

5. Zusammenfassung

In der Arzneimitteltherapie sind die unterschiedlichen Wirkungen gleicher Dosen eines Medikaments bei verschiedenen Patienten von alters her bekannt. Als Ursachen dieser verschiedenen, häufig unerwünschten Arzneimittelwirkungen kommen neben klinischen Einflussfaktoren auch genetische Faktoren zum Tragen, wie beispielsweise genetische Unterschiede in Arzneimitteltransportern.

Zu den klinisch wichtigsten Arzneimitteltransportern gehört das P-Glycoprotein (P-gp), welches durch das humane *Multidrug-resistance*-Gen Typ1 (*MDR1/ABCB1*) kodiert wird. Seit Entdeckung der ersten Genpolymorphismen im *MDR1*-Gen wurden zahlreiche Studien publiziert, welche die Zusammenhänge zwischen den Genpolymorphismen und der P-gp-Aktivität im Rahmen von Arzneimittel-Kinetiken untersuchten. Besondere Beachtung galt dabei dem 3435C>T-Genpolymorphismus in Exon 26. Für diesen Polymorphismus konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Genotyp und der Absorption von Digoxin unter Steady-state-Bedingungen sowie unter P-gp – Induktion nach Rifampicin gemessen werden. Ziel der vorliegenden Studie war es daher, die Effekte des 3435C>T-SNPs und weiterer häufiger und zu Aminosäureaustausch führender *MDR1*-Genpolymorphismen ohne vorherige P-gp - Induktion und nach einmaliger oraler Gabe von 1mg Digoxin zu untersuchen. Hierzu wurden 50 gesunde männliche Probanden kaukasischer Abstammung in die Studie eingeschlossen.

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen den in dieser Studie untersuchten *MDR1*-Genpolymorphismen und den pharmakokinetischen Parametern AUC, T_{max} und C_{max} nachgewiesen werden. Ursache dafür könnte beispielsweise die Menge des verabreichten Digoxins sein, welche möglicherweise über der Sättigungsgrenze der maximalen Transportkapazität des intestinalen P-gp liegt. Weiterhin könnten Umweltfaktoren, hormonelle Faktoren oder konkurrierende Medikamententransporter (*OATP*) die Pharmakokinetik von Digoxin beeinflusst haben. Neuere Studien deuten zudem darauf hin, dass *MDR1* - Haplotypen einen stärkeren Einfluss auf die Pharmakokinetik von P-gp-Substraten haben als einzelne *MDR1*-Genpolymorphismen. Da die interindividuelle Variabilität größer ist, als sie

derzeit vom Genotyp abgeleitet werden kann, sollten in zukünftigen Studien auch *MDR1*-Haplotypen und beeinflussende Faktoren, wie z.B. die Zusammensetzung der Nahrung oder Umweltfaktoren berücksichtigt werden.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Higgins F, Callaghan R, Linton KJ, *et al.* Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein. *Cancer Biology* 1997;8:135-142.
 - 2 Nebert DW. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical genetics? *Clin Genet.* 1999;56:247-258.
 - 3 Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE, *et al.* Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science* 1956;124:484-85.
 - 4 West IC. Glucose-6-phosphate dehydrogenase: a candidate gene for diabetes. *diabetic Medicin* 2002;19 :172.
 - 5 Ebbesen J, Buajordet I, Erikssen J, *et al.* Drug-related deaths in a department of internal medicine. *Arch Intern Med.* 2001;161 :2317-23.
 - 6 Juliano RL, Ling V. A surface Glycoprotein Modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et Biophysica Acta* 1976;455:152-62.
 - 7 Ling V, Kartner N, Sudo T, *et al.* *Cancer Treat. Rep.* 1983;67:869-74.
 - 8 Goldstein LJ, Galski H, Fojo AT, *et al.* *J. Natl. Cancer Inst.* 1989;81:116-24.
 - 9 Goldstein LJ, Gottesman MM, Pastan I. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1992;12:243-53.
 - 10 Gottesman M, Pastan I. The origins of Human Cancer: A comprehensive review. *New York: Cold spring Harbour Lab. Press,* 1991;845-53.
 - 11 Gottesman M, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug Transporter. *Annu.Rev.Biochem.* 1993;62:385-427.
 - 12 Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, *et al.* Cellular localisation of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987;84:735-38.
-

-
- 13 Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, *et al.* Immunohistochemical Localisation in normal tissues of different epitopes in the multidrug transport protein p170: Evidence for localisation in brain capillaries and crossreactivity of one antibody with a muscle protein. *J. of Histochem. and Cytochem.*1989;37 :159-64.
 - 14 Arceci RJ. Clinical significance of P-glycoprotein in multidrug resistance malignancies. *J. of American Soc. of Hem.*1993;81:215-22.
 - 15 Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, *et al.*: Expression of P-glycoprotein in Human Placenta: Relation to Genetic Polymorphism of the Multidrug Resistance (MDR)-1 Gene,*JPET* 297,1137-43 (2001).
 - 16 Benet Z, Izumi T, Zhang Y, *et al.* Intestinal MDR transport protein and P-450 enzymes as barriers to oral drug delivery. *J. of Controlled Release* 1999;62:25-31.
 - 17 Zhang Y, Benet Z, *et al.*: The gut as a barrier to drug Absorbtion. *Clin. Pharmakokinetik* 2001;40(3):159-68.
 - 18 Schinkel AH, Wagenaar E, Mol C, *et al.* P-Glycoprotein in the Blood-Brain Barrier of Mice Influences the Brain Penetration and Pharmacological Activity of Many Drugs. *J.Clin. Invest.* 1996;97:2517-24.
 - 19 Cordon-Cardo, O'Brien JP, Casals D, *et al.* Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is espressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989;86:695-98.
 - 20 Fromm F. P-glycoprotein: a defense mechanism limiting oral bioavailability and CNS accumulation of drugs,*JCPT* 2000;38 :69-74.
 - 21 Deuchars KL, Ling V. P-Glycoprotein and Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapie. *Seminars in Oncology* 1989;16 :156-65.
 - 22 Chen GK, Lacayo NJ, Durán GE, *et al.* Preferential Expression of a Mutant Allele of the Amplified MDR1 (ABCB1) Gene in Drug-Resistant Variants of a Human Sarcoma. *Genes , Chromosomes & Cancer* 2002;43:372-83.
-

-
- 23 Higgins F, Gottesman M. Is the multidrug transporter a flippase? *Trends Biochem. Sci.* 1992 :18-21, Review.
- 24 Higgins CF, Callaghan R, Linton KJ, *et al.* Structure of the multidrug resistance P-glycoprotein. *Seminars in Cancer Biology* 1997;8:135-42.
- 25 Chen C, Clark D, Ueda K, *et al.* Genomic Organisation of the Human MultidrugResistance (MDR1) Gene and Origin of P-glycoproteins. *J. of Biological Chemistry* 1990;265 :506-14.
- 26 Gerlach JH, Endicott JA, Juranka PF, *et al.* Homology between P-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. *Natur* 1986;324:485-89.
- 27 Gottesman M. How Cancer Cells Evade Chemotherapy: Sixteenth Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Research* 1993;53:747-54.
- 28 Schinkel AH. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Seminar in Cancer Biology*, Vol. 8, 161-170 (1997).
29. Schinkel AH: Pharmacological insight from P-glycoprotein knockout mice, *Internat. J. of Clin. Pharm. and Therap.* 1998;36 :9-13.
- 30 Johnstone RW, Ruefli AA, Smyth MJ. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem Sci.* 2000; 1-6, Review.
- 31 Arceci RJ, Croop JM, Horwitz SB, *et al.* The gene encoding multidrug resistance is induced and expressed at high levels during pregnancy in the secretory epithelium of the uterus. *Proc. Natl.Acad. Sci. USA* 1988;85:4350-54.
- 32 Wachter VJ, Wu CY, Benet LZ. Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity in cancer chemotherapy. *Mol. Carcinog.* 1995;13:129-64.
- 33 Kim RB. Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors and inducers, *Drug Metabol. Rev.* 2002;34:47-54.
-

-
- 34 Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF, *et al.* Genetic polymorphisms of the human *mdr1* drug transporter. *Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.* 2003;43:285-307.
- 35 Lepper ER, Nooter K, Verweij J, *et al.* Mechanisms of resistance to anticancer drugs: the role of the polymorphic ABC transporters ABCB1 and ABCG2. *Pharmacogenomics* 2005;6(2):115-38.
- 36 Mickley LA, Lee JS, Weng Z. *et al.* Genetic polymorphism in MDR-1 : A tool for examining allelic expression in normal cells, unselected and drug-selected cell lines, and human tumors. *Blood* 1998;91(5):1749-56.
- 37 Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, *et al.* Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000;97:3473–78.
- 38 Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, *et al.* Frequency of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in Caucasians. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001;69:169–74.
- 39 Ito S, Ieiri I, Tanabe M, *et al.* Polymorphism of the ABC transporter genes, MDR1, MRP1 and MRP2/cMoat, in healthy Japanese subjects. *Pharmacogenetics* 2001;11: 175-84.
- 40 Kim RB, Leake BF, Choo EF, *et al.* Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001;70:189–99.
- 41 Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, *et al.* Application of DHPLC to detect known and novel mutations in the *MDR1* gene in different ethnicities. *Pharmacol. Toxicol.* 2001;89 :105.
- 42 Kroetz DL, Pauli-Magnus C, Hodkes LM, *et al.* Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene. *Pharmacogenetics* 2003;13:481-494.
-

-
- 43 Sakaeda T, Nakamura T, Hourinouchi M, *et al.* MDR1 genotyp-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm. Res.* 2001;18:1400-04.
- 44 Greiner U, Eichelbaum M, Fritz P, *et al.* The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *J Clin Invest* 1999;147-153.
- 45 Kurata Y, Ieiri I, Kimura M, *et al.* Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:209–219.
- 46 Hourinouchi M, Sakaeda T, Nakamura E, *et al.* Significant genetic linkage of MDR1 polymorphisms at position 3435 and 2677: functional relevance to pharmacokinetics of digoxin. *Pharm. Res.* 2002;19:1581-85.
- 47 Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, *et al.* The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics.* 2001;11(4) : 293-8.
- 48 Johne A, Köpke K, Gerloff T, *et al.* Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:584-94.
- 49 Verstuyft C, Schwab M, Scheaffeler E, *et al.* Digoxin pharmacokinetics and MDR1 genetic polymorphisms. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2003;58, 809-12.
- 50 Morita Y, Sakaeda T, Hourinouchi M, *et al.* MDR1 genotyp-related duodenal absorption rate of digoxin in healthy Japanese subjects. *Pharm. Res.* 2003;20:552-56.
- 51 Bequemont L, Verstuyft C, Kerb R, *et al.* Effect of grapefruit juice on digoxin pharmacokinetics in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001;70:311-16.
- 52 Parker RB, Yates CR, Sobermann JE, *et al.* Effects of grapefruit juice on intestinal P-glycoprotein: evaluation using digoxin in humans. *Pharmacotherapy* 2003;23:979-87.
-

-
- 53 Drescher S, Schaeffler E, Hitzl M, *et al.* MDR1 gene polymorphism and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine. *BR J Clin Pharmacol* 2002;53:526-34.
- 54 Shon J, Chun H, Kim K, *et al.* The PK and PD of fexofenadine in relation to MDR1 genetic polymorphism in Korean healthy subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2002;71:71.
- 55 Tirona RG, Leake BF, Merino G, *et al.* Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J Biol Chem.* 2001; 276 : 35669-75.
- 56 Chiou WL, Chung SM, Wu TC, *et al.* ; A comprehensive account on the role of efflux transporters in the gastrointestinal absorption of 13 commonly used substrate drugs in humans.; *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2001; 39 : 93-101.
- 57 Mai I, Stormer E, Goldammer M, *et al.* MDR1 haplotypes do not affect the steady state pharmacokinetics of cyclosporin in renal transplant patients. *J. Clin Pharmacol.* 43 2003: 1101-1107
- 58 Illmer T, Schuler US, Thiede C, *et al.* MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Res* 2002;62:4955-62.
- 59 Noe B, Hagenbuch B, Stieger B, *et al.* Isolation of multispecific organic anion and cardiac glycoside transporter from rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997;94:346-50.
- 60 Cattori V, van Montfoort, Stieger B, *et al.* Localisation of organic anion transporting polypeptide 4 (Oatp4) in rat liver and comparison of its substrate specificity with Oatp1, Oatp2 and Oatp3. *Eur. J. Physiol.* 2001;443:188-195.
- 61 Walters HC, Craddock AL, Fusegawa H, *et al.* Expression, transport properties, and chromosomal location of organic anion transporter subtype 3. *AJP Gastroint. and Phys.* 2000;279:188-200.
-

-
- 62 Felix RA, Barrand MA. P-glycoprotein expression in rat brain endothelial cells: evidence or regulation by transient oxidative stress. *J Neurochem.* 2002 ; 80: 64-72
- 63 Uchiumi T, Kohno K, Tanimura, *et al.* Enhanced expression of the human multidrug resistance1 gene in response to UV light radiation. *Cell Growth Differ* 1993;4:147-57.
- 64 Altmannsberger S, Paneitz A, Franke G, *et al.* Chronic thyroxine induces intestinal P-glycoprotein and elimination of Talinolol in healthy volunteers. *Europ J Clin Pharm* 2000;56:A16, Abstract 53.
- 65 Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, *et al.* Biochemical, cellular and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1999;39:361-98.
- 66 Soldner A, Christians U, Susanto M, *et al.* Grapefruit juice activates P-glycoprotein-mediated drug transport. *Pharm Res* 1999;16:478–485.
- 67 Wang EJ, Casciano EN, Clement RP, *et al.* Inhibition of P-glycoprotein transport function by grapefruit juice psoralen. *Pharm Res* 2001;18:432–438.
- 68 Yu DK. The contribution of P-glycoprotein to pharmacokinetic drug–drug interactions. *J Clin Pharma* 1999;39 :1203-11, Review.
- 69 Palumbo G, Bacchi S, Palumbo P, *et al.* [Grapefruit juice: potential drug interaction]. *Clin Ter.* 2005 ; 156: 97-103.
- 70 Di Marco MP, Edwards DJ, Wainer IW, *et al.* The effect of grapefruit juice and seville orange juice on the pharmacokinetics of dextromethorphan: the role of gut CYP3A and P-glycoprotein. *Life Sci.* 2002; 71 : 1149-60.
-

7. Anhang

Tabelle 7.1: Zusammenfassung der bekannten Genvarianten auf dem *MDR1*-Gen

cDNA- Position	Region	Wildtyp	Allelvariante	Aminosäure	Effekt
-274	Intron -1	G	A		
-223	Intron -1	C	T		
-146	Intron -1	T	C		
-60	Intron -1	A	T		
-41	Intron -1	A	G		nicht kodierend
-241	Exon 1	G	A		nicht kodierend
-145	Exon 1	C	G		nicht kodierend
-129	Exon 1	T	C		nicht kodierend
-43	Exon 1	A	G		nicht kodierend
+140	Intron 1	C	A		
+237	Intron 1	G	A		
-4	Exon 2	C	T		nicht kodierend
-1	Exon 2	G	A		nicht kodierend
61	Exon 2	A	G	21	Asn zu Asp
-8	Intron 3	C	G		
266	Exon 4	T	C	89	Met zu Thr
307	Exon 5	T	C	103	Phe zu Leu
-25	Intron 4	G	T		
+139	Intron 6	C	T		
+145	Intron 6	C	T		
548	Exon 7	A	G	183	Asn zu Ser
729	Exon 8	A	G	243	synonym
781	Exon 8	A	G	261	Ile zu Val
-44	Intron 9	A	G		
-41	Intron 10	T	G		
1199	Exon 11	G	A	400	Ser zu Asn
-4	Intron 11	G	A		

1236	Exon 12	C	T	412	synonym
1308	Exon 12	A	G	436	synonym
+17	Intron 12	G	A		
+44	Intron 12	C	T		
1474	Exon 13	C	T	492	Arg zu Cys
+24	Intron 13	C	T		
1617	Exon 14	C	T	539	synonym
+38	Intron 14	A	G		
+38	Intron 15	G	A		
1985	Exon 16	T	G	662	Leu zu Arg
2005	Exon 16	C	T	669	Arg zu Cys
-27	Intron 17	A	G		
+8	Intron 20	C	G		
+24	Intron 20	G	A		
+40	Intron 20	C	T		
2547	Exon 21	A	G	849	Ile zu Met
2650	Exon 21	C	T	884	synonym
2677	Exon 21	G	T	893	Ala zu Ser
2677	Exon 21	G	A	893	Ala zu Thr
+31	Intron 22	G	A		
2956	Exon 24	A	G	986	Met zu Val
2995	Exon 24	G	A	999	Ala zu Thr
3151	Exon 25	C	G	151	Pro zu Ala
3320	Exon 26	A	C	1107	Gln zu Pro
3322	Exon 26	T	C	1108	Trp zu Arg
3396	Exon 26	C	T	1132	synonym
3421	Exon 26	T	A	1141	Ser zu Thr
3435	Exon 26	C	T	1145	synonym
3751	Exon 28	G	A	1251	Val zu Ile
3767	Exon 28	C	A	1256	Thr zu Lys
4030	Exon 28	G	C		nicht kodierend
4036	Exon 28	A	G		nicht kodierend
+21	Intron 28	T	C		

Erklärung an Eides Statt

Hiermit erkläre ich, Antje Meseg, geb. am 14.04.1977 in Berlin, dass ich die vorliegende Dissertation:

„Einfluss von Polymorphismen im Multidrug-resistance-Gen Typ1 (*ABCB1*) auf die Single-dose-Kinetik von Digoxin“

selbst und ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst habe. Die Arbeit stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Schriften dar. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin, den 14.02.2008

Antje Meseg

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. Ivar Roots bedanken, der mir die Möglichkeit bot, meine Arbeit im Institut für Klinische Pharmakologie der Charité in Berlin durchzuführen.

Meinen Freunden und Bekannten möchte ich ebenfalls meinen Dank aussprechen, da auch sie durch ihre moralische Unterstützung in den letzten Jahren wesentlich zum Gelingen meiner Dissertation beigetragen haben.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meinen Eltern Erhard und Sabine Meseg, die mir das Medizinstudium und somit diese Arbeit durch ihre Unterstützung erst ermöglicht haben.
