

KONGRESSNACHLESE

Neues von der 7. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie (DGfN) – 12.–15. September 2015 Berlin

**CRISPR/Cas9 ermöglicht schnelles „Genom-Editing“**

Die CRISPR/Cas9-Technik ermöglicht gezielte genetische Veränderungen im Genom von Zellen und Organismen. Mit CRISPR/Cas9 kann DNA präzise an einer Stelle geschnitten werden, um entweder ein Gen auszuschalten oder einen zusätzlichen DNA-Abschnitt einzufügen. CRISPR/Cas9 wird durch eine kleine RNA gesteuert, was die Methode schnell und preisgünstig macht. „Erfunden“ wurde das CRISPR/Cas-System von der Natur selbst: Es handelt sich um ein bakterielles adaptives Immunsystem, mit dem ein Bakterium genetisches Fremdmaterial, mit dem es etwa durch Phagen infiziert wurde, gezielt abwehren kann. Dabei werden kurze Abschnitte der fremden DNA in den CRISPR-Locus integriert. Dort erfolgt dann die Transkription in CRISPR-RNAs, die einen Komplex mit Cas-Proteinen bilden. Diese Komplexe sind nun in der Lage, eindringende Phagen-DNA zu erkennen und zu zerschneiden. Im Jahr 2012 wurde in einer bahnbrechenden Arbeit aus den Laboren von Doudna und Charpentier [1] berichtet, dass ein Zwei-Komponenten-System – bestehend aus dem Cas9-Enzym und einer kleinen sequenzspezifisch hergestellten RNA – ausreicht, um frei programmierbar „Genom-Editing“ durchzuführen. Bereits im Januar 2013 zeigten mehrere Arbeiten die Anwendung u. a. in humanen Zellen [2–5]. Dank dieser Technik dauert es beispielsweise nur noch wenige Wochen (früher bis zu Jahren), um eine Knock-out-Maus zu generieren. Wie Prof. Dr. Bernhard Schermer, Köln, berichtet, wurden bereits mehrere Mausmodelle mit dieser Technik in seinem Labor hergestellt.

Erwartungsgemäß wird diese revolutionäre Technik intensive gesellschaftliche Diskussionen und ethische Überprüfungen erfordern. Erstmals erscheint es möglich, dass in der Zukunft die menschliche Keimbahn genomisch editiert werden kann, um etwa Mutationen zu korrigieren oder, vielleicht noch wichtiger, um Gene zu optimieren. Wie Prof. Dr. Schermer weiter ausführte, arbeiten Wissenschaftler daran, mit CRISPR/Cas9 Mücken die Fähigkeit der Malaria-Übertragung zu nehmen (mutagene Kettenreaktion/„Gene Drive“ [6]) und so die Erkrankung perspektivisch auszurotten. Die Chancen und Risiken, die die CRISPR/Cas9-Revolution mit sich bringt, machen die intensive Erforschung der Technik und eine breite Diskussion unabdingbar.

[1] Jinek M et al. Science 2012; 337(6096): 816-821

[2] Cho SW et al. Nat. Biotechnol 2013; 31: 230-232

[3] Cong L Science 2013; 339: 819-823

[4] Jinek M eLife 2013; 2: e00471

[5] Mali P Science 2013; 339: 823-826.

[6] Gantz VM et al. Science 2015; 348(6233): 442-4

miR-Antagonisten als innovativer Therapieansatz bei akutem Nierenversagen?

Nichtcodierende microRNA ist direkt und spezifisch an der Genregulation beteiligt, indem sie bei Bindung an ihre Zielmoleküle in der Regel eine Genabschaltung bewirkt („Gene Silencing“). Etliche zellspezifische miRNAs und ihre Relevanz sind bereits bekannt. So sind bei der akuten Rejektion miR-142-5p, miR-155 und miR-223 herauf- und miR-10b und miR-30a-3p herabreguliert [1]. Bei Fibrosierung findet sich in Peri- und Myofibrozyten besonders viel miR-21 [2]. Die im Urin

messbare miR-210 hat prognostische Relevanz sowohl bei akutem Nierenversagen (Patientenüberleben) als auch bei der T-Zell-vermittelten Abstoßung (GFR-Verlust ein Jahr nach Transplantation), wie PD Dr. Johan Lorenzen, Hannover, ausführte [3].

Ein Eingreifen mittels miR-Antagonisten („Antagomir“) ist heute bereits möglich [4]: Reperfusionsschäden nach Ischämie gehen mit einem Anstieg der Apoptose-assoziierten miR-24 in Tubuluszellen einher. Wie die Studien-Gruppe aus Hannover zeigen konnte, hatte die In-vivo-Inhibition von miR-24 im Tiermodell protektive Effekte, reduzierte die akute Nierenschädigung und verbesserte die Histologie sowie das Überleben [5].

- [1] Anglicheau D et al. Proc Natl Acad Sci 2009; 106 (13): 5330-5
- [2] Chau BN et al. Sci Transl Med 2012; 4 (121): 121ra18
- [3] Lorenzen JM et al. Am J Transplant 2011; 11 (10): 2221-7
- [4] Krützfeldt J et al. Nature 2005; 438 (7068): 685-9
- [5] Lorenzen JM et al. JASN 2014; 25 (12): 2717-29

STOP-IgAN-Studie spricht für die optimierte supportive Therapie, aber lokales Kortikosteroid ist am Horizont

Die STOP-IgAN-Studie [1] ist bislang die größte randomisierte klinische Studie zur IgA-Nephropathie und wurde industrieunabhängig durchgeführt, wie Prof. Dr. Jürgen Floege, Aachen, betonte. Die Studie sollte klären, ob zusätzlich zur optimierten supportiven Therapie (Zielblutdruck < 125/75 mmHg, Statin-Therapie, Diätberatung, Nikotinentwöhnung, Vermeidung von NSAIDs) eine systemische Immunsuppression bei Patienten mit IgA-Nephropathie und einer GFR ≥ 30 ml/min/1,73 m² von Vorteil ist. Primäre Endpunkte waren die Zahl der Patienten in Vollremission sowie ein GFR-Verlust von > 15 ml/min/1,73 m². Zunächst durchliefen alle 373 eingeschlossenen Patienten eine sechsmonatige „Run-in“-Phase, in der sie konservativ behandelt wurden. Wie sich zeigte, konnte in dieser Phase bereits bei knapp 30% der Betroffenen die Proteinurie

auf unter 0,75 g/Tag gesenkt werden, so dass sie nicht mehr den Einschlusskriterien entsprachen und aus der Studie ausgeschlossen wurden. Die verbliebenen 177 Patienten wurden schließlich randomisiert: Sie erhielten weiterhin entweder die intensivierete supportive Therapie oder zusätzlich eine Immunsuppression mit Kortikosteroiden (Patienten mit einer GFR ≥ 60 ml/min/1,73 m²) bzw. eine immunsuppressive Kombinationstherapie aus Kortikosteroiden/Cyclophosphamid/Azathioprin (Patienten mit einer GFR zwischen 30 und < 60 ml/min/1,73 m²). Zwar war die Immunsuppression im Hinblick auf die Rate an Vollremissionen überlegen, hinsichtlich des GFR-Verlusts zeigte sich aber kein Vorteil, auch der Effekt auf die Proteinurie war lediglich vorübergehend. Allerdings hatten die Patienten unter Immunsuppression deutlich mehr Nebenwirkungen. Prof. Dr. Floege zog das Fazit, dass in diesem Patientenkollektiv mit mittlerer Proteinurie (> 3,5 g/Tag war Ausschlusskriterium) eine systemische Immunsuppression zu hinterfragen sei. Eine zukünftige Therapiealternative könnte evtl. Nefecon, ein lokal wirksames Kortikosteroid, darstellen. Studien dazu laufen und erste Ergebnisse werden auf dem ASN im November erwartet.

- [1] STOP-IgAN: nicht publizierte Daten von Floege J et al. Vorgestellt auf der 7. Jahrestagung der DGfN in Berlin.

Neues MGN-Antigen: THSD7A

Die morphologischen Merkmale der membranösen Glomerulonephritis (MGN) sind subepitheliale, elektronendichte Immundepots. Diese können u. a. entstehen, wenn Auto-Antikörper an Podozyten binden. Dieses Phänomen wurde bereits 1982 beschrieben, es dauerte allerdings 30 Jahre, bis die Identifizierung des PLA2R-Antikörpers gelang. Es konnte dann gezeigt werden, dass ca. 70% aller MGN-Patienten PLA2R-Antikörper aufweisen.





Wie Dr. Elion Hoxha, Hamburg, ausführte, wurde am UKE ein Antikörper-Screening bei PLA2R-Antikörper-negativen Patienten des dortigen GN-Registers durchgeführt. Mit Hilfe der Massenspektrometrie sowie anderer molekularbiologischer Methoden (Immunelektrophorese, rekombinante Expression, Testung mit Antikörpern etc.) gelang Tomas et al. [1] im vergangenen Jahr die Identifizierung von THSD7A (Thrombospondin type-1 domain-containing 7A) als zweites wichtiges Antigen der MGN. Etwa 3-5% aller PLA2R-Antikörper-negativen Patienten weisen Antikörper gegen THSD7A auf und scheinbar gibt es eine Exklusivität der Antikörper gegen PLA2R und THSD7A – bislang wurde jedenfalls kein MGN-Patient mit beiden Antikörpertypen identifiziert.

[1] Tomas NM et al. N Engl J Med 2014; 371(24): 2277-87

Phosphatbelastung: Stimulus des FGF23-Anstiegs oder lediglich ein Begleitphänomen?

Man geht derzeit davon aus, dass der frühzeitige FGF23-Anstieg bei nierenkranken Patienten eine Gegenreaktion auf die erhöhte Phosphatbelastung des Körpers aufgrund abnehmender Nierenfunktion ist: FGF23 erhöht die Phosphaturie und drosselt die Vitamin-D-Produktion, um die intestinale Phosphatresorption zu hemmen. Prof. Dr. Danilo Fliser, Homburg/Saar, äußerte jedoch Zweifel an diesem Konzept. So gebe es Daten, die zeigen, dass nierengesunde Intensivpatienten im kardiogenen Schock ebenfalls enorm erhöhte FGF23-Spiegel aufwiesen – demnach könne die Regulierung des Calcium-Phosphat-Stoffwechsels nicht alleiniger Stimulus des FGF23-Anstiegs sein.

Unbestritten ist FGF23 aber ein aussagekräftiger kardialer Marker: Seiler et al. [1] zeigten, dass FGF23 mit Herzinsuffizienz und Tod korreliert, und in der großen CRIC-Studie [2] erwies sich das phosphaturische Hormon als ein starker Prädiktor für zukünftige Ereignisse (Herzinsuffizienz und kardiale Dekompensation). Einer neuen Auswertung der EVOLVE-Daten [3] zufolge ist FGF23 auch „Player“: Patienten, bei denen die Therapie mit Cinacalcet zu einer deutlichen Senkung des FGF23 geführt hatte, profitierten im Hinblick auf kardiovaskuläre Ereignisse.

Ein weiteres Dogma, das Prof. Dr. Fliser hinterfragte, ist die Notwendigkeit des Co-Rezeptors Klotho zur Aktivierung des FGF23-Rezeptors, da jüngst ein Klotho-unabhängiger Signalweg, der Calcineurin-Signalweg, beschrieben wurde, über den FGF23 wirken kann [4]. Welche Bedeutung Klotho aber letztlich zukomme, könne noch nicht abschließend gesagt werden. In der Studie von Seiler et al. [1] zeigte sich zum Beispiel entgegen den Erwartungen keine Korrelation zwischen Klotho und kardiovaskulären Ereignissen. Prof. Dr. Fliser gab allerdings zu bedenken, dass der ELISA-Test zwar verlässlich lösliches Klotho messe, aber möglicherweise nicht selektiv das „nierenrelevante“ α -Klotho.

[1] Seiler S et al. Kidney Int 2013; 83(1): 121-8

[2] Scialla JJ et al. J Am Soc Nephrol 2014; 25(2): 349-60

[3] Moe SM et al. Circulation. 2015; 132(1): 27-39

[4] Olauson H et al. Semin Nephrol 2014; 34(6): 586-97

PD-assoziierte Peritonitis – Welche Diagnostik ist erforderlich?

Prof. Dr. Thomas Mettang, Wiesbaden, betonte die Bedeutung der frühzeitigen Diagnostik der PD-assoziierten Peritonitis. Wichtig sei, nach der klinischen Untersuchung des Patienten auch die Austrittsstelle des Katheters sowie Tunnel und Auslauf zu inspizieren und vom Dialysat aerobe und anaerobe Kulturen anzulegen. Ein häufiges Problem in der Praxis seien dabei falsch negative Kulturen. Hauptursachen sind – neben schlechter Präanalytik – das Vorhandensein von Antibiotika, entweder bei aktueller systemischer Einnah-

me oder bei bereits antibiotisch vorbereitetem Beutel durch Kontamination des Auslaufes im Rahmen des „Flush-before-Fill“-Vorgehens. Außerdem sollte eine initiale Gramfärbung erfolgen, so können insbesondere Pilze frühzeitig erkannt und entsprechend antimykotisch behandelt werden. Bei tuberkulöser Peritonitis bleiben Routine-Kulturen steril. Die Diagnose einer Pilzperitonitis kann zusätzlich erschwert werden, da sich die Zellzahl und -art (Granulozyten sind ebenfalls vorhanden) im Dialysat von einer bakteriellen Peritonitis nicht unterscheidet.

Praxistipp

Vereinfachten PET-Test korrekt durchführen

Nach Auslauf des Nachtbeutels (kein Icodextrin!) im Sitzen werden zwei Liter einer körperwarmen Dialysatlösung mit 2,3 % Glukose eingelassen (im Liegen mit Lagewechsel nach rechts und links). Zu Beginn, nach zwei und nach vier Stunden werden Dialysatproben (Glukose, Kreatinin, Harnstoff) entnommen. Eine Blutentnahme (Glukose, Kreatinin, Harnstoff) erfolgt nach 2 Stunden. Nach vier Stunden erfolgt der vollständige Auslauf (über 20 Minuten im Sitzen), das Volumen wird notiert. Computergestützt werden die Dialysat-Plasma-Quotienten von Kreatinin und Harnstoff zu den drei Zeitpunkten sowie das jeweilige Verhältnis der Glukosekonzentrationen zur Ausgangslösung errechnet und aufgezeichnet. Die Programme ermöglichen dann eine direkte Zuordnung anhand der Kurvenverläufe zum Transporter-Typ.

Für spezielle Fragestellungen stehen modifizierte bzw. verkürzte Tests mit höherer Glukosekonzentration (3,86 %) zur Verfügung (Mini-PET, „doppelter“ Mini-PET, Natriumknick-Test und andere), wie Dr. Martin Kimmel, Stuttgart, ausführte.

Autoren:
Dr. phil. Bettina Albers, albersconcept
Dr. med. Martina Berthold, albersconcept
Dr. med. Martina Fliser, Limbach Gruppe
Bildnachweis:
© Aey Congresse GmbH, Fotograf: Michael Lindner

Stand: Oktober / 2015

Ihr Ansprechpartner:
Dr. med. Martina Fliser
Fachärztin für Laboratoriumsmedizin
Fachbereichsleiterin Nephrologie
E-Mail: nephrologie@limbachgruppe.com
Telefon: +49 6221 3432-432

Für Sie vor Ort

Aachen

MVZ Labor Aachen Dres. Riebe & Cornely GbR
Pauwelsstraße 30 | 52074 Aachen
Tel.: +49 241 47788-0

Berlin

MDI Laboratorien GmbH
Sonnenburger Straße 70 | 10437 Berlin
Tel.: +49 30 443364-200
www.mdi-labor.de

Berlin

MVZ Labor Limbach Berlin GbR
Aroser Allee 84 | 13407 Berlin
Tel.: +49 30 890645-0
www.mvz-labor-berlin.de

Bonn

MVZ Labor Limbach Bonn GmbH
Schieffelingsweg 28 | 53123 Bonn
Tel.: +49 228 928975-0
www.labor-limbach-bonn.de

Cottbus

Gemeinschaftslabor Cottbus
MVZ für Labormedizin, Mikrobiologie und
Infektionsepidemiologie GbR
Uhlandstraße 53 | 03050 Cottbus
Tel.: +49 355 58402-0
www.labor-cottbus.de

Dessau

MVZ Labor Dessau GmbH
Bauhüttenstraße 6 | 06847 Dessau
Tel.: +49 340 54053-0
www.laborpraxis-dessau.de

Dortmund

MVZ Labor Dortmund Leopoldstraße GbR
Leopoldstraße 10 | 44147 Dortmund
Tel.: +49 231 86027-0
www.labor-dortmund.de

Dresden

MVZ Dresden Labor Möbius, Quasdorf GbR
Köhlerstraße 14 A | 01239 Dresden
Tel.: +49 351 47049-0
www.labordresden.de

Erfurt

MVZ Labor Limbach Erfurt GmbH
Nordhäuser Straße 74 | 99089 Erfurt
Tel.: +49 361 781-2701
www.labor-erfurt.de

Essen

MVZ Labor Eveld & Kollegen GbR
Nienkampstraße 1 | 45326 Essen
Tel.: +49 201 8379-0
www.labor-eveld.de

Freiburg

MVZ Clotten
Labor Dr. Haas, Dr. Raif & Kollegen GbR
Merzhäuser Straße 112a | 79100 Freiburg
Tel.: +49 761 31905-0
www.labor-clotten.de

Hamburg

MVZ Praxis im Chilehaus GmbH
Fischertwiete 2 | 20095 Hamburg
Tel.: +49 40 709755-0
www.praxis-chilehaus.de

Hannover

MVZ Labor Limbach Hannover GbR
Auf den Pohläckern 12 | 31275 Lehrte
Tel.: +49 5132 8695-0
www.labor-limbach-hannover.de

Heidelberg

MVZ Labor Dr. Limbach & Kollegen GbR
Im Breitspiel 16 | 69126 Heidelberg
Tel.: +49 6221 3432-0
www.labor-limbach.de

Hofheim

MVZ Medizinisches Labor Main-Taunus GbR
Hofheimer Straße 71 | 65719 Hofheim
Tel.: +49 6192 9924-0
www.labor-hofheim.de

Karlsruhe

MVZ Labor PD Dr. Volkmann und Kollegen GbR
Kriegsstraße 99 | 76133 Karlsruhe
Tel.: +49 721 85000-0
www.laborvolkmann.de

Langenhagen

Kinderwunschzentrum Langenhagen-Wolfsburg MVZ
Ostpassage 9 | 30853 Langenhagen
Tel.: +49 511 97230-0
www.kinderwunsch-langenhagen.de

Leipzig

MVZ Labor Dr. Reising-Ackermann
und Kollegen GbR
Strümpellstraße 40 | 04289 Leipzig
Tel.: +49 341 6565-100
www.labor-leipzig.de

Ludwigsburg

MVZ Labor Ludwigsburg GbR
Wernerstraße 33 | 71636 Ludwigsburg
Tel.: +49 7141 966-0
www.mvz-labor-lb.de

Magdeburg

MVZ Limbach Magdeburg GmbH
Halberstädter Straße 49 | 39112 Magdeburg
Tel.: +49 391 62541-0
www.gerinnungszentrum-md.de

Mönchengladbach

MVZ Dr. Stein + Kollegen GbR
Tomphecke 45 | 41169 Mönchengladbach
Tel.: +49 2161 8194-0
www.labor-stein.de

München

MVZ Labor Limbach München GmbH
Richard-Strauss-Straße 80-82 | 81679 München
Tel.: +49 89 9992970-0
www.labor-limbach-muenchen.de

Münster

MVZ Labor Münster GbR
Dr. Löer, Prof. Cullen und Kollegen
Hafenweg 9-11 | 48155 Münster
Tel.: +49 251 60916-0
www.labor-muenster.de

Nürnberg

MVZ Labor Limbach Nürnberg GmbH
Lina-Ammon-Straße 28 | 90471 Nürnberg
Tel.: +49 911 817364-0
www.labor-limbach-nuernberg.de

Passau

MVZ Labor Passau GbR
Wörth 15 | 94034 Passau
Tel.: +49 851 9593-0
www.labor-passau.de

Ravensburg

MVZ Labor Ravensburg GbR
Elisabethenstraße 11 | 88212 Ravensburg
Tel.: +49 751 502-0
www.labor-gaertner.de

Rosenheim

Medizinisches Labor Rosenheim MVZ GbR
Pettenkoferstraße 10 | 83022 Rosenheim
Tel.: +49 8031 8005-0
www.medlabor.de

Schweinfurt

MVZ Labor Schweinfurt GmbH
Gustav-Adolf-Straße 8 | 97422 Schweinfurt
Tel.: +49 9721 533320
www.laboraerzte-schweinfurt.de

Schwerin

Labor MVZ Westmecklenburg GbR
Ellerried 5-7 | 19061 Schwerin
Tel.: +49 385 64424-0
www.labor-schwerin.de

Stralsund

MVZ Stralsund GmbH
Große Parower Straße 47-53
18435 Stralsund
Tel.: +49 3831 668770
www.mdz-vorpommern.de

Suhl

MVZ Gemeinschaftslabor Suhl
Dr. Siegmund & Kollegen GbR
Albert-Schweitzer-Straße 4 | 98527 Suhl
Tel.: +49 3681 39860
www.labor-suhl.de

Ulm

MVZ Humangenetik Ulm GbR
Karlstraße 31-33 | 89073 Ulm
Tel.: +49 731 850773-0
www.humangenetik-ulm.de

Wuppertal

MVZ Limbach Wuppertal
Hauptstraße 76 | 42349 Wuppertal
Tel.: +49 202 450106
www.endokrinologie-wuppertal.de

Limbach Gruppe SE

Im Breitspiel 15 | 69126 Heidelberg
Tel.: +49 6221 1853-0 | Fax: +49 6221 1853-374
info@limbachgruppe.com | www.limbachgruppe.com