicht nachvollzogen wurden. Auf Stadienregresse wurde nicht weiter eingegangen, deswegen scheint die tabellarische Darstellung bei erster Betrachtung fehlerhaft.

3 Ergebnisse

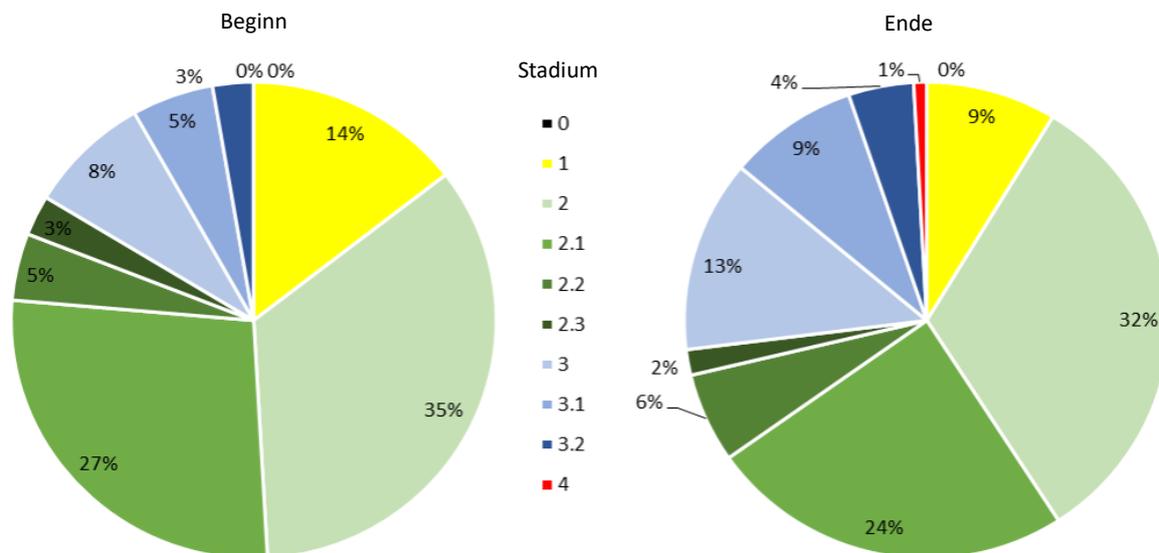


Abbildung 5: Stadienverteilung bei Beginn und Ende der Verlaufsbeobachtung

3.4 Einflussfaktor Krankheitsstadium bei Therapiebeginn

Ein frühzeitiger Therapiebeginn mittels Substanzen, welche inhibitorisch auf das RAAS-System wirken, hat maßgeblichen Einfluss auf den Krankheitsverlauf. Je früher der Start einer solchen Therapie, desto größer erscheint der Benefit im Sinne eines Hinauszögerns bis zum Erreichen einer terminalen Niereninsuffizienz und Dialysepflichtigkeit (Gross et al. 2012a; 2003; Uchida et al. 2016). Auch in dieser Arbeit wurde die Entwicklung der nachfolgend beschriebenen Parameter zur Beurteilung von Nierenfunktion und Nierenschädigung in Subgruppen in Abhängigkeit des Therapiebeginns dargestellt. Relevant hierbei war das aktuelle Krankheitsstadium bei Therapiebeginn. Von den 90 eingeschlossenen Patienten konnte bei 9 Patienten (10 %) aufgrund einer fehlenden Datenlage keine Aussage zwecks Vorhandenseins einer RAAS-Blockade bzw. Zeitpunkt und Stadium des Therapiebeginns getroffen werden. 10 Patienten (ca. 11 %) wurden im abgebildeten Zeitraum nicht therapiert. Bereits ab Krankheitsstadium 1 wurden ca. 15 % der Patienten behandelt. Die große Mehrheit der Patienten (48= ca. 53 %) wurde ab dem Krankheitsstadium 2 therapiert. Bei 10 % der Patienten wurde erst im fortgeschrittenen Stadium 3 eine Therapie initiiert. Insgesamt wurden die Patienten im Mittel ab einem Alter von 14,77 Jahren behandelt. 17 von 90 Patienten wurden dual RAAS-blockiert.

3 Ergebnisse

Tabelle 7: Deskriptive Statistiken für kategorielle Parameter stratifiziert nach RAAS-Klassifikation.

	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Blockade										Gesamt	
	Unbekannt		RAAS 1		RAAS 2		RAAS 3		keine Therapie			Alle
	N (%)		N (%)		N (%)		N (%)		N (%)			
Gesamt	9	(100,0)	14	(100,0)	48	(100,0)	9	(100,0)	10	(100,0)	90	
Männlich	7	(77,8)	14	(100,0)	40	(83,3)	7	(77,8)	10	(100,0)	78	
X-chromosomal												
Unbekannt	5	(55,6)	3	(21,4)	9	(18,8)	2	(22,2)	1	(10,0)	20	
0	2	(22,2)	.	.	15	(31,3)	1	(11,1)	1	(10,0)	19	
1	2	(22,2)	11	(78,6)	24	(50,0)	6	(66,7)	8	(80,0)	51	
Autosomal												
unbekannt	5	(55,6)	3	(21,4)	9	(18,8)	2	(22,2)	1	(10,0)	20	
0	2	(22,2)	11	(78,6)	24	(50,0)	6	(66,7)	8	(80,0)	51	
1	2	(22,2)	.	.	15	(31,3)	1	(11,1)	1	(10,0)	19	
Stadium												
unbekannt	1	(11,1)	4	(28,6)	9	(18,8)	.	.	2	(20,0)	16	
S1	1	(11,1)	6	(42,9)	6	(12,5)	.	.	5	(50,0)	18	
S2.1	4	(44,4)	2	(14,3)	24	(50,0)	1	(11,1)	2	(20,0)	33	
S2.2	4	(8,3)	2	(22,2)	1	(10,0)	7	
S2.3	2	(22,2)	1	(7,1)	2	(4,2)	1	(11,1)	.	.	6	
S3.1	1	(11,1)	1	(7,1)	2	(4,2)	3	(33,3)	.	.	7	
S3.2	1	(2,1)	2	(22,2)	.	.	3	

3 Ergebnisse

Tabelle 8: Deskriptive Statistiken für kontinuierliche Parameter stratifiziert nach RAAS-Klassifikation (MW=Mittelwert; STW=Standardabweichung; NMiss=Anzahl fehlender Werte; ACEi= Angiotensin Converting Enzyme inhibitor; ARB= Angiotensin Rezeptor Blocker).

	RAAS										Gesamt						
	Unbekannt		RAAS 1		RAAS 2		RAAS 3		keine Therapie		Alle						
	MW	STW	MW	STW	MW	STW	MW	STW	MW	STW	N	NMiss	MW	STW	Min	Median	Max
RAAS-Blockade Therapie ab Alter in Jahren	12,9	16,2	8,1	6,9	15,1	7,8	26,0	13,6	8,3	.	74	16	14,8	9,9	1,5	13,4	48,0
Alter in Jahren	28,7	20,5	9,7	7,9	16,5	9,8	26,6	12,7	8,6	5,1	90	0	16,8	12,4	0,3	14,4	59,5
Zeit Therapie	-0,1	0,8	1,6	3,3	1,3	4,1	0,7	2,4	0,0	.	74	16	1,2	3,7	-5,5	0,0	15,3
Serumkreatinin in mg/dl	1,1	0,5	0,6	0,3	0,8	0,4	2,0	0,8	0,5	0,3	83	7	0,9	0,6	0,2	0,8	3,6
Kreatinin-Clearance in ml/min	96,1	44,8	135,4	56,0	128,3	61,6	41,3	17,5	127,5	12,0	51	39	113,5	60,3	25,0	108,0	247,0
Proteinurie in g/l	1,7	2,1	0,3	0,2	2,0	2,0	7,8	16,1	0,2	0,2	46	44	2,5	6,5	0,0	1,0	44,2
Proteinurie Sammelurin in g/d	3,0	2,2	0,2	0,1	2,6	2,9	6,0	5,2	1,7	2,1	45	45	2,7	3,3	0,1	1,8	13,0
Proteinurie in g/g Kreatinin	1,9	2,6	0,4	0,5	1,6	1,1	4,6	4,8	0,4	.	25	65	1,9	2,5	0,1	1,0	11,6
Albuminurie in g/l	1,1	1,3	0,2	0,2	1,5	1,8	5,4	9,3	0,2	0,4	35	55	1,5	3,4	0,0	0,6	19,4
Albuminurie in g/g Kreatinin	1,6	2,3	0,3	0,3	1,6	1,3	1,8	1,1	0,1	0,2	30	60	1,1	1,3	0,0	0,5	4,9
Albuminurie Sammelurin g/d	1,6	0,9	.	.	4,1	0,7	4	86	2,9	1,5	1,0	2,9	4,5
ACEi in mg/d Ramipriläquivalenz	6,6	4,3	3,4	2,0	5,2	2,8	4,4	1,3	1,3	.	42	48	4,8	2,8	1,3	5,0	10,0
ARB in mg/d in Losartanäquivalenz	22,5	3,5	50,0	.	72,2	50,1	9	81	58,7	45,2	10,0	50,0	160,0
Ratio Albuminurie in g/l /Proteinurie g/l	0,6	0,2	0,5	0,4	0,7	0,2	0,7	0,1	0,1	.	17	73	0,6	0,3	0,1	0,7	0,9

3.5 Regressionsmodelle für Laborparameter

3.5.1 Nierenfunktionsparameter

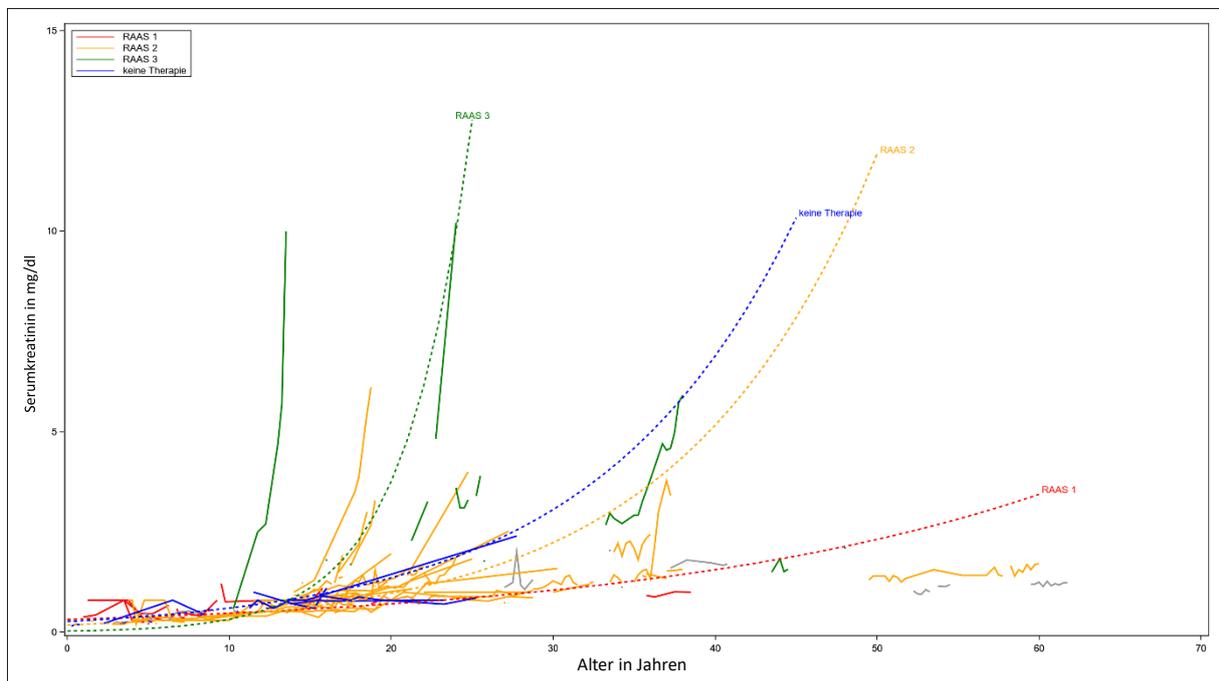


Abbildung 6: Serumkreatinin (mg/dl) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation. Regression basiert auf 384/474 (=81 %) der Beobachtungen.

Informationen zum Serumkreatininwert konnten in 81 % aller Beobachtungspunkte erhoben werden. Dies ist der am häufigsten dargestellte Parameter. Das gesamte Patientenkollektiv zeigte zunehmende Werte über die Zeit. Auch alle Subgruppen zeigten anhand der Regressionskurven einen Anstieg des Serumkreatinins mit fortschreitendem Alter. Dabei konnte in der Subgruppe mit frühzeitigem Therapiebeginn (RAAS 1) ein geringerer Anstieg dieses Nierenfunktionsparameters nachvollzogen werden. Patienten mit Therapiebeginn ab Stadium 2 (RAAS 2) der Erkrankung zeigten einen steileren Anstieg der Regressionskurve und somit früher höhere Serumkreatininwerte. Spät therapierte Patienten (RAAS 3) verzeichneten den stärksten Anstieg des Serumkreatinins im zeitlichen Verlauf. Die Serumkreatininwerte von nicht-therapierten Patienten zeigten eine Dynamik zwischen den Subgruppen RAAS 2 und 3.

3 Ergebnisse

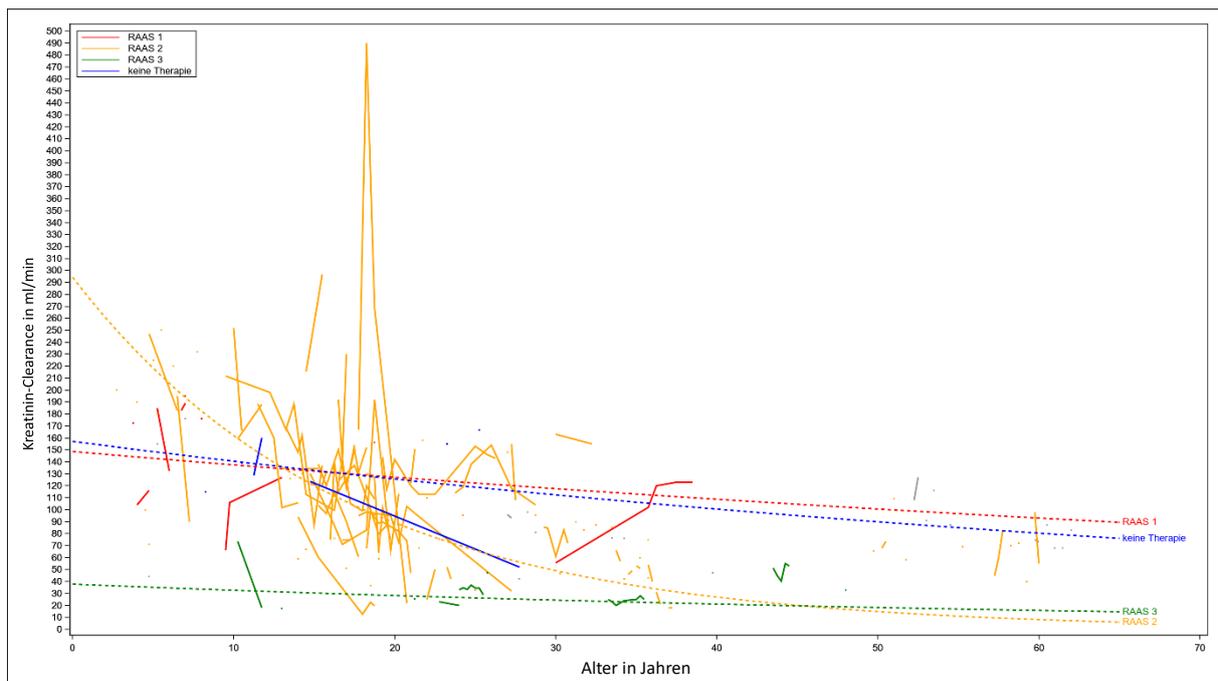


Abbildung 7: Kreatinin-Clearance (ml/min) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation. Regression basiert auf 227/474 (=48 %) der Beobachtungen.

In ca. der Hälfte aller Beobachtungspunkte erfolgte die Bestimmung einer Kreatinin-Clearance. Über alle Subgruppen hinweg zeigte sich ein Abfall der Kreatinin-Clearance über die Zeit. Patienten der Subgruppe RAAS 1 zeigten einen leichtgradigen, tendenziell jedoch deutlicheren Abfall der renalen Filtrationsleistung gegenüber dem physiologischen Leistungsverlust im Alter. Patienten mit späterem Behandlungsbeginn (RAAS2) zeigten den insgesamt am stärksten ausgeprägten Verlust an Filtrationsleistung über die Zeit, hier jedoch am ehesten auch bei stark überschätzter Clearance zu Beginn der Auftragung. Dies mag bedeutend auch Patient D002 geschuldet sein, dessen Clearance zu einem Beobachtungspunkt mit 490ml/min aufgetragen wurde. Patienten der Gruppe RAAS3 zeigten eine nur geringgradige Minderung der Clearance im zeitlichen Verlauf, bei jedoch schon deutlich geminderten Ausgangswerten. In der Gruppe der nicht therapierten Patienten konnte ein stärkerer Abfall der Kreatinin-Clearance über die Zeit als in der Gruppe 1 beschrieben werden.

3 Ergebnisse

3.5.2 Nierenschädigungsparameter

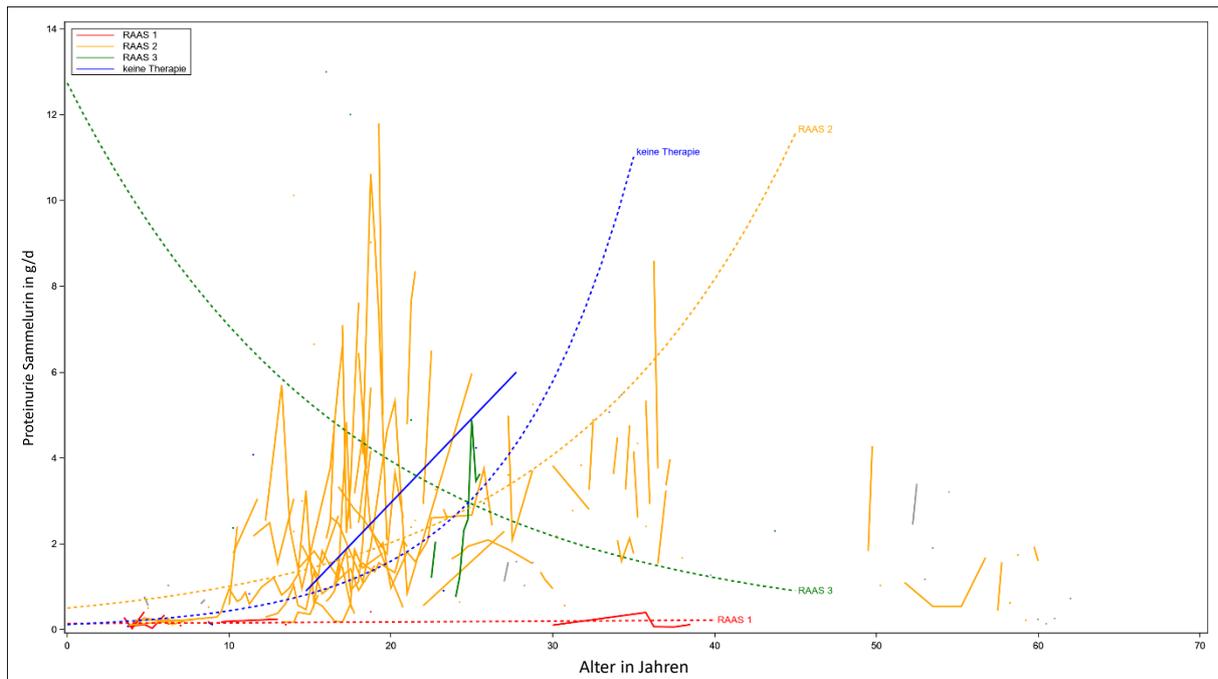


Abbildung 8: Proteinurie Sammelurin (g/d) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation. Regression basiert auf 254/474 (=54 %) der Beobachtungen.

Daten zur Proteinausscheidung im 24h Sammelurin waren die, nach den Serumkreatininwerten, am zweithäufigsten verfügbaren Parameter. In 54 % aller Messpunkte lagen diesbezüglich Informationen vor. Die geringste Proteinausscheidung als auch der moderateste Anstieg war in Gruppe RAAS 1 zu verzeichnen. Der deutlichste Anstieg über den abgebildeten Zeitraum war in der Gruppe ohne Therapie zu beobachten, gefolgt von der Gruppe RAAS2. Gruppe RAAS 3 zeigte eine inverse Dynamik.

3 Ergebnisse

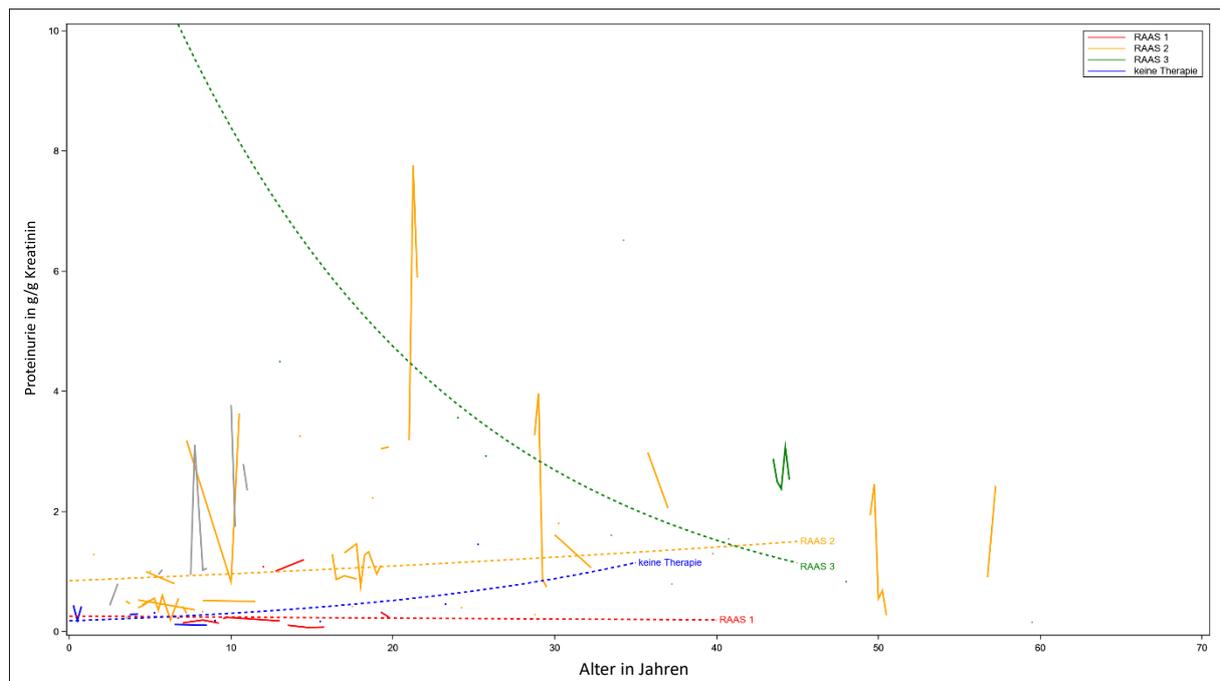


Abbildung 9: Proteinurie (g/g Kreatinin) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation. Regression basiert auf 87/474 (=18 %) der Beobachtungen.

Daten zur Proteinausscheidung bezogen auf die Kreatininausscheidung konnten in 18 % der Beobachtungspunkte erhoben werden. Insgesamt zeigten sich hier ähnliche Tendenzen im Vergleich zur vorherigen Abbildung, jedoch imponiert der Anstieg der Proteinurie über die Zeit geringer. Die Kurve von RAAS 1 zeigt einen stabilen Verlauf auf niedrigem Niveau, hier sogar mit geringgradig abfallender Tendenz. Die Kurven der Gruppen RAAS2 und RAAS 3 verlaufen weniger steil, mit angedeutetem stärkerem Anstieg von RAAS 3 gegenüber RAAS 2. Beide sind auch hier von der Gruppe RAAS 1 abzugrenzen. Auch in dieser Abbildung kann ein inverser Verlauf der Kurve von Gruppe RAAS 3 nachvollzogen werden.

3 Ergebnisse

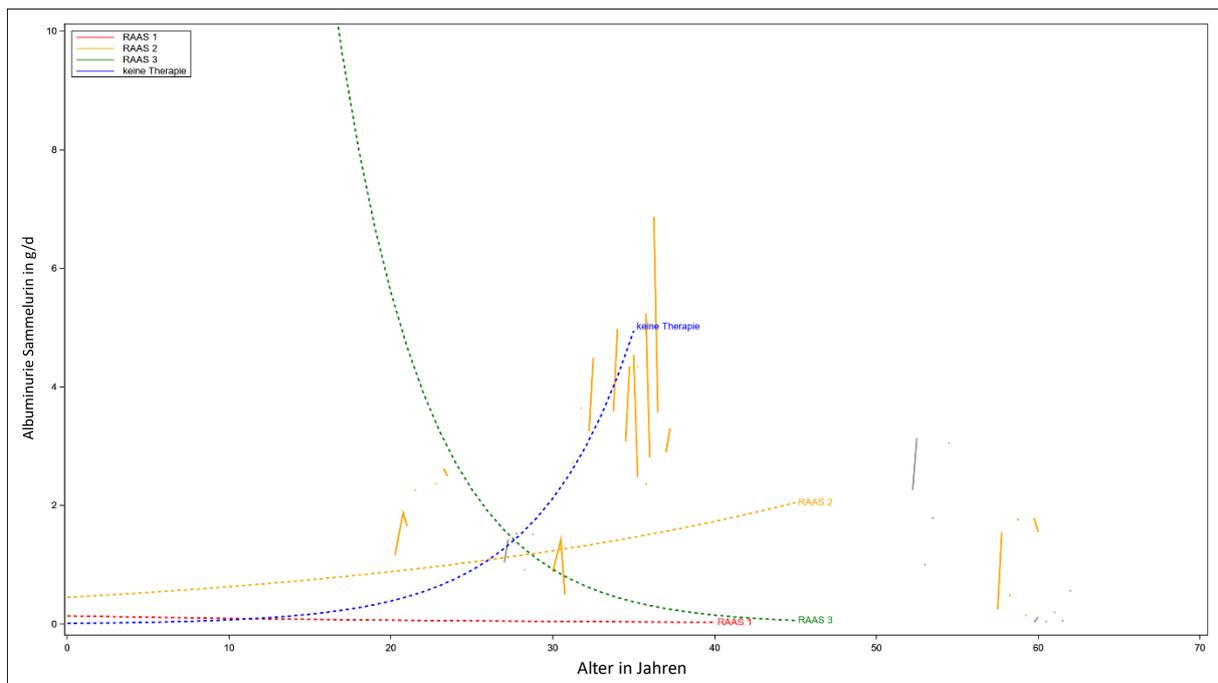


Abbildung 10: Albuminurie Sammelurin (g/d) im Zeitverlauf stratifiziert nach RAAS Klassifikation. Regression basiert auf 78/474 (=16 %) der Beobachtungen.

In geringem Maße konnten Daten zur Albuminurie gewonnen werden. Diese Daten gehen ebenso mit den vorherigen Daten bezüglich der Proteinurie konform. Individuen der Subgruppe RAAS1 zeigten sowohl eine niedrigere Albuminausscheidung als auch einen stabileren Verlauf im zeitlichen Kontext. Bei Patienten mit Therapiebeginn im Krankheitsstadium 2 wurden im Vergleich sowohl höhere Werte für die Albuminausscheidung als auch ein deutlicherer Anstieg der Regressionskurve beobachtet. Bezüglich der Albuminurie zeigten nicht therapierte Patienten den ausgeprägtesten Anstieg der Albuminurie. Wie in den Regressionsmodellen zuvor zeigten Patienten der Gruppe 3 wieder einen inversen Verlauf.

4 Diskussion

4.1 Einleitung

Beim Alport-Syndrom handelt es sich um eine hereditäre Kollagen Typ IV Erkrankung. Entsprechende Erbanlagen können sowohl X-chromosomal als auch autosomal weitergegeben werden. In der Mehrzahl der Fälle bilden männliche Individuen das Vollbild dieser Erkrankung aus (Kashtan 2000). Aufgrund des Vorkommens von Kollagen Typ IV können sich Pathologien im Bereich der Nieren, der Augen und Ohren manifestieren (Hudson et al. 2003). Besondere Relevanz hinsichtlich Morbidität und Mortalität besitzen die pathologischen Veränderungen an der glomerulären Basalmembran. Unbehandelt führt die Erkrankung im Mittel zu einer terminalen Niereninsuffizienz und Dialysepflicht im Alter von 25 – 30 Jahren. Retrospektive Daten zeigen die Möglichkeit, den Krankheitsprogress mittels Blockade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-System deutlich zu verzögern (Gross et al. 2012a). Daten einer jüngst publizierten multizentrischen, randomisierten und Placebo-kontrollierten Kinder-Studie mit Ramipril weisen ebenso auf diesen nephroprotektiven Effekt hin (Gross et al. 2020).

Die hier dargestellte Verlaufsbeobachtungsstudie auf Basis des Europäischen Alport Registers umfasst Angaben zu Alter, Geschlecht, Therapiebeginn, Genetik und Laborparametern von 90 verschiedenen Individuen mit der Diagnose eines X-chromosomalen hemizygoten oder autosomal homozygoten/ compound heterozygoten Alport-Syndroms. Die Entwicklung von Nierenfunktion und Nierenschädigung bei Patienten mit Alport-Syndrom unter nephroprotektiver Therapie anhand labordiagnostischer Parameter soll mittels dieser Beobachtungsstudie dargestellt werden. Der Fokus dieser Untersuchung liegt auf einer deskriptiven Darstellung.

In diese Beobachtungsstudie flossen sowohl retrospektive als auch prospektive Daten. Die Primärdaten wurden deutschlandweit multizentrisch erhoben. Ein breites Spektrum von Patienten unterschiedlichen Alters, Geschlechtes und Krankheitsstadien konnten eingeschlossen werden. Insgesamt wurde ein Datenpool von ca. 343 Patientenjahren im Beobachtungszeitraum abgebildet. Somit ist diese Studie eine der umfangreichsten Verlaufsbeobachtungsstudien beim Alport-Syndrom weltweit.

Um den Benefit einer frühzeitig begonnenen Therapie darzustellen, erfolgte eine Einteilung der Patientenkohorte entsprechend des Krankheitsstadiums, ab dem eine medikamentöse Behandlung im Sinne einer RAAS-Blockade begonnen wurde. Patienten der Gruppe RAAS1

4 Diskussion

wurden demzufolge bereits ab Krankheitsstadium 1 behandelt, Individuen der Gruppe RAAS 2 ab Stadium 2 und somit Angehörige der Gruppe RAAS 3 ab Krankheitsstadium 3. Des Weiteren wurde eine Gruppe von untherapierten Patienten dargestellt.

4.2 Entwicklung von Nierenfunktion und Nierenschädigung

4.2.1 Entwicklung der Nierenfunktion in Abhängigkeit von Alter und Therapiebeginn

Das Alport-Syndrom stellt eine chronisch progressive Nierenerkrankung dar, bei der Betroffene ohne Therapie in der frühen Adoleszenz terminal niereninsuffizient und dialysepflichtig werden (Gross et al. 2012a; Jais et al. 2000). Demzufolge ist eine deutliche Reduktion der Filtrationsleistung größer der altersbedingten physiologischen Funktionsminderung zu erwarten. Die renale Leistungsfähigkeit wurde in dieser Arbeit anhand des Serumkreatininwertes und der Kreatinin-Clearance beurteilt. Der Serumkreatininwert konnte am häufigsten erhoben werden und stellt den konsistentesten Parameter dar. Unter Berücksichtigung der eingeschränkten Aussagekraft dieses Wertes (Stevens et al. 2006) konnte ein Anstieg dieses Parameters in allen Subgruppen über die Zeit nachvollzogen werden.

Entsprechend der Hypothese, dass, je frühzeitiger eine RAAS-Blockade erfolgt, desto größer sei der therapeutische Benefit, wurden niedrigere absolute Serumkreatininwerte in der Subgruppe RAAS 1 erwartet (Stock et al 2017; Gross et al. 2020). Ebenso wurde postuliert, dass der Anstieg des Serumkreatinins über den zeitlichen Verlauf hinweg geringer ausfällt als in anderen Subgruppen. Dies konnte anhand der erhobenen Daten bestätigt werden. Über alle Gruppen hinweg konnten deutlich erhöhte Werte für Serumkreatinin im Vergleich zu Referenzwerten einer gesunden Population beobachtet werden (Finney et al. 2000)

Die meisten Datenpunkte konnten von Patienten der Subgruppe RAAS 2 erhoben werden. Die Subgruppen RAAS 2 und die Gruppe der nicht therapierten Patienten zeigten deutlich höhere absolute Serumkreatininwerte als auch einen deutlich größeren Anstieg über den aufgetragenen Zeitraum. Spät therapierte Patienten der Gruppe RAAS 3 zeigten sowohl die höchsten absoluten Werte als auch den steilsten Anstieg. Anhand der abgebildeten Datenpunkte kann davon ausgegangen werden, dass einzelne Individuen dieser Gruppe gegen Ende ihres Abbildungszeitraum das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz erreichten und dialysepflichtig wurden. Entsprechend der Hypothese wäre zu erwarten, dass untherapierte Patienten einen steileren Anstieg des Serumkreatinins aufgezeigt hätten als spättherapierte.

4 Diskussion

Dies konnte anhand der Datenlage jedoch nicht nachvollzogen werden und ist mutmaßlich dem jeweils geringen Datenpool dieser Subgruppen zu schulden.

Ähnliche Daten wurden bezüglich der Entwicklung der Kreatinin-Clearance erhoben. Die Gruppe der frühtherapierten Patienten (RAAS 1) zeigt den geringsten Abfall der GFR über die Zeit. Hier konnte selbst im fortgeschrittenen Alter (>50 Jahre) noch eine normale Nierenfunktion, gemessen an der Kreatinin-Clearance beschrieben werden. Patienten mit späterem Therapiebeginn (RAAS 2) zeigten den steilsten Abfall der Kreatinin-Clearance über die Zeit, in der Auftragsung jedoch von unphysiologisch hohen Werten beginnend. Mutmaßlich ist hier von Messfehlern bei der Bestimmung der Kreatinin-Clearance auszugehen. Patienten der Gruppe RAAS 2 zeigten im Mittel ab der Adoleszenz einen zunehmenden Verlust an renaler Filtrationsleistung. Entsprechend der Entwicklung der Regressionsgraden der Gruppe RAAS 2 würde ab einem Alter zwischen 50 und 60 Jahren das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz ($GFR < 15 \text{ ml/min}$) erreicht werden.

Individuen der Gruppe RAAS 3 wiesen im Mittel die geringsten Werte der Kreatinin-Clearance auf. Entgegen der Erwartung konnte hier nicht der steilste Abfall der GFR nachvollzogen werden. In der Auftragsung startete die Regressionsgrade der Gruppe RAAS 3 schon bei Geburt mit unphysiologisch niedrigen Werten, somit konnte ein stabilerer Verlauf über die Zeit, vor allem im Vergleich zu Gruppe RAAS 2 beschrieben werden. Mutmaßlich ist der Kurvenverlauf durch zu wenig vorhandene Datenpunkte im Kindesalter zu begründen. Somit ergibt sich eine flach abfallende Kurve. Untherapierte Patienten zeigten einen vergleichbaren Verlauf mit denen der Gruppe RAAS 1, jedoch mit leichtgradig schnellerer sinkenden GFR über die Zeit. Auch hier ist zu mutmaßen, dass dies durch ein statistisches Bias aufgrund ungenügender Daten zurückzuführen ist. Möglicherweise gilt zu diskutieren, ob in die Gruppe der untherapierten Patienten, tendenziell Patienten mit einem günstigen Genotyp fallen, bei denen zum Zeitpunkt der Datenaufzeichnung noch keine Therapieindikation gesehen wurde (Demosthenous et al. 2012; Żurowska et al. 2020).

Finney et al. (1999) postulierten, ausgehend von einer Basis-GFR von ca. 140 ml/min bei gesunden Jugendlichen und jungen Erwachsenen, einen GFR-Verlust von ca. $8 \text{ ml/min/Lebensdekade}$. In dieser Arbeit konnte aufgezeigt werden, dass das gesamte Patientenkollektiv mit fortschreitendem Lebensalter einen Nierenfunktionsverlust aufzeigt. Dieser Funktionsverlust liegt mutmaßlich weit oberhalb der Norm eines gesunden

Vergleichskollektiv. Alle Subgruppen zeigten einen Anstieg des Kreatinins als auch einen Abfall der Kreatinin-Clearance. Frühtherapierte Patienten zeigten jeweils die geringsten, spättherapierten Patienten jeweils die stärkste Einschränkung der Filtrationsleistung.

4.2.2 Entwicklung der Nierenschädigung in Abhängigkeit von Alter und Therapiebeginn

Durch die Schädigung der glomerulären Basalmembran kommt es zu einer unphysiologischen Filtration von Proteinen. Mit fortschreitender Erkrankung ist von einer Zunahme der Proteinurie auszugehen. Während Serumkreatinin und Kreatinin-Clearance mit der Nierenfunktion korrelieren, sind Proteinurie und Albuminurie mit dem Ausmaß des Barriere-Schadens gleichzusetzen. Die Messung der Proteinausscheidung im 24h-Sammelurin ist die beste Methode zur Quantifizierung des renalen Eiweißverlustes. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass es einen Zusammenhang zwischen Höhe und Anstieg der Proteinurie und des Krankheitsstadiums bei Therapiebeginn gibt. Frühtherapierte Patienten (RAAS 1) zeigten den insgesamt geringsten Eiweißverlust als auch einen kaum ansteigenden Verlauf über die Zeit. Später therapierte Patienten zeigten deutlich höhere absolute Werte entsprechend des jeweiligen Alters als auch einen deutlich steileren Anstieg der Zunahme der Proteinurie. In dieser Gruppe (RAAS 2) konnte in der späten Adoleszenz im Mittel Eiweißausscheidungen von mehr als 1 g/d dokumentiert werden. Die Gruppe der untherapierten Patienten zeigte in dieser Auftrugung einen zu Beginn, im Vergleich zu Gruppe RAAS 2 leicht verzögerten, insgesamt jedoch stärksten ansteigenden Proteinverlust pro Tag. Spättherapierte Patienten zeigten einen inversen Verlauf mit einem Abfall der Proteinurie. Dies korreliert nicht mit dem zuvor beschriebenen Funktionsverlust gemäß der Entwicklung von Serumkreatinin und Kreatinin-Clearance. Hier muss am ehesten von einer statistischen Verzerrung bei schlechter Datenqualität ausgegangen werden. Weitere erhobene Daten wie Proteinurie in g / g Kreatinin können ebenso als alternativer Parameter eingesetzt werden. Information zur Albuminurie in g je 24h und Albuminurie in g / g Kreatinin waren in deutlich geringerem Umfang zu erheben, deshalb statistisch teils nicht auswertbar, zeigen tendenziell jedoch ähnliche Ergebnisse auf. Somit kann zumindest von einer protektiven Auswirkung des Therapiebeginns vor allem in frühen, aber auch in späteren Stadien ausgegangen werden. Nicht therapierte Patienten zeigten hierbei die größten Zunahmen an Proteinurie über die Zeit. Spättherapierte Patienten zeigten eine, zumindest klinisch nicht erklärbare Abnahme der Proteinurie mit zunehmenden Alter. Hier liegt am ehesten eine statistische Bias vor.

4.3 Schwächen und Limitationen dieser Verlaufsbeobachtungsstudie

Die hier dargestellte Datensammlung weist eine Reihe von Schwächen und Limitationen auf. Gemäß der Natur retrospektiver Daten erfolgte die Erhebung eines sehr inhomogenen Datensatzes. Beobachtungszeitraum und Zahl der Beobachtungspunkte variieren innerhalb der Studienpopulation deutlich. Gemittelt fielen auf jeden Patienten 5,88 Beobachtungspunkte.

In den wenigsten Fällen konnten pro Patienten und Beobachtungspunkt vollständige Datensätze zu Nierenfunktion und Schädigung erhoben werden. Währenddessen beispielsweise in 81 % aller Beobachtungspunkte Informationen zum Serumkreatinin erhoben werden konnten und somit eine relativ verlässliche Aussage zur Entwicklung dieses Parameters über die Zeit in Abhängigkeit des Therapiebeginns getroffen werden konnte, gestaltete sich dies hinsichtlich weiterer Parameter deutlich schwieriger. Daten zur Kreatinin-Clearance waren in 48 % und zur Proteinurie/24h in 54 %, somit in knapp der Hälfte aller Visiten, verfügbar. Hingegen waren Informationen zu Proteinurie in g/g Kreatinin (18 %) und Albumin in g/g Kreatinin (16 %) nur eingeschränkt verfügbar. Teils wurden unterschiedliche Einheiten verwendet, welche anhand von Labordatenrechnern in Standardeinheiten, nicht jedoch SI-Einheiten, umgewandelt werden mussten.

Ergebnisse zu Kreatinin-Clearance oder Proteinurie wurden zur Beurteilung von Nierenfunktion und Schädigung genutzt. Bereits bei der Sammlung des 24h-Urins ist, zu einem gewissen Teil, von einer fehlerhaften Erhebung auszugehen. Ebenso problematisch ist, anstelle der Messung der Nierenfunktion anhand der Kreatinin-Clearance im 24h Sammelurin, die Schätzung dieser mittels verschiedener Formeln (Bjornsson 1979, Work und Schwartz 2008). Finney et al. (1999) verglichen GFR-Schätzungen auf Basis von Kreatinin und Cystatin. Hierbei wurde kritisiert, dass aufgrund des physiologischen Verlustes von Muskelmasse die altersbedingte Entwicklung der Kreatinin-Clearance fehlerhaft dargestellt würde. Zudem bildet die GFR-Bestimmung mittels Kreatinin-Clearance überproportionale Geschlechterunterschiede ab. Die Nutzung von Cystatin C zur Messung oder Schätzung der GFR hingegen würde genauere Differenzen in Abhängigkeit der verschiedenen Altersklassen darstellen, ohne geschlechterspezifische Unterschiede.

4 Diskussion

Des Weiteren gestaltete sich die Definition des jeweiligen Krankheitsstadiums problematisch und konnte nicht zu jedem Beobachtungspunkt erfolgen. Bei teils fehlenden Informationen wurde unter Umständen ein milderer Krankheitsstadium angenommen.

Schwierig zu interpretieren ist der exakte Einflussfaktor der medikamentösen RAAS-Blockade. Es konnte in dieser Arbeit der Zusammenhang des Beginns einer ACEI/ARB-Therapie mit der Entwicklung der Nierenfunktion und Schädigung in Abhängigkeit des Krankheitsstadiums dargestellt werden. Informationen zu Dosis und Kontinuität der Einnahme wurden erhoben, gingen jedoch aufgrund der geringen Datendichte nicht in die statistische Auswertung ein. 17 Patienten wurden mittels dualer RAAS-Blockade behandelt. Dieser Einfluss wurde nicht gesondert hinsichtlich des Nierenüberlebens betrachtet.

Des Weiteren wurde in dieser Arbeit auf die Darstellung der Bedeutung einer Genotyp-Phänotyp-Korrelation verzichtet. Wie nachfolgend diskutiert, wurde sich jedoch für eine Datenexklusion einer speziellen Patientengruppe entschieden.

4.4 Gründe für Datenexklusion ab einem Patientenalter größer 40 Jahre mit nachgewiesener oder mutmaßlich günstiger Mutation

In dieser Beobachtungsstudie wurden Daten von 5 Individuen von der statistischen Analyse ausgeschlossen. Auf diese Patienten entfielen insgesamt 52 Visiten, somit entfielen ca. 10 Datenpunkte auf jeden Patienten. Aufgrund dessen wäre bereits von einer Überrepräsentation dieser Altersgruppe auszugehen. Patienten, welche trotz eines Alters größer 40 Jahren noch nicht das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz erreicht haben, scheinen einen besonders günstigen Genotyp aufzuweisen. Die Bedeutung der Korrelation von Genotyp und Phänotyp beim Alport-Syndrom wurde mehrfach beschrieben (Jais et al. 2000). Bei den betreffenden Patienten konnten folgende Aussagen zu Erbgang und Mutation getroffen werden:

- D114 männlich, X-chromosomal Erbgang/ *COL4A5* Mutation, G624D- (Glycin missense) Mutation
- D531 männlich, Erbgang und Mutation unklar, Diagnose per Biopsie
- D541 männlich, X-chromosomal Erbgang, Mutation unklar, Diagnose per Biopsie
- D555 männlich, X-chromosomal Erbgang/ *COL4A5* Mutation, G624D- (Glycin missense) Mutation
- D560 männlich, Erbgang und Mutation unklar, Diagnose per Biopsie

4 Diskussion

Leider lagen in dieser Subgruppe nur für 2 von 5 Patienten Informationen zum Mutationsstatus vor. Beide Patienten wiesen eine Glycin (G624D) Missense-Mutation auf. Diese Mutation wird mit einem günstigen Krankheitsverlauf und spätem Erreichen einer terminalen Niereninsuffizienz in Verbindung gebracht (Demosthenous et al. 2012; Pierides et al. 2013). Żurowska et al. (2020) beschrieben diese Mutation als vorherrschende Mutation in Mittel- und Osteuropa. Trotz beschriebenen, scheinbar benignen Verlaufs, können sowohl ESRD und Schwerhörigkeit im fortgeschrittenen Alter auftreten. Auch bei den weiteren drei Patienten mit unklarem Mutationsstatus wäre aufgrund des günstigen Verlaufs das Vorliegen einer milden Mutation denkbar. Um jedoch den Fokus auf ein jüngeres Patientenkollektiv zu richten und eine statistische Verzerrung, auch aufgrund der höheren Informationsdichte, zu Gunsten einer älteren Subgruppe zu vermeiden, wurde sich für eine Exklusion der Datensätze entschieden.

Boeckhaus et al. (2022) untersuchten ein Kollektiv von 114 Patienten mit G624D missens-Mutationen. Mittels früher RAAS-Blockade konnte das Eintreten einer ESRD lebenslang verhindert werden. Spät- oder unbehandelte Patienten hingegen erreichten im Alter das Stadium der terminalen Niereninsuffizienz.

Nachfolgend ist exemplarisch der Krankheitsverlauf von Patient D114 (X-chromosomaler Erbgang/ *COL4A5* Mutation, G624D- (Glycin missense) Mutation) anhand von labordiagnostischen Parametern, Stadieneinteilung und medikamentöser Behandlung dargestellt.

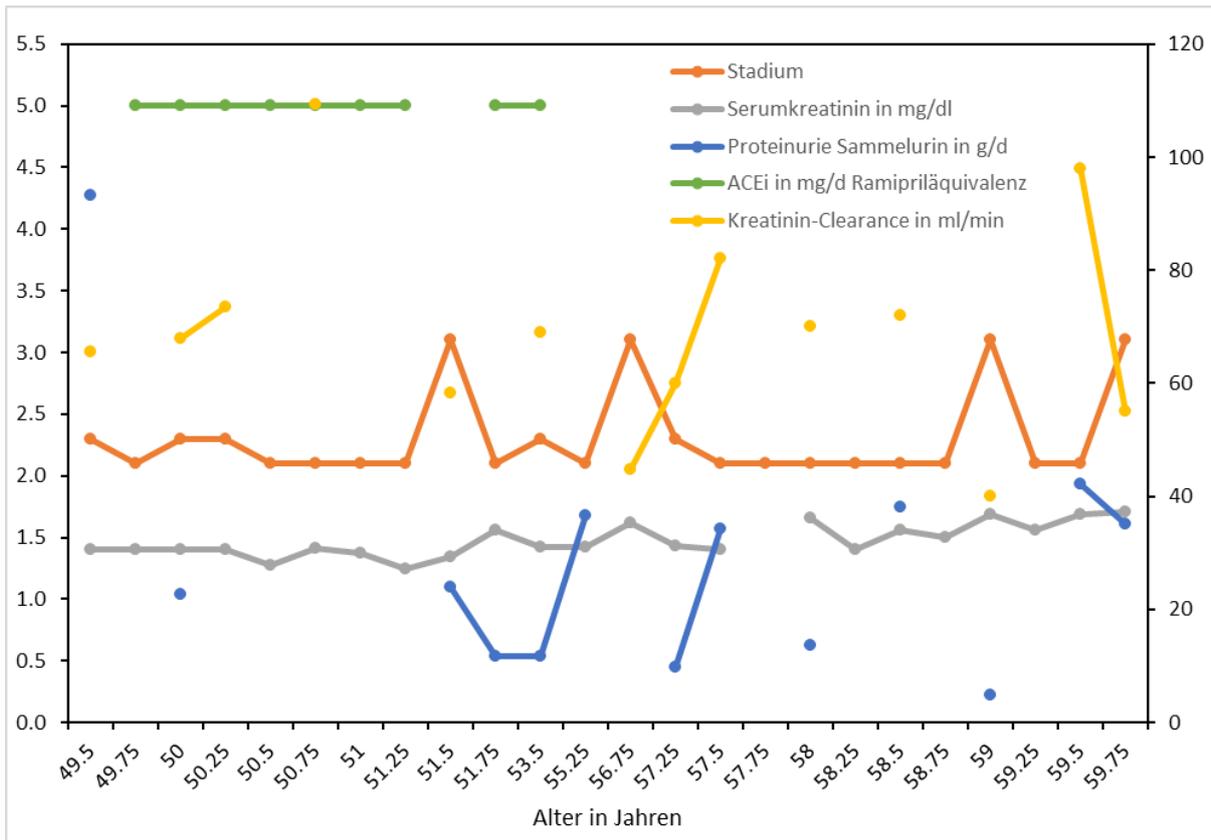


Abbildung 11: Schematische Darstellung des Krankheitsverlaufs von Patient D114 (X-chromosomale Vererbung, G624D- (Glycin missense) Mutation) anhand Laborparametern, Stadieneinteilung und Therapie

4.5 Harte versus weiche Studienendpunkte bei Patienten mit Kollagen Typ IV Erkrankung

Durch die Arbeiten von Gross et al. (2012a) und Temme et al. (2012a) konnte der Zusammenhang des Zeitpunkts des terminalen Nierenversagens und des Beginns einer Nierenersatztherapie bei Patienten mit Kollagen Typ IV-Erkrankungen in Abhängigkeit des Therapiestarts mit ACEi/ARB aufgezeigt werden. Diese Daten wurden durch Stock et al. (2017) nochmals bestätigt. Somit wurde der Effekt einer RAAS-Blockade hinsichtlich einer Verzögerung des Auftretens „harter“ Endpunkte verdeutlicht. So scheint gar bei günstigem Genotyp und frühzeitiger nephroprotektiver Therapie bei einigen Patienten ein terminales Nierenversagen verhinderbar (Boeckhaus et al. 2022). Therapieziel hinsichtlich Lebensqualität, Morbidität und Mortalität sollte dementsprechend das Verhindern der ESRD sein. Umso wichtiger ist die valide Beurteilung von Nierenfunktion und Schädigung anhand sogenannter „weicher“ Endpunkte. Dies wird unter anderem durch einen Wechsel hin zu einem höheren Krankheitsstadium reflektiert. Das Erkennen eines frühen Krankheitsprogresses, beispielsweise anhand der Zunahme der Proteinausscheidung im Urin (z. B. Wechsel von

4 Diskussion

Mikro zu Makroalbuminurie), bedingt nicht zuletzt die nach Kruegel et al. (2013) modifizierte Stadieneinteilung. Bei fortgeschrittener Erkrankung rücken Parameter hinsichtlich der Nierenfunktion in den Fokus. Die Entwicklung des Serumkreatinins und der Kreatinin-Clearance gewinnen an Bedeutung. Somit stehen zur Beurteilung eines „Status quo“ mittels Serumkreatinin, Kreatinin-Clearance, Albuminurie und Proteinurie „weiche“ Endpunkte als labordiagnostische Parameter zur Verfügung (Bjornsson 1979). Mit dieser Arbeit soll der Verlauf dieser Parameter mit und ohne ACEI/ARB und in Abhängigkeit des Zeitpunkt eines Therapiebeginns charakterisiert werden.

4.6 Empfehlungen zur frühzeitigen Diagnosestellung und regelmäßigem Krankheitsmonitoring

Gemäß den Empfehlungen von Kashtan und Gross (2020) sollte jeder Patient mit anhaltender Hämaturie einer näheren Abklärung zugeführt werden. Liegen Hinweise auf eine renale Genese der Hämaturie vor, sollte der Patient (kinder)nephrologisch vorgestellt werden. Bei vorliegender positiver Familienanamnese bezüglich Kollagen Typ IV Erkrankungen wird eine molekulargenetische Diagnostik angeraten (Gross und Hoefele 2018; Kashtan und Gross 2020). Zur Beratung kann zudem ein Humangenetiker hinzugezogen werden. Bei unauffälliger Stammbaumanalyse sollte mittels Nierenbiopsie eine Diagnosestellung angestrebt werden.

Nach Diagnosestellung sollte eine regelmäßige, mindestens halbjährige Anbindung an einen (Kinder)Nephrologen stattfinden (Gross und Hoefele 2018).

In den Alport-Behandlungsempfehlungen von Kashtan et al. (2013) wird auf die besondere Bedeutung eines engen Monitorings von Patienten mit dem entsprechenden genetischen Hintergrund verwiesen. Bereits ab einem Alter von einem Jahr sollten regelmäßige Untersuchungen des Urins auf eine mögliche Mikroalbuminurie und Proteinurie durchgeführt werden.

4.7 Prognosefaktoren und Biomarker

Die Korrelation von Geno- und Phänotyp und deren prognostische Bedeutung wurde bereits mehrfach beschrieben (Jais et al. 2000). Strangbruch- verursachende Mutationen gehen mit einem ausgeprägteren Krankheitsbild einher. Auch das Vorhandensein extrarenaler Krankheitsmanifestationen wie Augenbeteiligung oder Schwerhörigkeit weisen auf eine schlechtere Prognose hin (Tan et al. 2010). Patienten mit Kollagen Typ IV-Erkrankungen, bei denen nach Biopsie noch Kollagen Typ IV $\alpha 3$ bzw. $\alpha 5$ -Ketten nach Immunfärbung nachweisbar

waren, wiesen ebenso einen günstigeren Verlauf auf (Massella et al. 2013; Yamamura et al. 2020). Hingegen geht das vollständige Fehlen von Kollagen Typ IV $\alpha 5$ mit einer schlechteren Prognose einher (Said et al. 2017). Der positive Einfluss einer frühzeitigen RAAS-Blockade wurde unlängst dargelegt, nicht zuletzt auch mit den hier aufgeführten Daten.

Hinsichtlich Diagnosestellung aber auch zur Beurteilung der Krankheitsaktivität wurde immer wieder über den Nutzen von Biomarkern beim Alport-Syndrom diskutiert. Pohl et al. (2013) suchten mittels Proteom-Analyse in Serum und Urin nach diagnostischen Marken. Singuläre Marker konnten nicht identifiziert werden, jedoch wurde über den Nutzen einer Kombination verschiedener Parameter diskutiert. Patienten mit hohem Progressionsrisiko könnten ggf. mittels Messung des Urinary Epidermal Growth Factor identifiziert werden (Li et al. 2018).

4.8 Therapieindikation, Zeitpunkt des optimalen Therapiebeginns und Therapiesicherheit

Um Patienten mit AS die bestmögliche renoprotektive Therapie gewährleisten zu können sollte die Behandlung durch einen, mit diesem Krankheitsbild vertrauten, Nephrologen erfolgen (Savige et al. 2013). Gross und Kashtan (2009) berichteten in ihrem Review zur Behandlung des AS, dass bis zu 97 % der befragten Kinderneurologen beim AS eine medikamentöse Therapie zur Nephroprotektion und Reduktion der Proteinurie nutzten. Hierbei kommt es in ca. 25 % der Fälle zum Einsatz von ACE-Inhibitoren, in ca. 10 % zum Einsatz von AT1-Antagonisten und in 58 % erfolgt eine duale Blockade aus ACE-Hemmer und AT1-Rezeptorblocker.

Aktuelle Empfehlungen von Kashtan und Gross (2020) sehen einen Therapiestart mittels RAAS-Blockade bei Diagnosestellung bei männlichen Patienten mit XLAS und Patienten mit ARAS vor. Patientinnen mit XLAS und Patienten mit ADAS sollten ab dem Stadium der Mikroalbuminurie behandelt werden. First-Line wird die Therapie mit ACE-Hemmer mit einer auftitrierten, maximalen Dosis von 6 mg/m² Ramipril empfohlen. Die EARLY PRO-TECT Alport-Studie (Gross et al. 2020) bestätigte die sichere Anwendung von Ramipril. Alternativ kann die Therapie mit ARB eingeleitet werden. Die Wirkung der RAAS-Blockade stünde laut Yamamura et al. (2020) in Abhängigkeit des Genotyps.

Eine doppelte RAAS-Blockade kann laut Kashtan und Gross (2020) zur weiteren Reduktion einer Proteinurie eingesetzt werden. Hierzu liegen jedoch nur eingeschränkte Sicherheitsdaten vor.

4 Diskussion

Daten der ONTARGET-Studie (Mann et al. 2008) mit einer kardiovaskulär erkrankten Patientenkohorte zeigten ebenso eine Reduktion der Proteinurie bei dualer RAAS-Blockade, jedoch ein insgesamt schlechteres Nierenüberleben. Diese Daten sind bei, hinsichtlich der Komorbiditäten, deutlich differenten Patientenkollektiv jedoch nicht oder nur eingeschränkt übertragbar.

Eine weitere Blutdruckeinstellung könne, so Kashtan und Gross (2020), additiv mit Spironolacton oder Calciumkanalblockern erwogen werden. Ein Zielbereich für die Blutdruckeinstellung wurde bei ca. 125/75mm Hg definiert.

4.9 Vergleichbare Verlaufsbeobachtungsstudien, aktuelle Interventionsstudien; Notwendigkeit von Registerstudien

Zum betreffenden Zeitpunkt (Stand 31.01.2021) sind auf clinicaltrials.gov 17 Beobachtungs- und Interventionsstudien zum Krankheitsbild Alport-Syndrom gelistet.

Die erhobenen und hier dargestellten Daten entstammen dem Europäischen Alportregister (NCT02378805). Weitere Register und Studien werden bzw. wurden durchgeführt. Kashtan und Kollegen leiten seit September 2007 das Alport-Syndrome Treatments and Outcomes Registry (NCT00481130).

Ergebnisse einer vergleichbaren retrospektiven Studie einer japanischen Alport-Population wurden kürzlich veröffentlicht (Yamamura et al. 2020). Die multizentrische, Placebo-kontrollierte, randomisierte Studie EARLY Protect Alport (NCT01485978) stellte den Verlauf der Entwicklung der Nierenfunktion von mehr als 60 Kindern und Jugendlichen mit Alport-Syndrom unter Therapie mit Ramipril und Placebo dar. In die nicht-interventionelle ATHENA-Studie (NCT02136862) wurden 165 Patienten mit Kollagen Typ IV Erkrankung mit variablen Follow-Up eingeschlossen. Hierauf aufbauend folgte die Phase 2 „HERA“-Studie zur klinischen Prüfung von Lademirsen, einem microRNA 21-Inhibitor (NCT02855268, Gomez et al. 2015). In die interventionelle CARDINAL-Studie (Bardoxolon-Methyl vs. Placebo, NCT03019185, Nangaku et al. 2020) wiederum wurden 157 Patienten eingeschlossen.

4 Diskussion

Tabelle 9: Aktuelle Observationsstudien Alport-Syndrom (modifiziert nach ClinicalTrials.gov, Stand 31.01.2021)

Studientitel	ClinicalTrials.gov Identifier	Status	Studienbeginn	Studiendesign	Sponsor
European Alport Therapy Registry - European Initiative Towards Delaying Renal Failure in Alport Syndrome	NCT02378805	rekrutierend	Juli 1995	Verlaufsbeobachtung	Universität sklinik Göttingen
A Prospective Study of Microalbuminuria in Untreated Boys With Alport Syndrome (MA)	NCT00622544	beendet	Juli 2007	Verlaufsbeobachtung	Universität von Minnesota
Enalapril in Collagen Type 4 Nephropathy	NCT01465126	beendet	Januar 2011	Verlaufsbeobachtung	Universität von Sao Paulo
Alport Syndrome Treatments and Outcomes Registry (ASTOR)	NCT00481130	rekrutierend	September 2007	Verlaufsbeobachtung	Universität von Minnesota
Urinary Biomarkers of the Progression of Alport Kidney Disease	NCT01705132	beendet	Juni 2012	Verlaufsbeobachtung	Universität von Minnesota
Multi-center Controlled Clinical Trials in Alport Syndrome-A Feasibility Study	NCT01696253	beendet	September 2012	Verlaufsbeobachtung	Universität von Minnesota
Human Urine Sample Collection for Alport Nephropathy Biomarker Studies	NCT01602835	beendet	September 2012	Verlaufsbeobachtung	Novartis Pharmaceuticals
ATHENA: Natural History of Disease Study in Alport Syndrome Patients (RG012-01)	NCT02136862	beendet	September 2014	Verlaufsbeobachtung	Genzyme, a Sanofi Company
Urine, DNA and Clinical Information Collection From Patients With Alport Nephropathy.	NCT03074357	beendet	April 2017	Verlaufsbeobachtung	Novartis Pharmaceuticals
Biomarker for Alport Syndrome (BioAlport) (BioAlport)	NCT02718027	rekrutierend	August 2018	Verlaufsbeobachtung	Centogene AG Rostock

4 Diskussion

Tabelle 10: Aktuelle Interventionsstudien Alport-Syndrom (modifiziert nach ClinicalTrials.gov, Stand 31.01.2021)

Studientitel	ClinicalTrials.gov Identifier	Status	Studienbeginn	Studiendesign	Sponsor
Effects of an Intensified Treatment With ACE-I,ATA II and Statins in Alport Syndrome	NCT00309257	beendet	Januar 2004	Interventionell Phase 2 Benzapril, Valsartan und Fluvastatin	Mario Negri Institut für pharmakologische Forschung
Efficacy and Safety Study to Delay Renal Failure in Children With Alport Syndrome	NCT01485978	beendet	März 2012	Interventionell Ramipril vs. Placebo	Institut für anwendung orientierte Forschung und klinische Studien GmbH
A Phase 2/3 Trial of the Efficacy and Safety of Bardoxolone Methyl in Patients With Alport Syndrome - CARDINAL (CARDINAL)	NCT03019185	beendet	März 2017	Interventionell Bardoxolone Methyl vs Placebo	Reata Pharmaceuticals, Inc.
A Study of RG-012 in Subjects With Alport Syndrome	NCT03373786	beendet	Dezember 2017	Interventionell RG012 (Phase 1)	Genzyme, a Sanofi Company
An Extended Access Program for Bardoxolone Methyl in Patients With Chronic Kidney Disease (EAGLE)	NCT03749447	rekrutierend	März 2019	Interventionell Phase 3	Reata Pharmaceuticals, Inc.
Study of SAR339375 in Patients With Alport Syndrome (HERA)	NCT02855268	rekrutierend	November 2019	Interventionell Phase 2 Lademirsen vs Placebo	Genzyme, a Sanofi Company
Atrasentan in Patients With Proteinuric Glomerular Diseases (AFFINITY)	NCT04573920	Noch nicht rekrutierend	Februar 2021	Interventionell Phase 2	Chinook Therapeutics U.S., Inc.

Rheault et al. (2020) unterstrichen die Bedeutung einer umfassenden Zusammenarbeit von Patienten, Forschern und Ärzten zur Behandlung von Patienten mit AS und Entwicklung neuer Therapieansätze.

5 Zusammenfassung

Das Alport-Syndrom zählt zu den hereditären Kollagen Typ IV Erkrankungen. Verschiedene Vererbungsmodi und eine starke Genotyp-Phänotyp-Korrelation sind bekannt. Manifestationen dieser Erkrankung finden sich vorwiegend an Nieren, Augen und Ohren. Das Ausmaß der Nierenbeteiligung ist prognostisch relevant, unbehandelt kann frühzeitig ein terminales Nierenversagen auftreten.

Seit Jahren belegen Daten aus Tiermodellstudien, kleineren Fallstudien und retrospektiven Kohortenanalysen prognostisch günstige Effekte einer medikamentösen Therapie mittels RAAS-Blockade. Kürzlich wurde die erste multizentrische, randomisierte, Placebo-kontrollierte Therapiestudie zum Alport-Syndrom publiziert. Hier zeigten sich Hinweise für die Wirksamkeit und Sicherheit einer frühzeitigen Therapie mit Ramipril beim Alport-Syndrom. Registerdaten weisen auf einen protektiven Effekt zur Verzögerung der terminalen Niereninsuffizienz und Dialysepflicht hin. Entgegen dieser harten Endpunkte erfolgte nun eine weitere Charakterisierung des Krankheitsverlaufes anhand von longitudinalen Parametern in Abhängigkeit von Alter und Zeitpunkt des Beginns einer medikamentösen RAAS-Blockade.

In dieser Arbeit wurde der Krankheitsverlauf von 90 Patienten (hemizygoten XLAS und homozygoten bzw. compound heterozygoten ARAS) mit Vollbild eines Alport-Syndroms anhand von Laborparametern betrachtet. Die Daten wurden retrospektiv als auch prospektiv im Rahmen des Europäischen Alport-Registers erhoben. Nach bisherigen Kenntnissen handelt es sich hierbei um einen der größten Datenpools bzgl. einer deskriptiven Verlaufsbeurteilung. Mittels Serumkreatinin und Kreatinin-Clearance wurde die Entwicklung der Nierenfunktion dargestellt. Durch Parameter wie Proteinurie und Albuminurie konnten Aussagen zum Verlauf der Schädigung der glomerulären Basalmembran getroffen werden. Betrachtet wurde der labor diagnostische Verlauf des Gesamtkollektivs als auch differenziert nach Subgruppen bezüglich des Einflusses einer frühzeitigen RAAS-Blockade.

Über alle Subgruppe hinweg konnte ein überdurchschnittlicher Verlust der Nierenfunktion im Vergleich zu Literaturdaten/Referenzparametern eines gesunden Kollektivs beobachtet werden. Hinsichtlich Nierenfunktion und Schädigung zeigte sich ein deutlicher Benefit bei frühzeitig RAAS-blockierten Patienten. Diese zeigten sowohl den geringsten Anstieg des Serumkreatinins als auch den langsamsten Abfall der Kreatinin-Clearance über die Zeit, verglichen mit später, spät und gar nicht therapierten Patienten. Ebenso wiesen

5 Zusammenfassung

frühtherapierte Patienten den niedrigsten und langsamsten Anstieg der Proteinurie auf. Der Großteil der Patientin wurde ab Stadium 2 mittels RAAS-Blockade therapiert. Aufgrund eines inhomogenen Datensatzes konnte der Verlauf von Patienten mit später begonnener Therapie schwieriger charakterisiert werden.

Diese Arbeit unterstützt wesentlich die Empfehlung zur frühzeitigen RAAS-Blockade bei Patienten mit Alport-Syndrom. Des Weiteren sollen die hier dargestellten Verläufe als Basis zur Planung neuer Interventionsstudien dienen.

Internationale Studien hinsichtlich des therapeutischen Nutzens, beispielsweise von Bardoxolone, anti-micro-RNA oder SGLT2-Inhibitoren bei Patienten mit Alport-Syndrom, sind Gegenstand der aktuellen Forschung.

6 Anhang

Tabellenverzeichnis Anhang

Tabelle A 1: Messgrößen in Serum und Plasma (modifiziert nach Speer und Gahr (2013)).... 56

Tabelle A 2: Referenzwerttabellen altersangepasste Kreatinin-Clearance (modifiziert nach Thomas (2005)) 56

Tabelle A 1: Messgrößen in Serum und Plasma (modifiziert nach Speer und Gahr (2013))
Referenzwerttabelle Kreatinin in mg/dl

Alter	Kreatinin in mg/dl
1. Tag	0,41 – 1,24
1. Woche	0,15 – 0,95
4. Woche	0,13 – 0,53
Säugling	0,24 – 0,61
Kleinkind	0,28 – 0,70
Kind	0,25 – 1,17
Erwachsener	0,81 – 1,21

Tabelle A 2: Referenzwerttabellen altersangepasste Kreatinin-Clearance (modifiziert nach Thomas (2005))

Kinder und Jugendliche

Alter	Kreatinin-Clearance in ml/min
5 – 7 Tage	38 – 62
1 – 2 Monate	54 – 76
3 – 12 Monate	64 – 108
3 – 13 Jahre	120 – 145

Erwachsene

Alter	Frauen, Kreatinin-Clearance in ml/min/1,73 m ² Körperoberfläche, Mittelwert und Standardabweichung	Männer, Kreatinin-Clearance in ml/min/1,73 m ² Körperoberfläche, Mittelwert und Standardabweichung
20 – 29 Jahre	95 ± 20	110 ± 21
30 – 39 Jahre	103 ± 26	97 ± 36
40 – 49 Jahre	81 ± 28	88 ± 20
50 – 59 Jahre	74 ± 24	81 ± 19
60 – 69 Jahre	63 ± 25	72 ± 21
70 – 79 Jahre	54 ± 13	64 ± 15
80 – 89 Jahre	46 ± 15	47 ± 15
90 – 99 Jahre	39 ± 9	34 ± 9

7 Literaturverzeichnis

- Abbate M, Zoja C, Remuzzi G (2006): How Does Proteinuria Cause Progressive Renal Damage? *J Am Soc Nephrol* 17, 2974–2984
- Abrahamson DR (2012): Role of the Podocyte (and Glomerular Endothelium) in Building the GBM. *Semin Nephrol* 32, 342–349
- Abrahamson DR, Hudson BG, Stroganova L, Borza DB, St. John PL (2009): Cellular Origins of Type IV Collagen Networks in Developing Glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 20, 1471–1479
- Abreu-Velez A, Howard M (2012): Collagen IV in normal skin and in pathological processes. *N Am J Med Sci* 4, 1-8
- Alani H, Tamimi A, Tamimi N (2014): Cardiovascular co-morbidity in chronic kidney disease: Current knowledge and future research needs. *World J Nephrol* 3, 156-168
- Antignac C, Zhou J, Sanak M, Cochat P, Roussel B, Deschênes G, Gros F, Knebelmann B, Hors-Cayla MC, Tryggvason K et al. (1992): Alport syndrome and diffuse leiomyomatosis: Deletions in the 5' end of the COL4A5 collagen gene. *Kidney Int* 42, 1178–1183
- Bejarano PA, Noelken ME, Suzuki K, Hudson BG, Nagase H (1988): Degradation of basement membranes by human matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochem J* 256, 413–419
- Bjornsson TD (1979): Use of Serum Creatinine Concentrations to Determine Renal Function: *Clin Pharmacokinet* 4, 200–222
- Boeckhaus J, Hoefele J, Riedhammer KM, Nagel M, Beck B, Choi M, Gollasch M, Bergmann C, Sonntag JE, Troesch V, et al. (2022): Lifelong Effect of Therapy in Young Patients with the COL4A5 Alport Missense Variant p.(Gly624Asp): a Prospective Cohort Study. *Nephrol Dial Transplant* (im Druck)
- Border WA, Ruoslahti E (1992): Transforming growth factor-beta in disease: the dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 90, 1–7
- Callís L, Vila A, Carrera M, Nieto J (1999): Long-term effects of cyclosporine A in Alport's syndrome. *Kidney Int* 55, 1051–1056
- Callís L, Vila A, Nieto J, Fortuny G (1992): Effect of cyclosporin a on proteinuria in patients with Alport's syndrome. *Pediatr Nephrol* 6, 140–144
- Charbit M, Gubler MC, Dechaux M, Gagnadoux MF, Grünfeld JP, Niaudet P (2007): Cyclosporin therapy in patients with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 22, 57–63
- Cheng S, Lovett DH (2003): Gelatinase A (MMP-2) Is Necessary and Sufficient for Renal Tubular Cell Epithelial-Mesenchymal Transformation. *Am J Pathol* 162, 1937–1949
- Cockcroft DW, Gault H (1976): Prediction of Creatinine Clearance from Serum Creatinine. *Nephron* 16, 31–41
- Colville D, Wang YY, Jamieson R, Collins F, Hood J, Savage J (2000): Absence of ocular manifestations in autosomal dominant Alport syndrome associated with haematological abnormalities. *Ophthalmic Genet* 21, 217–225

7 Literaturverzeichnis

- Colville DJ, Savige J (1997): A review of the ocular manifestations. *Ophthalmic Genetics* 18, 161–173
- Cosgrove D, Rodgers K, Meehan D, Miller C, Bovard K, Gilroy A, Gardner H, Kotelianski V, Gotwals P, Amatucci A et al. (2000): Integrin $\alpha 1\beta 1$ and Transforming Growth Factor- $\beta 1$ Play Distinct Roles in Alport Glomerular Pathogenesis and Serve as Dual Targets for Metabolic Therapy. *Am J Pathol* 157, 1649–1659
- Curat CA, Vogel WF (2002): Discoidin Domain Receptor 1 Controls Growth and Adhesion of Mesangial Cells. *J Am Soc Nephrol* 13, 2648–2656
- Daga S, Fallerini C, Furini S, Pecoraro C, Scolari F, Ariani F, Bruttini M, Mencarelli MA, Mari F, Renieri A et al. (2019): Non-collagen genes role in digenic Alport syndrome. *BMC Nephrol* 20, 70
- Daga S, Donati F, Capitani K, Croci S, Tita R, Giliberti A, Valentino F, Benetti E, Fallerini C, Niccheri F, et al. (2020): New frontiers to cure Alport syndrome: COL4A3 and COL4A5 gene editing in podocyte-lineage cells. *Eur J Hum Genet* 28, 480–490
- Demosthenous P, Voskarides K, Stylianou K, Hadjigavriel M, Arsali M, Patsias C, Georgaki E, Ziropiannis P, Stavrou C, Daphnis E, et al. (2012): X-linked Alport syndrome in Hellenic families: Phenotypic heterogeneity and mutations near interruptions of the collagen domain in COL4A5. *Clin Genet* 81, 240–248
- Donate-Correa J, Domínguez-Pimentel V, Méndez-Pérez ML, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Martín-Núñez E, Cazaña-Pérez V, Navarro-González JF (2014): Selective Vitamin D Receptor Activation as Anti-Inflammatory Target in Chronic Kidney Disease. *Mediators Inflamm* 2014, 1–6
- Fallerini C, Dosa L, Tita R, Del Prete D, Feriozzi S, Gai G, Clementi M, La Manna A, Miglietti N, Mancini R, et al. (2014): Unbiased next generation sequencing analysis confirms the existence of autosomal dominant Alport syndrome in a relevant fraction of cases: Existence of autosomal dominant Alport syndrome in a relevant fraction of cases. *Clin Genet* 86, 252–257
- Fallerini C, Baldassarri M, Trevisson E, Morbidoni V, La Manna A, Lazzarin R, Pasini A, Barbano G, Pinciaroli AR, Garosi G, et al. (2017): Alport syndrome: impact of digenic inheritance in patients management: Alport syndrome. *Clin Genet* 92, 34–44
- Finney H, Bates CJ, Price CP (1999): Plasma cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr* 29, 75–94
- Finney H, Newman DJ, Price CP (2000): Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Ann Clin Biochem* 37, 49–59
- Flier SN, Tanjore H, Kokkotou EG, Sugimoto H, Zeisberg M, Kalluri R (2010): Identification of Epithelial to Mesenchymal Transition as a Novel Source of Fibroblasts in Intestinal Fibrosis. *J Biol Chem* 285, 20202–20212
- Flinter F (1997): Alport's syndrome. *J Med Genet* 34, 326–330
- Flinter FA, Bobrow M, Chantler C (1987): Alport's syndrome or hereditary nephritis? *Pediatr Nephrol* 1, 438–440

7 Literaturverzeichnis

- Gale DP (2013): How benign is hematuria? Using genetics to predict prognosis. *Pediatr Nephrol* 28, 1183–1193
- Giani M, Mastrangelo A, Villa R, Turolo S, Marra G, Tirelli AS, Hopfer H, Edefonti A (2013): Alport syndrome: the effects of spironolactone on proteinuria and urinary TGF- β 1. *Pediatr Nephrol* 28, 1837–1842
- Gomez IG, MacKenna DA, Johnson BG, Kaimal V, Roach AM, Ren S, Nakagawa N, Xin C, Newitt R, Pandya S et al. (2015): Anti-microRNA-21 oligonucleotides prevent Alport nephropathy progression by stimulating metabolic pathways. *J Clin Invest* 125, 141–156
- Gross O, Netzer KO, Lambrecht R, Seibold S, Weber M (2002): Meta-analysis of genotype-phenotype correlation in X-linked Alport syndrome: impact on clinical counselling. *Nephrol Dial Transplant* 17, 1218–1227
- Gross O, Kashtan CE (2009): Treatment of Alport syndrome: beyond animal models. *Kidney Int* 76, 599–603
- Gross O, Hoefele J (2018): Genetische Ursachen und Therapie beim Alport-Syndrom. *Med Genet* 30, 429–437
- Gross O, Netzer K, Lambrecht R, Seibold S, Weber M (2003a): Novel COL4A4 splice defect and in-frame deletion in a large consanguine family as a genetic link between benign familial haematuria and autosomal Alport syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 18, 1122–1127
- Gross O, Beirowski B, Koepke ML, Kuck J, Reiner M, Addicks K, Smyth N, Schulze-Lohoff E, Weber M (2003b): Preemptive ramipril therapy delays renal failure and reduces renal fibrosis in COL4A3-knockout mice with Alport syndrome¹¹See Editorial by Abbate and Remuzzi, p. 764. *Kidney Int* 63, 438–446
- Gross O, Girgert R, Beirowski B, Kretzler M, Kang HG, Kruegel J, Miosge N, Busse AC, Segerer S, Vogel WF et al. (2010): Loss of collagen-receptor DDR1 delays renal fibrosis in hereditary type IV collagen disease. *Matrix Biol* 29, 346–356
- Gross O, Licht C, Anders HJ, Hoppe B, Beck B, Tönshoff B, Höcker B, Wygoda S, Ehrich JHH, Pape L, et al. (2012a): Early angiotensin-converting enzyme inhibition in Alport syndrome delays renal failure and improves life expectancy. *Kidney Int* 81, 494–501
- Gross O, Friede T, Hilgers R, Görlitz A, Gavénis K, Ahmed R, Dürr U (2012b): Safety and Efficacy of the ACE-Inhibitor Ramipril in Alport Syndrome: The Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Phase III EARLY PRO-TECT Alport Trial in Pediatric Patients. *ISRN Pediatrics* 2012, 1–6
- Gross O, Perin L, Deltas C (2014): Alport syndrome from bench to bedside: the potential of current treatment beyond RAAS blockade and the horizon of future therapies. *Nephrol Dial Transplant* 29, 124–130
- Gross O, Tönshoff B, Weber LT, Pape L, Latta K, Fehrenbach H, Lange-Sperandio B, Zappel H, Hoyer P, Staude H, et al. (2020): A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind phase 3 trial with open-arm comparison indicates safety and efficacy of nephroprotective therapy with ramipril in children with Alport's syndrome. *Kidney Int* 97, 1275–1286

7 Literaturverzeichnis

- Gubler MC (2007): Diagnosis of Alport syndrome without biopsy? *Pediatr Nephrol* 22, 621–625
- Gubler MC (2008): Inherited diseases of the glomerular basement membrane. *Nat Clin Pract Nephrol* 4, 24–37
- Gunwar S, Ballester F, Noelken ME, Sado Y, Ninomiya Y, Hudson BG (1998): Glomerular Basement Membrane: Identification of a novel disulfide-cross-linked Network of $\alpha 3$, $\alpha 4$, and $\alpha 5$ chains of type IV collagen and its implications for the pathogenesis of Alport Syndrome. *J Biol Chem* 273, 8767–8775
- Haas M (2009): Alport syndrome and thin glomerular basement membrane nephropathy: a practical approach to diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 133, 224–232
- Harvey SJ, Jarad G, Cunningham J, Rops AL, van der Vlag J, Berden JH, Moeller MJ, Holzman LB, Burgess RW, Miner JH (2007): Disruption of Glomerular Basement Membrane Charge through Podocyte-Specific Mutation of Agrin Does Not Alter Glomerular Permeability. *Am J Pathol* 171, 139–152
- Hasstedt SJ, Atkin CL (1983): X-linked inheritance of Alport syndrome: family P revisited. *Am J Hum Genet* 35, 1241–1251
- Heidet L, Arrondel C, Forestier L, Cohen-Solal L, Mollet G, Gutierrez B, Stavrou C, Gubler MC, Antignac C (2001): Structure of the human type IV collagen gene COL4A3 and mutations in autosomal Alport syndrome. *J Am Soc Nephrol* 12, 97–106
- Hertz JM, Thomassen M, Storey H, Flinter F (2015): Clinical utility gene card for: Alport syndrome – update 2014. *Eur J Hum Genet* 23, 1269–1269
- Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG (2003): Alport's Syndrome, Goodpasture's Syndrome, and Type IV Collagen. *N Engl J Med* 348, 2543–2556
- Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, De Marchi M, Rizzoni G, Renieri A, Weber M, Gross O, Netzer KO, Flinter F et al. (2000): X-linked Alport syndrome: natural history in 195 families and genotype-phenotype correlations in males. *J Am Soc Nephrol* 11, 649–657
- Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, De Marchi M, Rizzoni G, Renieri A, Weber M, Gross O, Netzer KO, Flinter F et al. (2003): X-Linked Alport Syndrome: Natural History and Genotype-Phenotype Correlations in Girls and Women Belonging to 195 Families: A „European Community Alport Syndrome Concerted Action“ Study. *J Am Soc Nephrol* 14, 2603–2610
- Jefferson J, Lemmink H, Hughes A, Hill C, Smeets H, Doherty C, Maxwell A (1997): Autosomal dominant Alport syndrome linked to the type IV collagen 3 and 4 genes (COL4A3 and COL4A4). *Nephrol Dial Transplant* 12, 1595–1599
- Kaito H, Nozu K, Iijima K, Nakanishi K, Yoshiya K, Kanda K, Przybyslaw Krol R, Yoshikawa N, Matsuo M (2006): The effect of aldosterone blockade in patients with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 21, 1824–1829
- Kalluri R (2003): Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 3, 422–433

7 Literaturverzeichnis

- Kashtan CE (2000): Alport Syndrome: Abnormalities of type IV collagen genes and proteins. *Ren Fail* 22, 737–749
- Kashtan CE (2007): Alport syndrome and the X chromosome: implications of a diagnosis of Alport syndrome in females. *Nephrol Dial Transplant* 22, 1499–1505
- Kashtan CE, Segal Y (2011): Genetic Disorders of Glomerular Basement Membranes. *Nephron Clin Pract* 118, c9–c18
- Kashtan CE, Gross O (2020): Clinical practice recommendations for the diagnosis and management of Alport syndrome in children, adolescents, and young adults—an update for 2020. *Pediatr Nephrol* 36, 711–719
- Kashtan CE, Kim Y, Lees GE, Thorner PS, Virtanen I, Miner JH (2001): Abnormal glomerular basement membrane laminins in murine, canine, and human Alport syndrome: aberrant laminin alpha2 deposition is species independent. *J Am Soc Nephrol* 12, 252–260
- Kashtan CE, Ding J, Gregory M, Gross O, Heidet L, Knebelmann B, Rheault M, Licht C (2013): Clinical practice recommendations for the treatment of Alport syndrome: a statement of the Alport Syndrome Research Collaborative. *Pediatr Nephrol* 28, 5–11
- Kashtan CE, Ding J, Garosi G, Heidet L, Massella L, Nakanishi K, Nozu K, Renieri A, Rheault M, Wang F et al. (2018): Alport syndrome: a unified classification of genetic disorders of collagen IV $\alpha345$: a position paper of the Alport Syndrome Classification Working Group. *Kidney Int* 93, 1045–1051
- Kefalides NA (1966): A collagen of unusual composition and a glycoprotein isolated from canine glomerular basement membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 22, 26–32
- Khoshnoodi J, Cartiailler JP, Alvares K, Veis A, Hudson BG (2006): Molecular Recognition in the Assembly of Collagens: Terminal Noncollagenous Domains Are Key Recognition Modules in the Formation of Triple Helical Protomers. *J Biol Chem* 281, 38117–38121
- Khoshnoodi J, Pedchenko V, Hudson BG (2008): Mammalian collagen IV. *Microsc Res Tech* 71, 357–370
- Koepke ML, Weber M, Schulze-Lohoff E, Beirowski B, Segerer S, Gross O (2007): Nephroprotective effect of the HMG-CoA-reductase inhibitor cerivastatin in a mouse model of progressive renal fibrosis in Alport syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 22, 1062–1069
- Kruegel J, Rubel D, Gross O (2013): Alport syndrome—insights from basic and clinical research. *Nat Rev Nephrol* 9, 170–178
- Ku E, Campese VM (2009): Role of aldosterone in the progression of chronic kidney disease and potential use of aldosterone blockade in children. *Pediatr Nephrol* 24, 2301–2307
- Lange-Sperandio B, Trautmann A, Eickelberg O, Jayachandran A, Oberle S, Schmidutz F, Rodenbeck B, Hömme M, Horuk R, Schaefer F (2007): Leukocytes induce epithelial to mesenchymal transition after unilateral ureteral obstruction in neonatal mice. *Am J Pathol* 171, 861–871
- LeBleu VS, MacDonald B, Kalluri R (2007): Structure and Function of Basement Membranes. *Exp Biol Med (Maywood)* 232, 1121–1129

7 Literaturverzeichnis

- Leinonen A, Mariyama M, Mochizuki T, Tryggvason K, Reeders ST (1994): Complete primary structure of the human type IV collagen alpha 4(IV) chain. Comparison with structure and expression of the other alpha (IV) chains. *J Biol Chem* 269, 26172–26177
- Li B, Zhang Y, Wang F, Nair V, Ding F, Xiao H, Yao Y, Kretzler M, Ju W, Ding J (2018): Urinary epidermal growth factor as a prognostic marker for the progression of Alport syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 33, 1731–1739
- Lin X, Suh JH, Go G, Miner JH (2014): Feasibility of Repairing Glomerular Basement Membrane Defects in Alport Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 25, 687–692
- Longo I, Porcedda P, Mari F, Giachino D, Meloni I, Deplano C, Brusco A, Bosio M, Massella L, Lavoratti G, et al. (2002): COL4A3/COL4A4 mutations: From familial hematuria to autosomal-dominant or recessive Alport syndrome. *Kidney Int* 61, 1947–1956
- Mabillard H, Sayer JA (2020): SGLT2 inhibitors – a potential treatment for Alport syndrome. *Clin Sci (Lond)* 134, 379–388
- Mallett A, Tang W, Clayton PA, Stevenson S, McDonald SP, Hawley CM, Badve SV, Boudville N, Brown FG, Campbell SB, Johnson DW (2014): End-stage kidney disease due to Alport syndrome: outcomes in 296 consecutive Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry cases. *Nephrol Dial Transplant* 29, 2277–2286
- Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, Dyal L, Schumacher H, Pogue J, Wang X, Maggioni A, Budaj A, Chaithiraphan S, et al. (2008): Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 372, 547–553
- Marcocci E, Uliana V, Bruttini M, Artuso R, Silengo MC, Zerial M, Bergesio F, Amoroso A, Savoldi S, Pennesi M, et al. (2009): Autosomal dominant Alport syndrome: molecular analysis of the COL4A4 gene and clinical outcome. *Nephrol Dial Transplant* 24, 1464–1471
- Mariyama M, Zheng K, Yang-Feng TL, Reeders ST (1992): Colocalization of the genes for the $\alpha 3(IV)$ and $\alpha 4(IV)$ chains of type IV collagen to chromosome 2 bands q35–q37. *Genomics* 13, 809–813
- Massella L, Muda AO, Legato A, Di Zazzo G, Giannakakis K, Emma F (2010): Cyclosporine A treatment in patients with Alport syndrome: a single-center experience. *Pediatr Nephrol* 25, 1269–1275
- Massella L, Gangemi C, Giannakakis K, Crisafi A, Faraggiana T, Fallerini C, Renieri A, Muda AO, Emma F (2013): Prognostic Value of Glomerular Collagen IV Immunofluorescence Studies in Male Patients with X-Linked Alport Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 8, 749–755
- Mencarelli MA, Heidet L, Storey H, van Geel M, Knebelmann B, Fallerini C, Miglietti N, Antonucci MF, Cetta F, Sayer JA, et al. (2015): Evidence of digenic inheritance in Alport syndrome. *J Med Genet* 52, 163–174
- Methven S, MacGregor MS, Traynor JP, O'Reilly DSJ, Deighan CJ (2010): Assessing proteinuria in chronic kidney disease: protein-creatinine ratio versus albumin-creatinine ratio. *Nephrol Dial Transplant* 25, 2991–2996

7 Literaturverzeichnis

- Migeon BR (2008): X Inactivation, Female Mosaicism, and Sex Differences in Renal Diseases. *J Am Soc Nephrol* 19, 2052–2059
- Miner JH (1999): Alport Syndrome with Diffuse Leiomyomatosis. *Am J Pathol* 154, 1633–1635
- Miner JH (2012): The glomerular basement membrane. *Exp Cell Res* 318, 973–978
- Miner JH, Sanes JR (1994): Collagen IV alpha 3, alpha 4, and alpha 5 chains in rodent basal laminae: sequence, distribution, association with laminins, and developmental switches. *J Cell Biol* 127, 879–891
- MVZ Labor Dr. Limbach, Heidelberg; Labor-Rechner. <https://www.labor-limbach.de/labor-rechner/labor-rechner/einheiten-umrechner/>; abgerufen am 31.01.2021
- Myllyharju J, Kivirikko KI (2004): Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. *Trends Genet* 20, 33–43
- Nagel M, Nagorka S, Gross O (2005): Novel COL4A5, COL4A4, and COL4A3 mutations in Alport syndrome. *Hum Mutat* 26, 60–60
- Nangaku M, Kanda H, Takama H, Ichikawa T, Hase H, Akizawa T (2020): Randomized Clinical Trial on the Effect of Bardoxolone Methyl on GFR in Diabetic Kidney Disease Patients (TSUBAKI Study). *Kidney Int Rep* 5, 879–890
- Noone D, Licht C (2013): An update on the pathomechanisms and future therapies of Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 28, 1025–1036
- Pescucci C, Mari F, Longo I, Vogiatzi P, Caselli R, Scala E, Abaterusso C, Gusmano R, Seri M, Miglietti N, et al. (2004): Autosomal-dominant Alport syndrome: Natural history of a disease due to COL4A3 or COL4A4 gene. *Kidney Int* 65, 1598–1603
- Pierides A, Voskarides K, Kkolou M, Hadjigavriel M, Deltas C (2013): X-linked, COL4A5 hypomorphic Alport mutations such as G624D and P628L may only exhibit thin basement membrane nephropathy with microhematuria and late onset kidney failure. *Hippokratia* 17, 207–213
- Pierrat A, Gravier E, Saunders C, Caira MV, Aït-Djafer Z, Legras B, Mallié JP (2003): Predicting GFR in children and adults: A comparison of the Cockcroft-Gault, Schwartz, and Modification of Diet in Renal Disease formulas. *Kidney Int* 64, 1425–1436
- Pohl M, Danz K, Gross O, John U, Urban J, Patzer L, Habbig S, Feldkötter M, Witzke O, Walther M et al. (2013): Diagnosis of Alport syndrome—search for proteomic biomarkers in body fluids. *Pediatr Nephrol* 28, 2117–2123
- Pollak MR, Quaggin SE, Hoenig MP, Dworkin LD (2014): The Glomerulus: The Sphere of Influence. *Clin J Am Soc Nephrol* 9, 1461–1469
- Proesmans W, Van Dyck M (2004): Enalapril in children with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 19, 271–275
- Rheault MN (2012): Women and Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 27, 41–46

7 Literaturverzeichnis

- Rheault MN, Kren SM, Hartich LA, Wall M, Thomas W, Mesa HA, Avner P, Lees GE, Kashtan CE, Segal Y (2010): X-inactivation modifies disease severity in female carriers of murine X-linked Alport syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 25, 764–769
- Rheault MN, Savige J, Randles MJ, Weinstock A, Stepney M, Turner AN, Parziale G, Gross O, Flinter FA, Miner JH et al. (2020): The importance of clinician, patient and researcher collaborations in Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 35, 733–742
- Robles NR, Cerezo I, Hernandez-Gallego R (2014): Renin-angiotensin system blocking drugs. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 19, 14–33
- Rosado C, Bueno E, Felipe C, González-Sarmiento R (2014): COL4A4 gene study of a European population: description of new mutations causing autosomal dominant Alport syndrome. *Int J Mol Epidemiol Genet* 5, 177–184
- Rubel D, Stock J, Ciner A, Hiller H, Girgert R, Muller GA, Gross O (2014): Antifibrotic, nephroprotective effects of paricalcitol versus calcitriol on top of ACE-inhibitor therapy in the COL4A3 knockout mouse model for progressive renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 29, 1012–1019
- Rumpelt HJ (1987): Alport's syndrome: specificity and pathogenesis of glomerular basement membrane alterations. *Pediatr Nephrol* 1, 422–427
- Ryu M, Mulay SR, Miosge N, Gross O, Anders HJ (2012): Tumour necrosis factor- α drives Alport glomerulosclerosis in mice by promoting podocyte apoptosis: Etanercept in Alport mouse glomerulosclerosis. *J Pathol* 226, 120–131
- Sage H (1982): Collagens of Basement Membranes. *J Invest Dermatol* 79, 51s–59s
- Said SM, Fidler ME, Valeri AM, McCann B, Fiedler W, Cornell LD, Alexander MP, Alkhunaizi AM, Sullivan A, Cramer CH, et al. (2017): Negative Staining for COL4A5 Correlates With Worse Prognosis and More Severe Ultrastructural Alterations in Males With Alport Syndrome. *Kidney Int Rep* 2, 44–52
- Savige J, Gregory M, Gross O, Kashtan C, Ding J, Flinter F (2013): Expert Guidelines for the Management of Alport Syndrome and Thin Basement Membrane Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 24, 364–375
- Savige J, Colville D, Rheault M, Gear S, Lennon R, Lagas S, Finlay M, Flinter F (2016): Alport Syndrome in Women and Girls. *Clin J Am Soc Nephrol* 11, 1713–1720
- Savige J, Storey H, Il Cheong H, Gyung Kang H, Park E, Hilbert P, Persikov A, Torres-Fernandez C, Ars E, Torra R, et al. (2016): X-Linked and Autosomal Recessive Alport Syndrome: Pathogenic Variant Features and Further Genotype-Phenotype Correlations. *PLoS One* 11, e0161802
- Savige J, Ariani F, Mari F, Bruttini M, Renieri A, Gross O, Deltas C, Flinter F, Ding J, Gale DP, et al. (2019): Expert consensus guidelines for the genetic diagnosis of Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 34, 1175–1189
- Schäffer AA (2013): Digenic inheritance in medical genetics. *J Med Genet* 50, 641–652

7 Literaturverzeichnis

- Shahbazian H, Atrian A, Yazdanpanah L, Lashkarara GR, Zafar Mohtashami A (2015): Anti-Inflammatory Effect of Simvastatin in Hemodialysis Patients. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 10, e17962
- Spear GS, Slusser RJ (1972): Alport's syndrome. Emphasizing electron microscopic studies of the glomerulus. *Am J Pathol* 69, 213–224
- Speer CP, Gahr M (Hrsg.): Pädiatrie. 4. Auflage; Springer Berlin, Heidelberg 2013
- Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS (2006): Assessing Kidney Function — Measured and Estimated Glomerular Filtration Rate. *N Engl J Med* 354, 2473–2483
- Stock J, Kuenanz J, Glonke N, Sonntag J, Frese J, Tönshoff B, Höcker B, Hoppe B, Feldkötter M, Pape L et al. (2017): Prospective study on the potential of RAAS blockade to halt renal disease in Alport syndrome patients with heterozygous mutations. *Pediatr Nephrol* 32, 131–137
- Storey H, Savage J, Sivakumar V, Abbs S, Flinter FA (2013): *COL4A3/COL4A4* Mutations and Features in Individuals with Autosomal Recessive Alport Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 24, 1945–1954
- Strutz F, Zeisberg M, Ziyadeh FN, Yang CQ, Kalluri R, Müller GA, Neilson EG, Renziehausen A, Sasic Z (2002): Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int* 61, 1714–1728
- Suleiman H, Zhang L, Roth R, Heuser JE, Miner JH, Shaw AS, Dani A (2013): Nanoscale protein architecture of the kidney glomerular basement membrane. *Elife* 2, e01149
- Tan R, Colville D, Wang YY, Rigby L, Savage J (2010): Alport Retinopathy Results from “Severe” *COL4A5* Mutations and Predicts Early Renal Failure. *Clin J Am Soc Nephrol* 5, 34–38
- Tang S, Sheerin NS, Zhou W, Brown Z, Sacks SH (1999): Apical proteins stimulate complement synthesis by cultured human proximal tubular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 10, 69–76
- Temme J, Peters F, Lange K, Pirson Y, Heidet L, Torra R, Grunfeld JP, Weber M, Licht C, Müller GA, Gross O (2012a): Incidence of renal failure and nephroprotection by RAAS inhibition in heterozygous carriers of X-chromosomal and autosomal recessive Alport mutations. *Kidney Int* 81, 779–783
- Temme J, Kramer A, Jager KJ, Lange K, Peters F, Müller GA, Kramar R, Heaf JG, Finne P, Pals-son R, et al. (2012b): Outcomes of Male Patients with Alport Syndrome Undergoing Renal Replacement Therapy. *Clin J Am Soc Nephrol* 7, 1969–1976
- The GISEN Group (1997): Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. *Lancet* 349, 1857–1863
- Thomas L (Hrsg.): Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. 6. Auflage; TH-Books-Verl.-Ges, Frankfurt/Main 2005
- Uchida N, Kumagai N, Nozu K, Fu XJ, Iijima K, Kondo Y, Kure S (2016): Early RAAS Blockade Exerts Renoprotective Effects in Autosomal Recessive Alport Syndrome. *Tohoku J Exp Med* 240, 251–257

7 Literaturverzeichnis

- U.S. National Library of Medicine; ClinicalTrials.gov. <https://www.clinicaltrials.gov/>; abgerufen am 31.01.2021
- Vandenberg P, Kern A, Ries A, Luckenbill-Edds L, Mann K, Kühn K (1991): Characterization of a type IV collagen major cell binding site with affinity to the alpha 1 beta 1 and the alpha 2 beta 1 integrins. *J Cell Biol* 113, 1475–1483
- Wang Y, Sivakumar V, Mohammad M, Colville D, Storey H, Flinter F, Dagher H, Savige J (2014): Clinical and genetic features in autosomal recessive and X-linked Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 29, 391–396
- Webb NJA, Lam C, Shahinfar S, Strehlau J, Wells TG, Gleim GW, Le Bailly De Tillegem C (2011): Efficacy and safety of losartan in children with Alport syndrome--results from a subgroup analysis of a prospective, randomized, placebo- or amlodipine-controlled trial. *Nephrol Dial Transplant* 26, 2521–2526
- Work DF, Schwartz GJ (2008): Estimating and measuring glomerular filtration rate in children: *Curr Opin Nephrol Hypertens* 17, 320–325
- Yamamura T, Horinouchi T, Nagano C, Omori T, Sakakibara N, Aoto Y, Ishiko S, Nakanishi K, Shima Y, Nagase H, et al. (2020): Genotype-phenotype correlations influence the response to angiotensin-targeting drugs in Japanese patients with male X-linked Alport syndrome. *Kidney Int* 98, 1605–1614
- Yao X, Chen X, Huang G, Yu Y, Xu S, Hu Y, Wang Q, Chen H, Zeng C, Ji D, et al. (2012): Challenge in pathologic diagnosis of Alport syndrome: evidence from correction of previous misdiagnosis. *Orphanet J Rare Dis* 7, 100
- Zeisberg M, Khurana M, Rao VH, Cosgrove D, Rougier JP, Werner MC, Shield CF, Werb Z, Kalouri R (2006): Stage-Specific Action of Matrix Metalloproteinases Influences Progressive Hereditary Kidney Disease. *PLoS Med* 3, e100
- Zhang X, Zhou J, Reeders ST, Tryggvason K (1996): Structure of the Human Type IV Collagen-COL4A6Gene, Which Is Mutated in Alport Syndrome-Associated Leiomyomatosis. *Genomics* 33, 473–479
- Zhao H, Dong Y, Tian X, Tan TK, Liu Z, Zhao Y, Zhang Y, Harris DCh, Zheng G (2013): Matrix metalloproteinases contribute to kidney fibrosis in chronic kidney diseases. *World J Nephrol* 2, 84
- Zhou J, Leinonen A, Tryggvason K (1994): Structure of the human type IV collagen COL4A5 gene. *J Biol Chem* 269, 6608–6614
- Żurowska AM, Bielska O, Dąca-Roszak P, Jankowski M, Szczepańska M, Roszkowska-Bjanid D, Kuźma-Mroczkowska E, Pańczyk-Tomaszewska M, Moczulska A, Drożdż D, et al. (2021): Mild X-linked Alport syndrome due to the COL4A5 G624D variant originating in the Middle Ages is predominant in Central/East Europe and causes kidney failure in midlife. *Kidney Int* 99, 1451–1458

Danksagung

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Oliver Gross für die gebotene Möglichkeit zur Anfertigung einer Promotionsarbeit, für seine ansteckende Begeisterung für die Thematik, für seine Unterstützung und anregenden Diskussionen während der Anfertigung dieser Arbeit und die angenehme berufliche Zusammenarbeit.

Des Weiteren möchte ich mich bei der gesamten Alport-Studiengruppe Göttingen für die herzliche Aufnahme ins Team bedanken.

Weiterer Dank gilt Prof. Dr. Tim Friede und Dr. Markus Harden für ihre Unterstützung im Rahmen der Anfertigung der statistischen Analysen

