

---

## 4. Diskussion

### 4.1 Einfluss der untersuchten *MDR-1*-Varianten auf die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik von P-gp-Substraten

Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Untersuchung des Einflusses häufiger oder zu Aminosäureaustausch führender *MDR1*-Genpolymorphismen auf die pharmakokinetischen Parameter AUC, T<sub>max</sub> und C<sub>max</sub> des P-gp-Substrates Digoxin. Untersucht wurden hierzu die Genpolymorphismen, die eine Frequenz von mindestens 10% in kaukasischer Population aufweisen, Exon6 +139C>T, Exon17-76T>A und Exon26 3435C>T. Desweiteren untersuchten wir Genpolymorphismen, die mit einem Aminosäureaustausch einhergehen, Exon2 61A>G, Exon11 1199G>A und Exon21 2677G>T>A, einen Polymorphismus, der sich in regulatorischen Elementen der Transkription des *MDR-1*-Gens befindet, Exon2 -1G>A sowie weiterhin 2 Genotypen mit verknüpften Genpolymorphismen, Exon21 2677GG / Exon26 3435CC und Exon21 2677TT / Exon26 3435TT.

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Studien durchgeführt, in denen verschiedene *MDR1*-Genotypen untereinander in Bezug auf die pharmakokinetischen Parameter AUC, C<sub>max</sub> und T<sub>max</sub> nach Digoxin-Gabe verglichen wurden. In den publizierten Studien fanden sich diskrepante Ergebnisse. Während beispielsweise in der Publikation von Hoffmeyer *et al.* (37) Individuen mit dem Genotyp 3435TT (Exon26) im Vergleich zum Wildtyp eine höhere AUC nach Digoxin-Gabe aufwiesen, wurde bei Individuen mit dem gleichen TT-Genotyp in einer von Sakaeda *et al.* (43) durchgeführten Studie eine niedrigere AUC im Vergleich zu der Kontrollgruppe gemessen. Zu beachten ist jedoch, dass die Studie von Hoffmeyer *et al.* (37) unter Steady-state-Bedingungen und unter Rifampicin-Komedikation durchgeführt wurde. Das Tuberkulostatikum Rifampicin wird als ein starker P-gp-Induktor beschrieben (44). Die intestinale P-gp-Expression von Individuen, die mit Rifampicin vorbehandelt wurden, war im Vergleich zu der Kontrollgruppe bis zu 3,5-fach erhöht. Hierbei fiel auf, dass Rifampicin die P-gp-Expression von 3435CC-Allelträgern deutlich stärker induzierte, verglichen mit 3435TT-Genotypen. Somit könnte Rifampicin einen deutlichen Einfluss auf die

---

---

Induktion der P-gp-Expression und somit auch auf die Pharmakokinetik von Digoxin haben.

Auch für den *MDR1*-Genpolymorphismus im Exon21 2677G>T>A ergaben verschiedene Studien widersprüchliche Resultate. So beschrieben Kurata *et al.* (45) eine höhere AUC nach oraler Digoxin-Gabe bei Probanden mit dem TT-Genotyp des 2677G>T>A-Polymorphismus. Hourinouchi *et al.* (46) hingegen beobachteten bei Individuen mit dem gleichen TT-Genotyp eine niedrigere AUC im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

Individuelle Unterschiede in den genannten pharmakokinetischen Parametern könnten Folge veränderter P-gp-Aktivität aber auch quantitativer P-gp-Expression sein. Diese kann indirekt über die transkriptionelle Aktivität des *MDR-1*-Gens anhand des spezifischen mRNA-Gehaltes gemessen werden. In einer Studie von Hitzl *et al.* war die mRNA-Konzentration in CD56+ Killerzellen nicht signifikant, jedoch im Trend abhängig vom jeweiligen Genotyp in Exon 26 3435C>T. Der mRNA-Gehalt von Probanden mit dem 3435C-Allel war signifikant höher als die mRNA-Konzentration von Probanden mit dem 3435T-Allel (47).

In der vorliegenden Studie konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den jeweiligen untersuchten Polymorphismen des *MDR-1*-Gens und den pharmakokinetischen Parametern AUC(0-4), C<sub>max</sub> und T<sub>max</sub> beobachtet werden. In den Tabellen 4.1 und 4.2 werden die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien vergangener Jahre zusammengefasst. In Tabelle 4.1 sind die Studien aufgelistet, die die pharmakokinetischen Parameter in Bezug auf den *MDR1*-Polymorphismus 3435C>T nach oraler Digoxin-Gabe bei gesunden Probanden verglichen. In Tabelle 4.2 werden die Studien zusammengefasst, die die pharmakokinetischen Parameter in Bezug auf den Genpolymorphismus 2677G>T>A nach oraler Gabe von Digoxin untersuchten.

---

**Tabelle 4.1: Effekte des 3435C>T-Genpolymorphismus, Ergebnisse bisheriger Studien**

Probandenzahl	Parameter	Signifikanzen (Referenz)
8	AUC (Rifampicin-Induktion)	signifikant höher bei TT-Genotyp (37)
14	Cmax	signifikant höher bei TT-Genotyp (37)
24	AUC (0-4h), Cmax	signifikant höher bei TT-Genotyp (48)
15	orale Bioverfügbarkeit	signifikant höher bei TT-Genotyp (45)
32	AUC (0-4 und 0-24h)	signifikant höher bei TT-Genotyp (49)
13	AUC (0-4h)	signifikant niedriger bei TT-Genotyp (43)
117	AUC, Tmax	signifikant niedriger bei TT-Genotyp (46)
11	Absorptionsrate	signifikant niedriger bei TT-Genotyp (50)
12	AUC (0-4 und 0-24h)	keine signifikanten Unterschiede (51)
7	AUC, Cmax	keine signifikanten Unterschiede (52)

**Tabelle 4.2: Effekte des 2677G>T>A-Genpolymorphismus, Ergebnisse bisheriger Studien**

Probandenzahl	Parameter	Signifikanzen (Referenz)
15	AUC	signifikant höher bei TT-Genotyp (45)
117	AUC, Tmax	signifikant niedriger bei TT-Genotyp (46)
32	AUC (0-4 und 0-24h)	keine signifikanten Unterschiede (49)

Ähnliche Diskrepanzen konnten bei Studien mit dem Antihistaminikum Fexofenadin beobachtet werden. Während in einer Untersuchung an deutschen Probanden keine signifikanten Unterschiede in der AUC bei 3435CC- und 3435TT-Trägern beobachtet wurde (53), konnte bei amerikanischen Probanden mit dem 3435CC-Genotyp eine um 40% höhere AUC im Vergleich zu Probanden mit dem 3435TT-Genotyp nachgewiesen werden (40). Zu einem anderen Resultat hingegen kam eine Studie aus Korea, in der die AUC bei 3435CC-Genotypträgern im Vergleich zu 3435TT-Trägern signifikant erniedrigt war (54). Die unterschiedlichen Ergebnisse dieser Studien könnten möglicherweise unter anderem darauf zurückzuführen sein,

---

dass das Arzneimittel Fexofenadin nicht nur ein Substrat von P-gp ist, sondern auch mit Hilfe von organischen Anionentransportern (*OATP*) aktiv Membranen passiert. Die Aktivität der *OATP*-Transporter ist wiederum interindividuell verschieden. Sie ist unter anderem abhängig vom jeweiligen Genotyp des kodierenden Gens. So konnten Tirona *et al.* Allel-Varianten im kodierenden Gen des *OATP*-Transporters identifizieren, die mit einer signifikant erhöhten Transportaktivität einhergehen (55).

## **4.2 Wie lassen sich die diskrepanten Ergebnisse verschiedener Studien erklären?**

### **4.2.1 Unterschiede in der Art der Verabreichung von Digoxin**

Neben der bereits genannten Geninduktion durch Rifampicin könnte der Plasmaspiegel von Digoxin durch die Verabreichungsmethode beeinflusst worden sein. So konnte beispielsweise unter Steady-state-Bedingungen ohne vorherige Induktion eine Assoziation zwischen dem 3435C>T-Polymorphismus und dem Digoxin-Plasmaspiegel nach oraler Gabe beobachtet werden (48). Unter Steady-state-Bedingungen ist die Verteilung von Digoxin und dessen Elimination aus dem Körpergewebe von maßgeblicher Bedeutung. An diesen Prozessen sind neben dem GIT u.a. auch die Leber, die Niere und die Lunge beteiligt, wodurch es zu abweichenden Ergebnissen gegenüber der Single-dose-Kinetik kommen kann.

In der vorliegenden Studie wurden die pharmakokinetischen Parameter nach einer einmaligen Medikamenten-Gabe nur während der Phase der Absorption von Digoxin untersucht. Die Verteilung im Gewebe spielt zu diesem Zeitpunkt eine noch untergeordnete Rolle.

### **4.2.2 Unterschiede in der Menge der verabreichten Digoxin-Dosis**

Die Absorption von Digoxin, die vorwiegend im Duodenum stattfindet, ist bei niedriger Dosis im GIT durch den Rücktransport am P-gp-Transporter in das Lumen limitiert. Steigt jedoch die Substratdosis, kann ein lokaler Sättigungseffekt des P-gps eintreten, wodurch die aktive Eliminierung durch P-gp begrenzt wird. Passive Diffusion bestimmt dann zunehmend die pharmakokinetischen Parameter und führt

---

---

letztlich zu einer stark erhöhten Konzentrationssteigerung von Digoxin im Blutplasma. Auch der Transport anderer Substrate von P-gp scheint eine beschränkte Kapazität zu haben. Das Beispiel vom P-gp-Substrat Celiprolol demonstriert den Zusammenhang zwischen hoher Applikationsdosis und erhöhtem Plasmakonzentrationsanstieg sowie kürzerer T<sub>max</sub>-Zeit. In einer Studie von Chiou *et al.* resultierte eine 6-fache Celiprololgabe verglichen mit der einfachen Celiprololgabe in einer bis zu 100-fach höheren initialen Plasmakonzentration (56). In einer japanischen Studie hingegen wurden die pharmakokinetischen Effekte des 3435C>T-Polymorphismus nach einer einmaligen, im Vergleich zur vorliegenden Studie, geringeren Dosis von 0,25 mg Digoxin untersucht. CC-Allelträger wiesen dabei signifikant geringere Digoxin-Plasmaspiegel auf als TT-Genotypen und heterozygote CT-Träger (43). Die verabreichte Digoxin-Dosis von 1 mg könnte ausserhalb der maximalen Transportkapazität von P-gp gelegen haben.

#### **4.2.3 Einfluss der Medikamentenzusammensetzung**

Neben dem oben genannten Sättigungseffekt am P-gp-Transporter könnten auch Arzneimittel-Zusatzstoffe Auswirkungen auf die P-gp-Aktivität haben, so wie es für einige neuere Cyclosporine beschrieben wurde, wie beispielsweise Optoral und Neoral. Beide Cyclosporin-Präparate beinhalten Polyethylenglycol-40-hydroxystearate als Zusatzstoffe. Mai *et al.* konnten deren inhibitorischen Effekt auf P-gp *in vitro* und deren Einfluss auf die Digoxin-Pharmakokinetik *in vivo* nachweisen (57). Ob Unterschiede in den Arzneimittel-Zusatzstoffen verschiedener Digoxin-Präparate einen Einfluss auf die Aktivität von P-gp ausüben, wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht. Hierfür müssten in zukünftigen pharmakokinetischen Studien verschiedene Digoxin-Präparate miteinander verglichen werden.

#### **4.2.4 Unterschiedliche Größe der Probandengruppen**

In viele der o.g. Studien wurde nur eine geringe Anzahl an Probanden eingeschlossen. So lag deren Zahl in den Vergleichsstudien in Tabelle 4.1 beispielsweise im Bereich zwischen 7 und 117, wobei in 90% der aufgeführten Studien die Probandenzahl lediglich 24 oder weniger betrug. Die statistische Power

---

---

ist in Studien mit einem kleinen Probandenkollektiv eingeschränkt, wodurch vorhandene Unterschiede in den Genotypgruppen möglicherweise nicht nachgewiesen werden konnten. Daher sollte in zukünftigen Studien besonders Wert auf eine gute Fallzahlberechnung gelegt werden und nach Möglichkeit eine größere Zahl an Probanden eingeschlossen werden.

#### 4.2.5 Mögliches Zusammenspiel zweier oder mehrerer Genvarianten

Bisher ist unbekannt, durch welchen Mechanismus der stille und somit nicht zum Aminosäureaustausch führende Polymorphismus 3435C>T in Exon 26 zu einer veränderten P-gp-Aktivität führt. Vermutlich wird durch die 3435CT-Genvariante die Transport-Aktivität von P-gp nicht direkt verändert. Der 3435C>T-Polymorphismus befindet sich möglicherweise in Verknüpfung mit einem oder mehreren Genvarianten oder Regionen auf dem *MDR1*-Gen, welche eine wichtige Rolle bei Steuerungsprozessen einnehmen können, wie beispielsweise die Promoter-Region. In diesem Zusammenhang könnte ein bis zum Beginn der vorliegenden Studie noch wenig beachteter Faktor, die sogenannten Haplotypen als eine weitere Ursache für die unter 4.1 genannten konträren Studienergebnisse gelten. Im Gegensatz zum Genotyp beschreibt der Haplotyp eines Individuums spezifische Allele, die durch die Abfolge mehrerer SNP-Loci entlang eines einzelnen Chromosoms definiert sind.

Johne *et al.* (48) beschrieben als erste die Auswirkungen von *MDR1*-Haplotypen auf die Pharmakokinetik von Digoxin. Der Haplotyp 11 (2677G/3435C) beispielsweise weist in der kaukasischen Population eine Häufigkeit von 43,3% auf. Das Vorkommen von Haplotyp 12 (2677G/3435T) beträgt 13,3%. Johne *et al.* untersuchten den Einfluss häufig vorkommender Haplotypen in der kaukasischen Population auf die pharmakokinetischen Parameter AUC, C<sub>max</sub> und T<sub>max</sub> nach oraler Gabe von Digoxin unter Steady-State-Bedingungen. Für die Träger von Haplotyp 11 und Haplotyp 12 ergaben sich statistisch signifikante Abweichungen in den Parametern AUC (0-4) und C<sub>max</sub> im Vergleich zu Individuen, die keine Träger der Haplotypen 11 oder 12 waren. Im Vergleich zu Nichtträgern wiesen Träger des Haplotyps 11 geringere und Individuen mit dem Haplotyp 12 höhere AUC- und C<sub>max</sub>-Konzentrationen auf (48). In einer später von Kroetz *et al.* durchgeführten

---

---

Sequenzanalyse wurden insgesamt 64 Haplotypen in 247 verschiedenen DNA-Proben verschiedener ethnischer Populationen identifiziert. Die zwei am häufigsten vorkommenden Haplotypen ABCB1\*1 und ABCB1\*13 konnten in 36 % aller untersuchter Chromosomen nachgewiesen werden (42). Der Haplotyp ABCB1\*1 ist der ABCB1-Wildtyp. ABCB1\*13 setzt sich aus den SNPs 1236C>T, 2677G>T sowie 3 intronischen SNPs in Intron 9,13 und 14 zusammen.

Die klinische Relevanz einiger häufig vorkommender Haplotypen konnte in einer Studie unter ALL-Patienten beobachtet werden. Haplotypen-Träger mit einem der Genpolymorphismen in Exon26 3435C>T, in Exon21 2677G>T>A oder in Exon12 1236C>T hatten ein signifikant höheres Risiko eines Rezidivs und eine insgesamt schlechtere Überlebensprognose im Vergleich zu Nichtträgern (58).

Kurata *et al.* untersuchten verschiedene Haplotypenpaare in Bezug auf ihre orale Bioverfügbarkeit von Digoxin. Die Autoren beobachteten sowohl nach intravenöser als auch nach oraler Gabe von 0,5mg Digoxin einen Zusammenhang zwischen den untersuchten Genotypen und den Digoxin-Plasmaspiegeln. Probanden mit dem Genotyp 2677GG/3435CC wiesen hierbei signifikant höhere Plasmaspiegel als Probanden mit dem Genotyp 2677TT/3435TT ( $p < 0,05$ ) auf (45). Man geht daher heute davon aus, dass die beobachteten funktionellen Differenzen im P-gp eher auf die modulierenden Eigenschaften von *MDR1*-Haplotypen als auf die einzelnen Single-Nukleotid-Polymorphismen zurückzuführen sind.

#### **4.2.6 Konkurrierende Medikamenten-Transporter**

Mitglieder der Gruppe der organischen Anionentransporter (*OATP*) sind neben P-gp ebenfalls als Transporter von vielen amphipathischen Substraten bekannt. Beide Transporter interagieren mit Digoxin (59, 60). *OATP*-Transporter befinden sich auf der apikalen Membran von Enterozyten sowie der basolateralen Seite der dem portal-venösen Blut zugewandten Hepatozyten und können Digoxin vermutlich sehr schnell absorbieren (61). Die dem P-gp entgegenwirkenden Effekte der aktiven Aufnahme durch andere Transportsysteme verringern die Effekte von funktionell wirksamen Polymorphismen des *MDR1*-Gens auf die pharmakokinetischen Parameter und könnten einen Einfluss auf die Ergebnisse der vorliegenden Studie

---

---

haben. Daher sollten in nachfolgenden Studien ebenfalls Genvarianzen anderer Transportsysteme und Metabolisierungsenzyme berücksichtigt werden.

#### **4.2.7 Weitere mögliche Einflussfaktoren auf die Pharmakokinetik von Digoxin**

Aktuelle Studien diskutieren neben den bereits genannten Faktoren die Folgen von oxidativem Stress auf die Konzentration von intrazellulären Sauerstoffradikalen sowie der Pgp-Expression. So beschrieben Felix und Barrand eine vorübergehend gesteigerte P-gp-Expression in Rattenhirn-Endothelzellen nach dem Einwirken von oxidativem Stress, welcher durch intermittierende Hypoxie und Reoxygenierung der Zellen induziert wurde (62). Als Ursache von oxidativem Stress kommen neben dem genannten Ischämie-Reperfusion-Phänomen auch längerfristige UV-Lichtexposition, intensive körperliche Belastung, geistiger und thermischer Stress und die Umweltverschmutzung in Frage (63). Diese Faktoren könnten sich besonders im Zeitraum der Studie in interindividuell unterschiedlicher Intensität auf die Pharmakokinetik von Digoxin ausgewirkt haben.

Weiterhin werden hormonelle Einflüsse diskutiert wie beispielsweise Thyroxin oder Steroide (64, 65). So konnte unter Probanden in einer Studie von Altmannsberg *et al.* nach Thyroxin-Gabe ein erhöhtes intestinales P-gp und ein erhöhter Efflux des P-gp-Substrates Talinolol nachgewiesen werden (64).

Durch das vorliegende Studienprotokoll wurde zwar eine Induktion durch Medikamente ausgeschlossen, jedoch gab es bezüglich der Ernährung und der Nahrungszusammensetzung im Studienzeitraum keine vorgeschriebene Standarddiät. Ob die Probanden z.B. Nahrungsmittel und Getränke konsumiert haben, die aus noch unbekannter Ursache ebenso die Single-dose-Kinetik von Digoxin beeinflusst haben könnten, ist daher nicht auszuschließen (66-68). So deuten Ergebnisse einiger Studien darauf hin, dass die orale Einnahme von Grapefruchtsaft einen Einfluss auf die pharmakokinetischen Parameter von P-gp-Substraten haben könnte. Soldner *et al.* untersuchten beispielsweise den Efflux von P-gp-Substraten an der Zellmembran nach oraler Gabe von Grapefruchtsaft und konnten einen signifikanten Anstieg des P-gp-abhängigen Effluxes dieser Substrate nach dem Konsum von Grapefruchtsaft nachweisen (66). Im Widerspruch dazu

---



---

stehen die Studienergebnisse von Wang *et al.*, Palumbo *et al.* und Di Marco *et al.*. In diesen Studien wurde unter Einnahme von Grapefruchtsaft eine erhöhte Bioverfügbarkeit von P-gp-Substraten und somit eine verminderte P-gp-Aktivität beschrieben (67, 69, 70). Diese verminderte Aktivität ließ sich in der Studie von Di Marco *et al.* auch noch 3 Tage nach oraler Einnahme von Grapefruchtsaft anhand einer Kinetik mit dem P-gp-Substrat Dextromethorphan nachweisen. Die Ergebnisse dieser Studie lassen überdies einen langanhaltenden bzw. irreversiblen Effekt von Grapefruchtsaft auf die P-gp-Aktivität vermuten (70). In der vorliegenden Studie wurde daher der Konsum von Grapefruchtsaft durch das Studienprotokoll ausgeschlossen.

Grundsätzlich wäre es sinnvoll, in zukünftigen Studien einzelne, die Pharmakokinetik von Digoxin beeinflussende Faktoren, wie beispielsweise verknüpfte SNPs, Umweltfaktoren, Substratmenge oder Verabreichungsmodus zu berücksichtigen.

---