

Aus dem
CharitéCentrum 4 für Therapieforschung
Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Direktor: Prof. Dr. med. Reinhold Kreutz

Habilitationsschrift

Genetik und Pharmakogenetik bei renalen Erkrankungen – Implikationen für eine personalisierte Therapie

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Klinische Pharmakologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Juliane Bolbrinker

Eingereicht: November 2017
Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachter: Prof. Dr. med. L. Wojnowski
2. Gutachter: Prof. Dr. med. L. C. Rump

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungen	3
1. Einleitung.....	4
1.1 Genetik und Arzneimitteltherapie.....	4
1.2 Pharmakogenetische Aspekte der Cytochrom P450 3A-Subfamilie	5
1.3 Bedeutung genetischer Varianten von <i>CYP3A5</i> für die Effektivität und Sicherheit der medikamentösen Therapien nach Nierentransplantation	8
1.4 Bedeutung genetischer Varianten von <i>Uromodulin</i> für die Krankheitsausprägung bei renalen Erkrankungen	10
1.5 Fragestellung und Zielsetzung	14
2. Eigene Arbeiten	15
2.1 Pharmakogenetische Aspekte der <i>CYP3A5</i> -Expression und ihre Bedeutung im Kontext der Nierentransplantation	15
2.1.1 Rolle des <i>CYP3A5</i> -Genotyps für das Ausmaß und die Lokalisation der intrarenalen Expression.....	15
2.1.2 Einfluss des <i>CYP3A5</i> -Genotyps auf die renale <i>CYP3A5</i> -Expression im Nierentransplantat und die Effektivität der Glukokortikoid-Therapie bei akuter Transplantatabstoßung	20
2.1.3 Einfluss des <i>CYP3A5</i> -Genotyps auf das Patientenüberleben nach Nierentransplantation	31
2.2 <i>UMOD</i> als Kandidatengen bei renalen Erkrankungen	39
2.2.1 Einfluss des <i>UMOD</i> -Genotyps auf das Transplantatüberleben nach Nierentransplantation	39
2.2.2 Einfluss des <i>UMOD</i> -Genotyps auf die renale Funktion bei kardiovaskulären Risikopatienten.....	46
3. Diskussion	53
4. Zusammenfassung	59
5. Literaturverzeichnis	61
Danksagung	70
Erklärung	71

Abkürzungen

ADTKD	<i>autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease</i> , autosomal dominant vererbte tubulointerstitielle Nierenerkrankungen
AUC	<i>area under the curve</i> , Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve
CKD	<i>chronic kidney disease</i> , chronische Nierenerkrankung
CNI	Calcineurin-Inhibitoren
CYP	Cytochrom P450
eGFR	<i>estimated glomerular filtration rate</i> , geschätzte (errechnete) glomeruläre Filtrationsrate
ESRD	<i>end-stage renal disease</i> , terminale Niereninsuffizienz
GWAS	genomweite Assoziationsstudie
HR	Hazard Ratio
KI	Konfidenzintervall
mRNA	<i>messenger</i> Ribonukleinsäure
NKCC2	Na ⁺ -K ⁺ -2Cl ⁻ Kotransporter Typ 2
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i> , Einzelnukleotid-Austausch
TAL	<i>thick ascending limb</i> , dicker aufsteigender Schenkel der Henle-Schleife
TDM	Therapeutisches Drug Monitoring
UMOD	<i>Uromodulin</i> -Gen

1. Einleitung

1.1 Genetik und Arzneimitteltherapie

Ein wesentlicher Teil der Bemühungen, die unter den Schlüsselwörtern individualisierte oder personalisierte Medizin zusammengefasst werden, hat die Therapie mit Arzneistoffen im Fokus [1,2]. Dabei stellen individuelle Unterschiede im therapeutischen Ansprechen auf eine definierte medikamentöse Therapie ein bekanntes Problem im klinischen Alltag dar. Von Interesse sind zum einen das Auftreten insbesondere schwerwiegender unerwünschter Arzneimittelwirkungen [3-5], auf der anderen Seite aber auch das fehlende oder unzureichende Ansprechen auf einen gewählten Wirkstoff [6].

Klassische Faktoren mit Einfluss auf das individuelle Therapieansprechen wie Alter, Komorbiditäten, Komedikationen und Ernährung werden dabei ebenso wie Patientenpräferenzen in der klinischen Routine bei der Wirkstoff- und Dosierungsauswahl berücksichtigt [3]. Neben diesen Variablen kann auch die genetische Ausstattung eines Individuums Konsequenzen für die Effektivität und Sicherheit einer Arzneimitteltherapie haben [1,3,7]. Der Begriff Pharmakogenetik hat heute Einzug gehalten in Standardlehrbücher der Pharmakologie [8] und umfasst alle Untersuchungen zur Bedeutung genetischer Varianten für die Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Arzneistoffen. Gemäß der klassischen Definition liegt bei einer Allelfrequenz der Variante von 1% oder mehr ein genetischer Polymorphismus vor [9], der am häufigsten als Einzelnukleotid-Austausch (*single nucleotide polymorphism*, SNP) vorkommt [10]. In der modernen Genetik wird mittlerweile unabhängig von der Allelfrequenz der Begriff genetische Variante präferiert [9]. Von Interesse für pharmakogenetische Untersuchungen sind vor allem Varianten in Genen von Transportproteinen, Enzymen des Arzneistoffmetabolismus und in Zielstrukturen von Wirkstoffen [3]. Daneben prädisponieren Varianten in Genen der humanen Leukozytenantigene (HLA) für schwerwiegende unerwünschte Reaktionen bei einigen Arzneistoffen wie beispielsweise das *HLA-B*57:01* Allel als Risikofaktor für eine Flucloxacillin-induzierte Hepatotoxizität [1,3,11].

Mit der Entschlüsselung des menschlichen Genoms wurde die Nomenklatur um den Terminus Pharmakogenomik erweitert. In Abgrenzung zur Pharmakogenetik, die sich in der ursprünglichen Bedeutung mit den Auswirkungen von Varianten in Einzelgenen

beschäftigt, erfolgt im Rahmen der Pharmakogenomik eine genomweite Analyse bzw. Betrachtungsweise [1,8]. Sie berücksichtigt damit zum einen die Gesamteffekte der genetischen Variabilität auf die individuellen Arzneimittel-Reaktionen [1]. Genomweite Ansätze dienen zudem der Identifizierung von Genen, die für definierte Krankheiten prädisponieren und damit als Angriffspunkte für neuartige Wirkstoffklassen genutzt werden können [12]. Eine strikte Unterscheidung in Pharmakogenetik und Pharmakogenomik ist aber letztlich willkürlich und oft werden die Begriffe synonym verwendet [1,2,13]. Gemeinsames Ziel beider Vorgehensweisen ist es, unter Einbeziehung der unterschiedlichen genetischen Ausstattung des Einzelnen ein bestmögliches Therapieansprechen bei minimalen Risiken für den individuellen Patienten zu ermöglichen [1].

1.2 Pharmakogenetische Aspekte der Cytochrom P450 3A-Subfamilie

Enzyme des Arzneistoff-Metabolismus standen von Beginn an im Interesse pharmakogenetischer Untersuchungen. Für den Phase I-Metabolismus von Arzneistoffen haben die Cytochrom P450 (CYP) Enzyme die größte Bedeutung, wobei von den bisher bekannten 57 funktionalen Genen die CYP-Familien -1, -2 und -3 für den Arzneistoff-Metabolismus eine Rolle spielen [14,15]. Von diesen wiederum macht die CYP3A-Subfamilie beim Menschen den größten Anteil an CYP-Proteinen in der Leber und im Dünndarm aus [15,16]. Die CYP3A-Enzyme vermitteln mit einem Anteil von etwa 30–40% den Hauptanteil des Arzneistoff-Metabolismus beim Erwachsenen [15,16]. Zusätzlich metabolisieren sie viele weitere endogene und exogene Stoffe wie beispielsweise Testosteron, Cortisol und das Toxin Aflatoxin B [17,18]. Die CYP3A-Subfamilie setzt sich aus den vier Isoenzymen CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 und CYP3A43 zusammen. Die entsprechenden Gene sind auf Chromosom 7 eng benachbart lokalisiert [15]. In der adulten humanen Leber stellt CYP3A4 mit etwa 85% des gesamten mikrosomalen CYP3A-Proteingehalts das Haupt-Isoenzym dar, während die hepatische Expression der anderen drei CYP3A-Enzyme wesentlich geringer ist [19].

Der CYP3A-vermittelte Arzneistoff-Metabolismus unterliegt einer ausgeprägten intra- und interindividuellen Variabilität. Diese trägt wesentlich zu den Unterschieden in der

Bioverfügbarkeit nach oraler Applikation sowie der systemischen Clearance von CYP3A-Substraten bei. Als auslösende Mechanismen für diese Variabilität sind sowohl genetische als auch nicht-genetische Faktoren wie Geschlecht und Ernährungsfaktoren sowie Effekte einer Komedikation mit Induktoren und Inhibitoren bekannt [15,20,21].

Für CYP3A4 sind eine Vielzahl von SNPs in den flankierenden, intronischen und exonischen Regionen des Gens beschrieben [22] und der Einfluss genetischer Faktoren auf die interindividuelle Variabilität der CYP3A4-Aktivität wurde auf über 60% geschätzt [23-25]. Bisher wurde allerdings nur ein SNP in Intron 6 (rs35599367, *CYP3A4**22) mit einer Allelfrequenz von etwa 5% bei Europäern mit einer verminderten CYP3A4-Aktivität assoziiert [26]. Darüber hinaus wurden zwei offenbar sehr seltene *loss-of-function* Mutationen im Rahmen von Einzelfällen beschrieben [27,28]. Diese Befunde und die geringen Allelfrequenzen der bekannten Strukturvarianten von *CYP3A4* [29] implizieren, dass der *CYP3A4*-Genotyp insgesamt nicht als Hauptauslöser für die interindividuellen Unterschiede im CYP3A4-Phänotyp betrachtet werden kann [20]. In diesem Kontext wurde – in Analogie zur Terminologie bei komplexen Erkrankungen – der Begriff *missing heritability* eingeführt [25]. Er bezeichnet die Diskrepanz zwischen erwartetem und nachgewiesenem Einfluss genetischer Faktoren auf die CYP3A4-Aktivität [25].

Im Gegensatz zu CYP3A4 wird die variable hepatische Expression und Enzymaktivität von CYP3A5 deutlich durch genetische Faktoren beeinflusst [21,30]. Die Allele *CYP3A5**3 (rs776746-A>G), *6 (rs10264272-A>G) und *7 (rs41303343-insT) führen dazu, dass kein funktionales CYP3A5-Protein gebildet wird [31,32]. Von diesen drei Allelen wird das *CYP3A5**7-Allel bei Europäern gar nicht und das *CYP3A5**6-Allel mit einer Allelfrequenz von unter 0,5% bei Europäern äußerst selten detektiert [29]. Dagegen stellt *CYP3A5**3 in der kaukasischen Population das bedeutsamste Allel dar mit einer Allelfrequenz von etwa 94% [29]. Dieser bei Kaukasiern häufige SNP in Intron 3 bedingt durch Generierung einer alternativen Spleißstelle die Insertion eines neuen Exon 3B mit einem vorzeitigen Stopp der *CYP3A5*-Translation nach Aminosäure 102, was mit einer nur geringen oder fehlenden Expression eines funktionalen CYP3A5-Proteins in der Leber einhergeht [31,33] (Abbildung 1). Im Rahmen der bevölkerungsbasierten *Prevention of Renal and Vascular End stage Disease* (PREVEND)-Studie konnte unsere Arbeitsgruppe bei 6.777 Kaukasiern eine

Allelfrequenz für *CYP3A5*1* von 7% ermitteln. Das bedeutet, dass ca. 13% der Europäer mindestens ein funktionales *CYP3A5*1*-Allel aufweisen und als *CYP3A5*-Expressoren bezeichnet werden können [34] (Abbildung 1). Aufgrund der deutlich höheren Allelfrequenz von *CYP3A5*1* bei Afrikanern sind in dieser Gruppe 60% und mehr Träger zumindest eines funktionalen *CYP3A5*1*-Allels [15,20,29].

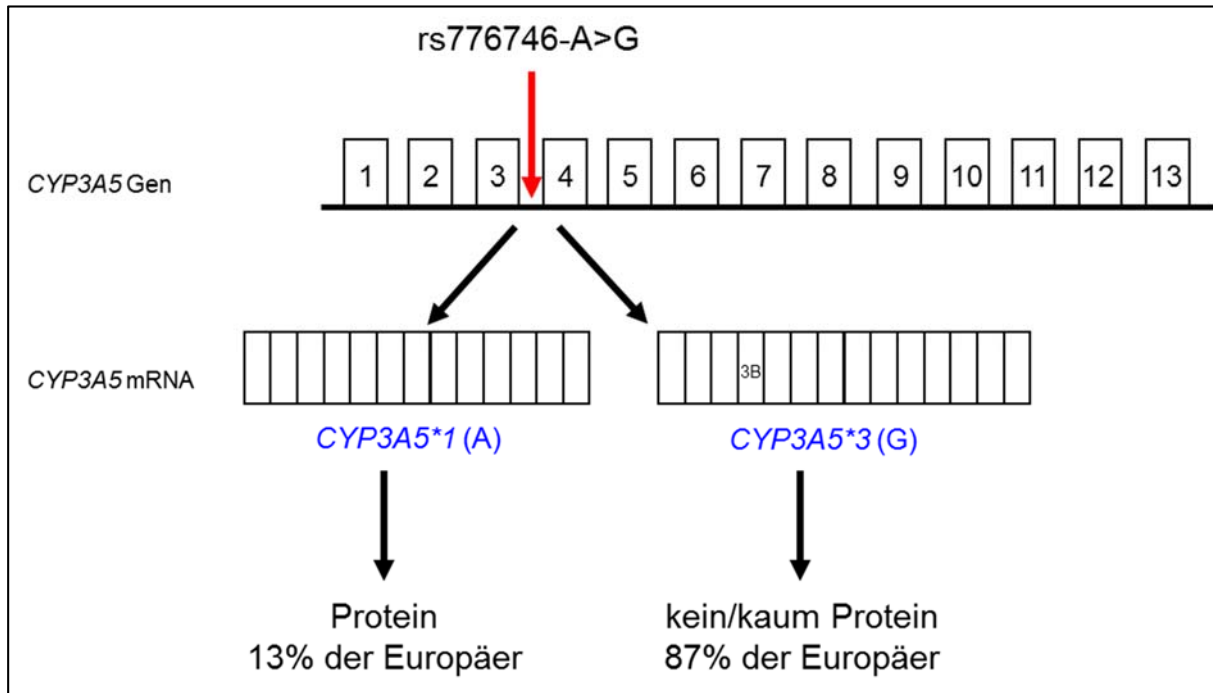


Abbildung 1. Schematische Darstellung des *CYP3A5*-Polymorphismus rs776746-A>G in Intron 3; modifiziert nach [31,34]. CYP, Cytochrom P450

Diese ausgeprägte und genetisch determinierte differenzielle *CYP3A5*-Expression ist insbesondere von klinischer Relevanz für *CYP3A*-metabolisierte Arzneistoffe mit enger therapeutischer Breite und/oder präferentieller *CYP3A5*-Metabolisierung [15,30,31]. Ebenso kann die genetisch festgelegte Menge an funktionalem *CYP3A5*-Protein einen relevanten Einfluss haben bei Patienten mit einer geringen *CYP3A4*-Expression sowie bei Effekten, die über eine *CYP3A5*-spezifische Organexpression vermittelt werden [15,21,27,30-32,35].

1.3 Bedeutung genetischer Varianten von CYP3A5 für die Effektivität und Sicherheit der medikamentösen Therapien nach Nierentransplantation

Mit Einführung der Calcineurin-Inhibitoren (CNI) Ciclosporin in den 80er-Jahren und nachfolgend von Tacrolimus als Bestandteil der immunsuppressiven Therapie konnte ein enormer klinischer Fortschritt in der Transplantation solider Organe erreicht werden [36-39]. Hinsichtlich der Nierentransplantation wurde dabei insbesondere das Transplantatüberleben innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation eindrücklich verbessert: Daten aus den USA zeigen einen Anstieg des 1-Jahres-Transplantatüberlebens bei postmortaler Spende von 80% 1989 auf 93% 2008 [40]. Auch in Europa liegt das 1-Jahres-Transplantatüberleben laut Jahresbericht des *European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) Registry* von 2015 bei 92% [41]. Die auf CNI basierende Kombinationstherapie mit Mycophenolat mit oder ohne Glukokortikoid bildet heutzutage nach Nierentransplantation den Standard sowohl für die initiale als auch die langfristige Erhaltungstherapie [42-44]. Die Therapie mit Ciclosporin und Tacrolimus wird erschwert durch ihre geringe therapeutische Breite und eine starke intra- und interindividuelle Variabilität der benötigten oralen Dosierungen, die ein Therapeutisches Drug Monitoring (TDM) in der klinischen Routine notwendig machen [45,46]. Ein weiteres Problem insbesondere für die langfristige Therapie mit CNI stellt ihre bekannte Nephrotoxizität mit negativen Auswirkungen auf den klinischen Verlauf bei Transplantatempfängern dar [39,47-49].

Da beide CNI Substrate sowohl von CYP3A4 als auch von CYP3A5 sind [44], stellt sich die Frage, inwieweit die genetische Variabilität von CYP3A5 auf die dargestellten Probleme bei einer Therapie mit CNI einen Einfluss nimmt. Generell ist hinsichtlich genetischer Aspekte im Kontext der Transplantation solider Organe die differentielle genetische Ausstattung von Spender und Empfänger zu beachten [50]. Die Erwartung dabei ist, dass der Genotyp des Empfängers vor allem auf systemische Effekte Einfluss nimmt, während der Donor-Genotyp präferentiell lokale Auswirkungen im Spenderorgan vermittelt [51,52]. Für ein Arzneistoff-metabolisierendes Enzym wie CYP3A5 bei einer Therapie mit CNI bedeutet dies, dass die intestinale und hepatische Expression des Empfängers vor allem pharmakokinetische Parameter der CNI beeinflussen sollten. In den bisher publizierten Studien zur Bedeutung des CYP3A5-Genotyps des Empfängers für den CNI-Dosisbedarf ergeben sich hierzu deutliche

Unterschiede hinsichtlich des eingesetzten CNI. Dabei zeigt sich konsistent ein Einfluss des *CYP3A5*-Genotyps auf den Tacrolimus-Dosisbedarf, wobei *CYP3A5*1*-Allelträger eine etwa 50% höhere Dosis benötigen, um die angestrebten Zielkonzentrationen zu erreichen [30,44,53,54]. Durch die Kombination von klinischen Variablen und *CYP3A5*-Genotyp kann etwa 50% der Variabilität des Quotienten aus Tacrolimus-Konzentration und Dosis vorhergesagt werden [15,53,55]. In den *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC)-Leitlinien von 2015 wird für Empfänger mit mindestens einem funktionalen *CYP3A5*1*-Allel initial eine 1,5- bis 2-fach höhere Tacrolimus-Startdosis empfohlen mit anschließender Anpassung der Dosis über TDM [56].

Im Gegensatz zu den überzeugenden Daten für Tacrolimus vermittelt der *CYP3A5*-Genotyp des Empfängers überwiegend keine oder nur sehr geringe Effekte auf die dosisadjustierten Ciclosporin-Talspiegel oder den täglichen mittleren Dosisbedarf [30,44,57]. Diese Annahme wird auch durch Untersuchungen aus unserer Arbeitsgruppe bestätigt [52]. Grund für diese Divergenz könnte sein, dass *CYP3A5* für die Metabolisierung von Ciclosporin eine geringere Rolle spielt als *CYP3A4* [58]. Im Vergleich dazu ist bei Tacrolimus die *CYP3A5*-vermittelte Biotransformation stärker ausgeprägt [59,60].

Bei der CNI-assoziierten Nephrotoxizität scheint – neben anderen Faktoren – auch die Exposition gegenüber potentiell toxischen CNI-Metaboliten eine Rolle zu spielen [58,59,61-64]. In diesem Zusammenhang ist von Bedeutung, dass durch *CYP3A4* und *CYP3A5* bei der Biotransformation von Ciclosporin und Tacrolimus ein anderes Profil an primären Metaboliten der CNI generiert wird [44]. Während *CYP3A4* Ciclosporin in die drei Hauptmetaboliten AM1, AM9 und AM4N metabolisiert, vermittelt *CYP3A5* lediglich die Bildung des primären Metaboliten AM9 [58]. Weitere sekundäre Metaboliten werden durch beide Enzyme produziert [58,62]. *CYP3A5*1*-Allelträger weisen für die Metaboliten AM19 und AM1c9 im Vergleich zu Probanden ohne funktionales *CYP3A5* eine größere Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (*area under the curve*, AUC) im systemischen Kreislauf auf [62]. Die vier primären Tacrolimus-Metaboliten werden sowohl von *CYP3A4* als auch *CYP3A5* gebildet [59]. Dabei ist insgesamt die Bildungsrate für die Metaboliten 13-O-Desmethyltacrolimus (13-DMT), 31-O-Desmethyltacrolimus (31-DMT) und 12-Hydroxytacrolimus (12-HT) durch *CYP3A5* höher als durch *CYP3A4* [59]. Zudem ist der Quotient aus der AUC

dieser Metaboliten zur AUC von Tacrolimus bei Trägern des *CYP3A5*1*-Allels höher [61].

CYP3A4 wird im Gegensatz zu CYP3A5 gar nicht oder nur in sehr geringem Umfang in der humanen Niere exprimiert [35,65]. Dies impliziert, dass sich Effekte des *CYP3A5*-Polymorphismus auf den CNI-Metabolismus am deutlichsten in diesem Organ zeigen [58,59,61,62]. Im Gegensatz zur systemischen Exposition gegenüber CNI-Metaboliten spielt bei der Nierentransplantation dabei der *CYP3A5*-Genotyp des Spenders eine zentrale Rolle.

1.4 Bedeutung genetischer Varianten von *Uromodulin* für die Krankheitsausprägung bei renalen Erkrankungen

Uromodulin wurde erstmals 1950 von Tamm und Horsfall aus dem Urin von Gesunden isoliert und zunächst als Tamm-Horsfall Protein bezeichnet [66]. Uromodulin wird ausschließlich in der Niere und dort nur in den Epithelzellen des dicken aufsteigenden Schenkels (*thick ascending limb*, TAL) der Henle-Schleife gebildet [67-69]. Das überwiegend in der apikalen Membran der TAL-Zellen verankerte Uromodulin wird nach Spaltung durch eine Serinprotease in das Tubuluslumen freigesetzt, wo die Monomere in dreidimensionale Proteinstrukturen polymerisieren [68] und im Urin das Grundgerüst der hyalinen Zylinder im Urinsediment bilden [67]. Die tägliche Uromodulin-Ausscheidung mit dem Harn beträgt bei einem gesunden Erwachsenen etwa 20 bis 150 mg mit ausgeprägten intra- und interindividuellen Schwankungen [67,69]. Im Spontanurin älterer Menschen liegt die Uromodulin-Konzentration im Median bei etwa 25 µg/ml [70]. Eine hohe diätetische Kochsalzzufuhr steigert die renale Uromodulin-Synthese und Ausscheidung von Uromodulin im Urin [67]. Unter physiologischen Bedingungen wird nur sehr wenig Uromodulin auf der basolateralen Seite der TAL-Zellen sezerniert [67]. Dadurch liegt der Median der Uromodulin-Spiegel im Serum bei gesunden Erwachsenen nur bei etwa 200 ng/ml [71].

Als physiologische Funktionen werden Uromodulin ein Schutz vor Harnwegsinfektionen und der Bildung von Harnsteinen sowie immunmodulatorische Eigenschaften zugeschrieben [67,68]. Darüber hinaus hat das Protein eine Bedeutung

für die Wasserdiurese und den Natrium-Transport im TAL: Zum einen trägt die Uromodulin-Polymerstruktur im Tubuluslumen zur Wasserimpermeabilität des TAL bei. Zudem erhöht Uromodulin die Aktivität des $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ Kotransporters (NKCC2) und des *renal outer medullary* Kalium (ROMK) Kanals im TAL [67,68].

Das *Uromodulin*-Gen (*UMOD*) liegt auf Chromosom 16 und besteht aus 11 Exonen [67]. Aufgrund der spezifischen und ausschließlichen renalen Expression stellt *UMOD* ein interessantes Kandidatengen für physiologische und pathophysiologische Prozesse in der Niere dar. Missense-Mutationen in *UMOD*, die vornehmlich den N-Terminus des Proteins betreffen, verursachen eine der drei Hauptformen der insgesamt sehr seltenen, autosomal dominant vererbten tubulointerstitiellen Nierenerkrankungen (ADTKD) [72]. Klinisch ist diesen Erkrankungen neben dem autosomal dominanten Vererbungsgang ein unauffälliges Urinsediment bei fehlender oder lediglich minimaler Proteinurie und eine langsam progrediente Nierenfunktionseinschränkung bis hin zum terminalen Nierenversagen gemeinsam [72]. Bei Patienten mit ADTKD-*UMOD* führen etwa die Hälfte bis zwei Drittel der über 100 bisher beschriebenen ursächlichen *UMOD*-Mutationen zur Insertion oder Deletion von Cystein-Resten, was letztlich eine inkorrekte Proteinfaltung nach sich zieht [67,72]. Nierenbiopsien betroffener Patienten weisen eine Anhäufung von verändertem Uromodulin im endoplasmatischen Retikulum der TAL-Zellen auf. Dies wird begleitet von einer interstitiellen Fibrose [68,72]. Die Progression zur terminalen Niereninsuffizienz (*end-stage renal disease*, ESRD) ist individuell stark variabel und liegt im Mittel bei 47 Jahren [72].

Neben diesen seltenen Mutationen wurden in den letzten Jahren mittels genomweiter Assoziationsstudien (GWAS) häufige *UMOD*-Varianten detektiert, die eine Assoziation sowohl mit den Uromodulin-Urinspiegeln und der geschätzten (errechneten) glomerulären Filtrationsrate (eGFR) als auch mit dem Risiko für eine chronische Nierenerkrankung (*chronic kidney disease*, CKD) und einer ESRD zeigen [67,68,73-77]. Die replizierten SNPs rs12917707-G>T und rs4293393-T>C sind in der *UMOD*-Promotorregion lokalisiert und liegen im Kopplungsungleichgewicht vor [67,68]. Insgesamt stellen sich in den publizierten Studien die *UMOD*-Allele rs12917707-G und rs4293393-T konsistent als Risikoallele dar, die mit einer verminderten eGFR und

einem etwa 20% höheren CKD-Risiko einhergehen [73,76,77]. Dabei sind die Frequenzen für diese Risikoallele bei Europäern mit 80% sehr hoch [73,77].

Die *UMOD*-Expression in Nephrektomie-Gewebe ist bei homozygoten Trägern der Risikoallele rs12917707-G und rs4293393-T signifikant höher im Vergleich zu den homozygoten Trägern der protektiven Allele [78]. Dies geht einher mit höheren Urinkonzentrationen des Proteins bei Trägern des rs4293393-T Risikoallels [78]. In einer Meta-Analyse mit über 10.000 Individuen konnte dies für den *UMOD*-SNP rs12917707-G>T bestätigt werden, wobei Träger des Risikoallels rs12917707-G höhere Uromodulin-Spiegel im Urin aufweisen [79]. Im transgenen Mausmodell mit einer *UMOD*-Überexpression, die vergleichbar ist mit der Expression bei Trägern der *UMOD*-Risikoallele, finden sich bei alten Tieren histologische Zeichen eines Nierenschadens trotz normaler Nierenfunktion [78]. Hauptsächlich distale Tubuli erscheinen dilatiert und weisen vermehrt Zylinder auf. Ähnliche Läsionen finden sich in histologischen Schnitten von renalem Gewebe bei über 65-jährigen Patienten [78]. Dabei ist das Ausmaß des tubulären Schadens ausgeprägter bei homozygoten Trägern der Risikoallele rs12917707-G und rs4293393-T [78]. Die fokalen Läsionen wurden bei erhaltener Nierenfunktion detektiert. Daher geht man momentan davon aus, dass eine erhöhte Uromodulin-Produktion nicht direkt ein Nierenversagen auslöst, sondern über die Zeit für eine CKD prädisponiert [67,78]. Diese Annahme wird durch die Beobachtung gestützt, dass sich die Assoziation der *UMOD*-Promotorvarianten mit dem CKD-Risiko bei älteren Individuen mit zusätzlichen Erkrankungen deutlicher zeigt [77,80]. Abbildung 2 stellt die Effekte der *UMOD*-Promotorvarianten auf den renalen Phänotyp zusammenfassend dar.

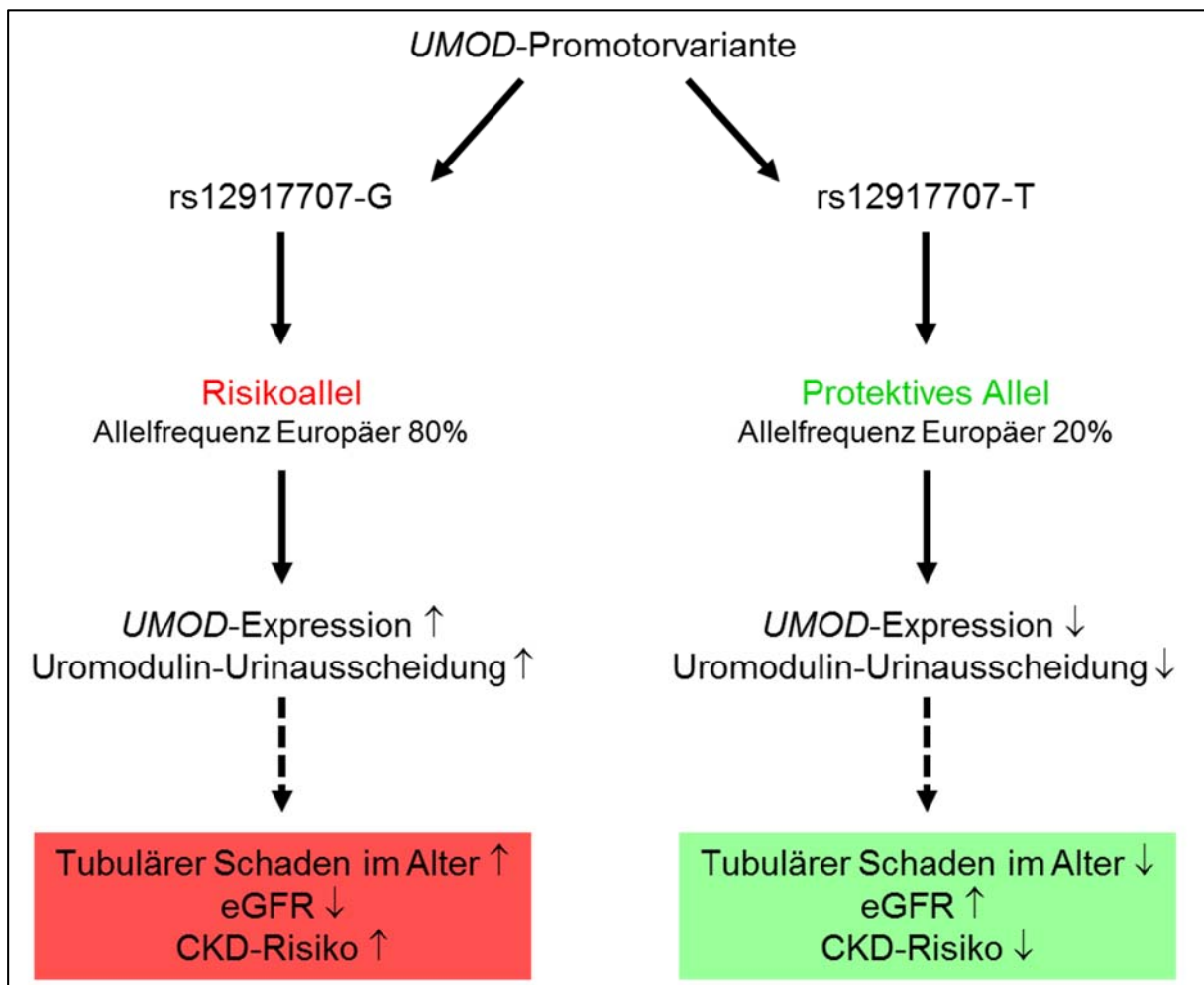


Abbildung 2. Renale Effekte des *UMOD*-SNP rs12917707-G>T nach [67,68]. eGFR, geschätzte (errechnete) glomeruläre Filtrationsrate; CKD, *chronic kidney disease*, chronische Nierenerkrankung

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Das verbindende Element der hier zusammengeführten Arbeiten ist die Analyse von Kandidatengenomen – dargestellt für *CYP3A5* und *UMOD* – hinsichtlich ihres potentiellen Einflusses sowohl auf die Effektivität und Sicherheit einer etablierten Arzneimitteltherapie als auch auf den Krankheitsverlauf im Kontext renaler Erkrankungen. Übergeordnetes Ziel ist dabei, eine neue Krankheits- oder Therapieklassifikation auf molekularer Ebene zu entwickeln, die im Sinne einer individualisierten Therapie eine spezifischere Arzneimitteltherapie bei genetisch definierten Untergruppen von Patienten erlaubt.

Der erste, pharmakogenetische Aspekt wird durch die Untersuchungen zur Genetik der renalen *CYP3A5*-Expression und ihrer Bedeutung bei Patienten nach Nierentransplantation dargestellt. Es sollte zunächst geklärt werden, ob *CYP3A5* in der humanen Niere exprimiert wird und welchen Einfluss die genetische *CYP3A5*-Variabilität auf die renale mRNA- und Protein-Expression von *CYP3A5* beim Menschen hat [81]. Inwieweit die genetisch determinierte hepatische und renale *CYP3A5*-Variabilität auch klinisch einen Effekt vermittelt, wurde in zwei weiteren Arbeiten bei Patienten nach Nierentransplantation untersucht [82,83].

Für den zweiten, krankheitsmodifizierenden Aspekt genetischer Variabilität wurde die Bedeutung des *UMOD*-SNP rs12917707-G>T für die renale Funktion analysiert. Die erste Arbeit widmete sich dabei der Frage, ob dieser SNP bei Patienten nach Nierentransplantation einen Einfluss auf die CNI-Nephrotoxizität und damit das langfristige Transplantatüberleben hat [84]. In der zweiten Arbeit wurde untersucht, ob sich die Effekte des protektiven *UMOD*-Allels rs12917707-T auch bei Hochrisiko-Patienten mit arterieller Hypertonie und kardiovaskulären Erkrankungen nachweisen lassen [85].

2. Eigene Arbeiten

2.1 Pharmakogenetische Aspekte der *CYP3A5*-Expression und ihre Bedeutung im Kontext der Nierentransplantation

Die systemische und lokale Exposition gegenüber Ciclosporin und seinen Abbauprodukten beeinflusst die Toxizität einer Therapie mit Ciclosporin [44,63]. Dabei stellen sich in Abhängigkeit vom *CYP3A5*-Genotyp die Art und Menge der über *CYP3A5* gebildeten Metaboliten von Ciclosporin variabel dar [58,62]. In der ersten Arbeit (2.1.1) sollte daher zunächst untersucht werden, ob der *CYP3A5*-Genotyp die Expression des Enzyms in der menschlichen Niere differentiell beeinflusst und damit auf die intrarenalen Konzentrationen des Substrats Ciclosporin und seiner Metaboliten Einfluss nehmen kann [81]. Die Ergebnisse werden in der zweiten Arbeit (2.1.2) erweitert auf die Transplantationssituation bei akuter Rejektion des Nierentransplantats [82]. In der dritten Arbeit (2.1.3) wurde untersucht, inwieweit der *CYP3A5*-Genotyp des Empfängers die langfristige Prognose nach einer Nierentransplantation modifiziert [83].

2.1.1 Rolle des *CYP3A5*-Genotyps für das Ausmaß und die Lokalisation der intrarenalen Expression

Bolbrinker J, Seeberg S, Schostak M, Kempkensteffen C, Baelde H, de Heer E, Kreutz R. *CYP3A5* genotype-phenotype analysis in the human kidney reveals a strong site-specific expression of *CYP3A5* in the proximal tubule in carriers of the *CYP3A5**1 allele. *Drug Metab Dispos.* 2012;40(4):639-41.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1124/dmd.111.042648>

Bereits vor Kenntnis der ursächlichen genetischen Faktoren war in der menschlichen Niere eine ausgeprägte bimodale Verteilung des *CYP3A5*-Proteingehalts und der Aktivität der *CYP3A*-Subfamilie aufgefallen [86]. Zudem war in Nierenbiopsien von Patienten mit CNI-induzierter Nephrotoxizität eine im Vergleich zu Kontrollbiopsien reduzierte tubuläre *CYP3A5*-Proteinexpression gezeigt worden [64]. Allerdings fand der *CYP3A5*-Genotyp im untersuchten Gewebe in der genannten Arbeit keine Berücksichtigung [64].

Im Rahmen dieser Arbeit sollte daher bestimmt werden, welchen Einfluss der *CYP3A5*1/*3*-Polymorphismus auf die Expressionsspiegel und die Proteinverteilung des Enzyms in der humanen Niere hat [81]. Hierzu führten wir unter Berücksichtigung des *CYP3A5*-Genotyps an gesundem Nierengewebe von 93 Nephrektomie-Patienten eine quantitative mRNA- und qualitative Protein-Expressionsanalyse durch. In Analogie zur hepatischen Expression zeigte sich eine starke Genotyp-determinierte renale mRNA-Expression von *CYP3A5* mit 18-fach höheren Spiegeln bei Trägern des *CYP3A5*1*-Allels im Vergleich zu homozygoten *CYP3A5*3*-Allelträgern ($p < 0,001$). Die mRNA-Expression von *CYP3A4* bewegte sich dagegen bei beiden Gruppen im Bereich der Nachweisgrenze. Mittels Immunhistochemie konnten wir darüber hinaus das *CYP3A5*-Protein in den Epithelzellen aller Nephronabschnitte nachweisen. Der *CYP3A5*-Genotyp legte dabei die Höhe der Proteinexpression fest, wobei das *CYP3A5*1*-Allel zu einer höheren Proteinexpression von *CYP3A5* in den Zellen des proximalen Tubulus führte. Dagegen hatte der *CYP3A5*-Genotyp keinen Einfluss auf die *CYP3A5*-Proteinspiegel im Epithel des distalen Tubulus, in den Sammelrohren oder den Glomeruli.

Die Arbeit bestätigte frühere Hinweise, dass *CYP3A5* in der humanen Niere das Haupt-Isoenzym der *CYP3A*-Subfamilie darstellt. In kleineren Analysen war eine renale Genotyp-Phänotyp-Korrelation für *CYP3A5* bereits beschrieben worden [35,65]. Diese Befunde konnten wir durch die Untersuchung einer großen Anzahl von humanen Gewebeproben untermauern. Der Genotyp-vermittelte Effekt auf die Stärke der *CYP3A5*-Proteinexpression beschränkte sich dabei auf die proximalen Tubuluszellen.

Bolbrinker J, Seeberg S, Schostak M, Kempkensteffen C, Baelde H, de Heer E, Kreutz R. CYP3A5 genotype-phenotype analysis in the human kidney reveals a strong site-specific expression of CYP3A5 in the proximal tubule in carriers of the CYP3A5*1 allele. *Drug Metab Dispos.* 2012;40(4):639-41.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1124/dmd.111.042648>

Bolbrinker J, Seeberg S, Schostak M, Kempkensteffen C, Baelde H, de Heer E, Kreutz R. CYP3A5 genotype-phenotype analysis in the human kidney reveals a strong site-specific expression of CYP3A5 in the proximal tubule in carriers of the CYP3A5*1 allele. *Drug Metab Dispos.* 2012;40(4):639-41.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1124/dmd.111.042648>

Bolbrinker J, Seeberg S, Schostak M, Kempkensteffen C, Baelde H, de Heer E, Kreutz R. CYP3A5 genotype-phenotype analysis in the human kidney reveals a strong site-specific expression of CYP3A5 in the proximal tubule in carriers of the CYP3A5*1 allele. *Drug Metab Dispos.* 2012;40(4):639-41.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1124/dmd.111.042648>

2.1.2 Einfluss des *CYP3A5*-Genotyps auf die renale *CYP3A5*-Expression im Nierentransplantat und die Effektivität der Glukokortikoid-Therapie bei akuter Transplantatabstoßung

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of *CYP3A5* reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Der *CYP3A5*-Genotyp determiniert in gesundem Nierengewebe die Höhe der *CYP3A5*-mRNA-Spiegel und die Menge an *CYP3A5*-Protein im proximalen Tubulus [81]. Ob sich dieser Effekt auch unter pathophysiologischen Bedingungen nachweisen lässt, war unklar.

In Kooperation mit Kollegen aus einer Arbeitsgruppe in den Niederlanden (Universität Leiden und Rotterdam) sollte im Rahmen der vorgestellten Arbeit daher untersucht werden, inwieweit der *CYP3A5*-Genotyp der Spenderniere die renale *CYP3A5*-Expression in der Situation der akuten Transplantatabstoßung beeinflusst. Sowohl in Nierenbiopsien vor Transplantation (n = 69) als auch in Rejektionsbiopsaten (n = 88) zeigte sich ein signifikanter Effekt des *CYP3A5*-Genotyps des Spenders auf die intrarenalen mRNA-Spiegel von *CYP3A5*. In beiden Situationen war die Expression stärker bei Transplantaten von einem *CYP3A5*1*-Allelträger. In der immunhistochemischen Analyse von Rejektionsbiopsien wiesen *CYP3A5*1*-Biopsate höhere *CYP3A5*-Proteinspiegel im proximalen Tubulus auf im Vergleich zu Biopsien von homozygoten *CYP3A5*3*-Spendern. Darüber hinaus beobachteten wir in den Rejektionsbiopsien signifikant höhere *CYP3A5* mRNA-Spiegel bei den Patienten, die auf eine Therapie mit Methylprednisolon im Rahmen der Rejektion ansprachen, im Vergleich zu Patienten mit einem unzureichenden Steroidansprechen (p = 0,006). Insgesamt war das Risiko für ein mangelndes Ansprechen auf Methylprednisolon in der Rejektion geringer bei den Patienten, die ein Nierentransplantat von einem *CYP3A5*1*-Allelträger als Spender erhalten hatten (Odds Ratio 0,29; 95%-KI 0,11– 0,79; p = 0,016). Der Genotyp des Empfängers hatte dagegen keinen Einfluss auf die Effektivität der Glukokortikoid-Therapie.

Die Arbeit erweiterte unsere Ergebnisse zur renalen Genotyp-Phänotyp-Korrelation für CYP3A5 in gesundem Nierengewebe [81] auf die pathophysiologische Situation bei akuter Nierentransplantat-Rejektion. Wir konnten zudem aufzeigen, dass im Rahmen einer akuten Transplantatabstoßung der Erfolg einer Glukokortikoid-Therapie mit dem *CYP3A5*1*-Trägerstatus des Spenders und der Höhe der CYP3A5-Spiegel im Transplantat assoziiert ist.

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, Bajema IM, Clahsen-van Groningen MC, Yang J, de Fijter JW, Claas FH, Brakemeier S, Lachmann N, Kreutz R, de Heer E, Budde K, **Bolbrinker J***, Eikmans M*. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation*. 2017;101(9):2017-2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0000000000001584>

*geteilte Letztautorenschaft

2.1.3 Einfluss des *CYP3A5*-Genotyps auf das Patientenüberleben nach Nierentransplantation

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. *CYP3A5* genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Potentiell toxische Metabolite der CNI scheinen bei der CNI-assoziierten Toxizität eine Rolle zu spielen [58,59,61-63]. Dabei wird das Profil der Metaboliten im systemischen Kreislauf vom *CYP3A5*-Genotyp beeinflusst [62]. Das *CYP3A5*1*-Allel könnte dadurch den langfristigen Verlauf nach Nierentransplantation beeinflussen. In einer Vorarbeit unserer Gruppe war eine *CYP3A5*1*-Wirkung auf das Transplantatüberleben ausgeschlossen worden [52].

Ziel dieser Arbeit war es daher, den Einfluss des *CYP3A5*1*-Allels auf das Patientenüberleben bei 399 nierentransplantierten Patienten zu untersuchen [83]. Alle eingeschlossenen Patienten erhielten eine Ciclosporin-basierte immunsuppressive Erhaltungstherapie. Die Daten über das Patientenüberleben sowie das Transplantatüberleben wurden in Abständen von sechs Monaten erhoben. Die mittlere Nachbeobachtungszeit betrug nahezu 9 Jahre ($8,6 \pm 3,7$ Jahre). In der Gruppe der Empfänger mit einem *CYP3A5*1*-Allel war das Gesamtüberleben der Patienten signifikant länger im Vergleich zu den Empfängern mit *CYP3A5*3/*3*-Genotyp. Dieser Effekt des *CYP3A5*1*-Allels zeigte sich sowohl in der univariaten Analyse (Hazard Ratio (HR) 0,52; 95% Konfidenzintervall (95%-KI) 0,29–0,94; $p = 0,028$) als auch in der Cox-Regression mit Berücksichtigung der Variablen Empfängeralter, systolischer Blutdruck und bestehende diabetische Nephropathie (HR 0,52; 95%-KI 0,29–0,96; $p = 0,035$). Bei 399 nicht-transplantierten Dialysepatienten einer unabhängigen Studie (*Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis*, NECOSAD [87]) war dieser protektive Effekt des *CYP3A5*1*-Allels nicht nachweisbar. Ebenso hatte der Genotyp des Spenders keinen Einfluss auf das Patientenüberleben.

Aussagen über die ursächlichen Mechanismen des detektierten vorteilhaften Effekts lässt die Arbeit nicht zu. Sie verweist aber auf eine Bedeutung des *CYP3A5*1*-Allels für die langfristige Prognose bei nierentransplantierten Patienten, was in weiteren Untersuchungen überprüft werden muss.

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

Kreutz R, **Bolbrinker J**, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, Martus P, Sietmann A, Friedrichs F, Stoll M, Offermann G, Beige J. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(6):416-22.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500488>

2.2 *UMOD* als Kandidatengen bei renalen Erkrankungen

In verschiedenen populationsbasierten Studien wurde die Promotorvariante rs12917707-G>T im *UMOD*-Gen mit der Nierenfunktion sowie dem Risiko für eine chronische Nierenerkrankung assoziiert [67,68,73,77]. Dabei zeigte das *UMOD*-Allel rs12917707-T konstant einen protektiven Effekt [73,76,77,88]. In den beiden nachfolgend vorgestellten Arbeiten wurde untersucht, ob der Effekt des *UMOD*-SNP rs12917707-G>T auf die renale Funktion auch bei Patienten mit bereits fortgeschrittener renaler oder kardiovaskulärer Erkrankung nachweisbar ist. In der ersten Arbeit (2.2.1) wurde dazu ein Patientenkollektiv nach Nierentransplantation analysiert [84]. Die zweite Arbeit (2.2.2) beruht auf einer Untersuchung an Patienten mit arterieller Hypertonie und kardiovaskulären Erkrankungen [85].

2.2.1 Einfluss des *UMOD*-Genotyps auf das Transplantatüberleben nach Nierentransplantation

Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, **Bolbrinker J**. Effect of *UMOD* genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *Pharmacogenomics J.* 2017;00:1-5. [Epub ahead of print]

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.14>

Aufgrund der ausschließlich renalen Expression von Uromodulin und seiner Beteiligung bei seltenen angeborenen tubulointerstitiellen Nierenerkrankungen [67,89] könnten genetische *UMOD*-Varianten in der Spenderniere die Prädisposition gegenüber einer CNI-assoziierten Nephrotoxizität erhöhen und damit das langfristige Transplantatüberleben modulieren.

Zielsetzung dieser Arbeit war es daher zu klären, ob das Vorliegen eines *UMOD*-Allels rs12917707-T in der Spenderniere vorteilhaft ist für die Transplantatfunktion und das langfristige Transplantatüberleben nach Nierentransplantation. Der Donor-Genotyp konnte für 393 nierentransplantierte Patienten unter Ciclosporin-basierter Erhaltungstherapie bestimmt werden. Das T-Allel der Spenderniere hatte weder einen signifikanten Einfluss auf die mittleren systolischen oder diastolischen Blutdruckwerte noch auf die Anzahl akuter Transplantatabstoßungen pro Patient innerhalb eines Jahres nach Transplantation. Auch die Serumkreatinin-Konzentrationen wurden durch

das rs12917707-T Allel des Spenders nicht positiv beeinflusst. Das mittlere Transplantatüberleben betrug neun Jahre. In der univariaten Analyse zum Gesamtüberleben des Transplantats war kein signifikanter Effekt des T-Allels nachweisbar. Allerdings war in der für das Spenderalter und Vorliegen einer diabetischen Nephropathie adjustierten multivariaten Analyse das T-Allel des Spenders mit einem geringeren Risiko für einen Transplantatverlust assoziiert (HR 0,67; 95%-KI 0,46–0,97; $p = 0,05$).

Dieser positive Effekt auf das Transplantatüberleben ist zwar kongruent zu dem bisher postulierten protektiven Effekt des *UMOD*-rs12917707-T Allels, sollte jedoch zunächst zurückhaltend interpretiert und nachfolgend in weiteren Untersuchungen überprüft werden.

Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, **Bolbrinker J**. Effect of UMOD genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *Pharmacogenomics J*. 2017;00:1-5. [Epub ahead of print]

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.14>

Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, **Bolbrinker J**. Effect of UMOD genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *Pharmacogenomics J*. 2017;00:1-5. [Epub ahead of print]

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.14>

Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, **Bolbrinker J**. Effect of UMOD genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *Pharmacogenomics J*. 2017;00:1-5. [Epub ahead of print]

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.14>

Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, **Bolbrinker J**. Effect of UMOD genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *Pharmacogenomics J*. 2017;00:1-5. [Epub ahead of print]

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.14>

Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, **Bolbrinker J**. Effect of UMOD genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *Pharmacogenomics J*. 2017;00:1-5. [Epub ahead of print]

DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/tpj.2017.14>

2.2.2 Einfluss des *UMOD*-Genotyps auf die renale Funktion bei kardiovaskulären Risikopatienten

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. *J Hypertens.* 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

Neben der Bedeutung genetischer Varianten im *UMOD*-Gen für verschiedene renale Phänotypen [73,74,76] verweisen Daten einer GWAS sowie experimentelle Untersuchungen auch auf eine Rolle von Uromodulin für die Blutdruckregulation und das Hypertonierisiko [78,90,91].

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir bei 1.218 Hochrisiko-Patienten mit arterieller Hypertonie und manifesten kardiovaskulären Erkrankungen die Assoziation des *UMOD*-SNP rs12917707-G>T mit der eGFR, dem Blutdruck und kardialen Endorganschäden. Die eingeschlossenen Patienten rekrutierten sich aus der deutschen prospektiven Registerstudie ESTher (**E**ndorgan**S**chäden, **T**herapie und **V**erlauf bei Patienten mit arterieller Hypertonie) [92]. Alle Patienten (17% Frauen, mittleres Alter 59 Jahre) wiesen eine behandelte Hypertonie auf und hatten eine dokumentierte, seit mindestens einem Monat bestehende kardiovaskuläre Erkrankung (81% KHK, 51% Myokardinfarkt). Die Allelfrequenz für rs12917707-T betrug 17% und insgesamt waren 380 Patienten Träger eines rs12917707-T Allels. Im Vergleich zu homozygoten Patienten für das rs12917707-G Allel hatten T-Allelträger signifikant höhere eGFR-Werte (+2,6 ml/min per 1,73 m², p = 0,006). Zudem assoziierte der SNP auch mit dem Durchmesser des linken Vorhofs, wobei Patienten mit dem rs12917707-Genotyp TT einen geringeren Durchmesser aufwiesen (n = 36, -1,5 mm, p = 0,04).

Die Ergebnisse der Untersuchung weiten die bekannte Rolle von *UMOD* für die Nierenfunktion dahingehend aus, dass der protektive Effekt des rs12917707-T Allels auch bei Patienten mit Hypertonie und manifesten kardiovaskulären Endorganschäden nachweisbar ist. Die neue Assoziation zwischen rs12917707 und der Größe des linken Atriums verweisen auf eine mögliche durch *UMOD* modulierte renokardiale Interaktion. Letzteres bedarf der weiteren Analyse insbesondere in größeren Patientenkollektiven.

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. J Hypertens. 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. J Hypertens. 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. J Hypertens. 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. J Hypertens. 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. J Hypertens. 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

Abdel-Hady Algharably E*, **Bolbrinker J***, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Völler H, Kreutz R. Uromodulin associates with cardio-renal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. J Hypertens. 2017;35(10):2053-2058.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000001432>

*geteilte Erstautorenschaft

3. Diskussion

Trotz unterschiedlicher und oft überlappender Definitionen der verschiedenen Begrifflichkeiten individualisierte oder personalisierte Medizin ebenso wie Präzisionsmedizin [13,93] eint sie das gemeinsame Ziel, das klinische Gesamtergebnis für den einzelnen Patienten zu optimieren bei gleichzeitiger Reduktion unerwünschter Effekte [93]. Pharmakogenetische Untersuchungen fokussieren dabei auf mögliche Optimierungen der medikamentösen Therapie beim individuellen Patienten, indem sie genetische Faktoren als weitere Variable für ein unterschiedliches Therapieansprechen berücksichtigen [1,3,7].

Die hier vorgestellten Arbeiten zur Bedeutung des *CYP3A5*-Genotyps im Kontext der Nierentransplantation stellen dabei Beispiele für pharmakogenetische Untersuchungen dar. Die Niere ist auch in Deutschland das am häufigsten transplantierte solide Organ mit über 2.000 Transplantationen im Jahr 2016 [94]. Eine Optimierung der immunsuppressiven Therapie ist für jeden Transplantatempfänger von immenser Bedeutung, da zu hohe Talspiegel die Toxizität der Substanzen erhöhen und zu niedrige Talspiegel eine Transplantatrejektion bedingen können [95]. Unsere Untersuchungen zur ausgeprägten Genotyp-abhängigen intrarenalen Expression von *CYP3A5* [81] konnten die Daten anderer Arbeitsgruppen auf der Grundlage von 21 individuellen renalen Mikrosomen [65] sowie sechs mRNA-Präparationen [35] an einem größeren Probenstet ($n = 93$) bekräftigen. Eine starke Genotyp-determinierte *CYP3A5* mRNA-Expression zeigt sich auch bei immortalisierten Zellen des proximalen Tubulus in Kultur [96]. Die Detektion von *CYP3A5*-Protein im Epithel des proximalen und distalen Tubulus in gesundem Nierengewebe findet sich dabei im Einklang mit Befunden in Biopsien mit morphologischen Zeichen einer CNI-Nephrotoxizität [63,64]. Eine Genotyp-abhängige Zunahme der Proteinexpression explizit in den proximalen Tubuluszellen wurde dagegen in der Arbeit von Metalidis et al. nicht beobachtet [63]. Gründe hierfür könnten technische Unterschiede sein beispielsweise durch differente primäre Antikörper. Zu bedenken ist auch, dass Genotyp-vermittelte Effekte auf die Proteinlokalisierung in der transplantierten Niere durch den Einfluss anderer Variablen aufgehoben werden könnten. So erscheint bei bestehender CNI-Nephrotoxizität insgesamt die *CYP3A5*-Proteinexpression im Nierentransplantat im distalen Tubulus vermindert zu sein mit

widersprüchlichen Befunden hinsichtlich der Expression im proximalen Tubulus [63,64]. Bei unserer Arbeit zur Bedeutung von CYP3A5 bei akuter Rejektion waren in den zur Verfügung stehenden Paraffinschnitten dezidierte quantitative morphologische Auswertungen zur CYP3A5-Lokalisation aufgrund von Färbeartefakten und Anfärbung von CYP3A5 in infiltrierenden Lymphozyten letztlich nicht möglich. Bei ausgewählten Gewebeschnitten guter Qualität zeigte sich jedoch auch hier eine stärkere CYP3A5-Proteinexpression im proximalen Tubulus bei Spendern mit *CYP3A5*1/*3*-Genotyp [82].

In vitro Daten verweisen auf eine erhöhte intrarenale Metabolisierungsrate von Ciclosporin und Tacrolimus bei Vorliegen des *CYP3A5*1*-Allels [58,59], wobei für Tacrolimus zusätzliche Effekte von genetischen Varianten des Efflux-Transporters P-Glykoprotein nachgewiesen wurden [96]. Ob diese Erhöhung der lokalen Wirkstoff-Clearance zur CNI-vermittelten Zellschädigung beiträgt, ist nach wie vor ungeklärt [96]. Für Ciclosporin und einige seiner Metaboliten wurden in vitro für verschiedene renale Zelltypen inklusive Epithelzellen der Tubuli toxische Effekte nachgewiesen [97-99]. Diese Toxizität könnte auch andere Zelltypen wie beispielsweise Endothelzellen betreffen. Da der *CYP3A5*-Genotyp sowohl das Metabolitenprofil lokal in der Niere [58] als auch im systemischen Kreislauf beeinflusst [62], erschien dies als eine plausible Erklärung für den von uns detektierten positiven Effekt des *CYP3A5*1*-Allels des Empfängers auf das Patientenüberleben [83]. In 2012 publizierten Moore et al. ihre Studie zum Einfluss verschiedener genetischer Varianten von Empfängern und Spendern auf die klinischen Endpunkte Nierentransplantatüberleben und Mortalität der Empfänger [100]. Insgesamt erfolgte die Analyse von 52 SNPs aus fünf Kandidatengenen – darunter der *CYP3A5*1/*3* Polymorphismus – bei insgesamt über 4400 Patienten mit CNI-basiertem immunsuppressiven Regime aus drei unabhängigen Kohorten [100]. In dieser sehr großen Analyse konnten unsere Befunde nicht bestätigt werden: Weder der *CYP3A5*-Genotyp des Empfängers noch des Spenders zeigte eine Assoziation mit dem Transplantat- oder Patientenüberleben [100]. Auch in einer kürzlich publizierten Studie mit 577 nierentransplantierten Patienten unter Tacrolimus-Therapie zeigten sich keine Effekte des *CYP3A5*-Genotyps des Empfängers auf die Anzahl akuter Rejektionen oder das Transplantatüberleben [101]. Letztlich zeigt sich hier, dass erwünschte und unerwünschte Arzneimittelreaktionen bei der überwiegenden Zahl der Arzneistoffe

multifaktoriell bedingt sind und genetische Varianten dabei nur eine Variable darstellen. Daher hängt der Erfolg eines pharmakogenetischen Ansatzes ab von der Anzahl der mitbeteiligten genetischen Varianten, von ihren Allelfrequenzen, den jeweiligen Effektgrößen und Wechselwirkungen untereinander sowie darüber hinaus von Interaktionen mit Umweltfaktoren [1]. In der Transplantationssituation wird diese Komplexität noch dadurch erhöht, dass sowohl genetische Varianten des Empfängers als auch des Spenders auf die Gesamtreaktion Einfluss nehmen können [50,102].

Die Ergebnisse verschiedener Assoziationsstudien führten in den vergangenen Jahren zu einer Wiederbelebung des wissenschaftlichen Interesses an Uromodulin als nierenspezifischem Protein [67,68]. Aufgrund der detektierten Effekte auf die eGFR, auf das CKD- und ESRD-Risiko sowie der potentiellen Bedeutung für die Blutdruckregulation [73,74,76,77,79,88,90,103,104] gilt *UMOD* als vielversprechendes Kandidatengen für verschiedene renale Erkrankungen und die arterielle Hypertonie.

Die Bedeutung von *UMOD* für die Blutdruckregulation konnte nachfolgend in tierexperimentellen Arbeiten näher charakterisiert werden. Transgene Mäuse mit einer *UMOD*-Überexpression entwickeln eine salzsensitive Hypertonie, die über eine verstärkte NKCC2-Aktivierung und konsekutiv erhöhte Natrium-Reabsorption im TAL vermittelt wird [78]. *UMOD knockout* Mäuse zeigen dagegen im Vergleich zum Wildtyp einen niedrigeren systolischen Blutdruck [91]. Zudem ist das G-Allel des *UMOD*-rs13333226 Polymorphismus beim Menschen mit einem niedrigeren Hypertonie-Risiko assoziiert [90]. Dieser SNP liegt im Kopplungsungleichgewicht mit dem von uns untersuchten rs12917707 SNP [90]. Einerseits stellt die hypertensive Nephropathie eine Komplikation der arteriellen Hypertonie dar und die Hypertonie gilt als bedeutsamer Risikofaktor für die CKD [105]. Andererseits können renale Erkrankungen eine Hypertonie verursachen oder aggravieren [105,106]. Die CKD bei Hypertonikern hat dabei wesentlichen Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko und die Mortalität [107]. Bei Patienten nach Nierentransplantation gilt die Hypertonie zusätzlich als Risikofaktor für ein vermindertes Transplantatüberleben [108].

Insofern war es von Interesse, den Effekt des *UMOD*-rs12917707-T Allels auf die Blutdruckwerte bei nierentransplantierten Patienten und bei kardiovaskulären Risikopatienten zu untersuchen. In den hier aufgeführten eigenen Arbeiten beobachteten wir allerdings keinen Effekt auf die systolischen oder diastolischen

Blutdruckwerte bei den eingeschlossenen Patienten [84,85]. Im untersuchten kardiovaskulären Risikokollektiv kann hierfür als wahrscheinlicher Grund angenommen werden, dass alle eingeschlossenen Patienten antihypertensiv behandelt wurden und insgesamt eine gute Blutdruckkontrolle aufwiesen. Im Zusammenhang mit der antihypertensiven Medikation ist ein interessanter Aspekt, dass Hemmer des Angiotensin-Konvertierungsenzyms die Uromodulin-Ausscheidung im Urin reduzieren [109]. Bei den nierentransplantierten Patienten könnten mögliche *UMOD*-Effekte auf den Blutdruck ebenfalls verdeckt worden sein durch eine entweder präexistente Hypertonie oder die Entwicklung einer Hypertonie nach Transplantation. Letztere ist ein bekanntes und häufiges Problem nach Nierentransplantation [108]. Auf die Entwicklung einer Posttransplantationshypertonie hat neben weiteren Faktoren auch die Art der immunsuppressiven Therapie einen Einfluss [108,110]. Unter Ciclosporin beispielsweise kommt es dosisabhängig zu einem Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks von durchschnittlich 7 mmHg [110]. Als Limitation unserer Studie muss hier genannt werden, dass keine detaillierten Daten zu Komorbiditäten oder Komedikationen im Verlauf erfasst wurden.

Wie bereits dargestellt, verweisen experimentelle und klinische Studien darauf, dass der Zusammenhang zwischen *UMOD* und Hypertonie durch eine Aktivierung des renalen NKCC2 vermittelt wird [78,91]. Dieser Mechanismus ist nicht zuletzt auch hinsichtlich eines denkbaren pharmakogenetischen Aspekts der *UMOD*-Varianten interessant, auch wenn die Untersuchungen dazu noch ganz am Anfang stehen. So wurde in einer retrospektiven Analyse bei unbehandelten hypertensiven Patienten gezeigt, dass der blutdrucksenkende Effekt einer kurzfristigen NKCC2-Inhibition mittels Furosemid stärker ausfällt bei Patienten, die homozygot für eine *UMOD*-Risikovariante sind [78].

In einer GWAS stellte sich der Effekt der untersuchten *UMOD*-Variante auf die Serumkreatinin-Konzentration mit zunehmendem Alter (> 50 Jahre) und mit steigender Anzahl der Komorbiditäten deutlicher dar [77]. Auch Pattaro et al. berichten, dass die Assoziation von *UMOD* mit der eGFR bei Älteren (> 65 Jahre) und bei Patienten mit Hypertonie ausgeprägter ist [80]. Diese altersabhängige Zunahme des *UMOD*-Effekts auf die Parameter der renalen Funktion könnte erklären, warum der *UMOD*-Genotyp in unserer Analyse der nierentransplantierten Patienten mit einem mittleren Alter der Empfänger und Spender von unter 45 Jahren keinen Einfluss auf die Kreatinin-

Konzentrationen zeigte. Dagegen konnten wir im älteren Patientenkollektiv (mittleres Alter 58 Jahre) mit arterieller Hypertonie und kardiovaskulärer Erkrankung eine Assoziation mit der eGFR detektieren. Hinsichtlich der renalen Funktion muss sicherlich auch berücksichtigt werden, dass insgesamt die Effektgröße der SNPs auf die GFR klein ist [73,76]. So erklärten in einer kürzlich publizierten GWAS-Metaanalyse alle 53 mit der eGFR assoziierten SNPs zusammen lediglich 3% der eGFR-Varianz [75]. Dies gilt umso mehr für die komplexe Situation der Nierentransplantation, in der die langfristige Transplantatfunktion durch viele, in wechselseitiger Beziehung stehende Faktoren des Spenders und Empfängers beeinflusst wird [50,102].

In keiner der von uns untersuchten Kollektive war eine nachträgliche Untersuchung von Urinproben hinsichtlich der Uromodulin-Exkretion möglich. Daher war eine Analyse der Uromodulin-Ausscheidung im Urin in Abhängigkeit vom *UMOD*-Genotyp nicht durchführbar. In einer Untersuchung bei 282 nierentransplantierten Patienten konnte jedoch gezeigt werden, dass auch in der Transplantationssituation der *UMOD*-rs12917707-Genotyp der Spenderniere die Höhe der Uromodulin-Konzentrationen im Urin des Empfängers bestimmt [51]. Dabei sind die Konzentrationen bei den Patienten niedriger, die ein Transplantat eines T-Allelträgers erhalten hatten [51]. Dagegen zeigt der Genotyp des Empfängers erwartungsgemäß keinen Effekt [51]. In einer früheren Arbeit der gleichen Gruppe war das Risiko für ein Transplantatversagen niedriger bei den Patienten mit den niedrigsten und den höchsten Uromodulin-Urinspiegeln [111]. Rückschlüsse darüber, über welche Mechanismen Uromodulin im Urin die Funktion des Nierentransplantats beeinflussen könnte, lassen sich aus den Ergebnissen nicht ziehen. Sie verweisen aber darauf, dass Uromodulin ein informativer Biomarker für die tubuläre Funktion sein könnte [70,71,112].

Bisher gibt es hinsichtlich des Effekts des *UMOD*-Genotyps des Spenders auf das Transplantatüberleben eine weitere publizierte Arbeit mit 1.066 eingeschlossenen nierentransplantierten Patienten [51]. In Analogie zu unseren Befunden war die rs12917707-T Allelfrequenz numerisch höher bei Patienten mit funktionsfähigem Transplantat im Vergleich zu den Fällen mit Transplantatverlust (18,7% versus 17,2%). Ebenso zeigte sich keine Assoziation mit dem Transplantatüberleben [51], die sich in unserer Untersuchung auch erst in der für das Spenderalter und Vorliegen einer diabetischen Nephropathie adjustierten multivariaten Analyse und nach Ausschluss

der Todesfälle mit funktionsfähigem Transplantat darstellte. Dieser diskrepante Befund könnte bedingt sein durch Unterschiede im immunsuppressiven Regime oder der kürzeren Nachbeobachtungszeit [51].

Die zuletzt vorgestellte Arbeit zum Einfluss des *UMOD*-Genotyps bei kardiovaskulären Risikopatienten zeigt eine bisher nicht bekannte Assoziation zwischen dem *UMOD*-rs12917707-T Allel und der Größe des linken Vorhofs auf [85]. Dabei war der mittels Echokardiografie bestimmte Durchmesser des linken Vorhofs bei Patienten mit TT-Genotyp signifikant kleiner (-1,5 mm) im Vergleich zu den anderen Genotyp-Gruppen. Neben der linksventrikulären Hypertrophie stellt die Vergrößerung des linken Atriums eine weitere Manifestation der hypertensiven Herzerkrankung dar [113,114]. Wie bereits oben dargelegt sind die *UMOD*-Promotorvarianten rs13333226-G und rs4293393-C mit einem geringeren Hypertonie-Risiko bzw. einem niedrigeren diastolischen Blutdruck assoziiert [78,90]. Es könnte also sein, dass ein späterer Beginn der Hypertonie oder eine leichtgradigere Hypertonie bei homozygoten rs12917707-T Allelträgern durch eine geringere hämodynamische Belastung über die Zeit zu weniger ausgeprägten Veränderungsvorgängen im linken Atrium beigetragen haben. Ob auch die Konzentration von Uromodulin im Serum eine Rolle bei den von uns beobachteten linksatrialen Effekten spielen könnte, lässt sich derzeit nicht sagen. Eine Limitation unseres Befundes liegt darin, dass der absolute Unterschied im linksatrialen Durchmesser gering war und nur an einer kleinen Anzahl homozygoter Individuen detektiert wurde. Die Validierung an einer unabhängigen und vor allem größeren Replikationskohorte steht bislang aus. Darüber hinaus sind weitere funktionelle Untersuchungen zu dieser potentiellen, durch *UMOD* modulierten wechselseitigen Beeinflussung von kardialer und renaler Funktion anzustreben.

4. Zusammenfassung

Ein gemeinsames Ziel pharmakogenetischer und pharmakogenomischer Forschung besteht darin, die Effekte der individuellen genetischen Ausstattung auf die Sicherheit und Effektivität einer etablierten Arzneimitteltherapie zu analysieren [1,3,7]. Im Hinblick auf die klinische Anwendung soll dadurch für den zu behandelnden Patienten ein optimaler Therapieeffekt bei einem Minimum an unerwünschten Arzneimittelreaktionen erzielt werden [1]. Im klassischen Sinn beschäftigt sich die Pharmakogenetik dabei mit Genvarianten in Proteinen, die für pharmakokinetische und –dynamische Prozesse bedeutsam sind [3]. Die genomweite Betrachtungsweise ermöglicht neben der Berücksichtigung der Summeneffekte genetischer Variabilität [1] die Identifizierung von Varianten, die mit der Prädisposition gegenüber Erkrankungen assoziiert sind und damit als Wegweiser für neue therapeutische Zielstrukturen in Frage kommen [12]. Die vorliegende Habilitationsschrift fasst fünf Arbeiten zusammen, in denen diese Aspekte bei renalen und kardiovaskulären Erkrankungen am Beispiel von zwei Kandidatengenen untersucht wurden.

Die ersten drei Arbeiten stellen dabei klassische pharmakogenetische Analysen zur Genetik der Expression des Phase I-Enzyms CYP3A5 und ihrer Bedeutung bei Patienten nach Nierentransplantation dar. Da die systemische und lokale Exposition gegenüber dem CYP3A5-Substrat Ciclosporin und seinen Metaboliten die Toxizität des Calcineurin-Inhibitors beeinflusst [44,63], wurde zunächst (2.1.1) untersucht, ob der *CYP3A5*-Genotyp in Analogie zur hepatischen Expression auch die renale CYP3A5-Enzymexpression differentiell beeinflusst [81]. Die Arbeit bestätigte die in kleineren Analysen bereits vorbeschriebene renale Genotyp-Phänotyp-Korrelation für CYP3A5 in gesundem Nierengewebe [35,65]. Der Genotyp steuert dabei die Höhe der CYP3A5-Proteinexpression in den Zellen des proximalen Tubulus. Diese Ergebnisse konnten wir nachfolgend (2.1.2) auf die pathophysiologische Situation bei akuter Nierentransplantat-Rejektion erweitern [82]. Das *CYP3A5*1*-Allel des Spenders determinierte auch in Rejektionsbiopsaten sowohl eine höhere mRNA-Expression als auch eine stärkere Proteinexpression im proximalen Tubulus. Als neuen Befund detektierten wir zudem eine Assoziation des Spender-Genotyps und der *CYP3A5*-Expressionsspiegel im Nierentransplantat mit dem Erfolg einer Glukokortikoid-Therapie. Im Rahmen der dritten Arbeit (2.1.3) zeigte sich ein positiver Effekt des *CYP3A5*1*-Allels des Empfängers auf das Patientenüberleben nach

Nierentransplantation [83]. Dies erschien plausibel, da der *CYP3A5*-Genotyp sowohl das Ciclosporin-Metabolitenprofil lokal in der Niere [58] als auch im systemischen Kreislauf beeinflusst [62]. Zwei sehr umfangreiche mittlerweile publizierte Studien zum Einfluss verschiedener genetischer Varianten auf das Nierentransplantatüberleben und die Mortalität der Empfänger [100,101] konnten unsere Befunde für den *CYP3A5*-Genotyp jedoch nicht bestätigen.

Auf der Grundlage von Assoziationsstudien gelten Promotorvarianten im *Uromodulin*-Gen (*UMOD*) als vielversprechende Kandidaten für verschiedene renale Erkrankungen [67] und die arterielle Hypertonie [104]. Die vierte (2.2.1) und fünfte (2.2.2) hier vorgestellte Arbeit zur Bedeutung der *UMOD*-Variante rs12917707 für die Nierenfunktion [84,85] stellen daher beispielhaft den zweiten Aspekt genetischer Untersuchungen – die Analyse eines krankheitsmodifizierenden Einflusses – dar. In der Arbeit 2.2.1 bei Patienten nach Nierentransplantation [84] hatte das *UMOD*-Allel rs12917707-T der Spenderniere keinen Einfluss auf die Höhe der Serumkreatinin-Konzentration nach Transplantation. Grund hierfür könnte das geringe mittlere Alter (< 45 Jahre) in unserem Patientenkollektiv sein, da sich *UMOD*-Effekte auf Parameter der Nierenfunktion altersabhängig deutlicher darstellen [77,80]. Ein signifikanter positiver Effekt des protektiven *UMOD*-Allels des Spenders auf das Transplantatüberleben zeigte sich erst in der adjustierten multivariaten Analyse nach Ausschluss der Todesfälle mit funktionsfähigem Transplantat. In der letzten hier eingeschlossenen Publikation (2.2.2) konnten wir den in populationsbasierten Studien detektierten günstigen Einfluss des rs12917707-T Allels auf die glomeruläre Filtrationsrate auch bei Patienten mit arterieller Hypertonie und manifester kardiovaskulärer Erkrankung nachweisen [85]. Als neuer Befund zeigte sich zudem eine Assoziation mit dem linksatrialen Durchmesser. Dies deutet auf ein Wechselspiel kardialer und renaler Funktionen hin, das durch *UMOD* moduliert werden könnte.

Die hier zusammengeführten Arbeiten verweisen am Beispiel von *CYP3A5* und *UMOD* auf das Potential genetischer Untersuchungen für eine individualisierte Therapie. Der Erfolg dieser Ansätze ist jedoch unter anderem abhängig von der Anzahl mitbeteiligter Varianten, deren Allelfrequenzen und jeweiligen Effektgrößen [1]. Darüber hinaus stellen Varianten in Einzelgenen lediglich eine Variable unter vielen Faktoren mit Einfluss auf eine definierte Arzneimitteltherapie dar. Auch deshalb sollten unsere neuartigen Befunde in weiteren Studien verifiziert werden.

5. Literaturverzeichnis

1. Zhang G, Nebert DW. Personalized medicine: Genetic risk prediction of drug response. *Pharmacology & therapeutics* 2017; 175:75-90.
2. Plothner M, Ribbentrop D, Hartman JP, Frank M. Cost-Effectiveness of Pharmacogenomic and Pharmacogenetic Test-Guided Personalized Therapies: A Systematic Review of the Approved Active Substances for Personalized Medicine in Germany. *Advances in therapy* 2016; 33 (9):1461-1480.
3. Stingl JC, Just KS, Kaumanns K, Schurig-Urbaniak M, Scholl C, von Mallek D, et al. [Personalized drug therapy based on genetics. Possibilities and examples from clinical practice]. *Der Internist* 2016; 57 (3):289-297.
4. Rottenkolber D, Schmiedl S, Rottenkolber M, Farker K, Salje K, Mueller S, et al. Adverse drug reactions in Germany: direct costs of internal medicine hospitalizations. *Pharmacoepidemiology and drug safety* 2011; 20 (6):626-634.
5. Schneeweiss S, Hasford J, Gottler M, Hoffmann A, Riethling AK, Avorn J. Admissions caused by adverse drug events to internal medicine and emergency departments in hospitals: a longitudinal population-based study. *European journal of clinical pharmacology* 2002; 58 (4):285-291.
6. Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends in molecular medicine* 2001; 7 (5):201-204.
7. Verbelen M, Weale ME, Lewis CM. Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment: are we there yet? *The pharmacogenomics journal* 2017; 17 (5):395-402.
8. Eichelbaum M, Schwab M. Pharmakogenetik. In: Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, editors. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. München: Urban & Fischer in Elsevier; 2013. p. 60.
9. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Human mutation* 2016; 37 (6):564-569.
10. Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015; 526 (7571):68-74.
11. Bohm R, Cascorbi I. Pharmacogenetics and Predictive Testing of Drug Hypersensitivity Reactions. *Frontiers in pharmacology* 2016; 7:396.
12. Cardon LR, Harris T. Precision medicine, genomics and drug discovery. *Human molecular genetics* 2016; 25 (R2):R166-R172.
13. Caraballo PJ, Bielinski SJ, St Sauver JL, Weinshilboum RM. Electronic Medical Record-Integrated Pharmacogenomics and Related Clinical Decision Support Concepts. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2017; 102 (2):254-264.
14. Nelson DR, Zeldin DC, Hoffman SM, Maltais LJ, Wain HM, Nebert DW. Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes,

including nomenclature recommendations for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. *Pharmacogenetics* 2004; 14 (1):1-18.

15. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & therapeutics* 2013; 138 (1):103-141.

16. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2008; 392 (6):1093-1108.

17. Liu YT, Hao HP, Liu CX, Wang GJ, Xie HG. Drugs as CYP3A probes, inducers, and inhibitors. *Drug metabolism reviews* 2007; 39 (4):699-721.

18. Kamdem LK, Meineke I, Godtel-Armbrust U, Brockmoller J, Wojnowski L. Dominant contribution of P450 3A4 to the hepatic carcinogenic activation of aflatoxin B1. *Chemical research in toxicology* 2006; 19 (4):577-586.

19. Ohtsuki S, Schaefer O, Kawakami H, Inoue T, Liehner S, Saito A, et al. Simultaneous absolute protein quantification of transporters, cytochromes P450, and UDP-glucuronosyltransferases as a novel approach for the characterization of individual human liver: comparison with mRNA levels and activities. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2012; 40 (1):83-92.

20. Werk AN, Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2014; 96 (3):340-348.

21. Burk O, Wojnowski L. Cytochrome P450 3A and their regulation. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 2004; 369 (1):105-124.

22. The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. <http://www.cypalleles.ki.se>; Stand: September 2017.

23. Ozdemir V, Kalow W, Tang BK, Paterson AD, Walker SE, Endrenyi L, et al. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics* 2000; 10 (5):373-388.

24. Rahmioglu N, Heaton J, Clement G, Gill R, Surdulescu G, Zlobecka K, et al. Genetic epidemiology of induced CYP3A4 activity. *Pharmacogenetics and genomics* 2011; 21 (10):642-651.

25. Klein K, Zanger UM. Pharmacogenomics of Cytochrome P450 3A4: Recent Progress Toward the "Missing Heritability" Problem. *Frontiers in genetics* 2013; 4:12.

26. Wang D, Guo Y, Wrighton SA, Cooke GE, Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *The pharmacogenomics journal* 2011; 11 (4):274-286.

27. Werk AN, Lefeldt S, Bruckmueller H, Hemmrich-Stanisak G, Franke A, Roos M, et al. Identification and characterization of a defective CYP3A4 genotype in a kidney

transplant patient with severely diminished tacrolimus clearance. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2014; 95 (4):416-422.

28. Westlind-Johnsson A, Hermann R, Huennemeyer A, Hauns B, Lahu G, Nassr N, et al. Identification and characterization of CYP3A4*20, a novel rare CYP3A4 allele without functional activity. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2006; 79 (4):339-349.

29. Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2017; 102 (4):688-700.

30. Daly AK. Significance of the minor cytochrome P450 3A isoforms. *Clinical pharmacokinetics* 2006; 45 (1):13-31.

31. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *NatGenet* 2001; 27 (4):383-391.

32. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2001; 11 (9):773-779.

33. Lin YS, Dowling AL, Quigley SD, Farin FM, Zhang J, Lamba J, et al. Co-regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and contribution to hepatic and intestinal midazolam metabolism. *MolPharmacol* 2002; 62 (1):162-172.

34. Kreutz R, Zuurman M, Kain S, Bolbrinker J, de Jong PE, Navis G. The role of the cytochrome P450 3A5 enzyme for blood pressure regulation in the general Caucasian population. *Pharmacogenetics and genomics* 2005; 15 (12):831-837.

35. Koch I, Weil R, Wolbold R, Brockmoller J, Hustert E, Burk O, et al. Interindividual variability and tissue-specificity in the expression of cytochrome P450 3A mRNA. *Drug Metab Dispos* 2002; 30 (10):1108-1114.

36. Calne R. Cyclosporine as a milestone in immunosuppression. *Transplantation proceedings* 2004; 36 (2 Suppl):13s-15s.

37. Kalble F, Schaier M, Schafer S, Susal C, Zeier M, Sommerer C, et al. An update on chemical pharmacotherapy options for the prevention of kidney transplant rejection with a focus on costimulation blockade. *Expert opinion on pharmacotherapy* 2017; 18 (8):799-807.

38. Casey MJ, Meier-Kriesche HU. Calcineurin inhibitors in kidney transplantation: friend or foe? *Current opinion in nephrology and hypertension* 2011; 20 (6):610-615.

39. Vincenti F, Rostaing L, Grinyo J, Rice K, Steinberg S, Gaitte L, et al. Belatacept and Long-Term Outcomes in Kidney Transplantation. *The New England journal of medicine* 2016; 374 (4):333-343.

40. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *American journal of transplantation : official journal*

of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 2011; 11 (3):450-462.

41. ERA-EDTA Registry. ERA-EDTA Registry Annual Report 2015. Amsterdam, the Netherlands: Academic Medical Center, Department of Medical Informatics; 2017.

42. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 2009; 9 Suppl 3:S1-155.

43. Heemann U, Abramowicz D, Spasovski G, Vanholder R. Endorsement of the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) guidelines on kidney transplantation: a European Renal Best Practice (ERBP) position statement. Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2011; 26 (7):2099-2106.

44. Knops N, Levtchenko E, van den Heuvel B, Kuypers D. From gut to kidney: transporting and metabolizing calcineurin-inhibitors in solid organ transplantation. International journal of pharmaceutics 2013; 452 (1-2):14-35.

45. Vanhove T, Annaert P, Kuypers DR. Clinical determinants of calcineurin inhibitor disposition: a mechanistic review. Drug metabolism reviews 2016; 48 (1):88-112.

46. Hesselink DA, Bouamar R, Elens L, van Schaik RH, van Gelder T. The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. Clinical pharmacokinetics 2014; 53 (2):123-139.

47. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. Clinical pharmacokinetics 2010; 49 (4):207-221.

48. Hoskova L, Malek I, Kopkan L, Kautzner J. Pathophysiological mechanisms of calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity and arterial hypertension. Physiological research 2017; 66 (2):167-180.

49. Nankivell BJ, P'Ng CH, O'Connell PJ, Chapman JR. Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity Through the Lens of Longitudinal Histology: Comparison of Cyclosporine and Tacrolimus Eras. Transplantation 2016; 100 (8):1723-1731.

50. Simmonds MJ. Using Genetic Variation to Predict and Extend Long-term Kidney Transplant Function. Transplantation 2015; 99 (10):2038-2048.

51. Reznichenko A, Boger CA, Snieder H, van den Born J, de Borst MH, Damman J, et al. UMOD as a susceptibility gene for end-stage renal disease. BMC medical genetics 2012; 13:78.

52. Kreutz R, Zurcher H, Kain S, Martus P, Offermann G, Beige J. The effect of variable CYP3A5 expression on cyclosporine dosing, blood pressure and long-term graft survival in renal transplant patients. Pharmacogenetics 2004; 14 (10):665-671.

53. Tang JT, Andrews LM, van Gelder T, Shi YY, van Schaik RH, Wang LL, et al. Pharmacogenetic aspects of the use of tacrolimus in renal transplantation: recent developments and ethnic considerations. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 2016; 12 (5):555-565.
54. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clinical pharmacokinetics* 2010; 49 (3):141-175.
55. Oetting WS, Schladt DP, Guan W, Miller MB, Remmel RP, Dorr C, et al. Genomewide Association Study of Tacrolimus Concentrations in African American Kidney Transplant Recipients Identifies Multiple CYP3A5 Alleles. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2016; 16 (2):574-582.
56. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2015; 98 (1):19-24.
57. Picard N, Marquet P. The influence of pharmacogenetics and cofactors on clinical outcomes in kidney transplantation. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 2011; 7 (6):731-743.
58. Dai Y, Iwanaga K, Lin YS, Hebert MF, Davis CL, Huang W, et al. In vitro metabolism of cyclosporine A by human kidney CYP3A5. *Biochemical pharmacology* 2004; 68 (9):1889-1902.
59. Dai Y, Hebert MF, Isoherranen N, Davis CL, Marsh C, Shen DD, et al. Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2006; 34 (5):836-847.
60. Tseng E, Walsky RL, Luzietti RA, Jr., Harris JJ, Kosa RE, Goosen TC, et al. Relative contributions of cytochrome CYP3A4 versus CYP3A5 for CYP3A-cleared drugs assessed in vitro using a CYP3A4-selective inactivator (CYP3cide). *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2014; 42 (7):1163-1173.
61. Zheng S, Tasnif Y, Hebert MF, Davis CL, Shitara Y, Calamia JC, et al. Measurement and compartmental modeling of the effect of CYP3A5 gene variation on systemic and intrarenal tacrolimus disposition. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2012; 92 (6):737-745.
62. Zheng S, Tasnif Y, Hebert MF, Davis CL, Shitara Y, Calamia JC, et al. CYP3A5 gene variation influences cyclosporine A metabolite formation and renal cyclosporine disposition. *Transplantation* 2013; 95 (6):821-827.
63. Metalidis C, Lerut E, Naesens M, Kuypers DR. Expression of CYP3A5 and P-glycoprotein in renal allografts with histological signs of calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Transplantation* 2011; 91 (10):1098-1102.

64. Joy MS, Hogan SL, Thompson BD, Finn WF, Nickleit V. Cytochrome P450 3A5 expression in the kidneys of patients with calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *NephrolDialTransplant* 2007; 22 (7):1963-1968.
65. Givens RC, Lin YS, Dowling AL, Thummel KE, Lamba JK, Schuetz EG, et al. CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults. *JApplPhysiol* 2003; 95 (3):1297-1300.
66. Tamm I, Horsfall FL, Jr. Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine (New York, NY)* 1950; 74 (1):106-108.
67. Devuyst O, Olinger E, Rampoldi L. Uromodulin: from physiology to rare and complex kidney disorders. *Nature reviews Nephrology* 2017; 13 (9):525-544.
68. Scolari F, Izzi C, Ghiggeri GM. Uromodulin: from monogenic to multifactorial diseases. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2015; 30 (8):1250-1256.
69. Mount DB. Thick ascending limb of the loop of Henle. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2014; 9 (11):1974-1986.
70. Garimella PS, Biggs ML, Katz R, Ix JH, Bennett MR, Devarajan P, et al. Urinary uromodulin, kidney function, and cardiovascular disease in elderly adults. *Kidney international* 2015; 88 (5):1126-1134.
71. Scherberich JE, Gruber R, Nockher WA, Christensen EI, Schmitt H, Herbst V, et al. Serum uromodulin-a marker of kidney function and renal parenchymal integrity. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2017.
72. Bleyer AJ, Kidd K, Zivna M, Knoch S. Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease. *Advances in chronic kidney disease* 2017; 24 (2):86-93.
73. Kottgen A, Glazer NL, Dehghan A, Hwang SJ, Katz R, Li M, et al. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nature genetics* 2009; 41 (6):712-717.
74. Gorski M, Tin A, Garnaas M, McMahon GM, Chu AY, Tayo BO, et al. Genome-wide association study of kidney function decline in individuals of European descent. *Kidney international* 2015; 87 (5):1017-1029.
75. Pattaro C, Teumer A, Gorski M, Chu AY, Li M, Mijatovic V, et al. Genetic associations at 53 loci highlight cell types and biological pathways relevant for kidney function. *Nature communications* 2016; 7:10023.
76. Boger CA, Gorski M, Li M, Hoffmann MM, Huang C, Yang Q, et al. Association of eGFR-Related Loci Identified by GWAS with Incident CKD and ESRD. *PLoS genetics* 2011; 7 (9):e1002292.

77. Gudbjartsson DF, Holm H, Indridason OS, Thorleifsson G, Edvardsson V, Sulem P, et al. Association of variants at UMOD with chronic kidney disease and kidney stones-role of age and comorbid diseases. *PLoS genetics* 2010; 6 (7):e1001039.
78. Trudu M, Janas S, Lanzani C, Debaix H, Schaeffer C, Ikehata M, et al. Common noncoding UMOD gene variants induce salt-sensitive hypertension and kidney damage by increasing uromodulin expression. *Nature medicine* 2013; 19 (12):1655-1660.
79. Olden M, Corre T, Hayward C, Toniolo D, Ulivi S, Gasparini P, et al. Common variants in UMOD associate with urinary uromodulin levels: a meta-analysis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2014; 25 (8):1869-1882.
80. Pattaro C, Kottgen A, Teumer A, Garnaas M, Boger CA, Fuchsberger C, et al. Genome-wide association and functional follow-up reveals new loci for kidney function. *PLoS genetics* 2012; 8 (3):e1002584.
81. Bolbrinker J, Seeberg S, Schostak M, Kempkensteffen C, Baelde H, de Heer E, et al. CYP3A5 genotype-phenotype analysis in the human kidney reveals a strong site-specific expression of CYP3A5 in the proximal tubule in carriers of the CYP3A5*1 allele. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2012; 40 (4):639-641.
82. Rekers NV, Flaig TM, Mallat MJ, Spruyt-Gerritse MJ, Zandbergen M, Anholts JD, et al. Donor genotype and intragraft expression of CYP3A5 reflect the response to steroid treatment during acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2017; 101 (9):2017-2025.
83. Kreutz R, Bolbrinker J, van der Sman-de Beer F, Boeschoten EW, Dekker FW, Kain S, et al. CYP3A5 genotype is associated with longer patient survival after kidney transplantation and long-term treatment with cyclosporine. *The pharmacogenomics journal* 2008; 8 (6):416-422.
84. Abdel-Hady Algharably E, Beige J, Kreutz R, Bolbrinker J. Effect of UMOD genotype on long-term graft survival after kidney transplantation in patients treated with cyclosporine-based therapy. *The pharmacogenomics journal* 2017.
85. Algharably EAH, Bolbrinker J, Lezius S, Reibis R, Wegscheider K, Voller H, et al. Uromodulin associates with cardiorenal function in patients with hypertension and cardiovascular disease. *Journal of hypertension* 2017; 35 (10):2053–2058.
86. Haehner BD, Gorski JC, Vandenbranden M, Wrighton SA, Janardan SK, Watkins PB, et al. Bimodal distribution of renal cytochrome P450 3A activity in humans. *Molecular pharmacology* 1996; 50 (1):52-59.
87. van der Sman-de Beer F, Verhagen C, Rombach SM, Boorsma P, van Manen JG, Korevaar JC, et al. ACE I/D polymorphism is associated with mortality in a cohort study of patients starting with dialysis. *Kidney international* 2005; 68 (5):2237-2243.
88. Kottgen A. Genome-wide association studies in nephrology research. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2010; 56 (4):743-758.

89. Eckardt KU, Alper SL, Antignac C, Bleyer AJ, Chauveau D, Dahan K, et al. Autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease: diagnosis, classification, and management--A KDIGO consensus report. *Kidney international* 2015; 88 (4):676-683.
90. Padmanabhan S, Melander O, Johnson T, Di Blasio AM, Lee WK, Gentilini D, et al. Genome-wide association study of blood pressure extremes identifies variant near UMOD associated with hypertension. *PLoS genetics* 2010; 6 (10):e1001177.
91. Graham LA, Padmanabhan S, Fraser NJ, Kumar S, Bates JM, Raffi HS, et al. Validation of uromodulin as a candidate gene for human essential hypertension. *Hypertension* 2014; 63 (3):551-558.
92. Huber M, Voller H, Jakob S, Reibis R, Do V, Bolbrinker J, et al. Role of the angiotensin II type 2 receptor gene (+1675G/A) polymorphism on left ventricular hypertrophy and geometry in treated hypertensive patients. *Journal of hypertension* 2010; 28 (6):1221-1229.
93. Jameson JL, Longo DL. Precision medicine--personalized, problematic, and promising. *The New England journal of medicine* 2015; 372 (23):2229-2234.
94. Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO). Aktive Warteliste und Nierentransplantation. www.dso.de; Stand: September 2017.
95. Cascorbi I, Bruhn O, Werk AN. Challenges in pharmacogenetics. *European journal of clinical pharmacology* 2013; 69 Suppl 1:17-23.
96. Knops N, van den Heuvel LP, Masereeuw R, Bongaers I, de Loor H, Levtchenko E, et al. The functional implications of common genetic variation in CYP3A5 and ABCB1 in human proximal tubule cells. *Molecular pharmaceutics* 2015; 12 (3):758-768.
97. Copeland KR, Thliveris JA, Yatscoff RW. Toxicity of cyclosporine metabolites. *Therapeutic drug monitoring* 1990; 12 (6):525-532.
98. Copeland KR, Yatscoff RW. Comparison of the effects of cyclosporine and its metabolites on the release of prostacyclin and endothelin from mesangial cells. *Transplantation* 1992; 53 (3):640-645.
99. Healy E, Dempsey M, Lally C, Ryan MP. Apoptosis and necrosis: mechanisms of cell death induced by cyclosporine A in a renal proximal tubular cell line. *Kidney international* 1998; 54 (6):1955-1966.
100. Moore J, McKnight AJ, Dohler B, Simmonds MJ, Courtney AE, Brand OJ, et al. Donor ABCB1 variant associates with increased risk for kidney allograft failure. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2012; 23 (11):1891-1899.
101. Flahault A, Anglicheau D, Lorient MA, Thervet E, Pallet N. Clinical impact of the CYP3A5 6986A>G allelic variant on kidney transplantation outcomes. *Pharmacogenomics* 2017; 18 (2):165-173.
102. Phelan PJ, Conlon PJ, Sparks MA. Genetic determinants of renal transplant outcome: where do we stand? *Journal of nephrology* 2014; 27 (3):247-256.

103. Kottgen A, Yang Q, Shimmin LC, Tin A, Schaeffer C, Coresh J, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and urinary uromodulin concentrations with rare variants identified by UMOD gene region sequencing. *PloS one* 2012; 7 (5):e38311.
104. Padmanabhan S, Graham L, Ferreri NR, Graham D, McBride M, Dominiczak AF. Uromodulin, an emerging novel pathway for blood pressure regulation and hypertension. *Hypertension* 2014; 64 (5):918-923.
105. Horowitz B, Miskulin D, Zager P. Epidemiology of hypertension in CKD. *Advances in chronic kidney disease* 2015; 22 (2):88-95.
106. Navar LG. The role of the kidneys in hypertension. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn)* 2005; 7 (9):542-549.
107. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Bohm M, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension* 2013; 31 (7):1281-1357.
108. Weir MR, Burgess ED, Cooper JE, Fenves AZ, Goldsmith D, McKay D, et al. Assessment and management of hypertension in transplant patients. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2015; 26 (6):1248-1260.
109. Guidi E, Giglioni A, Cozzi MG, Minetti EE. Which urinary proteins are decreased after angiotensin converting--enzyme inhibition? *Renal failure* 1998; 20 (2):243-248.
110. Robert N, Wong GW, Wright JM. Effect of cyclosporine on blood pressure. *The Cochrane database of systematic reviews* 2010; (1):CD007893.
111. Reznichenko A, van Dijk MC, van der Heide JH, Bakker SJ, Seelen M, Navis G. Uromodulin in renal transplant recipients: elevated urinary levels and bimodal association with graft failure. *American journal of nephrology* 2011; 34 (5):445-451.
112. Devuyst O, Bochud M. Uromodulin, kidney function, cardiovascular disease, and mortality. *Kidney international* 2015; 88 (5):944-946.
113. Diez J, Frohlich ED. A translational approach to hypertensive heart disease. *Hypertension* 2010; 55 (1):1-8.
114. Raman SV. The hypertensive heart. An integrated understanding informed by imaging. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 55 (2):91-96.

Danksagung

Herrn Professor Dr. Reinhold Kreutz möchte ich herzlich danken für die Förderung und kritische Begleitung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit, unsere langjährige, vertrauensvolle Zusammenarbeit und seine stetige Motivation, diese Habilitationsschrift fertig zu stellen.

Ich danke meinen Kooperationspartnern für die konstruktive Zusammenarbeit in den vielen Forschungsprojekten der letzten Jahre. Für die hier zusammengeführten Arbeiten geht dabei mein Dank insbesondere an Herrn Professor Dr. Martin Schostak und PD Dr. Carsten Kempkensteffen, Herrn Dr. Michael Eikmans, Dr. Emile de Heer und Dr. Niels Vincent Rekers, Herrn Professor Dr. Klemens Budde und Dr. Tanja Maria Flaig, Herrn Professor Dr. Joachim Beige und Herrn Professor Dr. Heinz Völler.

Frau Dr. Stefanie Seeberg war im Rahmen ihrer Promotion an einem Teil der hier vorgestellten Veröffentlichungen beteiligt.

Frau Dr. Engi Abdel-Hady Algharably danke ich für unsere inhaltlichen Diskussionen und die gemeinsame Arbeit an unseren Publikationen.

Bei meinen ehemaligen und derzeitigen Kolleginnen und Kollegen, den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern und Doktoranden aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie bedanke ich mich für die freundschaftliche und produktive Zusammenarbeit und die vielfältige Unterstützung.

Ein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Christoph Schröder für den inoffiziellen Projekttitel dieser Schrift, unsere wiederkehrenden Diskurse über das Für und Wider von Habilitationen sowie seine Unterstützung bei der abschließenden Fertigstellung der Arbeit.

Frau Sabine Köpcke sei gedankt für ihre freundschaftlichen Aufmunterungen.

Meiner Mutter und meiner Schwester danke ich für ihre unentwegte Teilnahme und ihr unerschütterliches Vertrauen in mein Können.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....
Datum

.....
Unterschrift