

5 Zusammenfassung

Es ist bekannt, dass *ABCB1*-Polymorphismen einen Einfluß auf die Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen haben. Jedoch führten zahlreiche klinische Studien am Menschen zu teils widersprüchlichen Ergebnissen, deren Ursachen auch durch *in vitro*-Studien nicht zufriedenstellend erklärt werden konnten. Wir konnten den *ABCB1*-Wildtyp (893Ala) und dessen Varianten 893Ser und 893Thr erfolgreich in einem heterologen *in vitro*-Expressionssystem exprimieren. Dies geschah auf Grundlage des Baculovirussystems. Mit Hilfe dieses Systems können nach Insertion von Fremd-DNA (z.B. *ABCB1*-Varianten) in einen geeigneten Vektor (z.B. pFastBac1-Vektor) rekombinante Viren generiert werden. Insektenzellen (z.B. HighFive-Zellen), die mit diesen Viren infiziert werden, produzieren das gewünschte Fremdprotein. Nach Präparation der Membranen wurden Transport-, Expressions- und Inhibitionsstudien durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass das Baculovirussystem geeignet ist, um *In vitro*-Transportcharakteristiken für den *ABCB1*-Wildtyp (A893Ala) und dessen genetische Varianten 893Ser und 893Thr zu bestimmen.

Wir konnten beobachten, dass funktionelle Unterschiede zwischen den genetischen *ABCB1*-Varianten 893Ala, 893Ser und 893Thr bestehen. Deshalb schlussfolgern wir, dass genetische *ABCB1*-Polymorphismen in Exon 21 2677 eine wichtige Rolle für die pharmakogenetische Bedeutung von *ABCB1* spielen. Die Transportaktivität von *ABCB1* hängt von Expressionsumfang und Funktion des Proteins ab. Orientierende Untersuchungen zeigten Hinweise, dass ein stiller *ABCB1*-SNP in Exon 26 3435 zu einer Veränderung im Expressionslevel und damit zu Unterschieden in der Transportaktivität führt [41]. Der zugrunde liegende molekulare Mechanismus bleibt unklar, auch wenn die mRNA-Stabilität kürzlich als bestimmender Faktor für eine geringere Transkription des 3435-T-Allels in der Leber erkannt wurde [76]. Viele Studien führten in Zusammenhang mit diesem Polymorphismus zu unterschiedlichen oder sogar gegensätzlichen Ergebnissen [13;21]. Die starke Assoziation zwischen den Polymorphismen 3435C/T in Exon 26 und 2677G/T/A in Exon 21 ließ den Schluß zu, dass einige der beobachteten Unterschiede in der *ABCB1*-Transportfunktion möglicherweise dem nichtsynonymen Polymorphismus in Exon 21 zugeordnet werden können. Tatsächlich haben wir nun

Zusammenfassung

einen Hinweis darauf, dass ein SNP an Position 2677 selbst Unterschiede in der ABCB1-Transportcharakteristik auslösen kann, was sich in den Parametern K_m und I oder V_{max} widerspiegelt. Die Effekte der ABCB1-893-Varianten waren abhängig von der Substratkonzentration, was zu der Schlußfolgerung führt, dass die an Patienten verabreichte Dosis und die lokale Arzneistoffkonzentration wichtige Parameter sind, die in Betracht gezogen werden müssen.

Anhand unserer Inhibitionsstudien konnten wir erkennen, dass die Inhibition des Arzneistofftransports abhängig ist von der ABCB1-893-Variante. Eine ähnliche Entdeckung wurde gemacht, die zeigte, dass die 893Ser-Variante die Resistenz gegenüber Colchizin nicht beeinflusste, aber im Zusammenhang mit Veränderungen in der Resistenz gegenüber Doxorubicin und Vinblastin stand [75]. Dieser Aspekt könnte in der Evaluation von Arzneistoff-Interaktionen in verschiedenen ABCB1-893-Varianten von Bedeutung sein.

Es konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass ABCB1 sowohl auf Gen als auch auf Proteinebene mit CYP3A4 interagiert, um Barrieren gegenüber Fremd- und Arzneistoffen aufzubauen [23;25]. Desweiteren scheint die CYP3A4-Gen-Aktivität von der ABCB1-Funktion beeinflusst zu werden [24]. Daher könnte die mit der ABCB1-893-Variante assoziierte Transportfunktion eine zu beachtende Rolle für die CYP3A4-Aktivität spielen. Da sich ABCB1 und CYP3A4 ein großes Substratspektrum teilen [23], könnte die Arzneistoffdisposition über diesen Weg beeinflusst werden.

Unsere Ergebnisse zeigen eine funktionale Basis für ABCB1-Haplotyp-assoziierte Veränderungen in der Arzneistoffdisposition auf und weisen darauf hin, dass der ABCB1-Polymorphismus in Exon 21 2677 ein kausaler Parameter für diese Veränderungen sein könnte. Durch die Ergebnisse können plausible Erklärungen für viele widersprüchliche Ergebnisse gegeben werden, die in anderen Studien erhalten wurden. Weiterhin könnte das von uns etablierte *In vitro*-Transportsystem als Basis für die Entwicklung diagnostischer Hilfsmittel genutzt werden, mit deren Hilfe kodierende ABCB1-Varianten in der Arzneistofftherapie und –entwicklung identifiziert werden können.