

4 Diskussion

4.1 Allgemeines

Das neue Jahrtausend begann für Wissenschaftler, die sich mit Arzneistofftransportern – und vor allem mit ABCB1 – beschäftigten, mit einer Publikation, die Grundlage einer Diskussion werden sollte, die bis heute nichts an Aktualität verloren hat. Bis zum Jahr 2000 waren bereits verschiedene *ABCB1*-SNPs entdeckt worden, darunter 2, die die Aminosäuresequenz von ABCB1 veränderten. Jedoch konnte diesen Polymorphismen in *in vitro*-Studien kein bestimmter Effekt zugewiesen werden [58]. Hoffmeyer et al. gelang es nun zum ersten Mal, einen Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus in Exon 26 C3435T und der ABCB1-Expression und –Funktionalität nachzuweisen [41]. 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. Interessanterweise handelt es sich bei diesem SNP um einen synonymen Polymorphismus, bei dem es zu keinem Aminosäureaustausch kommt. Der SNP liegt auch nicht in genregulatorischen Abschnitten, so dass die molekulare Ursache für die oben beschriebenen Beobachtungen nicht bekannt sind.

Grundsätzlich ist die ABCB1-Transportaktivität abhängig von der funktionellen Integrität und dem Expressionsgrad des Transporters. Die funktionelle Integrität hängt von der Aminosäuresequenz des Proteins ab. Punktmutationen (SNPs) im *ABCB1*-Gen können zu einem Aminosäureaustausch im ABCB1-Protein führen. Eine Veränderung der räumlichen Struktur und damit eine Abwandlung von Substratbindungsstellen kann die Folge sein. Hierdurch könnte sich das Substratspektrum sowie die Transportaktivität verändern. Unterschiede im Expressionsgrad von ABCB1 können auf Differenzen in mRNA-Stabilität und Splicing zurückgeführt werden. Weitere Ursachen sind Veränderungen in regulatorischen Elementen des ABCB1-Gens (Promotor, Enhancer) sowie strukturelle Abwandlungen (Methylierung, Acetylierung).

In den letzten Jahren gab es verschiedene Studien, die Zusammenhänge zwischen

Diskussion

ABCB1-Polymorphismen und ABCB1-Expression und –Funktion untersuchten. Hierbei kam es zu teils widersprüchlichen Ergebnissen. Während einige Arbeitsgruppen die These von Hoffmeyer et al. bestätigen konnten, gab es andere, die zum gegenteiligen Ergebnis kamen bzw. keinen Unterschied zwischen Trägern verschiedener Allelkombinationen im Exon 26 3435 nachweisen konnten [13;14;20;41;42;45-47;55;59]. Erste Hinweise auf die mögliche Ursache für den Einfluß der Exon 26-Variante C3435T auf die ABCB1-Funktionalität ergaben sich, als entdeckt wurde, dass eine enge Verknüpfung (Kopplung) mit einem weiteren SNP in Exon 21 G2677T,A besteht. Hierbei handelt es sich um eine triallele Variante, die zu einem Aminosäureaustausch (Ala893Ser,Thr) führt [20;48;49]. Die Kopplung einzelner SNPs wird mit der sogenannten Haplotypanalyse untersucht. Normalerweise werden in einem diploiden Individuum mit den üblichen Genotypisierungsmethoden Genvarianten im einfachsten Fall als einzelner SNP nachgewiesen. Liegt dieser SNP als heterozygote Variante vor, kann nicht mehr unterschieden werden, welches der homologen Chromosomen die jeweilige Genvariante enthält. Die genaue Herkunft eines Genotyps wird mittels des Haplotyps beschrieben. Im Gegensatz zum Genotyp, beschreibt der Haplotyp eines Individuums spezifische Allele, die durch die Abfolge mehrerer SNP-Loci entlang eines einzelnen Chromosoms definiert sind. 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 (2677T) 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 Genotyps 2677AA/3435CC (Exon 21 893Thr / Exon 26 Wildtyp) die geringsten Plasmaspiegel nach einfacher oraler Fexofenadin-Gabe im Vergleich zu Trägern anderer Kombinationen aufwiesen. Dass die 893Thr-Variante eine bedeutende Rolle spielt, wird daran deutlich, dass der Haplotyp 1236C-2677A-3435C, der unter anderem für 893Thr codiert, in der von Yi et al. durchgeführten Studie mit einer Frequenz von 16.4% einer der 4 häufigsten ABCB1-Haplotypen war.

In unserer Studie verwendeten wir das Baculovirus-Expressionssystem, um mögliche Unterschiede in der ABCB1-Transportfunktion und –Expression zwischen dem ABCB1-Wildtyp (893Ala) und dessen Varianten 893Ser und 893Thr zu erkennen.

Im Gegensatz zu bisherigen *in vitro*-Studien, konnten wir ein Transportsystem erstellen,

anhand dessen kinetische Parameter wie Michaelis-Menten-Konstanten K_m und maximale Transportgeschwindigkeiten V_{max} direkt bestimmt werden konnten ohne, dass 2 Membranen passiert werden mussten und ohne möglicherweise störenden Metabolismus in Zellen. Bei der Durchführung von Transportversuchen in Zellkultursystemen (wie z.B. CaCO₂- oder MDCK-Zellen), muß das Substrat erst in die Zelle transportiert werden, bevor es über ABCB1 wieder ausgeschleust werden kann. Da K_m und V_{max} bereits in der initialen Transportphase bestimmt werden, können diese Parameter in herkömmlichen Zellkultursystemen nicht bestimmt werden. Im Gegensatz dazu wird bei Einsatz von Inside-out-Vesikeln das Substrat über ABCB1 in das Innere der Vesikel transportiert, und die akkumulierte Radioaktivität kann unverzüglich gemessen werden. Ebenso kann ein Einfluß des Zellstoffwechsels, der in Zellkultursystemen eine Rolle spielt, bei der Durchführung von Standardfilterassays mit Membranvesikeln ausgeschlossen werden. Ein detaillierter Überblick über *In vitro*-Studien und die Einordnung unserer Ergebnisse in den aktuellen Forschungskontext erfolgt im Abschnitt 4.3.2.

4.2 ABCB1-Expression

Es gab keinen signifikanten Unterschied in der ABCB1-Expression zwischen ABCB1-Wildtyp (893Ala) und den Mutanten 893Ser und 893Thr. Zwar konnte im Western Blot eine um ca. 20% erhöhte Expression für die 893Ser-Variante festgestellt werden. Dies liegt jedoch im Rahmen der normalen Variabilität und wurde bei der Standardisierung der Transportversuche auf die ABCB1-Expression berücksichtigt. Da auch in homologen Expressionssystemen keine Expressionsunterschiede festgestellt wurden (LLC-PK1-, HeLa-Zellen) [55;60;61], scheinen Unterschiede im Codon-Usage zwischen Vertebraten und Insekten keinen Einfluß auf die ABCB1-Proteinexpression, sowie mRNA-Splicing und -Stabilität zu haben. Germann et al. konnten zeigen, dass Insektenzellen humanes ABCB1 in Golgiapparat und Plasmamembranen exprimieren, welches dem in humanen Zellen gebildeten ABCB1 ähnlich ist [57]. Unterschiede in der Proteingröße zwischen Kontrolle (170 kDa) und Vesikelpräparationen (120 kDa) können auf fehlender

Glykosylierung in Insektenzellen beruhen, die wahrscheinlich auf Ineffizienz der Translokation vom endoplasmatischen Retikulum zur Plasmamembran aufgrund ABCB1-Überproduktion zurückgeführt werden kann [57].

4.3 Transportkinetiken

4.3.1 Ergebnisse

Im Vergleich zu Zellen, die ABCB1 nicht exprimierten, zeigten Membranvesikel-Präparationen von ABCB1-überexprimierenden Zellen ATP-abhängigen [³H]-Vincristin-Transport. Der initiale Aufnahmetransport gliederte sich in zwei Phasen. Während der ersten 2 min war der Anstieg der Transportrate im Vergleich zum Zeitabschnitt zwischen 2 und 3 min geringer. Nach 3 min wurden maximale Aufnahmetransportraten erreicht. Nach 5 min konnte ein schneller Abfall des Transports beobachtet werden, was auf eine Auslastung des Systems zurückgeführt werden kann (ATP- Depletion).

ABCB1 transportiert seine Substrate, im Gegensatz zu klassischen Transmembrantransportern, nicht von einer hydrophilen Phase über Plasmamembranen in eine andere hydrophile Phase. Stattdessen binden lipophile Substrate an ABCB1, nachdem sie in die Lipiddoppelschicht einer Membran eingedrungen sind. Von dort werden sie über ABCB1 weitertransportiert (**Abbildung 19**) [62;63]. Dies läßt die Schlußfolgerung zu, dass der in unserer Studie gemessene geringere Anstieg der Transportrate während der ersten 2 min darauf zurückgeführt werden könnte, dass Vincristin einige Zeit benötigt, um an die Vesikelmembran zu binden und von dort ins Innere der Lipiddoppelschicht vorzudringen. Erst dann kann ein aktiver Weitertransport über ABCB1 in das Vesikelinnere erfolgen.

Diskussion

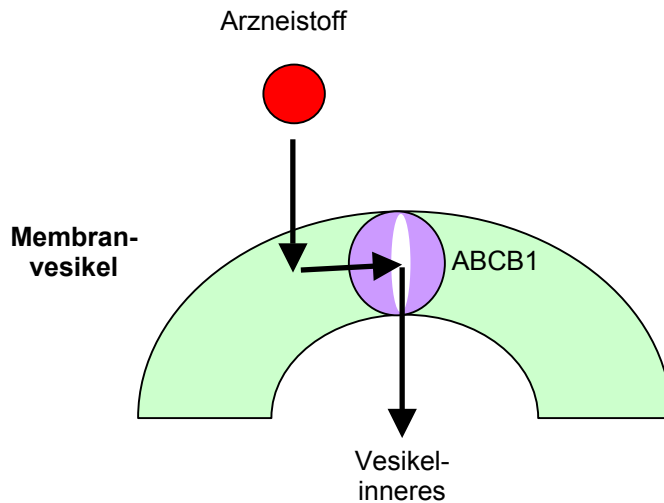


Abbildung 19 Schematische Darstellung: Passive Diffusion eines lipophilen, radioaktiv markierten Arzneistoffs (z.B. Vincristin) in die Vesikelmembran und aktiver Weitertransport über ABCB1 in das Innere von Inside-out-Vesikeln

Der Transport war sättigbar, abhängig von der Osmolarität des Transportpuffers und konnte dosisabhängig durch verschiedene nicht radioaktiv markierte Arzneistoffe inhibiert werden. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den K_m -Werten, jedoch konnte für die 893Ser-Variante eine Tendenz zu höheren Werten beobachtet werden. Signifikante Unterschiede konnten für V_{max} -Werte beschrieben werden, höchste Werte wurden für die 893Thr-Variante gemessen. Der ABCB1-Wildtyp hatte die größte Affinität zwischen Transporter und Substrat und die geringste Transportkapazität (ausgedrückt in geringsten K_m - und V_{max} -Werten). Die intrinsische Clearance (V_{max} / K_m) war am höchsten für die 893Thr-Variante, beruhend auf einem stark erhöhten V_{max} -Wert.

Interessanterweise ergaben sich unterschiedliche V_{max} -Werte bei vergleichbarer ABCB1-Proteinexpression. Veränderungen in der Transportkapazität sind daher nicht auf Unterschiede in der Menge an ABCB1 zurückzuführen, welches in die Lipiddoppelschicht der Vesikel eingelagert wird. Andere biochemische Mechanismen, die als ursächliche Faktoren für Transportmodifikationen in Frage kommen können, sind Veränderungen in ATP-Bindung, ATP-Hydrolyse oder der Kopplung von ATP-Hydrolyse und Substratbindung. Diese Parameter konnten anhand unseres Versuchsaufbaus nicht untersucht werden, die Beurteilung ihrer Auswirkungen benötigt weitere Untersuchungen. ABCB1-Varianten an der Aminosäureposition 893 scheinen keinen direkten Einfluß auf

ATP-Bindung oder ATP-Hydrolyse zu haben, da der Polymorphismus nicht in den Nukleotidbindungsstellen (NBDs) lokalisiert ist. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass eine Abwandlung der Aminosäuresequenz an dieser Position einen Einfluß auf die Dimerisation der beiden Nukleotidbindungsstellen haben und damit den katalytischen Zyklus von ABCB1 beeinflussen könnte.

4.3.2 Einordnung in den aktuellen Forschungskontext: IN VITRO-Studien

Bisher wurden nur wenige *in vitro*-Studien durchgeführt, die sich mit den Zusammenhängen zwischen *ABCB1*-Polymorphismen und Proteinexpression oder Transportcharakteristiken beschäftigten. Auf Grundlage der von uns erhaltenen kinetischen Parameter, können möglicherweise einige kontroverse Erkenntnisse, die sich auf funktionelle Unterschiede zwischen den *ABCB1*-Varianten 893Ala/Ser/Thr beziehen [20;64], geklärt werden.

Kim et al. beschrieben höhere Effluxraten für [³H]-Digoxin in NIH-3T3-Zellen, die mit der *ABCB1*-Variante 893Ser transfiziert waren (im Vergleich zu *ABCB1*-893Ala) [20]. Berücksichtigt man die hohe Digoxin-Konzentration von 50 µM, der die Zellen in dieser Studie ausgesetzt wurden, wird die Transportkapazität von *ABCB1* zum bedeutendsten Einflußfaktor für das *in vitro*-System. Die Daten für V_{max} , die aus unserer Studie hervorgehen, zeigen eine um 50% erhöhte Transportkapazität für die 893Ser-Variante im Vergleich zur 893Ala-Variante. Die 893Ser-Variante kann daher höhere Substratmengen bewältigen. Bei hohen Substratmengen liegt für die 893Ala-Variante bereits eine Sättigung vor. Substrate können durch passive Diffusion die Lipiddoppelschicht von Membranen überwinden und ins Zellinnere gelangen, ohne aktiv über *ABCB1* aus den Zellen ausgeschleust zu werden. Es werden höhere intrazelluläre Substratkonzentrationen erreicht. Liegt hingegen die 893Ser-Variante vor, können Substrate, die in die Lipiddoppelschicht eingedrungen sind, auch bei hohen Konzentrationen weiterhin über *ABCB1* aktiv aus den Zellen ausgeschleust werden, da der Transporter noch nicht gesättigt ist.

Eine funktionelle Analyse für die fünf gängigsten nichtsynonymen SNPs ist von Kimchi-Sarfaty et al. durchgeführt worden (Asn21Asp, Phe103Leu, Ser400Asn, Ala893Ser/Thr,

Ala998Thr) [60]. Im Gegensatz zu Kim et al. konnten nach Expression genetischer ABCB1-Varianten in HeLa-Zellen keine Unterschiede in Proteinexpression und Transport von fluoreszenz-markierten Substraten in Zusammenhang mit ABCB1-SNPs gezeigt werden [60]. Morita et al. kamen zum gleichen Ergebnis und konnten keinen Effekt der SNPs 3435C/T und 2677G/T/A auf den Transport von radioaktiv gelabeltem Substrat und die ABCB1-Proteinexpression in LLC-PK1-Zellen nachweisen [61]. Auch Kroetz et al. fanden keine Transportunterschiede für fluoreszierendes Calcein in HEK293T-Zellen, die entweder mit dem ABCB1-Haplotyp ABCB1*1 oder ABCB1*13 transfiziert waren [44]. ABCB1*1 ist hierbei der ABCB1-Wildtyp. Der Haplotyp ABCB1*13 setzt sich aus den SNPs 1236C>T, 2677G>T, 3435C>T sowie 3 intronischen SNPs in Intron 9, 13 und 14 zusammen. ATPase-Assays unter Verwendung von Verapamil nach Expression genetischer ABCB1-Varianten in Sf9-Insektenzellen zeigten ebenfalls keinen Unterschied für K_m -Werte im Vergleich zum ABCB1-Wildtyp [65]. Unterschiede in den Studienergebnissen sind möglicherweise auf unterschiedliche Substrate und die intrinsische Transporterfunktion in verschiedenen Expressionssystemen zurückzuführen. Weiterhin wurden in den meisten Studien ABCB1-Haplotypen nicht berücksichtigt.

4.3.3 Einordnung in den aktuellen Forschungskontext : *IN VIVO*-Studien

Da ABCB1 verschiedene Arzneistoffe transportiert, können Unterschiede in Transportfunktion (ausgedrückt in K_m , V_{max} und Clearance) und der Proteinexpression, die auf SNPs beruhen, eine bedeutende Rolle in der Pharmakotherapie spielen. Abhängig von der lokalen Konzentration von Arzneistoffen an Membranen, an denen ABCB1 exprimiert wird, haben entweder K_m (bei niedrigen Konzentrationen) oder V_{max} und Clearance (bei höheren Konzentrationen) einen größeren Einfluß auf die Bioverfügbarkeit von ABCB1-Substraten. Nach oraler Gabe von Arzneistoffen, werden im Intestinum hohe Konzentrationen erreicht, und Unterschiede in V_{max} -Werten können zu einer veränderten Bioverfügbarkeit führen. Im Gegensatz dazu werden an Blut-Gewebe-Schranken geringere Arzneistoffkonzentrationen als in Darm, Leber oder Niere erreicht, da sich die Substrate hier nicht im selben Maße anreichern. Unterschiede in K_m -Werten können hier einen größeren Einfluß auf den Transport haben. Dies würde z.B. zu

Diskussion

erhöhten Arzneistoffkonzentrationen im Gehirn bei Trägern der 893Ser-Variante aufgrund deren erhöhtem K_m -Wert und damit verringertem Auswärts-Transport führen. Die Effizienz von Arzneistoffen, die über ABCB1 transportiert werden, wäre erhöht. Hierzu zählen unter anderem Phenytoin, Amitriptylin und Domperidon. Für ABCB1-Transportsubstrate, deren Wirkort nicht im ZNS liegt, könnte mit verstärkten ZNS-Nebenwirkungen gerechnet werden (z.B. Cetirizin > Sedation [66]; HIV-Proteaseinhibitoren > Kopfschmerzen, Müdigkeit, Schlafstörungen, u.a.).

Bisher wurden in klinischen Studien am Menschen, die sich mit den Zusammenhängen zwischen der Bioverfügbarkeit oral verabreichter Arzneistoffe und *ABCB1*-Polymorphismen beschäftigten, sehr unterschiedliche Ergebnisse erhalten.

In Übereinstimmung mit der erhöhten Transportkapazität der 893Ser-Variante, die sowohl in der von Kim et al. als auch in der von uns durchgeführten *in vitro*-Studie beschrieben wurde, berichteten einige klinische Studien am Menschen über niedrigste AUC-Werte für Arzneistoffe bei Trägern der 893Ser-Variante [20;50]. Johne et al. [50] untersuchten Plasmakonzentrationen nach Gabe von mehreren oralen Digoxindosen. In die Untersuchungen eingeschlossen waren Träger der ABCB1-Haplotypen 2677G/3435G (Exon 21 893Ala/Exon 26 Wildtyp), 2677G/3435T und 2677T/3435T. Träger des ABCB1-Haplotyps 2677T(Exon21 893Ser)/3435T wiesen im Vergleich zu anderen Haplotyp-Trägern geringere Digoxin-Plasmakonzentrationen auf.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen, gab es Studien, die keine Unterschiede zwischen den 893-Varianten aufzeigten [45;67]. Des Weiteren wurde eine höhere Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen nach oraler Gabe von Digoxin, Fexofenadin oder Talinolol beschrieben, wenn die genetische Variante 893Ser vorlag [46;64]. So wurde von Kurata et al. berichtet, dass Individuen mit 893Ala (Wildtyp)-Variante die höchste intestinale und renale ABCB1-Effluxaktivität besitzen, im Vergleich mit Trägern der 893Ser-Variante [64]. In dieser Studie wurde eine Dosis von 0.5 mg Digoxin entweder oral oder intravenös gegeben, sodass die Digoxinkonzentration vermutlich auf moderate bis niedrige lokale oder systemische Konzentrationen durch Verdauungssäfte oder Blutplasma verringert wurde. Die Affinität von ABCB1 zu seinem Transportsubstrat wird unter diesen Bedingungen zur bestimmenden Größe. Im Vergleich zu den Varianten 893Ala und 893Thr, konnte in unserer Studie eine geringere Affinität der 893Ser-Variante zu Transportsubstraten aufgezeigt werden, welche sich in dem höchsten K_m -Wert für diese

Diskussion

Variante gegenüber Vincristin und einer geringeren Hemmbarkeit der Transportaktivität durch verschiedene Substrate (inklusive Digoxin) widerspiegelte. Daher führt die verminderte Affinität der 893Ser-Variante zu Arzneistoffen bei Plasma- oder Gewebekonzentrationen, die unterhalb der Sättigung von ABCB1 liegen, zu einer geringeren Transporteffizienz im Vergleich zu den 893Ala- und 893Thr-Varianten.

Chiou et al. postulierten, dass ABCB1 möglicherweise keinen signifikanten Einfluß auf die orale Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen bei Standarddosierungen haben könnte, da hierbei die Sättigung von ABCB1 erreicht wird [68]. In diesem Dosierungsbereich könnte die erhöhte Transportkapazität der 893Thr-Variante, die sich in der erhöhten Clearance (V_{\max} / K_m) ausdrückt, zu einer verminderten Bioverfügbarkeit von ABCB1-Substraten im Vergleich zu ABCB1-Wildtyp und 893Ser-Variante führen. Dieser Effekt konnte in einer kürzlich durchgeführten Studie von Yi et al. gezeigt werden [51], die ABCB1-Haplotypen in die Betrachtungen mit einbezog [Kombination aus Exon 21 (G2677A,T) und Exon 26 (C3435T)]. Träger der Allelkombination AA/CC (Exon 21 893Thr + Exon 26 Wildtyp) hatten geringere Fexofenadin-Plasmaspiegel als alle anderen Haplotypen (2677G/T/A und 3435C/T). Dies stimmt überein mit unseren Ergebnissen bezüglich der Clearance. Gleichzeitig zeigt sich hier die Bedeutung der Haplotypanalyse. Um klinische Studien besser beurteilen zu können, sind folglich unterschiedliche Aspekte zu beachten. Einerseits können klinisch erhobene Daten besser beurteilt werden, wenn sie ABCB1-Haplotypen zugeordnet werden, anstatt nur auf einzelne SNPs bezogen zu werden. Andererseits ist es nötig, kinetische Daten zu berücksichtigen, die durch *in vitro*-Assays erhalten wurden. Sie ermöglichen es, Ergebnisse ohne störenden Einfluß äußerer Faktoren zu beurteilen. Zu diesen Faktoren zählt unter anderem die Tatsache, 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.

4.3.4 Übersicht über den Zusammenhang unserer Ergebnisse mit anderen *In vitro*- und *In vivo*-Studien

Die folgenden Abbildungen geben einen Überblick über die Einflüsse der von uns bestimmten kinetischen Parameter für die Transportcharakteristiken der ABCB1-Varianten 893Ala, Ser und Thr. Die applizierte Arzneistoffdosis ist von entscheidender Bedeutung für die Transporteigenschaften von ABCB1 und stellt daher den Bezugspunkt zur Einordnung der Ergebnisse dar (siehe auch Kapitel 4.3.2 und 4.3.3).

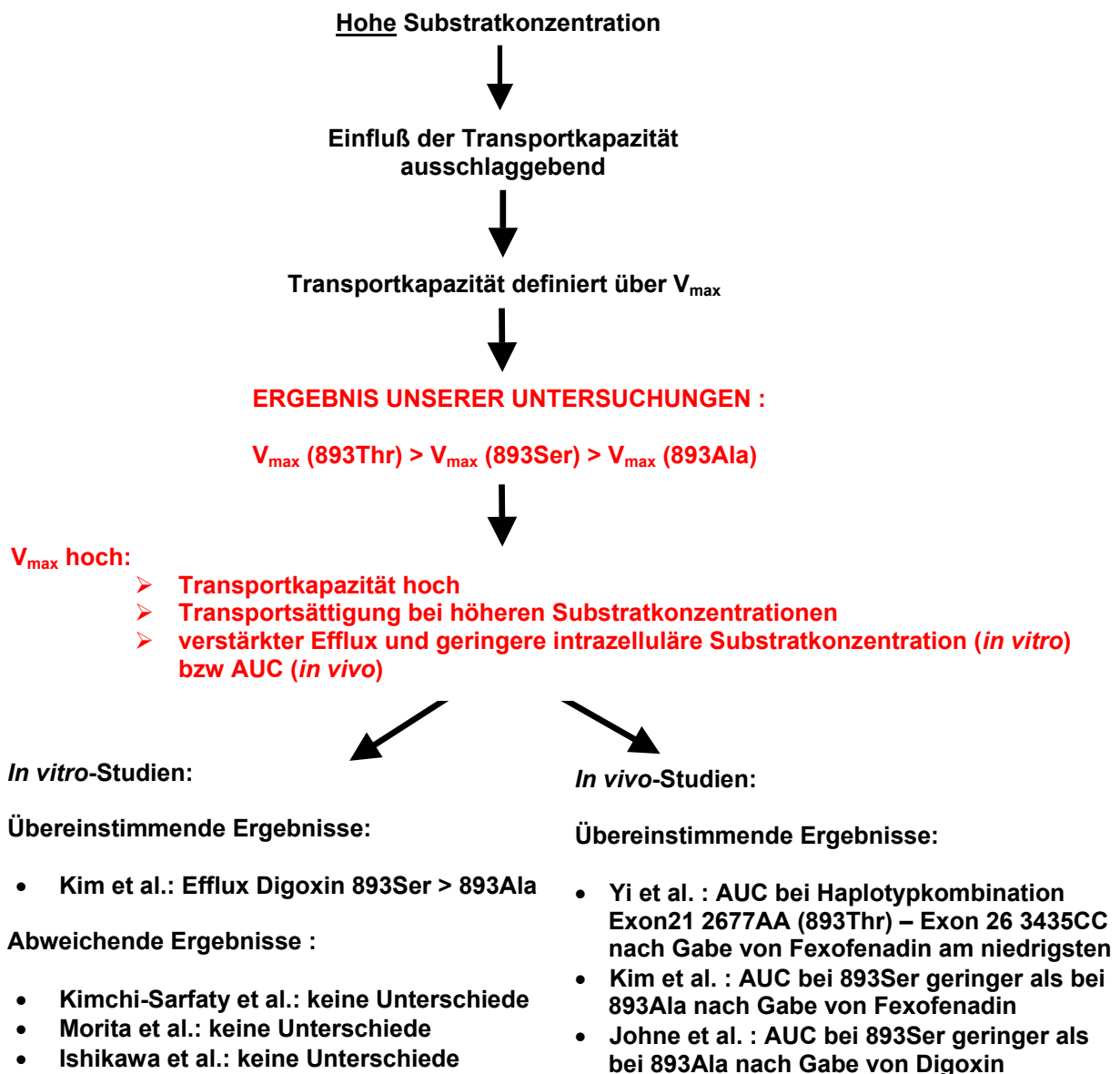


Abbildung 20 Einfluß hoher Substratkonzentrationen auf den Transport über ABCB1

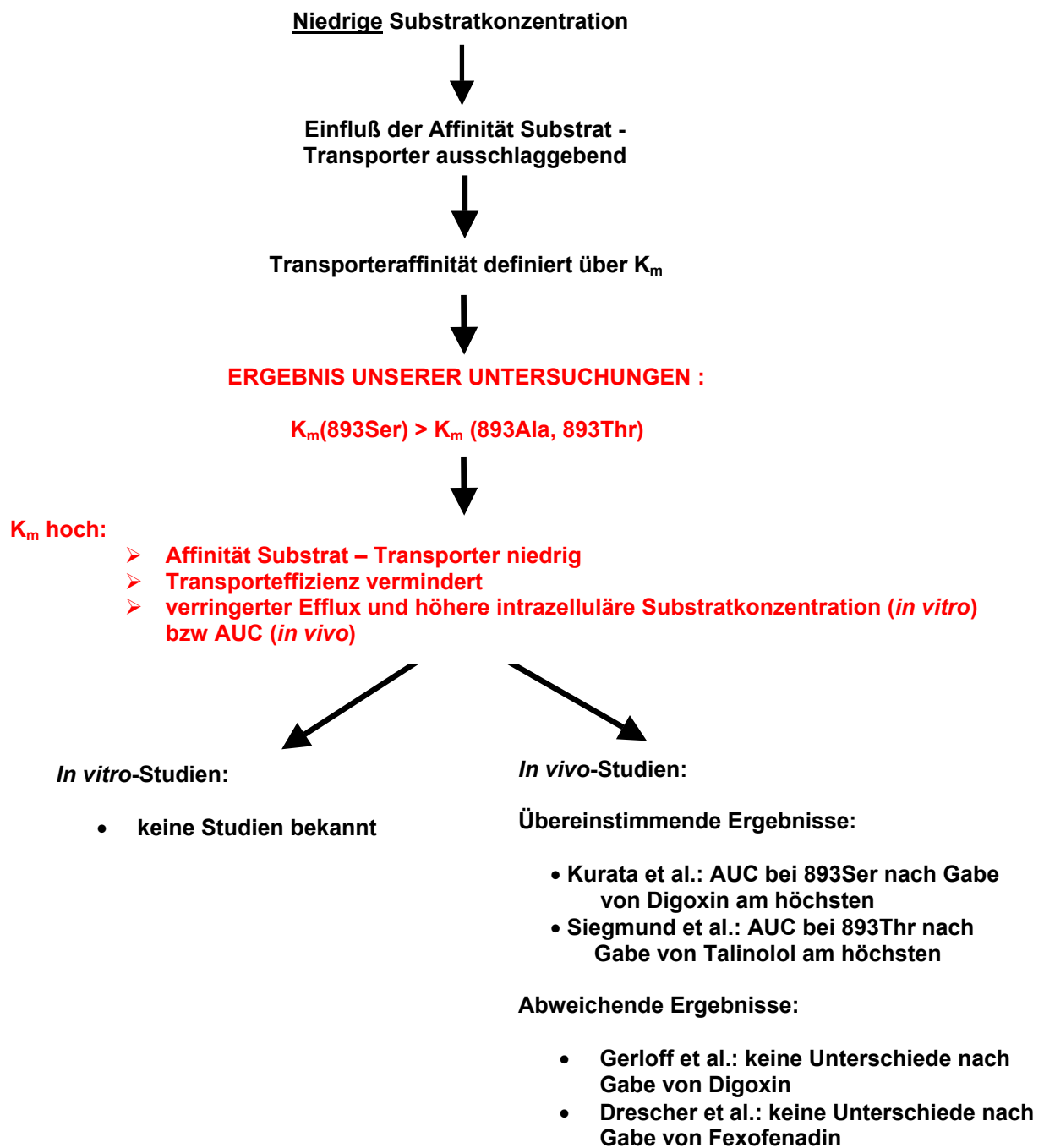


Abbildung 21 Einfluß niedriger Substratkonzentrationen auf den Transport über ABCB1

4.4 cis-Inhibitionsstudien

In unseren *cis*-Inhibitionsstudien konnten wir zeigen, dass die ABCB1-Variante 893Ser im Vergleich zu ABCB1-Wildtyp und 893Thr-Variante schwächer auf Digoxin und Didanosin reagierte. Die Effekte für Verapamil und Fexofenadin waren identisch, wobei Verapamil der effektivere Inhibitor war. Der auf ABCB1 beruhende Mechanismus der Arzneistoffinteraktion ist sehr komplex. Bisher sind einige Substratbindungsstellen bekannt, die kooperativ mit zwei ATP-Bindungsstellen als funktionale Einheit für den Arzneistofftransport interagieren. Arzneistoffwechselwirkungen können sich aus der Konkurrenz um identische Substratbindungsstellen ergeben (z.B. Verapamil [69]), aus der gleichzeitigen Bindung an verschiedene Bindungsstellen oder der Blockade des ATP-Hydrolyseprozesses (z.B. Vanadat [70]). Sowohl kompetitive als auch nicht-kompetitive ABCB1-Inhibition ist beschrieben worden [71;72]. Die Notwendigkeit hoher Inhibitorkonzentrationen, um eine signifikante Inhibition des [³H]-Vincristin-Transports zu erreichen, beruht möglicherweise auf verschiedenen Bindungsstellen für Substrat und Inhibitor. Auch Unterschiede in den K_m -Werten zwischen transportiertem Substrat und eingesetzten Inhibitoren können zu verschiedenen Reaktionen auf diese Inhibitoren führen. So beschrieben Stephens et al. K_m -Werte für den Digoxin-Transport von 81 μM (isoliertes Ratten-Jejunum) und 74 μM (isoliertes Ratten-Ileum) [73], Makhey et al. dokumentierten K_m -Werte für Verapamil von 31 μM (isoliertes Ratten-Jejunum) und 29 μM (isoliertes Ratten-Ileum) [74].

Wir konnten anhand unserer Ergebnisse veranschaulichen, dass die Inhibition des Arzneistofftransports von der ABCB1-893-Variante abhängig ist. Kioka et al. [75] konnten bereits zeigen, dass die 893Ser-Variante einerseits die Resistenz von mit *ABCB1* transfizierten Zellen gegenüber Colchizin nicht beeinflusste. Andererseits konnte der Polymorphismus mit einer veränderten Resistenz gegenüber Doxorubicin und Vinblastin in Verbindung gebracht werden.

Betrachtet man die unterschiedlichen Inhibitionscharakteristiken, beruhend auf ABCB1-Genotyp und / oder eingesetztem Inhibitor, wird deutlich, dass man von einem ABCB1-Inhibitor keine Rückschlüsse auf die Auswirkungen eines anderen ziehen kann.