

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von Polymorphismen im
Multidrug-resistance-Gen Typ 1 (ABCB1) auf die
Single-dose-Kinetik von Digoxin

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin
Berlin

von

Antje Meseg

aus Berlin

Gutachter: 1. PD Dr. med. T. Gerloff

2. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. I. Cascorbi

3. PD Dr.med. J. Ockenga

Datum der Promotion: 01.06.2008

Inhaltverzeichnis

<u>1.</u>	<u>Einleitung</u>	1
<u>1.1</u>	<u>Ursachen interindividueller Unterschiede in der Arzneimittelwirkung</u>	1
<u>1.2</u>	<u>Auswirkungen genetischer Individualität</u>	2
<u>1.3</u>	<u>Folgen unerwünschter Arzneimittelwirkungen im klinischen Alltag</u>	2
<u>1.4</u>	<u>Entdeckung von P-Glycoprotein</u>	3
<u>1.5</u>	<u>Verteilung von P-Glycoprotein im Körpergewebe</u>	3
<u>1.6</u>	<u>Aufbau von P-gp und seines kodierenden Gens</u>	5
<u>1.7</u>	<u>Die Transportmechanismen von P-gp</u>	6
<u>1.8</u>	<u>Die physiologische Funktion von P-gp im Organismus</u>	7
<u>1.9</u>	<u>Die Substrate von P-gp</u>	8
<u>1.10</u>	<u>Ein Überblick über die bekannten P-gp-Genpolymorphismen</u>	10
<u>1.11</u>	<u>Der P-gp-Genpolymorphismus 3435C>T in Exon 26</u>	10
<u>1.12</u>	<u>Ethnische Verteilungsmuster der Genpolymorphismen</u>	11
<u>1.13</u>	<u>Ziele und Aufgabenstellung</u>	12
<u>2.</u>	<u>Material und Methoden</u>	14
<u>2.1</u>	<u>Probanden</u>	14
<u>2.1.1</u>	<u>Stichprobenumfang</u>	14
<u>2.1.2</u>	<u>Einschluss- und Ausschlusskriterien</u>	14
<u>2.1.3</u>	<u>Klinische Voruntersuchung</u>	15

2.1.4	<u>Labordiagnostik</u>	16
2.1.5	<u>Klinische Nachuntersuchung</u>	17
2.1.6	<u>Allgemeine Einschränkungen</u>	17
2.2	<u>Studiendesign</u>	18
2.2.1	<u>Studienverlauf</u>	18
2.2.2	<u>Probandenüberwachung</u>	18
2.3	<u>Digoxin</u>	19
2.4	<u>Kinetik von Digoxin</u>	19
2.4.1	<u>Materialien</u>	19
2.4.2	<u>Ablauf der quantitativen Digoxin-Messung</u>	19
2.5	<u>Pharmakokinetische Parameter</u>	20
2.6	<u>DNA-Extraktion</u>	20
2.6.1	<u>Grundlagen</u>	20
2.6.2	<u>Materialien</u>	21
2.7	<u>Genotypisierung</u>	22
2.7.1	<u>Polymerase-Kettenreaktion (PCR)</u>	22
	<u>Grundlagen</u>	22
	<u>Materialien</u>	23
2.7.2	<u>Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP)</u>	23
2.7.3	<u>Methodenstatistik</u>	24
3.	<u>Ergebnisse</u>	25

<u>3.1</u>	<u>MDR1-Polymorphismen</u>	25
<u>3.2</u>	<u>Ergebnisse der Digoxin-Kinetik</u>	27
<u>3.3</u>	<u>Zusammenhang zwischen MDR1-Polymorphismen und Digoxin-Kinetiken</u>	28
<u>4.</u>	<u>Diskussion</u>	36
<u>4.1</u>	<u>Einfluss der untersuchten MDR-1-Varianten auf die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik von P-gp-Substraten</u>	36
<u>4.2</u>	<u>Wie lassen sich die diskrepanten Ergebnisse verschiedener Studien erklären?</u>	39
<u>4.2.1</u>	<u>Unterschiede in der Art der Verabreichung von Digoxin</u>	39
<u>4.2.2</u>	<u>Unterschiede in der Menge der verabreichten Digoxin-Dosis</u>	39
<u>4.2.3</u>	<u>Einfluss der Medikamentenzusammensetzung</u>	40
<u>4.2.4</u>	<u>Unterschiedliche Größe der Probandengruppen</u>	40
<u>4.2.5</u>	<u>Mögliches Zusammenspiel zweier oder mehrerer Genvarianten</u>	41
<u>4.2.6</u>	<u>Konkurrierende Medikamenten-Transporter</u>	42
<u>4.2.7</u>	<u>Weitere mögliche Einflussfaktoren auf die Pharmakokinetik von Digoxin</u>	43
<u>5.</u>	<u>Zusammenfassung</u>	45
<u>6.</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	47
<u>7.</u>	<u>Anhang</u>	54
	<u>Erklärung an Eides Statt</u>	56
	<u>Lebenslauf</u>	57

Abbildungsverzeichnis

<u>Abbildung 1.1: räumliche Darstellung von P-Glycoprotein in der Zellmembran</u>	5
<u>Abbildung 1.2: Projektionsaufnahme von P-gp in der apikalen Zellmembran (24)</u>	6
<u>Abbildung 1.3: Potentielle Mechanismen des P-gp vermittelten Drug-Efflux (23, 27)</u> .	7
<u>Abbildung 3.1: Beispielkinetiken der Probanden G234 und GU16</u>	27
<u>Abbildung 3.2: Abhängigkeit der AUC von den untersuchten Polymorphismen</u>	31
<u>Abbildung 3.3: Abhängigkeit der Tmax von den untersuchten Polymorphismen</u>	32
<u>Abbildung 3.4: Cmax in Abhängigkeit von den Polymorphismen</u>	33

Tabellenverzeichnis

<u>Tabelle 1.1: P-gp-Expressionsniveau in Organen, Geweben und Zellen des Organismus</u>	4
<u>Tabelle 1.2: P-gp-Substratgruppen und Substrate</u>	9
<u>Tabelle 2.1: Zeitraum und Ablauf der Digoxin-Kinetik</u>	18
<u>Tabelle 2.2: Die untersuchten 8 Polymorphismen des <i>MDR1</i>-Gens</u>	24
<u>Tabelle 3.1: Darstellung der Polymorphismen mit Allel- und Genotyphäufigkeiten</u> ...	26
<u>Tabelle 3.2: AUC-Medianwerte</u>	28
<u>Tabelle 3.3: Tmax-Medianwerte</u>	29
<u>Tabelle 3.4: Cmax-Medianwerte</u>	30
<u>Tabelle 4.1: Effekte des 3435C>T-Genpolymorphismus, Ergebnisse bisheriger Studien</u>	38
<u>Tabelle 4.2: Effekte des 2677G>T>A-Genpolymorphismus, Ergebnisse bisheriger Studien</u>	38
<u>Tabelle 7.1: Zusammenfassung der bekannten Genvarianten auf dem <i>MDR1</i>-Gen</u>	54

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ABC	ATP bindende Cassette
Ala	Alanin
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AP	alkalische Phosphatase
Arg	Arginin
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AUC curve)	Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve (Area under the
C	Cytosin
CD43	Oberflächenmarker auf Lymphozyten
cDNA	komplementär DNA
CK	Creatininkinase
Cmax	maximale Konzentration
Cys	Cystein
CYP3A4	Cytochrom P 450 3A4

DNA	Desoxyribonucleinsäure
dNTPs	Desoxynucleotidtriphosphate
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Ex	Exon
g	Gramm
G	Guanin
GIT	Gastrointestinaltrakt
Gln	Glutamin
γ -GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
h	Stunde (hour)
Hb	Hämoglobin
HBsAg	Hepatitis B Antigen
HCV-Ak	Hepatitis C Antikörper
het	heterozygot
HIV	Humanes Immundefizienzvirus
Hk	Hämatokrit
hom	homozygot
Ile	Isoleucin
kDA	kilo Dalton
K.I.	Konfidenzintervall

KW	Kruskal-Wallis
l	Liter
Leu	Leucin
Lys	Lysin
M	mol/Liter
<i>MDR1</i> -Gen	Multidrug-resistance-Gen Typ1 (<i>ABCB1</i>)
MEIA	Mikropartikel Enzymimmunoessay
Met	Methionin
mg	Milligramm
ml	Milliliter
μl	Mikroliter
n	Anzahl
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
p	Prüfwert
PCR	Polymerase Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction)
P-gp	P-Glycoprotein
Phe	Phenylalanin
Pro	Prolin
PTT	partielle Thromboplastinzeit
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus

RNA	Ribonucleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)
rt	Referenztypallel
s	Sekunde
Ser	Serin
SNP	Single-Nucleotid–Polymorphismus
T	Thymin
TBE-Puffer	Tris-Borat-EDTA-Puffer
Thr	Threonin
Tmax	Zeit bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums
Trp	Tryptophan
UV-Licht	Ultraviolett-Licht
Val	Valin
V	Volt
WPW-Syndrom	Wolf-Parkinson-White-Syndrom
