

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5\*1/\*3*-Polymorphismus auf Therapie und Prognose nach Nierentransplantation

#### 4.1.1 Allel- und Genotypverteilung

Insgesamt wurden n=798 Individuen untersucht (je n=399 Empfängern und Spendern). Die Häufigkeit des *CYP3A5\*3*-Allels betrug bei den Transplantatempfängern 91% und bei den Transplantatspendern 93%. Für das *CYP3A5\*1*-Allel lag die Häufigkeit bei 9% für die Empfänger und bei 7% für die Spender. Die Genotyphäufigkeiten lagen bei den Transplantatempfängern bei 1,5% (n=6) für den *CYP3A5\*1/\*1*-, 14% (n=56) für den *CYP3A5\*1/\*3*- und 84,5% (n=337) für den *CYP3A5\*3/\*3*-Genotyp. Bei den Spendern lagen die Genotyphäufigkeiten bei 1,3% (n=5) für den *CYP3A5\*1/\*1*-, 10,5% (n=42) für den *CYP3A5\*1/\*3*- und 88,2% (n=352) für den *CYP3A5\*3/\*3*-Genotyp (Tab.3). Die Werte für die Genotypverteilung berechnet auf der Allelverteilung lagen für Transplantatempfänger und -spender in Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium.

**Tab. 3**  
***CYP3A5\*1/\*3*-Genotyp- und Allelverteilung**

<i>CYP3A5</i>	NTX-Empfänger (n=399)		NTX-Spender (n=399)	
	n	%	n	%
<i>*1/*1</i>	6	1,5	5	1,3
<i>*1/*3</i>	56	14,0	42	10,5
<i>*3/*3</i>	337	84,5	352	88,2
<i>*1</i> -Allel	68	9	52	7
<i>*3</i> -Allel	730	91	746	93

Für die weitere Auswertung wurden Träger des *CYP3A5\*1/\*1*-Genotyps mit Trägern des *CYP3A5\*1/\*3*-Genotyps zur Gruppe der *CYP3A5\*1*-Allelträger zusammengefasst und im Vergleich zur Gruppe der *CYP3A5\*1*-Nichtallelträgern mit *CYP3A5\*3/\*3*-Genotyp untersucht. Dabei wurden die *CYP3A5\*1*-Allelträger als Patienten mit positivem *CYP3A5\*1*-Status (+ *CYP3A5\*1*) bezeichnet und die Nichtallelträger als Patienten mit negativem *CYP3A5\*1*-Status (- *CYP3A5\*1*).

#### 4.1.2 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5\*1/\*3*-Polymorphismus auf die Konzentration und Dosierung von Cyclosporin

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der *CYP3A5\*1*-Allelträgern und der Nichtträger hinsichtlich Alter, Anteil weiblicher Patienten, Anzahl diabetischer Nephropathien, Nichtübereinstimmungen im HLA-System sowie Ischämiezeit und Anzahl der Todspenden. Der Anteil an Patienten, die zum ersten Mal ein Transplantat erhielten war in beiden Gruppen gleich, ebenso das Auftreten von Hypertonie vor und 1 Jahr nach Transplantation. (Tab. 4)

**Tab. 4**  
**Charakteristika der Transplantatempfänger und -spender insgesamt und aufgeteilt nach *CYP3A5\*1*-Status**

	Gesamt	- <i>CYP3A5*1</i>	+ <i>CYP3A5*1</i>
Anzahl	399	337	62
Alter Empfänger (Jahre)	44,1 ± 12,4	44,5 ± 12,8	42,1 ± 13,4
Anteil weiblicher Empfänger (%)	39	39	40
Anzahl diabetischer Nephropathien	31 (7,8%)	24 (7,1%)	7 (11,2%)
HLA mismatch Punkte	6,3 ± 4,9	6,3 ± 4,9	6,4 ± 4,7
Ischämiezeit (h)	19,8 ± 7,9	19,8 ± 7,8	19,8 ± 8,2
Anzahl Todspenden	379 (95%)	320 (95%)	59 (95%)
Patienten mit 1.Tx	333 (83%)	285 (85%)	48 (77%)
Alter der Spender (Jahre)	41,0 ± 16,3	41,6 ± 15,9	37,7 ± 18,2
Anteil weiblicher Spender (%)	36	36	37
Anteil Hypertoniker vor Tx (%)	50	51	48
Anteil Hypertoniker 1 Jahr nach Tx (%)	58	58	57

Cyclosporindosis, Cyclosporindosierung pro kg Körpergewicht, Talspiegelkonzentration und dosisangepaßte Talspiegelkonzentration der Patienten wurden in Abhängigkeit vom *CYP3A5\*1*-Allel untersucht. Dabei zeigte das Vorliegen des *CYP3A5\*1*-Allels bei den Transplantatempfängern und damit die Expression von *CYP3A5* keinen signifikanten Einfluss auf die Cyclosporindosierung oder den Talspiegel von Cyclosporin im Blut, sowohl mit als auch ohne Dosisanpassung (Tab. 5).

Die bis 1990 mittels Abbott TDx Methode gemessenen Werte der Talspiegelkonzentrationen und der dosisadjustierten Talspiegelkonzentrationen zeigten sich bei den Transplantatempfängern mit *CYP3A5\*1*-Allel leicht erhöht im Vergleich zur Gruppe der Transplantatempfänger ohne *CYP3A5\*1*-Allel, jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant (P=0,35, bzw. P=0,31).

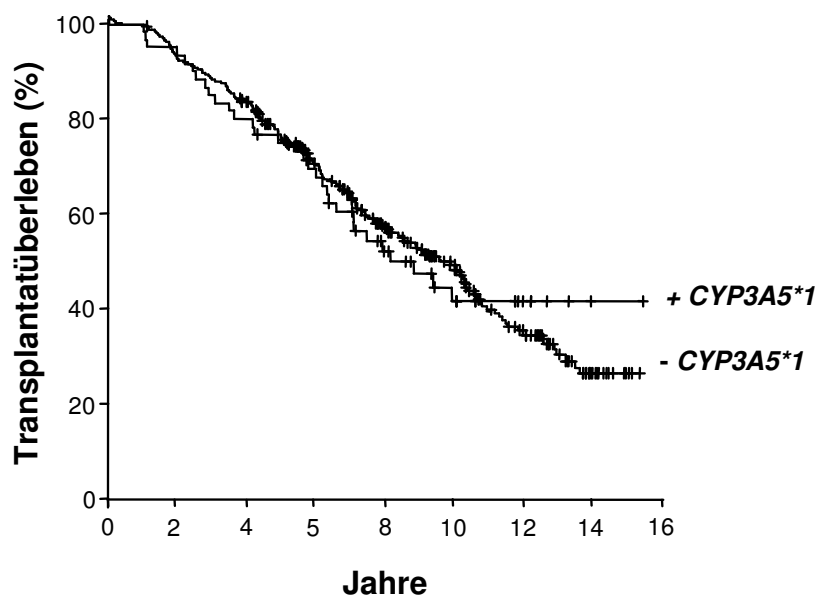
**Tab. 5**  
**Cyclosporindosierung und Konzentration bei allen Transplantatempfängern und aufgeteilt nach *CYP3A5\*1*-Status**

	Gesamt	- <i>CYP3A5*1</i>	+ <i>CYP3A5*1</i>
Anzahl	399	337	62
CsA Dosis (mg/d)	263 ± 92,0	264 ± 94,8	260 ± 75,8
CsA Dosis pro kg KG (mg/kg)	3,89 ± 1,92	3,90 ± 2,00	3,83 ± 1,41
CsA Testmethode: TDx (n)	159	133	26
CsA Talspiegel (ng/mL)	211 ± 55,0	206 ± 48,6	230 ± 66,6
Dosis-angepaßter CsA Talspiegel (ng/mL pro mg/kg)	60,5 ± 23,9	59,7 ± 24,8	64,9 ± 18,4
CsA Testmethode: IMx (n)	240	204	36
CsA Talspiegel (ng/mL)	147 ± 38,0	147 ± 37,2	147 ± 42,7
Dosis-angepaßter CsA Talspiegel (ng/mL pro mg/kg)	43,6 ± 17,4	43,9 ± 17,8	41,6 ± 15,5

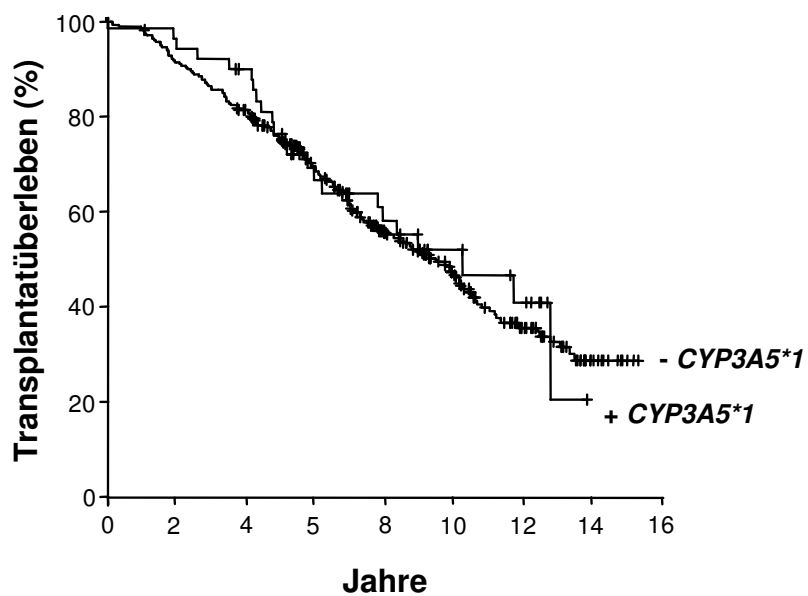
#### 4.1.3 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5\*1*/*\*3*-Polymorphismus auf das Transplantatüberleben

Das Transplantatüberleben wurde in Abhängigkeit vom Vorliegen des *CYP3A5\*1*-Allels bei Empfängern wie auch bei Spendern untersucht. Es konnte jedoch kein signifikanter Einfluss, weder durch Kaplan-Meier-Kurven (Abb. 8 und Abb. 9), noch durch multivariate Cox-Überlebens-Analyse mit Anpassung etablierter Risikofaktoren auf das Transplantatüberleben festgestellt werden.

Ebenso war die Anzahl der Patienten, die eine oder mehrere akute Rejektionsepisoden während dem ersten Jahr nach Transplantation erlebten, nicht durch den Allelstatus beeinflusst.



**Abb. 8**  
Transplantatüberleben (Kaplan-Meier-Kurve) in Abhängigkeit zum *CYP3A5\*1*-Status des Empfängers (P=0,96)



**Abb. 9**  
Transplantatüberleben (Kaplan-Meier-Kurve) in Abhängigkeit zum *CYP3A5\*1*-Status des Spenders (P=0,69)

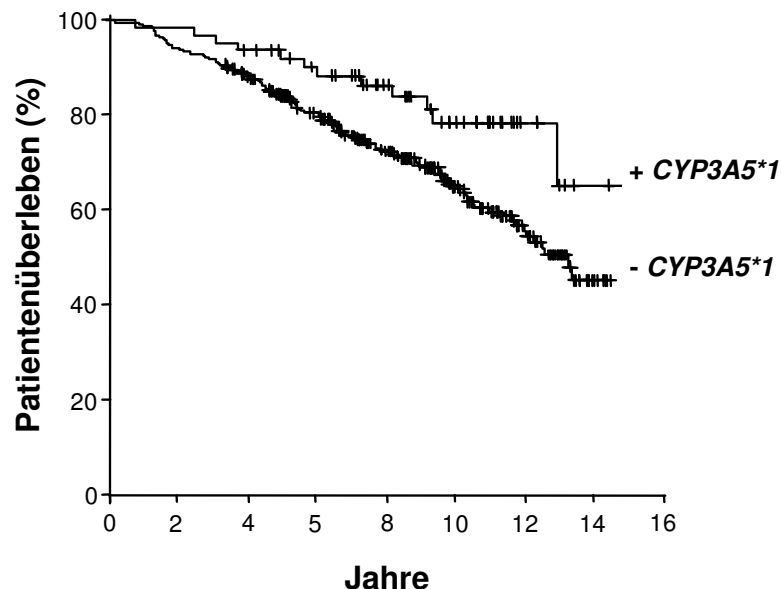
#### 4.1.4 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5*\*1/\*3-Polymorphismus auf das Patientenüberleben

Neben dem Einfluss des *CYP3A5*\*1-Allels auf das Überleben des Transplantats wurde ebenfalls ein möglicher Einfluss auf das allgemeine Überleben der Patienten untersucht.

Dabei ergab die univariate Überlebensanalyse, dass bei Transplantatempfängern mit *CYP3A5*\*1-Allel das Langzeitüberleben der Patienten signifikant höher war im Vergleich zu Patienten die kein *CYP3A5*\*1-Allel trugen ( $P=0,028$ ) (Abb. 10) und zwar mit einer Hazard Ratio von 0,50 (95%-Konfidenzintervall 0,26-0,97).

Nach Einschluss des *CYP3A5*\*1-Genotyps der Transplantatempfänger in eine multivariate Cox-Regressions-Analyse, in der die Hauptrisikofaktoren für den Tod der Patienten, einschließlich Empfängeralter, systolischer Blutdruck und Diagnose einer diabetischen Nephropathie, einbezogen waren, zeigte sich ebenfalls, dass das *CYP3A5*\*1-Allel mit einem signifikant protektiven Effekt verbunden war. Bei der Untersuchung des Überlebens der Patienten nach Verlust des Transplantats blieb der protektive Effekt des *CYP3A5*\*1-Allels bestehen, sowohl in einer univariaten Analyse ( $P=0,014$ ; 95%-Konfidenzintervall 0,048-0,84) als auch in einer multivariaten Analyse ( $P=0,0226$ ; 95%-Konfidenzintervall 0,056-1,10).

Es konnten keine Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit der Haupttodesursachen, einschließlich kardiovaskulärer Erkrankungen, Infekte und maligne Tumore, zwischen den Allelgruppen beobachtet werden.



**Abb. 10**  
Patientenüberleben (Kaplan-Meier-Kurve) in Abhängigkeit vom *CYP3A5*\*1-Status ( $P=0,028$ )

#### 4.1.5 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5*\*1/\*3-Polymorphismus auf den Blutdruck

Der Blutdruck der Patienten wurde in Abhängigkeit vom Vorliegend des *CYP3A5*\*1-Allel der Transplantatempfänger untersucht. Dabei zeigte sich kein Einfluss auf die mittleren Werte für systolischen und diastolischen Blutdruck sowie die Anzahl der zur Behandlung eingesetzten Antihypertensiva. Um einen möglichen Einfluss des Allelstatus des Spenderorgans auf die Blutdruckregulation zu untersuchen, wurde der Blutdruck des Transplantatempfängers ebenfalls in Abhängigkeit zum Allelstatus des Spenders, bzw. des Spenderorgans ausgewertet. Auch hier zeigte sich kein Einfluss des *CYP3A5*\*1-Allels auf die mittleren Werte für systolischen und diastolischen Blutdruck sowie die Anzahl der zur Behandlung eingesetzten Antihypertensiva (Tab. 6).

**Tab. 6**  
**Blutdruck, antihypertensive Medikation, Anzahl akuter Abstoßungen und Serumkreatinin in Abhängigkeit zum *CYP3A5*\*1-Status des Empfängers und des Spenders**

	Gesamt	- <i>CYP3A5</i> *1	+ <i>CYP3A5</i> *1
<b>Empfänger</b>			
Anzahl	399	337	62
Systolischer Blutdruck (mmHg)	143 ± 15	144 ± 15	142 ± 16
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	86 ± 9	86 ± 9	87 ± 11
Anzahl Antihypertensiva	1,39 ± 1,00	1,39 ± 1,06	1,40 ± 1,01
2 oder mehr akute Abstoßungen	10 %	11 %	10 %
Serumkreatinin 1 Jahr nach Tx	164,9 ± 66,2	165,9 ± 65,8	159,5 ± 68,2
<b>Spender</b>			
Anzahl	399	352	47
Systolischer Blutdruck (mmHg)	143 ± 15	142 ± 15	145 ± 15
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	86 ± 9	86 ± 9	86 ± 9
Anzahl Antihypertensiva	1,39 ± 1,10	1,38 ± 1,00	1,49 ± 1,10
2 oder mehr akute Abstoßungen	8 %	8 %	6 %
Serumkreatinin 1 Jahr nach Tx	164,7 ± 66,1	164,5 ± 66,1	167,9 ± 66,9

Ebenso waren die Serumkreatininwerte ein Jahr nach Transplantation nicht durch den Allelstatus - weder des Empfängers noch des Spenderorgans - beeinflusst. Die Anzahl an Patienten mit zwei oder mehreren akuten Abstoßungen innerhalb des ersten Jahres zeigte keinen Unterschied zwischen *CYP3A5*\*1-Allelträgern und Nichtträgern, sowohl bei Transplantatempfänger als auch bei Spendern (Tab. 6).

## 4.2 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5*\*1/\*3-Polymorphismus auf die Prognose unter Dialysetherapie

Um die Ergebnisse der NTX-Studie mit signifikant längerer Überlebenszeit für Träger des *CYP3A5*\*1-Allels in einer anderen Population zu verifizieren bzw. um zu untersuchen, ob dieser Effekt unabhängig von einer Nierentransplantation und der damit verbundenen langfristigen Cyclosporintherapie war, wurde eine weitere Patientenpopulation zur Untersuchung herangezogen. Hierbei handelte es sich um kaukasische Dialysepatienten, die eine chronische Dialyse als Ersttherapie erhielten und bei denen keine Transplantation durchgeführt wurde.

Der *CYP3A5*\*1/\*3-Genotyp wurde mit dem bereits genannten TaqMan SNP Genotyping Assay in dieser Population bestimmt und ein möglicher Einfluss des *CYP3A5*\*1/\*3-Polymorphismus auf das Überleben in dieser Patientengruppe untersucht.

### 4.2.1 Allel- und Genotypverteilung

Es wurden insgesamt n=399 Individuen untersucht. Dabei betrug Häufigkeit des *CYP3A5*\*3-Allels 93%, die des *CYP3A5*\*1-Allels 7%.

Die Genotyphäufigkeiten lagen bei 0,8% (n=3) für den *CYP3A5*\*1/\*1-, 13% (n=52) für den *CYP3A5*\*1/\*3- und 86,2% (n=344) für den *CYP3A5*\*3/\*3-Genotyp (Tab. 7). Die Werte für die Genotypverteilung berechnet auf der Allelverteilung waren in Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium. Auch hier wurden, wie in der NTX-Population, für die weitere Auswertung Träger des *CYP3A5*\*1/\*1-Genotyps mit Trägern des *CYP3A5*\*1/\*3-Genotyps zu einer Gruppe mit n=55 Individuen zusammengefasst und als Patienten mit positivem *CYP3A5*\*1-Status (+ *CYP3A5*\*1) im Vergleich zur Gruppe der Nicht-*CYP3A5*\*1-Allelträgern (n=344) mit negativem *CYP3A5*\*1-Status (- *CYP3A5*\*1) untersucht.

**Tab. 7**  
***CYP3A5* Genotyp- und Allelverteilung in der NECOSAD-Population**

<i>CYP3A5</i>	NECOSAD (n=399)	
	n	%
*1/*1	3	0.8
*1/*3	52	13.0
*3/*3	344	86.2
*1-Allel	58	7.3
*3-Allel	740	92.7

#### 4.2.2 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5\*1/\*3*-Polymorphismus auf Überleben von Patienten unter Dialysetherapie

Es zeigten sich keine Unterschiede hinsichtlich Alter, Frauenanteil, Anteil der Patienten, die mit einer Hämodialyse behandelt wurden, Anteil an primären Nierenerkrankungen, Blutdruck und Nierenfunktionsparametern zwischen der Gruppe der *CYP3A5\*1*-Allelträger und der der Nichtträger (Tab. 8).

**Tab. 8**  
**Allgemeine Charakteristika aller Dialysepatienten und aufgeteilt in Abhängigkeit vom *CYP3A5\*1*-Status**

	Gesamt	- <i>CYP3A5*1</i>	+ <i>CYP3A5*1</i>
Anzahl	399	344	55
Alter (Jahre)	59,4 ± 14,0	60 ± 14	58 ± 13
Frauen (%)	37	37	33
Hämodialyse (%)	68	69	64
Primäre Nierenerkrankung (%)			
Diabetes mellitus	16	15	24
Glomerulonephritis	12	13	9
Renale Gefäßerkrankung	16	15	20
Andere	56	58	47
Systolischer Blutdruck (mmHg)	149 ± 25	150 ± 25	146 ± 21
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	83 ± 13	83 ± 13	83 ± 14
Albumin (g/l)	35,1 ± 6,2	35,1 ± 6,1	35,3 ± 6,5
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,4 ± 4,6	25,5 ± 4,7	24,7 ± 3,5
Kreatinin (µmol/L)	711 ± 214	714 ± 208	685 ± 263
Harnstoff (mmol/L)	23,8 ± 5,8	23,9 ± 5,9	23,4 ± 5,1
Renal Kt/V <sub>urea</sub> pro Woche	3,0 ± 1,0	3,0 ± 1,0	2,9 ± 1,0
rGFR (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	4,0 ± 3,4	4,0 ± 3,5	4,0 ± 2,9

Alle Variablen wurden zu Beginn der Dialyse gemessen, außer rGFR und renale Kt/V<sub>urea</sub>, die drei Monate nach Beginn der Dialyse gemessen wurden.

Mittelwert ± Standardabweichung sind für fortlaufend gemessene Variablen gegeben

Die Untersuchung von Faktoren, die einen Einfluss auf das Patientenüberleben haben könnten, zeigte keinen Unterschied zwischen den Gruppen. Der Grad der Komorbidität, eingeteilt nach dem Khan-Index, war bei *CYP3A5\*1*-Allelträgern und Nichtträgern gleich verteilt (Tab. 9). Ebenso war der jeweilige Anteil der verschiedenen zusätzlichen Erkrankungen und die Medikation in beiden Gruppen gleich. Einzig das Auftreten eines Schlaganfalls war in der Gruppe der *CYP3A5\*1*-Allelträger signifikant erniedrigt (P<0,05).



**Tab. 9**  
**Krankheitscharakteristika aller Dialysepatienten und aufgeteilt in Abhängigkeit vom CYP3A5\*1-Status**

	Gesamt	- CYP3A5*1	+ CYP3A5*1
Anzahl	399	344	55
Grad der Komorbidität <sup>a</sup> (%)			
Gering	37	37	36
Medium	36	35	42
Hoch	27	28	22
Art der Komorbidität (%)			
Diabetes mellitus <sup>b</sup> (%)	23	22	32
Maligner Tumor(%)	12	12	9
Schlaganfall <sup>d</sup> (%)	9	10	2
Myokardinfarkt (%)	10	10	11
Angina pectoris (%)	12	11	15
Kardiale Dekompensation (%)	10	10	13
Perivaskuläre Funktionsstörung (%)	15	15	19
Chronische Lungenfunktionsstörung (%)	9	10	7
Chronische gastro-intestinale Erkrankung (%)	6	5	7
Psychiatrische Erkrankung (%)	2	2	0
Andere chronische Funktionsstörungen (%)	10	10	9
Andere Erkrankungen (%)	1	1	2
Medikation			
Antihypertensiva <sup>c</sup> (%)	87	88	85
Erythropoetin (%)	68	68	65
Cholesterinsenker(%)	27	25	41
Aspirin (%)	23	23	19
Kumarine (%)	12	11	17
Andere kardiovaskuläre AM (%)	21	21	19
Vitaminsergänzung (%)	77	77	80
Phosphatbindende AM (%)	81	82	72
Insulin (%)	14	13	15
Eisen (%)	42	43	39
Gastro-intestinale AM (%)	30	31	22
Schlaf induzierende AM (%)	16	17	13

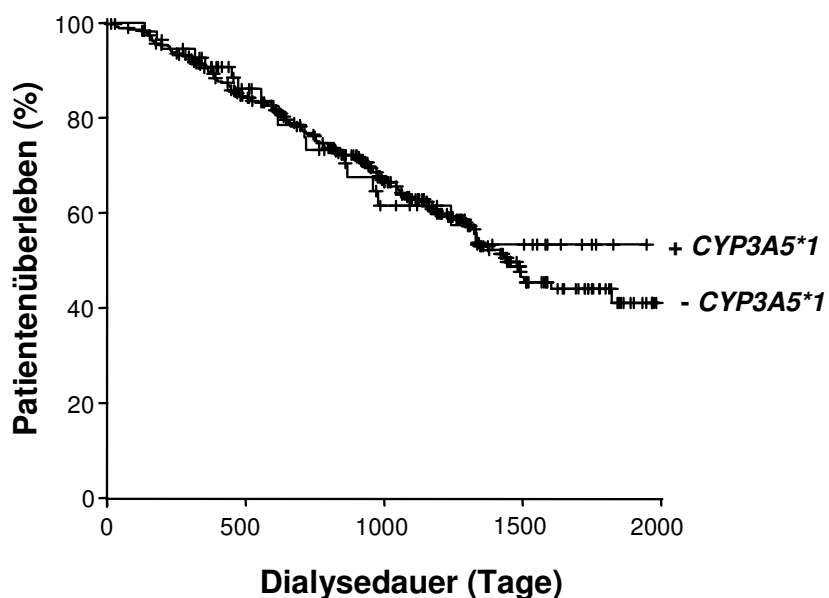
<sup>a</sup>Khan Index.

<sup>b</sup>Beinhaltet Patienten mit Diabetes mellitus als Komorbidität oder als primäre Nierenerkrankung.

<sup>c</sup>Beinhaltet den Einsatz von  $\beta$ - und  $\alpha$ 1-Blockern, nicht-selektive  $\beta$ - and  $\alpha$ -Blocker, zentral wirkende  $\alpha$ 2-Agonisten, Diuretika, Calcium-Kanal-Blocker, ACE-Hemmer, Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten und Vasodilatoren

<sup>d</sup>P < 0,05

Bei der Untersuchung des Überlebens der Patienten unter Dialysebehandlung mittels Kaplan-Meier-Kurve zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit *CYP3A5\*1*-Allel und Patienten, die kein *CYP3A5\*1*-Allel trugen (Abb. 11). Die Hazard Ratio lag in einfacher Analyse bei 0,89 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0,19-1,23. Nach Anpassung sowohl an das Alter zum Beginn der Dialyse als auch an die Komorbidität, eingeteilt nach Khan Index, lag die Hazard Ratio bei 1,07 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0,47–1,43.



**Abb. 11**  
Patientenüberleben (Kaplan-Meier-Kurve) in Abhängigkeit zum *CYP3A5\*1*-Status (P=0,69)

### 4.3 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5*\*1/\*3-Polymorphismus auf den Blutdruck in der Allgemeinbevölkerung

Der Einfluss des *CYP3A5*\*1-Allels auf den Blutdruck in der Allgemeinbevölkerung wurde im Rahmen der PREVEND-Studie in einer großen Kohorte von Kaukasiern untersucht. Der *CYP3A5*\*1/\*3-Genotyp wurde mittels des oben genannten TaqMan SNP Genotyping Assays bei n=6.777 Personen bestimmt und im Hinblick auf die Blutdruckwerte sowie die 24-Stunden Natriumexkretion im Urin untersucht.

#### 4.3.1 Allel- und Genotypverteilung

Die Häufigkeit des *CYP3A5*\*3-Allels lag in der untersuchten Population mit insgesamt n=6.140 untersuchten Individuen bei 93%. Für das *CYP3A5*\*1-Allel lag die Häufigkeit bei 7%. Die Genotypenverteilung betrug 0,65% (n=43) für den *CYP3A5*\*1/\*1-, 12,6 % (n=858) für den *CYP3A5*\*1/\*3- und 86,75% (n=5.976) für den *CYP3A5*\*3/\*3-Genotyp. (Tab. 10). Die Werte für die Genotypverteilung berechnet auf der Allelverteilung waren in Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Equilibrium.

**Tab. 10**  
***CYP3A5*-Genotyp- und Allelverteilung in der PREVEND-Population**

<i>CYP3A5</i>	PREVEND (n=6140)	
	n	%
*1/*1	43	0,65
*1/*3	858	12,6
*3/*3	5976	86,75
*1-Allel	944	7
*3-Allel	12610	93

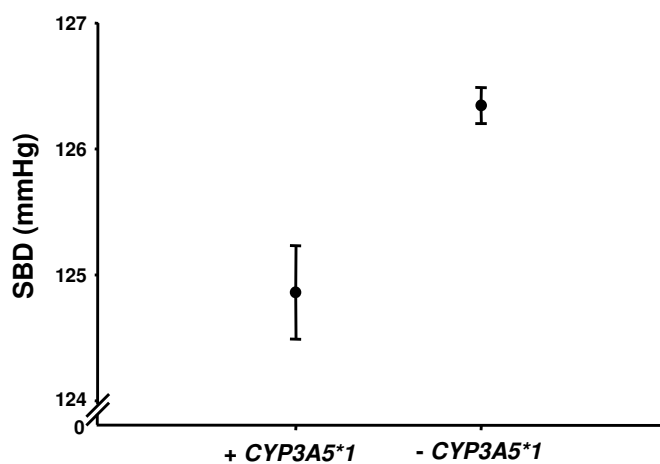
#### 4.3.2 Untersuchung des Einfluss des *CYP3A5*\*1/\*3-Polymorphismus auf den Blutdruck in der Allgemeinbevölkerung

In der untersuchten Kohorte zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen hinsichtlich des Alters, Auftreten von Bluthochdruck, Body-Mass-Index, Raucherstatus, Cholesterin und renale Funktionsparameter, einschließlich Serumkreatinin, Kreatininclearance, Albuminsekretion im Urin und Auftreten von Mikroalbuminurie (Tab. 11). Bei männlichen Trägern des *CYP3A5*\*1-Allels war die 24h-Natriumausscheidung niedriger als bei *CYP3A5*\*3/\*3-Individuen ( $P < 0,05$ ), wohingegen die Natriumausscheidung bei weiblichen Individuen keinen signifikanten Unterschied zeigte.

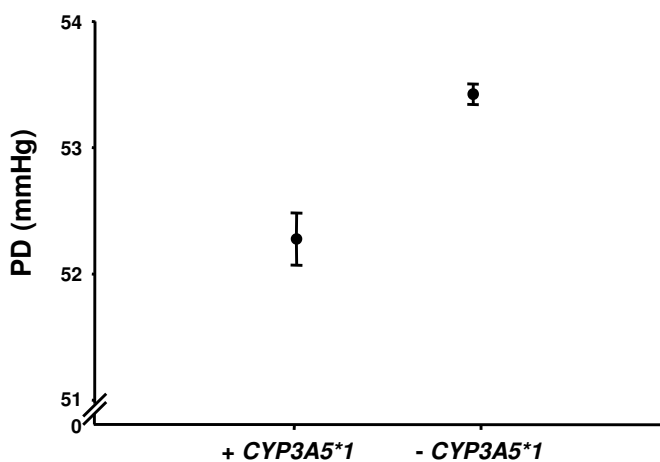
**Tab. 11**  
**Charakteristika der PREVEND-Population insgesamt und aufgeteilt nach CYP3A5\*1/\*3-Genotyp und Geschlecht**

	Gesamt	CYP3A5*1/*1	CYP3A5*1/*3	CYP3A5*3/*3
<b>Männer</b>	3344	23	414	2907
Alter (Jahre)	49,0 ± 12,6	51,9 ± 11,6	49,5 ± 13,0	48,1 ± 11,0
Hypertonie, n (%)	954 (28,5)	6 (26,1)	118 (28,5)	830 (28,5)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,0 ± 3,6	24,8 ± 2,6	26,0 ± 3,4	26,0 ± 3,6
Raucher, n (%)	1311 (39,2)	11 (47,8)	156 (37,7)	1144 (39,4)
Cholesterol (mmol/l)	5,7 ± 1,1	5,6 ± 1,2	5,6 ± 1,1	5,7 ± 1,1
Median-Albuminexkretion/Urin (25.-75.Perzentile)(mg/24 h)	10,1 (6,8-19,4)	7,5 (5,7-14,1)	9,9 (6,6,-18,8)	10,1 (6,8-19,6)
Mikroalbuminurie (%)	14,9	9,1	13,1	13,5
Serumkreatininkonzentration (µmol/l)	90,9 ± 20,8	90,5 ± 12,6	90,0 ± 12,4	91,0 ± 21,8
Kreatininclearance (ml/min pro 1,73 m <sup>2</sup> )	95,9 ± 20,5	92,1 ± 19,8	95,7 ± 20,3	96,0 ± 20,5
Natriumexkretion/Urin (mmol/24 h)	158,4 ± 52,4	148,2 ± 47,4	151,9 ± 50,8	159,4 ± 52,6
<b>Frauen</b>	3433	20	444	2969
Alter (Jahre)	46,9 ± 11,8	48,1 ± 11,0	46,4 ± 11,8	47,0 ± 11,9
Hypertonie, n (%)	560 (16,3)	2 (10,0)	67 (15,1)	491 (16,5)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,4 ± 4,4	25,3 ± 5,1	25,4 ± 4,5	25,5 ± 4,4
Raucher, n (%)	1370 (39,9)	11 (55,0)	190 (42,8)	1169 (39,4)
Cholesterol (mmol/l)	5,7 ± 1,2	5,7 ± 1,2	5,5 ± 1,1	5,6 ± 1,2
Median der Albuminexkretion im Urin (25.-75. Perzentile) (mg/24 h)	8,3 (5,8-13,4)	8,5 (6,3-16,3)	8,0 (5,8-14,7)	8,2 (5,8-13,3)
Mikroalbuminurie (%)	8,5	10,0	10,1	8,3
Serumkreatininkonzentration (µmol/l)	75,3 ± 10,6	74,6 ± 9,7	75,5 ± 9,3	75,4 ± 10,8
Kreatininclearance (ml/min pro 1,73 m <sup>2</sup> )	91,4 ± 19,6	86,8 ± 15,6	92,9 ± 20,6	91,2 ± 19,5
Natriumexkretion im Urin (mmol/24 h)	125,4 ± 42,7	117,2 ± 44,5	126,7 ± 44,3	125,2 ± 42,4

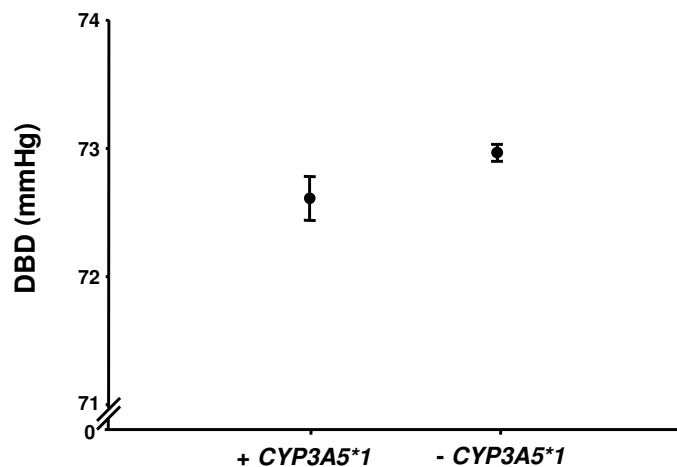
In der überwiegend normotensiven Gesamtpopulation war das Vorliegen des *CYP3A5\*1*-Allels in einer allgemeinen linearen Regressionsanalyse, in die Männer und Frauen nach einer Altersanpassung eingeschlossen waren, mit einem erniedrigten systolischen Blutdruck (-1,53 mmHg,  $P=0,012$ ) (Abb. 12) und einem niedrigeren Pulsdruck (-1,13 mmHg,  $P=0,008$ ) verbunden (Abb. 13). Dagegen beeinflusste der Allelstatus den diastolischen Blutdruck nicht signifikant (-0,4 mmHg,  $P=0,20$ ) (Abb. 14). Nach logistischer Regressionsanalyse und Anpassung an zusätzliche Hintergrundvariablen blieb dieser Effekt bestehen.



**Abb. 12**  
Systolischer Blutdruck in Abhängigkeit vom Allelstatus ( $P=0,012$ )



**Abb. 13**  
Pulsdruck in Abhängigkeit vom Allelstatus ( $P=0,008$ )



**Abb. 14**  
**Diastolischer Blutdruck in Abhängigkeit vom Allelstatus (P=0,20)**

Bei der Durchführung einer Subgruppenanalyse für die einzelnen Geschlechter zeigte sich, dass der Effekt des *CYP3A5\*1*-Allels auf den systolischen Blutdruck und den Pulsdruck nur bei Frauen auftrat (Tab. 12) wobei in der Regressionsanalyse formal keine signifikante Interaktion zwischen Genotyp und Geschlecht nachweisbar war. Dabei zeigte sich der Effekt unabhängig vom menopausalen Status oder dem Einsatz einer Östrogensersatztherapie. Die Anzahl an Individuen, die den *CYP3A5\*1/\*1*-Genotyp trugen war mit  $n=43$  zu gering, um eine abschließende separate Analyse in dieser Gruppe durchzuführen. Dennoch wurden die niedrigsten Werte für systolischen Blutdruck und Pulsdruck für Männer und Frauen in der jeweiligen Gruppe der Träger des homozygoten *CYP3A5\*1*-Allels gefunden (SBP: Männer = 129,3 mmHg vs. 131,7 und 132,3 mmHg; Frauen = 119,1 mmHg vs. 120,0 und 121,9 mmHg; PD: Männer = 52,2 mmHg vs. 55,5 und 56,1 mmHg; Frauen = 46,4 mmHg vs. 50,6 und 51,6 mmHg). Das allgemeine Auftreten von Hypertonie in der Studienpopulation, die nur Hypertoniker ohne medikamentöse Therapie beinhaltete, betrug insgesamt 22% und war bei Männern signifikant höher als bei Frauen (28,5% vs. 16,3%,  $P<0,001$ ). Die angepassten Odds Ratios in einer logistischen Regressionsanalyse für Hypertonie bei Männern und Frauen in Abhängigkeit von der Anwesenheit des *CYP3A5\*1*-Allels waren nicht signifikant (0,90 und 0,87;  $P=0,37$  und  $P=0,28$ ). Um eine mögliche Verfälschung aufgrund der Auswahl der Studienpopulation auszuschließen, wurde der Zusammenhang zwischen Genotyp und Hypertonie außerdem bei Individuen untersucht, die wegen antihypertensiver Medikation von der Untersuchung ausgeschlossen wurden, jedoch wurden auch hier keine signifikanten Unterschiede gefunden.

**Tab. 12**  
**Einfluss des *CYP3A5*-Genotyps auf systolischen (SBD), diastolischen (DBD) und Pulsdruck (PD) bei Männern und Frauen**

	<i>CYP3A5</i> *1/*1	<i>CYP3A5</i> *1/*3	<i>CYP3A5</i> *3/*3	B	P
<b>Männer</b>					
SBD	129,3 ± 19,5	131,7 ± 16,7	132,2 ± 17,8		
Altersadjustiert				1,0	0,21
Voll adjustiert				1,0	0,21
DBD	77,0 ± 9,5	76,2 ± 9,1	76,1 ± 9,4		
Altersadjustiert				0	0,95
Voll adjustiert				0	0,97
PD	52,2 ± 14,4	55,5 ± 11,6	56,1 ± 12,5		
Altersadjustiert				1,1	0,07
Voll adjustiert				1,0	0,08
<b>Frauen</b>					
SBD	119,1 ± 14,3	120,0 ± 17,5	121,9 ± 19,1		
Altersadjustiert				1,6	0,04
Voll adjustiert				1,6	0,04
DBD	72,7 ± 8,2	69,3 ± 8,7	70,4 ± 8,7		
Altersadjustiert				0,7	0,08
Voll adjustiert				0,7	0,07
PD	46,4 ± 12,0	50,6 ± 12,2	51,6 ± 13,7		
Altersadjustiert				1,2	0,04
Voll adjustiert				1,1	0,05

B = Blutdruckeffekt im Vergleich von *CYP3A5*\*1-Allelträgern zu *CYP3A5*\*1-Nichtträgern nach linearer Regressionsanalyse nach Altersadjustierung, bzw. nach vollständiger Adjustierung

P = Signifikanz des Beitrags des Genotyps zum Modell

Eine mögliche Interaktion zwischen Genotyp und der Natriumausscheidung im Urin wurde ebenfalls in Zusammenhang mit dem Blutdruck untersucht. Dabei wurde in einem linearen Regressionsmodell kein Zusammenhang zwischen Genotyp und Natriumausscheidung beobachtet wenn der lineare Effekt der Natriumausscheidung auf den Blutdruck bewertet wurde. Dagegen zeigte sich eine bessere Anpassung bei der Analyse der Natriumausscheidung als quadratische Variable in Relation zum Blutdruck. Hier wurde in einer Multivariat-Analyse eine signifikante Interaktion zwischen Genotyp und der quadrierten Natriumausscheidung im Urin in beobachtet (P=0,01). Im Bereich einer Natriumausscheidung zwischen 100 und 200 mmol/24 h zeigten *CYP3A5*\*1-Allel Träger gleich bleibend einen niedrigeren systolischen Blutdruck im Vergleich zu homozygoten *CYP3A5*\*3-Trägern mit einer maximalen Reduktion von 2 mmHg (P=0,038), wohingegen

dieser Unterschied zwischen den unterschiedlichen Genotypgruppen in den Bereichen von unter 100 mmol/24 h und über 200 mmol/24 h nicht auftrat.

#### 4.4 Untersuchungen zur Expression von CYP3A-Isoenzymen im Tiermodell

##### 4.4.1 Homologievergleich der CYP3A-Isoenzyme

Aus der Nukleotid-Datenbank des NCBI wurden die mRNA-Sequenzen für alle sechs Isoenzyme erhalten. Der Vergleich der mRNA-Sequenzen zwischen den Ratten CYP3A-Isoenzymen und den human CYP3A4 und CYP3A5 wurde mittels der BLAST-Analyse (bl2seq) des NCBI durchgeführt. Dabei zeigte sich größte Übereinstimmung der mRNA-Sequenzen zwischen Mensch und Ratte für die humane CYP3A4-Sequenz und der mRNA-Sequenz für das CYP3A9-Isoenzym (81%). Die Sequenz dieses CYP3A-Isoenzym wies ebenfalls die größte Übereinstimmung mit der des humanen CYP3A5 auf (80%) (Tab. 13).

**Tab. 13**  
Vergleich (bl2seq) zwischen den mRNA-Sequenzen der CYP3A-Isoenzyme von Mensch und Ratte

	CYP3A4 NM_017460*	CYP3A5 NM_000777
CYP 3A1	78 %	78 %
CYP 3A2	77 %	76 %
CYP 3A9	81 %	80 %
CYP 3A18	77 %	76 %
CYP 3A23	78 %	77 %
CYP3 A62	78 %	78 %

\* = Accession-Nummer

Ebenfalls wurden die mRNA-Sequenzen der CYP3A-Isoenzyme der Ratte untereinander verglichen (Tab. 14). Dabei zeigte sich eine sehr hohe Übereinstimmung zwischen dem CYP3A1- und dem CYP3A23-Isoenzym, die bei 98% lag. Die nächst höchste Übereinstimmung bestanden zwischen dem CYP3A1- und dem CYP3A2-Isoenzym mit 90%.

**Tab. 14**  
Vergleich (bl2seq) der mRNA-Sequenzen der Ratte untereinander

	CYP3A1 NM_173144	CYP3A2 NM_153312	CYP3A9 NM_147206	CYP3A18 NM_145782	CYP3A23 X96721	CYP3A62 NM_001024232
CYP 3A1	-	90 %	77 %	77 %	98 %	80 %
CYP 3A2	90 %	-	79 %	76 %	89 %	78 %
CYP 3A9	77 %	79 %	-	76 %	78 %	84 %
CYP 3A18	77 %	76 %	76 %	-	77 %	78 %
CYP 3A23	98 %	89 %	78 %	77 %	-	80 %
CYP 3A62	80 %	78 %	84 %	78 %	80 %	-



Zum Zeitpunkt der Analyse waren in der Protein Datenbank des NCBI die Proteinsequenzen von CYP3A4 und CYP3A5 sowie CYP3A1, CYP3A2, CYP3A9 und CYP3A18 aufgeführt. Diese wurden mittels der Protein-Protein-BLAST-Analyse des NCBI (blastp) verglichen. Dabei wurde die größte Übereinstimmung zwischen Mensch und Ratte wieder zwischen dem CYP3A4 und dem CYP3A9-Isoenzym (76%) gefunden. Die größte Übereinstimmung des humanen CYP3A5 mit einem Isoenzym der Ratte zeigte sich für CYP3A9 mit einer Übereinstimmung von 75% (Tab. 15).

**Tab. 15**  
**Vergleich (blastp) zwischen den Protein-Sequenzen der CYP3A-Isoenzyme von Mensch und Ratte**

	CYP3A4 (h) P08684	CYP3A5 (h) NP_000768	CYP3A1 (r) P04800	CYP3A2 (r) P05183	CYP3A9 (r) P51538	CYP3A18 (r) NP_665725
CYP 3A4	-	84%	73 %	72 %	76 %	68 %
CYP 3A5	84 %	-	72%	70 %	75 %	68 %
CYP 3A1	73 %	72%	-	88 %	73 %	70 %
CYP 3A2	72 %	70%	88 %	-	72 %	67 %
CYP 3A9	76 %	75%	73 %	72 %	-	68 %
CYP 3A18	68 %	68%	70 %	67 %	68 %	-

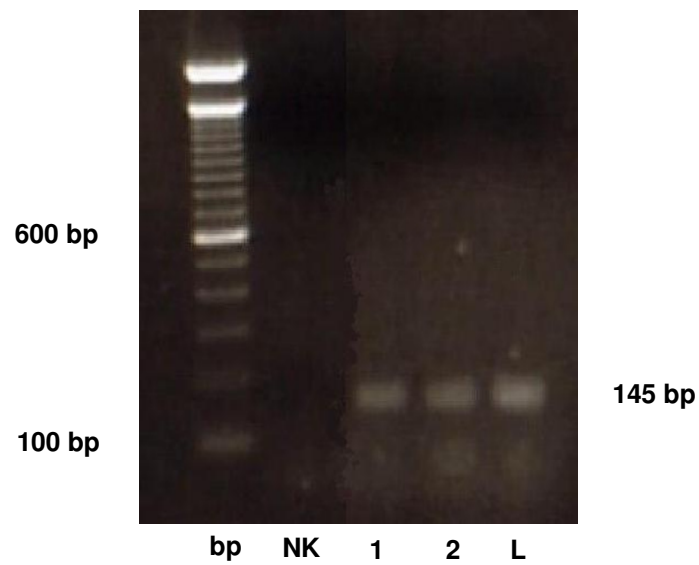
(h) = Mensch, (r) = Ratte

#### 4.4.2 Untersuchung der qualitative Expression der CYP3A-Isoenzyme

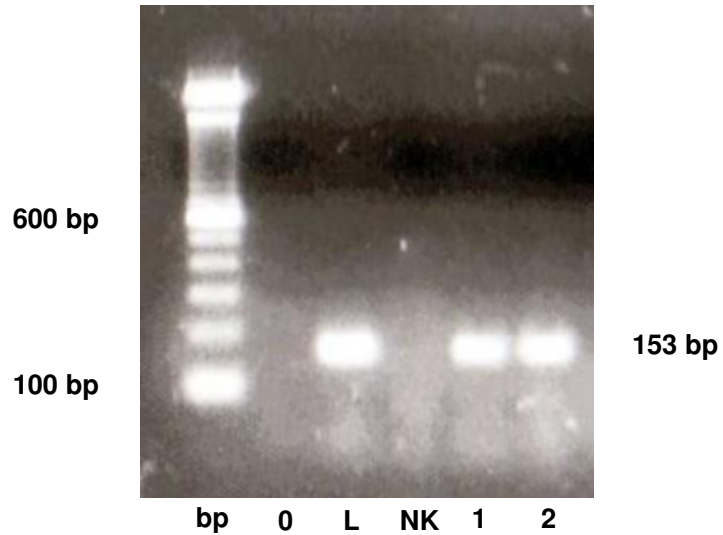
Die Expression der vier am häufigsten beschriebenen CYP3A-Isoenzyme wurde qualitativ untersucht. Dazu wurde die durch RT-PCR gewonnene cDNA vom Cortex adulter SHR (14 Wochen) und WKY (16 Wochen) mit enzysmspezifischen Primern amplifiziert und die erhaltenen PCR-Produkte nach Gellauf unter UV-Licht vergleichend untersucht.

Als Positiv-Kontrolle diente cDNA, welche aus Lebergewebe von WKY gewonnen wurde. Durch Sequenzierung der PCR-Produkte der Leber-cDNA wurde die Spezifität der Primer bestätigt.

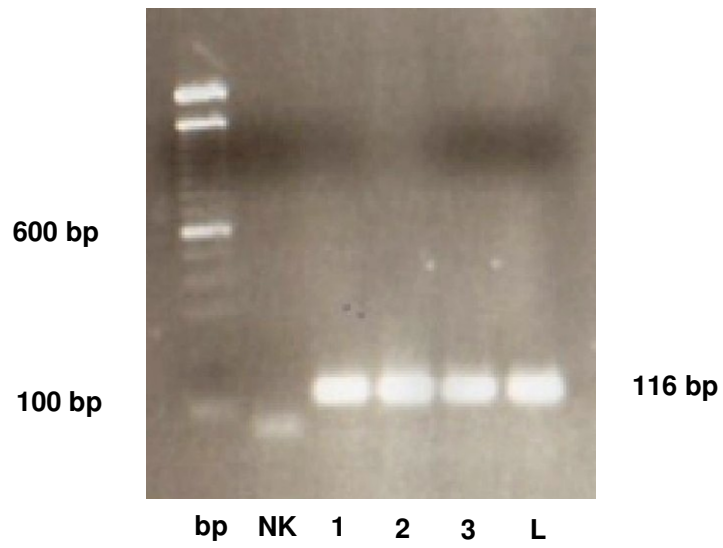
Für CYP3A1 konnte, trotz Einsatz verschiedener Primerpaare, die an unterschiedliche Abschnitte der mRNA Sequenz anlagerten, nur im Lebergewebe eine Expression beobachtet werden, nicht jedoch im Cortex - weder bei SHR noch bei WKY Tieren. Dagegen konnte für CYP3A2, CYP3A18 und CYP3A9 eine Expression sowohl in der Leber, als auch im Cortex von SHR und WKY beobachtet werden. Eine vergleichende Untersuchung der Größe und Intensität der PCR-Produkte auf dem Gel deutet an, dass bei CYP3A2 eine stärkere Expression des Gens in der Leber als in der Niere statt findet (Abb. 15). Bei CYP3A9 erscheint die Expression in Niere und Leber gleich stark zu sein. (Abb. 16) ebenso bei CYP3A18 (Abb. 17).



**Abb. 15**  
Gellauf mit PCR-Produkten für CYP3A2 (Primerpaar: CYP3A2-898-F/CYP3A2-1042-R;bp=100bp-Leiter, NK=Negativ-Kontrolle, 1=WKY-Cortex, 2=SHR-Cortex, L=Leber als Positiv-Kontrolle)



**Abb. 16**  
Gellauf mit PCR-Produkten für CYP3A9 (Primerpaar: CYP3A2-1121-F/CYP3A2-1273-R;bp=100bp-Leiter, 0=Leer, L=Leber als Positiv-Kontrolle, NK=Negativ-Kontrolle, 1=WKY-Cortex, 2=SHR-Cortex)



**Abb. 17**  
Gellauf von PCR-Produkten für CYP3A18 (Primerpaar: CYP3A18-304-F/CYP3A18-428-R; bp=100bp-Leiter, NK=Negativ-Kontrolle, 1+2=WKY-Cortex, 3=SHR-Cortex, L=Leber als Positiv-Kontrolle)