

1 Einleitung

1.1 Bedeutung des Arzneistofftransports für die Pharmakokinetik

Ziel jeder medikamentösen Therapie ist es, eine maximale Wirkung bei minimaler Belastung des menschlichen Organismus zu erreichen. Aufgrund der meist hohen Patientencompliance, der Einhaltung der anzuwendenden Arzneistoffmengen und der verhältnismäßig einfachen Herstellung in großem Maßstab, werden die meisten Arzneistoffe oral verabreicht. Jedoch muß ein Arzneistoff nach oraler Gabe verschiedenste Barrieren überwinden, bevor er seinen Wirkort erreicht. Die Resorption findet hauptsächlich im oberen Dünndarm statt. Absorption, Verteilung und Elimination von Arzneistoffen wurden bis vor wenigen Jahren als passive Vorgänge beschrieben. Jedoch konnten die pharmakokinetische Charakteristik zahlreicher Arzneistoffe, die sich in einer unerwartet hohen oder verminderten Bioverfügbarkeit widerspiegeln, nicht allein durch passive Diffusion erklärt werden [1;2]. Fortschritte in der Identifizierung, sowie der molekularen Klonierung und Charakterisierung von Transmembrantransportern, führten zu zunehmenden Erkenntnissen über aktive Transporter-vermittelte Prozesse. Veränderungen in der Bioverfügbarkeit konnten nun auf einen veränderten Aufnahme- oder Effluxtransport zurückgeführt werden. Abhängig vom Arzneistoff, können passive Diffusion und aktiver Transport simultan stattfinden [3]. Zusätzlich können einige Substrate gleichzeitig über mehrere Transportsysteme transportiert werden, so z.B. β -Lactam-Antibiotika [4].

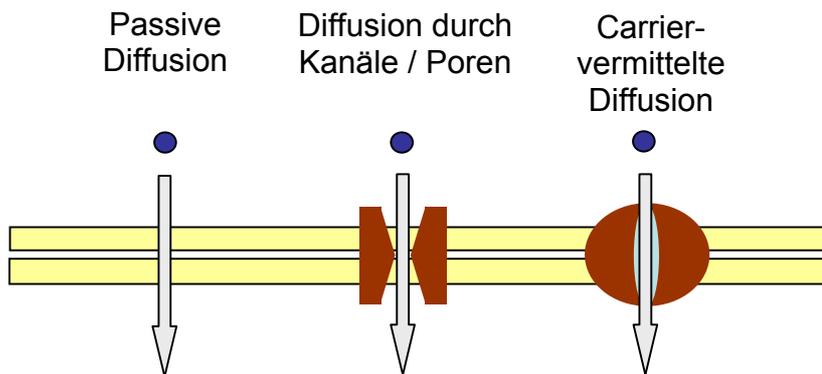
Nachfolgend sollen die Unterschiede zwischen passivem und aktivem Transport beschrieben werden (**Abbildung 1**), wobei zunächst ein Überblick über bekannte passive Transportvorgänge (passive Diffusion, Diffusion durch Kanäle und Poren, sowie Carrier-vermittelte Diffusion) gegeben wird (**Abbildung 1a**). Moleküle überwinden hierbei biologische Membranen ohne Energieverbrauch aufgrund eines Konzentrationsgefälles und gelangen auf diesem Wege in verschiedene Kompartimente. Passive Transportvorgänge werden durch die physikochemischen Eigenschaften eines Stoffes beeinflusst, wozu Größe, Ladung, Lipidlöslichkeit und Flexibilität des Arzneistoffes zählen.

Einleitung

Hieraus folgt, dass kleine, lipophile und flexible Arzneistoffmoleküle Membranen schneller durchdringen als große, hydrophile und starre Substanzen. Die dargestellten aktiven Transportprozesse (**Abbildung 1b**) werden in **Abschnitt 1.2** näher erläutert.

1a

Passiver Transport



● transportierte Stoffe / Moleküle (z.B. Arznei- oder Fremdstoffe)
■

1b

Aktiver Transport

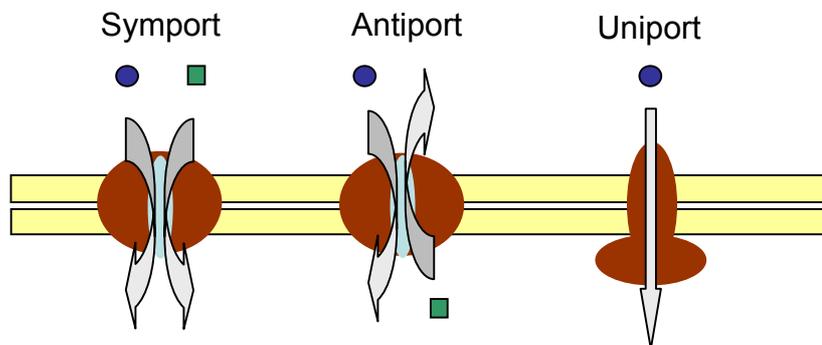


Abbildung 1a,b Mechanismen für den Transport durch Membranen für endogene Stoffe, Arznei- und Fremdstoffe

1.2 Transmembrantransporter

In Zusammenhang mit den komplexen pharmakokinetischen Vorgängen von Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Arzneistoffen, erlangen neben den arzneistoffmetabolisierenden Enzymen Transmembrantransporter zunehmende Bedeutung. Ursprünglich als Barriere für über die Nahrung aufgenommene exogene Gifte angelegt, stellen Membranen ebenfalls Resorptionsorte für Pharmaka dar. Sie sind eine Hürde, die überwunden werden muß, soll ein Wirkstoff seinen Wirkort erreichen. Transporter-vermittelte Prozesse spielen bei der Überwindung dieser Barrieren eine bedeutende Rolle. So konnte nachgewiesen werden, dass der in Abschnitt 1.2.1 beschriebene ABC-Transporter ABCB1 (auch P-Glykoprotein, Pgp), an der intestinalen Elimination von Digoxin beteiligt ist, welches intravenös verabreicht wurde. Ebenfalls kann die Absorption von Pharmaka aus dem Darm durch die Effluxaktivität des ABCB1 effizient gehemmt werden [5]. Werden Arzneistoffe entlang ihres Konzentrationsgefälles über Transmembran-Transporter transportiert, spricht man von erleichteter bzw. Carrier-vermittelter Diffusion. Andererseits gibt es Transporter, die Arzneistoffe aktiv unter ATP-Verbrauch auch gegen ein Konzentrationsgefälle durch Membranen transportieren können (**Abbildung 1b**). Unterschieden werden hierbei 3 Varianten. Wird nur ein Stoff transportiert, spricht man von Uniport. Bei Transport von 2 Stoffen in einer Richtung handelt es sich um einen Symport, bei gegenläufiger Richtung um einen Antiport. Aktive Transportprozesse konnten als Ursache für nichtlineare Kinetiken einiger Arzneistoffe, wie z.B. Cyclosporin A [6] und Paclitaxel [2] identifiziert werden. Nachfolgend ist die Lokalisation von wichtigen Aufnahme- und Effluxtransportern dargestellt (**Abbildung 2**). Während Aufnahmetransporter in Leber und Niere für den Transport eines Arznei- oder Fremdstoffs aus dem Blut in das Organ zuständig sind, regulieren sie im Darm die Aufnahme aus dem Lumen ins Blut. Effluxtransporter in der Leber eliminieren Stoffe aus dem Organ in die Gallengänge, in der Niere sind sie an der tubulären Reabsorption bzw. Sekretion beteiligt. Im Darm hingegen werden Effluxtransporter wie ABCB1 und ABCC2 (Mrp2) am luminalen Pol der Zelloberfläche von Mukosazellen exprimiert und führen zu einer Reabsorption von Arzneistoffen in das Darmlumen.

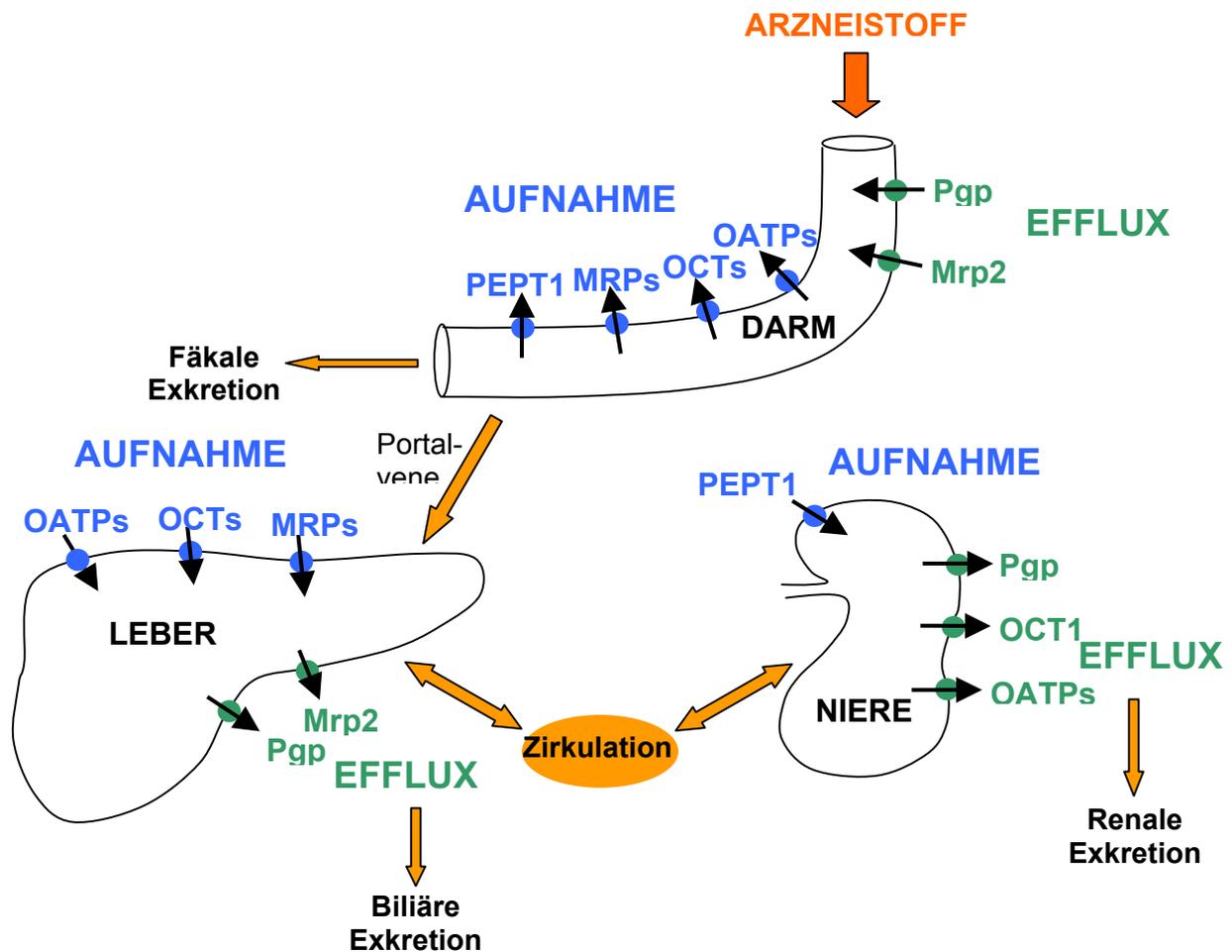


Abbildung 2 Lokalisation von Transmembran-Transportern

1.2.1 ABC-Transporter

Die größte Gruppe unter den aktiven, ATP-abhängigen Transportern, stellen die Mitglieder der sogenannten ATP-binding cassette superfamily (ABC-Transporter) dar. Diese Proteine binden ATP und nutzen die Energie, um verschiedene Moleküle über Zellmembranen zu transportieren. Überexpression von ABC-Transportern konnte in verschiedenen Tumorzelllinien und Tumoren nachgewiesen werden, bei denen es zum Phänomen der Multiresistenz (Multi drug resistance, MDR) kommt. Genetische Transportervarianten sind Ursache vielfältiger Erkrankungen wie z.B. Zystische Fibrose (ABCC7-Defekt [7]), neurologische Erkrankungen (Adrenoleuko-Dystrophie durch ABCD1-Defekt [8]), Defekte in Cholesteroll- und Gallensäuretransport (Progressive

Einleitung

familiäre intrahepatische Cholestase (PFIC) durch ABCB4-, Konjugierte Hyperbilirubinämie (Dubin-Johnson-Syndrom) durch ABCC2-Defekt [9]) und Anämie (X-chromosomale Sideroblastose und Anämie (XLSA/A) durch ABCB7-Defekt [10]). Bisher konnten beim Menschen 48 ABC-Transporter identifiziert und 7 Unterfamilien (ABCA-ABCF) zugeordnet werden. Je nach Transportrichtung unterscheidet man Aufnahme- (Aufnahmetransport) und Ausscheidungs-Transporter (Efflux). Die meisten ABC-Transporter gehören zur Gruppe der Efflux-Transporter. Zu den Transportsubstraten zählen zahlreiche Nährstoffe, endogene Substrate (Aminosäuren, Peptide, Zucker, Gallensäuren, Vitamine, Lipide und Sterole) sowie eine große Anzahl von meist lipophilen Arzneistoffen unterschiedlichster Struktur [11;12].

ABCB1 (P-Glykoprotein, MDR1)

ABCB1 (P-Glykoprotein, Pgp), das Genprodukt von MDR1 (*ABCB1*), ist an der Verteilung verschiedenster Arzneistoffe und Xenobiotika beteiligt [13;14]. ABCB1 ist der am intensivsten pharmakogenetisch untersuchte Transporter aus der ABC-Superfamilie von Membrantransportern [13]. Ursprünglich wurde ABCB1 1976 entdeckt. Tumorzellen, die diesen Transporter überexprimierten, waren gegen zahlreiche Zytostatika resistent [15]. Viele strukturell sehr unterschiedliche Substrate werden über ABCB1 unter Verbrauch von ATP transportiert. Hierzu zählen herzwirksame Medikamente wie Digoxin [16] und Chinidin [17], Immunsuppressiva wie Cyclosporin A und Tacrolimus [18], Tumortheraeutika wie Vinblastin und Vincristin [17;19], der Calciumkanal-Blocker Verapamil [17] und das H1-Antihistaminikum Fexofenadin [20] (**Tabelle 1**). Weiterhin sind viele Nahrungsbestandteile bekannt, deren Aufnahme in den Körper von ABCB1 beeinflusst wird. Auch Inhaltsstoffe von biogenen Arzneistoffen, die in der Selbstmedikation angewandt werden, sind ABCB1-Transportsubstrate. Hierzu zählen z.B. aus der Gruppe der Saponine die Ginsenoside (Ginseng, *Panax ginseng*, Araliaceae), das Phloroglucin Hyperforin (Johanniskraut, *Hypericum perforatum*, Hypericaceae), das Flavonolignan Silymarin (Mariendistel, *Silybum marianum*, Asteraceae), sowie Catechingerbstoffe (Grüner Tee, *Camellia sinensis*, Theaceae), die Flavonoide Naringinin und Quercetin (Grapefruit, *Citrus paradisi*, Rutaceae) und das

Einleitung

Tabelle 1 Arzneistoffe, die über ABCB1 transportiert werden [12;21]

Kategorie	Arzneistoff	Kategorie	Arzneistoff
Zytostatika	Actinomycin D	β-Blocker	Bunitrolol
	Daunorubicin		Celiprolol
	Doxorubicin		Talinolol
	Doxetaxel	ZNS-Pharmaka	Fluphenazin
	Irinotecan		Perphenazin
	Mitomycin C		Phenoxazin
	Paclitaxel		Phenytoin
	Tamoxifen	H ₁ -Antihistaminika	Fexofenadin
	Tenoposid		Terfenadin
	Topotecan	H ₂ -Antihistaminika	Cimetidin
	Vinblastin		Ranitidin
Vincristin	HIV- Proteaseinhibitoren	Amprenavir	
Antibiotika		Cefazolin	Indinavir
	Cefoperazon	Nelfinavir	
	Erythromycin	Ritonavir	
	Levofloxacin	Saquinavir	
	Rifampicin	Immunsuppressiva	Cyclosporin A
	Sparfloxacin		Tacrolimus
Antiemetika	Domperidon	CSE-Hemmer	Atorvastatin
	Ondansetron		Lovastatin
Herz-Pharmaka	Amiodaron	Morphine	Morphin
	Digitoxin		Loperamid
	Digoxin	Steroide	Aldosteron
	Propafenon		Dexamethason
	Chinidin		Hydrocortison
Ca ²⁺ -Kanal- Blocker	Diltiazem	Andere	Colchicin
	Mibefradil		Debrisoquin
	Nicardipin		Losartan
	Verapamil		Sestamibi

Einleitung

Piperidin-Alkaloid Piperin (Pfeffer, *Piper nigrum*, Piperaceae) [22]. Bei der Behandlung von Patienten mit Arzneistoffen, die Substrate von ABCB1 sind, kann es durch die Ein-/Aufnahme dieser Präparate und/oder Nahrungsbestandteile zu bedeutsamen Interaktionen kommen, die einen Einfluß auf die Bioverfügbarkeit der verwendeten Arzneistoffe haben können. Im Rahmen von Interaktionen ist weiterhin zu beachten, dass viele der über ABCB1 transportierten Arzneistoffe gleichzeitig Substrate für CYP3A4 sind [23], und die CYP3A4-Aktivität durch die ABCB1-Funktion beeinflusst zu werden scheint [24]. Sowohl die *CYP3A4* als auch die *ABCB1*-Gen-Aktivität werden durch die Aktivierung des Kernrezeptors SXR (Steroid Xenobiotic Receptor) erhöht [25]. SXR gehört zu den liganden-aktivierten Transkriptionsfaktoren, die die Expression von Zielgenen (z.B. *CYP3A4* und *ABCB1*) regulieren, welche in Prozesse wie Reproduktion, Entwicklung und Metabolismus eingreifen. Beide Systeme – CYP3A4 und ABCB1 – stellen eine Barriere für Fremd- und Arzneistoffe dar, durch deren funktionelle Interaktion die Bioverfügbarkeit von Substraten stark beeinflusst werden kann.

ABCB1 ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 170kDa, welches in die Lipiddoppelschicht von Membranen eingelagert und aus zwei homologen Hälften aufgebaut ist [26] (**Abbildung 3**). Jede Hälfte besteht aus einer transmembranären Domäne, die sich aus 6 transmembranären Segmenten und einer ATP-bindenden Region (NBD, Nucleotide binding domain) zusammensetzt. Die beiden Hälften sind durch eine Polypeptidkette (Linker-Region) verbunden.

ABCB1 wird am apikalen Pol vieler epithelialer Zellen, vor allem exkretorischer Gewebe exprimiert, wie z.B. der kanalikulären Hepatozytendomäne und der Bürstensaummembran von Enterozyten oder Epithelzellen proximaler Nierentubuli. Folglich vermindert ABCB1 die enterale Arzneistoffresorption, wohingegen die renale und biliäre Ausscheidung gesteigert wird [27-29]. Des Weiteren wird ABCB1 auch im kapitären Endothel zahlreicher Blut-Gewebe-Schranken, wie z.B. der Blut-Hirn-Schranke und der Plazenta exprimiert. Dort verhindert es die Passage toxischer Substanzen in sensible Organe [28;30-33]. Auch Zellen des Immunsystems exprimieren ABCB1, so z.B. NK-Zellen, T- und B-Lymphozyten und Knochenmarkstammzellen [34-36].

Die Bedeutung von ABCB1 für den Arzneistofftransport konnte im Tiermodell nachgewiesen werden. Mäuse exprimieren einen als *Abcb1/2* bzw. *Mdr1a/b* bezeichneten Transporter, der dem humanen ABCB1 entspricht. *Abcb1/2*-defiziente

Einleitung

Mäuse, die den Transporter nicht exprimieren, wurden mit typischen ABCB1-Substraten behandelt [33;37]. Durch das Fehlen von Abcb1/2 wurde der primäre Phänotyp dieser Tiere nicht verändert. Allerdings konnten nach Aufnahme von Xenobiotika erhöhte Plasmaspiegel nachgewiesen werden, die mit toxischen Effekten korrelierten. Die Bioverfügbarkeit der HIV-Proteaseinhibitoren Indinavir, Nelfinavir und Saquinavir ist in Abcb1/2-defizienten Mäusen im Vergleich zu Abcb1/2-exprimierenden Tieren deutlich erhöht [38]. Ebenfalls ist die Digoxin-Ausscheidung nach i.v.-Applikation in Abcb1/2-defizienten-Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Tieren deutlich vermindert [39]. In Wildtyp-Tieren verhindert die Beteiligung von Abcb1/2 an der Blut-Hirn-Schranke, dass es zu toxischen Konzentrationen der Xenobiotika im ZNS kommt. Nach Behandlung von Abcb1/2-defizienten Mäusen mit Ivermectin [33], einem Akarizid/Anthelmintikum, starben fast alle der behandelten Abcb1/2-defizienten Mäuse aufgrund einer gegenüber dem Wildtyp 50- bis 100-fach höheren Sensitivität gegenüber Ivermectin.

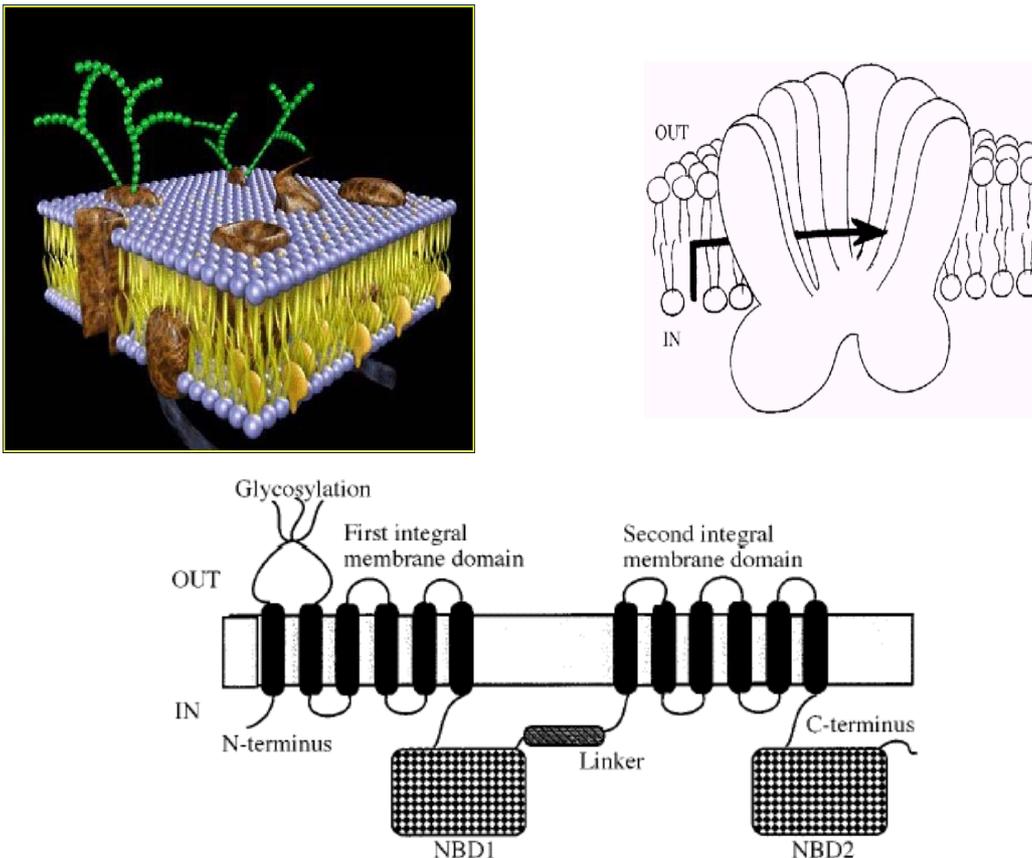


Abbildung 3 Lokalisation von ABCB1 in der Lipiddoppelschicht (nach Meibohm et al. und Higgins et al. [26])

Einleitung

Die große Anzahl von Substraten und die weitläufige Gewebeverteilung zeigen die Bedeutung von ABCB1 in der Arzneistoffabsorption, -distribution und -elimination auf. Veränderungen in der Funktion oder Expression von ABCB1 können daher eine wichtige Rolle für die pharmakokinetischen Profile der transportierten Substrate spielen [20;31;40;41]. Diskutiert wird zur Zeit noch darüber, auf welche Art und Weise ABCB1 seine Substrate transportiert. In **Abbildung 4** sind die aktuell favorisierten 3 Transportmodelle graphisch dargestellt, die im weiteren Verlauf näher erklärt werden sollen.

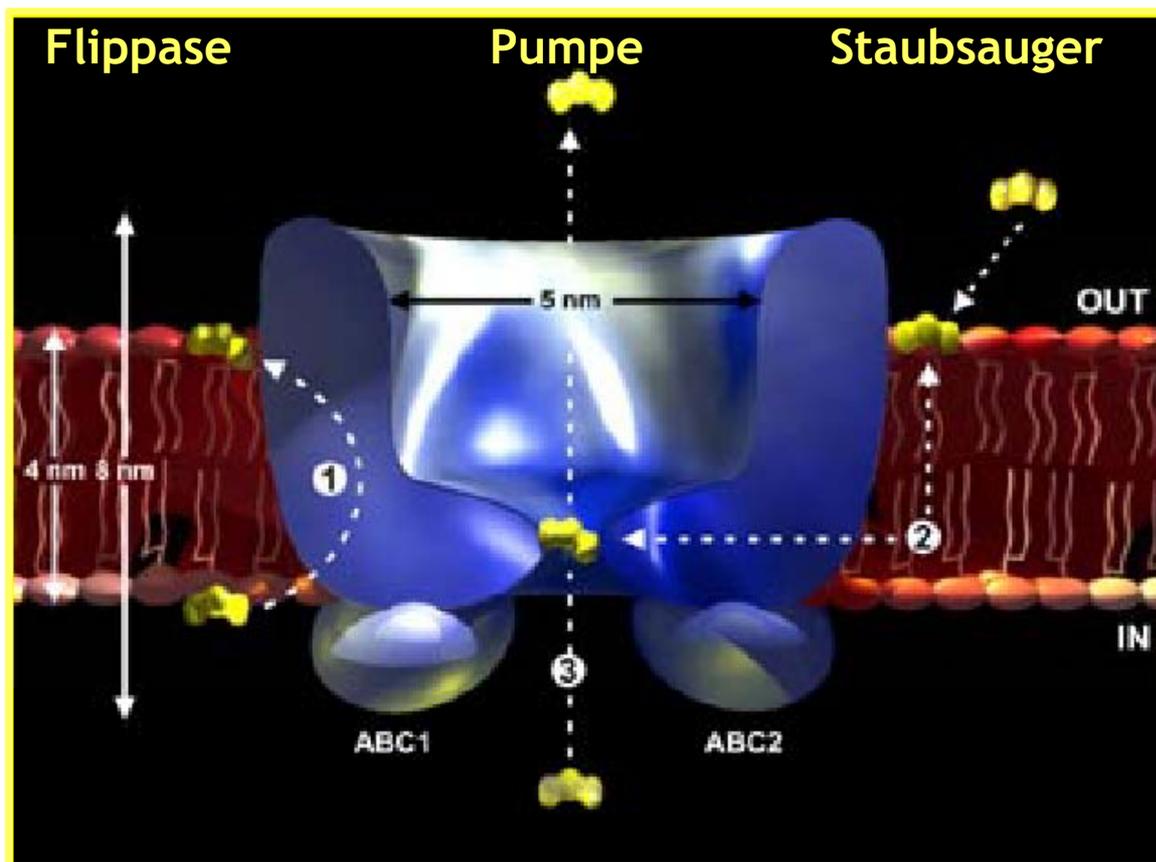


Abbildung 4 Mögliche ABCB1-Transportmechanismen (nach Meibohm et al.)

Einleitung

Transportmodelle:

- „Flippase“: Ein Substrat tritt mit den Membranlipiden der äußeren Schicht in Wechselwirkung und wird von dort weiter zur inneren Seite der Lipiddoppelschicht transportiert. Nun interferiert ein Transportprotein mit „Flippase“-Eigenschaften mit dem Substrat. Der Weitertransport kann auf zwei Wegen geschehen. Einerseits kann das Substrat über einen aktiven Transport unter Verbrauch von ATP direkt in den Extrazellularraum transportiert werden. Andererseits besteht die Möglichkeit, dass das Substrat von der inneren in die äußere Membran der Lipiddoppelschicht transportiert wird, was einen im Vergleich zum Transport in den Extrazellularraum relativ schnellen Vorgang darstellt.
- „Pumpe“: Von einer „Pumpe“ spricht man, wenn Arzneistoffe, die bereits in den Intrazellularraum vorgedrungen sind, durch den Kanal, der von ABCB1 gebildet wird, unter Verbrauch von ATP in den Extrazellularraum transportiert werden.
- „Vacuum cleaner / Staubsauger“: Das zur Zeit favorisierte Modell wird als „Vaccum cleaner / Staubsauger“ bezeichnet. Hierbei werden Arzneistoffe, die in die Lipiddoppelschicht eingedrungen sind, in das Innere des ABCB1-Kanals gesaugt und von dort in den Extrazellularraum transportiert.

Unterschiede in der ABCB1-Expression und –Funktion beruhen potentiell auf Modifikationen in der Nukleotidsequenz des *ABCB1* [42;43]. Seit 1989 konnten 63 Einzelbasenaustausche, sogenannte Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) an 62 Positionen identifiziert werden [13;14;44] (**Abbildung 5**).30 SNPs sind intronisch. Von den restlichen 33 SNPs sind 20 nicht-synonym [14;44], sie verändern die ABCB1-Aminosäuresequenz. Der SNP 3435C>T in Exon 26 konnte als erster mit einer veränderten ABCB1-Funktion in Verbindung gebracht werden [41], obwohl es sich hierbei um einen synonymen Polymorphismus handelt, der die Aminosäuresequenz nicht verändert. Homozygote Träger des T-Allels wiesen eine geringere ABCB1-Expression und Effluxaktivität im Darm auf als homozygote Träger des C/C-Wildtyps. Entsprechend war die Bioverfügbarkeit und die Absorptionsgeschwindigkeit von Digoxin bei Individuen mit T/T-Genotyp am höchsten. Weitere Studien ergaben teils widersprüchliche Ergebnisse bezüglich des pharmakokinetischen Effekts der ABCB1-Varianten [20;45-47].

Einleitung

Bei der Klärung dieser Differenzen, gewinnt die Analyse von SNP-Kombinationen und Haplotypen aktuell immer mehr an Bedeutung. Mithilfe der Haplotypenanalyse können Zusammenhänge zwischen der Kombination von Einzel-SNPs und der ABCB1-Expression und -Funktion untersucht werden. Kürzlich wurde entdeckt, dass der Polymorphismus 3435C>T mit einem weiteren SNP in Exon 21 2677G>T,A gelinkt ist, welcher zu einem Aminosäureaustausch führt (893Ala>Ser,Thr) [20;48;49]. Eine auf ABCB1-Haplotypen beruhende Auswertung konnte divergierende Ergebnisse aus Studien mit Einzel-SNP-Analysen erklären [45;50]. Träger von ABCB1-Haplotypen, die die 893Ser-Variante (2677TT) enthielten, zeigten geringere Plasmaspiegel nach mehrfacher oraler Digoxin-Verabreichung im Vergleich zu Trägern anderer Haplotypen [50]. Yi et al. [51] konnten nachweisen, dass Träger des Haplotyps 2677AA/3435CC (Exon 21 893Thr / Exon 26 Wildtyp) die geringsten Plasmaspiegel nach einfacher oraler Fexofenadin-Gabe im Vergleich zu Trägern anderer Haplotyp-Kombinationen aufwiesen.

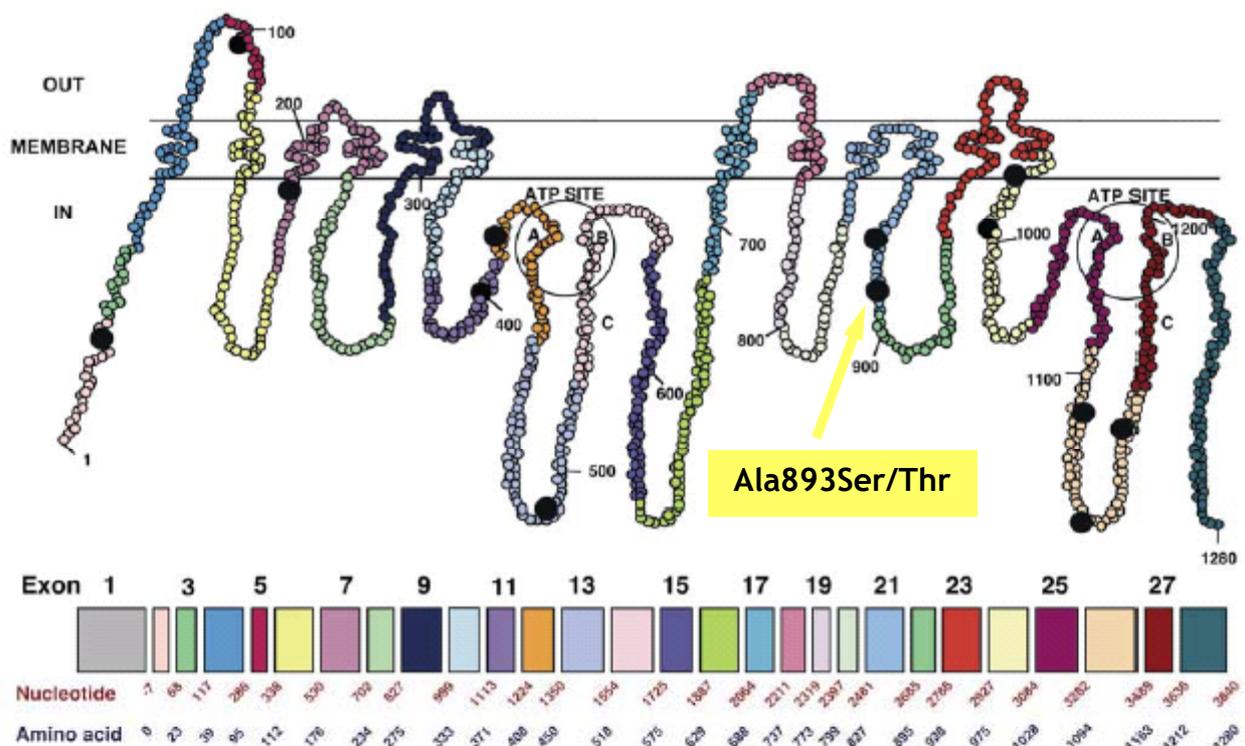


Abbildung 5 ABCB1-Struktur und ABCB1-SNPs (nach Ambudkar et al, 2003 [52])

Einleitung

Tabelle 2 Übersicht über bekannte ABCB1-Polymorphismen [13;14;44]

Lokation	Position	Allel	Effekt
Promotor	5'flanking/-274	G A	
Promotor	5'flanking/-223	C T	
Promotor	5'flanking/-146	T C	
Promotor	5'flanking/-60	A T	
Promotor	5'flanking/-41a	A G	
Exon 1a	Exon 1a/-241	G A	
Exon 1a	Exon 1a/-145	C G	
Exon 1b	Exon 1b/-129	T C	
Exon 1b	Exon 1b/-43	A G	
Intron 1	Exon 1b/+140	C A	
Intron 1	Exon 1b/+237	G A	
Intron 1	Exon 2/-4	C T	
Intron 1	Exon 2/-1	G A	Initiierung der Translation
Exon 2	Exon 2/61	A G	Asn21Asp
Intron 3	Exon 4/-8	C G	
Exon 4	Exon4/266	T C	Met89Thr
Intron 4	Exon 5/-35	G C	
Intron 4	Exon 5/-25	G T	
Exon 5	Exon 5/307	T C	Phe103Leu

Einleitung

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Intron 6	Exon 6/+139	C T	
Intron 6	Exon 6/+145	C T	
Exon 7	Exon 7/548	A G	Asn183Ser
Exon 8	Exon 8/729	A G	243Wobble
Exon 8	Exon 8/781	A G	Ile261Val
Intron 9	Exon 10/-44	A G	
Intron 10	Exon 11/-41	T G	
Exon 11	Exon 11/1199	G A	Ser400Asn
Intron 11	Exon 12/-4	G A	
Exon 12	Exon 12/1236	C T	412Wobble
Exon 12	Exon 12/1308	A G	436Wobble
Intron 12	Exon 12/+17	G A	
Intron 12	Exon 12/+44	C T	
Exon 13	Exon 13/1474	C T	Arg492Cys
Intron 13	Exon 13/+24	C T	
Exon 14	Exon 14/1617	C T	539Wobble
Intron 14	Exon 14/+38	A G	
Intron 15	Exon 15/+38	G A	
Exon 16	Exon 16/1985	T G	Leu662Arg
Exon 16	Exon 16/2005	C T	Arg669Cys
Intron 16	Exon 17/-76	T A	

Einleitung

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Intron 17	Exon 17/137	A G	
Intron 17	Exon 18/-27	A G	
Intron 20	Exon 20/+8	C G	
Intron 20	Exon 20/+24	G A	
Intron 20	Exon 20/+40	C T	
Exon 21	Exon 21/2547	A G	Ile849Met
Exon 21	Exon 21/2650	C T	Wobble (Leu884Leu)
Exon 21	Exon 21/2677	G T A	Ala893Ser Ala893Thr
Intron 22	Exon 22/+31	G A	
Exon 24	Exon 24/2956	A G	Met986Val
Exon 24	Exon 24/2995	G A	Ala999Thr
Exon 25	Exon 25/3151	C G	Pro1051Ala
Exon 26	Exon 26/3320	A C	Gln1107Pro
Exon 26	Exon 26/3322	T C	Trp1108Arg
Exon 26	Exon 26/3396	C T	Wobble
Exon 26	Exon 26/3421	T A	Ser1141Thr
Exon 26	Exon 26/3435	C T	Wobble (Ile1145Ile)
Exon 28	Exon 28/3751	G A	Val1251Ile
Exon 28	Exon 28/3767	C A	Thr1256Lys
Exon 28	Exon 28/4030	G C	
Exon 28	Exon 28/4036	A G	
Intron 28	Exon 28/+21	T C	

1.3 Problemstellung

Obwohl inzwischen zahlreiche Informationen über Membrantransporter vorliegen, fehlen Erkenntnisse darüber, wie diese Informationen in der Entwicklung neuer Strategien zur oralen Gabe von Arzneistoffen genutzt werden können, die über Membrantransporter transportiert werden. Um die orale Medikamentenverabreichung in Zukunft zu optimieren, müssen neben den bekannten Einflußfaktoren wie Molekülgröße und Lipophilie unter anderem auch der am Transport beteiligte intestinale Transmembrantransporter sowie dessen lokale Expression und Funktionalität berücksichtigt werden.

Es ist bekannt, dass genetische Varianten des ABCB1 einen Einfluß auf die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen haben können. Dies konnte vor allem für einen Polymorphismus in Exon 26 (C3435T) nachgewiesen werden. Obwohl die ABCB1-Aminosäuresequenz durch den SNP an Position 3435 nicht verändert wird, konnte ein Zusammenhang zwischen Genotyp und ABCB1-Expression und -Funktion nachgewiesen werden. Die in *in vivo*-Studien erhaltenen Daten sind jedoch von einer großen Vielfalt und teils widersprüchlichen Ergebnissen geprägt. Diverse *in vitro*-Studien konnten die Ursachen hierfür bisher nicht zufriedenstellend klären. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass der SNP an Position 3435 eng mit einem weiteren Polymorphismus in Exon 21 (G2677T/A) verknüpft ist, welcher zu einem Aminosäureaustausch führt (Ala893Ser/Thr). Die Berücksichtigung der Haplotyp-Kombinationen für Exon 21 2677 und Exon 26 3435 ermöglichte eine teilweise Einordnung der unterschiedlichen Ergebnisse, die in *in vivo*-Studien erhaltenen wurden. Jedoch stellen sich weitere Fragen, die es zu klären gilt:

- Haben die unterschiedlichen ABCB1-Varianten, die durch Veränderung der Aminosäuresequenz an Position 893 entstehen, einen Einfluß auf die ABCB1-Expression und -Funktionalität?
- Können die in klinischen Studien am Menschen erhaltenen Ergebnisse in einem *in vitro*-Testsystem bestätigt werden, welches unabhängig ist von Applikationsort und -art?
- Können die in klinischen Studien am Menschen gefundenen Zusammenhänge

Einleitung

zwischen *ABCB1*-Polymorphismen und *ABCB1*-Expression und -Funktionalität, die mittels theoretischer Haplotyp-Analyse bestimmten Exon21 2677 / Exon 26 3435-Haplotypkombinationen zugewiesen werden konnten, anhand von *in vitro*-Versuchen verifiziert werden?

- Welcher molekulare Mechanismus führt zu veränderter *ABCB1*-Expression und – Funktionalität?
- Können unterschiedliche Arzneimittelwechselwirkungen auf den Polymorphismus in Exon 21 2677 zurückgeführt werden?

Ziel dieser Studie war es, mittels eines heterologen *in vitro*-Expressionssystems Transporteigenschaften und Expression des *ABCB1*-Wildtyps (893Ala) und seiner genetischen Exon21-Varianten 893Ser und 893Thr zu untersuchen. Mittels des Baculovirus-Systems sollten die 3 genannten *ABCB1*-Varianten in HighFive-Insektenzellen exprimiert und Membranvesikel präpariert werden. Mittels radioaktiv markiertem Vincristin, einem bekannten *ABCB1*-Substrat, sollten mittels von Standardfilterassays Transportcharakteristiken erstellt und auf die *ABCB1*-Expression normalisiert werden. Weiterhin sollten *cis*-Inhibitionsstudien durchgeführt werden, um den Einfluß verschiedener *ABCB1*-Inhibitoren auf den Vincristin-Transport zu untersuchen.