

**Abschlussbericht für das Promotionsstipendium
der Roland Ernst Stiftung für Gesundheitswesen**

Genetische Untersuchungen der hereditären polyzystischen Lebererkrankung

**Sierks, Dana
6.12.2021**

Zusammenfassung und Zielstellung

Bei der autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (eng. autosomal dominant polycystic kidney disease – ADPKD) wird als häufigste extrarenale Manifestation eine polyzystische Lebererkrankung (eng. polycystic liver disease – PLD) diagnostiziert. Neben ausgeprägten, organvergrößernden, bilateralen Nierenzysten weist die überwiegende Mehrzahl der PatientInnen auch eine zystisch veränderte Leber auf. In schwer betroffenen Fällen kann die PLD durch die räumliche Verdrängung der umliegenden Organe und Komplikationen wie Einblutungen oder Infektionen einzelner Zysten lebensbedrohlich werden und chirurgische Eingriffe bis hin zur Lebertransplantation für diese PatientInnen indiziert sein. Ursächlich beruht die ADPKD auf pathogenen monoallelischen Varianten in einem der zwei Hauptgene *PKD1* oder *PKD2*. Für die seltenere autosomal dominante polyzystische Lebererkrankung (ADPLD) konnten bislang acht verschiedene Gene verantwortlich gemacht, von denen besonders die Gene *PRKCSH* und *SEC63* zu nennen sind. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass weitere Gene in der Pathogenese dieser Erkrankung eine Rolle spielen, da pathogene Varianten nur etwa 20 % der Fälle mit familiären Leberzysten erklären konnten (Cnossen *et al.* - 2014).

Die umfangreiche Charakterisierung eines Patientenkollektivs am Universitätsklinikum in Leipzig soll zu einem tieferen Verständnis der PLD beitragen. Die konkreten Ziele dieser Dissertation bestehen in:

- genetische Analyse mittels Next-Generation Sequencing (NGS) und Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA) anhand eines vordefinierten Gen-Panels mit insgesamt 11 krankheitsspezifischen Genen (*PKD1*, *PKD2*, *GANAB*, *PRKCSH*, *SEC63*, *SEC61b*, *PKHD1*, *LRP5*, *ALG8*, *ALG9*, *DNAJB11*)
- Korrelation der Genotypen mit klinischen und laborchemischen Parametern als Variablen des Phänotyps

Methoden

Auf der Grundlage des Leipziger Registers für Zystenlebererkrankungen konnten wir insgesamt 80 PatientInnen in unsere Studie einschließen. Dabei konnten PatientInnen inkludiert werden, die am Universitätsklinikum Leipzig in Betreuung waren und mehr als drei Zysten in der Leber aufwiesen. Anhand vorbestehender Bildgebungsstudien (MRT/CT) bestimmten wir anschließend das Volumen sowohl der Leber als auch der Nieren von den PatientInnen durch manuelle Segmentierung in einer speziellen radiologischen Software (*Intellispace Portal, Phillips*). Hierbei extrapolierte das Programm aus händisch markierten Regions-of-Interest (ROIs) ein 3D Modell der Organe aus den Bildgebungsschichten. Nach Erstellung des Modells konnte dann das Volumen der Organe berechnet werden. Für 65 der eingeschlossenen PatientInnen konnte ich anhand dieser Methode das Volumen der Leber und der Nieren bestimmen. Die ermittelten Volumina wurden auf die Körpergröße der PatientInnen normiert und werden als height-corrected total liver/kidney volume bezeichnet (hTLV/hTKV). Letztere dienen als primäre Variablen, um den Schweregrad des Phänotyps zu evaluieren. Für die Untersuchung der Charakteristika haben wir die Kohorte in drei Subgruppen unterteilt, zum einen nach genetischer Assoziation in isolierte PLD (ADPLD) und nicht-isolierte PLD (ADPKD) sowie genetisch ungelöste Fälle (unsolved). Zusätzlich erfolgte eine Unterteilung nach Schweregraden. Hierbei wurde für die Leber die Klassifikation nach Kim H *et al.* (2015) und für die Nieren die Klassifikation nach Irazabal *et al.* (2015) verwendet.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit den Programmen GraphPad Prism und SPSS. Hierbei wurden kategoriale Variablen mittels Chi-Square test und kontinuierliche Variablen mittels

student's t-test oder ANOVA verwendet. Bei nicht normalverteilten Daten wurden die entsprechenden nicht parametrischen Tests angewandt. Korrelationsanalysen sollten Aufschluss über mögliche Zusammenhänge der erhobenen Variablen geben. Außerdem führten wir Überlebenszeit-Analysen mit der Kaplan-Meier Methode durch, bei denen das Risiko für die Listung für eine Lebertransplantation und das Eintreten der ersten krankheitsbezogenen Komplikation in der Leber analysiert wurden.

Weiterhin wurde ein Fragebogen an alle PatientInnen versandt, sodass der aktuelle Stand der Symptomatik erfasst sowie die Daten aus den elektronischen Gesundheitsakten um fehlende Angaben ergänzt werden konnten. In diesem Fragebogen erfragten wir unter anderem den Zeitpunkt der Erstdiagnose, vorhandene Bildgebungsstudien und Familienanamnese der PatientInnen. Für die Auswertung des Fragebogens unterteilten wir die Anzahl an Symptomen in die drei Gruppen milde, moderate und schwere Symptomlast.

Ergebnisse

Die Gesamtkohorte setzte sich aus 81% Frauen und 19% Männern zusammen. Die Mutationsanalyse ergab pathogene oder wahrscheinlich pathogene Variante (klassifiziert nach American Medical College of Genetics (Richards *et al.* – 2015)) bei 60 PatientInnen, sodass diese als genetisch gelöst gelten. 54% der Varianten sind mit ADPKD assoziiert und 27% der Variante erlauben die Zuordnung zur seltenen isolierten ADPLD. Die Subgruppenanalyse der genetisch gelösten Fälle ergab ein ähnliches mittleres Alter bei der Erstdiagnose der PLD, welches jedoch signifikant jünger war als das mittlere Alter der ungelösten Fälle. Ebenso war die Familienanamnese für zystische Organmalformationen signifikant häufiger unter den ersteren zu erheben. Es zeigten sich nur subtile Veränderungen in den Laborwerten, die sich zwischen den genetischen Subgruppen nicht signifikant unterschieden. Wir konnten feststellen, dass die genetisch gelösten Fälle ein deutlich höheres medianes totales Lebervolumen aufwiesen. Die Volumina der Nieren waren in der Gruppe der nicht-isolierten PLD signifikant höher als bei den anderen PatientInnen. Dementsprechend war die Nierenfunktion nur in der ADPKD Subgruppe signifikant herabgesetzt, welches sich in einer pathologisch erniedrigten glomerulären Filtrationsrate widerspiegelte. 44% der PatientInnen unserer Kohorte waren auf der Warteliste für eine Lebertransplantation registriert oder hatten bereits eine Transplantation erhalten, während 26% der PatientInnen eine Nierenerkrankung im Endstadium (ESRD) erreicht hatten. Das mediane Überleben ohne Lebertransplantation war unter den genetisch gelösten Gruppen vergleichbar, jedoch deutlich erniedrigt gegenüber den ungelösten Fällen. Ebenso zeigte die Analyse der Eintrittswahrscheinlichkeit krankheitsbezogener Komplikationen ein signifikant niedrigeres Risiko Letzterer gegenüber den ADPKD und ADPLD assoziierten PatientInnen.

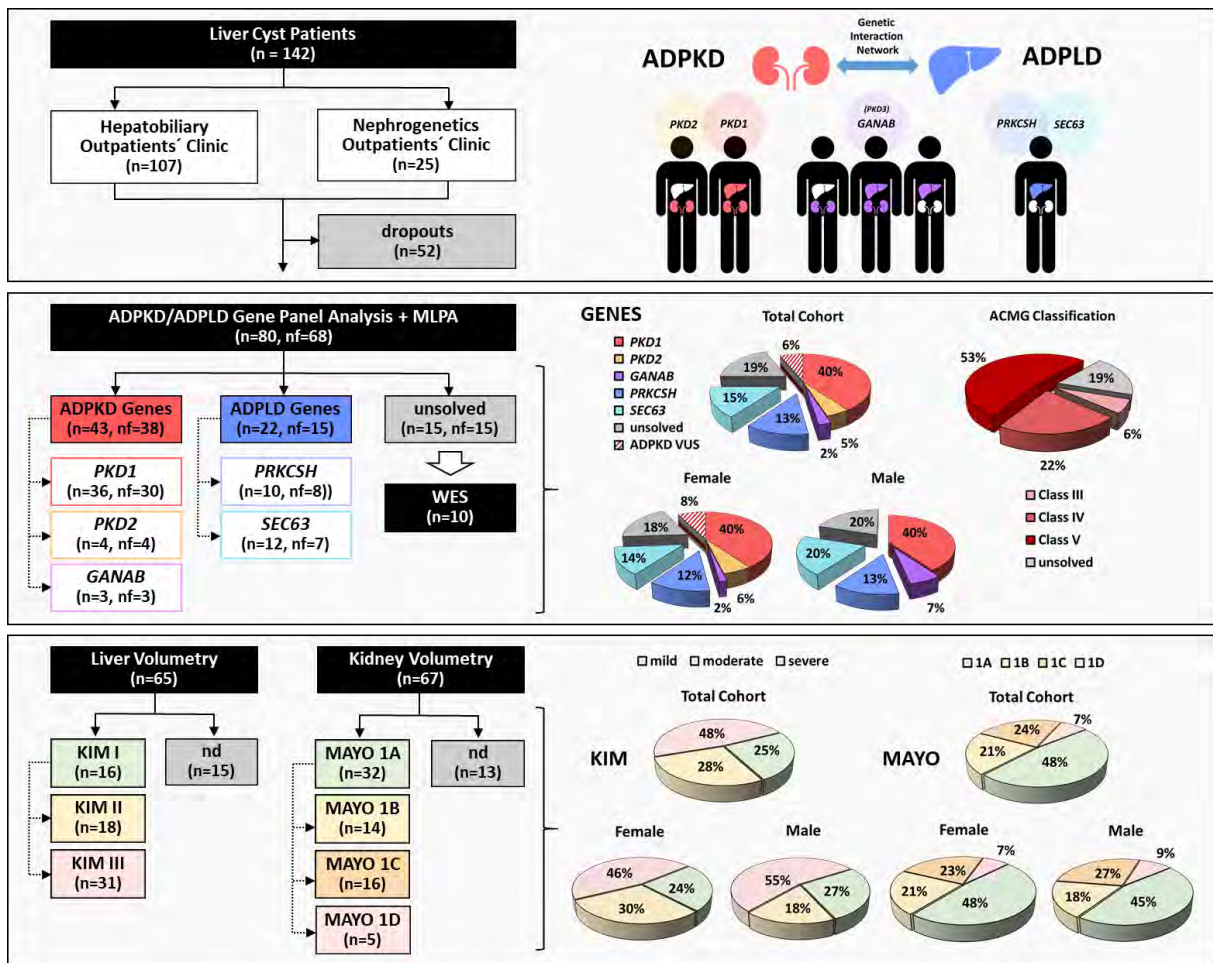


Abbildung 1: Studiendesign: (A) Flow chart der Rekrutierung sowie ein Schema der verschiedenen Ausprägungsformen der PLD; (B) Zusammensetzung der Kohorte nach der genetischen Untersuchung mittels NGS Genpanel und MLPA; (C) phänotypische Charakterisierung anhand etablierter Klassifikationen zum Organvolumen der Leber und der Nieren; nf=number of families, nd=no data, WES= whole exome sequencing

Schlussfolgerung und Ausblick

In unserer Studie konnten wir die Ätiologie die polyzystische Leberdegeneration in 75% der Fälle einer assoziierten pathogenen Variante zuordnen. Obwohl die Manifestation in der Leber sich zwischen der isolierten Form (ADPLD) und der ebenfalls von Zystennieren betroffenen Form (ADPKD) nicht signifikant unterschieden, sind diese Erkrankungen mit einer schwerwiegenderen Ausprägung und einem komplizierteren Verlauf assoziiert als diejenigen ohne derzeit identifizierbare diagnostische Gen-Variante. Die Charakterisierung und Differenzierung schwer Betroffener ist für die Selektion möglicher Kandidaten für prospektive Studien von hoher Bedeutung.

Sowohl die Erhebung der Daten aus den Bildgebungsstudien als auch die Erhebung ergänzender Angaben mittels des Fragebogens sind bereits vollständig abgeschlossen. Ebenso ist die statistische Auswertung der Daten erfolgreich durchgeführt worden. Beim diesjährigen 13. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie habe ich ein Poster unter dem Titel , Comparative Genetic and Clinical Analysis of a Single-Center Patient Cohort with Isolated and Non-Isolated Polycystic Liver Disease' präsentiert. Aktuell ist die Fertigstellung eines Manuskripts zur Einreichung in einem hochrangigen hepatologischen Journal in Arbeit.