

Aus der Abteilung Klinische Pharmakologie
(Prof. Dr. med. J. Brockmöller)
im Zentrum Pharmakologie und Toxikologie
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**PHARMAKOKINETIK VON DOXORUBICIN:
POPULATIONSVARIABILITÄT UND EINFLUSS GENETISCHER
POLYMORPHISMEN IN MEMBRAN-TRANSPORTPROTEINEN**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Katrin Wasser

aus

Bad Pyrmont

Göttingen 2007

Dekan:

Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter:

Prof. Dr. med. J. Brockmüller

II. Berichterstatter/in:

III. Berichterstatter/in:

Tag der mündlichen Prüfung:

1	Einleitung.....	1
1.1	Krebstherapie und Pharmakogenetik	1
1.2	Zytostatika.....	1
1.2.1	Alkylanzien	2
1.2.2	Zytostatisch wirkende Antibiotika	2
1.2.3	Mitosehemmer.....	3
1.2.4	Antimetabolite.....	3
1.2.5	Andere Zytostatika	3
1.2.6	Moderne biologisch wirkende Krebstherapeutika.....	3
1.3	Doxorubicin.....	4
1.4	Tumorthherapie mit Doxorubicin.....	5
1.4.1	Doxorubicin in der Therapie von Non-Hodgkin-Lymphomen	5
1.4.2	Doxorubicin in der Therapie des Morbus Hodgkin (Hodgkin-Lymphom).....	6
1.4.3	Doxorubicin in der Therapie des Mamma-Karzinoms.....	6
1.5	Nebenwirkungen von Doxorubicin	7
1.5.1	Myelosuppression.....	7
1.5.2	Kardiotoxizität.....	7
1.5.3	Weitere unerwünschte Wirkungen	8
1.6	Pharmakokinetik.....	8
1.6.1	Pharmakokinetik in der Zytostatika-Therapie.....	8
1.6.1.1	Bioverfügbarkeit (<i>Bioavailability</i> , F).....	9
1.6.1.2	Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (<i>Area under the curve</i> , AUC)	9
1.6.1.3	Clearance (CL)	9
1.6.1.4	Initiale und terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$ und $t_{1/2}(\beta)$)	9
1.6.1.5	Verteilungsvolumen (<i>Volume of distribution</i> , V).....	10
1.6.2	Anwendung von pharmakokinetischen Messungen in der Arzneimitteltherapie....	10
1.6.3	Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin	11
1.6.3.1	AUC von Doxorubicin	11
1.6.3.2	Clearance von Doxorubicin.....	11
1.6.3.3	Initiale und terminale Halbwertszeit von Doxorubicin	12
1.6.3.4	Verteilungsvolumen von Doxorubicin.....	12
1.7	Transmembranärer Transport und Metabolismus von Doxorubicin.....	13
1.7.1	Bedeutung von transmembranärem Transport in der Arzneimitteltherapie.....	13
1.7.2	Transport von Doxorubicin	14
1.7.2.1	Die ABC-Transporter-Superfamilie.....	14
1.7.2.2	MDR1 (ABCB1, P-Glykoprotein)	15
1.7.2.3	Die MRP-Familie	16
1.7.2.4	MRP1 (ABCC1).....	16
1.7.2.5	MRP2 (ABCC2).....	16
1.7.2.6	MRP3 (ABCC3).....	17

1.7.2.7	BCRP (ABCG2).....	17
1.7.3	Metabolismus von Fremdstoffen.....	18
1.7.4	Metabolismus von Doxorubicin.....	18
1.8	Pharmakogenetik.....	19
1.8.1	Bedeutung von Pharmakogenetik in der Arzneimitteltherapie.....	19
1.8.2	Polymorphismen im Arzneimitteltransport.....	20
1.8.2.1	Polymorphismen im MDR1-Gen.....	20
1.8.2.2	Polymorphismen im MRP1-Gen.....	21
1.8.2.3	Polymorphismen im MRP2-Gen.....	21
1.8.2.4	Polymorphismen im MRP3-Gen.....	22
1.8.2.5	Polymorphismen im BCRP-Gen.....	22
1.9	Zielsetzung.....	23
2	Material.....	24
2.1	Chemikalien.....	24
2.2	Leiter und Standards.....	24
2.3	Kits und Assays.....	25
2.4	Gebrauchswaren.....	25
2.5	Geräte.....	26
2.6	Software.....	27
2.7	Herstellung der verwendeten Medien und Stammlösungen.....	27
3	Methoden.....	28
3.1	Patienten und klinische Studiendurchführung.....	28
3.1.1	Studiendesign.....	28
3.1.2	Fragestellung und Hauptzielgröße.....	28
3.1.3	Nebenzielgrößen.....	28
3.1.4	Ein- und Ausschlusskriterien.....	29
3.1.5	Blutentnahmen für Pharmakokinetik-Messungen.....	29
3.1.6	Weitere als Nebenzielgrößen erfasste Laborparameter und klinische Daten.....	30
3.2	Konzentrationsanalysen von Doxorubicin und Doxorubicinol.....	30
3.2.1	Prinzipien der HPLC.....	30
3.2.2	Durchführung der HPLC.....	31
3.2.2.1	Herstellung der Stammlösungen.....	31
3.2.2.2	Aufarbeitung der Plasmaproben.....	32
3.2.2.3	HPLC-Analyse der Plasmaproben.....	33
3.3	DNS-Extraktion aus Leukozyten.....	33
3.4	Photometrische Bestimmung der DNS-Konzentration.....	34
3.5	Methodik zur Bestimmung der Transporterpolymorphismen.....	34

3.5.1	PCR und Restriktionsfragmentlängen-Analyse zur Genotypisierung von BCRP Gln141Lys.....	34
3.5.1.1	Polymerasekettenreaktion zur DNS-Amplifizierung	35
3.5.1.1.1	Prinzipien der Polymerasekettenreaktion.....	35
3.5.1.1.2	Durchführung der Polymerasekettenreaktion.....	35
3.5.1.2	Analyse von DNS-Fragmenten durch Auftrennung mittels Agarose-Gelelektrophorese	36
3.5.1.2.1	Prinzipien der Agarose-Gelelektrophorese	36
3.5.1.2.2	Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese	37
3.5.1.3	Restriktionsfragmentlängen-Analyse	37
3.5.1.3.1	Prinzipien der Restriktionsfragmentlängen-Analyse	37
3.5.1.3.2	Durchführung der Restriktionsfragmentlängen-Analyse	37
3.5.2	Allel-diskriminierende <i>Real-Time</i> -TaqMan®-PCR zur Genotypisierung der Polymorphismen MDR1 Ile1144Ile, MRP2 -24 C>T, MRP2 Val1188Glu, MRP2 Ile1324Ile, MRP2 Cys1515Tyr, MRP3 Arg1297His und MRP3 His1314His	38
3.5.2.1	Prinzipien der Allel-diskriminierenden <i>Real-Time</i> -TaqMan®-PCR	38
3.5.2.2	Durchführung der Allel-diskriminierenden <i>Real-Time</i> -TaqMan®-PCR	39
3.5.3	Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung nach Sanger zur Genotypisierung von MDR1 Ala893Ser/Thr und MRP1 Gln671Val.....	42
3.5.3.1	Prinzipien der Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung.....	42
3.5.3.2	Durchführung der Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung	43
3.6	Pharmakokinetische Auswertung	46
3.7	Biostatistische Auswertung	47
3.7.1	Deskriptive Statistik	47
3.7.1.1	Arithmetischer Mittelwert ($= \bar{x}$, MW)	47
3.7.1.2	Median ($= \tilde{x}$)	47
3.7.1.3	Varianz ($= \sigma^2$).....	47
3.7.1.4	Standardabweichung ($= \sigma_x$)	48
3.7.1.5	Konfidenzintervall des Mittelwertes	48
3.7.2	Beurteilende Statistik	48
3.7.2.1	Prüfung auf Normalverteilung	49
3.7.2.2	Gruppenvergleich	49
3.7.2.3	Korrelationsanalyse	49
3.7.2.4	Regressionsanalyse.....	49
4	Ergebnisse.....	50
4.1	Klinische Charakterisierung der untersuchten Patienten	50
4.2	Pharmakokinetik von Doxorubicin	51
4.2.1	Nicht-kompartimentelle Analyse der Pharmakokinetik von Doxorubicin.....	51
4.2.1.1	Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin	52

4.2.1.2	Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin	54
4.2.2	Kompartimentelle Analyse der Pharmakokinetik von Doxorubicin	54
4.3	Pharmakokinetik von Doxorubicinol	56
4.3.1	Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol	56
4.3.2	Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol	58
4.4	Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für ausgewählte pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin und Doxorubicinol.....	59
4.4.1	Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für die Clearance von Doxorubicin.....	60
4.4.2	Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für die AUC von Doxorubicinol.....	62
4.5	Charakterisierung der untersuchten Transportervarianten	63
4.6	Bedeutung der Transportervarianten für die Pharmakokinetik von Doxorubicin...	64
4.6.1	Die Dosis-normierte AUC_{inf} von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten	65
4.6.2	Die Clearance von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten...	65
4.6.3	Die initiale Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten	67
4.6.4	Die terminale Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten	68
4.6.5	Das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments (V_1) von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten.....	69
4.6.6	Das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V_2) von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten.....	69
4.7	Bedeutung der Transportervarianten für die Pharmakokinetik von Doxorubicinol	70
4.8	Bedeutung der Transportervarianten für ausgewählte Nebenwirkungen von Doxorubicin.....	71
4.8.1	Einfluss der Transportervarianten auf den Leukozyten-Nadir	71
4.8.2	Einfluss der Transportervarianten auf den Thrombozyten-Nadir	73
4.9	Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse.....	75
5	Diskussion	77
5.1	Überblick über die Studie.....	77
5.2	Vergleich der pharmakokinetischen Daten dieser Studie mit Literaturdaten	77
5.2.1	Pharmakokinetische Daten von Doxorubicin.....	78
5.2.1.1	Maximale Plasmakonzentration (C_{max}) von Doxorubicin	78
5.2.1.2	AUC_{last} und AUC_{inf} von Doxorubicin	79
5.2.1.3	Clearance von Doxorubicin.....	80
5.2.1.4	Halbwertszeiten $t_{1/2}(\alpha)$ und $t_{1/2}(\beta)$ von Doxorubicin	81

5.2.1.5	Verteilungsvolumina von Doxorubicin.....	83
5.3	Pharmakokinetische Daten von Doxorubicinol.....	84
5.3.1	AUC _{last} und AUC _{inf} von Doxorubicinol.....	84
5.3.2	Terminale Halbwertszeit von Doxorubicinol.....	86
5.4	Funktionelle Bedeutung der Transportervarianten.....	87
5.4.1	Bedeutung von MDR1-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol	87
5.4.2	Bedeutung von MRP1-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol	88
5.4.3	Bedeutung von MRP2-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol	88
5.4.4	Bedeutung von MRP3-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol	89
5.4.5	Bedeutung von BCRP-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol	89
5.5	Probleme bei der Durchführung der Studie und der Interpretation der erhobenen Daten und Ausblick	90
6	Zusammenfassung und Ausblick	92
7	Anhang: Tabellen 37 - 50	94
8	Literaturverzeichnis	109

Abkürzungsverzeichnis

Die den Amino- und Nukleinsäuren entsprechenden Abkürzungen finden sich auf Seite X.

ABC	ATP-binding-cassette
ABVD	Therapieschema mit Doxorubicin (Adriamycin: A), Bleomycin (B), Vinblastin (V) und Dacarbazin (D)
AC 60	Therapieschema mit Doxorubicin (Adriamycin: A), Cyclophosphamid (C)
ACO	Therapieschema mit Doxorubicin (Adriamycin: A), Cyclophosphamid (C) und Vincristin (Onkovin: O)
ACT-D	Actinomycin D
AI-G	Therapieschema mit Doxorubicin (Adriamycin: A), Ifosfamid (I) und G-CSF (G)
ALT	Alanin-Amino-Transferase
AML	Akute myeloische Leukämie
ANOVA	Analysis of variance between groups
Appl.-Dauer	Applikationsdauer
ARA-C	Cytarabin
AST	Aspartat-Amino-Transferase
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve, Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve
AZ	Anthrazykline
AZT	Azidothymidin (Reverse-Transkriptase-Hemmer)
BCRP	Breast cancer resistance protein
BEACOPP	Therapieschema mit Bleomycin (B), Etoposid (E), Doxorubicin (Adriamycin: A), Cyclophosphamid (C), Vincristin (Onkovin: O), Procarbazin (P) und Prednison (P)
bidest.	zweifach destilliert
BLO	Bleomycin
bp	Basenpaare
CA	Karzinom
CAD	Therapieschema mit Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (Adriamycin: A) und Dexamethason (D)
CAVE	Therapieschema mit Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (Adriamycin: A), Vinblastin (V) und Etoposid (E)

cDNS	copy-Desoxyribonukleinsäure
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane regulator
CHOEP	Therapieschema mit Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (Hydroxydoxorubicin: H), Vincristin (Onkovin: O), Etoposid (E) und Prednison (P)
CHOP	Therapieschema mit Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (Hydroxydoxorubicin: H), Vincristin (Onkovin: O) und Prednison (P)
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CMF	Therapieschema mit Cyclophosphamid (C), Methotrexat (M) und 5-Fluor-Uracil (F)
cMOAT	canalicular multispecific organic anion transporter
CPL	Cisplatin
CT	Chemotherapie
CYC	Cyclophosphamid
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DNS	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Deoxynukleosidtriphosphat
DOX	Doxorubicin
DTIC	Dacarbazin
E ₂ 17βG	Östradiol-17-beta-Diglucuronid
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid (Äthylendiamintetraessigsäure)
EKG	Elektrokardiogramm
EPI	Epirubicin
ETP	Etoposid
FAC	Therapieschema mit 5-Fluoruracil (F), Doxorubicin (Adriamycin: A) und Cyclophosphamid (C)
FAM	6-Carbofluoreszein
FRET	Fluoreszenz-Energie-Transfer
5-FU	5-Fluoruracil
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ-GT	γ-Glutamyltransferase
Hb	Hämoglobin
α-HBDH	α-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase
H ₂ O	Wasser

HPLC	High performance liquid chromatography
5-HT ₃	5-Hydroxytryptamin-Rezeptor ₃
IDA	Idarubicin
IFO	Ifosfamid
I ² VAd	Therapieschema mit Ifosfamid (I), Vincristin (V) und Doxorubicin (Adriamycin: Ad)
k.A.	keine Angabe
M	Molarität
M.	Morbus
MGB	Minor-groove-binder
MM	Multiplres Myelom
MRP	Multidrug resistance protein
MTX	Methotrexat
MW	Arithmetischer Mittelwert, arithmetische Mittelwerte
NADPH	reduziertes Nicotinamidadeninukleidphosphat
NBD	Nukleotid-bindende Domäne
NONMEM	Non-linear mixed effect modelling
NP	Normal Phase
o.J.	ohne Jahr
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pat.	Patient(en)
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
PE	Therapieschema mit Cisplatin und Etoposid
pH	pondus hydrogenii
PHIP	2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo[4,5-b]-Pyridin
QC	Qualitätskontrolle
R-CHOP	Therapieschema mit Rituximab (R), Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (Hydroxydoxorubicin: H), Vincristin (O) und Prednison (P)
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismen
RNS	Ribonukleotidsäure
ROX	6-Carboxy-X-Rhodamin
RP	Reversed Phase
rpm	rounds per minute
SCLC	Small cell lung cancer (kleinzelliges Bronchialkarzinom)
SD	Standard deviation (Standardabweichung(en))

SN-38	7-Ethyl-10-Hydroxy-Camptothecin, aktiver Metabolit von Irinotecan
SNP	Single nucleotide polymorphism (Einzelbasenmutation)
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
THF	Tetrahydrofuran
TMD	Transmembrandomäne
Tris	Trishydroxymethylaminomethan
UNG	Uracil-N-Glycosilase
V	Verteilungsvolumen
VCR	Vincristin
VIC	6-Carboxyrhodamin
vs.	versus

Aminosäurecode

Aminosäure	Abkürzung im 1-Buchstaben-Code	Abkürzung im 3-Buchstaben-Code
Alanin	A	Ala
Arginin	R	Arg
Asparagin	N	Asn
Asparaginsäure	D	Asp
Cystein	C	Cys
Glutamin	Q	Gln
Glutaminsäure	E	Glu
Glycin	G	Gly
Histidin	H	His
Isoleucin	I	Ile
Leucin	L	Leu
Lysin	K	Lys
Methionin	M	Met
Phenylalanin	F	Phe
Prolin	P	Pro
Serin	S	Ser
Threonin	T	Thr
Tryptophan	W	Trp
Tyrosin	Y	Tyr
Valin	V	Val

Nukleinsäurecode

A	Adenin
C	Cytosin
G	Guanin
T	Thymin
U	Uracil

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Zusammensetzung der Kalibrationsreihe.....	32
Tabelle 2:	Verwendete <i>Assays by Design</i> für die allelische Diskriminierung	40
Tabelle 3:	Verwendete <i>Assays on Demand</i> für die allelische Diskriminierung.....	40
Tabelle 4:	Charakteristika der Studienteilnehmer.....	50
Tabelle 5:	Tumorerkrankungen der Studienteilnehmer	50
Tabelle 6:	Therapieschemata der Studienteilnehmer	51
Tabelle 7:	Statistische Parameter für die Berechnung der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin.....	53
Tabelle 8:	Statistische Parameter für die Berechnung der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin.....	54
Tabelle 9:	Statistische Parameter für die Berechnung der pharmakokinetischen Daten von Doxorubicin im Zwei-Kompartiment-Modell.....	56
Tabelle 10:	Statistische Parameter der Berechnung der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol.....	58
Tabelle 11:	Statistische Parameter für die Berechnung der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol.....	58
Tabelle 12:	Vergleich der gefundenen und erwarteten Häufigkeiten der untersuchten Genpolymorphismen	64
Tabelle 13:	Bestimmung der MW und der SD der Dosis-normierten AUC_{inf} von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante.....	65
Tabelle 14:	Bestimmung der MW und der SD der totalen Clearance von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante	66
Tabelle 15:	Bestimmung der MW und der SD der initialen Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante.....	67
Tabelle 16:	Bestimmung der MW und der SD der terminalen Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante.....	68
Tabelle 17:	Bestimmung der MW und der SD des Verteilungsvolumens V_1 von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante.....	69
Tabelle 18:	Bestimmung der MW und der SD des Verteilungsvolumens V_2 von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante.....	70
Tabelle 19:	Bestimmung der MW und der SD der Dosis-normierten AUC_{inf} von Doxorubicinol in Abhängigkeit von der Transportervariante.....	71
Tabelle 20:	Statistische Parameter über den Verlauf der Leukozyten-Zahlen.....	72
Tabelle 21:	Toxizitätsbeurteilung der Chemotherapie bezüglich der Leukozyten	72
Tabelle 22:	Bestimmung der MW und der SD des Leukozyten-Nadirs in Abhängigkeit von der Transportervariante	73
Tabelle 23:	Statistische Parameter über den Verlauf der Thrombozyten-Zahlen.....	74
Tabelle 24:	Toxizitätsbeurteilung der Chemotherapie bezüglich der Thrombozyten.....	74
Tabelle 25:	Bestimmung der MW und der SD des Thrombozyten-Nadirs in Abhängigkeit von der Transportervariante	75
Tabelle 26:	Zusammenfassung der Ergebnisse der pharmakokinetischen Parameter, Teil 1	75

Tabelle 27:	Zusammenfassung der Ergebnisse der pharmakokinetischen Parameter, Teil 2	76
Tabelle 28:	Zusammenfassung der Ergebnisse der Parameter ausgewählter Nebenwirkungen	76
Tabelle 29:	Vergleich der Daten für die Maximalkonzentration von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	79
Tabelle 30:	Vergleich der Daten für die AUC von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	80
Tabelle 31:	Vergleich der Daten für die Clearance von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	81
Tabelle 32:	Vergleich der initialen Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$) von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	82
Tabelle 33:	Vergleich der Halbwertszeiten der letzten Eliminationsphase ($t_{1/2}(z)$) von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie.....	83
Tabelle 34:	Vergleich der Daten für das Verteilungsvolumen von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	84
Tabelle 35:	Vergleich der Daten für die AUC von Doxorubicinol aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	86
Tabelle 36:	Vergleich der Daten für die $t_{1/2}(z)$ von Doxorubicinol aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie	87
Tabelle 37:	Todesursachenstatistik Deutschland 2005	94
Tabelle 38:	Anwendungsgebiete von Doxorubicin.....	94
Tabelle 39:	Zusammenfassung der Behandlungsergebnisse beim metastasierten Mamma-Karzinom	95
Tabelle 40:	Daten für die AUC von Doxorubicin aus der Literatur	95
Tabelle 41:	Daten für die Clearance von Doxorubicin aus der Literatur.....	96
Tabelle 42:	Daten für die initiale Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$) von Doxorubicin aus der Literatur	96
Tabelle 43:	Daten für die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}(z)$) von Doxorubicin aus der Literatur	97
Tabelle 44:	Daten für die Verteilungsvolumina von Doxorubicin aus der Literatur	97
Tabelle 45:	Übersicht über ausgewählte Substrate der in der Studie untersuchten Transporter	98
Tabelle 46:	Charakteristika der Patienten	99
Tabelle 47:	Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin nach nicht-kompartimentellen Analyse.....	101
Tabelle 48:	Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin nach kompartimenteller Analyse	103
Tabelle 49:	Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicinol nach nicht-kompartimenteller Analyse.....	105
Tabelle 51:	Transporterpolymorphismen der Patienten.....	107

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Zellzyklus	2
Abbildung 2:	Strukturformel von Doxorubicin	4
Abbildung 3:	Membrantopologie der ABC-Transporter	15
Abbildung 4:	Struktur von Doxorubicin und seinen Metaboliten	19
Abbildung 5:	Genotypisierung von BCRP Gln141Lys mittels Restriktionsfragmentlängen-Analyse.	38
Abbildung 6:	Genotypisierung von MDR1 Ile1144Ile mittels Allel-diskriminierender TaqMan®-PCR.....	42
Abbildung 7:	Genotypisierung von MRP1 Gln671Val mittels Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung.	45
Abbildung 8:	Konzentrations-Zeit-Kurven der MW und SD von Doxorubicin zu sechs Blutentnahmezeitpunkten	52
Abbildung 9:	Korrelation zwischen der auf die Infusionszeit normierten Dosis und C_{max} ...	54
Abbildung 10:	Korrelation zwischen Dosisgruppen und AUC_{inf}	54
Abbildung 11:	Konzentrations-Zeit-Kurven der MW und SD von Doxorubicinol zu sechs Blutentnahmezeitpunkten	57
Abbildung 12:	Vergleich der Konzentrations-Zeit-Kurven von Doxorubicin und Doxorubicinol am Beispiel des Patienten 00073	59
Abbildung 13:	Korrelation zwischen Geschlecht und Dosis-normierter Clearance	60
Abbildung 14:	Korrelation zwischen Alter und Dosis-normierter Clearance	60
Abbildung 15:	Korrelation zwischen γ -GT und Dosis-normierter Clearance.....	60
Abbildung 16:	Korrelation zwischen GPT und Dosis-normierter Clearance.....	60
Abbildung 17:	Korrelation zwischen Geschlecht und Dosis-normierter AUC_{inf}	61
Abbildung 18:	Korrelation zwischen Alter und Dosis-normierter AUC_{inf}	61
Abbildung 19:	Korrelation zwischen γ -GT und Dosis-normierter AUC_{inf}	61
Abbildung 20:	Korrelation zwischen GPT und Dosis-normierter AUC_{inf}	61
Abbildung 21:	Korrelation zwischen Geschlecht und Dosis-normierter AUC_{inf}	62
Abbildung 22:	Korrelation zwischen Alter und Dosis-normierter AUC_{inf}	62
Abbildung 23:	Korrelation zwischen γ -GT und Dosis-normierter AUC_{inf}	63
Abbildung 24:	Korrelation zwischen GPT und Dosis-normierter AUC_{inf}	63
Abbildung 25:	Korrelation zwischen Clearance und der Transportervariante MRP2 -24 C>T	67
Abbildung 26:	Korrelation zwischen Clearance und der Transportervariante MRP3 His1314His	67
Abbildung 27:	Korrelation zwischen terminaler Halbwertszeit und der Transportervariante MRP2 -24C>T	68
Abbildung 28:	Korrelation zwischen terminaler Halbwertszeit und der Transportervariante MDR1 Ile1144Ile.....	68
Abbildung 29:	Korrelation zwischen AUC_{inf} und der Transportervariante MRP3 Arg1297His.....	71
Abbildung 30:	Korrelation zwischen AUC_{inf} und der Transportervariante MRP3 His1314His	71

1 Einleitung

1.1 Krebstherapie und Pharmakogenetik

Bösartige Krebserkrankungen sind nach den Krankheiten des Herz-Kreislauf-Systems die zweithäufigste Todesursache in Deutschland (Todesursachenstatistik 2005, Tabelle 37 im Anhang). Lange Zeit konnten Tumoren nur durch chirurgische Therapie oder Bestrahlung behandelt werden. Erst mit der Einführung der systemisch wirkenden Chemotherapie konnten auch nicht-lokalisierte Tumoren wie Leukämien, aber auch Fernmetastasen, erreicht werden (Forth et al. 1996). Dabei unterscheidet man zwischen einer Chemotherapie mit Zytostatika, einer Hormon- bzw. Antihormontherapie und einer Immuntherapie. Bisher werden in der onkologischen Therapie meist empirisch festgelegte Therapieschemata eingesetzt. Dabei kommt es jedoch zu unterschiedlichen Reaktionen auf die Gabe einer Standarddosis. Diese unterschiedlichen Reaktionen unterschiedlicher Menschen auf Arzneimittel sind durch sehr viele Faktoren bestimmt, angefangen von biologischen Größen wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe und weiteren Begleiterkrankungen bis hin zu Fragen der Compliance und der subjektiven Wahrnehmung von Arzneimittelwirkungen und -nebenwirkungen. Hinzu kommt aber auch, dass jeder Patient einen Arzneistoff anders resorbiert, im Körper verteilt, verstoffwechselt und eliminiert (Pharmakokinetik) und dass die Zielstrukturen der Arzneistoffe, z.B. Rezeptoren oder Transporter, der Patienten verschieden empfindlich auf einen Arzneistoff reagieren (Pharmakodynamik). Die oben genannten Vorgänge der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik werden maßgeblich durch die Pharmakogenetik bestimmt, da verstoffwechselnde Enzyme und Rezeptoren von Genen verschlüsselt werden. Es ist also wahrscheinlich, dass ein Standarddosierungsschema ohne Berücksichtigung der interindividuellen Variabilität von Pharmakokinetik und Pharmakodynamik zu sehr unterschiedlichen Therapieausgängen führen kann: Vom Therapieerfolg bis Therapieversagen oder auch von sehr guter Verträglichkeit bis zu schwersten Nebenwirkungen. All dies spielt eine besonders große Rolle bei denjenigen Medikamenten, die, wie das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Zytostatikum Doxorubicin, eine geringe therapeutische Breite haben.

1.2 Zytostatika

Die in der Tumorthherapie verwendeten Medikamente sollen einen möglichst großen Anteil an Tumorzellen erreichen. Dazu wird häufig eine Kombination von Arzneimitteln eingesetzt (Polychemotherapie), die in unterschiedlichen Phasen des Zellzyklus angreifen. Man unterscheidet dabei Phasen-spezifische Stoffe, die in einer bestimmten Phase des Zellzyklus angreifen,

von Zyklus-spezifischen Medikamenten, deren Wirkung unabhängig von der Phase, jedoch abhängig von der Proliferation der Zelle ist (Forth et al. 1996).

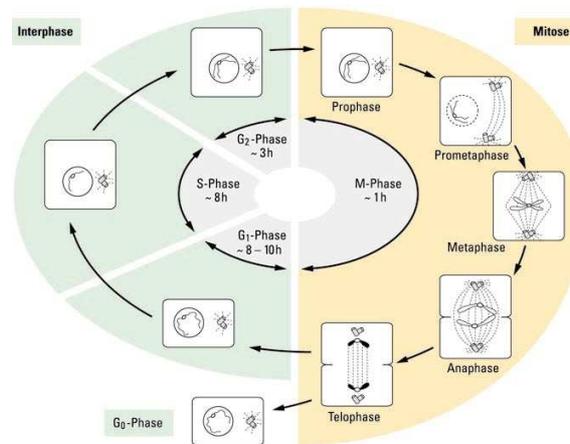


Abbildung 1: Zellzyklus (entnommen aus Dressler et Zink 2001, Seite 600): Einige Zytostatika greifen selektiv in bestimmten Phasen des Zellzyklus ein, so z.B. die Mitosehemmer wie Vincristin in der Mitosephase oder die Antimetaboliten präferentiell in der Interphase.

Die in der Krebstherapie verwendeten Arzneimittel werden nach der Herkunft und Wirkweise der Substanzen eingeteilt. Dabei können fünf Gruppen von Zytostatika unterschieden werden.

1.2.1 Alkylanzien

Alkylanzien sind Pharmaka, die Phasen-unspezifisch Alkylreste auf funktionelle Gruppen wie -COOH, -NH₂ oder -SH übertragen. Da sowohl Proteine als auch DNS und RNS solche Gruppen tragen, sind die Schäden vielfältig. Es kommt zu Mutationen, Proteinfunktionsstörungen oder bei bi- oder höherfunktionalen Alkylanzien zu Quervernetzungen zwischen DNS und Proteinen. Beispiele für Alkylanzien sind Cyclophosphamid oder Cisplatin.

1.2.2 Zytostatisch wirkende Antibiotika

Die zytostatisch wirkenden Antibiotika lassen sich in die Gruppe der Anthrazykline und die der sonstigen Antibiotika wie Bleomycin, Mitomycin und Actinomycin D unterteilen. Die Anthrazyklin-Antibiotika umfassen Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin und Mitoxantron. Diese haben vielfältige Wirkmechanismen: So interkalieren sie mit der DNS, hemmen die Topoisomerasen I und II und bilden freie Radikale. Bleomycin induziert durch Radikalbildung eine DNS-Fragmentierung. Mitomycin verursacht ebenfalls nach Radikalbildung eine Vernetzung der DNS-Stränge und Actinomycin D wirkt über eine Hemmung der Topoisomerase II, Folge sind Doppelstrangbrüche.

1.2.3 Mitosehemmer

Unter den Phasen-spezifischen Mitosehemmern werden hauptsächlich vier Untergruppen verstanden. Dabei handelt es sich erstens um Vincaalkaloide, Metaphasengifte aus dem Immergrün (*Vinca rosea*), wie Vincristin oder Vinblastin, die durch Unterbrechung der Tubulinpolymerisation und eine Zerstörung des bereits polymerisierten Tubulins die Mitose in der Metaphase hemmen. Außerdem gibt es zweitens Topoisomerase-I-Inhibitoren wie Topotecan, die zu Einzelstrangbrüchen in der DNS führen, und drittens Topoisomerase-II-Inhibitoren aus *Podophyllum peltatum*, z.B. Etoposid, die DNS-Doppelstrangbrüche hervorrufen. Auch die unter 1.2.2 bereits genannten Anthrazykline wirken unter anderem als Hemmstoffe der Topoisomerase II, haben aber auch vielfältige andere Wirkungen, so dass sie hier unter den Antibiotika eingeordnet wurden. Als letzte Untergruppe sind viertens die Taxane aus Eiben zu nennen. Sie induzieren eine Stabilisierung der Mikrotubuli. Der Abbau des Zytoskeletts wird verhindert, der Mitosevorgang unterbrochen. Ein Vertreter dieser Taxane ist Paclitaxel.

1.2.4 Antimetabolite

Antimetabolite sind Abwandlungen körpereigener Verbindungen und können aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit Stoffwechselprodukten die Enzyme der Nukleinsäuresynthese hemmen oder auch in RNS oder DNS eingebaut werden und damit zum Zelltod führen. Sie wirken vorwiegend Phasen-spezifisch in der S- und G₁-Phase. Folsäure-Antagonisten wie Methotrexat hemmen kompetitiv die Enzymaktivität der Dihydrofolat-Reduktase. Purin-Antagonisten wie Azathioprin oder 6-Mercaptopurin hemmen die Purin-de-novo-Synthese und Pyrimidin-Antagonisten wie 5-Fluoruracil stören primär die DNS-Synthese, nachfolgend auch die RNS-Synthese. Außerdem inhibieren sie Enzyme der Nukleotidbiosynthese.

1.2.5 Andere Zytostatika

In diese Gruppe werden z.B. Asparaginase, Hydroxyharnstoff oder auch Dacarbazin und Procarbazin eingeordnet. Asparaginase wirkt über eine Hemmung der Proteinbiosynthese durch enzymatische Hydrolyse der für einige Tumorarten essenziellen Aminosäure L-Asparagin. Hydroxyharnstoff hemmt die Ribonukleotidsynthese. Dacarbazin und Procarbazin führen nach metabolischer Aktivierung zur Methylierung der DNS und zur Hemmung der DNS-, RNS- und Proteinsynthese.

1.2.6 Moderne biologisch wirkende Krebstherapeutika

Neben den oben aufgeführten klassischen Zytostatika und den in 1.1 erwähnten Hormonen und Antihormonen spielen in der Krebstherapie zunehmend gezielt an einzelnen Molekülen der

Krebszelle angreifende Medikamente eine Rolle. Die prominentesten sind monoklonale Antikörper und Tyrosinkinase-Hemmstoffe.

Monoklonale Antikörper sind synthetisch hergestellte Antikörper, die an Oberflächenstrukturen von Krebszellen binden. Daraufhin werden die Antikörper-abhängige Zell-vermittelte und die Komplement-abhängige Zytotoxizität aktiviert, die den Tod der Tumorzelle herbeiführen sollen (Borchmann et al. 2001). Ein Beispiel für einen in der onkologischen Therapie eingesetzten monoklonalen Antikörper ist Rituximab (siehe auch 1.4.1).

Die Tyrosinkinase ist ein intrazelluläres Enzym, das die Proliferation und Vermehrung von Zellen bewirkt. Bei Krebserkrankungen kann dieses Enzym andauernd aktiv sein und zur unkontrollierten Vermehrung von Tumorzellen führen. Tyrosinkinase-Hemmstoffe können reversibel oder irreversibel die Phosphorylierung und damit die Funktion des Enzyms hemmen (Raymond et al. 2000). Ein bekanntes Beispiel ist Imatinib.

1.3 Doxorubicin

Doxorubicin (Adriamycin) wurde im Jahr 1967 von Arcamone und seinen Mitarbeitern in Italien aus einer *Streptomyces-peucetius-var.-caesius*-Kultur isoliert (Arcamone et al. 1969). Doxorubicin gehört zur Gruppe der Anthrazyklin-Antibiotika. Charakteristisch für die Struktur der Anthrazykline ist das planare polyaromatische Ringsystem (Chromophor, Doxorubicinon), das α -glykosidisch mit einem Aminozucker verbunden ist (Mutschler 1991).

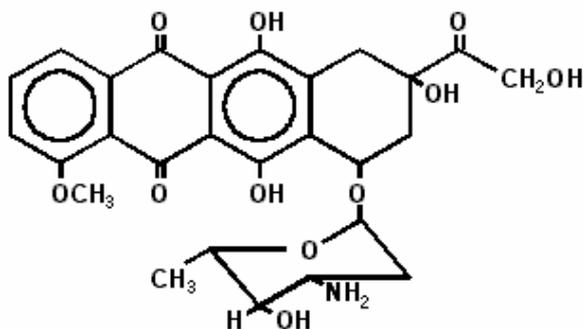


Abbildung 2: Strukturformel von Doxorubicin

Doxorubicin hat eine intensive orange-rote Farbe und ist sehr lichtempfindlich. Das Molekulargewicht von Doxorubicin beträgt 580 Dalton.

Schon Arcamone et al. (1969) fiel auf, dass Anthrazykline die DNS- und RNS-Synthese hemmen, wobei das Ringsystem zwischen den DNS-Basen interkaliert, während der Aminozucker mit den negativ geladenen Phosphatresten interagiert (Zunino et al. 1975, Aubel-Sadron et Landos-Gagliardi 1984). Ein weiterer entscheidender molekularer Wirkmechanismus der Zy-

totoxizität von Doxorubicin ist die Hemmung der Enzyme Topoisomerase II α und β . Diese Topoisomerasen bewirken in einer ATP-abhängigen Reaktionsfolge die zur Replikation und Transkription notwendige DNS-Superspiralisierung bzw. -Relaxierung (Liu et al. 1983). Diese Reaktion vollzieht sich nach Anbindung an die DNS in drei Schritten: Zuerst wird die DNS geöffnet (Restriktion), dann wird ein Abschnitt der DNS durch die entstandene Öffnung gezogen (Konformationsänderung) und zum Schluss wird der DNS-Doppelstrangbruch wieder verschlossen (Ligation) (Wang JC 1985). Zytostatika wie die Anthrazykline, aber auch Arzneimittel aus der Gruppe der Mitosehemmer wie Etoposid, stabilisieren nun den Topoisomerase-II-DNS-Schnittkomplex und verhindern so das Wiederverknüpfen der bereits geschnittenen DNS-Stränge. Folge sind DNS-Doppelstrangbrüche (Osheroff et al. 1995). Außerdem ist bekannt, dass Anthrazykline durch Interaktion mit NADPH-abhängigen Zytochrom-P450-Reduktasen reaktive Semichinonradikale entstehen lassen, aus denen in Verbindung mit Sauerstoff primär Superoxydradikale und dann auch Hydroxyl- und Wasserstoffperoxidradikale hervorgehen (Speth et al. 1988, Wojtacki et al. 2000, Xu et al. 2001). Weitere Wirkmechanismen sind die Anlagerung an Zellmembranen, die auf bisher noch ungeklärte Weise zum Zelltod führen soll (Tritton et Yee 1982), und die Schädigung der mitochondrialen Membranen.

1.4 Tumortherapie mit Doxorubicin

Doxorubicin ist ein in der Tumortherapie weit verbreitetes Zytostatikum und wird gegen eine Vielzahl von soliden und hämatologischen Tumoren verwendet. Hier sollen nun die Therapien der drei Tumoren dargestellt werden, die im Rahmen der vorliegenden Studie am häufigsten vorkamen. Eine vollständige Auflistung aller zurzeit in Deutschland zugelassenen Indikationen findet sich in Tabelle 38 im Anhang.

1.4.1 Doxorubicin in der Therapie von Non-Hodgkin-Lymphomen

Vor mehr als 20 Jahren wurde das CHOP-Regime, das aus den Substanzen Cyclophosphamid (C), Doxorubicin (Hydroxydoxorubicin: H), Vincristin (Onkovin: O) und Prednison (P) besteht, in die Therapie hochmaligner Lymphome eingeführt. Durch Erweiterung der damaligen Standardtherapie um ein Anthrazyklin wurde bei 66 % aller Patienten eine komplette Remission erreicht. Nach zwei Jahren lebten noch mehr als 45 % (McKelvey et al. 1976). Das Standard-CHOP-Schema wird alle 21 Tage durchgeführt. Durch Hinzufügen des Granulozyten-Wachstumsfaktors G-CSF kann das Therapieintervall auf 14 Tage verkürzt werden (Trümper et al. 2004). Die moderne Lymphomtherapie basiert in vielen Ländern noch immer auf dem Standardschema CHOP. Etabliert ist mittlerweile aber sowohl die Erweiterung des CHOP-Schemas durch Hinzufügen von Etoposid (CHOEP), wodurch bei Beibehaltung der Dosierung

gen der Standardtherapeutika eine Therapieintensivierung erreicht werden kann, als auch die Erweiterung mit dem Antikörper Rituximab (R-CHOP), womit in neueren Studien eine Verbesserung der Ansprechraten und der Krankheits-freien Zeit erzielt werden konnte (GLSG-Studie 2003).

1.4.2 Doxorubicin in der Therapie des Morbus Hodgkin (Hodgkin-Lymphom)

Auch in der Therapie des Morbus Hodgkin ist Doxorubicin verbreitet. Hier wird Stadien-abhängig mit unterschiedlichen Therapieregimen behandelt. Die Standardtherapie der frühen und intermediären Stadien sind derzeit zwei bzw. vier Zyklen ABVD und 30 Gy IF-Strahlentherapie (Strahlentherapie der befallenen Lymphknoten-Areale in *involved-field*-Technik). Das ABVD-Schema besteht aus Doxorubicin (Adriamycin: A), Bleomycin (B), Vinblastin (V) und Dacarbazin (D). In der Therapie der fortgeschrittenen Stadien werden initial acht Zyklen einer intensiven Polychemotherapie (BEACOPP) durchgeführt. Das BEACOPP-Schema besteht aus Bleomycin (B), Etoposid (E), Doxorubicin (Adriamycin: A), Cyclophosphamid (C), Vincristin (Onkovin: O), Procarbazin (P) und Prednison (P). In der HD9-Studie konnte durch Dosis-Steigerung von Etoposid, Doxorubicin und Cyclophosphamid sowie dem Zufügen von G-CSF eine deutliche Verbesserung der Progressionsrate und der Gesamtüberlebensrate nach 5 Jahren nachgewiesen werden. Acht Zyklen dieses so genannten „BEACOPP eskaliert“-Schemas stellen die derzeitige Standardtherapie für fortgeschrittene Stadien dar (Studien HD-13 2003, HD-14 2003 und HD-15 2003, <http://www.onkodin.de>).

1.4.3 Doxorubicin in der Therapie des Mamma-Karzinoms

Doxorubicin wird sowohl in der adjuvanten als auch in der neoadjuvanten Therapie des Mamma-Karzinoms verwendet. Die Durchführung einer adjuvanten Chemotherapie senkt die 10-Jahres-Mortalitätsrate signifikant, die Kombinationstherapie ist dabei einer Monotherapie überlegen (Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group 1998). In einer 1998 von Fossati et al. publizierten Metaanalyse wurden die Behandlungsergebnisse von 31.510 Patientinnen mit metastasiertem Mamma-Karzinom ausgewertet. Dabei induzierten die Anthrazyklinhaltigen Chemotherapien signifikant höhere Ansprechraten als die Chemotherapien ohne Anthrazykline (Ansprechraten 51 % vs. 45 %, siehe Tabelle 39 im Anhang). Doxorubicin zeigte sich dabei Epirubicin als nur leicht überlegen, zu bedenken ist hier aber die höhere Toxizität Doxorubicins (Fossati et al. 1998). Bereits seit einigen Jahren wird daher vorzugsweise Epirubicin verwendet, so dass fraglich ist, welchen Stellenwert Doxorubicin in Zukunft in der Therapie der Mamma-Karzinome einnehmen wird (Kuhn 2000).

1.5 Nebenwirkungen von Doxorubicin

Den therapeutischen Möglichkeiten von Doxorubicin sind durch seine toxischen Wirkungen auf gesundes Gewebe Grenzen gesetzt. Leukopenie und Kardiotoxizität stellen die dosislimitierenden Nebenwirkungen dar.

1.5.1 Myelosuppression

Die Myelosuppression, hauptsächlich in Form einer Leukopenie, tritt bei konventionellen Dosen von Doxorubicin bei 60 bis 80 % der Patienten mit tiefsten Werten zwischen dem zehnten und vierzehnten Tag auf, wobei die Inzidenz und Schwere dosisabhängig sind (Abraham et al. 1996). So wird beschrieben, dass die AUC (*Area under the curve*, Integral der Konzentrations-Zeit-Kurve) umgekehrt mit der Leukozytenzahl korreliert (Ackland et al. 1989, Piscitelli et al. 1993). Bei einer Doxorubicin-Dosis von mehr als 120 mg/m^2 werden schwere Leukopenien bei nahezu allen Patienten hervorgerufen (Zuckerman 1994).

1.5.2 Kardiotoxizität

Eine spezifische unerwünschte Wirkung von Doxorubicin ist die häufig irreversible Kardiomyopathie (Shan et al. 1996). Die Häufigkeit der Kardiomyopathie hängt von der kumulativen Gesamtdosis ab. Bei einer Gesamtdosis von 450 bis 550 mg/m^2 Doxorubicin tritt bei circa 5 % der Patienten eine Herzschädigung ein, bei 1000 mg/m^2 steigt diese Zahl auf 50 % an (von Hoff et al. 1979, Launchbury et Habboubi 1993, Shan et al. 1996).

Man unterscheidet vier Typen der Kardiotoxizität: Die Reaktion vom Soforttyp (5 - 40 % der Fälle), die vom subakuten Typ, die vom Spättyp (5 - 38 %) und die vom chronischen Typ (5 - 23 %) (Keefe 2001, Wojtacki et al. 2000). Der Soforttyp ist hauptsächlich durch EKG-Veränderungen charakterisiert. Es treten dosisunabhängig, während oder wenige Stunden nach Doxorubicin-Gabe, reversible Arrhythmien (hauptsächlich Sinustachykardien), Niedervoltage, ST-Streckenveränderungen und QT-Zeitverlängerungen auf. Ihr Auftreten stellt keine Kontraindikation zur erneuten Anwendung von Doxorubicin dar (Fachinformation Adriblastin® o.J., Wojtacki et al. 2000). Die subakute Form ist selten und tritt nach einigen Tagen bis Monaten auf. Sie äußert sich durch eine Myokarditis und / oder Perikarditis (Wojtacki et al. 2000). Die chronische Form repräsentiert eine dosisabhängige kumulative Organtoxizität. Sie tritt Wochen bis Monate nach Abschluss einer Doxorubicin-haltigen Therapie auf, ist meist irreversibel und manifestiert sich in Form einer dilatativen Kardiomyopathie mit den Zeichen einer Linksherzinsuffizienz. Die Letalität dieser Komplikation beträgt 27 bis 61 %. Das Risiko, eine schwere Kardiomyopathie zu bekommen, sinkt dramatisch bei wöchentlichen oder 24-Stunden-Infusionen (Hortobágyi 1997). Die Spätform wird einige Jahre nach abgeschlossener

Chemotherapie diagnostiziert. Unter dieser Form subsumieren sich dilatative Kardiomyopathie, Herzrhythmus- und Reizleitungsstörungen. Das Risiko, die Spätform zu bekommen, steigt mit Höhe der erhaltenen Einzel- und Gesamtdosen von Doxorubicin sowie bei zusätzlicher Mediastinalbestrahlung an (Steinherz et al. 1991).

1.5.3 Weitere unerwünschte Wirkungen

Stomatitiden entwickeln sich innerhalb von fünf bis dreizehn Tagen nach Anthrazyklin-Behandlung und gehen in der Schwere der Symptome oft Hand in Hand mit der Leukopenie (Abraham et al. 1996). Übelkeit und Erbrechen treten bei 21 bis 55 % der Patienten auf, die Inzidenz und Schwere können aber durch die Gabe von Antiemetika vom Typ der 5-HT₃-Antagonisten (z.B. Ondansetron) in Kombination mit Dexamethason bei den meisten Patienten verhindert oder zumindest vermindert werden (Abraham et al. 1996). Eine reversible Alopezie tritt bei fast 100 % der mit Doxorubicin behandelten Patienten auf (Hortobágyi 1997). Da die Anthrazyklin-Antibiotika bei Paravasat zu ernsthaften Nekrosen führen, sollte auf eine strenge intravenöse Applikation geachtet werden (Abraham et al. 1996). Doxorubicin ist mutagen und teratogen und darf während Schwangerschaft und Stillzeit nicht angewendet werden (Fachinformation Adriblastin® o.J.).

1.6 Pharmakokinetik

1.6.1 Pharmakokinetik in der Zytostatika-Therapie

Damit ein Zytostatikum effektiv gegen einen Tumor wirken kann, muss erstens der Tumor sensitiv gegen das entsprechende Arzneimittel sein, zweitens müssen ausreichend hohe und ausreichend lang anhaltende Wirkspiegel im Tumorgewebe erreicht werden, drittens muss bei primär inaktiven Zytostatika (*Prodrugs*) eine ausreichende Bioaktivierung (Anabolismus) zur Wirksubstanz möglich sein und viertens darf die Wirksubstanz nicht zu rasch abgebaut bzw. eliminiert werden. Im Rahmen der Pharmakokinetik werden die Konzentrationsänderungen des betreffenden Pharmakons in Abhängigkeit von der Zeit erfasst. Es wird bestimmt, wo, wie schnell und in welchem Ausmaß eine Substanz resorbiert wird, wie sich die Substanz nach intravenöser Gabe oder nach Resorption im Organismus verteilt, wie sie metabolisiert und wie und wo sie ausgeschieden wird (Birkett 2002, Heinemann 2001). Da die prinzipielle Kenntnis der verschiedenen pharmakokinetischen Begriffe für das Verständnis der medikamentösen Tumorthherapie von entscheidender Bedeutung ist, werden anschließend kurz die wichtigsten pharmakokinetischen Begriffe definiert und erläutert (Birkett 2002, Forth et al. 1996).

1.6.1.1 Bioverfügbarkeit (*Bioavailability*, **F**)

Die Bioverfügbarkeit F sagt aus, in welchem Ausmaß ein Pharmakon unverändert ins systemische Blut gelangt. Definitionsgemäß ist ein Pharmakon bei intravenöser Applikation also zu 100 % bioverfügbar. Bei extravasaler Applikation wird die Größe der Bioverfügbarkeit von der Freisetzung des Wirkstoffs aus seiner Zubereitung, der Interaktion mit Nahrungsmitteln oder anderen Medikamenten, der Resorption durch die Darmwand und der Leberfunktion (*First-Pass*-Effekt, also Verstoffwechslung und / oder Ausscheidung über die Galle) beeinflusst. Experimentell bzw. klinisch am Patienten wird die absolute Bioverfügbarkeit als Quotient der AUC (siehe 1.6.1.2) von extravasaler zu intravasaler Dosierung bestimmt.

1.6.1.2 Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (*Area under the curve*, **AUC**)

Bei Darstellung einer Konzentrations-Zeit-Kurve umfährt diese eine Fläche, die *Area under the curve*, die proportional zur Gesamtwirkung eines Pharmakons ist. Bei einem großen Wert der AUC kann eher mit Wirkungen, aber auch mit Nebenwirkungen gerechnet werden. Allerdings können individuelle Faktoren, wie Transport, Metabolismus oder Clearance, den Einfluss der AUC überspielen. Die Fläche der AUC wird über die so genannte Trapezmethode bestimmt: Dabei wird die Fläche zwischen der Konzentrations-Zeit-Kurve und der Zeit-Achse (Abszisse, X-Achse) in beliebig viele Trapeze aufgeteilt, deren Flächen berechnet und addiert werden. Die AUC ist insbesondere wichtig zur Berechnung der Bioverfügbarkeit (siehe 1.6.1.1) und der totalen Clearance (1.6.1.3), die bei intravenöser Dosierung als Quotient von Dosis dividiert durch die AUC berechnet werden kann.

1.6.1.3 Clearance (**CL**)

Die Clearance ist ein Maß für die Fähigkeit eines Organismus, ein Pharmakon zu eliminieren. Sie beschreibt anschaulich dasjenige Blut- oder Plasmavolumen, das pro Zeiteinheit komplett von einer Substanz gereinigt wird. Die Gesamtclearance oder auch totale Clearance CL setzt sich aus renaler (CL_R) und extrarenaler Clearance (CL_{NR} , überwiegend handelt es sich hierbei um die fäkale bzw. biliäre Ausscheidung) zusammen. Sie berechnet sich aus dem Quotienten der verabreichten Menge des Medikaments und der AUC:

$$CL = \frac{M}{AUC} \quad [CL] = \frac{l}{h}.$$

1.6.1.4 Initiale und terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$ und $t_{1/2}(\beta)$)

Die Halbwertszeit gibt die Zeit an, in der die Plasmakonzentration eines Pharmakons auf die Hälfte abfällt. Die Kenntnis der Halbwertszeit ermöglicht eine Abschätzung, wie schnell eine

Substanz aus dem Organismus eliminiert wird. Nach circa fünf Halbwertszeiten ist eine Substanz für praktische medizinische Zwecke in der Regel als ausgeschieden zu betrachten, da zu diesem Zeitpunkt nur noch $1/32$ der gegebenen Dosis im Körper ist. Häufig kann man im Konzentrationsverlauf eines Pharmakons mehrere Halbwertszeiten erkennen. Dies lässt sich durch die unterschiedlichen Phasen der Pharmakokinetik erklären, dabei kann man z.B. der Verteilungsphase vom Plasma ins Gewebe eine Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$) zuordnen, genau wie der Phase der Elimination ($t_{1/2}(\beta)$), wobei in Wirklichkeit diese unterschiedlichen Vorgänge der Verteilung in so genannte periphere Kompartimente (z.B. Fettgewebe), der Rückverteilung aus den peripheren Kompartimenten ins Blut und der endgültigen Elimination über Leber oder Niere natürlich ineinander übergehen und in den Konzentrations-Zeit-Verläufen nicht klar unterschieden werden können.

1.6.1.5 Verteilungsvolumen (*Volume of distribution, V*)

Das Verteilungsvolumen V ist ein Proportionalitätsfaktor zwischen der Menge M eines Pharmakons im Organismus und seiner Plasmakonzentration c :

$$V = c \cdot M \quad [V] = l \text{ oder } l/kg \text{ KG}$$

Anschaulich gesagt ist das Verteilungsvolumen das Flüssigkeitsvolumen, das erforderlich ist, um das gesamte im Organismus befindliche Pharmakon in der gleichen Konzentration zu lösen wie im Plasma. Deshalb kann V auch größer sein als das Körpergewicht. Dies bedeutet dann, dass sich das Pharmakon in so genannten tiefen Kompartimenten, z.B. im Fettgewebe, anreichert. Ein Verteilungsvolumen, das dem Blutvolumen entspricht, spricht für eine starke Bindung des Pharmakons an Plasmaproteine oder starke Hydrophilität. Für die praktische Anwendung ist die Kenntnis des Verteilungsvolumens nützlich, da man aus seiner Größe die Verteilung eines Pharmakons im Körper und die für eine bestimmte Plasmakonzentration notwendige Dosis abschätzen kann.

1.6.2 Anwendung von pharmakokinetischen Messungen in der Arzneimitteltherapie

Da es einerseits meist einen erheblichen methodischen, zeitlichen und finanziellen Aufwand mit sich bringt, regelmäßig Serumspiegel von Zytostatika zu bestimmen, und andererseits der Wert dieser Spiegelbestimmungen in der Therapie mit vielen Zytostatika noch nicht eindeutig belegt werden konnte, ist bis jetzt nur die Bestimmung von Methotrexat-Serumspiegeln etabliert. Besonders nach Hochdosis-Therapie ist die regelmäßige und zeitgerechte Messung der Serumspiegel zwingend vorgeschrieben. Bei korrekter Durchführung mit ausreichender Bewässerung und Urinalkalisierung sowie Spiegel-adaptierter Leukovorin-Gabe ist selbst die hochdosierte Methotrexat-Therapie eine sichere Behandlungsweise (Fong et Lee 2006). Bei

Nichtbeachtung dieser Vorgaben muss allerdings mitunter Umständen sogar tödlichen Nebenwirkungen gerechnet werden. Gerade in der besonders schwierigen onkologischen Therapie wären pharmakokinetische Messungen im Hinblick auf eventuell konzentrationsabhängige unerwünschte Nebenwirkungen, aber auch hinsichtlich der immer noch zu geringen Kenntnisse über die Zusammenhänge kinetischer Daten und klinischer Effektivität vieler verwendeter Zytostatika, wünschenswert. Es existieren für viele Zytostatika zwar bereits Studien, diese wurden aber oft nur an kleinen Patientenzahlen durchgeführt und konnten daher keine abschließende Klärung hinsichtlich des Wertes des therapeutischen *Drug Monitoring* erbringen.

1.6.3 Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin

Doxorubicin wird, da es schlecht enteral resorbierbar ist, nur intravaskulär verabreicht. Daneben besteht auch die Möglichkeit der regionalen Instillation, z.B. intravesikal.

1.6.3.1 AUC von Doxorubicin

Die Werte für die AUC schwanken weit innerhalb eines Dosierungsbereiches und auch zwischen den einzelnen Dosierungen. Verschiedene Arbeiten ergeben allerdings eine lineare, dosisabhängige Kinetik für die AUC in Dosierungsbereichen von 20 – 60 mg/m² (Eksborg et al. 1985), 20 – 72 mg/m² (Jaquet et al. 1990) und 75 – 150 mg/m² (Bronchud et al. 1990). Die angegebenen Werte liegen dabei zwischen 396 ng·h/ml (Leca et al. 1991) und 23,04 mg·h/ml (Gasparini et al. 1990). Bei gleicher Dosis konnten auch starke inter- und intraindividuelle Schwankungen von bis zu 100 % nachgewiesen werden (Jaquet et al. 1990, Preiss et al. 1989). Ob diese große Schwankungsbreite jedoch tatsächlich nur durch interindividuelle pharmakokinetische Unterschiede wie Distribution, Metabolismus und Clearance zu erklären ist oder ob auch methodische Fehler vorlagen, ist fraglich. Die genaue Auflistung der gefundenen Werte findet sich im Anhang in Tabelle 40.

1.6.3.2 Clearance von Doxorubicin

Die Gesamtclearance von Doxorubicin wird besonders durch die extrarenale - faktisch die hepatische - Clearance bestimmt (Takanashi et Bachur 1976). Folglich wird die Clearance bei verminderter Leberfunktion stark erniedrigt (Piscitelli et al. 1993). Die Angaben für die Gesamtclearance variierten in der Literatur zwischen 33 l/h und 94 l/h. Die genaue Auflistung der gefundenen Werte findet sich in Tabelle 41 im Anhang.

1.6.3.3 Initiale und terminale Halbwertszeit von Doxorubicin

Die Verteilung von Doxorubicin wird überwiegend mit drei Halbwertszeiten beschrieben (Twelves et al. 1991, Jaquet et al. 1990, Camaggi et al. 1988). Diese Studien gehen von einem zentralen und zwei peripheren Kompartimenten aus. Es gibt allerdings auch Studien, die mit einem Zwei-Kompartimentmodell (Frenay et al. 1989, Speth et al. 1987 a, b) bzw. einem Vier-Kompartimentmodell (Bronchud et al. 1990, Leca et al. 1991) arbeiten. Entsprechend den Kompartimentmodellen werden zwei bis vier Halbwertszeiten angegeben: Die initiale Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$, die hauptsächlich von Verteilungsprozessen bestimmt wird, die Halbwertszeit(en) der Intermediärphase(n) mit $t_{1/2}(ss)$ und die terminale Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$, die maßgeblich durch Eliminationsprozesse beeinflusst wird. $t_{1/2}(\alpha)$ wird mit 2 bis 10,5 Minuten angegeben. Für $t_{1/2}(ss)$ lassen sich Werte zwischen 0,4 und 2,9 Stunden finden, und für $t_{1/2}(\beta)$ streuen die Angaben weit zwischen 9 und 82 Stunden. Laut Frenay et al. (1989) und Twelves et al. (1991) sind die Halbwertszeiten unabhängig von Dosis und Infusionszeit. Die Halbwertszeiten sind neben physiologischen Parametern, wie z.B. der Abnahme der Clearance durch Leber- oder Niereninsuffizienz, auch von der Empfindlichkeit der Nachweismethode und dem gewählten Messzeitraum abhängig (Camaggi et al. 1988, Jaquet et al. 1990). Dies macht auch klar, dass der Begriff Halbwertszeit für wissenschaftliche Zwecke eher problematisch ist, da der Messwert von den jeweiligen Messbedingungen abhängt. Eine derartige Problematik besteht z.B. beim Parameter „Clearance“ nicht. Dennoch ist die Halbwertszeit für praktische Zwecke ein nützlicher Wert, wenn es z.B. darum geht, über die Häufigkeit von Dosierungen pro Tag zu entscheiden. Eine genaue Auflistung der gefundenen Werte für die initiale und terminale Halbwertszeit findet sich in den Tabellen 42 und 43 im Anhang.

1.6.3.4 Verteilungsvolumen von Doxorubicin

Initial hohe Doxorubicin-Konzentrationen werden durch die Verteilung vom zentralen in periphere Kompartimente rasch reduziert. Die Verteilung wird in der Literatur mit einem offenen Zwei- oder Drei-Kompartiment-Modell beschrieben (Jaquet et al. 1990, Mross et al. 1988), wobei pharmakokinetisch nicht unterschieden werden kann, welche Teile des Körpers real dem zweiten oder dem dritten Kompartiment entsprechen. Die zugehörigen Verteilungsvolumina beim Zwei-Kompartiment-Modell sind das zentrale Verteilungsvolumen (V_1 , entspricht dem zentralen Kompartiment) und das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V_2). Angaben für V_1 schwanken zwischen 11,4 und 27,8 l/kg KG. Bei Kompartiment-Modellen mit mehr als zwei Kompartimenten kann auch noch das Verteilungsvolumen des *Steady state* (V_{SS}), in dem ein Fließgleichgewicht zwischen den Kompartimenten besteht, bestimmt werden. Für V_{SS} werden Werte zwischen 7,6 und 33,8 l/kg KG angegeben, mit einem

Mittelwert bei etwa 21 l/kg KG. Es findet sich eine Zunahme des V_{SS} bei Verlängerung des Messzeitraums. Die hohen Verteilungsvolumina im *Steady state* zeigen, dass Doxorubicin in tiefe Gewebe-Kompartimente eindringt. Moss et al. (1990) beschrieben, dass nur 0,4 % der applizierten Menge im *Steady state* im Plasma nachweisbar seien, der Rest sei in Organe transportiert bzw. metabolisiert worden. Die Werte für V_2 liegen zwischen 10,7 und 30 l/kg KG. Eine genaue Auflistung der gefundenen Werte findet sich in Tabelle 44 im Anhang.

1.7 Transmembranärer Transport und Metabolismus von Doxorubicin

1.7.1 Bedeutung von transmembranärem Transport in der Arzneimitteltherapie

Das Ausmaß der Wirkung eines Pharmakons hängt von seiner Konzentration am Wirkort ab. Zu niedrige Konzentrationen des Wirkstoffs haben keinen therapeutischen Effekt. Dagegen führen zu hohe Konzentrationen häufig zu unerwünschten Nebenwirkungen. Arzneimittel-Transportproteine sind neben Arzneimittel-metabolisierenden Enzymen für die Arzneimittel-Konzentration am Wirkort verantwortlich. Meist wird ein Pharmakon oral oder intravenös zugeführt, so dass es erst biologische Membranen permeieren muss, um an seinen Wirkort zu gelangen: Bei der enteralen Resorption zur Überwindung der Darmschleimhaut, bei der systemischen Gabe im Zug des Verlassens der Blutbahn durch die Kapillarwand, aber auch bei der Elimination, z.B. vor der Metabolisierung bei der Aufnahme in die Hepatozyten oder bei der Sekretion durch Tubulusepithelien. Und auch bei der direkten Instillation in die Harnblase muss das Medikament die Zellmembranen der Tumorzellen penetrieren, um zu wirken.

Neben Diffusion, Filtration und Endo- bzw. Exozytose können Pharmaka auch durch Träger-vermittelten Transport Membranen passieren. Als erleichterte Diffusion wird hierbei ein durch Proteine vermittelter Transport verstanden, bei dem keine Stoffwechselenergie verbraucht wird. Als aktiver Transport wird der transmembranäre Transport gegen einen Konzentrationsgradienten durch Transport-Moleküle (*Carrier*) bezeichnet, bei dem ATP als Energielieferant benötigt wird (Lüllmann et Mohr 1999). Der Transport kann dabei nach intrazellulär gerichtet sein (Influx-Transport), aber auch Pharmaka wieder aus der Zelle hinausbefördern (Efflux-Transport), wie z.B. beim Auftreten der *Multidrug*-Resistenz gegen Zytostatika. Dabei werden durch in Tumorzellen überexprimierte P-Glykoproteine (codiert vom MDR1-Gen) viele Zytostatika (z.B. Anthrazykline, Vincaalkaloide, siehe Tabelle 45 im Anhang) ATP-abhängig aus der Zelle geschleust (Schinkel 1997). Die Zelle schützt sich damit vor zu hohen Zytostatika-Konzentrationen.

1.7.2 Transport von Doxorubicin

1.7.2.1 Die ABC-Transporter-Superfamilie

Doxorubicin wird von Mitgliedern der „*ATP-binding cassette*“-Transporter-Superfamilie (ABC-Transporter) transportiert. Diese Transporter kommen ubiquitär, sowohl in Prokaryonten als auch in Eukaryonten vor (Higgins 2001). Sie nutzen die Energie aus der Hydrolyse von ATP für einen meist unidirektionalen Transport verschiedenster Moleküle gegen einen Konzentrationsgradienten durch biologische Membranen. Dazu gehören Ionen, Phospholipide, Peptide, Steroide, Polysaccharide, Aminosäuren, organische Anionen, Medikamente und andere Fremdstoffe aus Industrie und Umwelt (Borst et al. 1999, Cole et Deeley 1998). Das Strukturmerkmal der ABC-Proteine ist ihr Aufbau aus zwei verschiedenen Typen von funktionellen Domänen. Dazu gehören zur Membranverankerung dienende hydrophobe und hydrophile Transmembrandomänen und zytoplasmatisch gelegene Nukleotid-bindende Bereiche (Borst et Oude Elferink 2002, siehe Abbildung 3).

Bis jetzt wurden 49 menschliche ABC-Transporter identifiziert und nach Ähnlichkeiten in der Sequenz in sieben Subklassen ABCA bis ABCG eingeteilt (Gerloff 2003). Besonderes Interesse gilt den ABC-Proteinen aufgrund ihrer weitgefächerten medizinischen Relevanz. Einige spielen eine entscheidende Rolle bei menschlichen Erbkrankheiten, so führt ein Defekt des CFTR-Proteins (*Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*, ABCC7) zur zystischen Fibrose. Außerdem sind sie für das Phänomen der *Multidrug*-Resistenz verantwortlich, indem sie bestimmte Wirkstoffe unmittelbar nach Eintritt in die Zelle wieder aus der Zelle exportieren.

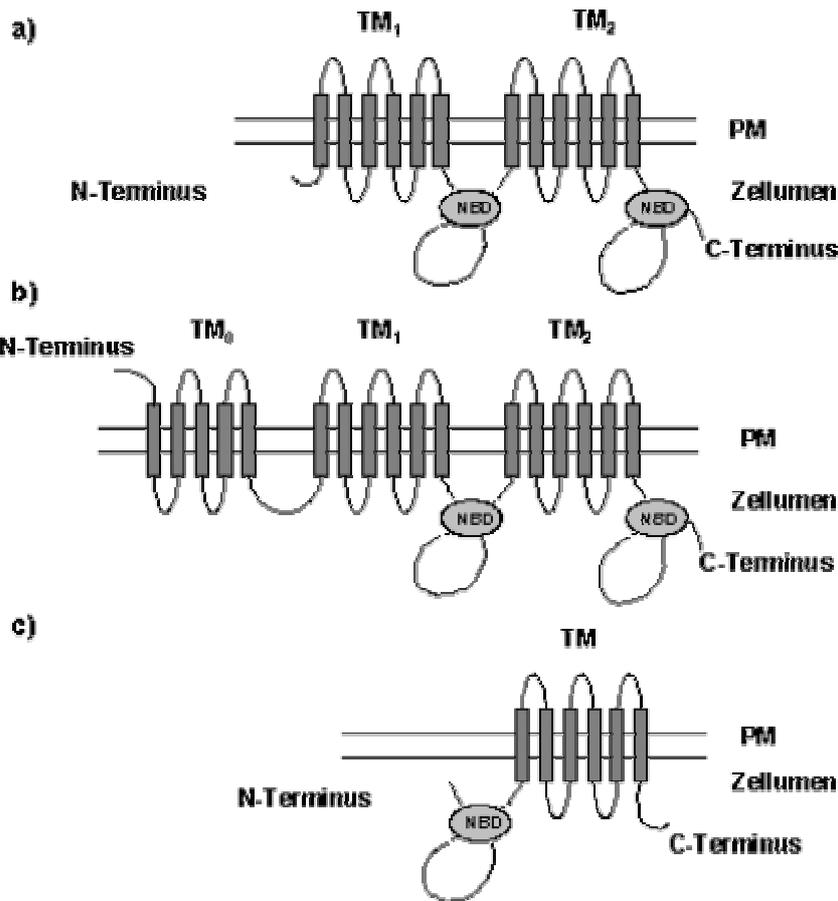


Abbildung 3: Membrantopologie der ABC-Transporter (entnommen aus Materna 2002, Seite 10)

Dargestellt sind verschiedene Typen von ABC-Transportern in der Plasmamembran (PM)

a) mit zwei Transmembrandomänen (TM₁ und TM₂) und zwei nukleotidbindenden Domänen (NBD), z. B. MDR1

b) mit drei Transmembrandomänen (TM₀, TM₁ und TM₂) und zwei NBDs, z. B. MRP1, MRP2 und MRP3

c) mit je einer NBD und Transmembrandomäne (TM), z. B. BCRP

Jede der transmembranären Domänen besteht aus 6 membrandurchspannenden Helices.

1.7.2.2 MDR1 (ABCB1, P-Glykoprotein)

Das prominenteste, vom MDR1-Gen codierte Protein mit Fähigkeit zum Membrantransport von Doxorubicin ist das P-Glykoprotein (Permeabilitäts-Glykoprotein, Pgp), das inzwischen in der oben eingeführten systematischen Nomenklatur auch als ABCB1 bezeichnet wird. Dieses zur Familie der ABC-Transporter gehörende P-Glykoprotein wurde erstmalig im Rahmen der primären oder sekundären Resistenz gegenüber Zytostatika beschrieben. Mittlerweile ist bekannt, dass Pgp in den apikalen Membranen nicht nur von Tumoren, sondern auch von vielen anderen Organen wie Leber, Darm, Nieren, Gehirn, Plazenta und Herz vorkommt (Tanigawara 2000). Substrate sind neben Doxorubicin und weiteren Zytostatika auch andere Medikamente aus ganz unterschiedlichen Arzneimittelklassen wie z.B. Virostatika, β -Blocker, Steroide oder Immunsuppressiva. Eine Übersicht über ausgewählte von Pgp transportierte Substanzen findet sich in Tabelle 45 (Anhang). Die physiologische Funktion von Pgp ist der ATP-abhängige Transport von potenziell toxischen Substanzen von intrazellulär nach extrazellulär (Efflux-

pumpe). So wird die Aufnahme in den Körper aus dem Darm oder der Transport in wichtige Organe wie z.B. in das Gehirn oder die Gonaden vermindert, außerdem erleichtern sie deren Elimination durch die Galle, die Nieren oder den Darm (Drewe und Krähenbühl 2000). Bei Überexpression von Pgp reichern sich Wirkstoffe also weniger stark in der Zelle an und ihre intrazellulären Effekte werden damit gemindert. Dieses Prinzip ist die Ursache für die *Multidrug*-Resistenz gegenüber vielen Zytostatika.

1.7.2.3 Die MRP-Familie

Doxorubicin wird auch noch von anderen Mitgliedern der ABC-Transporter-Familie transportiert: den *Multidrug*-Resistenz-Proteinen (MRP, ABCC). 1992 gelang es Cole et al. aus einer durch steigende Dosen von Doxorubicin multiresistent gewordenen Lungenkarzinom-Zelllinie eine ATP-abhängige Membranpumpe zu klonieren, welche für die Resistenz gegen Doxorubicin und andere Zytostatika (weitere Anthrazyklin-Antibiotika, Vincaalkaloide, Etoposid, Colchicin, Methotrexat) verantwortlich gemacht wurde. Diese wurde MRP1 genannt. Mittlerweile umfasst die MRP-Familie dreizehn Mitglieder, von denen neun am Arzneimitteltransport beteiligt sind (Haimeur et al. 2004).

1.7.2.4 MRP1 (ABCC1)

MRP1 wird in den meisten Geweben des Organismus, jedoch besonders stark in den Lungen, Hoden, Nieren, Gehirn, Darm und mononukleären Blutzellen exprimiert (Cole et al. 1992, Flens et al. 1996). Im Gegensatz zu Pgp findet sich MRP1 eher in den basolateralen als in den apikalen Membranen (Haimeur et al. 2004). Außer dem Transport der schon oben genannten Zytostatika vermittelt MRP1 den ATP-abhängigen Auswärtstransport von lipophilen, negativ geladenen Verbindungen, wie Glutathion-, Sulfat- oder Glucuronsäurekonjugaten endogener oder exogener Verbindungen (Jedlitschky et al. 1994, Holland et al. 2002). Im Anhang findet sich eine Auswahl von MRP1 transportierten Substanzen. Neben der unerwünschten Funktion der *Multidrug*-Resistenz spielt MRP1 wohl auch bei der Krebsprävention eine wichtige Rolle, indem es z.B. Aflatoxin B1 als Konjugat oder Komplex mit Glutathion zumindest in vitro aus der Zelle transportiert (Loe et al. 1997).

1.7.2.5 MRP2 (ABCC2)

MRP2 war ursprünglich unter dem Namen cMOAT (*Canalicular multispecific organic anion transporter*) bekannt, da es zuerst in der kanalikulären Membran von Hepatozyten identifiziert werden konnte. Mittlerweile ist bekannt, dass dieser Anionentransporter zur MRP-Familie gehört. MRP2 hat mit MRP1 49 % der Aminosäuresequenz gemeinsam (Borst et al. 1999).

MRP2 ist in den apikalen Membranen von Leber, Lungen, Gehirn, Nieren und Darm zu finden (Borst et al. 2000). Auch dieser Transporter besitzt eine breite Substratspezifität, die in weiten Teilen mit der von MRP1 übereinstimmt. Es werden ebenfalls Anthrazykline, Vincaalkaloide, Methotrexat und Etoposid transportiert. Allerdings induziert MRP2 im Gegensatz zu MRP1 auch eine Cisplatin-Resistenz (Hooijberg et al. 1999, Cui Y et al. 1999). Eine Liste ausgewählter von MRP2 transportierter Substanzen findet sich in Tabelle 45 im Anhang. Die physiologische Funktion ist der Export von amphiphilen organischen Anionen und Xenobiotika in die Lumina exkretorischer Organe, z.B. in die Gallenflüssigkeit (Haimeur et al. 2004). Auch MRP2 ist wohl eine präventive Funktion in der Karzinogenese zuzuschreiben. 2002 beschrieben Diedrich et al. höhere Plasmakonzentration des beim Braten von Fleisch entstehenden Karzinogens PHIP bei MRP2-negativen Ratten als bei den MRP2-exprimierenden Tieren.

1.7.2.6 MRP3 (ABCC3)

MRP3 ist ein in den basolateralen Membranen von Darm, Pankreas, Niere, Plazenta und Nebennierenrinde vorkommender Arzneimittel-Transporter (Kool et al. 1997, Scheffer et al. 2002). MRP3 transportiert bevorzugt Glucoronid-Konjugate und Gallensäuren (Hirohashi et al. 1999). Weitere Substrate sind E₂17βG, Leukotrien C₄ und Dinitrophenyl-S-Glutathion (Zelcer et al. 2001). 1999 zeigten Kool et al., dass MRP3 eine Resistenz gegen Etoposid und Teniposid vermittelt. Außerdem wurde noch eine Resistenz gegen Methotrexat nachgewiesen (König et al. 1999, Hirohashi et al. 2000, siehe auch Tabelle 45 im Anhang). Young et al. zeigten 1999 und 2001 eine Korrelation zwischen der MRP3-Expression einer Lungenkarzinom-Zelllinie und deren Doxorubicin-Resistenz. Bei Vorliegen einer Cholestase ist eine starke Erhöhung der MRP3-Expression zu beobachten, damit scheint MRP3 für den Transport von toxischen, organischen Anionen ins Blut von großer Bedeutung zu sein, wenn deren Sekretion in die Galle nicht möglich ist (Kool et al. 1999, König et al. 1999).

1.7.2.7 BCRP (ABCG2)

Ein weiterer MDR-vermittelnder Transporter ist BCRP (*Breast cancer resistance protein*), der 1990 erstmals in einer durch Doxorubicin in der Anwesenheit von Verapamil multiresistent gewordenen Zelllinie eines Mamma-Karzinoms entdeckt und 1998 durch Doyle et al. kloniert werden konnte (Chen YN et al. 1990, Doyle et al. 1998). BCRP wird auch als Halbtransporter bezeichnet, da er nur jeweils eine transmembranäre und eine ATP-bindende Domäne aufzuweisen hat (siehe Abbildung 3). Er wird an den apikalen Membranen von Plazenta, Leber, Darm, Gehirn, Ovarien, Herz, des kapillären und venösen Endothels und den Ductus und Lobuli der Mamma exprimiert (Doyle et al. 1998, Maliepaard et al. 2001, Mizuarai et al. 2004).

Außerdem ist eine erhöhte BCRP-Expression bei circa 30 % der AML-Patienten beobachtet worden (Ross 2000). Substrate von BCRP sind neben Doxorubicin und Verapamil auch Daunorubicin, Methotrexat, Mitoxantron, Topotecan, Irinotecan und dessen aktiver Metabolit SN-38 (Miyake et al. 1999, Doyle et al. 1998, Maliepaard et al. 2001, Kawabata et al. 2001). Eine Übersicht über ausgewählte von BCRP transportierte Substanzen findet sich in Tabelle 45 im Anhang. Die physiologische Funktion von BCRP ist eine Barrierebildung in der Blut-Hirn- sowie der Blut-Plazenta-Schranke (Polgar et Bates 2005).

1.7.3 Metabolismus von Fremdstoffen

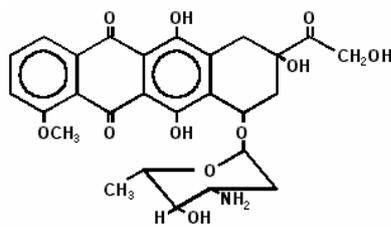
Die Mehrzahl der aufgenommenen Nähr- und Fremdstoffe unterliegen der so genannten Biotransformation, die hauptsächlich in der Leber stattfindet. Dabei werden diese Stoffe enzymatisch umgewandelt. Vor allem sind dies Reaktionen, die die Lipidlöslichkeit vermindern (Forth et al. 1996). Die Enzyme können dabei nicht unterscheiden, ob ihre Substrate für den Organismus schädlich oder nützlich sind. So kommt es, dass aus der wirksamen Form eines Arzneimittels ein unwirksames Abbauprodukt wird oder umgekehrt aus einer primär unwirksamen Verbindung, so genannten *Prodrugs*, erst ein Wirkstoff entsteht.

In der allgemeinen Pharmakologie werden Phase-I- und Phase-II-Reaktionen der Biotransformation unterschieden. Die auch als Funktionalisierungsreaktionen bezeichneten Phase-I-Reaktionen umfassen Oxidations-, Reduktions- und Hydrolyse-Reaktionen. Die Phase-II-Reaktionen sind Konjugationsreaktionen. Bei ihnen werden an die (häufig in Phase I geschaffenen) funktionellen Gruppen Reste gekoppelt, die die Wasserlöslichkeit erhöhen und damit die Ausscheidung erleichtern. Die Ausgangsverbindungen können dabei mit Glucuron-, Schwefel-, Carbon- oder Aminosäuren sowie Glutathion konjugiert werden (Forth et al. 1996).

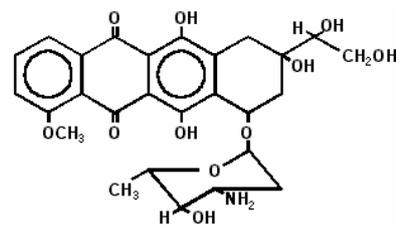
1.7.4 Metabolismus von Doxorubicin

Die Biotransformation von Doxorubicin findet hauptsächlich in der Leber statt. Etwa 30 % der Doxorubicin-Dosis werden zu seinem Hauptmetaboliten Doxorubicinol umgewandelt (Anderesen et al. 1993). Dieser entsteht durch Reduktion der Ketogruppe an C 13 durch ubiquitär, besonders aber in Erythrozyten, Leber und Niere vorkommende Aldo-Ketoreduktasen (Felsted et al. 1977). In älteren Publikationen wird beschrieben, dass sowohl Doxorubicin als auch Doxorubicinol von NADPH-abhängigen Zytochrom-P450-Reduktasen durch Abspaltung des Aminozuckers vom Chromophor zu schlecht wasserlöslichen Aglyconderivaten Doxorubicinon und Doxorubicinolon abgebaut werden. Diese scheinen im Gegensatz zum Doxorubicinol keine zytotoxische Aktivität mehr zu haben (Schott et Robert 1989). Die oben genannten Aldo-Ketoreduktasen katalysieren auch die Desoxygenierung von Doxorubicinon zum 7-Desoxy-

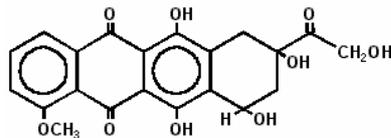
Doxorubicinon und von Doxorubicinolon zum 7-Desoxy-Doxorubicinolon (Mross et al. 1988, Takanashi et Bachur 1976). In einer neueren Publikation wurde von Andersen et al. (1999) allerdings in einer Studie mit 24 Patienten beschrieben, dass 7-Desoxy-Doxorubicinolon und nicht Doxorubicinon Metabolit von Doxorubicin sei. Bisher konnte diese Ansicht durch andere Arbeiten aber weder bestätigt noch widerlegt werden. Der Biotransformation von Doxorubicin gilt auch ein klinisches Interesse, da sowohl Doxorubicinol als Hauptmetabolit als auch den Alkohol-Aglykonen 7-Desoxy-Doxorubicinon und Doxorubicinolon eine Rolle in der Entstehung der Kardiotoxizität zugeschrieben wird (Wojtacki et al. 2000). Eine Übersicht der Strukturformeln von Doxorubicin und seinen Metaboliten findet sich in Abbildung 4.



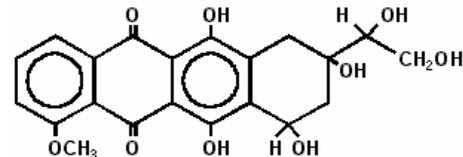
Doxorubicin



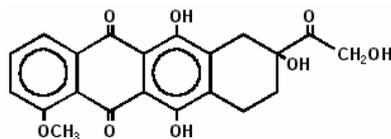
Doxorubicinol



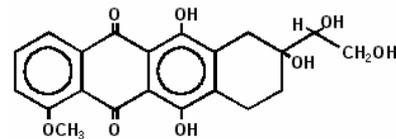
Doxorubicinon



Doxorubicinolon



7-Desoxy-Doxorubicinon



7-Desoxy-Doxorubicinolon

Abbildung 4: Struktur von Doxorubicin und seinen Metaboliten

1.8 Pharmakogenetik

1.8.1 Bedeutung von Pharmakogenetik in der Arzneimitteltherapie

Die individuellen Unterschiede in der Arzneimittelwirkung werden von körperlichen Voraussetzungen wie Alter, Größe oder Gewicht, von Umweltfaktoren wie Ernährung und Rauchen, von Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten oder Krankheiten, aber vor allem auch von der genetischen Variabilität der Patienten bestimmt. Mit der 2001 abgeschlossenen Entschlüsselung des menschlichen Genoms hofft man, neben krankheitsrelevanten Genen auch solche identifizieren zu können, die für interindividuelle Unterschiede von Arzneimittelwir-

kungen und –nebenwirkungen verantwortlich sind. Es soll zukünftig möglich werden, für den individuellen Patienten das am besten geeignete Medikament und die für den optimalen Therapieeffekt erforderliche Dosis bei möglichst geringen Nebenwirkungen auszuwählen. Dieses Wissenschaftsgebiet wird nach dem Humangenetiker Vogel als Pharmakogenetik bezeichnet (Vogel 1959).

Die Pharmakogenetik untersucht, inwieweit Polymorphismen oder seltene genetische Varianten pharmakodynamische und pharmakokinetische Prozesse kontrollieren. Führt ein Gen in einer Bevölkerungsgruppe durch Mutation(en) zu mindestens zwei klar erkennbaren Phänotypen (Erscheinungsformen) und hat das mutierte Gen eine Häufigkeit von mehr als einem Prozent in der Bevölkerung, so spricht man von einem Polymorphismus. Eine Allelfrequenz von weniger als einem Prozent wird als seltene genetische Variante bezeichnet.

1.8.2 Polymorphismen im Arzneimitteltransport

Lange Zeit wurde angenommen, dass interindividuelle Unterschiede der Pharmakokinetik überwiegend durch Polymorphismen in Arzneimittel-metabolisierenden Enzymen verursacht werden. Die Entdeckung, dass das MDR1-Gen erbliche Polymorphismen aufweist und diese die Expression des Genprodukts beeinflussen, hat jedoch zu einem Umdenken geführt.

1.8.2.1 Polymorphismen im MDR1-Gen

Das erste systematische Screening bezüglich der MDR1-Polymorphismen führten Hoffmeyer et al. 2000 durch. Dabei wurden alle 28 Exons einschließlich der *core-promoter*-Region und der Exon-Intron-Grenzen sequenziert. Identifiziert wurden in dieser Untersuchung 15 Einzel-Basenaustausche (*Single nucleotide polymorphism*, SNP). Exemplarisch sollen hier drei möglicherweise funktionell relevante Polymorphismen besprochen werden. Eine Aminosäuresubstitution wird im Exon 5 durch einen Basenaustausch verursacht: Es kommt zum Wechsel von Phenylalanin zu Leucin im Codon 103 (Hoffmeyer et al. 2000). Dadurch wird ein aromatischer Rest durch einen lipophilen ersetzt. Resultat könnte eine Modifizierung einer Seitenkette und damit der Gesamtstruktur des Proteins sein (Kerb et al. 2001). Ebenfalls von Bedeutung ist ein Basenaustausch in Exon 21, hier können drei verschiedene Basen auftreten, die auch jeweils für eine andere Aminosäure kodieren. So kann Alanin durch Serin oder Threonin (Ala893Ser/Thr) ersetzt werden (Tanabe et al. 2001, Cascorbi et al. 2001). Serin bewirkt eine Änderung des lipophilen in einen hydrophilen Rest, wodurch die Sekundärstruktur und damit auch die Interaktionsstellen von Protein und Substrat beeinflusst werden könnten (Tanabe et al. 2001). Für die Mutation Cys3435Thr im Exon 26 konnten Hoffmeyer et al. (2000) die funktionelle Bedeutsamkeit nachweisen. Bei homozygot mutierten Probanden wurde eine sig-

nifikant niedrigere Pgp-Expression im Duodenum und invers dazu höhere Maximalkonzentration des Herzglykosids Digoxin nach einmaliger oraler Gabe beobachtet. Ebenso beeinflusst dieser Polymorphismus die Pharmakokinetik von Fexofenadin und Rhodamin 123 (Hitzl et al. 2001, Drescher et al. 2002).

1.8.2.2 Polymorphismen im MRP1-Gen

Bezüglich der MRP1-Polymorphismen schlagen Haimeur et al. (2004) vor, diese in vier Gruppen mit vier resultierenden Phänotypen einzuteilen. Zur ersten Gruppe gehören Mutationen, die die Expression des Transporters in der Membran stören oder sogar verhindern. Als Beispiel ist hier die Mutation Asp792Leu zu nennen, die einen Austausch von Asparaginsäure gegen Leucin an Position 792 im Bereich der NBD1 hervorruft, so dass es zu einem völligen Fehlen von MRP1 kommt (Cui L et al. 2001). Mutationen, die den Bereich der Transmembranomänen betreffen, können die Expression von MRP1 in der Plasmamembran vermindern. Ein Beispiel hierfür ist der Austausch von Tryptophan durch Alanin an Position 142 (Trp142Ala) in TM3 (Koike et al. 2002). Die zweite Gruppe besteht aus Mutationen, die zwar eine Expression von MRP1 in der Plasmamembran erlauben, die dann aber weniger funktionsfähig sind. Ein Austausch der negativ geladenen Asparaginsäure an Position 336 gegen das aliphatische Leucin bzw. das positiv geladene Arginin (Asp336Leu bzw. Asp336Arg) führt zu einem zum Teil deutlich verminderten Transport von Methotrexat, Leukotrien C4, E₂17βG, Östron-3-Sulfat und Glutathion (Haimeur et al. 2002). Die dritte Gruppe setzt sich aus Mutationen zusammen, die die Interaktion mit ATP beeinträchtigen, also entweder die ATP-Bindung oder -Hydrolyse und damit die Transportfunktion verhindern. Als Beispiel ist hier ein Austausch von Lysin durch Methionin an Position 684 bzw. 1333 zu nennen (Lys684Met bzw. Lys1333Met) (Gao et al. 2000). Zur vierten Gruppe gehören Mutationen, die zu einer Substratspezifischen Ab- oder Zunahme der Transportaktivität führen. So zeigten Conrad et al. (2002), dass es bei einem niederfrequent (< 1 %) vorkommenden Polymorphismus im MRP1-Gen, der zu einem Austausch von Arginin gegen Serin an Position 433 (Arg433Ser) führt, zu einem Anstieg der Doxorubicin-Resistenz bei unveränderter Resistenz gegen Vincristin und Etoposid und zu einem Abfall der Transportkapazität für organische Anionen kommt.

1.8.2.3 Polymorphismen im MRP2-Gen

Der wohl bekannteste Defekt im MRP2-Gen führt zum Dubin-Johnson-Syndrom. Der autosomal-rezessiv vererbte Defekt führt zu einem völligen Fehlen von MRP2 in den apikalen Membranen der Hepatozyten. Da MRP2 die ATP-abhängige Exportpumpe für Bilirubin-Konjugate ist, kommt es bei ungestörter Konjugation zu einer Bilirubin-Exkretionsstörung in

die Gallengänge und damit zu einer konjugierten (direkten) Hyperbilirubinämie. In der häufig vergrößerten Leber finden sich Ablagerungen eines braun-schwarzen Pigments (Paulusma und Oude Elferink 1997, Keitel et al. 2003). Da die Patienten im Allgemeinen keine Beeinträchtigungen aufweisen, wird diese Krankheit nur sehr selten diagnostiziert (Zimniak 1993). Einige Patienten wurden bereits auf Mutationen in MRP2 untersucht, wobei sowohl Punktmutationen als auch Deletionen gefunden wurden (Kamisako et al. 2000, Mor-Cohen et al. 2001). Zurzeit werden weitere Mutationen untersucht, die Aminosäure-Substitutionen in ganz unterschiedlichen Regionen (Transmembrandomänen, ATP-Bindungsstellen) von MRP2 hervorrufen. So z.B. von Hirouchi et al. (2004), die in ihrer Studie die am häufigsten vorkommenden Genpolymorphismen Val417Ile, Ser789Phe und Ala1450Thr untersuchten und zu dem Ergebnis kamen, dass nur die letzten beiden Mutationen zu einer eingeschränkten Funktion in vivo führen.

1.8.2.4 Polymorphismen im MRP3-Gen

Bisher wurden 51 Polymorphismen im MRP3-Gen entdeckt, von denen 15 in Exons gelegen sind (Lang et al. 2004). 2004 untersuchten Lee et al. den Arg1297His-Polymorphismus des MRP3-Transporters, der auch in der vorliegenden Studie bezüglich seines Einflusses auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin überprüft wurde. In Bezug auf die Pharmakokinetik der von Wildtyp und Variante transportierten Substanzen Leukotrien C4 und mono- und biglucuronyliertem Bilirubin fanden sich allerdings keine statistisch signifikanten Unterschiede. Oleschuk et al. (2003) zeigten, dass ein Austausch der Aminosäure Tryptophan an Position 1246 die Transportkapazität für E217 β G signifikant erhöhte, dagegen die für Methotrexat um 80 % reduzierte. Der Transport der Gallensalze Taurocholat und Glycocholat blieb allerdings unbeeinflusst. Die größte Studie über den Einfluss von Mutationen im MRP3-Gen führten Zhang et al. 2003 durch. Sie zeigten, dass die Mutation Ser1229Ala den Methotrexat-Transport, die Mutationen Ser1231Ala und Asn1231Ala den Transport von Etoposid und E217 β G erniedrigten, während die Mutation Glu1235Ala den Taurocholat-Transport erhöhte. Bisher wurde keine Studie über den Einfluss von Polymorphismen im MRP3-Gen auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin durchgeführt.

1.8.2.5 Polymorphismen im BCRP-Gen

Im BCRP-Gen wurden bis heute mindestens 19 SNPs gefunden (Bosch et al. 2005). In einer Studie von Mizuarai et al. (2004) mit 150 Proben einer kaukasischen Population und 30 Karzinom-Zelllinien wurden die bei ihnen am häufigsten gefundenen Polymorphismen untersucht. Sowohl der Aminosäureaustausch an Position 12, bei dem Valin durch Methionin (Val12Met), als auch an Position 141, bei dem Glutamin durch Lysin ersetzt wird (Gln141Lys), führte zu

einer reduzierten Resistenz gegenüber Indolocarbazol, Mitoxantron und Topotecan. Auch Mutationen, die einen Austausch der Aminosäure an Stelle 482 hervorrufen, beeinflussen die Substratspezifität. So zeigten sich Wildtyp-Zellen, die an dieser Stelle mit Arginin ausgestattet sind, resistent gegenüber Mitoxantron, SN38, Topotecan und Methotrexat, wohingegen Zellen mit Glycin bzw. Threonin (Arg482Gly bzw. Arg482Thr) an dieser Stelle zusätzlich eine Resistenz gegen Anthrazykline und Rhodamin 123 aufwiesen. Bei Zellen, die den Threonin-haltigen BCRP-Transporter exprimierten war auch die Resistenz gegen Mitoxantron stärker ausgeprägt (Honjo et al. 2001, Robey et al. 2001, Volk et al. 2002, Chen ZS et al. 2003). Wang X et al. (2003) fanden bei einer Doxorubicin-resistenten humanen T-Zelllinie noch eine weitere Mutation an Stelle 482: Dort wurde statt des Arginins Methionin (Arg482Met) identifiziert. Ein weiterer Aminosäureaustausch an Stelle 620, bei dem Asparaginsäure durch Asparagin ersetzt wird (Asp620Asn), führt zu einer höheren Expression, aber niedrigeren Aktivität im Vergleich mit dem Wildtyp (Vethanayagam et al. 2005).

1.9 Zielsetzung

In den letzten Jahren wurde die Krebstherapie mit Doxorubicin immer weiter optimiert. Durch Anwendung in Kombination mit anderen Zytostatika oder Kontrolle und Milderung der Nebenwirkungen konnte eine effektivere Therapie gewährleistet werden. Trotz dieser Fortschritte sind mangelnde Wirksamkeit und / oder das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen wie der Kardiotoxizität immer noch ungelöste Probleme. Wirksamkeit, aber auch die unerwünschten Wirkungen von Arzneimitteln werden durch den Verlauf der Arzneimittelkonzentration am Wirkort bestimmt. Diese wird neben dem Arzneimittel-Metabolismus maßgeblich durch den Arzneimittel-Transport beeinflusst.

In der vorliegenden Studie sollte der Einfluss von genetischen Polymorphismen der Membran-Transportproteine MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin und dessen Hauptmetaboliten Doxorubicinol untersucht werden. Im Fall eines signifikanten Zusammenhangs könnte eine prätherapeutische Genotypisierung zu einer individualisierten Dosisanpassung führen. Damit könnten Patienten, die durch das Auftreten von starken Wirkungen und / oder Nebenwirkungen gefährdet sind, mit niedrigeren Dosen behandelt werden. Patienten dagegen, die, durch *Multidrug*-Resistenz bedingt, zu niedrige Wirkspiegel haben, könnten durch höhere Dosen effektiver therapiert werden. Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag dabei auf der Mitentwicklung und Optimierung der klinischen Datenerhebung, der Patientenrekrutierung und Probengewinnung sowie der Analyse der in dieser Studie gewonnenen Daten.

2 Material

2.1 Chemikalien

Bezeichnung:	Hersteller:
10x EDTA -Puffer	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Aceton	Geyer, Nürnberg
Acetonitril	Geyer, Nürnberg
Agarose	Gibco/Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Ammoniumacetat zur Analyse	Merck-Hitachi, Darmstadt
Ampli-Taq-DNS-Polymerase	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Dimethylsulfoxid	Sigma, Deisenhofen
dNTP Set	ABgene, Hamburg
Doxorubicin (Lot 02T22)	TopoGen, Port Orange (FL, USA)
Doxorubicin (Lot 33404081)	Sigma, Deisenhofen
Ethanol	Geyer, Nürnberg
Ethidiumbromid	Merck-Hitachi, Darmstadt
Ficoll 400	Amersham, Pittsburgh (PA, USA)
Ficoll	Amersham, Pittsburgh (PA, USA)
Hot-GoldStar [®] Taq-DNS-Taq-Polymerase	Eurogentec, Seraing (Belgien) MBI Fermentas, St. Leon-Rot
PicoGreen [®] ds DNS quantification reagent	MoBiTec, Göttingen
Polyacrylamid Polymer POP-6 [™] 3100	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Restriktionsenzyme	New England Biolabs, Beverly (MA, USA)
Sephadex G-50 superfine	Amersham, Pittsburgh (PA, USA)
Taq-DNS-Polymerase	Qiagen, Hilden
TaqMan [®] Universal PCR Master Mix	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Tris	Roth, Karlsruhe

2.2 Leiter und Standards

Bezeichnung:	Hersteller:
Daumomycin	TopoGen, Port Orange (FL, USA)
DNS-Größenstandard (1 kb)	Rapidozym, Berlin

DNS-Größenstandard (100 bp)	Rapidozym, Berlin
Doxorubicin-HCl 10 mM	Sigma, Deisenhofen
	TopoGen, Port Orange (FL, USA)

2.3 Kits und Assays

Bezeichnung:	Hersteller:
BigDye-Sequenzierungs-Kit	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
EZ1 DNS Blood Kit	Qiagen, Hilden
QIAamp DNA Blood Midi Kit	Qiagen, Hilden

2.4 Gebrauchswaren

Bezeichnung:	Hersteller:
Adhäsiv PCR-Aluminiumfolie	ABgene, Hamburg
Adhäsiv PCR-Folie	ABgene, Hamburg
Eppendorf Reaktionsgefäße Safe-lock	Eppendorf, Hamburg
Federn für Mikroglyseinsätze	Merck-Hitachi, Darmstadt
Flat Cap Strips	ABgene, Hamburg
Gummistopfen	Schütt, Göttingen
Handschuhe Latex puderfrei Gr. M	Kimberley-Clark, Koblenz
Handschuhe NitraTex Gr. 8	Ansell, München
Handschuhe Zytostatika Gr. M	Berner International, Elmshorn
HPLC-Deckeleinsatz GL45 Silikon	Merck-Hitachi, Darmstadt
HPLC-Gläschen	Merck-Hitachi, Darmstadt
HPLC-Lampe	Merck-Hitachi, Darmstadt
HPLC-Pumpe	Merck-Hitachi, Darmstadt
HPLC-Schraubdeckel GL45	Merck-Hitachi, Darmstadt
Küvette (UVette) 0030106300	Eppendorf, Hamburg
Laborschalen	Roth, Karlsruhe
LiChrospher [®] 100 RP-8 HPLC-Säule	Merck-Hitachi, Darmstadt
LiChrospher [®] 100 CN HPLC-Vorsäule	Merck-Hitachi, Darmstadt
Magnetrührstäbchen	Schütt, Göttingen
MAHV N45	Millipore, Schwalbach
Mikroglyseinsätze 0,05 ml	Merck-Hitachi, Darmstadt

Optical Adhäsiv-Folie	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Pasteurpipette	Roth, Karlsruhe
PCR-Deckel	ABgene, Hamburg
PCR-Racks	Roth, Karlsruhe
Pipette 8-Kanal	Schütt, Göttingen
Pipettenspitzen mit Filter	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
Plate 96-Well	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
PTFE Septen	Merck-Hitachi, Darmstadt
Röhrchen 15 ml	Greiner, Flacht
Röhrchen 50 ml	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf
Schutzkittel Zytostatika BI6550	Berner International, Elmshorn
Thermo Fast Plate 384 PCR	ABgene, Hamburg
Thermo Fast Plate 96 PCR	ABgene, Hamburg
Vernichtungsbeutel 200x300 mm	Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf

2.5 Geräte

Bezeichnung:

Hersteller:

ABI Prism 7900HT	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Biophotometer 6313	Eppendorf, Hamburg
BioRobot [®] EZ1	Qiagen, Hilden
Eppendorf Zentrifuge 5810 R	Eppendorf, Hamburg
Feinwaage	Sartorius, Göttingen
Flour S [™] Multi Imager	BioRad, Hercules (CA, USA)
Heraeus-Tischzentrifuge: Biofuge pico	Schütt, Göttingen
HPLC-Pumpe L-7100 Hitachi-LaChrom	Merck-Hitachi, Darmstadt
HP ScanJet 5400c	Hewlett-Packard, Houston (TX, USA)
Mikrowelle MWS 2820	Bauknecht, Stuttgart
Multipette	Eppendorf, Hamburg
TECAN Ultra	Tecan, Crailsheim
Thermocycler PTC 200	Biozym, Hess. Oldendorf
Vortex Genie 2 [™]	Schütt, Göttingen
Wasserstrahlpumpe	Schütt, Göttingen
3100 Genetic Analyzer	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)

2.6 Software

Bezeichnung:	Hersteller:
D-7000 HPLC-System-Manager	Merck-Hitachi, Darmstadt
Excel Vers. 4.0	Microsoft, Redmond (Washington, USA)
File Builder	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
NONMEM	GloboMax™, Ellicott City (MD, USA)
Primer Express	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Quantity One S Vers. 4.2.1	BioRad, Hercules (CA, USA)
SDS Vers. 2.1	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
Sequencing Analysis Vers. 5.2	Applied Biosystems, Foster City (CA, USA)
X Fluor4 Vers. 4.40	Tecan, Crailsheim

2.7 Herstellung der verwendeten Medien und Stammlösungen

<u>Acrylamidlösung</u>	Acrylamid	4,1 M
	N,N-Metylenbisacrylamid	0,65 M
<u>dNTP – Mix</u>	dATP	10 mM
	dTTP	10 mM
	dGTP	10 mM
	dCTP	10 mM
<u>Fließmittel HPLC</u>	10 x Ammoniumacetatpuffer (250 mM, pH 4,0)	160 ml
	Acetonitril	400 ml
	bidest. H ₂ O	ad 2 l
<u>TBE-Laufuffer (10x) (pH 8.3)</u>	Tris	1 M
	Borsäure	1 M
	EDTA	30 mM

3 Methoden

3.1 Patienten und klinische Studiendurchführung

3.1.1 Studiendesign

Die Studie wurde als monozentrische Kohortenstudie durchgeführt. In die Studie wurden 94 Patienten der Abteilungen „Hämatologie / Onkologie“ und „Gynäkologie und Geburtshilfe“ des Universitätsklinikums Göttingen eingeschlossen, nachdem sie mündlich und schriftlich über die Studie informiert worden waren und ihr schriftliches Einverständnis gegeben hatten. Die Studie wurde der Ethik-Kommission der Universität Göttingen zur Begutachtung vorgelegt und ist positiv bewertet worden.

3.1.2 Fragestellung und Hauptzielgröße

Die vorliegende Studie untersucht den Einfluss von Genpolymorphismen der Membrantransporter MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin und seines Hauptmetaboliten Doxorubicinol. Die pharmakokinetische Hauptzielgröße war die totale Clearance von Doxorubicin.

3.1.3 Nebenzielgrößen

Zur detaillierteren Abschätzung der Pharmakokinetik wurden auch noch die Maximalkonzentration (C_{\max}), die auf die Dosis-normierten Flächen unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC_{last} und AUC_{inf} , siehe 3.6), die initiale und terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$ und $t_{1/2}(\beta)$) und die Verteilungsvolumina des zentralen und peripheren Kompartiments (V_1 und V_2) von Doxorubicin berechnet. Von Doxorubicinol wurden ebenfalls die Maximalkonzentration, die AUCs, die Clearance, die terminale Halbwertszeit und das Verteilungsvolumen berechnet.

Als weitere Nebenzielgröße wurde die Myelosuppression als Dosis-limitierende Nebenwirkung in Form der Leukozyten- und Thrombozyten-Nadire gewählt. Zur Kontrolle der myelosuppressiven Wirkung wurden die Thrombozytenzahl und die Leukozytenzahl vor Infusion durch die Abteilung der Klinischen Chemie der Universität Göttingen sowie an Tag 8, 12 und 14 nach Infusion sowie vor dem nächsten Chemotherapie-Zyklus durch niedergelassene Kollegen bestimmt.

Außerdem wurden genetische Polymorphismen der oben genannten Transporter untersucht, um einen Zusammenhang zwischen Pharmakogenetik und -kinetik erfassen zu können.

3.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden 94 stationäre Patientinnen und Patienten, die mit Doxorubicin-Dosen von 20 bis 75 mg/m² Körperoberfläche behandelt wurden. 89 der Patienten wurde dabei zum ersten Mal Doxorubicin infundiert, bei fünf Patienten lag eine vorangegangene Therapie mit Doxorubicin schon mindestens fünf Jahre zurück.

Ausgeschlossen wurden alle Patienten mit klinisch manifester Leber- oder Niereninsuffizienz. Außerdem wurden Patienten mit einer bekannten schwerwiegenden kardiologischen Vorerkrankung ausgeschlossen. Als weiteres Ausschlusskriterium galt eine gleichzeitige Therapie mit Amifostin, Mitoxantron, Mitomycin C oder Actinomycin D. Ausgeschlossen waren ferner Patienten, die jünger als 18 Jahre waren, sowie Patienten, die nicht bereit oder in der Lage waren, ihr Einverständnis in die Studienteilnahme zu geben.

3.1.5 Blutentnahmen für Pharmakokinetik-Messungen

Den Patienten wurde im Rahmen der Studie abhängig von der Dauer ihres stationären Aufenthalts bis zu sieben Mal venöses Blut entnommen. Dies geschah über zentrale oder periphere Venenkatheter oder durch direkte Blutabnahme. Die Konzentration von Doxorubicin und seines Metaboliten im Plasma wurde anhand von Blutproben untersucht, die zu folgenden Zeitpunkten in 7,5-ml-EDTA-Röhrchen abgenommen wurden:

Zeitpunkt 0:	Vor Infusion von Doxorubicin	
Zeitpunkt 1:	Direkt nach Ende der Infusion	
Zeitpunkt 2:	10 Minuten nach Ende Infusion	(Bereich: 6 - 14 Minuten)
Zeitpunkt 3:	30 Minuten nach Ende der Infusion	(Bereich: 20 - 40 Minuten)
Zeitpunkt 4:	4 Stunden nach Ende der Infusion	(Bereich: 1,5 - 5 Stunden)
Zeitpunkt 5:	24 Stunden nach Ende der Infusion	(Bereich: 20 - 28 Stunden)
Zeitpunkt 6:	48 Stunden nach Ende der Infusion	(Bereich: 40 - 58 Stunden).

Die Zeitbereiche wurden großzügig gewählt, damit die Zeitpunkte der Blutentnahmen dem klinischen Zustand bzw. den Wünschen des Patienten angepasst werden konnten. Unmittelbar nach Blutabnahme wurden die Blutproben zentrifugiert, das Plasma abpipettiert und diese Proben bis zur Weiterverarbeitung bei -20 °C eingefroren. Außerdem erfolgte eine einmalige Blutentnahme mit einem EDTA-Röhrchen zur DNS-Extraktion.

3.1.6 Weitere als Nebenzielgrößen erfasste Laborparameter und klinische Daten

Die klinischen Daten der Patienten wurden mit für diese Studie erstellten Fragebögen aus den vorliegenden Akten und durch Befragung der Patienten selbst erfasst. Erfragt wurden allgemeine Patientendaten, wie Alter, Körpergröße, Körperoberfläche, Art der Erkrankung, ob ein Rezidiv vorlag, Therapieschema, die Verstoffwechslung beeinflussende Faktoren wie Rauchen, Alkoholgenuss und die Anamnese hinsichtlich Leber-, Nieren- und Magen-Darm-Erkrankungen. Im Rahmen der Untersuchung der Laborparameter durch die Abteilung „Klinische Chemie“ der Universität Göttingen wurden zur Abschätzung der hepatobiliären Funktion vor Chemotherapie die Transaminasen und die γ -GT bestimmt und in die vorliegende Auswertung übernommen. Ebenfalls wurden die verordneten Medikamente am ersten Tag der Chemotherapie und an den vier darauf folgenden Tagen ermittelt. Diese wurden in fünf Gruppen unterteilt: Zytostatika, Begleitmedikamente, Antiemetika, Glukokortikoide und Granulozyten-stimulierende Medikamente.

3.2 Konzentrationsanalysen von Doxorubicin und Doxorubicinol

Die Plasmakonzentrationen von Doxorubicin und Doxorubicinol wurden mittels *High performance liquid chromatography* bestimmt.

3.2.1 Prinzipien der HPLC

Die *High performance liquid chromatography* (HPLC) ist ein Verfahren der Säulen-Flüssigkeitschromatographie. Bei diesem Trennverfahren wird die zu analysierende Probe in der flüssigen bzw. mobilen Phase (Eluent) gelöst und unter hohem Druck über die stationäre Phase (Trennsäule) transportiert. Tritt ein Bestandteil des zu untersuchenden Substanzgemisches stark mit der stationären Phase in Wechselwirkung, verbleibt er relativ lange in der Säule. Interagiert er hingegen schwach mit der stationären Phase, verlässt er die Säule früher. Je nach Stärke dieser Wechselwirkungen erscheinen die Bestandteile der biologischen Probe zu verschiedenen Zeiten, den Retentionszeiten, am Ende der Trennsäule, wo sie dann mit einem geeigneten Detektor nachgewiesen und dessen Signale z.B. an ein Daten-verarbeitendes Programm weitergeleitet werden können.

Man kann bei der HPLC zwei Arbeitsweisen unterscheiden: Bei der isokratischen Arbeitsweise bleiben Zusammensetzung des Eluenten und die Fließmittelstärke während des Trennvorganges konstant. Sie ist ausreichend, wenn die zu bestimmenden Substanzen keine zu großen Retentionszeiten-Unterschiede aufweisen. Bei Substanzen, deren Retentionszeiten sich stark unterscheiden, wird hingegen die Gradientenelution bevorzugt, bei der der Eluent

unterscheiden, wird hingegen die Gradientenelution bevorzugt, bei der der Eluent während des Trennvorganges variabel zusammengesetzt und die Fließmittelstärke erhöht wird.

Je nach Art der Polarität von stationärer Phase unterscheidet man außerdem zwischen folgenden Trennmechanismen: der *normal phase* (NP) und der *reversed phase* (RP). Bei der NP-HPLC wird eine polare stationäre Phase (z.B. Kieselgele) genutzt. Die Stärke der Elutionskraft der mobilen Phase ist damit abhängig von deren Polarität. Je polarer eine mobile Phase ist, desto schneller wird eine Substanz eluiert. Polare Moleküle werden auf der Säule länger zurückgehalten als unpolare Moleküle und verlassen deshalb später die Säule. Die verschiedenen Lösungsmittel sind nach steigender Polarität in der elutropen Reihe angeordnet.

Bei der RP-HPLC hingegen wird eine polare stationäre Phase mit einer unpolaren Schicht aus Alkanen überzogen, die Polarität also umgekehrt (*reversed*). Als mobile Phase werden polare Mischungen aus Wasser oder Puffer und Acetonitril, Tetrahydrofuran (THF) oder Methanol eingesetzt. Die Elutionskraft sinkt mit steigender Polarität. Die RP-HPLC wurde 1976 von Hulhoven und Desager als Verfahren zur quantitativen und qualitativen Analyse von Doxorubicin und seinen Metaboliten etabliert.

3.2.2 Durchführung der HPLC

3.2.2.1 Herstellung der Stammlösungen

Um den Gehalt an Doxorubicin und Doxorubicinol im Patientenserum mit standardisierten Konzentrationen der Arzneistoffe vergleichen zu können, wurden jeweils Stammlösungen hergestellt. Die Doxorubicin-Stammlösungen wurden folgendermaßen hergestellt: Als Stammlösung Dox₀ wurde eine gebrauchsfertige Lösung der Firma Fluka (Lot 33404081 mit 2 mg/ml) gewählt, in der 10 mg Doxorubicin ($M = 580 \text{ g/mol}$) in 5 ml Wasser enthalten waren. Dox₀ wurde mit Wasser und Methanol verdünnt, bis in der Stammlösung Dox₂ eine Konzentration 10 µg Doxorubicin pro ml enthalten war.

Die Ausgangslösung Doxol₀ für die Doxorubicinol-Stammlösungen wurde von Dr. Anders Andersen (Klinische Pharmakologie Oslo, Norwegen) bezogen und enthielt 1 mg Doxorubicinol ($M = 596 \text{ g/mol}$) in 1 ml Wasser. Die Stammlösung Doxol₂ wurde durch Verdünnung mit Methanol und Wasser auf eine Konzentration von 10 µg/ml reduziert. Aus den beiden Stammlösungen Dox₂ und Doxol₂ wurden zwei Mixe hergestellt. Mix₀ enthielt je 300 µl der Stammlösungen 2 und 100 µl Wasser. Mix₀ ($c = 3 \text{ µg/ml}$ Methanol/Wasser) wurde dann 1:10 mit Wasser auf eine Konzentration von 0,3 µg/ml Methanol/Wasser in Mix₁ und nochmals

1:10 mit Wasser auf 30 ng/ml Methanol/Wasser zu Mix₂ verdünnt. Als interner Standard wurde Daunorubicin (M = 564 g/mol) von der Firma TopoGen (Port Orange, FL, USA) in einer Konzentration von 10 mMol bezogen. Aus dieser als Stammlösung Dau₀ bezeichneten Lösung wurde durch Verdünnung mit Wasser und Methanol auf 0,6 µg/ml die Stammlösung Dau₂ hergestellt. Alle Stammlösungen wurden bei -80 °C, die Mixe 0, 1 und 2 bei -20 °C aufbewahrt.

3.2.2.2 Aufarbeitung der Plasmaproben

Zur Bestimmung der Substanzen Doxorubicin und Doxorubicinol im humanen Plasma wurde eine in der Abteilung „Klinische Pharmakologie“ der Universität Göttingen von Ellen Bruns entwickelte und hinsichtlich der Stabilität des Doxorubicins im Rahmen dieser Studie von Gisela Kersting verbesserte Methode angewandt. Die Patienten-Plasmaproben wurden nach circa halbstündigem Auftauen kurz zentrifugiert, um feste Bestandteile wie z.B. Fibrinfasern zu entfernen. Zur Fällung im Plasma enthaltener Proteine, Lipide oder Kohlenhydrate wurden jeweils 300 µl des Patientenplasmas, 290 µl Acetonitril und 10 µl der Stammlösung Dau₂ als interner Standard hinzugefügt, alles gut gemischt und anschließend bei 13000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert. Daraufhin wurden 400 µl des Überstands bei Raumtemperatur in leichtem Stickstoffstrom zur Trockne eingengt. Die getrocknete Substanz wurde in 150 µl Fließmittel aufgenommen und gevortext. Diese Lösung wurde bei 13000 rpm drei Minuten lang zentrifugiert. 100 µl des Überstandes wurden in HPLC-Fläschchen mit Einsatz überführt und davon jeweils die Hälfte chromatographiert. Van Asperen et al. schlugen 1998 vor, die Proben während des HPLC-Durchlaufs auf 4 °C zu kühlen um einen Stabilitätsverlust zu vermeiden. Um die Konzentrationen von Doxorubicin und seines Metaboliten im Patientenplasma berechnen zu können, wurde bei jedem Lauf eine Kalibrationsreihe, die Doxorubicin und Doxorubicinol in verschiedenen Konzentrationen enthielt, mituntersucht. Die Kalibrationsreihe bestand aus acht Proben, die sich wie in Tabelle 1 beschrieben zusammensetzten.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Kalibrationsreihe

Arzneistoff-Konzentration [ng/ml]	Kälberserum [µl]	Mix	Menge des Mixes [µl]
Nullwert	300		
2	280	Mix 2	20
5	295	Mix 1	5
10	290	Mix 1	10
25	275	Mix 1	25
50	250	Mix 1	50
100	290	Mix 0	10
300	270	Mix 0	30

Zur Stabilitätskontrolle wurden bei jedem Lauf Qualitätskontrollen mituntersucht. Die drei verwendeten Qualitätskontrollen (QC) bestanden aus den unter 3.2.2.1 beschriebenen Mixen 0 und 1 und Kälberserum. QC-5 wurde aus 200 μl Mix₁ und 11,8 ml Kälberserum, QC-100 aus 80 μl Mix₀ und 11,9 ml Kälberserum und QC-300 aus 400 μl Mix₀ und 11,6 ml Kälberserum vor jeder Messung hergestellt und portioniert bei -20 °C eingefroren. Außerdem wurde vor jeden Untersuchungslauf in der HPLC-Anlage ein Referenz-Gemisch gesetzt. Dieses bestand aus 30 μl Mix₁ und 10 μl internem Standard (= Dau₂).

3.2.2.3 HPLC-Analyse der Plasmaproben

Die HPLC-Analyse wurde mit einer HPLC-Anlage der Firma Merck-Hitachi (Darmstadt) durchgeführt. Als Trennsäule wurde eine Merck LiChrospher®-100-RP-8 Säule (125 x 8 mm) eingesetzt. Zur Schonung der Trennsäule wurde die Vorsäule Merck LiChrospher®-100-CN (4 x 4 mm) ausgewählt. Ein Ofen sorgte für eine konstante Temperatur von 25 °C. Das vor jedem Lauf frisch angesetzte und entgaste Fließmittel bestand aus 80 % Ammoniumacetat (25 mM, pH 4,0) und 20 % Acetonitril. Da sich die Retentionszeiten von Doxorubicin und Doxorubicinol nicht zu stark unterscheiden, konnte isokratisch mit einem Säulendruck von 130 bar und einer Fließmittengeschwindigkeit von 1,5 ml/min gearbeitet werden. Die Substanzen wurden bei 480 nm zur Fluoreszenz angeregt und die Emissionen bei einer Wellenlänge von 595 nm detektiert. Alle Chromatogramme wurden durch die D-7000-HPLC-System-Manager-Software manuell nachbearbeitet, indem alle Peakflächen durch die Peakfläche des internen Standards dividiert wurden. Auf diese Weise konnten Pipettier- oder Infektionsfehler ausgeglichen werden. Die Berechnung der Konzentrationen der zu untersuchenden Substanzen wurde durch das Software-Programm REGRESS Vers. 3.0 gewährleistet.

3.3 DNS-Extraktion aus Leukozyten

Die Isolierung der DNS wurde durch zwei verschiedene automatisierte Methoden erreicht: Erstens mit Hilfe des QIAamp-DNS-Blood-Midi-Kit und zweitens durch den BioRobot EZ1. Mit Hilfe des QIAamp-DNS-Blood-Midi-Kits (Quiagen, Hilden) erfolgte die DNS-Isolierung in drei Schritten: Nach der mechanischen und chemischen Lyse der Zellen wurde die DNS aus dem Lysat an die positiven Ladungen von Ionenaustausch-Chromatographiesäulen reversibel gebunden. Um die DNS von Verunreinigungen zu befreien, die eine nachfolgende PCR stören könnten, wurde die Silikatmembran der Säulen mit der gebundenen DNS mehrmals gewaschen. Die gereinigte DNS wurde mit autoklaviertem Wasser von den QIAamp-Säulen eluiert. Hierbei betrug das Elutionsvolumen 300 μl . Anschließend wurde die DNS erst bei 4 °C gelagert und danach bei -20 °C eingefroren.

BioRobot EZ1 führt die DNS-Extraktion mit Hilfe von Magnetpartikeln durch. Auch hier wurden die zu untersuchenden Zellen zuerst lysiert. Danach erfolgte die DNS-Bindung an die Magnetpartikel. Nach mehreren Waschvorgängen wurde die gereinigte DNS eluiert und anschließend ebenfalls bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

3.4 Photometrische Bestimmung der DNS-Konzentration

Die Konzentration und Reinheit der DNS-Proben wird durch photometrische Messung der drei Wellenlängen 230 nm, 260 nm und 280 nm bestimmt. Dabei entspricht eine Extinktion von 1,0 bei einer Wellenlänge von 260 nm einer Konzentration von 50 ng/ μl doppelsträngiger DNS. Die Reinheit einer DNS-Probe ergibt sich aus den Extinktionskoeffizienten 260 nm/280 nm bzw. 260 nm/230 nm und liegt bei sauberer DNS-Präparation zwischen 1,8 und 2,0. Die einzelnen DNS-Proben wurden auf 10 ng/ μl in 100 μl bidest. H_2O verdünnt und im ABI PRISM 7900HT (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ausgewertet. Um mehrere Proben gleichzeitig messen zu können, bedient man sich der PicoGreen®-Färbung. Nach Interkalation des Farbstoffs mit der DNS kann die Fluoreszenz des Interkalationsproduktes bei einer Wellenlänge von 485 nm/553 nm gemessen werden. Dazu wurden jeweils 5 μl 1:20 verdünnte DNS und 200 μl 1:400 mit TE-Puffer verdünnte PicoGreen®-Lösung in die Löcher einer Mikrotiterplatte gegeben, gemischt, zentrifugiert und vor Messung 30 Minuten im Dunklen inkubiert. Eine Standardreihe mit DNS-Konzentrationen von 0 bis 120 ng/ μl wurde ebenso erstellt. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software X Fluor4 (Tecan, Crailsheim).

3.5 Methodik zur Bestimmung der Transporterpolymorphismen

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden zehn Transporterpolymorphismen untersucht. Die Genotypisierung dieser Varianten erfolgte anhand von drei verschiedenen Techniken. Die Genotypisierung von BCRP Gln141Lys wurde mittels PCR und anschließender Restriktionsfragmentlängen-Analyse erreicht (3.5.1). Die Genotypisierung von MDR1 Ile1144Ile, MRP2 -24 C>T, MRP2 Val1188Glu, MRP2 Ile1324Ile, MRP2 Cys1515Tyr, MRP3 Arg1297His und MRP3 His1314His erfolgte durch Allel-diskriminierende *Real-Time*-TaqMan®-PCR (3.5.2). Außerdem wurde eine Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung nach Sanger zur Genotypisierung von MDR1 Ala893Ser/Thr und MRP1 Gln671Val durchgeführt (3.5.3).

3.5.1 PCR und Restriktionsfragmentlängen-Analyse zur Genotypisierung von BCRP Gln141Lys

Diese Technik läuft in vier Teilschritten ab: Zuerst wird die DNS mittels einer Polymerasekettenreaktion amplifiziert. Anschließend wird das Amplifikat auf einem Gel sichtbar ge-

macht. Daraufhin erfolgt der Mutationsnachweis mittels Restriktionsenzymen. Die entstandenen DNS-Fragmente können dann wieder auf einem Gel analysiert werden.

3.5.1.1 Polymerasekettenreaktion zur DNS-Amplifizierung

3.5.1.1.1 Prinzipien der Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion (*Polymerase chain reaction*, PCR) ist eine in-vitro-Technik, in der ein DNS-Abschnitt, der von zwei bekannten DNS-Sequenzen eingefasst wird, vervielfältigt werden kann. Die PCR beruht auf einem immer wiederkehrenden Zyklus aus drei Schritten: Zuerst wird das Reaktionsgemisch aus der zu vervielfältigenden Doppelstrang-DNS, hitzestabilen DNS-Polymerasen (z.B. Taq-Polymerasen aus *Thermus aquaticus*), Primern und Nukleotiden auf 90 bis 95 °C erhitzt. Dabei werden die Wasserstoffbrückenbindungen, die die beiden DNS-Stränge zusammenhalten, aufgebrochen. Danach liegt einzelsträngige DNS vor. Durch ein Herabsetzen der Temperatur auf 55 bis 60 °C lagern sich Primer an die Einzelstrang-DNS an. Dieser Vorgang wird Hybridisierung oder *Annealing* (Anlagerung) genannt. Im letzten Schritt, der Elongation (Verlängerung), füllen die DNS-Polymerasen, beim angelagerten Primer beginnend, die fehlenden Stränge in 5'→3'-Richtung auf. Dazu wird die Temperatur auf 72 °C, der idealen Arbeitstemperatur der Polymerasen, erhöht. Im nächsten Zyklus werden die beiden DNS-Stränge wieder getrennt, die Primer angelagert und mittels Taq-Polymerasen wieder zu DNS-Doppelsträngen ergänzt. Dieser Zyklus wird je nach Reaktion 25 bis 35 Mal wiederholt, am Ende liegen nach n Zyklen 2^n Kopien des ursprünglichen DNS-Abschnittes vor.

3.5.1.1.2 Durchführung der Polymerasekettenreaktion

Die Polymerasekettenreaktion wurde mit Hilfe des Thermocyclers PTC 200 (Biozym, Hess. Oldendorf) durchgeführt. Das Reaktionsgemisch bestand aus folgenden Substanzen:

→ Reaktionsgemisch zur Amplifizierung von BCRP Gln141Lys:

4 µl	10x PCR-Puffer
0,4 µl	BCRP-Gln141Lys-Vorwärtsprimer (10 µM) (Sequenz: 5´GTT GTG ATG GGC ACT CTG ATG GT 3´)
0,4 µl	BCRP-Gln141Lys-Rückwärtsprimer (10 µM) (Sequenz: 3´CAA GCC ACT TTT CTC ATT GTT 5´)
0,8 µl	dNTP (2 mM)
0,2 µl	Taq-Polymerase
1,0 µl	DNS
ad 20,0 µl	H ₂ O

Die Reaktionsbedingungen für die PCR sahen wie folgt aus:

→ Reaktionsbedingungen zur Amplifizierung von BCRP Gln141Lys:

1. Zyklus:	Denaturierung	94 °C	5 min
24 Zyklen:	Denaturierung	94 °C	30 s
	<i>Annealing</i>	57,6 °C	1 min
	Elongation	72 °C	1 min
Abschließend:	Extension	72 °C	7 min

Die Visualisierung des gewonnenen PCR-Amplifikats fand nach elektrophoretischer Auftrennung mit Ethidiumbromid in Agarosegel statt.

3.5.1.2 Analyse von DNS-Fragmenten durch Auftrennung mittels Agarose-Gelelektrophorese

3.5.1.2.1 Prinzipien der Agarose-Gelelektrophorese

Bei der Agarose-Gelelektrophorese werden Nukleinsäurefragmente durch Wanderung entlang eines elektrischen Feldes ihrer Größe nach aufgetrennt. Durch Anfärben mit Ethidiumbromid können die Fragmente im UV-Licht (Wellenlänge 254 nm) sichtbar gemacht werden.

3.5.1.2.2 Durchführung der Agarose-Gelelektrophorese

In diesem Fall wurden die PCR-Produkte größenabhängig in 3 % Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. Die erforderliche Menge Agarose wurde unter Aufkochen in 1x TBE-Puffer gelöst, anschließend unter Rühren abgekühlt, mit Ethidiumbromid versetzt und in eine Gelkammer gegossen. Nach Auftragen des mit 5 µl Probenpuffer versetzten PCR-Amplifikates erfolgte dessen Auftrennung in TBE-Laufpuffer bei einer Spannung von etwa 120 V/cm Gellänge. Die so aufgetrennten DNS-Fragmente wurden durch den Fluor STM Multi Imager (BioRad, Hercules, CA, USA) sichtbar gemacht und ihre Größe durch paralleles Mitlaufen eines Längenstandards während der Elektrophorese bestimmt.

3.5.1.3 Restriktionsfragmentlängen-Analyse

3.5.1.3.1 Prinzipien der Restriktionsfragmentlängen-Analyse

Die Restriktionsfragmentlängen-Analyse ist eine Methode zum Nachweis von DNS-Mutationen. Hierbei macht man sich die Eigenschaft von Restriktionsendonukleasen zu Nutze, sequenzspezifisch DNS spalten zu können. Durch ein SNP kann es zur Schaffung oder zur Entfernung einer Restriktionsstelle in der DNS kommen.

3.5.1.3.2 Durchführung der Restriktionsfragmentlängen-Analyse

Die Genotypisierung des BCRP-Gln141Lys-Polymorphismus wurde mit Hilfe der Restriktionsendonuklease TaaI durchgeführt. Das Reaktionsgemisch zur Genotypisierung von BCRP Gln141Lys bestand aus folgenden Substanzen:

→ Reaktionsgemisch zur Genotypisierung von BCRP Gln141Lys:

5 µl	PCR-Ansatz (siehe 3.5.1.1.2)
0,5 µl	bidest. H ₂ O
0,75 µl	Puffer 4 (New England Biolabs, Beverly, MA, USA)
1,25 µl	Helicobacter pylori CH ₄ (= TaaI)

Die dabei entstandenen Fragmente wurden auf einem 3%igen Gel sichtbar gemacht (siehe Abbildung 5).

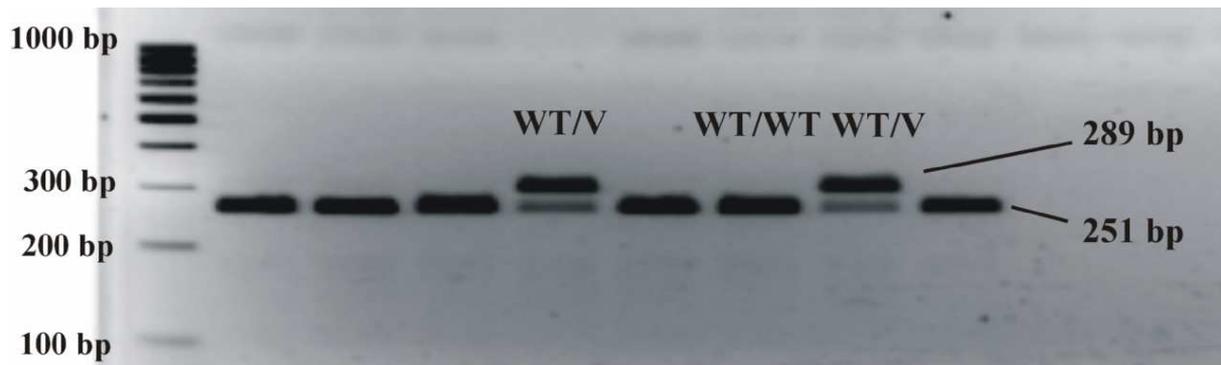


Abbildung 5: Genotypisierung von BCRP Gln141Lys mittels Restriktionsfragmentlängen-Analyse (WT/WT = homozygot Wildtyp, WT/V = heterozygot). Der homozygote WT zeigt zwei Teilfragmente mit 38 bp und 251 bp, die homozygote Variante, die in dieser Studie nicht vorkam, würde ein Fragment mit 289 pb zeigen und bei einem heterozygoten Träger treten drei Fragmente à 38, 251 und 289 bp auf. Die 38-bp-Bande ist auf Grund ihrer geringen Größe nicht zu sehen.

3.5.2 Allel-diskriminierende *Real-Time-TaqMan*®-PCR zur Genotypisierung der Polymorphismen MDR1 Ile1144Ile, MRP2 -24 C>T, MRP2 Val1188Glu, MRP2 Ile1324Ile, MRP2 Cys1515Tyr, MRP3 Arg1297His und MRP3 His1314His

3.5.2.1 Prinzipien der Allel-diskriminierenden *Real-Time-TaqMan*®-PCR

Die Allel-diskriminierende TaqMan®-PCR beruht auf dem Prinzip der *Real-Time-TaqMan*®-PCR. In einer *Real-Time*-PCR werden - wie in einer konventionellen PCR - genspezifische Primer, die an die DNS binden, eingesetzt. Zusätzlich hybridisiert zwischen den beiden Primern ein fluoreszierendes, genspezifisches Oligonukleotid (Sonde) an die während der PCR amplifizierte DNS. Diese Sonde ist am 5'-Ende mit einem fluoreszenten Reporterfarbstoff (Fluoreszin-Derivat FAM für die Wildtyp-spezifische Sonde und der Farbstoff VIC für die Varianten-spezifische Sonde) und am 3'-Ende mit einem Quencherfarbstoff (Rhodaminderivat) markiert, der bei intaktem Zustand der Sonde die Fluoreszenz des Reporters unterdrückt. Diesen Vorgang nennt man *Fluorescence resonance energy transfer* (FRET). Außerdem befindet sich am 3'-Ende der Sonden noch ein so genannter *Minor groove binder* (MGB), der den Schmelzpunkt der Sonde erhöht und damit die Herstellung kürzerer Sonden ermöglicht.

Im Verlauf der PCR-Reaktion hybridisiert die Sonde an den DNS-Matrizenstrang. In der Elongationsphase wird der Primer am 3'-Ende von der im Reaktionsgemisch enthaltenen Taq-Polymerase verlängert, trifft auf die Sonde und beginnt sie zu verdrängen. Durch die entstehende Y-förmige DNS-Gabelung wird die 5'→3'-Exonuklease-Fähigkeit der DNS-Polymerase aktiviert und die Sonde in Nukleotide gespalten (Lyamichev et al. 1993). Durch diese Sondenhydrolyse wird die räumliche Nähe zwischen Reporter und Quencher und damit

auch die Auslöschung der Fluoreszenz unterbrochen. Folglich wird dann Licht in einer für den jeweiligen Farbstoff spezifischen Wellenlänge emittiert. Da die Amplifikatmenge mit jedem PCR-Zyklus zunimmt, steigt auch die Fluoreszenz des Reporters mit jedem Zyklus an (Giulietti et al. 2001). Diese ansteigende Fluoreszenzemission wird durch einen Detektor während der PCR, also in *real time*, gemessen. Dabei ist das Fluoreszenzsignal streng sequenzspezifisch, da nicht korrekt bindende Sondenmoleküle nicht verdrängt werden und also auch nicht durch die Exonukleasetätigkeit der DNS-Polymerase gespalten werden können.

Im Verlauf einer effektiven PCR wird die Menge des Startmaterials mit jedem Zyklus verdoppelt, was sich bei der *Real-Time-PCR* zunächst in einem Anstieg des Fluoreszenzsignals darstellt. Bei höheren Zykluszahlen ist allerdings die Menge an Primern und aktivem Enzym limitierend, so dass die Reaktion in eine Plateauphase übergeht.

Zur Unterscheidung von verschiedenen Allelen eines SNPs werden die Sonden für die beiden Allele mit verschiedenen Reporterfarbstoffen markiert. Bei Homozygotie für das Wildtyp-Allel findet eine effizientere Anlagerung und damit Spaltung der Wildtyp-spezifischen Sonde statt, wodurch deren Fluoreszenz hoch ist. Bei Homozygotie für das Mutanten-Allel verhält es sich umgekehrt und bei Heterozygotie sind die Fluoreszenzen der beiden Sonden ähnlich.

3.5.2.2 Durchführung der Allel-diskriminierenden *Real-Time-TaqMan*®-PCR

Die ausgewählten Sonden und Primer wurden von der Firma Applied Biosystems (Foster City, CA, USA) als *Assay by Design* (siehe Tabelle 2) bzw. *Assay on Demand* (siehe Tabelle 3) synthetisiert. Folgende Ansätze wurden für die Reaktionsgemische angewandt:

→ *Assay-by-Design*-Reaktionsgemisch zur Genotypisierung von MRP2 Val1188Glu, MRP2 Cys1515Tyr und MRP3 Arg1297His

0,125 µl	<i>Assay-by-Design</i> -40x-Mix (siehe Tabelle 2)
2,5 µl	TaqMan®-Universal-PCR-Master-Mix
ad 4,0 µl	H ₂ O

Tabelle 2: Verwendete *Assays by Design* für die allelische Diskriminierung

<i>Assay by Design</i> für die allelische Diskriminierung		
Transporter-Variante		Sequenz
MRP2 Val1188Glu	Vorwärtsprimer	5'GCC AGT TAT CCG TGC CTT TGA 3'
	Rückwärtsprimer	5'AGG TGA TCC AGG AAA AGA CAC ATTT 3'
	Wt-Sonde (FAM)	5' FAM -ACA ATG AGG A GA GGA T- Q-MGB 3'
	Var-Sonde (VIC)	5' VIC -AC ACA ATG AGG T GA GGA T- Q-MGB 3'
MRP2 Cys1515Tyr	Vorwärtsprimer	5'GTT TCA GGG TAA TGG TCC TAG ACA A 3'
	Rückwärtsprimer	5'CCA GGG ATT TGT AGC AGT TCT TCA G 3'
	Wt-Sonde (FAM)	5' FAM -AT TAT AGA GT A CGG CAG CC- Q-MGB 3'
	Var-Sonde (VIC)	5' VIC -AGA GT G CGG CAG CC- Q-MGB 3'
MRP3 Arg1297His	Vorwärtsprimer	5'CGC CCT CCC GAA GGT T 3'
	Rückwärtsprimer	5'GTC TCT CAG CAC CAG GTC TAG 3'
	Wt-Sonde (FAM)	5' FAM -TT ATT CTG TGC A CT ACC G- Q-MGB 3'
	Var-Sonde (VIC)	5' VIC -ATT CTG TGC G CT ACC G- Q-MGB 3'

Grau hinterlegt sind die polymorphen Nukleotide.

FAM und VIC = Reporterfarbstoffe, Q = Quencher, MGB = Minor Groove Binder

→ *Assay-on-Demand-Reaktionsgemisch zur Genotypisierung von MDR1 Ile1144Ile, MRP2 -24 C>T, MRP2 Ile1324Ile und MRP3 His1314His:*

0,25 µl	<i>Assay-on-Demand-20x-Mix</i> (siehe Tabelle 3)
2,5 µl	TaqMan®-Universal-PCR-Master-Mix
ad 4,0 µl	H ₂ O

Tabelle 3: Verwendete *Assays on Demand* für die allelische Diskriminierung

<i>Assay on Demand</i> für die allelische Diskriminierung	
Transporter-Variante	<i>Assay</i> -Nummer (rs Nummer) *
MDR1 Ile1144Ile	C_7586657_1_ (rs1045642)
MRP2 -24 C>T	C_2814642_10 (rs717620)
MRP2 Ile1324Ile	C_11214910_1_ (rs3740066)
MRP3 His1314His	C_15885015_10 (rs2277624)

* Die Sequenzen der Sonden wurden von der Firma Applied Biosystems (Foster City, CA, USA) nicht mitgeteilt.

Von den jeweiligen Reaktionsgemischen wurden 4 µl zusammen mit 1 µl Patienten-DNS in die Löcher einer 384-Loch-Platte gegeben. Für die Negativ- und Kontaminationskontrolle wurde statt der DNS Wasser hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde im ABI PRISM 7900HT (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) untersucht. Die Allel-diskriminierende TaqMan®-PCR verlief folgendermaßen: Zuerst wurde das Reaktionsgemisch für zwei Minu-

ten auf 50 °C erwärmt. Bei dieser Temperatur konnte die hinzugefügte Uracil-N-Glycosylase (UNG) verschleppte Amplifikate, die dUTP enthalten, verdauen, während die Patienten-DNS dTTP enthält und so nicht zerstört wird. Anschließend wird die Temperatur für 10 Minuten auf 95 °C erhöht, der Aktivierungstemperatur für die HotStart-Polymerase. Es folgen 40 Zyklen mit jeweils 95 °C für 10 Sekunden zur Denaturierung und 60 °C für eine Minute zum *Annealing* und zur Elongation.

→ Reaktionsbedingungen für die Allel-diskriminierende TaqMan®-PCR:

1. Zyklus:	UNG-Verdau	50 °C	2 min
	Denaturierung	95 °C	10 min
40 Zyklen:	Denaturierung	95 °C	10 s
	<i>Annealing</i> und Elongation	60 °C	1 min

Die Fluoreszenz wurde mit Hilfe des ABI PRISM 7900HT detektiert. Ein Anstieg der FAM-Fluoreszenz sprach dabei für das Vorliegen eines Wildtyp-Alles, ein Anstieg der VIC-Fluoreszenz dagegen für das Vorliegen des varianten Allels. Bei Heterozygotie war der Signalanstieg für beide Farbstoffe ähnlich groß. Beispielhaft ist hier das Ergebnis der Allel-diskriminierenden TaqMan®-PCR des MDR1-Ile1144Ile-Polymorphismus dargestellt.

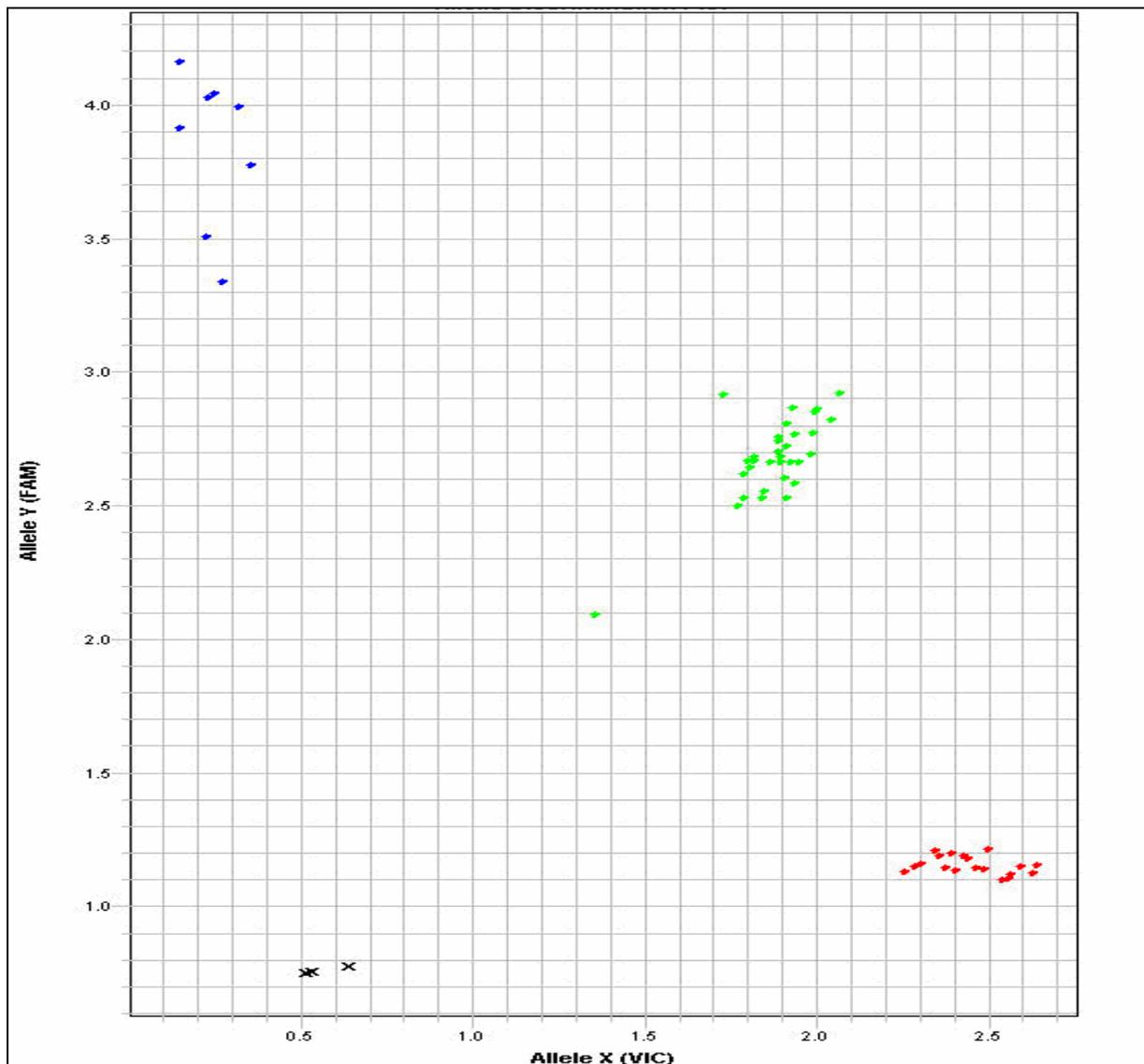


Abbildung 6: Genotypisierung von MDR1 Ile114Ile mittels Allel-diskriminierender TaqMan®-PCR
 unten rechts: Variante (VIC), oben links: Wildtyp (FAM), in der Mitte: Heterozygote Träger (Both), unten links: nicht detektiert)

3.5.3 Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung nach Sanger zur Genotypisierung von MDR1 Ala893Ser/Thr und MRP1 Gln671Val

3.5.3.1 Prinzipien der Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung

In der vorliegenden Studie wurde die DNS-Sequenzierung nach Sanger benutzt, soweit die Polymorphismen weder mittels *Real-Time*-PCR noch mittels Varianten-spezifisch schneidender Enzyme detektiert werden konnten. Die Dideoxy-Kettenabbruch-Methode zum Ermitteln der Basenabfolge einer DNS beruht auf dem Prinzip, dass DNS-Fragmente, die durch einen durch ein Dideoxynukleotid vermittelten kontrollierten Abbruch der enzymatischen Replika-

tion des DNS-Einzelstrangs erzeugt wurden, elektrophoretisch nach ihrer Größe aufgetrennt und anschließend detektiert werden (Sanger et Coulson 1975, Sanger et al. 1977).

Das Reaktionsgemisch enthält Matrizen-DNS, einen Primer bekannter Sequenz, DNS-Polymerase, alle vier Deoxynukleosidtriphosphate (dNTPs) und zusätzlich die vier Dideoxynukleosidtriphosphate (ddNTPs), die mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind. Ausgehend vom Primer wird einer der beiden komplementären DNS-Stränge durch die DNS-Polymerase verlängert. Das Enzym akzeptiert dabei sowohl die dNTPs als auch die ddNTPs als Substrate. Wird allerdings ein ddNTP zur Kettenverlängerung verwendet, fehlt diesem die 3'-OH-Gruppe zur Ausbildung der Phosphodiesterbindung zum nächsten Kettenmitglied und die Synthese stoppt an einer bestimmten Basensorte. Das 5'-Ende jedes Fragments wird vom markierten Primer gebildet, während das 3'-Ende aus dem Dideoxy-Nukleotid der entsprechenden Einzelreaktion besteht. In einem Polyacrylamid-Gel werden diese DNS-Fragmente nach ihrer Größe getrennt und mittels eines Lasers zur Fluoreszenz angeregt. Aus dem Farbmuster kann man dann Rückschlüsse auf die Sequenz der untersuchten DNS ziehen.

3.5.3.2 Durchführung der Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung

Um für die Sequenzierung eine ausreichende Menge DNS zu haben, wurde zuerst eine PCR (siehe 3.5.1.1.1) durchgeführt. Die Reaktionsgemische bestanden aus folgenden Substanzen:

→ Reaktionsgemisch zur Amplifizierung von MDR1 Ala893Ser/Thr:

0,2 µl	dNTP (10 mM)
0,2 µl	MDR1-Ala893Ser/Thr-Vorwärtsprimer (10 µM) (Sequenz: 5'CTG ATA AAA TAA TGA ATA TAG TCTC 3')
0,2 µl	MDR1-Ala893Ser/Thr-Rückwärtsprimer (10 µM) (Sequenz: 3'TAG AGC ATA GTA AGC AGT AGG 5')
2,0 µl	DNS (konzentriert)
0,1 µl	Taq-Polymerase
1,0 µl	10x Puffer
ad 10,0 µl	H ₂ O

→ Reaktionsgemisch zur Amplifizierung von MRP1 Gln671Val:

0,2 µl	dNTP (10 mM)
0,2 µl	MRP1-Gln671Val-Vorwärtsprimer (10 µM) (Sequenz: 5'CTG ATA AAA TAA TGA ATA TAG TCTC3')
0,2 µl	MRP1-Gln671Val-Rückwärtsprimer (10 µM) (Sequenz: 3'TAG AGC ATA GTA AGC AGT AGG 5')
1,0 µl	DNS (konzentriert)
0,1 µl	Taq-Polymerase
1,0 µl	10x Puffer
ad 10,0 µl	H ₂ O

Die Reaktionsbedingungen für die PCR sahen wie folgt aus:

→ Reaktionsbedingungen zur Amplifizierung von MDR1 Ala893Ser/Thr und MRP1 Gln671Val :

1. Zyklus:	Denaturierung	94 °C	5 min
40 Zyklen:	Denaturierung	94 °C	30 s
	<i>Annealing</i>	57,6 °C	1 min
	Elongation	72 °C	1 min
Abschließend:	Extension	72 °C	7 min

Von dem in der ersten PCR-Reaktion gebildeten Amplifikat wurden jeweils 1-3 µl in der Sequenzierungs-PCR-Reaktion eingesetzt. Die Reaktionsgemische sahen wie folgt aus:

→ Reaktionsgemisch zur Sequenzierung von MDR1 Ala893Ser/Thr:

3,0 µl	PCR-Produkt der ersten PCR zur Amplifikation von MDR1 Ala893Ser/Thr
0,2 µl	MDR1-Ala893Ser/Thr-Vorwärtsprimer (10 µM)
0,5 µl	DMSO
1,8 µl	BigDye-Mix (ddNTPs, DNS-Polymerase, MgCl ₂ , Puffer)
ad 10,0 µl	H ₂ O

→ Reaktionsgemisch zur Sequenzierung von MRP1 Gln671Val:

1,0 µl PCR-Produkt der ersten PCR zur Amplifikation von MRP1 Gln671Val
 1,0 µl MRP1-Gln671Val-Vorwärtsprimer (10 µM)
 0,5 µl DMSO
 1,8 µl BigDye-Mix (ddNTPs, DNS-Polymerase, MgCl₂, Puffer)
 ad 10,0 µl H₂O

Die Reaktionsbedingungen für die Sequenzierungs-PCR sahen wie folgt aus:

→ Reaktionsbedingungen zur Sequenzierung von MDR1 Ala893Ser/Thr und MRP1 Gln671Val :

1. Zyklus:	Denaturierung	94 °C	2 min
24 Zyklen:	Denaturierung	96 °C	15 s
	<i>Annealing</i>	56,5 °C	15 s
	Elongation	60 °C	4 min
Abschließend:	Extension	72 °C	7 min

Die PCR-Produkte der Sequenzierungsprodukte wurden einer Sephadex-Filtration unterzogen und anschließend mit Hilfe des Sequenziergerätes 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) analysiert. Die Auswertung erfolgte durch die PC-Software Sequencing Analysis Vers. 5.2 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Exemplarisch wird hier das Ergebnis der Sequenzierung von MRP1 Gln671Val dargestellt (s. Abbildung 7).

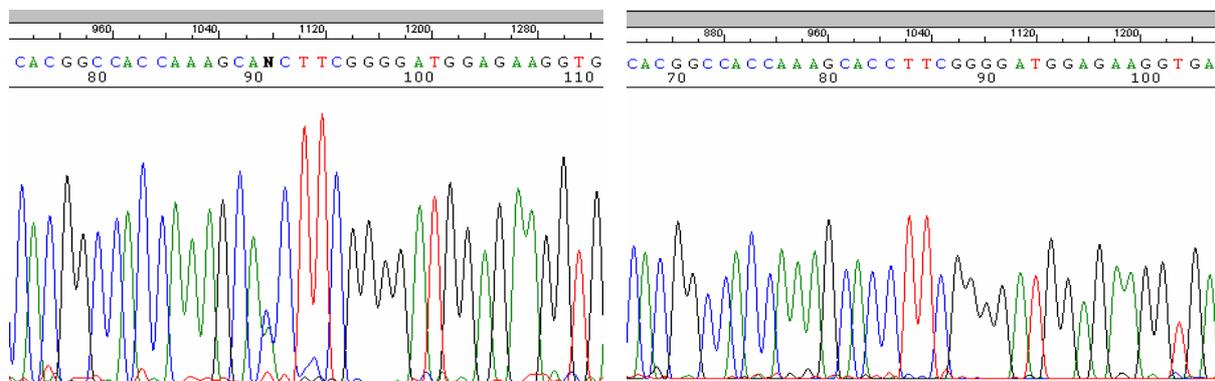


Abbildung 7: Genotypisierung von MRP1 Gln671Val mittels Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung: Dargestellt sind die Rückwärtsstränge. Bei N (linkes Bild) befindet sich der SNP, folglich ist dieser Patient heterozygoter Träger des MRP1-Gln671Val-Transporters.

3.6 Pharmakokinetische Auswertung

Die in 1.6.1 beschriebenen pharmakokinetischen Parameter „Area under the curve“ (AUC), „Clearance“, „Halbwertszeit“ und „Verteilungsvolumen“ wurden für jeden Patienten individuell durch die Computerprogramme Excel Vers. 2003 und NONMEM Vers. 4.1 anhand der Konzentrations-Zeit-Kurven berechnet. Nach Eingabe der gemessenen Konzentrationswerte bestimmte das Programm Excel zunächst Modell-unabhängig die konzentrationsabhängigen, pharmakokinetischen Parameter. Dazu zählen die maximale Konzentration C_{\max} , die AUC_{last} , also die AUC von Infusionsbeginn bis zum letzten Blutentnahmezeitpunkt (t_{last}), sowie die AUC_{inf} , also die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve nach Extrapolation gegen unendlich. Die AUC_{last} wurde durch folgende Formel berechnet:

$$AUC_{\text{last}} = \sum_{i=1}^{\text{last}} \frac{c_{i-1} + c_i}{2 \cdot (t_i - t_{i-1})}.$$

Um die AUC_{inf} berechnen zu können, musste zuerst die Eliminationskonstante k_e bestimmt werden; k_e entspricht dabei der Steigung der Konzentrations-Zeit-Kurve von Doxorubicin in der langsamen Eliminationsphase und wurde folgendermaßen bestimmt:

$$k_e = \frac{\ln(C_{\text{last}} - C_{\text{last-1}})}{t_{\text{last}} - t_{\text{last-1}}}.$$

AUC_{inf} schließlich wurde mit Hilfe der unten stehenden Formel errechnet:

$$AUC_{\text{inf}} = \frac{AUC_{\text{last}} - C_{\text{last}}}{k_e}.$$

Anschließend wurden die konzentrationsunabhängigen Parameter, also die Clearance, die terminale Halbwertszeit und das Verteilungsvolumen bestimmt.

Die Clearance wurde mit Hilfe von der Doxorubicin-Dosis und der AUC_{inf} errechnet:

$$CL = \frac{\text{Dosis}_{\text{Doxorubicin}}}{AUC_{\text{inf}}}.$$

Mit Hilfe der nicht-kompartimentellen Analyse durch Excel konnte nur die terminale Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ und das Verteilungsvolumen (V) zum Zeitpunkt der maximalen Konzentration berechnet werden:

$$t_{1/2}(\beta) = \frac{\ln(2)}{k_e} \quad \text{und} \quad V = \frac{\text{Dosis}_{\text{Doxorubicin}}}{C_{\max}}.$$

Unabhängig von dieser nicht-kompartimentellen pharmakokinetischen Analyse wurde von Herrn Dr. Ingolf Meineke (Klinische Pharmakologie, Universität Göttingen) mit Hilfe des Programms NONMEM eine populationskinetische Analyse mittels Anpassung an ein Kompartiment-Modell durchgeführt. Das Programm bezieht die gemessenen Plasmaspiegel aller Patienten von Doxorubicin in die Analyse ein und berechnet sowohl mittlere pharmakokineti-

sche Parameter (die so genannten Populationsparameter) als auch individuelle pharmakokinetische Parameter jedes einzelnen Patienten. Bei dieser Analyse ergab sich, dass die Konzentrations-Zeit-Verläufe von Doxorubicin am besten durch ein Zwei-Kompartiment-Modell beschrieben werden konnten (siehe 4.2.2).

3.7 Biostatistische Auswertung

Auch die statistische Auswertung fand mit Hilfe der Software Excel Vers. 2003 statt.

3.7.1 Deskriptive Statistik

Zur Beurteilung der Daten wurden folgende statistische Parameter verwendet, die noch einmal kurz erläutert werden sollen.

3.7.1.1 Arithmetischer Mittelwert (= \bar{x} , MW)

Der arithmetische Mittelwert wird berechnet, indem man die Summe aller Werte durch die Anzahl aller Werte dividiert.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

3.7.1.2 Median (= \tilde{x})

Bei einer nach der Größe sortierten Reihe von Messwerten ist der Median der Wert, der von gleich vielen kleineren und größeren Werten eingerahmt wird. Bei einer geraden Anzahl von Messwerten ist der Median das arithmetische Mittel der beiden mittleren Werte.

Für eine gerade Anzahl von Messwerten n gilt:

$$\tilde{x} = \frac{1}{2} \cdot \left(x_{\frac{n}{2}} + x_{\frac{n}{2}+1} \right).$$

Für eine ungerade Anzahl von Messwerten n gilt:

$$\tilde{x} = x_{\left(\frac{n+1}{2}\right)}.$$

3.7.1.3 Varianz (= σ^2)

Die Varianz einer Stichprobe ist ein Maß dafür, wie stark die einzelnen Messwerte um den MW streuen. Je geringer die Varianz ist, desto größer ist die Zuverlässigkeit der Messung.

$$\sigma^2 = \frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

3.7.1.4 Standardabweichung ($= \sigma_x$)

Die Standardabweichung σ_x einer Stichprobe ist ebenfalls ein Maß für die Streuung der Messwerte um den Mittelwert. Sie ist definiert als die Wurzel der Varianz. Bei einer unimodalen, symmetrischen und dazu glockenförmigen Verteilung liegen zwei Drittel aller Fälle in einem Bereich zwischen Mittelwert minus Standardabweichung bis Mittelwert plus Standardabweichung, was etwa 68 % aller Fälle entspricht. In einer Entfernung von zwei Standardabweichungen liegen etwa 95 % aller Fälle. Die Standardabweichung wird in der Praxis häufiger als die Varianz verwendet, da sie die gleiche Dimension wie die Messwerte hat:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} .$$

3.7.1.5 Konfidenzintervall des Mittelwertes

Mit dem Konfidenzintervall des Mittelwertes kann man die Präzision der Mittelwertsabschätzung mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit darstellen. Das 95 %-Konfidenzintervall des Mittelwertes wurde in der vorliegenden Arbeit wie folgt berechnet:

$$95 \text{ \% -Konfidenzintervall} = \bar{x} \pm 1,96 \cdot \left(\frac{\sigma_x}{\sqrt{\text{Umfang}}} \right),$$

wobei mit „Umfang“ der Umfang der Stichprobe gemeint ist.

3.7.2 Beurteilende Statistik

Die beurteilende Statistik ermöglicht die Überprüfung wissenschaftlicher Hypothesen. Je nach Fragestellung wird ein passender statistischer Test ausgewählt und die jeweilige Irrtumswahrscheinlichkeit p berechnet. In der vorliegenden Studie wurde das Ergebnis als signifikant betrachtet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % lag (also $p < 0,05$). Dabei bedeutet ein p -Wert von 0,05 ganz konkret, dass in 5 % bzw. jedem zwanzigsten Falle ein Befund falsch positiv, also fälschlich als signifikant bestätigt wird. Bei Irrtumswahrscheinlichkeiten $p < 0,01$ lag ein hoch signifikantes, bei $p < 0,001$ ein höchst signifikantes Ergebnis vor. Auch Zusammenhänge mit $p > 0,05$ aber $< 0,1$ wurden im Text diskutiert unter der Annahme, dass hier bei der begrenzten statistischen Power der Studie Hinweise für mögliche Zusammenhänge existieren können.

Nachdem insgesamt zehn Polymorphismen analysiert wurden, wäre die Signifikanzgrenze bei Berücksichtigung des multiplen Testens entsprechend der vereinfachten Regel nach Bonferroni nicht 0,05 sondern 0,005 (0,05/10). Auf diese Adjustierung wurde verzichtet, da wir die

Studie eher als exploratorische Studie betrachten. Auf diesen Punkt wird selbstverständlich in der zusammenfassenden Diskussion der Ergebnisse hingewiesen.

3.7.2.1 Prüfung auf Normalverteilung

Die Normalverteilung wird angewendet, um die Lage und die Streuung von Messwerten zu beschreiben. Die Normalverteilung unterstellt eine symmetrische Verteilungsform in Form einer Glocke, bei der sich die Werte der Zufallsvariablen in der Mitte der Verteilung konzentrieren und mit zunehmendem Abstand von der Mitte immer seltener auftreten.

3.7.2.2 Gruppenvergleich

Beim Vergleich zweier Gruppen von Beobachtungen wird die Frage untersucht, ob sich die Mittelwerte oder die Mediane der beiden Gruppen signifikant unterscheiden. Für den Vergleich der Mittelwerte zweier Gruppen wurde der t-Test verwendet. Im Falle von drei oder mehr Gruppen verwendet man bei Normalverteilung der Gruppen die Varianzanalyse (ANOVA). Falls die Gruppen aber nicht normal verteilt sind, wird als so genannter nicht-parametrischer Test der Kruskal-Wallis-Test verwendet.

3.7.2.3 Korrelationsanalyse

Der Korrelationskoeffizient r gibt Auskunft darüber, wie stark der Zusammenhang zwischen den Merkmalen ist. Er kann zwischen +1 und -1 liegen. Je näher der Korrelationskoeffizient an 1 oder -1 (|1|) ist, umso enger ist der Zusammenhang und umso näher liegen die Messwerte an der so genannten Regressionsgeraden. Unabhängig vom Korrelationskoeffizienten ist bei der Korrelationsanalyse die Signifikanz der Korrelation zu prüfen. Dies wird insbesondere dann erforderlich, wenn nur kleine Stichprobenzahlen untersucht wurden oder wenn der Korrelationskoeffizient nicht sehr hoch ist. Bei der Testung der Signifikanz einer Korrelation wird geprüft, ob die Steigung der Korrelationsgeraden sich signifikant von Null unterscheidet.

3.7.2.4 Regressionsanalyse

Mit Hilfe der Regressionsanalyse lässt sich feststellen, ob zwischen zwei erhobenen Merkmalen der Daten ein Zusammenhang besteht oder nicht. Im Unterschied zur Korrelationsanalyse ist hier an der Richtigkeit und Genauigkeit einer der beiden Messungen kein Zweifel. Sie wurde im Rahmen dieser Arbeit bei der Kalibrierung der HPLC-Analysen verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Klinische Charakterisierung der untersuchten Patienten

In die vorliegende Studie, die den Einfluss von Varianten der Membran-Transportproteine MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin untersucht, wurden 94 Patienten eingeschlossen, von denen 53 Frauen und 41 Männer waren. Die Patienten waren zwischen 19 und 81 Jahren alt, der Mittelwert des Alters betrug 53 Jahre. Das Körpergewicht der untersuchten Patienten lag zwischen 46 kg im Minimum und 124 kg im Maximum mit einem Mittelwert von 75 kg. Die Patienten waren zwischen 1,52 m und 1,90 m groß. Der Mittelwert der Körpergröße betrug 1,69 m. Aus Körpergewicht und -größe wurde die zur Berechnung der Dosis der einzelnen Chemotherapeutika erforderliche Körperoberfläche (KOF) errechnet. Hier war die kleinste KOF 1,42 m² und die größte 2,2 m². Der Mittelwert betrug 1,83 m². In Tabelle 4 sind die demographischen Daten aller Patienten für Alter, Größe, Gewicht und Körperoberfläche angegeben.

Tabelle 4: Charakteristika der Studienteilnehmer

	Alter [Jahren]	Gewicht [kg]	Größe [m]	KOF [m ²]
Anzahl untersuchter Patienten	94	94	94	94
Mittelwert	53,5	74,8	1,69	1,83
Standardabweichung	12,9	13,9	0,09	0,16
95 %-Konfidenzintervall	50,7 – 55,9	72,0 – 77,6	1,67 – 1,71	1,80 – 1,87
Median	56	75	1,70	1,84
Bereich	19 – 81	46 – 124	1,52 – 1,90	1,42 – 2,20

Wie man der Übersicht in Tabelle 5 entnehmen kann, waren die Patienten an verschiedensten Malignomen, hauptsächlich aber an Lymphomen und Mamma-Karzinomen erkrankt.

Tabelle 5: Tumorerkrankungen der Studienteilnehmer

Malignom	Anzahl der Patienten
Hochmalignes Non-Hodgkin-Lymphom	31
Mamma-Karzinom	30
Niedrigmalignes Non-Hodgkin-Lymphom	9
Morbus Hodgkin	8
Weichteilsarkom	7
Plasmozytom	2
Kleinzelliges Bronchial-Karzinom (SCLC)	2
Chronische lymphatische Leukämie	2
Akute lymphatische Leukämie	2
Endometrium-Karzinom	1

Diese Malignome wurden mit Doxorubicin-haltigen Kombinationstherapien behandelt. Je nach Therapieschema wurde Doxorubicin dabei in Einzeldosierungen von 20 bis 75 mg/m² Körperoberfläche verabreicht. Die gängigsten Therapieschemata waren, entsprechend der Verteilung der Malignome in dieser Studie, die zur Behandlung von Mamma-Karzinomen verwendeten Schemata FAC und AC sowie die zur Non-Hodgkin-Lymphom-Therapie geeigneten Schemata CHOP 14, CHOP 21, CHOEP 14 und CHOEP 21. Diese sechs Therapieschemata wurden bei 75 der 94 Patienten und damit bei 80 % verwendet. Eine Übersicht über alle verwendeten Therapieschemata findet sich in Tabelle 6.

Tabelle 6: Therapieschemata der Studienteilnehmer

Therapieschema	Doxorubicin-Dosis [mg/m ²]	Anzahl der Patienten
AC 60	60	20
CHOP 21	50	16
CHOP 14	50	16
FAC	30 / 60	11
CHOEP 14	50	9
AI-G	75	5
BEACOPP-eskaliert	35	5
CHOEP 21	50	3
CAD	30	2
BEACOPP-14	25	2
I ² VAd	40	1
Mega-CHOEP	35	1
ACO	60	1
Adriamycin + Cisplatin	60	1
VIDE	20	1

4.2 Pharmakokinetik von Doxorubicin

Die pharmakokinetischen Parameter für Doxorubicin wurden zum einen mit Hilfe des Programmes Excel nach Kompartiment-freien Methoden und mittels des Programmes NON-MEM unter Anwendung eines Zwei-Kompartiment-Modells analysiert. Eine vollständige Darstellung der Messwerte und berechneten pharmakokinetischen Werte aller Patienten findet sich im Anhang in den Tabellen 46 bis 49. Zunächst soll die Kompartiment-freie Auswertung dargestellt werden.

4.2.1 Nicht-kompartimentelle Analyse der Pharmakokinetik von Doxorubicin

Bei vier Patienten konnten die pharmakokinetischen Parameter nicht durch die nicht-kompartimentelle Analyse ausgewertet werden, da zu wenige Messwerte vorhanden waren.

4.2.1.1 Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin

Zuerst wurden die Patienten nach ihrer Doxorubicin-Dosis in vier Gruppen eingeteilt. In Gruppe 1 befanden sich 19 Patienten, die 25 – 40 mg/m² Doxorubicin bekommen haben. Gruppe 2 bestand aus 40 Patienten mit 50 mg/m² Doxorubicin. 60 mg/m² Doxorubicin erhielten 26 Patienten, die Gruppe 3 bildeten und Gruppe 4 setzte sich aus 5 Patienten mit 75 mg/m² Doxorubicin zusammen. Wie man Abbildung 8 entnehmen kann, zeigen die Konzentrations-Zeitkurven einen bi-exponentiellen Abfall der Plasmakonzentrationen. Die erste schnelle α -Phase repräsentiert dabei überwiegend Verteilungsprozesse vom zentralen Kompartiment in periphere Kompartimente, z.B. ins Fettgewebe. Der spätere Konzentrationsabfall ist durch die flachere β -Phase charakterisiert, die hauptsächlich durch Eliminationsprozesse bestimmt wird. Die Verteilungsphase umfasst den Zeitraum von null bis 250 Minuten post infusionem und enthält die maximalen Konzentrationswerte.

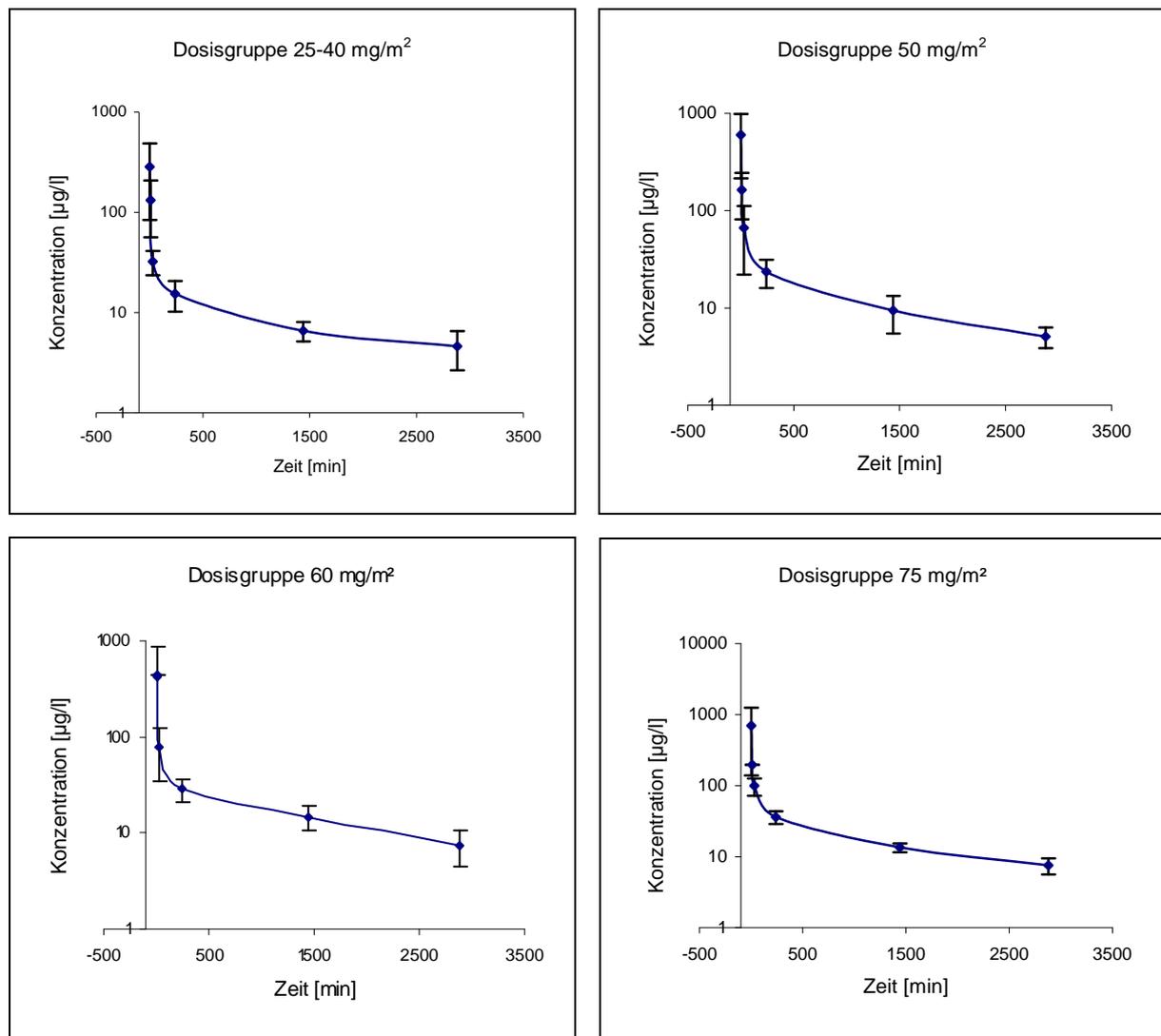


Abbildung 8: Konzentrations-Zeit-Kurven der Mittelwerte und Standardabweichungen von Doxorubicin zu sechs Blutentnahmezeitpunkten, geordnet nach Dosisgruppen. Zeitpunkt $t = 0$ min entspricht dem Infusionsende.

Unabhängig von der Dosis schwankten die Mittelwerte der Maximalkonzentration (C_{\max}) zwischen 175 $\mu\text{g/l}$ und 410 $\mu\text{g/l}$. Als Zeitpunkt der Maximalkonzentration t_{\max} wurde das Infusionsende, also null Minuten, angenommen. Nach 250 Minuten überwog die langsame Eliminationsphase, die sich bis zum letzten Messwert bei 2880 Minuten erstreckte. Die Talspiegel (C_{last}), also die Konzentrationswerte, die zum Zeitpunkt 2880 Minuten nach Infusionsende bestimmt wurden, unterschieden sich zwischen den einzelnen Dosisgruppen. Der Mittelwert von C_{last} betrug bei der Dosisgruppe 20 – 40 mg/m^2 4,62 $\mu\text{g/l}$, bei der Dosisgruppe 50 mg/m^2 5,08 $\mu\text{g/l}$, bei der Dosisgruppe 60 mg/m^2 7,54 $\mu\text{g/l}$ und bei der Dosisgruppe 75 mg/m^2 7,57 $\mu\text{g/l}$. Anschließend wurden dosisabhängig die AUC vom Zeitpunkt des Infusionsbeginns bis zum letzten Blutentnahmezeitpunkt (AUC_{last}) und die AUC_{inf} , also die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve nach Extrapolation gegen unendlich, errechnet. Bei beiden konnte man deutlich einen Anstieg der Mittelwerte in Abhängigkeit von den Dosisgruppen erkennen. So stieg der Mittelwert der AUC_{last} von 0,53 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ (Dosisgruppe 20-40 mg/m^2) über 0,85 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ (Dosisgruppe 50 mg/m^2) und 0,99 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ (Dosisgruppe 60 mg/m^2) auf 1,26 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ bei der Dosisgruppe 75 mg/m^2 an. Ähnlich sah es bei der AUC_{inf} aus: Hier stieg der Mittelwert von 0,77 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ (Dosisgruppe 20-40 mg/m^2) über 1,14 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ (Dosisgruppe 50 mg/m^2) und 1,38 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ (Dosisgruppe 60 mg/m^2) auf 1,55 $\text{mg}\cdot\text{h/l}$ bei der Dosisgruppe 75 mg/m^2 an (siehe Abbildung 8). Eine Darstellung aller konzentrationsabhängigen Parameter, geordnet nach Dosisgruppen, findet sich in Tabelle 7.

Tabelle 7: Statistische Parameter für die Berechnung der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin, geordnet nach Dosisgruppen

Pharmakokinetische Parameter	Statistische Parameter	Dosisgruppe 20 – 40 mg/m^2	Dosisgruppe 50 mg/m^2	Dosisgruppe 60 mg/m^2	Dosisgruppe 75 mg/m^2
C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	Mittelwert	174,9	407,8	294,5	410,1
	Standardabweichung	177,1	284,3	283,2	227,2
	95 %-Konfidenzintervall	95 – 255	324 – 492	186 – 403	211 – 609
	Median	102,4	364,2	193,1	527,4
	Bereich	12 – 605	7 – 1230	22 – 1236	136 – 638
AUC_{last} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	Mittelwert	0,53	0,85	0,99	1,26
	Standardabweichung	0,28	0,29	0,78	0,29
	95 %-Konfidenzintervall	0,40 – 0,65	0,77 – 0,94	0,69 – 1,29	1,00 – 1,52
	Median	0,52	0,84	0,84	1,21
	Bereich	0,16 – 1,25	0,10 – 1,54	0,38 – 4,24	0,94 – 1,61
AUC_{inf} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	Mittelwert	0,77	1,14	1,38	1,55
	Standardabweichung	0,57	0,35	0,79	0,32
	95 %-Konfidenzintervall	0,51 – 1,02	1,03 – 125	1,07 – 1,68	1,28 – 1,83
	Median	0,66	1,15	1,22	1,40
	Bereich	0,28 – 2,87	0,62 – 2,43	0,74 – 4,48	1,25 – 2,00

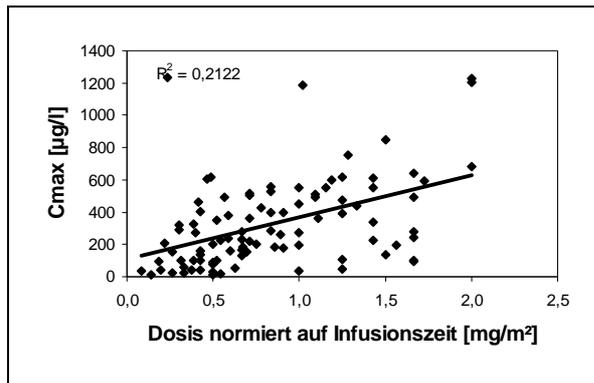


Abbildung 9: Korrelation zwischen der auf die Infusionszeit normierten Dosis und C_{\max}

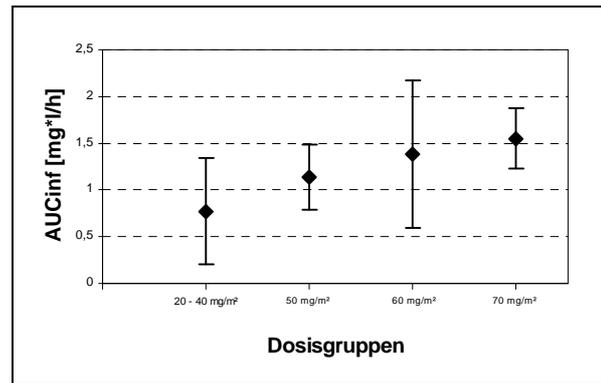


Abbildung 10: Korrelation zwischen Dosisgruppen und AUC_{inf}

Die Auftragung der C_{\max} -Werte gegen die auf die Infusionszeit normierte Dosis ergab einen statistisch signifikanten Zusammenhang. Dabei lag der Korrelationskoeffizient bei $r = 0,421$ mit einem Signifikanzniveau $p = 0,01$.

4.2.1.2 Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin

Anschließend wurden für alle Patienten unabhängig von der Ausgangsdosis die totale Clearance, die terminale Halbwertszeit und das Verteilungsvolumen mit Hilfe des Programms Excel berechnet (siehe Tabelle 8). Die totale Clearance lag bei 90,18 l/h. Die Halbwertszeit schwankte stark zwischen sechs und 115 Stunden. Der Mittelwert lag bei 25 Stunden. Das Verteilungsvolumen schließlich betrug im Mittel 715 l bzw. 9,17 l/kg KG. Dies spricht für eine starke Verteilung in periphere Kompartimente.

Tabelle 8: Statistische Parameter für die Berechnung der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicin

	Totale Clearance [l/h]	Terminale $t_{1/2}$ [h]	V [l]
Anzahl der Patienten	90	90	94
Mittelwert	90,2	24,75	714,8
Standardabweichung	32,4	14,64	991,6
95 %-Konfidenzintervall	83,5 – 96,9	21,7 – 27,8	462,3 – 869,3
Median	85,4	21,3	329,0
Bereich	23,9 – 193,9	6,2 – 115,3	79,1 – 4592,1

4.2.2 Kompartimentelle Analyse der Pharmakokinetik von Doxorubicin

Außer der Auswertung mit der nicht-kompartimentellen Analyse der pharmakokinetischen Parameter des Doxorubicins wurde mit Hilfe des Programms NONMEM auch eine kompartimentelle Analyse der Konzentrationsmesswerte durchgeführt. Dazu wurde eine Kinetik 1.

Ordnung angenommen. Zunächst wurde hierbei untersucht, ob der Konzentrationsabfall nach Ende der Infusion am ehesten mit einem Ein-, Zwei- oder Drei-Kompartiment-Modell (mono-, bi- oder tri-exponentieller Konzentrationsabfall) in Übereinstimmung zu bringen war. Nach Untersuchung aller Konzentrations-Zeit-Kurven wurde für alle Patienten ein Zwei-Kompartiment-Modell mit einer Eliminationskinetik 1. Ordnung gewählt. Bei diesem Modell stimmten die gemessenen Konzentrationswerte am besten mit den vorhergesagten Werten überein. Das Ein-Kompartiment-Modell zeigt eine unzureichende Anpassung des schnellen Konzentrationsabfalls nach Ende der Infusion, während sich für das Drei-Kompartiment-Modell keine erkennbare Verbesserung der Anpassung ergab. Hier wurde daher nach dem Prinzip, dass das einfachste passende Modell das beste ist, das Zwei-Kompartiment-Modell ausgewählt. Wie schon bei der nicht-kompartimentellen Analyse zu sehen war, war die Konzentrations-Zeit-Kurve durch zwei Eliminationsphasen charakterisiert, denen jeweils eine Halbwertszeit zugeordnet werden konnte. NONMEM kann im Gegensatz zur nicht-kompartimentellen Analyse auch die zwei Verteilungsvolumina des biphasischen Verlaufs und die entsprechenden initialen und terminalen Halbwertszeiten berechnen. Die konzentrationsabhängigen Parameter C_{\max} und AUC_{inf} bzw. AUC_{last} wurden allerdings nicht bestimmt, da NONMEM keine Einteilung nach Dosisgruppen vornimmt.

Die totalen Clearances aller Patienten nahmen Werte zwischen 28 und 127 l/h an. Der Mittelwert nach kompartimenteller Analyse lag bei 78 l mit einer interindividuellen Variabilität von 20,1 %. Die mittlere Clearance des Doxorubicins nach nicht-kompartimenteller Auswertung lag bei 90 l/h (Tabelle 8). Für Doxorubicin lag die Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ der Verteilungsphase zwischen 5,4 und 12,6 Minuten mit einem Mittelwert von 7,9 Minuten, die der Eliminationsphase zwischen 11,6 und 30,7 Stunden mit einem Mittelwert von 20 Stunden. Der Mittelwert der terminalen Halbwertszeit nach nicht-kompartimenteller Analyse betrug 25 Stunden. Die beiden Verteilungsvolumina V_1 und V_2 nahmen Werte von 10 bis 87 l (0,05 bis 1,18 l/kg KG) bzw. von 165 bis 3263 l (2,21 bis 43,62 l/kg KG) an. Die Mittelwerte der Verteilungsvolumina betragen 40 bzw. 1422 l (0,53 bzw. 19,01 l/kg KG) mit einer interindividuellen Variabilität von 30,8 % bzw. 38,2 %. Alle pharmakokinetischen Parameter der NONMEM-Auswertung sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Statistische Parameter für die Berechnung der pharmakokinetischen Daten von Doxorubicin im Zwei-Kompartiment-Modell

	Clearance [l/h]	$t_{1/2}(\alpha)$ [min]	$t_{1/2}(\beta)$ [h]	V1 [l]	V2 [l]
Anzahl der Patienten	94	94	94	94	94
Mittelwert	78,2	7,9	20,1	40	1422
Standardabweichung	15,7	1,3	4,2	12	543
95 %-Konfidenzintervall	74,9 – 81,4	7,6 – 8,2	19,3 – 21,0	38 – 43	1310 – 1533
Median	79,3	7,7	19,2	39	1426
Bereich	27,9 – 126,6	5,4 – 12,6	11,6 – 30,7	10 – 87	165 – 3263

4.3 Pharmakokinetik von Doxorubicinol

In dieser Arbeit wurden die Serum-Konzentrationsverläufe nicht nur der Ausgangssubstanz Doxorubicin sondern auch des Hauptmetaboliten Doxorubicinol beschrieben.

4.3.1 Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol

Wieder wurde eine Gruppeneinteilung nach Doxorubicin-Dosis vorgenommen, um die Konzentrations-Zeit-Kurven darzustellen. Diesmal fielen allerdings auf Grund von fehlenden oder zu wenigen Messwerten zehn Patienten aus der pharmakokinetischen Analyse von Doxorubicinol heraus. Gruppe 1 umfasste diesmal nur Konzentrationen von 25 mg/m² bis 35 mg/m² und bestand aus 17 Patienten. Gruppe 2 setzte sich aus 39 Patienten zusammen, die alle 50 mg/m² Doxorubicin erhielten. Gruppe 3 (60 mg/m²) bestand aus 23 Patienten und Gruppe 4 (75 mg/m²) wiederum aus fünf Patienten. Die Konzentrations-Zeit-Kurven von Doxorubicinol sind in Abbildung 11 dargestellt.

Schon die erste Messung direkt nach Ende der Doxorubicin-Infusion zeigte das Vorhandensein von Doxorubicinol, so dass eine schnelle Umwandlung von Doxorubicin in seinen Hauptmetaboliten schon während der Infusion erfolgen muss. Die maximale Konzentration von Doxorubicinol wurde dann im Mittel 87,4 Minuten nach Infusionsende und damit auch nach der maximalen Konzentration des Doxorubicins festgestellt. Die Mittelwerte der Maximalkonzentration (C_{max}) lagen dosisabhängig zwischen 17,7 µg/l (Dosisgruppe 25-35 mg/m²) und 36,7 µg/l (Dosisgruppe 75 mg/m²). Auch beim Vergleich der Talspiegel (C_{last}) fällt eine Dosisabhängigkeit auf: Der Mittelwert von C_{last} beträgt bei der Dosisgruppe 25 – 35 mg/m² 7,26 µg/l, bei der Dosisgruppe 50 mg/m² 8,62 µg/l, bei der Dosisgruppe 60 mg/m² 13,01 µg/l und bei der Dosisgruppe 75 mg/m² 13,06 µg/l. Die Doxorubicinol-Talspiegel waren also jeweils circa doppelt so groß wie die der Muttersubstanz.

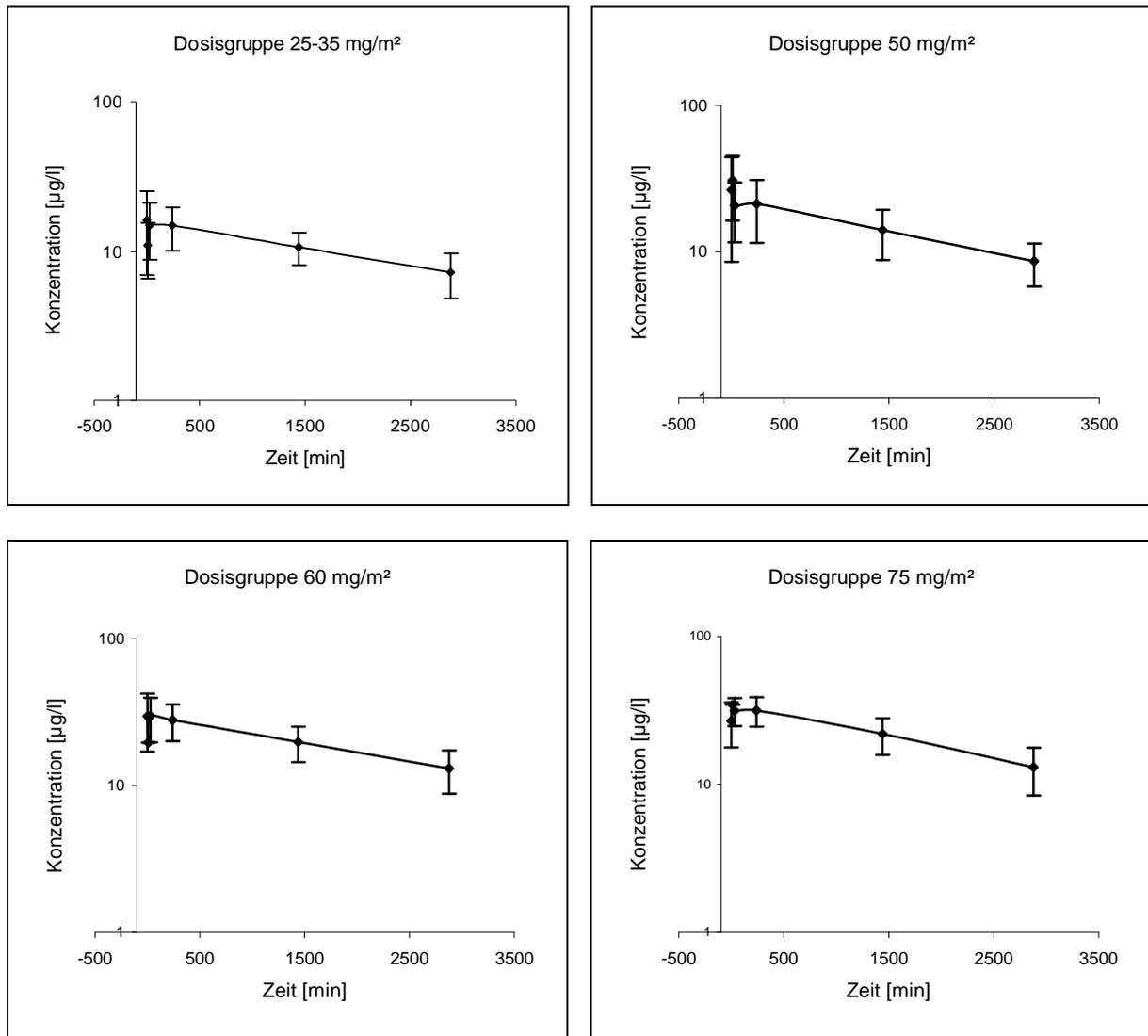


Abbildung 11: Konzentrations-Zeit-Kurven der Mittelwerte und Standardabweichung von Doxorubicinol zu sechs Blutentnahmezeitpunkten, geordnet nach Dosisgruppen. Zeitpunkt $t = 0$ min entspricht dem Infusionsende.

Im Folgenden wurden wieder dosisabhängig AUC_{last} und AUC_{inf} berechnet. Bei der AUC_{inf} konnte man wieder einen Anstieg der Mittelwerte in Abhängigkeit von den Dosisgruppen erkennen. So stieg der Mittelwert der AUC_{inf} von 0,88 mg·h/l (Dosisgruppe 25-35 mg/m²) über 1,43 mg·h/l (Dosisgruppe 50 mg/m²) und 1,65 mg·h/l (Dosisgruppe 50 mg/m²) auf 1,97 mg·h/l bei der Dosisgruppe 75 mg/m² an. Unterschiedlich sah es diesmal allerdings bei der AUC_{last} aus: Hier war zwar ein Anstieg des Mittelwertes über die Dosisgruppen 25-35 mg/m² mit 0,41 mg·h/l, Dosisgruppe 50 mg/m² mit 0,63 mg·h/l und Dosisgruppe 75 mg/m² mit 0,98 mg·h/l zu beobachten, der Mittelwert der AUC_{last} der Dosisgruppe 60 mg/m² fiel allerdings mit 0,55 mg·h/l und damit einem geringeren Wert als der der Dosisgruppe 50 mg/m² heraus. Eine genaue Auflistung der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol ist in Tabelle 10 abgebildet.

Tabelle 10: Statistische Parameter der Berechnung der konzentrationsabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol, geordnet nach Dosisgruppen

Pharmakokinetische Parameter	Statistische Parameter	Dosisgruppe 25 – 35 mg/m ²	Dosisgruppe 50 mg/m ²	Dosisgruppe 60 mg/m ²	Dosisgruppe 75 mg/m ²
C _{max} [µg/l]	Mittelwert	17,7	28,8	32,3	36,7
	Standardabweichung	6,4	14,7	9,8	5,3
	95 %-Konfidenzintervall	14,8 – 20,5	24,6 – 33,1	28,5 – 36,1	32,1 – 41,4
	Median	17,4	25,6	31,5	38,5
	Bereich	8,9 – 29,7	10,8 – 73,8	16,8 – 54,8	29,8 – 41,8
AUC _{last} [mg·h/l]	Mittelwert	0,39	0,63	0,55	0,98
	Standardabweichung	0,18	0,23	0,23	0,23
	95 %-Konfidenzintervall	0,31 – 0,48	0,56 – 0,70	0,46 – 0,63	0,78 – 1,18
	Median	0,37	0,61	0,46	0,87
	Bereich	0,17 – 0,78	0,18 – 1,08	0,29 – 1,33	0,82 – 1,37
AUC _{inf} [mg·h/l]	Mittelwert	0,88	1,43	1,65	1,97
	Standardabweichung	0,37	0,68	0,64	1,07
	95 %-Konfidenzintervall	0,71 – 1,06	1,21 – 1,65	1,38 – 1,91	1,04 – 2,91
	Median	0,80	1,23	1,65	1,41
	Bereich	0,29 – 1,66	0,56 – 3,65	0,67 – 2,87	1,18 – 3,73

4.3.2 Nicht-kompartimentelle Analyse der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol

Anschließend wurde für alle Patienten unabhängig von der Ausgangsdosis wiederum die totale Clearance, die terminale Halbwertszeit und das Verteilungsvolumen mit Hilfe des Programms Excel berechnet (siehe Tabelle 11). Die totale Clearance lag bei ungefähr 75 l/h und war damit um 17 % kleiner als die Clearance von Doxorubicin mit 90 l/h. Die terminale Halbwertszeit des Doxorubicinol betrug etwa 54 Stunden. Die terminale Halbwertszeit von Doxorubicin lag bei 25 Stunden. Der Metabolit blieb also gut doppelt so lange im Blut wie seine Muttersubstanz. Das Verteilungsvolumen schließlich betrug im Mittel 3784 l (50,8 l/kg KG). Dies spricht für eine noch stärkere Verteilung in periphere Kompartimente als bei Doxorubicin, dessen Verteilungsvolumen bei 715 l (9,60 l/kg KG) lag.

Tabelle 11: Statistische Parameter für die Berechnung der konzentrationsunabhängigen pharmakokinetischen Parameter von Doxorubicinol

	Totale Clearance [l/h]	Terminale t _{1/2} [h]	V [l]
Anzahl der Patienten	84	84	94
Mittelwert	74,5	53,6	3784,0
Standardabweichung	31,1	88,9	1675,7
95 %-Konfidenzintervall	67,9 – 81,2	34,7 – 72,6	3445,3 – 4122,
Median	71,0	36,0	3493,8
Bereich	3,7 – 177,4	10,1 – 827,1	1219,7 – 9242,1

Am Schluss sollen noch einmal die Konzentrations-Zeit-Kurven von Doxorubicin und Doxorubicinol eines einzelnen Patienten, der 50 mg/m² Doxorubicin erhalten hat, gezeigt werden. Auch hier kann man den biphasischen Verlauf gut erkennen (Abbildung 12).

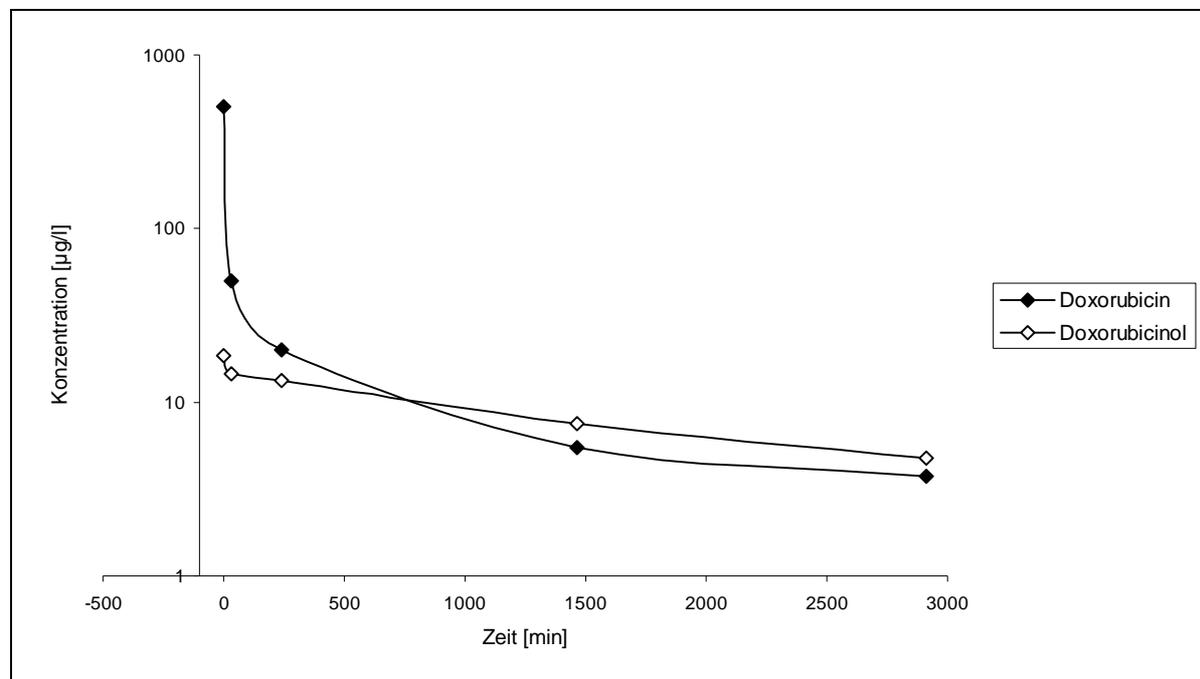


Abbildung 12: Vergleich der Konzentrations-Zeit-Kurven von Doxorubicin und Doxorubicinol am Beispiel des Patienten 00073. Zeitpunkt $t = 0$ min entspricht dem Infusionsende.

4.4 Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für ausgewählte pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin und Doxorubicinol

In diesem Abschnitt sollte untersucht werden, ob Geschlecht oder Alter der Patienten sowie eine eventuell vorhandene Leberschädigung einen Einfluss auf die pharmakokinetischen Parameter „Clearance“ und „Dosis-normierte AUC_{inf} “ von Doxorubicin haben. Als Laborparameter für eine Leberfunktionsstörung wurden als Marker einer leichteren Leberzellschädigung die Membran-gebundene γ -GT und als Marker einer schwereren Leberzellschädigung die nahezu Leber-spezifische Transaminase GPT (ALT) gewählt. Die Serumspiegel beider Enzyme wurden vor Beginn der Chemotherapie bestimmt. Der Referenzbereich für die γ -GT liegt bei < 35 U/l für Frauen und bei < 55 U/l für Männer. Der Referenzbereich für die GPT liegt geschlechtsunabhängig bei 55 U/l (Renz-Polster et Braun 2004).

4.4.1 Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für die Clearance von Doxorubicin

Es wurden die Daten für Alter und Geschlecht von 90 Patienten mit der Clearance von Doxorubicin verglichen. Es konnte jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Alter und Clearance sowie Geschlecht und Clearance festgestellt werden. Die zugehörigen Korrelationsdiagramme finden sich in den Abbildungen 13 und 14.

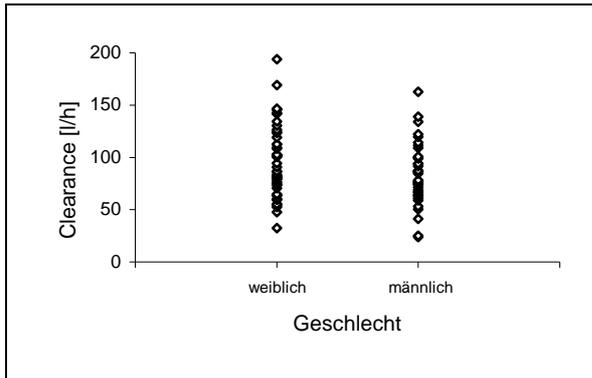


Abbildung 13: Korrelation zwischen Geschlecht und Dosis-normierter Clearance

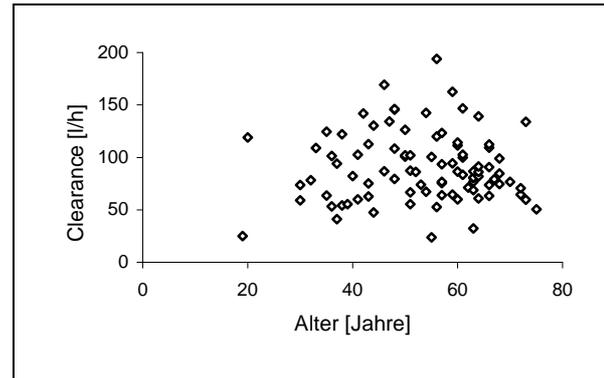


Abbildung 14: Korrelation zwischen Alter und Dosis-normierter Clearance

Anschließend wurde berechnet, ob eine Assoziation zwischen den Leberfunktionsparametern γ -GT und GPT und der Dosis-normierten Clearance vorlag. Dazu wurden die γ -GT von 71 Patienten und die GPT von 65 Patienten mit deren Clearances korreliert. Bezüglich der γ -GT lagen 18 Patienten außerhalb des Referenzbereiches (11 Frauen > 35 U/l, 7 Männer > 65 U/l), bezüglich der GPT waren es 10 Patienten (> 55 U/l). Es war jedoch keine Signifikanz gegeben (siehe Abbildung 15 und 16).

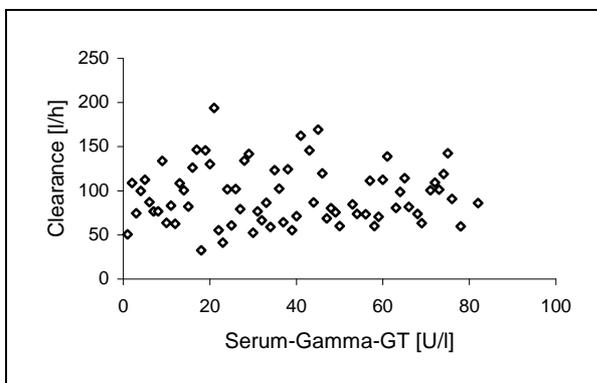


Abbildung 15: Korrelation zwischen γ -GT und Dosis-normierter Clearance

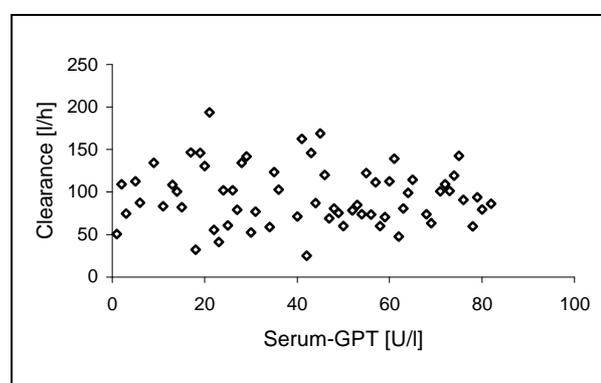


Abbildung 16: Korrelation zwischen GPT und Dosis-normierter Clearance

4.4.2 Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für die AUC von Doxorubicin

In die Untersuchung über einen Zusammenhang zwischen Geschlecht bzw. Alter und Dosis-normierter AUC_{inf} von Doxorubicin wurden 83 Patienten einbezogen. Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht und AUC_{inf} festgestellt werden, ebenso wenig wie eine Assoziation zwischen Alter und Dosis-normierter AUC_{inf} ($p = 0,13$). Die gegen das Geschlecht aufgetragene AUC findet sich in Abbildung 17, die gegen das Alter aufgetragene AUC in Abbildung 18.

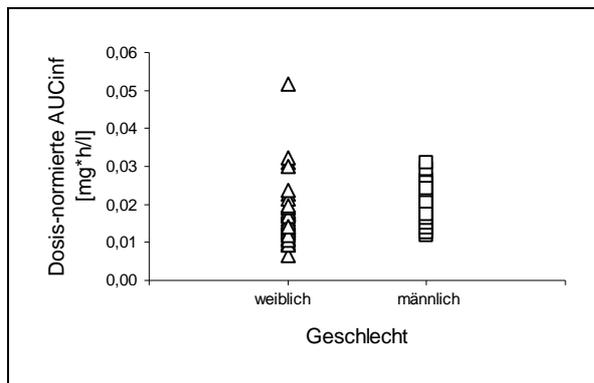


Abbildung 17: Korrelation zwischen Geschlecht und Dosis-normierter AUC_{inf}

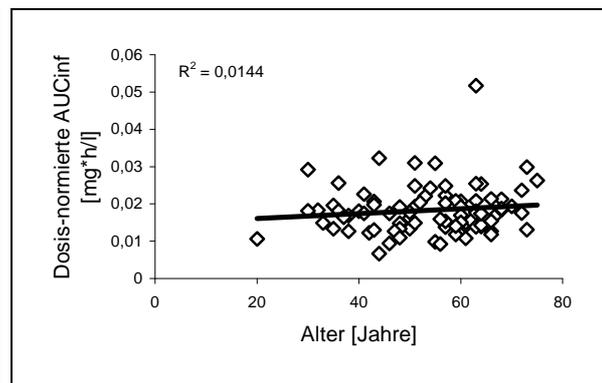


Abbildung 18: Korrelation zwischen Alter und Dosis-normierter AUC_{inf}

Anschließend wurde untersucht, ob eine Assoziation zwischen γ -GT und GPT und Dosis-normierter AUC vorlag. Dazu wurden die γ -GT von 69 Patienten und die GPT von 67 Patienten den jeweiligen AUCs zugeordnet und auf mögliche statistisch signifikante Assoziationen getestet. Bezüglich der γ -GT lagen 26 Patienten außerhalb des Referenzbereiches (20 Frauen > 35 U/l, 6 Männer > 65 U/l), bezüglich der GPT waren es sieben Patienten (> 55 U/l). Bei beiden war kein statistisch signifikanter Zusammenhang gegeben (s. Abbildung 19 und 20).

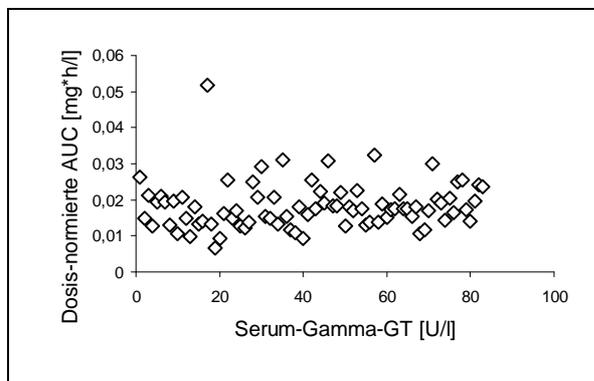


Abbildung 19: Korrelation zwischen γ -GT und Dosis-normierter AUC_{inf}

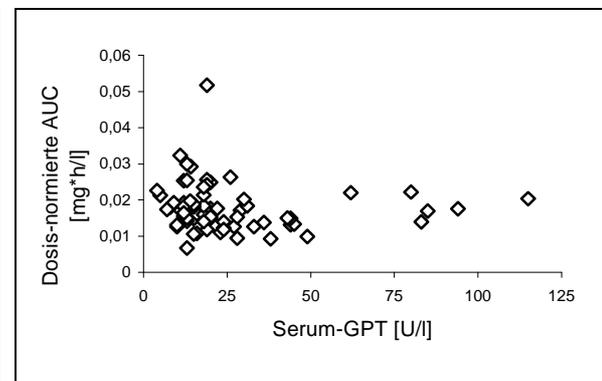


Abbildung 20: Korrelation zwischen GPT und Dosis-normierter AUC_{inf}

4.4.3 Bedeutung von Geschlecht, Alter und Leberfunktion für die AUC von Doxorubicin

In die Untersuchung über eine Assoziation zwischen Geschlecht bzw. Alter und Dosisnormierter AUC von Doxorubicin wurden ebenfalls 83 Patienten einbezogen. Die AUC, berechnet als AUC_{inf} , von Frauen und Männern unterschied sich statistisch nicht signifikant im t-Test. Es fiel jedoch eine höchst signifikante Assoziation zwischen Alter und Dosisnormierter AUC auf ($p = 0,001$, Signifikanz beim Test auf lineare Korrelation). Die gegen das Geschlecht aufgetragene AUC findet sich in Abbildung 21, die gegen das Alter aufgetragene AUC in Abbildung 22.

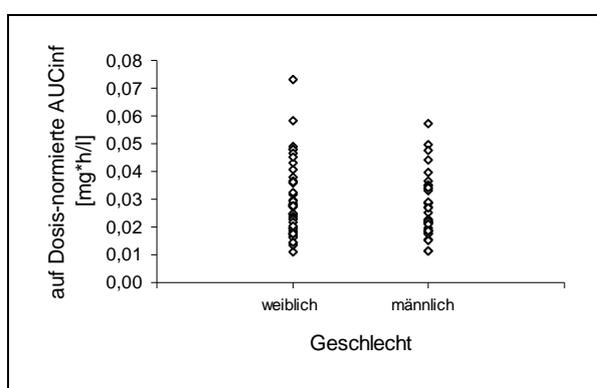


Abbildung 21: Korrelation zwischen Geschlecht und Dosisnormierter AUC_{inf}

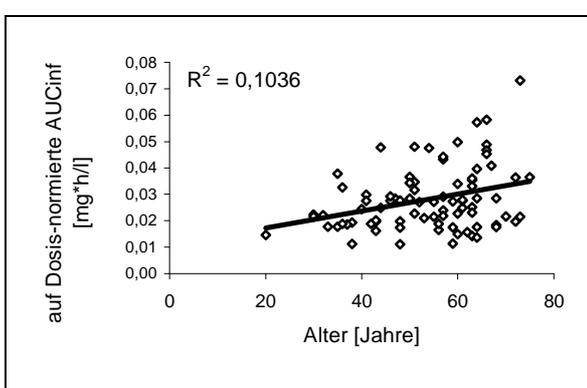


Abbildung 22: Korrelation zwischen Alter und Dosisnormierter AUC_{inf}

Im Folgenden wurde untersucht, ob eine Assoziation zwischen γ -GT und GPT und Dosisnormierter AUC gegeben war. Dazu wurde mittels linearer Regressionsanalyse die γ -GT von 65 Patienten und die GPT von 59 Patienten der jeweiligen AUC zugeordnet (bei den restlichen Patienten waren diese Daten nicht verfügbar) und auf mögliche statistisch signifikante Assoziation getestet. Bezüglich der γ -GT lagen 26 Patienten außerhalb des Referenzbereiches (20 Frauen > 35 U/l, 6 Männer > 65 U/l), bezüglich der GPT waren es sieben Patienten (> 55 U/l). Bei beiden Parametern zeigte sich eine Tendenz zu höherer AUC mit zunehmender Schwere der Leberfunktions-Beeinträchtigung ($p = 0,12$ bei der γ -GT und $p = 0,06$ bei der GPT, Signifikanz der linearen Regression). Die Korrelationen sind in Abbildung 23 und 24 dargestellt.

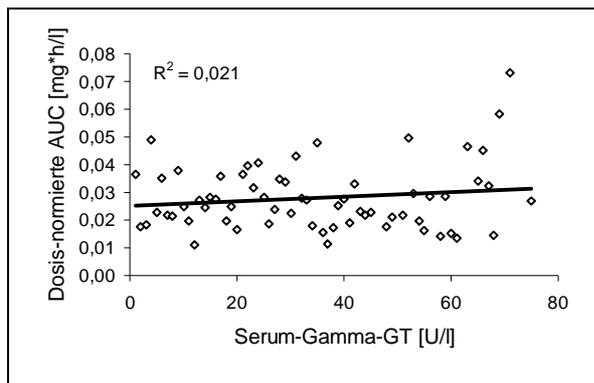


Abbildung 23: Korrelation zwischen γ -GT und Dosis-normierter AUC_{inf}

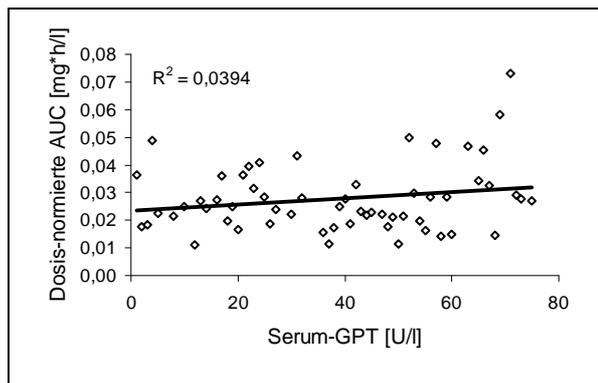


Abbildung 24: Korrelation zwischen GPT und Dosis-normierter AUC_{inf}

Es wurde ein t-Test durchgeführt, um zu überprüfen, ob in den Gruppen mit pathologischen Leberwerten signifikant höhere AUCs vorlagen als in der jeweiligen Gruppe mit normalen Leberwerten. Diese Unterschiede waren jedoch in keiner Weise signifikant (p-Wert bei der γ -GT 0,88 bzw. bei der GPT 0,56).

4.5 Charakterisierung der untersuchten Transportervarianten

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden zehn Polymorphismen in fünf Transportproteinen untersucht, die nach Literaturdaten am Membrantransport von Doxorubicin beteiligt sind. Die Genotypisierung dieser Varianten erfolgte anhand von drei verschiedenen Techniken: Mittels PCR und anschließender Restriktionsfragmentlängen-Analyse, soweit mit dem Polymorphismus ein Hinzukommen oder Verlust einer Restriktionsenzym-Schnittstelle korreliert war (siehe 2.2.3.3.1), ansonsten durch Allel-diskriminierende *Real-Time*-PCR mit so genannten TaqMan®-Sonden (2.2.3.3.2) oder mittels Dideoxy-Kettenabbruch-Sequenzierung nach Sanger (2.2.3.3.3).

Neun der Varianten waren in den Exons der Transporter lokalisiert. Ein Polymorphismus im MRP2-Gen (MRP2 -24 C>T) war in der Promotorregion des Transportergens gelegen, sieben codierten einen Aminosäureaustausch. Ein Polymorphismus im MDR1-Gen (MDR1 Ala893Ser/Thr) war triallelisch. Es können also drei verschiedene Aminosäuren vorkommen. Die MRP1-Gln671Val- und die BCRP-Gln141Lys-Polymorphismen konnten nur bei 93, der triallelische MDR1-Ala893Ser/Thr-Polymorphismus bei 85 Patienten bestimmt werden. Die Allelfrequenzen der biallelischen Transportervarianten lagen zwischen 3,2 % für den MRP2-Val1188Glu-Polymorphismus und 52,7 % für den MDR1-Ile1144Ile-Polymorphismus. Die Allelhäufigkeiten des triallelischen MDR1-Ala893Ser/Thr-Transporters zeigten, dass der Austausch zu Serin wesentlich häufiger war als der zu Threonin. Ein homozygoter Threonin-Austausch kam gar nicht vor, die heterozygote Variante gerade bei drei von 85 untersuchten

Patienten (circa 3,5 %). Die Allelfrequenz des Ala893Ser-Polymorphismus lag bei 42,7 %. Auffällig war das gleiche Ergebnis der Allelhäufigkeiten der Transportervarianten MRP2 Val1188Glu und MRP2 Cys1515Tyr. Es lag eine komplette Kopplung dieser beiden Einzelnukleotid-Polymorphismen vor. Bei allen getesteten Polymorphismen wurde getestet, ob die Häufigkeiten in Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht waren. Dies wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests überprüft, bei dem die erwarteten und gefundenen Genotyp-Häufigkeiten verglichen wurden. Der p-Wert des Chi-Quadrat-Testes lag in allen Fällen über 0,5, es fanden sich also keine statistisch signifikanten Abweichungen. Die entsprechenden Daten sind in Tabelle 12 dargestellt. Eine ausführliche Darstellung der Transportervarianten aller Patienten findet sich im Anhang in Tabelle 50.

Tabelle 12: Vergleich der gefundenen und erwarteten Häufigkeiten der untersuchten Genpolymorphismen

Gen	Position	Aminosäure-Austausch	Gefundene Häufigkeiten				
			(laut Hardy-Weinberg-Gesetz erwartete Häufigkeiten)			Allelhäufigkeit	
			wt / wt	wt / var	var / var	wt	Var
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	25 (28)	44 (42)	16 (15)	0,573	0,427
		Ala893Thr	25 (25)	3 (3)	0 (0)	0,946	0,054
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	20 (21)	49 (47)	25 (26)	0,473	0,527
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	85 (85)	8 (8)	0 (0)	0,957	0,043
MRP2	-24 C>T	-	57 (55)	30 (34)	7 (5)	0,766	0,234
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	88 (88)	6 (6)	0 (0)	0,892	0,108
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	33 (33)	46 (46)	15 (15)	0,596	0,404
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	88 (88)	6 (6)	0 (0)	0,892	0,108
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	81 (81)	12 (12)	1 (1)	0,926	0,074
MRP3	3942 C>T	His1314His	56 (56)	33 (33)	6 (6)	0,926	0,074
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	73 (74)	20 (18)	0 (2)	0,883	0,117

4.6 Bedeutung der Transportervarianten für die Pharmakokinetik von Doxorubicin

Wie man Kapitel 4.2 entnehmen kann, wiesen die pharmakokinetischen Parameter große interindividuelle Unterschiede auf. Eine Erklärung für diese Schwankungsbreite könnten genetische Polymorphismen in Transportproteinen für Doxorubicin sein. Deshalb wurden im Folgenden Analysen hinsichtlich der Unterschiede der pharmakokinetischen Parameter in Relation zu den Transporterpolymorphismen durchgeführt. Alle in Abhängigkeit von den Transportervarianten berechneten pharmakokinetischen Parameter wurden auf mögliche statistisch signifikante Assoziationen mittels univariater Varianzanalyse (ANOVA) getestet. Bei einem

Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant betrachtet, auf eine Adjustierung hinsichtlich des multiplen Testens wurde verzichtet.

4.6.1 Die Dosis-normierte AUC_{inf} von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten

Zur Untersuchung der Bedeutung der Transportervarianten für die Pharmakokinetik von Doxorubicin wurde die Dosis-normierte AUC_{inf} herangezogen. Diese wurde mittels nicht-kompartimenteller Analyse berechnet, indem die AUC_{inf} der Patienten durch die Doxorubicin-Dosis dividiert wurden. Der Minimalwert betrug dabei 0,007, der Maximalwert 0,052 mg·h/l. Der Mittelwert aller berechneten Dosis-normierten AUC_{inf} lag bei 0,018 mg·h/l. Der niedrigste auf die Transportervarianten bezogene Mittelwert fand sich bei der homozygoten Arg1297His-Variante des MRP3-Transporters mit 0,012 mg·h/l. Diese Variante wurde in dieser Studie allerdings nur einmal nachgewiesen. Die höchsten Transporter-bezogenen Mittelwerte zeigten sich bei der heterozygoten Variante des MRP2 -24 C>T-Transporters und des MRP3-His1314His-Transporters mit 0,020 mg·h/l. Bei den Transportervarianten MRP3 Arg1297His und MRP3 His1314His ließ sich ein Trend bemerken, nämlich dass die AUC_{inf} mit zunehmender Anzahl der varianten Allele abnahm. Dieser Unterschied war jedoch, wie bei allen anderen untersuchten Transportervarianten, nicht signifikant (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der Dosis-normierten AUC_{inf} (Auswertung mit nicht-kompartimenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure- Austausch	AUC_{inf} MW (SD) [mg·h/l]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	0,018 (0,009)	0,018 (0,006)	0,018 (0,005)	0,95
		Ala893Thr		0,019 (0,003)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	0,019 (0,010)	0,018 (0,008)	0,019 (0,005)	0,84
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	0,019 (0,008)	0,020 (0,005)		0,65
MRP2	-24 C>T	-	0,019 (0,008)	0,018 (0,005)	0,018 (0,005)	0,97
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	0,018 (0,006)	0,019 (0,005)		0,83
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	0,018 (0,008)	0,018 (0,005)	0,021 (0,005)	0,42
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	0,018 (0,006)	0,019 (0,005)		0,83
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	0,019 (0,008)	0,019 (0,005)	0,019 (0,006)	0,97
MRP3	3942 C>T	His1314His	0,017 (0,005)	0,020 (0,005)	0,012 (-)	0,25
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	0,018 (0,006)	0,018 (0,005)		0,68

4.6.2 Die Clearance von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten

Die in dieser Studie gefundenen Clearances wiesen eine starke Schwankungsbreite auf mit einem Bereich von 3,7 l/h bis 177,4 l/h. Der Maximalwert war damit um das 48-fache größer als der Minimalwert. Der Mittelwert der Clearances aller Patienten lag bei 74,5 l/h und damit um das 1,2-Fache höher als der Mittelwert der Clearance bei Patienten mit der heterozygoten Variante des MDR1-Ala893Thr-Polymorphismus mit Austausch von Alanin zu Threonin (62,1 l/h). Um das 1,4-fache höher lag der Mittelwert der Clearance bei Patienten mit der varianten Form der gekoppelten heterozygoten Transportervarianten MRP2 Val1188Glu und MRP2 Cys1515Tyr (101,2 l/h). Tabelle 14 zeigt aber, dass insgesamt keine statistisch signifikante Korrelation zwischen Clearance und Transportervarianten vorlag.

Tabelle 14: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der totalen Clearance (Auswertung mit nicht-kompartimenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure-Austausch	CL MW (SD) [l/h]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	85,8 (34,2)	94,1 (35,2)	93,9 (27,4)	0,47
		Ala893Thr		62,11 (9,6)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	92,1 (26,7)	89,7 (33,8)	89,2 (34,7)	0,93
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	90,6 (32,1)	90,4 (38,0)		0,99
MRP2	-24 C>T	-	92,6 (34,2)	87,2 (29,8)	82,8 (40,5)	0,45
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	89,4 (33,0)	101,2 (23,0)		0,39
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	94,9 (30,7)	87,7 (33,9)	87,7 (32,5)	0,61
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	89,4 (33,0)	101,2 (23,0)		0,39
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	89,3 (31,6)	90,1 (33,8)	162,6	0,07
MRP3	3942 C>T	His1314His	89,3 (32,7)	91,2 (32,5)	93,0 (36,6)	0,95
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	88,8 (33,5)	96,7 (28,6)		0,35

Auffällig war das Signifikanzniveau von $p = 0,07$ bei der Arg1297His-Variante des MRP3 Transporters. Wie man allerdings Tabelle 12 entnehmen kann, gab es nur einen Patienten mit der homozygoten Variante, so dass keine zuverlässige Aussage über die Signifikanz getroffen werden kann. Diese Patientin zeigte von allen untersuchten Patienten die dritthöchste Clearance und umgekehrt die niedrigste Dosis-normierte AUC_{inf} . Sie wies keine pathologischen Leberparameter auf. Im Falle der MRP2-Variante -24 C>T war ein Trend in der Richtung zu erkennen, dass die Clearance mit zunehmender Anzahl der varianten Allele abnahm. Im Fall der MRP3-Variante His1314His war es genau umgekehrt. Allerdings war dieser Unterschied getestet mittels Varianzanalyse nicht signifikant. Die Clearances in Abhängigkeit dieser beiden Transportervarianten sind in Abbildung 25 und 26 dargestellt.

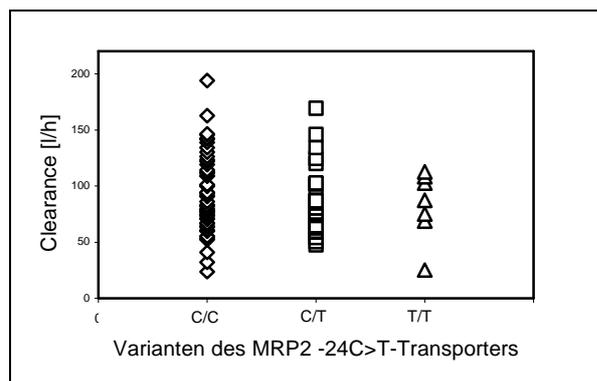


Abbildung 25: Korrelation zwischen Clearance und der Transportervariante MRP2 -24 C>T

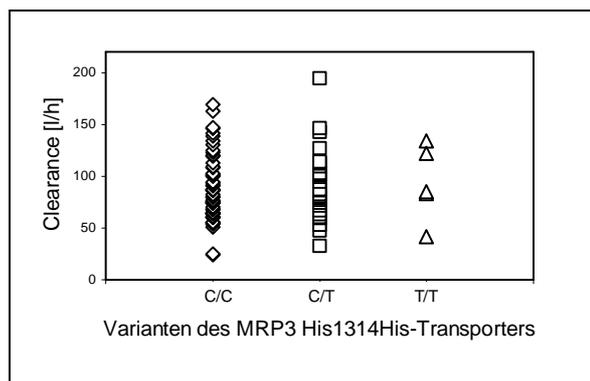


Abbildung 26: Korrelation zwischen Clearance und der Transportervariante MRP3 His1314His

4.6.3 Die initiale Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten

Der Mittelwert der initialen Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ von Doxorubicin lag bei 7,9 Minuten. Der Minimalwert betrug 5,4 Minuten und der Maximalwert 12,6 Minuten. Bei Berechnung der Mittelwerte der Halbwertszeiten in Abhängigkeit von den Transportervarianten fanden sich die niedrigsten Mittelwerte mit 6,5 Minuten bei der homozygoten Transportervariante MRP3 Arg1297His. Den größten Mittelwert wies die heterozygote Transportervariante MRP2 -24 C>T mit 8,3 Minuten auf. Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen initialer Halbwertszeit und Transportervarianten bestand nicht. Allerdings ließ sich auch hier ein Trend mit $p = 0,09$ in der univariante Varianzanalyse bei dem MRP2-Ile1324Ile-Transporter beobachten (siehe Tabelle 15).

Tabelle 15: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der initialen Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ (Auswertung mit kompartimenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure-Austausch	$t_{1/2}(\alpha)$ MW (SD) [min]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	7,9 (1,1)	7,9 (1,4)	7,79 (1,2)	0,97
		Ala893Thr		8,1 (1,3)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	7,7 (1,1)	8,1 (1,2)	7,74 (1,5)	0,39
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	7,7 (0,7)	7,9 (1,3)		0,67
MRP2	-24 C>T	-	7,8 (1,3)	8,3 (1,2)	7,61 (0,9)	0,18
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	7,9 (1,3)	7,3 (0,8)		0,24
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	8,2 (1,4)	7,6 (1,1)	8,14 (1,3)	0,09
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	7,9 (1,3)	7,3 (0,8)		0,24
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	8,0 (1,3)	7,6 (1,3)	6,54 (-)	0,42
MRP3	3942 C>T	His1314His	7,9 (1,3)	8,0 (1,3)	7,44 (0,7)	0,65
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	7,9 (1,2)	7,9 (1,6)		0,97

4.6.4 Die terminale Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten

Der Mittelwert der terminalen Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ betrug nach kompartmenteller Analyse 20,13 Stunden mit einem Bereich von 11,6 bis 30,7 Stunden. In der Untersuchung auf einen Zusammenhang zwischen Transporterpolymorphismen und $t_{1/2}(\beta)$ fand sich eine statistisch signifikante Assoziation zwischen dem MRP2 -24 C>T-Polymorphismus und $t_{1/2}(\beta)$ mit $p = 0,01$ (ANOVA). Die terminale Halbwertszeit bei Trägern des homozygoten Wildtyps betrug 19,7 Stunden, $t_{1/2}(\beta)$ der heterozygoten Variante 19,9 Stunden und die der homozygoten Variante 24,5 Stunden (siehe Abbildung 27). Beim MDR1-Ile1144Ile-Transporter nahm $t_{1/2}(\beta)$ mit zunehmender Anzahl der varianten Allele ab (siehe Abbildung 28). Dies war statistisch jedoch nicht signifikant. Bei allen anderen Varianten ließ sich keinerlei Zusammenhang feststellen (Tabelle 16).

Tabelle 16: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der terminalen Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ (Auswertung mit kompartmenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure-Austausch	$t_{1/2}(\beta)$ MW (SD) [h]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	20,1 (4,8)	19,6 (4,0)	20,9 (4,1)	0,28
		Ala893Thr		24,6 (4,0)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	20,8 (4,2)	20,1 (4,5)	19,7 (3,7)	0,68
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	20,4 (4,2)	18,5 (3,5)		0,21
MRP2	-24 C>T	-	19,7 (4,1)	19,9 (4,0)	24,5 (3,8)	0,01
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	20,1 (4,2)	20,1 (3,5)		0,99
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	20,7 (4,1)	19,3 (3,9)	21,3 (5,0)	0,18
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	20,1 (4,2)	20,1 (3,5)		0,99
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	20,2 (4,1)	20,3 (4,7)	17,5 (-)	0,81
MRP3	3942 C>T	His1314His	20,7 (4,6)	19,3 (4,4)	21,3 (4,6)	0,18
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	20,2 (4,3)	19,9 (3,9)		0,77

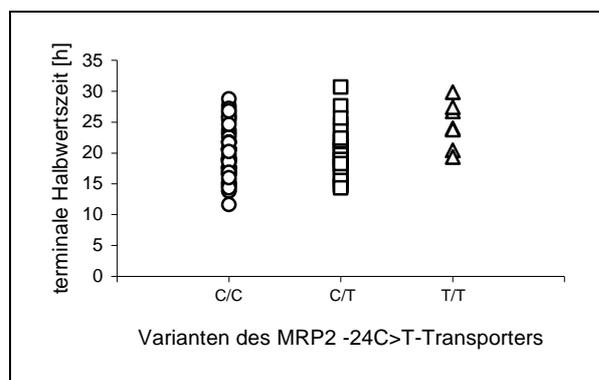


Abbildung 27: Korrelation zwischen terminaler Halbwertszeit und der Transportervariante MRP2 -24 C>T

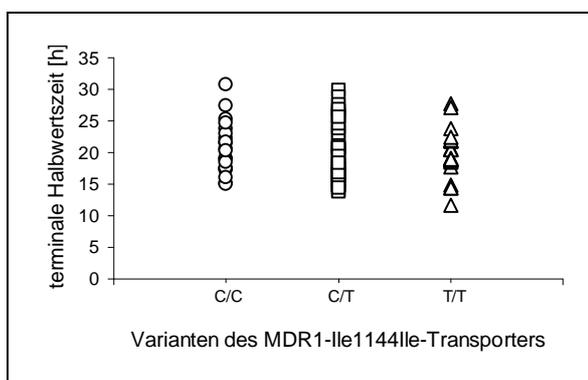


Abbildung 28: Korrelation zwischen terminaler Halbwertszeit und der Transportervariante MDR1 Ile1144Ile

4.6.5 Das Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments (V1) von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten

Die Verteilungsvolumina von Doxorubicin wiesen in dieser Studie besonders große interindividuelle Unterschiede auf. Der Minimalwert von V1 wurde in der kompartimentellen Analyse mit 10 l bestimmt. Der Maximalwert war mit 87 l um das 8,7-Fache größer. Der Mittelwert aller Patienten lag bei 40 l. Die Mittelwerte in Abhängigkeit von der Transportervariante unterlagen dagegen nicht solch einer großen Schwankungsbreite. Der kleinste lag bei 38,3 l bei der heterozygoten Transportervariante MRP2 Ile1324Ile, der größte Mittelwert mit 44,7 l bei der heterozygoten Variante des Transporters MDR1 Ala893Thr. Es war jedoch keine Signifikanz bezüglich einer Korrelation zwischen Verteilungsvolumen und Transportervarianten gegeben. Eine Übersicht über Mittelwerte und Standardabweichungen von V1 in Abhängigkeit von den Transportervarianten und die Signifikanzberechnungen findet sich in Tabelle 17.

Tabelle 17: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen des Verteilungsvolumens V1 (Auswertung mit kompartimenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure- Austausch	V1 MW (SD) [l]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	40,2 (13,2)	38,6 (11,3)	44,3 (16,1)	0,48
		Ala893Thr		44,7 (4,46)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	43,2 (12,7)	39,4 (10,9)	39,3 (14,9)	0,48
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	40,3 (12,4)	41,1 (11,9)		0,86
MRP2	-24 C>T	-	39,3 (12,8)	40,4 (12,7)	45,5 (6,3)	0,46
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	40,1 (12,4)	42,0 (14,0)		0,71
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	42,0 (13,0)	38,3 (11,6)	42,1 (13,4)	0,35
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	40,1 (12,4)	42,0 (14,0)		0,71
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	40,4 (12,4)	39,2 (13,5)	39,7 (-)	0,96
MRP3	3942 C>T	His1314His	40,3 (13,7)	39,6 (11,2)	42,7 (5,2)	0,86
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	40,1 (11,8)	40,7 (15,0)		0,84

4.6.6 Das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments (V2) von Doxorubicin in Abhängigkeit von den Transportervarianten

Auch das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments V2 wies eine große Schwankungsbreite auf. Bei einem Mittelwert von 1422 l lag der Minimalwert mit nur 165 l deutlich darunter, während der Maximalwert mit 3236 l circa doppelt so groß war. Im Falle der MRP2-Variante -24 C>T war ein Trend in der univariaten Varianzanalyse mit $p = 0,07$ in der Richtung zu erkennen, dass das Verteilungsvolumen V2 mit zunehmender Anzahl der

varianten Allele zunahm. Bei allen anderen Transportern und V2 war jedoch keine statistisch signifikante Assoziation gegeben (siehe Tabelle 18).

Tabelle 18: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen des Verteilungsvolumens V2 (Auswertung mit kompartmenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure- Austausch	V2 MW (SD) [I]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	1404 (542)	1347 (531)	1611 (591)	0,38
		Ala893Thr		1695 (654)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	1567(499)	1363 (529)	1420 (602)	0,37
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	1433 (547)	1391 (507)		0,83
MRP2	-24 C>T	-	1403 (568)	1344 (508)	1839 (293)	0,07
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	1411 (542)	1579 (586)		0,47
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	1465 (593)	1378 (520)	1460 (524)	0,75
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	1411 (542)	1579 (586)		0,47
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	1447 (588)	1348 (503)	1594 (247)	0,52
MRP3	3942 C>T	His1314His	1425 (561)	1403 (454)	1387 (-)	0,99
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	1417 (543)	1422 (566)		0,97

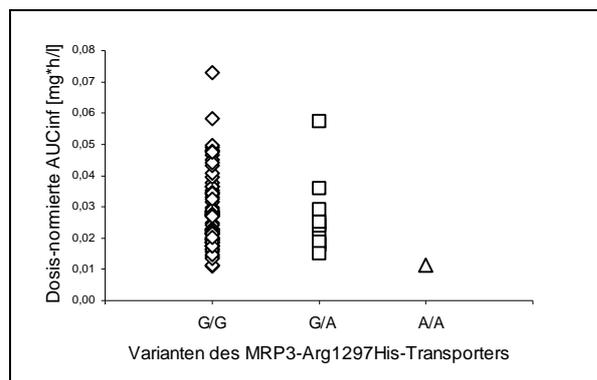
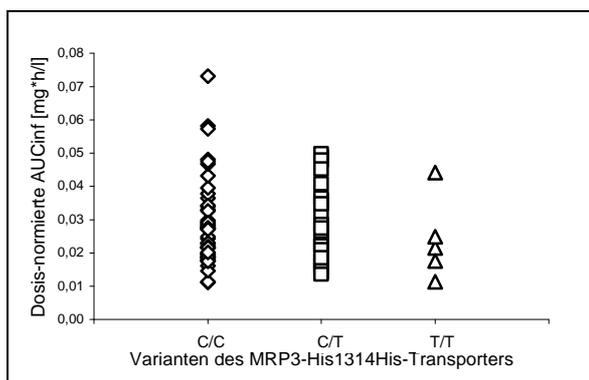
4.7 Bedeutung der Transportervarianten für die Pharmakokinetik von Doxorubicin

Zur Untersuchung der Bedeutung der Transportervarianten für die Pharmakokinetik von Doxorubicin wurde die mittels nicht-kompartimenteller Analyse berechnete AUC_{inf} herangezogen. Um die AUC_{inf} der Patienten bei unterschiedlichen Dosierungen miteinander vergleichen zu können, wurden sie durch die Doxorubicin-Dosis dividiert. Der Minimalwert betrug dabei 0,011 mg·h/l, der Maximalwert 0,073 mg·h/l. Der Mittelwert aller berechneten Dosisnormierten AUC_{inf} lag bei 0,028 mg·h/l. Der niedrigste Mittelwert bezogen auf die Transportervarianten fand sich bei der homozygoten Arg1297His-Variante des MRP3 mit 0,011 mg·h/l. Diese Variante wurde in dieser Studie allerdings nur einmal nachgewiesen. Der höchste Transporter-bezogene Mittelwert zeigte sich bei dem MRP2-Ile1324Ile-Transporter mit 0,033 mg·h/l. Bei den Transportervarianten MRP3 Arg1297His und MRP3 His1314His ließ sich ein Trend bemerken. So nahm die AUC_{inf} mit zunehmender Anzahl der varianten Allele ab. Der Unterschied war jedoch, wie bei allen anderen untersuchten Transportervarianten, nicht signifikant (Tabelle 19).

Tabelle 19: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der Dosis-normierten AUC_{inf} (Auswertung mit nicht-kompartimenteller Analyse) von Doxorubicin in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure- Austausch	AUC_{inf} MW (SD) [mg·h/l]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	0,026 (0,014)	0,028 (0,013)	0,026 (0,007)	0,41
		Ala893Thr		0,041 (0,011)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	0,031 (0,016)	0,025 (0,011)	0,030 (0,011)	0,17
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	0,029 (0,012)	0,024 (0,013)		0,26
MRP2	-24 C>T	-	0,028 (0,012)	0,028 (0,013)	0,023 (0,008)	0,66
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	0,028 (0,012)	0,032 (0,009)		0,51
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	0,030 (0,012)	0,026 (0,010)	0,033 (0,018)	0,13
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	0,028 (0,012)	0,032 (0,009)		0,51
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	0,029 (0,012)	0,026 (0,012)	0,011 (-)	0,32
MRP3	3942 C>T	His1314His	0,029 (0,013)	0,028 (0,011)	0,024 (0,012)	0,70
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	0,028 (0,012)	0,027 (0,010)		0,66

Die beiden Transportervarianten, bei denen sich ein Trend zeigte, werden im Folgenden in den Abbildungen 29 und 30 noch einmal graphisch dargestellt.

Abbildung 29: Korrelation zwischen AUC_{inf} und der Transportervariante MRP3 Arg1297HisAbbildung 30: Korrelation zwischen AUC_{inf} und der Transportervariante MRP3 His1314His

4.8 Bedeutung der Transportervarianten für ausgewählte Nebenwirkungen von Doxorubicin

Als Nebenwirkungsparameter wurden die Nadire der Leukozyten und Thrombozyten gewählt. Auf eine Analyse der Nadire hinsichtlich einer Abhängigkeit der Dosis wurde verzichtet, da dies in der noch nicht eingereichten Dissertation von A. Büchenschütz untersucht wird.

4.8.1 Einfluss der Transportervarianten auf den Leukozyten-Nadir

Zur Beurteilung der Toxizität der Chemotherapie wurde der Verlauf der Leukozytenzahlen untersucht. Es wurden die Leukozytenzahlen der Patienten vor der Chemotherapie mit denen

an Tag 8, Tag 12, Tag 14 und vor dem nächsten Zyklus (im Mittel Tag 20 nach Therapie) verglichen (siehe Tabelle 20). Die Mittelwerte der Leukozytenzahlen sanken nach Therapie ab, um ein Minimum von $8,04 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ an Tag 12 zu erreichen. Vor dem nächsten Therapiezyklus war der Mittelwert der Leukozytenzahlen wieder auf $11,17 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ angewachsen. Die Mittelwerte der Leukozyten lagen an allen untersuchten Tagen deutlich über der kritischen Grenze von $1,0 \cdot 10^3/\mu\text{l}$.

Tabelle 20: Statistische Parameter über den Verlauf der Leukozyten-Zahlen

Statistische Parameter	Tag 0	Tag 8	Tag 12	Tag 14	VNZ*
Anzahl der Patienten	93	85	83	83	85
Mittelwert [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	12,20	10,59	8,04	9,75	11,17
Standardabweichung [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	15,59	24,67	21,56	20,70	19,05
95 %-Konfidenzintervall [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	9,04 – 15,37	5,34 – 15,83	3,40 – 12,68	5,30 – 4,20	7,12 – 15,22
Median [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	7,40	4,70	2,10	2,70	6,66
Bereich [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	0,20 – 116	0,10 – 169	0,20 – 148	0,20 – 151	1,44 – 155

* VNZ bezeichnet den Zeitpunkt des Leukozyten-Nadirs unmittelbar vor dem jeweils nächsten Therapiezyklus

Die World Health Organization nahm 1979 eine Einteilung der Toxizität einer Chemotherapie vor. Diese Einteilung berücksichtigt die Leukozytenzahl der Patienten und klassifiziert sie in vier Gruppen von geringgradig (Grad 1) bis lebensbedrohlich (Grad 4) erniedrigten Leukozytenwerten. In der vorliegenden Studie fiel auf, dass die Zahl der als lebensbedrohlich einzustufenden Grad-4-Toxizität um Tag 12 einen Höhepunkt anstrebte. Immerhin 13 von 83 Patienten, und damit knapp 16 % litten unter solch starken unerwünschten Wirkungen der Chemotherapie. Insgesamt waren bei 9 % der Patienten die Leukozyten vor Therapie, an Tag 8 bei 36 %, am zwölften Tag bei 70 %, an Tag 14 bei 61 % und vor dem nächsten Zyklus bei 20 % der Patienten erniedrigt. Man kann also deutlich sehen, dass die Stärke der Toxizität bezüglich der Leukozytenzahlen sowohl absolut als auch relativ am zwölften Tag nach Chemotherapiebeginn am größten war (Tabelle 21).

Tabelle 21: Toxizitätsbeurteilung der Chemotherapie bezüglich der Leukozyten

Toxizität	Leukozyten-Zahl [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	Anzahl der Patienten				
		Tag 0	Tag 8	Tag 12	Tag 14	VNZ
Grad 0	≥ 4	85	54	25	32	68
Grad 1	3,0 – 3,9	7	15	6	5	11
Grad 2	2,0 – 2,9	0	8	14	20	4
Grad 3	1,0 – 1,9	0	2	25	23	2
Grad 4	$< 1,0$	1	6	13	3	0

Einteilung nach World Health Organization 1979

Im Folgenden wurde untersucht, ob zwischen dem Leukozyten-Nadir und den Transportervarianten eine Korrelation vorhanden sein könnte. Tabelle 22 zeigt, dass die niedrigsten Leukozytenwerte bei der heterozygoten Transportervariante MRP3 Arg1297His vorkamen. Diese lagen mit durchschnittlich $2,69 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ laut WHO auch schon im Bereich der mäßig ausgeprägten Toxizität einer antineoplastischen Therapie (Grad 2). Den höchsten ermittelten Mittelwert des Leukozyten-Nadirs wies die heterozygote Transportervariante MDR1 Ala893Thr mit $7,85 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ auf. Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Leukozyten-Nadir und Transportervarianten lag nicht vor.

Tabelle 22: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen des Leukozyten-Nadirs in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure- Austausch	Leukozyten-Nadir			Signifikanz (ANOVA)
			MW (SD)	[$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]		
			wt / wt	Wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	3,47 (3,91)	3,08 (3,58)	10,69 (22,7)	0,10
		Ala893Thr		7,85 (8,41)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	3,61 (4,40)	3,40 (3,73)	7,69 (18,8)	0,25
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	4,79 (11,03)	3,31 (2,12)		0,73
MRP2	-24 C>T	-	5,00 (12,69)	3,27 (3,60)	6,89 (7,36)	0,68
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	4,76 (10,83)	2,76 (1,26)		0,68
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	3,23 (4,92)	5,10 (14,22)	6,43 (6,09)	0,60
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	4,76 (10,83)	2,76 (1,26)		0,68
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	5,20 (12,99)	4,06 (5,67)	2,69 (2,31)	0,81
MRP3	3942 C>T	His1314His	4,74 (11,34)	3,95 (3,65)		0,97
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	4,89 (11,69)	3,87 (4,69)		0,72

4.8.2 Einfluss der Transportervarianten auf den Thrombozyten-Nadir

Außer den Leukozytenzahlen wurden auch die Thrombozyten-Werte zur Beurteilung der Toxizität herangezogen. Wieder wurden die Thrombozyten-Zahlen am Tag vor Therapie und an Tag 8, 12 und 14 nach Therapie sowie am Tag vor der nächsten Chemotherapie untersucht. Wie bei den Leukozyten fand sich auch bei den Thrombozyten der Nadir an Tag 12. Insgesamt war der Abfall der Thrombozyten-Zahlen aber als geringgradiger als bei den Leukozyten zu beurteilen. Der Mittelwert des Nadirs lag mit $189 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ immer noch deutlich im Bereich, der von der WHO als unbedenklich eingestuft wird. Eine Übersicht über alle statistischen Parameter der Thrombozyten-Zahlen findet sich in Tabelle 23.

Tabelle 23: Statistische Parameter über den Verlauf der Thrombozyten-Zahlen

Statistische Parameter	Tag 0	Tag 8	Tag 12	Tag 14	VNZ*
Anzahl der Patienten	92	84	82	81	84
Mittelwert [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	331,21	234,45	188,69	218,71	339,11
Standardabweichung [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	119,53	113,99	89,51	93,51	144,14
95 %-Konfidenzintervall [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	307 – 356	210 – 259	169 – 208	198 – 239	308 – 370
Median [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	320	223,5	193	216	345,5
Bereich [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	15,4 – 786	9,5 – 775	9,5 – 578	9,3 – 488	9,7 – 716

* VNZ bezeichnet den Zeitpunkt des Thrombozyten-Nadirs unmittelbar vor dem jeweils nächsten Therapiezyklus

Auch die Einteilung nach Grad der Toxizität bezüglich der Thrombozyten zeigte, dass der Anteil von geringgradig bis lebensbedrohlich eingestuften Thrombozyten-Werten nur 6 % an Tag 8, 15 % an Tag 12, 10 % an Tag 14 und 2 % am Tag vor dem nächsten Zyklus betrug (siehe Tabelle 24).

Tabelle 24: Toxizitätsbeurteilung der Chemotherapie bezüglich der Thrombozyten

Toxizität	Thrombozyten-Zahl [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	Anzahl der Patienten				
		Tag 0	Tag 8	Tag 12	Tag 14	VNZ
Grad 0	≥ 100	91	78	70	73	82
Grad 1	75 – 99	0	3	3	1	0
Grad 2	50 – 74	0	1	4	1	1
Grad 3	25 – 49	0	1	3	5	0
Grad 4	< 25	1	1	2	1	1

Einteilung nach World Health Organization 1979

Die Tabellen 23 und 24 zeigen, dass in der vorliegenden Studie die antineoplastische Therapie nur einen geringen Einfluss auf die Thrombozyten-Zahlen ausübte. So lag sowohl der Mittelwert des Thrombozyten-Nadirs mit $189 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ als auch der niedrigste Mittelwert, der in Abhängigkeit von den Transportervarianten berechnet wurde, mit $149 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ in dem Bereich der von der WHO als unbedenklich eingestuften Toxizität einer antineoplastischen Therapie. Der kleinste Mittelwert der Transportervarianten fand sich beim homozygoten Wildtyp des MRP2-Ile1324Ile-Transporters mit $168 \cdot 10^3/\mu\text{l}$. Den größten Wert von $245 \cdot 10^3/\mu\text{l}$ wiesen die heterozygoten MRP2-Transportervarianten Val1188Glu und Cys1515Tyr auf. Zwar ließ sich in der ANOVA-Analyse ein Trend erkennen, insgesamt ließ sich keine Korrelation zwischen Transportervarianten und Thrombozyten-Nadir feststellen (siehe Tabelle 25).

Tabelle 25: Bestimmung der Mittelwerte und der Standardabweichungen des Thrombozyten-Nadirs in Abhängigkeit von der Transportervariante

Gen	Position	Aminosäure- Austausch	Thrombozyten-Nadir MW (SD) [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]			Signifikanz (ANOVA)
			wt / wt	wt / var	var / var	
MDR1	2677 G>T	Ala893Ser	202 (63,4)	181 (94,5)	180 (80,3)	0,69
		Ala893Thr		223 (25,5)		
MDR1	3425 C>T	Ile1144Ile	176 (77,9)	184 (90,7)	179 (82,0)	0,94
MRP1	2012 G>T	Gln671Val	179 (87,8)	191 (55,7)		0,71
MRP2	-24 C>T	-	177 (81,6)	191 (92,1)	199 (75,8)	0,69
MRP2	3563 T>A	Val1188Glu	177 (83,4)	245 (89,1)		0,08
MRP2	3972 C>T	Ile1324Ile	168 (67,7)	180 (98,7)	208 (72,4)	0,32
MRP2	4544 G>A	Cys1515Tyr	177 (83,4)	245 (89,1)		0,08
MRP3	3890 G>A	Arg1297His	175 (81,9)	195 (89,7)	159 (85,4)	0,47
MRP3	3942 C>T	His1314His	176 (82,7)	205 (95,0)		0,27
BCRP	421 C>A	Gln141Lys	180 (84,1)	192 (84,6)		0,59

4.9 Tabellarische Zusammenfassung der Ergebnisse

Tabelle 26: Zusammenfassung der Ergebnisse der pharmakokinetischen Parameter, Teil 1

Pharmakokinet. Parameter	Mittelwerte	Geschlecht	Alter	Leberfunktion	Transporter*	
Totale Clearance von Doxorubicin [l/h]	78,17	Keine Korrelation	Keine Korrelation	Keine Korrelation	MRP2 -24 C>T ↓ MRP3 His1314His ↑	
AUC _{inf} von Doxorubicin [mg·h/l]	Dosisgruppe [mg/m ²] 20 – 40	MW 0,77	Keine Korrelation	Keine Korrelation	Keine Korrelation	Keine Korrelation
	50	1,14				
	60	1,38				
	75	1,55				
AUC _{inf} von Doxorubicinol [mg·h/l]	25 – 35	0,88	Keine Korrelation	Positive Korrelation	Trend: Höhere AUC bei schlechterer Leberfunktion	MRP3 Arg1297His ↓ MRP3 His1314His ↓
	50	1,43				
	60	1,65				
	75	1,97				

* ↑ = Pharmakokinetischer Parameter nimmt mit zunehmender Zahl der varianten Allele zu.
↓ = Pharmakokinetischer Parameter nimmt mit zunehmender Zahl der varianten Allele ab.

Tabelle 27: Zusammenfassung der Ergebnisse der pharmakokinetischen Parameter, Teil 2

Pharmakokinetische Parameter		Mittelwerte von Doxorubicin	Mittelwerte von Doxorubicinol	Transporter *
C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	DG [mg/m^2]			
	20 – 40	174,9	17,66	
	50	407,8	28,82	n.u.
	60	294,5	32,29	
	75	410,1	36,71	
AUC_{last} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	20 – 40	0,53	0,41	
	50	0,85	0,63	n.u.
	60	0,99	0,55	
	75	1,26	0,98	
	Totale Clearance [l/h]		78,17	74,54
$t_{1/2}(\alpha)$ [min]		7,9	n.u.	MRP3 Arg1297His ↓
$t_{1/2}(\beta)$ [h]		20,13	53,63	MRP2 -24 C>T ↑
V1 [l]		40,0	3784	MDR1 Ile1144Ile ↓ MRP2 -24 C>T ↑
V2 [l]		1422	n.u.	MRP2 -24 C>T ↑ MRP3 His1314His ↓

* ↑ = Pharmakokinetischer Parameter von Doxorubicin nimmt mit zunehmender Zahl der varianten Allele zu.
↓ = Pharmakokinetischer Parameter von Doxorubicin nimmt mit zunehmender Zahl der varianten Allele ab.
n.u. = nicht untersucht

Tabelle 28: Zusammenfassung der Ergebnisse der Parameter ausgewählter Nebenwirkungen

Leukozyten-Nadir [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	Tag 0	12,20	
	Tag 8	10,59	
	Tag 12	8,04	MRP2 Ile1324Ile ↑ MRP3 Arg1297His ↓
	Tag 14	9,75	
	VNZ	11,17	
Thrombozyten-Nadir [$\cdot 10^3/\mu\text{l}$]	Tag 0	331,2	
	Tag 8	234,5	
	Tag 12	188,7	Keine Korrelation
	Tag 14	218,7	
	VNZ	339,1	

* ↑ = Leukozyten-Nadir nimmt mit zunehmender Zahl der varianten Allele zu.
↓ = Leukozyten-Nadir nimmt mit zunehmender Zahl der varianten Allele ab.

5 Diskussion

5.1 Überblick über die Studie

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Polymorphismen in den Genen der Membrantransporter MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP auf die Pharmakokinetik und unerwünschte Arzneimittelwirkungen des Zytostatikums Doxorubicin untersucht. Dazu wurden Plasmaproben von 94 Patienten analysiert, die im Universitätsklinikum Göttingen eine Polychemotherapie mit Doxorubicin im ersten Zyklus erhielten. Damit ist diese Studie die bisher größte zur Erfassung der Pharmakokinetik von Doxorubicin. Bisherige uns bekannte Publikation verwendeten nur Daten von maximal 35 Patienten (Piscitelli et al. 1993). Die vorliegenden Daten zeigten keinen quantitativ gewichtigen Einfluss der Transportervarianten auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin oder seines Metaboliten Doxorubicinol. Auch die als Parameter für Nebenwirkungen untersuchten Leukozyten- oder Thrombozyten-Nadire zeigten keine bedeutsamen Korrelationen mit den untersuchten Transporter-Genpolymorphismen.

5.2 Vergleich der pharmakokinetischen Daten dieser Studie mit Literaturdaten

Zunächst soll die hier ermittelte Pharmakokinetik von Doxorubicin unabhängig von den Genpolymorphismen mit Literaturdaten verglichen werden. Dabei spielen zwei Punkte eine wichtige Rolle: Zum einen die verwendeten Dosierungen und zum anderen die Dauer, mit der Doxorubicin infundiert wurde.

An der vorliegenden Studie nahmen 94 Patienten teil, deren Dosis während einer einzelnen Infusion zwischen 20 mg/m² und 75 mg/m² lag. Bisher gibt es nur wenige weitere publizierte Studien, die innerhalb einer Studie in vergleichbarer Weise ein so breites Spektrum unterschiedlicher Dosierung analysiert haben: In der 1990 von Jaquet et al. veröffentlichten Studie wurden 18 Patienten mit Doxorubicin-Dosierungen von 25 bis 75 mg/m² eingeschlossen und in die Studie von Bronchud et al. (1990) acht Patienten mit Doxorubicin-Dosierungen von 100 bis 150 mg/m². In den meisten anderen Publikation wurden nur Patienten einer Dosierung untersucht (z.B. Andersen et al. 1999 (24 Patienten mit 50 mg/m²), Piscitelli et al. 1993 (35 Patienten mit 60 mg/m²), Canal et al. 1991 (36 Patienten mit 50 mg/m²)). Auch waren in den anderen Arbeiten die Infusionszeiten innerhalb einer Studie identisch, variierten allerdings zwischen den einzelnen Studien erheblich. So gibt es eine große Anzahl von Publikationen, in denen die Infusionsdauer 10 Minuten nicht überschritt (z.B. Eksborg et al. 1985 (21 Patienten, Infusionsdauer: 3 Minuten), Jaquet et al. 1990 (18 Patienten, Infusionsdauer: 10 Minuten)). In anderen Studien wurden dagegen sehr lange Infusionszeiten verwendet. So unter-

suchten z.B. Bugat et al. 1989 32 Patienten, die 96-Stunden-Infusionen erhielten. In der vorliegenden Studie wurde eine Patientengruppe untersucht, der das Medikament Doxorubicin über einen Infusionszeitraum von 25 Minuten bis 4,5 Stunden infundiert wurde. Beiden Einflussfaktoren wurde Rechnung getragen, indem konzentrationsabhängige Parameter in Abhängigkeit von Dosierung und Infusionsrate berechnet und dargestellt wurden (siehe Abbildung 8, Kapitel 4.2.1.1).

5.2.1 Pharmakokinetische Daten von Doxorubicin

5.2.1.1 Maximale Plasmakonzentration (C_{\max}) von Doxorubicin

In dieser Studie wurden die Mittelwerte der Maximalkonzentration nach Dosisgruppen geordnet mit 175 bis 410 $\mu\text{g/l}$ berechnet. Der Mittelwert der Dosisgruppe 60 mg/m^2 ist mit 294 $\mu\text{g/l}$ allerdings deutlich kleiner als der der Dosisgruppe 50 mg/m^2 mit 407,8 $\mu\text{g/l}$, so dass keine eindeutige Dosisabhängigkeit der Maximalkonzentration nachgewiesen werden konnte. Diese zeigten allerdings Bronchud et al. (1990) als sie einen linearen Anstieg von C_{\max} im Bereich von 75 mg/m^2 bis 150 mg/m^2 nachwiesen. Im Fall der vorliegenden Studie muss berücksichtigt werden, dass einerseits die Infusionsdauern nicht einheitlich waren und andererseits die Fallzahl in den einzelnen Dosisgruppen stark variierte, so umfasst die Dosisgruppe 50 mg/m^2 43 Patienten, wohingegen die Dosisgruppe 75 mg/m^2 nur aus 5 Patienten besteht. Eine klare Abhängigkeit von C_{\max} von der Infusionsdauer ist aber den Literaturdaten zu entnehmen, so erreichten Speth et al. (1987b) eine neunfache Reduktion der Maximalkonzentration bei Verlängerung der Infusionszeit von 3 Minuten auf 4 Stunden und ein 30-fache Reduktion bei einer Infusionsdauer von 72 Stunden bei gleicher Dosierung von 30 mg/m^2 . Die Maximalkonzentrationen von Doxorubicin variieren bei einer kürzeren Infusionsdauer als 30 Minuten zwischen 1447 und 3641 $\mu\text{g/l}$ (Speth et al. 1987a und Mross et al. 1988). Deutlich kleinere Maximalkonzentrationen geben die Autoren an, die die Konzentrationsverläufe nach Infusionen von vier bis 96 Stunden untersuchten: Hier nahm C_{\max} Werte von 11,6 bis 176 $\mu\text{g/l}$ an (Muller et al. 1993 bzw. Speth et al. 1987b). Um der Abhängigkeit von C_{\max} von Dosis und Infusionsdauer Rechnung zu tragen und damit auch eine bessere Vergleichbarkeit der Werte dieser Studie mit denen der Literatur zu gewährleisten, wurden deshalb die Maximalkonzentrationen in der folgenden Tabelle 29 nach Infusionsraten geordnet.

Tabelle 29: Vergleich der Daten für die Maximalkonzentration von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach der Infusionsrate

C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	SD (C_{\max}) [$\mu\text{g/l}$]	Dosis [mg/m^2 KOF]	Appl.- Dauer [min]	Infusions- rate [$\text{mg}\cdot\text{min}/\text{m}^2$]	An- zahl Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- Grenze [ng/ml]	Autor
176,0	34,0	30	240	0,1	5	Leukämie	120	1	Speth et al. 1987 b
1902,0	337,0	75	30	2,5	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
2609,0	543,0	100	30	3,3	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
2989,0	761,0	125	30	4,2	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
3641,0	1250,0	150	30	5,0	2	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
1447,0	681,0	30	Bolus	6,0*	9	Leukämie	196	1	Speth et al. 1987 a
1509,0	80,0	36	5	7,2	5	CLL	216	1	Muller et al. 1993
18,5	4,3	15	5760	9,4	12	Kolon/Rectum	144	k.A.	Bugat et al. 1989
1640,0	470,0	30	3	10,0	7	Leukämie	120	1	Speth et al. 1987 b
22,1	3,6	17,5	5760	10,9	9	Kolon/Rectum	144	k.A.	Bugat et al. 1998
2322,0	k.A.	25	2	12,5	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
23,4	2,5	20	5760	12,5	6	Kolon/Rectum	144	k.A.	Bugat et al. 1989
27,3	5,7	22,5	5760	14,1	5	Kolon/Rectum	144	k.A.	Bugat et al. 1989
11,6	1,8	36	5760	22,5	5	CLL	216	1	Muller et al. 1993
15,8	4,4	36	5760	22,5	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
47,0	5,0	30	4320	25,0	2	Leukämie	120	1	Speth et al. 1987 b
113,0	k.A.	75	5760	46,9	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
85,0	50,0	30	480	225,0	4	Leukämie	120	1	Speth et al. 1987 b
30,9	15,2	50 - 60	25 - 240	0,2 - 19,9	19	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
29,3	11,9	30 - 75	25 - 190	20,0 - 39,9	40	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
28,5	13,0	20 - 60	40 - 255	40,0 - 59,9	26	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
16,1	6,2	25 - 40	45 - 90	60,0 - 113,4	5	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

Die Studie von Ackland et al. (1989) ist wegen einer nicht vergleichbaren Dosierungsweise (über 16 Wochen tägliche Infusionen) nicht in den Vergleich eingegangen.

* Zur Berechnung der Infusionsrate wurde hier eine Dauer der Infusion von 5 Minuten geschätzt.

5.2.1.2 AUC_{last} und AUC_{inf} von Doxorubicin

In der vorliegenden Studie wurden AUC_{last} und AUC_{inf} mit nicht-kompartimentellen Methoden analysiert. Dazu wurden alle Patienten in vier Dosisgruppen (20-40, 50, 60 und 75 mg/m^2) eingeteilt. Die Mittelwerte der AUC_{last} stiegen dosisabhängig an und betragen 0,53, 0,85, 0,99 und 1,26 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{l}$. Die Werte für AUC_{inf} unterschieden sich nur geringfügig von denen ohne Extrapolation, sie betragen 0,77, 1,14, 1,38 und 1,55 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{l}$. Sie liegen damit im unteren Bereich der Literaturwerte für die AUC. Es ergaben sich Werte für eine Dosis von 75 mg/m^2 zwischen 1,6 (Bronchud et al. 1990) und 5,4 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{l}$ (Twelves et al. 1991). Große interindividuelle Unterschiede in der AUC in der vorliegenden Studie - z.B. bei der AUC_{inf} der Patienten der Dosisgruppe 60 mg/m^2 von 0,74 bis 4,48 mg/m^2 - wurden auch schon in den Arbeiten von Jaquet et al. (1990) und Preiss et al. (1989) nachgewiesen. Diese berichteten von Schwankungen von bis zu 100 %. Wahrscheinlich erklären sich die Schwankungen innerhalb einer Arbeit, aber auch zwischen einzelnen Arbeiten, unter anderem durch die Abhängigkeit der AUC von Distribution, Metabolismus und Clearance. Erwähnenswert ist des Weiteren, dass die Literaturdaten ebenso wie die vorliegende Studie eine Dosisabhängigkeit der AUC

zeigten (Eksborg et al. 1985, Jaquet et al. 1990 und Bronchud et al. 1990). Der Vergleich von Literatur- und Studiendaten findet sich in Tabelle 30.

Tabelle 30: Vergleich der Daten für die AUC von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach der Dosis

AUC [mg·h/l]	SD AUC [mg·h/l]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.-Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeitraum [h]	Nachweisgrenze [ng/ml]	Autor
0,47	0,32	12	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
1,25	0,77	12	5	3	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
1,62	k.A.	25	Bolus	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
1,23	0,59	25 – 30	10	4	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
0,4	0,13	29	Bolus	4	Blase / Lunge	120	50 pg/ml	Leca et al. 1991
1,06	0,26	30	Bolus	9	Leukämie	196	1	Speth et al. 1987 a
1,22	0,37	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
2	1,3	30	8 h	4	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
2,3	0,5	30	3	7	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
2,5	0,7	30	72 h	2	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
3,2	0,8	30	4 h	5	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
3,41	1,37	35 – 44	10	5	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
1,48	0,28	36	96 h	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
1,6	0,51	36	5	5	CLL	216	k.A.	Muller et al. 1993
2,15	1,18	45	5	4	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
3,49	1,56	46 – 51	10	8	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
1,74	0,65	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
2,5	2,1	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
1,83	1,01	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
1,9	0,6	60	2	7	Verschieden	168	0,2	Camaggi et al. 1988
3,68	k.A.	60	2	1	Magen	168	0,2	Camaggi et al. 1988
4,61	1,72	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
1,65	0,85	66	60	6	SCLC	48	5	Rushing et al. 1993
1,98	1,04	66	60	6	SCLC	48	5	Rushing et al. 1993
3,07	0,99	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
4,58	k.A.	72	10	1	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
1,66	0,29	75	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
2,59	k.A.	75	Bolus	6	Mamma	48	0,4	Twelves et al. 1991
5,45	4,5 – 7,1	75	96 h	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
1,86	0,24	100	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
2,28	0,11	125	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
2,42	0,11	150	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
0,77	0,57	20 – 40	25 – 240	19	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
1,14	0,35	50	25 – 190	40	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
1,38	0,79	60	40 – 255	26	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
1,55	0,32	75	45 – 90	5	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

5.2.1.3 Clearance von Doxorubicin

Die Clearance von Doxorubicin wurde in dieser Studie einerseits mit Hilfe der nicht-kompartimentellen Analyse (Clearance = Dosis/AUC_{inf}) und andererseits aus den Parametern der Kurvenanpassung nach einem Zwei-Kompartiment-Modell berechnet. Der Mittelwert laut nicht-kompartimenteller Analyse betrug 90,18 l/h und nach kompartimenteller Berechnung 78,17 l/h. Dieser Unterschied ist leicht aus der Berechnungsmethodik verständlich: Es wurden keine Blutkonzentrationen während der Infusion abgenommen, da dies in der Regel das Legen eines zweiten Zuganges erfordert hätte. Damit konnte die AUC während der Infusion nur linear von 0 bis zum ersten Messzeitpunkt nach Abschalten der Infusion interpoliert werden

und dieser Wert ist notwendigerweise etwas kleiner als die wirkliche AUC während der Infusion. Bei der Kurvenanpassung hingegen wird auch während der Infusion korrekt interpoliert.

Die Literaturangaben streuen für die Doxorubicin-Clearance zwischen 33 l/h (Robert et al. 1985) und 94 l/h (Bronchud et al. 1990). Wie man Tabelle 31 entnehmen kann, liegen die meisten berechneten Clearances anderer Arbeiten deutlich unter dem Populationsmittelwert von 78,17 l/h in der vorliegenden Studie. Es konnte ausgeschlossen werden, dass eine Abhängigkeit der Clearance von Dosis, Applikationsdauer oder –rate vorliegen könnte. Vermutlich spielen also eher äußere Gründe, wie unterschiedliche Präparate, unterschiedliche Nachweisempfindlichkeit der Analysemethoden oder unterschiedliche Gesundheitszustände der Patienten (z.B. Leberfunktion) eine Rolle.

Tabelle 31: Vergleich der Daten für die Clearance von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach der Clearance

CL_{Total} [l/h]	SD CL_{Total} [l/h]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
21,4	k.A.	25	Bolus	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
24,0	k.A.	58	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
33,4	6,9	50	5	7	Mamma	48	2	Robert et al. 1985
41,6	16,8	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
44,0	36-80	75	Bolus	6	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
44,0	18,0	23 – 72	10	18	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
45,0	14,0	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
47,0	21,6	45	5	4	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
48,7	22,6	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
51,3	16,0	60	3 – 6	24	Sarkom	48	5	Robert et al. 1987
55,4	24,8	12	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
58,0	9,3	50	k.A.	5	Mamma	48	0,1	Mross et al. 1990
60,0	22,0	22 – 60	3	21	Verschieden	24	k.A.	Eksborg et al. 1985
60,0	23,0	50	2	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
60,9	31,3	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
61,0	28,0	60	2	7	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
69,0	9,3	66	60	12	SCLC	48	k.A.	Rushing et al. 1993
69,5	35,4	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
70,3	2,7	75	30	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
78,0	25,5	66	60	12	SCLC	48	k.A.	Rushing et al. 1993
84,0	18,0	20	3	4	Ovar	24	k.A.	Eksborg et al. 1986
89,0	13,0	100	30	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
90,0	7,3	125	30	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
94,0	9,1	150	30	2	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
78,2	15,7	20 – 75	25 – 270	94	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

5.2.1.4 Halbwertszeiten $t_{1/2}(\alpha)$ und $t_{1/2}(\beta)$ von Doxorubicin

Die initiale Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ wurde in dieser Studie nur mittels kompartmenteller Analyse berechnet, die terminale Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ auch durch nicht-kompartimentelle Analyse. Der Parameter $t_{1/2}(\alpha)$ betrug 7,9 Minuten; $t_{1/2}(\beta)$ 24,75 Stunden laut nicht-kompartimenteller und 20,13 Stunden nach kompartmenteller Analyse. Damit lag $t_{1/2}(\alpha)$ im Bereich der Daten

anderer Autoren, die $t_{1/2}(\alpha)$ mit 2 (Speth et al. 1988) bis 10,5 Minuten (Leca et al. 1991) angeben (Tabelle 32). Laut Jaquet et al. (1990) weist $t_{1/2}(\alpha)$ nur geringe interindividuelle Schwankungen auf. In der vorliegenden Studie variierte $t_{1/2}(\alpha)$ zwischen 5,4 und 12,6 Minuten.

Die Angaben über $t_{1/2}(\beta)$ schwanken in der Literatur weit: Sie nehmen Werte von 9 (Erttmann et al. 1988) bis 82 Stunden (Bronchud et al. 1990) an (Tabelle 33). Diese große Schwankungsbreite ist außer durch die Abhängigkeit von $t_{1/2}(\beta)$ von physiologischen Parametern wie der Clearance, auch von Untersuchungsparametern wie der Empfindlichkeit der Nachweismethode, aber auch der Länge des Messzeitraums und damit auch vom angewandten Kompartiment-Modell (Zwei-, Drei- oder Vier-Kompartiment-Modell) abhängig. Jaquet et al. (1990) verdeutlichten dies, als sie eine Erhöhung von $t_{1/2}(\beta)$ des Doxorubicin von 20 Stunden auf 28,5 Stunden bei einer Verlängerung des Messintervalls von 24 auf 48 Stunden feststellten. Die Tatsache, dass die Halbwertszeiten nicht nur von biologischen Größen abhängen, sondern auch von der Empfindlichkeit der verwendeten Analysemethoden und der Länge des Messzeitraumes ist allgemein bekannt und ein Grund, warum Halbwertszeiten im wissenschaftlichen Vergleich pharmakokinetischer Studien in den letzten zwei Jahrzehnten weniger verwendet werden.

Tabelle 32: Vergleich der initialen Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$) von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach $t_{1/2}(\alpha)$

$t_{1/2}(\alpha)$ [min]	SD ($t_{1/2}(\alpha)$) [min]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
2	1	30	4 h	5	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1988
2	1	30	8 h	4	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1988
2,5	1,2	50	2	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
2,9	0,1	50	k.A.	3	Verschieden	48	0,1	Mross et al. 1990
3,2	> 6,2 %	60	40 h	8	Sarkom	24	5,25	Erttmann et al. 1988
3,4	> 6,2 %	30	5	10	Verschieden	24	5,25	Erttmann et al. 1988
3,8 – 4,6	k.A.	50	k.A.	2	Mamma	48	0,1	Mross et al. 1990
4	2	30	3	7	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
4	1,4	50	5	7	Mamma	48	2	Robert et al. 1985
4,2	0,7	50 – 75	3 – 6	26	Sarkom	48	5	Robert et al. 1987
4,3	0,8	22 – 60	3	21	Verschieden	24	k.A.	Eksborg et al. 1985
4,4	1,2	60	2	7	Lunge/Niere	168	0,2	Camaggi et al. 1988
4,4	0,7	20	3	6	Ovar	24	k.A.	Eksborg et al. 1986
4,5	2	28	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
4,6	0,3	75	2	6	Mamma	48	k.A.	Gasparini et al. 1990
4,8	3,6 – 6,6	25 / 75	Bolus	11	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
4,8	> 6,2 %	50	5	8	NHL	24	5,25	Erttmann et al. 1988
5	2	30	72 h	2	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
5,6	4,4 – 11	75 – 150	30	11	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
5,7	3,5	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
6	3	36	96 h	7	MM	196	1	Speth et al. 1987 a
6	2,4	30	Bolus	9	Leukämie	196	1	Speth et al. 1987 a
7,8	k.A.	60	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
10,5	1,7	33	Langsam	4	Blase	120	50 pg/ml	Leca et al. 1991
7,9	1,3	20 – 75	25 – 270	94	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

Tabelle 33: Vergleich der Halbwertszeiten der letzten Eliminationsphase ($t_{1/2}(z)$) von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach $t_{1/2}(z)$

$t_{1/2}(z)^*$ [h]	SD ($t_{1/2}(z)$) [h]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
9,0	11,4	60	40 h	8	Sarkom	24	5,25	Erttmann et al. 1988
10,4	3,6	28	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
12,6	k.A.	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
12,8	5,0	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
14,6	4,7	22 – 60	3	21	Verschieden	24	k.A.	Eksborg et al. 1985
15,0	k.A.	66	60	12	SCLC	48	k.A.	Rushing et al. 1993
17,1	4,9	20	3	6	Ovar	24	k.A.	Eksborg et al. 1986
20,0	12,2	50	5	7	Mamma	48	2	Robert et al. 1985
20,4	k.A.	50	5	8	NHL	24	5,25	Erttmann et al. 1988
21,7	3,0	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
22,0	6,5	30	3	7	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
23,4	3,0	50	k.A.	3	Verschieden	48	0,1	Mross et al. 1990
24,0	18,3 – 32	75 – 150	30	7	Mamma	24	k.A.	Bronchud et al. 1990
25,5–36,7	k.A.	50	k.A.	2	Mamma	48	0,1	Mross et al. 1990
25,6	9,0	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
25,8	28,8-91,2	50	2	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
26,5	1,4	30	5	10	Verschieden	24	5,25	Erttmann et al. 1988
26,6	6,7	36	96 h	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
26,6	16,9	36	96 h	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
27,0	21,7	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
28,0	6,5	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
28,5	6,7	23 – 72	10	18	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
28,7	4,7	33	Langsam	4	Blase	120	50 pg/ml	Leca et al. 1991
31,0	11,0	30	8	4	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
32,0	21,0-67,3	25/75	Bolus	11	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
35,0	17,0	50 – 75	3 – 6	26	Sarkom	48	5	Robert et al. 1987
35,2	5,2	75	2	6	Mamma	48	k.A.	Gasparini et al. 1990
39,5	4,4	36	5	5	CLL	216	1	Muller et al. 1993
43,6	10,7	72 – 84	96 h	13	Kolon/Rektum	144	k.A.	Bugat et al. 1989
44,6	10,4	36	96 h	5	CLL	216	1	Muller et al. 1993
44,8	14,0	60	2	7	Lunge / Niere	168	0,2	Camaggi et al. 1988
45,0	33,4	30	4 h	5	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1988
49,3	5,8	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
58,0	8,0	30	72 h	2	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1990
74,0	k.A.	60	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
81,6	8,5	75 – 125	30	4	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
20,1	4,2	20 – 75	25 – 270	94	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
24,8	14,6	20 – 75	25 – 270	90	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

* In den meisten Fällen, so auch bei der vorliegenden Studie, wurden nur zwei Halbwertszeiten angenommen, so dass $t_{1/2}(z)$ hier $t_{1/2}(\beta)$ darstellt.

5.2.1.5 Verteilungsvolumina von Doxorubicin

Mittels der kompartmentellen Analyse ließen sich zwei Verteilungsvolumina errechnen: V1, das dem Volumen des zentralen Kompartiments entspricht, und V2, welches dem Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments entspricht. Die Populationsmittelwerte betragen für V1 40 l (0,53 l/kg KG) und für V2 1422 l (19,01 l/kg KG). Durch nicht-kompartimentelle Analyse wurde das Verteilungsvolumen zum Zeitpunkt der maximalen Konzentration berechnet. Es betrug 9,2 l. Verständlicherweise ist es recht klein, da zu diesem Zeitpunkt (in der Regel direkt nach Ende der Infusion) besonders nach kurzen Infusionsdauern noch wenig Doxorubicin verteilt ist. Für V1 gibt es in der Literatur nur wenige Werte (Tabelle 34), sie liegen in einem Bereich von 11,4 (Mross et al. 1990) bis 27,8 l (Piscitelli et al. 1993). Laut Ritschel et

Banerjee (1986) entspricht dies dem Plasma und der extrazellulären Flüssigkeit. Die Literaturdaten geben für V_2 Werte zwischen 748 l (10,7 l/kg KG, Frenay et al. 1989) und 1758 l (30 l/kg KG, Jaquet et al. 1990) an. Die insgesamt hohen Werte für V_2 zeigen, dass Doxorubicin in tiefe Kompartimente wie Leber, Niere, Knochenmark, Herz und Muskelgewebe eindringt und sich dort auch gegenüber dem Plasma anreichert, wobei das Herz für die Toxizität Doxorubicins eine besondere Rolle spielt (Steward et al. 1993).

Tabelle 34: Vergleich der Daten für das Verteilungsvolumen von Doxorubicin aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach V

V [l/kg KG]	SD (V) [l/kg KG]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl d. Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
V1								
0,15	0,03	50	k.A.	5	Verschieden	48	0,1	Mross et al. 1990
0,22	0,11	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
0,37	0,27	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
0,53	0,16	20 – 75	25 – 270	94	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
V2								
10,7	7	12	5	3	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
11,5	6,2	12	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
13,3	8,3	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
14	4,6	50	5	18	Mamma	24	k.A.	Canal et al. 1991
15,1	18,8	75	2	6	Mamma	48	1	Gasparini et al. 1990
16,9	8	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
30	k.A.	22 – 72	10	18	Verschieden	48	k.A.	Jaquet et al. 1990
19,01	7,26	20 – 75	25 – 270	94	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

5.3 Pharmakokinetische Daten von Doxorubicinol

Pharmakokinetik von Doxorubicinol gibt es nur wenige Daten. Einzig zur AUC und zur terminalen Halbwertszeit gibt es ausreichend viele Daten, um sie mit den in dieser Studie erhobenen Werten vergleichen zu können.

5.3.1 AUC_{last} und AUC_{inf} von Doxorubicinol

Betrachtet man die Konzentrations-Zeit-Kurven von Doxorubicin und Doxorubicinol (siehe Abbildung 12), so fallen ein schneller Abfall des Doxorubicins in der Verteilungsphase sowie das sofortige Auftreten des Metaboliten nach Infusionsende auf. Dies deutet neben einer schnellen Umverteilung des Doxorubicins in periphere Kompartimente auf eine rasche Umwandlung des Doxorubicins in Doxorubicinol hin. Nach Ende der Verteilungsphase überwiegt die Doxorubicinolkonzentration die Doxorubicinkonzentration, was an der längeren Halbwertszeit des Metaboliten liegen könnte (20,1 h vs. 53,6 h). Auch eine Rezirkulation des Doxorubicinols im enterohepatischen Kreislauf wurde schon postuliert (van der Vijgh et al. 1990).

Die AUC_{last} und die AUC_{inf} von Doxorubicinol wurden ebenso wie die AUCs der Muttersubstanz mit nicht-kompartimentellen Methoden analysiert. Die berechneten Mittelwerte der AUC_{inf} von Doxorubicinol nahmen in Abhängigkeit der vier Dosisgruppen Werte von 0,88, 1,43, 1,65 und 1,97 mg·h/l an, was für eine Abhängigkeit der Doxorubicinol-Konzentration von der Doxorubicin-Dosis spricht. Die AUC_{last} -Werte von Doxorubicinol betrugen in Abhängigkeit der Dosisgruppen Werte von 0,39, 0,63, 0,55 und 0,98 mg·h/l an und waren etwa um die Hälfte kleiner als die AUC_{inf} -Werte, da zum Zeitpunkt der letzten Messung noch nennenswerte Mengen von Doxorubicinol im Körper vorlagen (im Gegensatz zur Muttersubstanz Doxorubicin, die zu diesem Zeitpunkt schon weitgehend eliminiert war). Die Literaturwerte für die AUC von Doxorubicinol schwanken zwischen 0,02 (bei einer Ausgangsdosis von 38 mg/m², Jaquet et al. 1990) und 2,5 mg·h/l (für eine Ausgangsdosis von 70 mg/m², Preiss et al. 1989), wobei nicht für alle Publikationen eruiert werden konnte, ob es sich um AUC_{inf} - oder AUC_{last} -Werte handelt. Die Mittelwerte der AUC_{inf} von Doxorubicinol waren in der vorliegenden Studie um 15 und 30 % größer als die Werte für die AUC_{inf} von Doxorubicin in den entsprechenden Dosisgruppen. Die Quotienten aus AUC_{inf} von Doxorubicinol und Doxorubicin lag Dosisgruppen-abhängig zwischen 1,17 und 1,23. Bei Interpolation gegen unendlich ist also die AUC des Metaboliten größer als die der Muttersubstanz. Anders sieht es bei dem Vergleich der AUC_{last} aus: Die Mittelwerte der AUC_{last} von Doxorubicin waren zwischen 30 und 80 % größer als die Werte von Doxorubicinol in den jeweiligen Dosisgruppen. Der Quotient der AUC_{last} von Doxorubicinol über Doxorubicin, mit dem auch die Metabolisierungsrate von Doxorubicin in seinen Hauptmetaboliten abgeschätzt werden kann, nahm Dosisgruppen-abhängig Werte zwischen 0,55 und 0,78 an. Es zeigte sich aber eine große interindividuelle Variabilität bezüglich der Metabolisierungsrate. Die Quotienten aus den AUC_{last} -Flächen variierten nämlich bei den einzelnen Patienten zwischen 0,08 und 1,38. Eine ähnliche Variabilität gaben auch Jaquet et al. (1990) an: Die Werte der Quotienten schwankten zwischen 0,27 und 1,38. Der Vergleich der Daten für die AUCs dieser Studie mit denen der Literatur zeigt, dass nur wenige Autoren eine im Mittel höhere Doxorubinol-AUC als Doxorubicin-AUC (Leca et al. 1991, Piscitelli et al. 1993) fanden. Bei ihnen liegen die Quotienten von $AUC_{inf(Doxorubicinol)}$ und $AUC_{inf(Doxorubicin)}$ mit 1,1 bzw. 1,4 in dem in dieser Studie berechneten Bereich der AUC_{inf}). Bronchud et al. (1990) berechneten Quotienten-Werte zwischen 0,6 und 0,8 und liegen damit im Bereich der in der vorliegenden Studie ermittelten Werte für die AUC_{last} . Der niedrigste berechnete Quotient lag bei 0,2 (Canal et al. 1991). Jaquet et al. (1990) berechneten einen Mittelwert von 0,5 und Twelves et al. (1991) von 0,4. Die nahe liegende Vermutung, dass diese Diskrepanzen über unterschiedlich lange Messzeiträume erklärt werden könnten, da natürlich in der Anfangszeit weit mehr Doxorubicin vorliegt und erst spä-

ter die Doxorubicinol-Konzentrationen überwiegen (siehe Abbildung 12), konnte nicht bestätigt werden. Der Vergleich der Studiendaten mit Literaturdaten findet sich in Tabelle 35.

Tabelle 35: Vergleich der Daten für die AUC von Doxorubicinol aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach der AUC

(AUC) [mg·h/l]	SD (AUC) [mg·h/l]	Dosis [mg/m ² KOF)	Appl.- Dauer [min]	Anzahl Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
0,02	0,01	50	10	8	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
0,02	0,01	38	10	5	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
0,05	0,04	27	10	3	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
0,25	0,18	12	5	28	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
0,32	0,17	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
0,38	k.A.	25	2	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
0,43	0,16	33	Bolus	8	Blase/Lunge	48	50 pg/ml	Leca et al. 1991
0,48	0,36	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
0,65	0,27	50	k.A.	5	Verschieden	48	k.A.	Mross et al. 1990
0,76	0,47	66	60	12	SCLC	48	5	Rushing et al. 1993
0,80	0,42	60	Bolus	3	Verschieden	168	0,2	Camaggi et al. 1988
0,81	0,28	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
1,08	k.A.	75	6	6	Mamma	7	0,4	Twelves et al. 1991
1,15	0,28	100	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
1,17	0,29	75	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
1,25	k.A.	72	10	1	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
1,48	0,78	42	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
1,65	0,21	125	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
1,88	0,10	150	30	2	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
2,12	k.A.	75	96 h	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
2,49	k.A.	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
2,53	2,70	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
3,22	1,18	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
4,02	k.A.	60	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
0,41	0,20	25 – 35	25 – 270	16	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
0,63	0,23	50	25 – 270	40	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
0,55	0,22	60	25 – 270	24	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie
0,98	0,23	75	25 – 270	5	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

5.3.2 Terminale Halbwertszeit von Doxorubicinol

Die terminale Halbwertszeit von Doxorubicinol betrug in der vorliegenden Studie im Mittel 53,6 Stunden. Es waren große interindividuelle Unterschiede zu beobachten: Das Minimum lag bei 10 und das Maximum bei 827 Stunden. Die Literaturwerte für die Mittelwerte pro Studie schwanken zwischen 24 (Frenay et al. 1989) und 93 Stunden (Leca et al. 1991) (siehe Tabelle 36). Auch hier scheinen die Literaturwerte mit der Nachweisgrenze zusammenzuhängen. Die Detektionsgrenze betrug in der Studie mit dem größten Literaturwert von 93 Stunden nämlich nur 50 pg/ml. Wie auch in dieser Studie finden alle Autoren eine längere terminale Halbwertszeit für Doxorubicinol als für Doxorubicin. Der Quotient der Mittelwerte von $t_{1/2}(\text{Doxorubicinol})$ und $t_{1/2}(\text{Doxorubicin})$ lag bei uns bei 2,2. In anderen Veröffentlichungen schwanken die Quotienten zwischen 1,1 (Piscitelli et al. 1993) und 3,3 (Leca et al. 1991) mit einem Mittelwert aller neun vorliegenden Arbeiten von 1,8.

Tabelle 36: Vergleich der Daten für die $t_{1/2(z)}$ * von Doxorubicinol aus der Literatur mit denen der vorliegenden Studie, sortiert nach $t_{1/2(z)}$

$t_{1/2(z)}$ [h]	SD ($t_{1/2(z)}$) [h]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
24	11,8	12	5	k.A.	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
28,2	7,4	50	k.A.	5	Verschieden	48	k.A.	Mross et al. 1990
29	16	60	k.A.	35	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
29	13	66	60	12	SCLC	48	5	Rushing et al. 1993
31	22,5	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
33	1,7	50	k.A.	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
34,4	9,6	27 – 72	10	18	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
42	11	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
52	17,8	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
66,2	15	72 – 84	96 h	13	Kolon/Rektum	144	k.A.	Bugat et al. 1989
93	43	33	Langsam	8	Blase/Lunge	120	50 pg/ml	Leca et al. 1991
53,6	88,6	25 – 75	25 – 270	85	Verschieden	48	2	Vorliegende Studie

* In den meisten Fällen, so auch bei der vorliegenden Studie, wurden nur zwei Halbwertszeiten angenommen, so dass $t_{1/2(z)}$ hier $t_{1/2(\beta)}$ darstellt.

5.4 Funktionelle Bedeutung der Transportervarianten

Membrantransporter haben für die Pharmakokinetik von Arzneistoffen diverse wichtige Funktionen. Jedes Pharmakon, ob oral oder intravenös verabreicht, muss erst biologische Membranen permeieren, um an seinen Wirkort zu gelangen, aber auch um metabolisiert oder eliminiert werden zu können (siehe 1.7.1). Beim Transport der Zytostatika in Tumorzellen und nicht entartete Körperzellen vermitteln Membrantransporter sowohl Wirksamkeit (Tumorzellen) als auch Nebenwirkungen (nicht entartete, normale Körperzellen). Beim Auftreten von *Multidrug-Resistenz* sind Transporter für eine zu niedrige intrazelluläre Zytostatika-Konzentration verantwortlich und damit für den Therapieerfolg von Bedeutung. In dieser Studie wurden deshalb Transportervarianten genotypisiert, die laut Literaturdaten Doxorubicin transportieren (siehe Kapitel 1.7.2) und damit Einfluss auf Wirkung und Nebenwirkungen haben könnten.

5.4.1 Bedeutung von MDR1-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol

Wie in 1.8.2.1 beschrieben, hat die Transportervariante MDR1 Ile1144Ile ihre funktionelle Bedeutsamkeit für die Pharmakokinetik von Digoxin, Fexofenadin, Rhodamin 123 und Colchicin (Hitzl et al. 2001, Drescher et al. 2002, Tufan et al. 2007) bewiesen. Die Transportervariante MDR1 Ala893Ser/Thr zeigt eine veränderte Sekundärstruktur, die ebenfalls eine veränderte Pharmakokinetik von Fexofenadin bedingt (Yi et al. 2004).

Beide untersuchten Polymorphismen zeigten zu den pharmakokinetischen Parametern von Doxorubicin und Doxorubicinol in dieser Studie keine Korrelation. Alle per univarianter Varianzanalyse berechneten p-Werte lagen mit Ausnahme der im Folgenden genannten Aus-

nahmen über 0,37. Der p-Wert von 0,14 könnte auf eine Assoziation der Dosis-normierten AUC mit der Transportervariante MDR1 Ile1144Ile hindeuten und $p = 0,1$ könnte einen Zusammenhang zwischen Leukozyten-Nadir und MDR1 Ala893Ser/Thr aufzeigen.

5.4.2 Bedeutung von MRP1-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol

2001 untersuchten Conrad et al. den Polymorphismus MRP1 Gln671Val. Sie fanden keinen signifikanten Unterschied in der Transportkapazität zwischen Wildtyp und Variante für die Substrate Leukotrien C₄ und E₂17βG. In einer 2005 von Wojnowski et al. vorgestellten Studie fand sich jedoch eine Assoziation zwischen eben jener Transportervariante und akuter Doxorubicin-induzierter Kardiotoxizität. In der vorliegenden Studie sollte deshalb nachgeprüft werden, ob sich ein Zusammenhang zwischen der Pharmakokinetik von Doxorubicin und dieser Transportervariante herstellen ließ. Es wurden keine homozygoten Träger der Variante dieses SNP beobachtet. Die homozygoten Träger des Wildtyps und die heterozygoten Genotypen hatten fast gleiche Mittelwerte für die untersuchten pharmakokinetischen Parameter. Folglich war ebenfalls kein signifikanter Einfluss dieser Genvariante auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol zu erkennen. Auch bezüglich der untersuchten Doxorubicin-Nebenwirkungen Leukopenie und Thrombozytopenie war keine Assoziation gegeben.

5.4.3 Bedeutung von MRP2-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol

In dieser Studie wurden vier MRP2-Varianten untersucht: Die im Promotorbereich gelegene MRP2-Variante -24 C>T, die die Expression des Transporters verändern könnte, zwei zu 100 % gekoppelte Polymorphismen, nämlich MRP2 Val1188Glu und MRP2 Cys1515Tyr und die Variante MRP2 Ile1324Ile, die zu keinem Aminosäureaustausch führt. 2006 konnte in einer von Rau et al. vorgelegten Studie eine 2-fach höhere Methotrexat-AUC bei Trägern des varianten Allels der Variante -24 C>T gezeigt werden. Auch die Variante Cys1515Tyr, die mit der Variante Val1188Glu gelinkt ist, konnte ihre funktionelle Relevanz für das Auftreten akuter Doxorubicin-induzierten Kardiotoxizität unter Beweis stellen (Wojnowski et al. 2005).

In der vorliegenden Studie konnte im ANOVA-Test ein Trend zwischen der Clearance im Nicht-Kompartiment-Modell mit den beiden gekoppelten MRP2 Transportern mit einem p-Wert von jeweils 0,063 gesehen werden. Dabei lag der mittlere Wert der Clearance für den heterozygoten Träger um 13 % höher als der vom homozygoten Träger des Wildtyps. Homozygote Variantenträger wurden nicht detektiert. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang

war bei der Korrelation zwischen dem Polymorphismus MRP2 -24 C>T und der terminalen Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ mit einem p-Wert von 0,01 und eine Tendenz mit $p = 0,07$ bei dem dazugehörigen Verteilungsvolumen V_2 zu beobachten. Außerdem wurde ein Trend mit $p = 0,08$ in der Korrelation zwischen Thrombozyten-Nadir und den gekoppelten Transportervarianten MRP2 Val1188Glu und Cys1515Tyr gesehen. Der Polymorphismus MRP2 Ile1324Ile schien in dieser Arbeit gering mit der initialen Halbwertszeit zu korrelieren mit einem p-Wert von 0,09. Weitere Zusammenhänge bzw. sich mit p-Werten zwischen 0,05 und 0,1 andeutende Zusammenhänge zwischen den untersuchten Polymorphismen des MRP2-Transporters und der Pharmakokinetik von Doxorubicin waren nicht detektierbar.

5.4.4 Bedeutung von MRP3-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol

Nach unserem Wissen wurden bisher keine Studien zum Zusammenhang zwischen Polymorphismen im MRP3-Gen und Pharmakokinetik durchgeführt. In der vorliegenden Studie wurden die beiden Polymorphismen Arg1297His und His1314His überprüft. Bei der His1314His-Variante wurde ein Trend mit $p = 0,07$ bei der univariaten Varianzanalyse gefunden. Dabei wurde eine erniedrigte Doxorubicin-Clearance (82,3 l/h) bei dem homozygoten Träger des Wildtyps beobachtet. Die heterozygoten und homozygoten Träger für die Variante hatten höhere Clearances von 88,1 l/ bzw. 88,3 l/h. Zwischen dem MRP3-Polymorphismus Arg1297His und den Pharmakokinetik-Daten war keine Korrelation erkennbar.

5.4.5 Bedeutung von BCRP-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol

Der Polymorphismus BCRP Gln141Lys führte in einer vorhergehenden Studie zu einer reduzierten Resistenz gegenüber Indolcarbazol, Mitoxantron und Topotecan (Mizuarai et al. 2004). Auch konnte in einer Studie von Cusatis et al. (2006) gezeigt werden, dass diese Variante zu einer höheren Nebenwirkungsrate im Sinne einer Diarrhoe bei der Anwendung des Tyrosinkinase-Inhibitors Gefitinib führt. In dieser Studie sollte untersucht werden, ob dieser Polymorphismus auch zu Veränderungen in der Pharmakokinetik oder der Nebenwirkungsrate von Doxorubicin führt. Homozygote Träger für die Variante für diesen Polymorphismus wurden unter den untersuchten 94 Patienten nicht detektiert. Auch hier wurde keine Assoziation mit den pharmakokinetischen Parametern von Doxorubicin oder den ausgewählten Nebenwirkungen beobachtet. Die hier berechneten p-Werte lagen besonders hoch: Der niedrigste lag bei 0,59.

5.5 Probleme bei der Durchführung der Studie und der Interpretation der erhobenen Daten und Ausblick

Wie bei jeder klinischen Studie muss dem Wohl der Patienten Vorrang vor dem wissenschaftlichen Anspruch, bestmögliche Daten zu erheben, gegeben werden. Die Kollision von ethischen Grundsätzen und dem klinischen Alltag mit dem Wunsch nach Erhebung möglichst konsistenter wissenschaftlicher Daten war auch in der vorliegenden Studie ausschlaggebend für viele der unten genannten Probleme.

So wäre für eine Studie zum Thema Pharmakokinetik und Nebenwirkungen von Doxorubicin aus rein wissenschaftlicher Sicht eine Doxorubicin-Monotherapie wünschenswert gewesen. Diese ist jedoch nur noch in Ausnahmefällen indiziert. Heutzutage wird den Polychemotherapien der Vorzug gegeben. Eine Monotherapie hätte bei der Erhebung wissenschaftlicher Daten den Vorteil, dass Arzneimittelinteraktionen ausgeschlossen wären und der Therapieerfolg bzw. die Intensität und Inzidenz unerwünschter Arzneimittelwirkungen klar Doxorubicin zugeordnet werden könnten. Problematisch ist weiterhin, dass das Patientenkollektiv dieser Studie sehr heterogen war. Aus der Tatsache, dass Patienten mit sehr unterschiedlichen Tumorformen in die Studie eingeschlossen wurden, ergibt sich eine große Anzahl von unterschiedlichen Therapieschemata mit jeweils anderen Begleitmedikamenten (siehe 4.1) und einer deutlichen Schwankungsbreite innerhalb der Dosierung. Auch hier ist es schwierig abzuschätzen, inwiefern die Pharmakokinetik und Nebenwirkungen dadurch beeinflusst werden. Ein weiteres Problem, das sich im klinischen Alltag stellt, ist, dass es kaum möglich ist, für alle Patienten gleichartige Bedingungen herzustellen. Dies zeigt sich in der vorliegenden Studie zum Beispiel deutlich an der sehr unterschiedlich langen Infusionsdauer. Sie schwankt zwischen 25 und 270 Minuten. Dies beeinflusst natürlich auch den Konzentrations-Zeit-Verlauf von Doxorubicin, so werden bei den Patienten mit sehr kurzer Infusionsdauer bei gleicher Dosis durchschnittlich höhere Maximalkonzentrationen erzielt, die ja unter anderem für ein höheres Kardiomyopathie-Risiko verantwortlich gemacht werden (siehe 1.5.2). Pharmakokinetisch hätte die regelmäßige Anlage eines zweiten venösen Zuganges und die damit bestehende Möglichkeit, häufiger Blut zu entnehmen, zu noch detaillierteren und genaueren Parametern geführt. Jedoch hätte dies eine erhebliche Mehrbelastung der Patienten bedeutet und der Gewinn an Genauigkeit wäre nur moderat gewesen, so dass darauf in der vorliegenden Studie verzichtet wurde.

Der Grund, warum trotzdem eine Studie durchgeführt wurde, in die so viele unterschiedliche Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen, unterschiedlichen Therapien und Unterschieden in der Therapie-Durchführung eingeschlossen wurden, war, dass es in vergleichsweise

kurzer Zeit möglich war, sehr viele Patienten zu untersuchen und damit eine Fülle von Daten zu erhalten. Dies zeigt sich auch daran, dass die vorliegende Studie mit 94 Patienten die mit Abstand umfangreichste zum Thema Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol ist. Die nächstgrößere Studie umfasste nur Daten von maximal 35 Patienten (Piscitelli et al. 1993). Außerdem kann man trotz dieser Uneinheitlichkeit in der Studiengestaltung davon ausgehen, dass relevante Unterschiede in der Pharmakokinetik zwischen den Trägern unterschiedlicher Genotypen hätten erkannt werden können, nur für die Erkennung kleinerer Unterschiede ist das gewählte Studienkonzept zu wenig einheitlich. Auch wenn in dieser Studie kein gewichtiger Einfluss der Transportervarianten auf die Pharmakokinetik von Doxorubicin oder seines Metaboliten Doxorubicinol gezeigt werden konnte, sind die untersuchten Transportervarianten möglicherweise dennoch von Bedeutung für die Aufnahme von Doxorubicin in die Zellen, nur dass dieser Anteil quantitativ im Vergleich zu anderen Eliminationsvorgängen nicht sehr groß und damit in der Pharmakokinetik nicht erkennbar war. Um diese Frage zu klären, hätte Doxorubicin jedoch spezifisch innerhalb von gesunden Zellen zur Abschätzung von Nebenwirkungen bzw. in Tumorzellen zur Kontrolle der Wirksamkeit gemessen werden müssen, was technisch im Rahmen einer klinischen Studie jedoch nahezu unmöglich bzw. nur mit sehr hohem Aufwand durchführbar ist.

Einige dieser angesprochenen Probleme hätten sich mit der Durchführung einer einheitlichen Studie im Rahmen einer multizentrischen Arzneimittelstudie, in die nur Patienten einer Tumorform und eines Therapieschemas mit genau abgesteckten Rahmenbedingungen eingeschlossen worden wären, lösen lassen.

Hinsichtlich der Analyse der Transporterpolymorphismen wurde eine Auswahl von zehn Genpolymorphismen getroffen, die auf vorangegangenen Publikationen beruhte (z.B. Wojnowski et al. 2005). In aktuellen Datenbanken (z.B. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/> 2006) zu Polymorphismen in den Genen bzw. in der Nähe der Gene von MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP werden mehr als 1000 Polymorphismen genannt, so dass es durchaus möglich ist, dass eine umfassendere Auswahl der Transportergene eventuell funktionell bedeutsame Polymorphismen gezeigt hätte.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Doxorubicin ist ein gut wirksames und häufig verwendetes Zytostatikum, trotzdem führen Nebenwirkungen oder mangelnde Wirksamkeit gelegentlich zu Therapieabbrüchen. Vorangegangene Arbeiten zeigten, wie auch die vorliegende Studie, eine hohe pharmakokinetische Variabilität des Doxorubicins, welche für die sehr unterschiedlichen Wirkungen und Nebenwirkungen verantwortlich sein könnte. Ein besseres Verständnis der Pharmakokinetik von Doxorubicin könnte in Zukunft zu einer individualisierten Dosisanpassung durch therapeutisches *Drug Monitoring* führen. Dadurch könnte die Zytostatika-Therapie mit Doxorubicin für Patienten bezüglich Wirkungen und Nebenwirkungen optimiert werden. Neben vielen anderen Faktoren wird die Pharmakokinetik auch von Transportproteinen beeinflusst. Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die Bedeutung von genetischen Polymorphismen in Membrantransportern auf die Pharmakokinetik und ausgewählte Nebenwirkungen des Zytostatikums Doxorubicin zu untersuchen.

Nach Messung der Plasmakonzentrationen wurden die Pharmakokinetik-Parameter „Clearance“ und „Dosis-normierte AUC“, „maximale Doxorubicin- und Doxorubicinol-Konzentration“ sowie die entsprechenden Halbwertszeiten und Verteilungsvolumina von 94 Patienten berechnet. Anschließend wurde analysiert, inwieweit Genvarianten der Transportproteine MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP die Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol beeinflussen.

Die Mittelwerte der AUC_{inf} von Doxorubicin lagen bei 0,77, 1,14, 1,38 und 1,55 mg·h/ml bei Dosierungen von 20 bis 40, 50, 60 und 75 mg/m². Die Mittelwerte der maximalen Doxorubicin-Konzentration ergaben dosisabhängig Werte zwischen 174,9 und 410,1 µg/l. Der Mittelwert der totalen Clearance lag bei 78,17 l/h, wenn man die Berechnung mittels Kurvenanpassung an ein Zwei-Kompartiment-Modell verwendete. Die initiale Halbwertszeit $t_{1/2}(\alpha)$ betrug im Mittel 7,9 Minuten. Die sich anschließende terminale Halbwertszeit $t_{1/2}(\beta)$ wurde mittels kompartmenteller Analyse mit 20,13 Stunden berechnet. Das Verteilungsvolumen V_1 des zentralen Kompartiments betrug 40 l und das des peripheren Kompartiments 1422 l.

Auch von Doxorubicinol, dem wichtigsten aktiven Metaboliten des Doxorubicins, wurde die Pharmakokinetik analysiert. Die AUC_{inf} von Doxorubicinol wurde dosisabhängig mit Werten von 0,88, 1,43, 1,65 und 1,97 mg·h/l bei Dosierungen von 25 – 35, 50, 60 und 75 mg/m² berechnet. Die Maximalkonzentrationen lagen zwischen 17,66 und 36,71 µg/l. Die Clearance betrug im Mittel 74,54 l/h, die terminale Halbwertszeit 53,63 Stunden und das Verteilungsvolumen des peripheren Kompartiments 3784 l.

Die Korrelation zwischen Leberfunktion und Clearance und AUC von Doxorubicin ergab keinen signifikanten Zusammenhang, jedoch fiel eine höchst signifikante positive Korrelation zwischen Alter und der AUC von Doxorubicinol auf, was auf eine geringere Ausscheidungskapazität für diesen Metaboliten in höherem Alter hindeuten könnte.

Nach Feststellung der pharmakokinetischen Parameter des Doxorubicins wurden diese mit zehn ausgewählten nach Literaturdaten wahrscheinlich funktionell bedeutsamen Genvarianten der Transportproteine MDR1, MRP1, MRP2, MRP3 und BCRP korreliert. Es wurde ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der terminalen Halbwertszeit und der Transportervariante MRP2 -24 C>T gefunden, $t_{1/2}(\beta)$ nahm mit zunehmender Anzahl der varianten Allele zu. Alle weiteren Varianten zeigten keine statistisch signifikanten Korrelationen mit den pharmakokinetischen Kenngrößen von Doxorubicin und Doxorubicinol.

Abschließend lässt sich sagen, dass die vorliegende Studie zum besseren Verständnis der Pharmakokinetik von Doxorubicin und Doxorubicinol beiträgt, allerdings gegen eine entscheidende quantitativ bedeutende Rolle der untersuchten MDR1-, MRP1-, MRP2-, MRP3- und BCRP-Transporterpolymorphismen für die Pharmakokinetik spricht. Möglicherweise existieren tatsächlich geringe Unterschiede, die jedoch nur in noch umfangreicheren Studien bzw. in Studien mit einem einheitlicheren Therapieregime erkennbar gewesen wären.

Eine prätherapeutische Genotypisierung der untersuchten Transporter ist also nicht sinnvoll. Aufgrund der ermittelten großen populationspharmakokinetischen Variabilität der Daten könnte aber ein therapeutisches *Drug Monitoring* während der Doxorubicin-Erstinfusion durchgeführt werden, um nach Analyse des pharmakokinetischen Profils der Patienten bei außergewöhnlich hohen oder niedrigen Plasmakonzentrationen die Dosis der Folgeinfusionen anpassen zu können.

7 Anhang: Tabellen 37 - 50

Tabelle 37: Todesursachenstatistik Deutschland 2005, nach dem Statistischen Bundesamt, Wiesbaden

ICD10- Nummer*	Todesursache	Insgesamt		Gestorbene 2005			
		Anzahl	in %	Männlich		weiblich	
				Anzahl	in %	Anzahl	in %
A00 – T98	Insgesamt	830 227	100	388 554	46,8	441 673	53,2
	darunter:						
C00 – C97	Bösartige Neubildungen	211 396	25,5	112 066	53,0	99 330	47,0
I00 – I99	Krankheiten des Kreislaufsystems	367 361	44,2	152 274	41,5	215 087	58,5
I21 – I22	darunter: Myokardinfarkt	66 179	8,0	36 283	54,8	29 896	45,2
J00 – J99	Krankheiten des Atmungssystems	57 742	7,0	29 332	50,8	28 410	49,2
K00 – K93	Krankheiten des Verdauungssystems	42 787	5,2	21 369	49,9	21 418	50,1
S00 – T98	Verletzungen, Vergiftun- gen und bestimmte andere Folgen äußerer Ursachen	33 024	4,0	20 353	61,6	12 671	38,4

* Nach der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision (ICD-10)

Tabelle 38: Anwendungsgebiete von Doxorubicin (Fachinformation Adriblastin® o.J., Seeber et Schütte 2003)

Solide Tumoren	Therapieschemata mit	
Kleinzelliges Bronchialkarzinom (SCLC)	ACO	= DOX, CYC, VCR
	AIO	= DOX, IDA, VCR
Mamma-Karzinom	AC	= DOX, CYC
	FAC	= 5-FU, DOX, CYC
Fortgeschrittenes Ovarial-Karzinom	CPL, CYC, DOX	
Harnblasen-Karzinome	Intravesikal	DOX-Monotherapie
	Systemisch	MTX, Vinblastin, DOX, CPL
Osteosarkom (adjuvant und neoadjuvant)	DOX, HD-MTX, CPL, IFO	
	CPL und DOX	
Fortgeschrittenes Weichteilsarkom	DOX-Monotherapie	
	ADIC	= CYC, VCR, DOX, DTIC
	AI	= DOX, IFO
	VAIA	= VCR, ACT-D, IFO, DOX
Ewing-Sarkom	VACA	= VCR, ACT-D, CYC, DOX
	VAIA	= VCR, ACT-D, IFO, DOX
	VIDE	= VCR, IFO, DOX, ETP
Fortgeschrittenes oder rezidiertes Endometrium-Karzinom	DOX-Monotherapie	
	DOX und CPL	
	DOX und CYC	
Wilms-Tumor (Stadien II – IV)	ACT-D, VCR, DOX	
Schilddrüsenkarzinom	DOX-Monotherapie	
	DOX und CPL	
Fortgeschrittenes Neuroblastom	VCR, DTIC, IFO, DOX	
Fortgeschrittenes Magenkarzinom	FAM	= 5-FU, DOX, Mitomycin
	FAMTX	= 5-FU, DOX, MTX
Hämoblastosen		
Frühstadium des Hodgkin-Lymphoms (Stadium I und II) bei schlechter Prognose	ABVD	= DOX, BLO, Vinblastin, DTIC
	BEACOPP	= BLO, ETP, DOX, CYC, VCR, Procarbazin, Prednison
Fortgeschrittenes Hodgkin-Lymphom (Stadium III und IV)	BEACOPP eskaliert	= BLO, ETP, DOX, CYC, VCR, Procarbazin, Prednison + G-CSF
Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome	(R-)CHOP 14/21	= (Rituximab) CYC, DOX, VCR, Prednison
	CHOEP 14/21	= CYC, DOX, VCR, ETP, Prednison
ALL (als Remissionsinduktion)	Prednison, Vindesin und DOX	
AML (als Remissionsinduktion)	Prednison, L-Asparaginase, DOX, VCR, ARA-C, CYC, Thioguanin	
Fortgeschrittenes multiples Myelom	VAD	= VCR, DOX, Dexamethason
	VCAP	= VCR, CYC, DOX, Prednison

Tabelle 39: Zusammenfassung der Behandlungsergebnisse beim metastasierten Mamma-Karzinom mit verschiedenen chemotherapeutischen Therapieansätzen (entnommen aus Seeber et Schütte 2003, Seite 124)

	Remissionsrate [%]	Odds-Ratio	95 %-Konfidenzintervall
Poly-CT vs. Mono-CT	48 vs. 23	1,79	1,51 – 2,12
CT mit vs. CT ohne AZ	51 vs. 45	1,30	1,16 – 1,46
Andere CT vs. CMF	49 vs. 44	1,22	1,05 – 1,42
EPI vs. DOX	44 vs. 47	0,87	0,71 – 1,08
CT mit hoher vs. CT mit niedriger Intensität	44 vs. 33	1,67	1,43 – 1,95

Tabelle 40: Daten für die AUC von Doxorubicin aus der Literatur

AUC [mg·h/ml]	SD AUC [mg·h/l]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
0,4	0,13	29	Bolus	4	Blase / Lunge	120	50 pg/ml	Leca et al. 1991
0,47	0,32	12	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
1,06	0,26	30	Bolus	9	Leukämie	196	1	Speth et al. 1987 a
1,22	0,37	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
1,23	0,59	25 – 30	10	4	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
1,25	0,77	12	5	3	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
1,48	0,28	36	96 h	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
1,6	0,51	36	5	5	CLL	216	k.A.	Muller et al. 1993
1,62	k.A.	25	Bolus	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
1,65	0,85	66	60	6	SCLC	48	5	Rushing et al. 1993
1,66	0,29	75	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
1,74	0,65	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
1,83	1,01	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
1,86	0,24	100	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
1,9	0,6	60	2	7	Verschieden	168	0,2	Camaggi et al. 1988
1,98	1,04	66	60	6	SCLC	48	5	Rushing et al. 1993
2	1,3	30	8 h	4	AL	120	1	Speth et al. 1987 b
2,15	1,18	45	5	4	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
2,28	0,11	125	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
2,3	0,5	30	3	7	AL	120	1	Speth et al. 1987 b
2,42	0,11	150	30	3	Mamma	48	1	Bronchud et al. 1990
2,5	0,7	30	72 h	2	AL	120	1	Speth et al. 1987 b
2,5	2,1	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
2,59	k.A.	75	Bolus	6	Mamma	48	0,4	Twelves et al. 1991
3,07	0,99	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
3,2	0,8	30	4 h	5	AL	120	1	Speth et al. 1987 b
3,41	1,37	35 – 44	10	5	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
3,49	1,56	46 – 51	10	8	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
3,68	k.A.	60	2	1	Magen	168	0,2	Camaggi et al. 1988
4,58	k.A.	72	10	1	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
4,61	1,72	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
5,45	4,5 – 7,1	75	96 h	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991

Tabelle 41: Daten für die Clearance von Doxorubicin aus der Literatur

CL _{Total} [l/h]	SD CL _{Total} [l/h]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
21,4	k.A.	25	Bolus	5	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
24,0	k.A.	58	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
33,4	6,9	50	5	7	Mamma	48	2	Robert et al. 1985
41,6	16,8	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
44,0	36-80	75	Bolus	6	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
44,0	18,0	23 – 72	10	18	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
45,0	14,0	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
47,0	21,6	45	5	4	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
48,7	22,6	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
51,3	16,0	60	3 – 6	24	Sarkom	48	5	Robert et al. 1987
55,4	24,8	12	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
58,0	9,3	50	k.A.	5	Mamma	48	0,1	Mross et al. 1990
60,0	22,0	22 – 60	3	21	Verschieden	24	k.A.	Eksborg et al. 1985
60,0	23,0	50	2	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
60,9	31,3	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
61,0	28,0	60	2	7	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
69,0	9,3	66	60	12	SCLC	48	k.A.	Rushing et al. 1993
69,5	35,4	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
70,3	2,7	75	30	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
78,0	25,5	66	60	12	SCLC	48	k.A.	Rushing et al. 1993
84,0	18,0	20	3	4	Ovar	24	k.A.	Eksborg et al. 1986
89,0	13,0	100	30	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
90,0	7,3	125	30	3	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
94,0	9,1	150	30	2	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990

Tabelle 42: Daten für die initiale Halbwertszeit ($t_{1/2}(\alpha)$) von Doxorubicin aus der Literatur

$t_{1/2}(\alpha)$ [min]	SD ($t_{1/2}(\alpha)$) [min]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
2,0	1,0	30	4 h	5	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1988
2,0	1,0	30	8 h	4	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1988
2,5	1,2	50	2	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
2,9	0,1	50	k.A.	3	Verschieden	48	0,1	Mross et al. 1990
3,2	> 6,2 %	60	40 h	8	Sarkom	24	5,25	Erttmann et al. 1988
3,4	> 6,2 %	30	5	10	Verschieden	24	5,25	Erttmann et al. 1988
3,8 – 4,6	k.A.	50	k.A.	2	Mamma	48	0,1	Mross et al. 1990
4,0	2,0	30	3	7	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
4,0	1,4	50	5	7	Mamma	48	2	Robert et al. 1985
4,2	0,7	50 – 75	3 – 6	26	Sarkom	48	5	Robert et al. 1987
4,3	0,8	22 – 60	3	21	Verschieden	24	k.A.	Eksborg et al. 1985
4,4	1,2	60	2	7	Lunge/Niere	168	0,2	Camaggi et al. 1988
4,4	0,7	20	3	6	Ovar	24	k.A.	Eksborg et al. 1986
4,5	2,0	28	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
4,6	0,3	75	2	6	Mamma	48	k.A.	Gasparini et al. 1990
4,8	3,6 – 6,6	25 / 75	Bolus	11	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
4,8	> 6,2 %	50	5	8	NHL	24	5,25	Erttmann et al. 1988
5,0	2,0	30	72 h	2	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1990
5,6	4,4 – 11	75 – 150	30	11	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990
5,7	3,5	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1990
6,0	3,0	36	96 h	7	MM	196	1	Speth et al. 1987 a
6,0	2,4	30	Bolus	9	Leukämie	196	1	Speth et al. 1987 a
7,8	k.A.	60	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
10,5	1,7	33	Langsam	4	Blase	120	50 µg/ml	Leca et al. 1991

Tabelle 43: Daten für die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}(z)$) von Doxorubicin aus der Literatur

$t_{1/2}(z)$ [h]	SD ($t_{1/2}(z)$) [h]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl der Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
9,0	11,4	60	40 h	8	Sarkom	24	5,25	Erttmann et al. 1988
10,4	3,6	28	5	25	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
12,6	k.A.	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
12,8	5,0	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
14,6	4,7	22 – 60	3	21	Verschieden	24	k.A.	Eksborg et al. 1985
15,0	k.A.	66	60	12	SCLC	48	k.A.	Rushing et al. 1993
17,1	4,9	20	3	6	Ovar	24	k.A.	Eksborg et al. 1986
20,0	12,2	50	5	7	Mamma	48	2	Robert et al. 1985
20,4	k.A.	50	5	8	NHL	24	5,25	Erttmann et al. 1988
21,7	3,0	50	5	18	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
22,0	6,5	30	3	7	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1978 b
23,4	3,0	50	k.A.	3	Verschieden	48	0,1	Mross et al. 1990
24,0	18,3 – 32	75 – 150	30	7	Mamma	24	k.A.	Bronchud et al. 1990
25,5 – 36,7	k.A.	50	k.A.	2	Mamma	48	0,1	Mross et al. 1990
25,6	9,0	60	60	31	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
25,8	28,8 – 91,2	50	2	7	Mamma	48	k.A.	Mross et al. 1988
26,5	1,4	30	5	10	Verschieden	24	5,25	Erttmann et al. 1988
26,6	6,7	36	96 h	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
26,6	16,9	36	96 h	7	MM	216	1	Speth et al. 1987 a
27,0	21,7	70	3	4	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
28,0	6,5	30	3	8	Verschieden	48	5 µg/ml	Preiss et al. 1989
28,5	6,7	23 – 72	10	18	Verschieden	48	0,5	Jaquet et al. 1990
28,7	4,7	33	Langsam	4	Blase	120	50 pg/ml	Leca et al. 1991
31,0	11,0	30	8 h	4	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1987 b
32,0	21,0 – 67,3	25 / 75	Bolus	11	Mamma	96	0,4	Twelves et al. 1991
35,0	17,0	50 – 75	3 – 6	26	Sarkom	48	5	Robert et al. 1987
35,2	5,2	75	2	6	Mamma	48	k.A.	Gasparini et al. 1990
39,5	4,4	36	5	5	CLL	216	1	Muller et al. 1993
43,6	10,7	72 – 84	96 h	13	Kolon/Rektum	144	k.A.	Bugat et al. 1989
44,6	10,4	36	96 h	5	CLL	216	1	Muller et al. 1993
44,8	14,0	60	2	7	Lunge / Niere	168	0,2	Camaggi et al. 1988
45,0	33,4	30	4 h	5	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1988
49,3	5,8	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
58,0	8,0	30	72 h	2	Akute Leuk.	120	1	Speth et al. 1990
74,0	k.A.	60	2	1	Lunge	168	0,2	Camaggi et al. 1988
81,6	8,5	75 – 125	30	4	Mamma	48	k.A.	Bronchud et al. 1990

Tabelle 44: Daten für die Verteilungsvolumina von Doxorubicin aus der Literatur

V [l/kg KG]	SD (V) [l/kg KG]	Dosis [mg/m ² KOF]	Appl.- Dauer [min]	Anzahl d. Pat.	Karzinom	Messzeit- raum [h]	Nachweis- grenze [ng/ml]	Autor
V1								
0,15	0,03	50	k.A.	5	Verschieden	48	0,1	Mross et al. 1990
0,22	0,11	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
0,37	0,27	60	60	4	Lunge	48	k.A.	Piscitelli et al. 1993
V2								
10,7	7	12	5	18	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
11,5	6,2	12	2	18	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
13,3	8,3	45	5	6	Mamma	24	k.A.	Frenay et al. 1989
14	4,6	50	5	18	Mamma	24	k.A.	Canal et al. 1991
15,1	18,8	75	5	6	Mamma	48	1	Gasparini et al. 1990
16,9	8	50	5	5	Mamma	24	1	Canal et al. 1991
30	k.A.	22 – 72	10	3	Verschieden	48	k.A.	Jaquet et al. 1990

Tabelle 45: Übersicht über ausgewählte Substrate der in der Studie untersuchten Transporter

MDR1, ABCB1	MRP1, ABCC1	MRP2, ABCC2	MRP3, ABCC3	BCRP, ABCG2
Zytostatika				
Actinomycin D	Daunorubicin	Cisplatin	Doxorubicin	Daunorubicin
Docetaxel	Doxorubicin	Doxorubicin	Etoposid	Doxorubicin
Doxorubicin	Epirubicin	Epirubicin	Methotrexat	Irinotecan
Daunorubicin	Etoposid	Etoposid	Teniposid	Methotrexat
Etoposid	Irinotecan	Irinotecan		Mitoxantron
Irinotecan	Methotrexat	Methotrexat		SN-38
Mitomycin C	SN38	Vinblastin		Topotecan
Mitoxantron	Vinblastin	Vincristin		
Paclitaxel	Vincristin			
Teniposid				
Topotecan				
Vinblastin				
Vincristin				
Vindesin				
Ausgewählte weitere Substrate				
Aldosteron	17- β -Östradiol	Ampicillin	Dinitrophenyl-S-Glutathion	AZT (HIV-Inhibitor)
Amitryptilin	Aflatoxin B1	Bilirubin-Konjugate		Verapamil
Atorvastatin	DHEA	Ceftriaxon	E17 β DG	
Colchicin	GSH	Dexamethason	Leukotrien C ₄	
Cyclosporin A	Leukotrien C ₄	GSH		
Digitoxin	Ritanovir	Phenobarbital		
Digoxin		Pravastatin		
Erythromycin		Ritanovir		
Hydrocortison				
Ondansetron				
Östradiol				
Verapamil				

Tabelle 46: Charakteristika der Patienten

Code	Geschlecht	Alter [Jahren]	Gewicht [kg]	Größe [m]	KOF [m ²]	Malignom	Therapieschema	Dox-Dosis [mg/m ²]
00001	männlich	38	83	1,82	2,04	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00002	männlich	75	64	1,67	1,72	Niedrigmal. NHL	CHOP 14	50
00004	männlich	33	70	1,76	1,86	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00005	männlich	68	74	1,74	1,88	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00006	weiblich	81	74	1,61	1,78	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00007	männlich	61	74	1,74	1,88	Niedrigmal. NHL	CHOP 21	50
00008	weiblich	66	91	1,52	1,87	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00010	männlich	51	77,6	1,75	1,93	Hochmal. NHL	CHOEP 21	50
00013	männlich	63	78	1,64	1,85	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00014	männlich	70	78	1,67	1,87	Niedrigmal. NHL	CHOP 14	50
00015	männlich	73	78	1,78	1,96	Niedrigmal. NHL	CHOP 14	50
00016	weiblich	35	49	1,57	1,47	Hochmal. NHL	CHOEP 1	50
00017	weiblich	61	76	1,54	1,74	Plasmozytom	CAD	30
00018	männlich	43	82	1,80	2,02	M. Hodgkin	CHOP 21	50
00019	weiblich	48	52	1,60	1,53	Mamma-CA	AC 60	60
00020	weiblich	55	98	1,73	2,00	Mamma-CA	FAC	30
00021	weiblich	40	56	1,63	1,60	ALL	CHOEP 14	50
00022	weiblich	50	59	1,71	1,69	Mamma-CA	AC 60	60
00023	weiblich	61	71	1,69	1,81	Mamma-CA	AC 60	60
00024	weiblich	63	50,5	1,57	1,49	Mamma-CA	AC 60	60
00025	weiblich	48	80	1,63	1,86	Mamma-CA	AC 60	60
00026	weiblich	44	62	1,62	1,66	Mamma-CA	FAC	30
00028	weiblich	56	80	1,62	1,85	Mamma-CA	FAC	30
00029	weiblich	39	59	1,68	1,67	Mamma-CA	FAC	30
00030	männlich	37	75	1,84	1,97	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00031	weiblich	50	63	1,68	1,72	Mamma-CA	AC 60	60
00032	männlich	64	75	1,74	1,90	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00033	weiblich	51	63,1	1,62	1,67	Mamma-CA	AC 60	60
00034	weiblich	67	70,6	1,68	1,80	Mamma-CA	AC 60	60
00035	weiblich	47	80	1,56	1,80	Mamma-CA	FAC	30
00036	weiblich	42	81	1,60	1,84	Mamma-CA	AC 60	60
00037	weiblich	56	57,3	1,65	1,63	Mamma-CA	AC 60	60
00038	weiblich	57	70	1,65	1,77	Mamma-CA	AC 60	60
00039	männlich	51	78	1,84	2,00	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00040	männlich	60	84	1,78	2,00	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00041	männlich	30	69	1,75	1,84	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00042	weiblich	57	92	1,61	1,95	Mamma-CA	AC 60	60
00043	weiblich	61	65	1,56	1,65	Mamma-CA	FAC	30
00044	männlich	59	56	1,68	1,63	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00045	weiblich	35	62,8	1,71	1,74	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00046	weiblich	51	75	1,62	1,80	Plasmozytom	CAD	30
00047	männlich	62	96	1,77	2,13	Weichteilsarkom	AI-G	75
00048	männlich	59	93	1,89	2,20	Niedrigmal. NHL	CHOP 21	50
00049	männlich	19	64	1,80	1,81	Weichteilsarkom	I ² VAd	40
00050	weiblich	48	80	1,59	1,82	Mamma-CA	AC 60	60
00051	männlich	63	78	1,71	1,90	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00052	weiblich	46	60	1,60	1,64	Mamma-CA	FAC	30
00053	männlich	56	115	1,88	2,00	Weichteilsarkom	AI-G	75
00054	männlich	63	66	1,73	1,79	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00055	weiblich	63	58	1,74	1,69	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00056	männlich	57	80	1,76	2,00	M. Hodgkin	BEACOPP-14	25
00057	weiblich	60	85,1	1,52	1,81	Hochmal. NHL	Mega-CHOEP	35

Code	Geschlecht	Alter [Jahren]	Gewicht [kg]	Größe [m]	KOF [m ²]	Malignom	Therapieschema	Dox-Dosis [mg/m ²]
00058	männlich	55	67	1,72	1,79	SCLC	AC 60	60
00059	männlich	32	84	1,84	2,00	M. Hodgkin	BEACOPP-esk.	35
00060	männlich	68	80	1,83	2,02	Weichteilsarkom	AI-G	75
00061	männlich	53	81	1,82	2,02	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00062	männlich	38	111	1,82	2,00	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00063	weiblich	30	46	1,56	1,42	M. Hodgkin	BEACOPP-esk.	35
00064	männlich	60	86	1,72	1,99	Weichteilsarkom	AI-G	75
00065	weiblich	41	59	1,61	1,61	Weichteilsarkom	AI-G	75
00066	weiblich	72	63	1,57	1,63	Mamma-CA	AC 60	60
00067	weiblich	43	62	1,70	1,72	Mamma-CA	AC 60	60
00068	männlich	64	93	1,85	2,17	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00069	weiblich	44	65	1,60	1,67	SCLC	ACO	60
00070	weiblich	63	70	1,63	1,76	Endometrium-CA	CPL + DOX	60
00071	männlich	68	74	1,75	1,90	M. Hodgkin	BEACOPP 14	25
00072	männlich	60	82	1,72	1,95	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00073	weiblich	64	76	1,73	1,90	CLL	CHOP 21	50
00074	weiblich	46	79	1,61	1,83	Mamma-CA	FAC	60
00075	weiblich	66	70	1,66	1,78	Mamma-CA	AC 60	60
00076	weiblich	66	51	1,62	1,53	Mamma-CA	AC 60	60
00077	weiblich	41	86	1,71	1,98	Mamma-CA	FAC	60
00078	männlich	50	124	1,70	2,00	M. Hodgkin	BEACOPP-esk.	35
00079	weiblich	66	81	1,56	1,81	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00080	weiblich	36	81,5	1,71	2,00	Hochmal. NHL	CHOEP 21	50
00081	weiblich	20	70	1,56	1,7	Weichteilsarkom	VIDE	20
00082	weiblich	54	88	1,65	1,95	Mamma-CA	AC 60	60
00083	weiblich	66	70	1,65	1,77	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00084	weiblich	38	51,5	1,55	1,49	Mamma-CA	AC 60	60
00085	weiblich	73	91	1,61	1,94	Niedrimal. NHL	CHOP 14	50
00086	männlich	57	81	1,80	2,01	Hochmal. NHL	CHOEP 14	50
00087	weiblich	48	92	1,72	2,00	Niedrimal. NHL	CHOP 21	50
00088	weiblich	64	87	1,61	1,91	Mamma-CA	FAC	60
00089	männlich	52	86	1,73	2,00	ALL	CHOP 14	50
00090	männlich	37	88	1,90	2,00	Niedrimal. NHL	CHOP 21	50
00091	männlich	66	82	1,82	2,00	Hochmal. NHL	CHOP 14	50
00092	männlich	57	73	1,74	1,87	M. Hodgkin	BEACOPP-esk.	35
00093	männlich	36	71,1	1,77	1,88	Hochmal. NHL	CHOEP 21	50
00094	männlich	64	67	1,74	1,81	Hochmal. NHL	CHOP 21	50
00095	weiblich	59	58	1,64	1,63	Niedrimal. NHL	CHOP 21	50
00096	weiblich	43	79	1,70	1,91	CLL	CHOP 21	50
00097	männlich	54	66	1,77	1,82	M. Hodgkin	BEACOPP-esk.	35
00098	weiblich	72	78,5	1,61	1,83	Mamma-CA	FAC	60
00099	weiblich	38	62	1,70	1,72	Hochmal. NHL	CHOP 21	50

Tabelle 47: Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin nach nicht-kompartimentellen Analyse

Code	C _{max} [µg/l]	AUC _{last} [mg·h/l]	AUC _{inf} [mg·h/l]	Clearance [l/h]	V1 [l]	t _{1/2} (β) [min]
00002	377,10	1,06	1,06	50,47	212,14	32,56
00004	196,11	0,61	0,74	108,94	458,92	20,25
00005	287,39	0,94	1,06	74,59	313,16	24,84
00007	395,84	0,64	0,70	99,73	227,36	6,16
00008	237,62	0,46	0,63	112,47	378,75	12,57
00010	400,14	0,63	0,96	87,27	249,91	41,31
00013	391,60	0,81	1,04	76,62	229,83	28,23
00014	617,00	0,87	0,97	76,76	145,87	18,99
00015	49,08	0,53	0,66	134,02	1833,74	22,51
00016	200,97	0,64	0,98	63,61	363,24	36,11
00017	233,23	0,43	0,54	83,34	222,96	21,81
00018	559,57	0,84	1,03	62,57	146,54	26,96
00019	185,94	0,38	0,74	108,36	494,78	16,12
00020	278,93	0,31	0,49	100,43	215,11	21,18
00021	280,89	0,69	0,90	82,24	284,81	25,86
00022	200,20	0,47	0,67	126,28	504,50	13,24
00023	24,44	0,54	0,71	146,60	4459,90	19,10
00024	136,21	2,04	2,59	32,42	653,40	34,18
00025	101,37	0,42	0,67	145,62	1095,00	15,54
00026	38,82	0,21	0,33	130,26	1288,00	13,94
00028	12,34	0,15	0,28	193,85	4457,05	13,87
00029	320,53	0,30	0,64	55,40	155,99	26,24
00030	553,21	1,20	2,27	41,20	180,76	24,66
00031	22,43	0,34	0,97	101,83	4592,06	28,41
00032	363,87	0,77	1,27	60,74	247,34	45,58
00033	87,47	0,45	0,89	102,13	1143,25	20,85
00034	271,53	0,59	1,03	79,11	397,75	18,00
00035	13,03	0,17	0,38	134,23	4144,28	18,43
00036	41,65	0,40	0,73	141,72	2665,07	16,13
00037	324,43	0,75	1,44	52,59	302,07	27,40
00038	460,28	0,62	0,82	76,75	230,29	9,99
00039	1230,77	0,98	1,24	66,71	81,25	31,56
00040	493,31	0,80	1,03	86,46	202,71	26,51
00041	340,73	1,25	1,46	58,91	270,01	26,49
00042	31,49	0,46	0,92	123,38	3714,99	18,69
00043	41,94	0,27	0,45	102,52	1168,25	17,85
00044	553,38	0,86	1,04	64,49	148,18	20,51
00045	50,46	0,54	0,66	124,58	1724,10	20,79
00046	102,39	0,64	0,93	55,35	546,91	40,49
00047	638,29	0,97	1,16	71,36	156,67	22,80
00048	100,14	0,46	0,59	162,60	998,59	22,44
00049	205,92	0,94	2,55	25,10	349,65	115,31
00050	58,91	0,41	0,66	145,97	1850,19	11,11
00051	364,55	0,81	0,90	86,81	246,88	21,44
00052	17,62	0,23	0,28	169,16	2780,77	8,90
00053	136,36	0,97	1,19	119,84	1100,07	25,28
00054	105,20	0,73	1,27	68,87	855,55	46,32
00055	271,28	0,71	0,88	80,46	294,90	24,89
00056	95,45	0,35	0,55	75,52	523,83	39,53
00057	604,57	0,56	0,67	59,98	104,21	11,74

Code	C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	AUC_{last} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	AUC_{inf} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	Clearance [l/h]	V1 [l]	$t_{1/2}(\beta)$ [min]
00058	1236,27	1,61	1,85	23,88	86,55	31,42
00059	491,19	0,52	0,64	78,22	142,51	27,17
00060	527,42	1,12	1,38	84,66	284,41	25,76
00061	1204,76	0,72	1,10	73,97	83,00	57,12
00062	452,92	0,54	0,63	122,01	220,79	21,64
00063	78,26	0,52	0,63	73,61	638,86	20,00
00064	196,53	0,86	1,27	111,47	763,24	16,74
00065	552,09	1,31	1,70	60,11	217,36	32,27
00066	352,16	0,72	1,05	70,49	278,28	15,04
00067	161,22	0,51	0,78	112,60	638,87	16,53
00068	94,48	0,53	0,70	138,98	1058,43	22,16
00069	439,96	1,15	1,94	47,52	227,29	18,04
00070	510,34	0,56	0,83	80,61	168,51	17,63
00071	33,86	0,38	0,47	98,91	1387,99	21,04
00072	177,33	0,55	0,75	114,16	535,72	33,05
00073	502,32	0,63	0,87	81,84	189,12	43,58
00074	492,06	0,68	1,04	86,67	223,55	14,48
00075	228,17	0,87	1,28	73,74	482,10	18,58
00076	100,38	0,49	1,33	63,39	916,52	28,32
00077	163,64	0,76	1,05	102,68	733,32	14,58
00078	103,47	0,49	0,62	100,67	676,53	26,24
00079	224,87	0,52	0,77	109,16	400,22	17,08
00080	128,03	0,76	0,91	101,24	781,10	19,83
00081	37,68	0,15	0,21	119,07	902,41	9,65
00082	158,90	0,33	0,64	142,53	736,32	19,83
00083	292,56	0,59	0,59	90,81	307,63	17,18
00084	617,27	0,71	1,01	54,11	144,18	12,76
00085	220,30	1,17	1,50	59,68	440,31	32,74
00086	245,53	0,81	1,01	93,59	407,28	22,21
00087	518,98	0,59	0,96	79,43	192,69	54,87
00088	401,56	0,59	0,85	86,18	283,89	13,48
00089	591,68	0,84	1,02	86,09	169,01	24,05
00090	752,73	0,67	0,82	93,98	132,85	12,66
00092	429,68	0,51	0,87	63,92	153,60	58,20
00093	1188,15	1,06	1,28	53,25	79,11	14,56
00094	262,42	0,59	0,87	91,47	344,87	17,57
00095	473,07	0,56	0,70	94,33	171,22	10,62
00096	598,09	0,60	0,99	75,18	150,48	57,09
00097	184,87	0,69	0,87	67,17	346,19	21,43
00098	847,95	1,07	1,42	64,63	129,72	16,92

Tabelle 48: Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicin nach kompartmenteller Analyse

Code	Clearance [l/h]	$t_{1/2}(\alpha)$ [min]	$t_{1/2}(\beta)$ [h]	V1 [l]	V2 [l]
00001	89,69	7,21	23,75	49,46	2073,5
00002	52,50	9,13	16,18	27,05	688,2
00004	91,02	6,54	21,87	42,78	1882,5
00005	69,41	11,78	13,88	36,49	624,2
00006	63,66	10,71	22,34	51,11	1358,9
00007	90,40	8,01	19,69	46,18	1570,6
00008	93,67	8,29	20,43	51,87	1734,0
00010	96,20	6,57	23,99	48,69	2256,7
00013	81,78	9,15	23,32	58,30	1862,2
00014	84,03	6,28	17,32	31,35	1231,4
00015	93,83	6,81	17,77	36,41	1369,4
00016	64,74	7,17	26,02	39,04	1708,2
00017	83,03	7,72	23,04	48,29	1846,2
00018	73,72	11,39	17,57	47,40	1045,8
00019	64,68	7,99	29,86	49,51	2050,7
00020	103,32	7,91	21,68	56,98	2080,2
00021	75,56	6,67	27,66	45,23	2174,4
00022	76,45	8,08	25,26	49,99	1923,3
00023	83,76	7,46	17,60	35,30	1201,2
00024	58,70	7,89	28,76	43,01	1773,4
00025	91,00	8,51	26,54	66,22	2458,1
00026	75,11	7,99	25,80	50,00	1953,5
00028	90,32	7,57	17,68	38,96	1309,8
00029	65,94	6,76	15,12	21,55	712,5
00030	55,20	8,50	25,61	41,39	1453,6
00031	73,84	7,61	19,07	34,31	1210,5
00032	75,59	8,64	22,55	47,51	1614,5
00033	72,85	7,68	30,69	55,53	2402,1
00034	71,68	9,11	18,81	39,99	1157,2
00035	81,46	7,98	19,81	41,79	1431,0
00036	87,76	7,58	19,13	41,12	1454,2
00037	56,20	10,78	16,49	32,26	715,7
00038	66,56	9,19	14,68	29,30	687,7
00039	85,18	6,41	18,44	32,66	1336,0
00040	92,33	7,39	24,72	55,30	2276,7
00041	78,56	7,51	18,79	35,86	1265,3
00042	83,47	8,30	20,65	46,89	1573,3
00043	73,41	8,31	23,78	47,19	1703,2
00044	67,01	7,22	20,53	32,11	1245,2
00045	88,43	6,69	20,57	38,99	1642,4
00046	61,17	9,08	21,81	41,55	1277,5
00047	84,18	7,86	20,57	44,88	1583,4
00048	94,26	7,10	17,46	39,68	1387,2
00049	52,59	8,63	26,72	38,16	1420,2
00050	80,26	8,22	18,05	38,95	1215,7
00051	83,55	7,68	15,00	33,44	955,9
00052	72,55	7,10	14,69	24,98	763,0

Code	Clearance [l/h]	$t_{1/2}(\alpha)$ [min]	$t_{1/2}(\beta)$ [h]	V1 [l]	V2 [l]
00053	109,68	10,31	20,64	75,97	2048,8
00054	74,35	7,20	27,39	47,86	2112,6
00055	74,22	8,86	21,12	44,79	1434,5
00056	82,94	8,28	23,84	52,56	1921,0
00057	69,28	7,39	13,86	23,34	643,2
00058	27,95	9,24	11,64	9,69	165,0
00059	87,04	7,14	17,08	33,35	1165,9
00060	86,17	7,87	18,01	39,85	1299,8
00061	100,30	5,89	18,99	34,69	1602,4
00062	126,65	6,95	17,60	49,65	1816,8
00063	53,90	6,84	18,47	21,90	841,8
00064	82,54	6,77	14,45	26,34	829,5
00065	63,12	8,35	18,86	32,64	1030,3
00066	61,76	8,51	16,44	28,23	793,5
00067	80,12	7,21	20,60	38,28	1493,2
00068	96,62	5,41	18,82	30,96	1540,7
00069	44,89	7,48	16,55	18,47	592,8
00070	75,86	7,58	15,54	28,71	866,1
00071	79,88	6,91	20,52	36,78	1488,9
00072	86,17	6,92	16,76	31,59	1120,3
00073	89,58	7,25	16,62	34,41	1154,2
00074	77,96	8,23	21,82	46,14	1603,0
00075	63,92	12,63	19,10	50,56	1053,9
00076	58,60	8,00	27,63	42,10	1680,0
00077	80,81	9,30	22,00	55,13	1687,6
00078	116,53	8,43	27,20	86,64	3263,2
00079	81,37	6,26	14,67	24,07	834,3
00080	59,80	6,37	14,91	17,44	602,1
00081	81,21	8,10	20,69	44,04	1525,3
00082	105,91	7,62	24,60	62,85	2554,7
00083	64,10	8,00	15,11	24,99	695,6
00084	52,54	7,99	14,34	19,63	518,5
00085	64,28	8,85	18,94	37,51	1092,1
00086	76,92	6,28	18,92	28,91	1238,4
00087	97,40	6,90	18,53	38,79	1496,8
00088	80,66	8,61	15,58	35,33	937,4
00089	94,95	7,60	21,46	50,87	1904,2
00090	96,81	7,13	16,87	38,01	1306,0
00091	88,83	7,65	26,80	58,51	2433,5
00092	84,76	6,76	22,39	40,39	1778,1
00093	64,06	9,30	14,37	27,76	629,6
00094	72,47	7,30	15,99	27,29	877,5
00095	76,20	7,36	21,70	39,15	1537,5
00096	92,27	6,29	19,35	34,99	1527,1
00097	59,19	6,98	20,24	26,85	1071,9
00098	74,14	10,64	18,26	46,74	1133,1
00099	78,77	7,55	25,63	49,33	2034,0

Tabelle 49: Pharmakokinetische Parameter von Doxorubicinol nach nicht-kompartimenteller Analyse

Code	C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	AUC_{last} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	AUC_{inf} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	Clearance [l/h]	V1 [l]	$t_{1/2}(\beta)$ [h]
00002	57,27	1,05	1,79	241,38	1396,79	65,48
00004	46,13	0,61	0,87	101,45	1950,88	24,70
00005	21,26	0,48	0,90	98,41	4232,51	42,27
00008	45,22	0,76	2,41	36,80	1990,14	35,61
00010	27,63	0,68	1,12	88,19	3618,99	34,68
00013	68,46	1,00	1,74	50,98	1314,64	39,48
00014	35,85	0,78	1,07	83,46	2510,46	28,86
00015	27,40	0,72	1,07	83,72	3284,67	28,65
00016	23,45	0,68	1,87	38,63	3113,01	74,32
00017	17,42	0,39	0,74	69,70	2985,07	51,53
00018	24,50	0,59	0,97	83,40	3346,94	33,35
00019	33,34	0,33	0,65	138,16	2759,45	13,38
00020	29,73	0,26	0,80	73,82	2018,16	41,42
00021	35,11	0,79	1,21	65,79	2278,55	28,50
00022	34,59	0,39	1,68	59,28	2919,92	53,05
00023	27,01	0,75	1,61	66,03	4035,54	46,68
00024	50,24	1,27	2,10	41,26	1771,50	32,95
00025	31,72	0,40	1,16	93,44	3499,37	33,35
00026	18,01	0,20	0,72	66,92	2776,24	39,46
00028	12,50	0,17	0,49	111,29	4400,00	25,50
00030	22,59	0,44	27,04	3,70	4426,74	827,05
00031	26,14	0,42	2,14	47,02	3940,32	55,31
00032	30,33	0,72	1,96	45,55	2967,36	64,88
00033	21,34	0,38	1,88	52,64	4686,04	59,50
00034	41,05	0,68	2,39	44,15	2630,94	37,87
00035	15,30	0,22	0,82	63,59	3529,41	35,62
00036	25,51	0,39	1,10	98,54	4351,23	27,43
00038	35,46	0,42	1,39	74,06	2989,54	30,31
00039	53,21	0,88	1,72	57,70	1879,52	45,67
00040	36,88	0,89	1,69	58,91	2711,86	40,47
00041	41,28	0,72	1,10	82,38	2228,74	31,60
00042	37,69	0,63	2,55	45,16	3104,68	45,69
00043	23,41	0,31	0,82	58,53	2093,12	32,43
00044	39,37	0,95	1,35	60,16	2083,02	26,00
00045	20,39	0,63	0,88	97,80	4267,63	24,12
00046	27,20	0,77	1,42	38,87	2058,82	45,97
00047	32,44	0,84	1,16	85,04	3082,71	25,68
00048	20,25	0,25	0,56	176,64	4938,52	62,68
00050	33,84	0,39	0,99	104,38	3221,42	20,83
00051	31,62	0,68	1,24	71,78	2846,21	42,83
00052	17,41	0,29	0,82	59,27	2815,12	31,42
00053	38,52	0,86	1,40	106,23	3893,98	35,60
00054	19,44	0,48	1,65	54,47	4630,26	92,42
00055	15,33	0,47	1,15	69,38	5220,20	63,48
00056	9,09	0,35	0,54	91,51	5500,55	28,84
00057	28,12	0,41	0,78	79,21	2240,48	21,53
00058	16,76	0,60	1,27	82,80	6382,72	51,21
00059	11,49	0,43	0,77	90,70	6094,38	38,02
00060	29,82	0,96	1,30	113,72	5029,68	24,16
00061	11,58	0,33	1,05	95,17	8633,34	87,05
00062	19,09	0,43	0,56	177,37	5237,52	22,44

Code	C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	AUC_{last} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	AUC_{inf} [$\text{mg}\cdot\text{h/l}$]	Clearance [l/h]	V1 [l]	$t_{1/2}(\beta)$ [h]
00063	12,75	0,52	0,75	66,12	3922,18	24,66
00064	40,95	0,80	3,72	40,18	3663,00	68,77
00065	41,84	1,36	2,22	53,70	2868,27	35,21
00066	31,24	0,55	1,17	83,11	3137,20	23,12
00067	40,04	0,47	0,94	106,04	2572,49	23,70
00068	16,45	0,54	1,42	70,25	6080,14	77,89
00069	28,34	0,51	2,86	34,88	3529,08	71,54
00070	24,95	0,32	0,84	101,07	3447,03	31,30
00071	13,47	0,51	0,71	65,91	3488,20	23,70
00072	18,43	0,51	0,74	126,56	5154,64	27,75
00073	18,57	0,42	0,67	139,72	5116,33	36,45
00074	54,76	0,74	1,73	62,81	2008,84	22,62
00075	29,78	0,52	2,77	39,26	3693,51	80,81
00077	54,83	0,84	1,61	72,77	2188,50	24,28
00078	23,27	0,63	1,18	58,38	3008,29	42,52
00079	31,05	0,50	2,25	39,83	2898,27	61,56
00080	25,73	0,84	1,62	61,39	3886,21	46,81
00081	19,58	0,18	0,25	116,09	1736,64	10,14
00083	27,52	0,57	2,87	30,91	3270,11	75,49
00084	33,36	0,42	1,13	76,69	2667,87	27,16
00085	35,40	0,92	3,63	26,55	2740,11	138,14
00086	27,70	0,95	1,45	68,76	3610,11	29,51
00087	10,82	0,39	1,38	72,38	9242,14	106,38
00088	28,58	0,43	1,03	107,68	3988,80	24,20
00089	26,82	0,91	1,35	73,90	3728,56	27,54
00090	13,35	0,28	0,92	107,80	7490,64	45,41
00092	8,93	0,38	1,54	42,74	7390,82	115,90
00093	20,49	0,40	0,93	100,10	4587,60	29,24
00094	17,96	0,36	2,86	31,60	5038,98	123,63
00095	18,42	0,37	0,87	92,71	4397,39	29,87
00096	14,86	0,49	1,01	89,12	6056,53	52,22
00097	21,23	0,77	1,66	38,46	3014,60	51,84
00098	32,23	0,63	2,17	50,52	3412,97	43,96

Tabelle 50: Transporterpolymorphismen der Patienten

Code	MDR1 Ala893S/T	MDR1 Ile1144Ile	MRP1 Gln671Val	MRP2 -24 C>T	MRP2 Val1188Glu	MRP2 Ile1324Ile	MRP2 Cys1515Ty	MRP3 Arg1297His	MRP3 His1314His	BCRP Gln141Lys
00001	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var
00002	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00004	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt
00005	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00006	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00007	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	Wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00008	wt/var1	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00010	wt/var1	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00013	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00014	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt
00015	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt
00016	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00017	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	Wt/var	wt/var	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt
00018	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00019	wt/var1	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00020	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var
00021	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00022	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00023	wt/var1	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00024	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var	wt/wt
00025	var1/var1	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00026	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt
00028	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00029	wt/wt	wt/wt	k.A.	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00030	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt
00031	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var
00032	k.A.	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00033	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00034	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var
00035	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	Wt/var	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var
00036	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00037	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00038	var1/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/var	wt/wt
00039	k.A.	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var
00040	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00041	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00042	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00043	var1/var1	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00044	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00045	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt
00046	wt/var2	var/var	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00047	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00048	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/var
00049	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt
00050	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00051	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/var	wt/var	wt/wt
00052	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00053	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var
00054	wt/var2	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00055	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00056	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00057	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt

Code	MDR1 Ala893S/T	MDR1 Ile1144Ile	MRP1 Gln671Val	MRP2 -24 C>T	MRP2 Val1188Glu	MRP2 Ile1324Ile	MRP2 Cys1515Ty	MRP3 Arg1297His	MRP3 His1314His	BCRP Gln141Lys
00058	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00059	k.A.	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00060	k.A.	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt
00061	var1/var1	var/var	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00062	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt
00063	wt/var1	wt/var	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00064	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00065	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00066	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00067	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00068	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00069	wt/var1	wt/var	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00070	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00071	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00072	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/var	wt/wt
00073	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00074	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00075	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00076	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00077	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00078	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00079	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	Wt/var	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/var
00080	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00081	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00082	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	Wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt
00083	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00084	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00085	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00086	wt/var1	var/var	wt/wt	wt/wt	Wt/var	wt/wt	wt/var	wt/var	wt/wt	wt/var
00087	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00088	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00089	k.A.	wt/wt	wt/wt	k.A.	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00090	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt
00091	k.A.	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00092	var1/var1	var/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	var/var	k.A.
00093	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00094	k.A.	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt
00095	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00096	wt/var1	wt/var	wt/wt	var/var	wt/wt	var/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/var
00097	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00098	wt/var1	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt
00099	k.A.	wt/var	wt/wt	wt/var	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt	wt/wt

8 Literaturverzeichnis

1. Abraham R, Basser RL, Green MD (1996): A risk-benefit assessment of anthracycline antibiotics in antineoplastic therapy. *Drug Saf* 6, 406 – 429
2. Ackland SP, Ratain MJ, Vogelzang NJ, Choi KE, Ruane M, Sinkule JA (1989): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of long-term continuous-infusion doxorubicin. *Clin Pharmacol Ther* 45 (4), 340 – 347
3. Andersen A, Holte H, Slórdal L (1999): Pharmacokinetics and metabolism of doxorubicin after short-term infusions in lymphoma patients. *Cancer Chemother Pharmacol*, 44 (5), 422 – 426
4. Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, Grein A, Orezzi P, Pol C, Spalla C (1969): Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peucetius* var. *caesius*. *Biotechnol Bioeng* 11, 1101 – 1110
5. Aubel-Sadron G, Landos-Gagliardi D (1984): Daunorubicin and Doxorubicin, anthracycline antibiotics: a physicochemical and biological review. *Biochimie* 66, 333 – 352
6. Birkett DJ: Pharmacokinetics made easy, 2. Auflage, McGraw-Hill Professional Verlag, Canberra 2002
7. Borchmann P, Riethmüller G, Engert A (2001): Monoclonal antibodies: development and clinical prospects. *Internist* 42 (6), 803 - 804
8. Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J (1999): The multidrug resistance protein family. *Biochem Biophys Acta* 1461, 347 – 357
9. Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J (2000): A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J Natl Cancer Inst* 92 (16), 1295 – 1302
10. Borst P, Oude Elferink R (2002): Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem* 71, 537 – 592
11. Bosch TM, Kjellberg LM, Bouwers A, Koeleman BP, Schellens JH, Beijnen JH, Smits PH, Meijerman I (2005): Detection of Single Nucleotide Polymorphisms in the ABCG2 Gene in a Dutch Population. *Am J Pharmacogenomics* 5 (2), 123 – 131
12. Bronchud MH, Margison JM, Howell A, Lind M, Lucas SB, Wilkinson PM (1990): Comparative pharmacokinetics of escalating doses of doxorubicin in patients with metastatic breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 25, 435 – 439
13. Bugat R, Robert J, Herrera A, Pinel MC, Huet S, Chevreau C, Boussin G, Roquain J, Carton M (1989): Clinical and pharmacokinetic study of 96-h infusions of doxorubicin in advanced cancer patients. *Eur J Cancer Clin Oncol* 25, 505 – 511
14. Camaggi CM, Comparsi R, Strocchi E, Testoni F, Angelielli B, Pannuti F (1988): Epirubicin and Doxorubicin comparative metabolism and pharmacokinetics. *Cancer Chemother Pharmacol* 21, 221 – 228
15. Canal P, Sqalli A, de Forni M, Chevreau C, Pujol A, Bugat R, Roche H, Oustrin J, Houin G (1991): Chronopharmacokinetics of doxorubicin in patients with breast cancer. *Eur J Pharmacol* 40, 287 – 291
16. Cascorbi I, Gerloff T, Johne A, Meisel C, Hoffmeyer S, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, Brinkmann U, Roots I (2001): Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR 1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 69, 169 – 174

17. Chen YN, Mickley LA, Schwartz AM, Acton EM, Hwang J, Fojo AT (1990): Characterization of adriamycin-resistant human breast cancer cells which display overexpression of a novel resistance-related membrane protein *Biol Chem* 265, 10073 – 10080
18. Chen ZS, Robey RW, Belinsky MG, Shchaveleva I, Ren XQ, Sugimoto Y, Ross DD, Bates SE, Kruh GD (2003): Transport of methotrexate, methotrexate polyglutamates, and 17beta-estradiol 17-(beta-D-glucuronide) by ABCG2: effects of acquired mutations at R482 on methotrexate transport. *Cancer Res* 63, 4048 – 4054
19. Cole SP, Deeley RG (1998): Multidrug resistance mediated by the ATP-binding cassette transporter protein MRP. *Bioassays* 20 (11), 931 – 940
20. Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, Mackie JE; Grant CE, Almquist KC, Steward AJ, Kurz EU, Duncan AM, Deeley RG (1992): Overexpression of a transporter gene in a multidrug resistant human lung cancer cell line. *Science* 258, 1650 - 1654
21. Conrad S, Kauffmann HM, Ito K, Leslie EM, Deeley RG, Schrenk D, Cole SP (2002): A naturally occurring mutation in MRP1 results in a selective decrease in organic anion transport and in increased doxorubicin resistance. *Pharmacogenetics* 12 (4), 321 – 330
22. Cui L, Hou YX, Riordan JR, Chang XB (2001): Mutations of the Walker B motif in the first nucleotide binding domain of multidrug resistance protein MRP1 prevent conformational maturation. *Arch Biochem Biophys* 392, 151 – 161
23. Cui Y, Konig J, Buchholz JK, Spring H, Leier I, Keppler D (1999): Drug resistance and ATP-dependent conjugate transport mediated by the apical multidrug resistance protein, MRP2, permanently expressed in human and canine cells. *Mol Pharmacol* 55 (5), 929 – 937
24. Cusatis G, Gregorc V, Li J, Spreafico A, Ingersoll RG, Verweij J, Ludovini V, Villa E, Hidalgo M, Sparreboom A, Baker S (2006): Pharmacogenetics of ABCG2 and adverse reactions to Gefitinib. *J Natl Cancer Inst* 98, 1739 – 1742
25. Diedrich CG, de Waart DR, Ottenhoff R, Schools IG, Elferink RP (2002): Increased bioavailability of the food-derived carcinogen 2-Amino-1-Methyl-6-phenylimidazo-[4,5-b]-pyridine in MRP2-deficient rats. *Mol. Pharmacol* 59, 974 – 980
26. Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, Krogmann T, Gao Y, Rishi AK, Ross DD (1998): A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (26), 15665 – 15670
27. Drescher S, Schaeffeler E, Hitzl M, Hofmann U, Schwab M, Brinkmann U, Eichelbaum M, Fromm MF (2002): MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine. *Br J Clin Pharmacol* 53, 526 – 534
28. Dressler S, Zink C: *Pschyrembel Wörterbuch Sexualität*. 1. Auflage; de Gruyter Verlag, Berlin 2001
29. Drewe J, Krähenbühl S (2000): Proteine für den Transport von Arzneistoffen. *Schweiz Med Wochenschr* 130, 727 – 731
30. Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (1998): Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *The Lancet* 352: 930 – 942
31. Eksborg S, Strandler HS, Edsmyr F, Näslund I, Tahavanainen P (1985): Pharmacokinetic study of i.v. infusion of Adriamycin. *Eur J Clin Pharmacol* 28, 205 – 212

32. Eksborg S, Stendahl U, Lönroth U (1986): Comparative pharmacokinetic study of Adriamycin and 4-Epi-Adriamycin after their simultaneous intravenous administration. *Eur J Clin Pharmacol* 30, 629 – 631
33. Erttmann R, Erb N, Steinhoff A, Landbeck G (1988): Pharmacokinetics of doxorubicin in man: dose and schedule dependence. *J Cancer Res Clin Oncol* 114, 509 – 513
34. Fachinformation Adriblastin, Pfizer, Zürich, ohne Jahr
35. Felsted RL, Richter RD, Bachur NR (1977): Rat liver aldehyde reductase. *Biochem Pharmacol* 26, 1117 – 1124
36. Flens MJ, Zaman GJ, van der Valk P, Izquierdo MA, Schroeijers AB, Scheffer GL, van der Groep P, de Haas M, Meijer CJ, Scheper RJ (1996): Tissue distribution of the multidrug resistance protein. *Am J Pathol* 148 (4), 1237 – 1247
37. Fong CM, Lee AC (2006): High-dose methotrexate-associated an acute renal failure may be an avoidable complication. *Pediatr Hematol Oncol* 23 (1), 51 – 57
38. Forth W, Henschler D, Rummel W: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 7. Auflage; Urban & Fischer Verlag, München 1996
39. Fossati R, Confalonieri C, Torri V, Ghislandi E, Penna A, Pistotti V, Tinazzi A, Liberati A (1998): Cytotoxic and hormonal treatment for metastatic breast cancer: A systematic review of published randomized trials involving 31510 women. *J Clin Oncol* 16, 3439 – 3460
40. Frenay M, Milano G, Renee N, Pons D, Khater R, Francois E, Thyss A, Namer M (1989): Pharmacokinetics of weekly low dose doxorubicin. *Eur J Cancer Clin Oncol* 25, 191 – 195
41. Gao M, Cui HR, Loe DW, Grant CE, Almquist KC, Cole SPC, Deeley RG (2000): Comparison of the functional characteristics of the nucleotide binding domains of multidrug resistance protein 1. *J Biol Chem* 275, 13098 – 13108
42. Gasparini G, Toffoli G, Berlanda G, Rossi C (1990): A pharmacological rationale for neoadjuvant chemotherapy with Adriamycin in locally advanced breast cancer. *Anti-cancer Res* 10 (1), 193 – 196
43. Gerloff T (2003): Impact of genetic polymorphisms in transmembrane carrier-systems on drug and xenobiotic distribution. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 369 (1), 69 – 77
44. Giulietti A, Overbergh L, Valckx D, Decallonne B, Bouillon R, Mathieu C (2001): An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression. *Methods* 25 (4), 386 – 401
45. GLSG-Studie Deutsche Studiengruppe niedrigmaligne Lymphome, Studienleiter: Prof. Dr. W. Hiddemann, Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München, München 2003
46. Haimeur A, Deeley RG, Cole SP (2002): Charged amino acids in the sixth transmembrane helix of multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) are critical determinants of transport activity. *J Biochem* 277, 41326 – 41333
47. Haimeur A, Conseil G, Deeley RG, Cole SP (2004): The MRP-related and BCRP/ABCG2 multidrug resistance proteins: biology, substrate specificity and regulation. *Curr Drug Metab* 5 (1), 21 – 53

48. HD13-Studie für frühe Stadien: Qualitätssicherungsprotokoll zur Toxizitätsreduktion in der Primärtherapie des frühen Morbus Hodgkin, Studienleiter: Prof. Dr. med. V. Diehl, Medizinische Universitätsklinik I der Universität Köln, Köln 2003
49. HD14-Studie für intermediäre Stadien: Qualitätssicherungsprotokoll zur Effektivitätssteigerung in der Primärtherapie des Morbus Hodgkin, Studienleiter: Prof. Dr. med. V. Diehl, Medizinische Universitätsklinik I der Universität Köln, Köln 2003
50. HD15-Studie für fortgeschrittene Stadien: Qualitätssicherungsprotokoll zur Toxizitätsreduktion und zur prognostischen Bedeutung der FDG-PET in der Primärtherapie des fortgeschrittenen Morbus Hodgkin, Studienleiter: Prof. Dr. med. V. Diehl, Medizinische Universitätsklinik I der Universität Köln, Köln 2003
51. Heinemann V (Herausgeber): Supportive Maßnahmen und symptomorientierte Therapie in der Hämatologie und Onkologie, 1. Auflage; Tumorzentrum München, München 2001
52. Higgins CF (2001): ABC transporters: physiology, structure and mechanism - an overview. *Res Microbiol* 152, 205 – 210
53. Hirohashi T, Suzuki H, Sugiyama Y (1999): Characterization of the transport properties of cloned rat multidrug resistance-associated protein 3 (MRP3). *J Biol Chem* 274 (21), 15181 – 15185.
54. Hirohashi T, Suzuki H, Chu XY, Tamai I, Tsuji A, Sugiyama Y (2000): Function and expression of multidrug resistance-associated protein family in human Kolon adenocarcinoma cells (Caco-2). *J Pharmacol Exp Ther* 292 (1), 265 – 270
55. Hirouchi M, Suzuki H, Itoda M, Ozawa S, Sawada J, Ieiri I, Ohtsubo K, Sugiyama Y. (2004): Characterization of the cellular localization, expression level, and function of SNP variants of MRP2/ABCC2. *Pharm Res* 21 (5), 742 – 748
56. Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, Schaffeler E, Fischer J, Schwab M, Eichelbaum M, Fromm MF (2001): 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* 11, 293 – 298
57. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, Johne A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U (2000): 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* 97, 3273 – 3478
58. Holland IB, Cole SP, Kuchler K, Higgins FH: ABC proteins: from bacteria to man. 1. Auflage, Academic Press Inc., San Diego 2002
59. Honjo Y, Hrycyna CA, Yan QW, Medina-Perez WY, Robey RW, van de Laar A, Litman T, Dean M, Bates SE (2001): Acquired mutations in the MXR/BCRP/ABCP gene alter substrate specificity in MXR/BCRP/ABCP-overexpressing cells. *Cancer Res* 61, 6635 – 6639
60. Hooijberg JH, Broxterman HJ, Kool M, Assaraf YG, Peters GJ, Noordhuis P, Scheper RJ, Borst P, Pinedo HM, Jansen G (1999): Antifolate resistance mediated by the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *Cancer Res* 59 (11), 2532 – 2535
61. Hortobágyi GN (1997): Anthracyclines in the Treatment of Cancer, an overview. *Drugs* 54 Suppl. 4, 1 – 7
62. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/> (2006)

63. <http://www.onkodin.de> (2006)
64. Hulhoven R, Desager JP (1976): Quantitative determination of low levels of Daunomycin and Daunomycinol in plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 125, 369 – 374
65. Jaquet JM, Bressolle R, Galtier M, Bourrier M, Donadio D, Jourdan J, Rossi JF (1990): Doxorubicin and Doxorubicinol: intra- and interindividual variations of pharmacokinetic parameter. *Cancer Chemother Pharmacol* 27, 219 – 225
66. Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U, Center M, Keppler D (1994): ATP-dependent transport of glutathione S-conjugates by the multidrug resistance-associated protein. *Cancer Res* 54, 4833 – 4836
67. Kamisako T, Kobayashi Y, Takeuchi K, Ishihara T, Higuchi K, Tanaka Y, Gabazza EC, Adachi Y (2000): Recent advances in bilirubin metabolism research: the molecular mechanism of hepatocyte bilirubin transport and its clinical relevance. *J Gastroenterol* 35, 659 – 664
68. Kawabata S, Oka M, Shiozawa K, Tsukamoto K, Nakatomi K, Soda H, Fukuda M, Ikegami Y, Sugahara K, Yamada Y, Kamihira S, Doyle LA, Ross DD, Kohno S (2001): Breast cancer resistance protein directly confers SN-38 resistance of lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 280 (5), 1216 – 1223
69. Keefe DL (2001): Anthracycline-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol* 28 Suppl, 2 – 7
70. Keitel V, Nies AT, Brom M, Hummel-Eisenbeiss J, Spring H, Keppler D (2003): A common Dubin-Johnson syndrome mutation impairs protein maturation and transport activity of MRP2 (ABCC2). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284, 165 – 174
71. Kerb R, Hoffmeyer S, Brinkmann U (2001): ABC drug transporters: Hereditary polymorphisms and pharmacological impact in MDR1, MRP1 and MRP2. *Pharmacogenomics* 2, 51 – 64
72. Koike K, Oleschuk CJ, Haimeur A, Olsen SL, Deeley RG, Cole SP (2002): Multiple membrane-associated tryptophan residues contribute to the transport activity and substrate specificity of the human multidrug resistance protein, MRP1. *J Biol Chem* 277, 49495 – 49503
73. König J, Rost D, Cui Y, Keppler D (1999): Characterization of the human multidrug resistance protein isoform MRP3 localized to the basolateral hepatocyte membrane. *Hepatology* 29 (4), 1156 – 1163
74. Kool M, de Haas M, Scheffer GL, Scheper RJ, van Eijk MJ, Juijn JA, Baas F, Borst P (1997): Analysis of expression of cMOAT (MRP2), MRP3, MRP4, and MRP5, homologues of the multidrug resistance-associated protein gene (MRP1), in human cancer cell lines. *Cancer Res* 57 (16), 3537 – 3547
75. Kool M, van der Linden M, de Haas M, Scheffer GL, de Vree JM, Smith AJ, Jansen G, Peters GJ, Ponne N, Scheper RJ, Elferink RP, Baas F, Borst P (1999): MRP3, an organic anion transporter able to transport anti-cancer drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (12), 6914 – 6919
76. Kuhn W (2000): Die Rolle der Anthrazykline beim metastasierten Mammakarzinom. *Onkologie* 23 Suppl. 2, 12 – 14

77. Lang T, Hitzl M, Burk O, Mornhinweg E, Keil A, Kerb R, Klein K, Zanger UM, Eichelbaum M, Fromm MF (2004): Genetic polymorphisms in the multidrug resistance-associated protein 3 (ABCC3, MRP3) gene and relationship to its mRNA and protein expression in human liver. *Pharmacogenetics* 14 (3), 155 – 164
78. Launchbury AP, Habboubi N (1993): Epirubicin and doxorubicin: a comparison of their characteristics, therapeutic activity and toxicity. *Cancer Treat Rev* 19, 197 – 228
79. Leca F, Marchiset-Leca D, Noble A, Antonetti M (1991): New data on the pharmacokinetics of Adriamycin and its major metabolite, Adriamycinol. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 16, 107 – 111
80. Lee YM, Cui Y, König J, Risch A, Jäger B, Drings P, Bartsch H, Keppler D, Nies AT (2004): Identification and functional characterization of the natural variant MRP3-Arg1297His of human multidrug resistance protein 3 (MRP3 / ABCC3). *Pharmacogenetics* 14 (4), 213 – 223
81. Liu LF, Rowe TC, Yang L, Tewey KM, Chen GL (1983): Cleavage of DNA by mammalian DNA Topoisomerase II. *J Biol Chem.* 258 (24), 15365 – 15370
82. Loe DW, Stewart RK, Massey TE, Deeley RG, Cole SP (1997): ATP-dependent transport of Aflatoxin B1 and its glutathione conjugates by the product of the multidrug resistance protein (MRP) gene. *Mol Pharmacol* 51 (6), 1034 – 1041
83. Lüllmann H, Mohr K: *Pharmakologie und Toxikologie*, 14. Auflage; Thieme Verlag, Stuttgart 1999
84. Lyamichev V, Brow MA, Dahlberg JE (1993) Structure-specific endonucleolytic cleavage of nucleic acids by eubacterial DNA polymerases. *Science* 260 (5109), 778 – 783
85. Maliepaard M, Scheffer GL, Faneyte IF, van Gastelen MA, Pijnenborg AC, Schinkel AH, van de Vijver MJ, Scheper RJ, Schellens JH (2001): Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues *Cancer Res* 61, 3458 – 3464
86. Materna VW: Bedeutung des ABC-Transporters MRP2/cMOAT/ABCC2 bei der Cisplatinresistenz humaner Tumorzellen. *Math.-Naturwiss. Diss.* Berlin 2002
87. McKelvey EM, Gottlieb JA, Wilson HE, Haut A, Talley RW, Stephens R, Lane M, Gamble JF, Jones SE, Grozea PN, Gutterman J, Coltman C, Moon TE (1976): Hydroxydaunomycin (Adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma. *Cancer* 38 (4), 1484 – 1493
88. Miyake K, Mickley L, Litman T, Zhan Z, Robey R, Cristensen B, Brangi M, Greenberger L, Dean M, Fojo T, Bates SE (1999): Molecular cloning of cDNAs which are highly overexpressed in mitoxantrone-resistant cells: demonstration of homology to ABC transport genes. *Cancer Res* 59 (1), 8 – 13
89. Mizuarai S, Aozasa N, Kotani H (2004): Single nucleotide polymorphisms result in impaired membrane localization and reduced ATPase activity in multidrug transporter ABCG2. *Int J Cancer* 109, 238 – 246
90. Mor-Cohen R, Zivelin A, Rosenberg N, Shani M, Muallem S, Seligsohn U (2001): Identification and functional analysis of two novel mutations in the multidrug resistance protein 2 gene in Israeli patients with Dubin-Johnson syndrome. *J Biol Chem* 276, 36923 – 36930

91. Mross K, Maessen P, van der Vijgh WJ, Gall H, Boven E, Pinedo HM (1988): Pharmacokinetics and Metabolism of Epi-doxorubicin and Doxorubicin in Humans. *J Clin Oncol* 6 (3), 517 – 526
92. Mross K, Mayer U, Hamm K, Burk K, Hossfeld DK (1990): Pharmacokinetics and metabolism of iodo-doxorubicin and doxorubicin in humans. *Eur J Clin Pharmacol* 39, 507 – 513
93. Muller C, Chatelut E, Gualano V, de Forni M, Huguet F, Attal M, Canal P, Laurent G (1993): Cellular pharmacokinetics of doxorubicin in patients with chronic lymphocytic leukaemia: comparison of bolus administration and continuous infusion. *Cancer Chemother Pharmacol* 32, 379 – 384
94. Mutschler E: *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, 6. Auflage; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1991
95. Oleschuk CJ, Deeley RG, Cole SP (2003): Substitution of Trp1242 of TM17 alters substrate specificity of human multidrug resistance protein 3. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284 (2), 280 – 289
96. Osheroff N, Corbett AH, Arobinson MJ (1995): Mechanism of action of topoisomerase II-targeted antineoplastic drugs. *Adv Pharmacol* 29 B, 105 – 126
97. Paulusma CC, Oude Elferink RP (1997): The canalicular multispecific organic anion transporter and conjugated hyperbilirubinemia in rat and man. *J Mol Med* 75, 420 – 428
98. Piscitelli SC, Rodvold KA, Rushing DA, Tewksbury DA (1993): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of doxorubicin in patients with small lung cancer. *Clin Pharmacol Ther* 53, 555 – 561
99. Polgar O, Bates SE (2005): ABC transporters in the balance: is there a role in multidrug resistance? *Biochem Soc Trans* 33, 241 – 245
100. Preiss R, Sohr R, Kittelmann B, Müller E, Haase D (1989): Investigations on the dose-dependent pharmacokinetic of adriamycin and its metabolites. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 27, 156 – 164
101. Rau T, Erney B, Göres R, Eschenhagen T, Beck J, Langer T (2006): High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: impact of ABCC2 polymorphisms on plasma concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 80 (5), 468 – 476
102. Raymond E, Faivre S, Armand JP (2000): Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* 60, Suppl 1, 15 – 23
103. Renz-Polster H, Braun J: *Basislehrbuch Innere Medizin*, 2. Auflage; Urban und Fischer Verlag, München 2004
104. Ritschel WA, Banerjee PS (1986): Physiological pharmacokinetic models: principles, applications, limitations and outlook. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 8 (10): 603 – 614
105. Robert J, Vrignaud P, Nguyen-Ngoc T, Iliadis A, Mauriac L, Hurteloup P (1985): Comparative pharmacokinetics and metabolism of doxorubicin and Epirubicin in patients with metastatic breast cancer. *Cancer Treat Rep* 69, 633 – 640
106. Robert J, Bui NB, Vignaud P (1987): Pharmacokinetics of doxorubicin in Sarkoma patients. *Eur J Clin Pharmacol* 31, 695 – 699

107. Robey RW, Honjo Y, van de Laar A, Miyake K, Regis JT, Litman T, Bates SE (2001): A functional assay for detection of the mitoxantrone resistance protein, MXR (ABCG2). *Biochem Biophys Acta* 1512, 171 – 182
108. Ross DD (2000): Novel mechanisms of drug resistance in leukemia. *Leukemia* 14, 467 – 473
109. Rushing DA, Piscitelli SC, Rodvold KA, Tweksbury DA (1993): The disposition of Doxorubicin on repeated dosing. *J Clin Pharmacol* 33, 698 – 702
110. Sanger F, Coulson AR (1975): A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol* 94, 441 – 448
111. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977): DNA sequencing with chainterminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74, 5463 – 5467
112. Scheffer GL, Kool M, de Haas M, de Vree JM, Pijnenborg AC, Bosman DK, Elferink RP, van der Valk P, Borst P, Scheper RJ (2002): Tissue distribution and induction of human multidrug resistant protein 3. *Lab Invest* 82 (2), 193 – 201.
113. Schinkel AH (1997): The physiological function of p-glycoprotein. *Semin Cancer Biol* 8 (3), 161 – 170
114. Schott B, Robert J (1989): Comparative activity of anthracycline 13-dihydro-metabolites against rat glioblastoma cells in culture. *Biochem Pharmacol* 38, 4069 – 4074
115. Seeber S, Schütte J: *Therapiekonzepte Onkologie*, 4. Auflage; Springer Verlag, Berlin 2003
116. Shan K, Lincoff AM, Young JB (1996): Anthracycline-induced cardiotoxicity. *Ann Intern Med* 125, 47 – 58
117. Speth PA, Linssen PC, Holdrinet RS, Haanen C (1987 a): Plasma and cellular Adriamycin concentrations in patients with myeloma treated with ninety-six-hour continuous infusion. *Clin Pharmacol Ther* 41, 661 – 665
118. Speth PA, Linssen PC, Boezeman JB, Wessels HM, Haanen C (1987 b): Cellular and plasma Adriamycin concentrations in long-term infusion therapy of leukaemia patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 20, 305 – 310
119. Speth PA, Raijmakers RA, Boezeman JB, Linssen PC, de Witte TJ, Wessels HM, Haanen C (1988): In vivo cellular Adriamycin concentrations related to growth inhibition of normal and leukemic human bone marrow cells. *Eur J Cancer Clin Oncol* 24, 667 – 674
120. Speth PA, van Hoesel QG, Haanen C (1990): Clinical pharmacokinetics of doxorubicin. *Clin Pharmacokinet* 15, 15 – 31
121. Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan CT, Heller G, Murphy ML (1991): Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *JAMA* 266 (12), 1672 – 1677
122. Steward WP, Verweij J, Somers W, Santoro A, van Oosterom AT, Somers R, Blackledge G, Verweij J, Dombernowsky P, Thomas D (1993): Granulocyte-macrophage Colony-stimulating factor allows safe escalation of dose-intensity of chemotherapy in metastatic adult soft tissue Sarcomas: a study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *J Clin Oncol* 11 (1), 15 – 21
123. Takanashi S, Bachur NR (1976): Adriamycin metabolism in man. Evidence from urinary metabolites. *Drug Metab Dispos* 4, 79 – 87

124. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, Takahashi M, Kurata Y, Kigawa J, Higuchi S, Terakawa N, Otsubo K (2001): Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* 297, 1137 – 1143
125. Tanigawara Y (2000): Role of P-glycoprotein in drug disposition. *Ther Drug Monit* 22 (1), 137 – 140
126. Tritton TR, Yee G (1982): The anticancer agent Adriamycin can be actively cytotoxic without entering cells. *Science* 217, 248 – 250
127. Trümper L, Glass B, Pfreundschuh M (2004): New diagnostic and therapeutic strategies for aggressive lymphomas. *Dtsch Med Wochenschr* 129 (40), 2113 – 2117
128. Tufan A, Babaoglu MO, Akdogan A, Yasar U, Calgueri M, Kalyoncus U, Karadag O, Hayran M, Ertenli AI, Bozkurt A, Kiraz S (2007): Association of Drug Transporter Gene ABCB1 (MDR1) 3435C to T Polymorphism with Colchicine Response in Familial Mediterranean Fever. *J Rheumatol.* 34 (7), 1540 – 1544
129. Twelves CJ, Dobbs NA, Aldous M, Harper PG, Rubens RD, Richards MA (1991): Comparative pharmacokinetics of doxorubicin given by three different schedules with equal dose intensity in patients with breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 28, 302 – 307
130. Van Asperen J, van Tellingen O, Beijnen JH (1998): Determination of doxorubicin and metabolites in murine specimens by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 712 (1-2), 129 – 143
131. Van der Vijgh WJ, Maesse PA, Pinedo HM (1990): Comparative metabolism and pharmacokinetics of doxorubicin and 4'-epidoxorubicin in plasma, heart and tumor of tumor-bearing mice. *Cancer Chemother Pharmacol* 26, 9 – 12
132. Vethanayagam RR, Wang H, Gupta A, Zhang Y, Lewis F, Unadkat JD, Mao Q (2005): Functional analysis of the human variants of breast cancer resistance protein: I206L, N590Y, and D620N. *Drug Metab Dispos* 33 (6), 697 – 705
133. Vogel F (1959): Moderne Probleme der Humangenetik. *Ergebn Inn Med Kinderheilk* 12, 52 – 125
134. Volk EL, Farley KM, Wu Y, Li F, Robey RW, Schneider E (2002): Overexpression of wild-type breast cancer resistance protein mediates methotrexate resistance. *Cancer Res* 62, 5035 – 5040
135. von Hoff D, Layard MW, Basa P, Davis HL Jr, Von Hoff AL, Rozenzweig M, Muggia FM (1979): Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med* 91, 710 – 717
136. Wang JC (1985): DNA-Topoisomerases. *Ann Rev Biochem* 54, 665 – 697
137. Wang X, Furukawa T, Nitanda T, Okamoto M, Sugimoto Y, Akiyama S, Baba M (2003): Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) induces cellular resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Mol Pharmacol* 63, 65 – 72
138. Wojnowski L, Kulle B, Schirmer M, Schlüter G, Schmidt A, Rosenberger A, Vonhof S, Bickemöller H, Toliat MR, Suk EK, Tzvetkov M, Kruger A, Seifert S, Kloess M, Hahn H, Loeffler M, Nürnberg P, Pfreundschuh M, Trümper L, Brockmüller J, Hasenfuss G (2005): NAD(P)H Oxidase and Multidrug Resistance Protein genetic polymorphisms are associated with Doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Circulation* 112, 3754 – 3762

139. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K (2000): Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention – review of the literature. *Med Sci Monit* 6, 411 – 420
140. World Health Organization: WHO Handbook for reporting results of cancer treatment, No. 48. 1. Auflage; WHO, Genf 1979
141. Xu MF, Tang PL, Qian ZM, Ashraf M (2001): Effects by Doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals. *Life Sci* 68, 889 – 901
142. Yi SY, Hong KS, Lim HS, Chung JY, Oh DS, Kim JR, Jung HR, Cho JY, Yu KS, Jang IJ, Shin SG (2004): A variant 2677A allele of the MDR1 gene affects fexofenadine disposition. *Clin Pharmacol Ther* 76 (5), 418 – 427
143. Young LC, Campling BG, Voskoglou-Nomikos T, Cole SP, Deeley RG, Gerlach JH (1999): Expression of multidrug resistance protein-related genes in lung cancer: correlation with drug response. *Clin Cancer Res* 5 (3), 673 – 680
144. Young LC, Campling BG, Cole SP, Deeley RG, Gerlach JH (2001): Multidrug resistance proteins MRP3, MRP1, and MRP2 in lung cancer: correlation of protein levels with drug response and messenger RNA levels. *Clin Cancer Res* 7 (6), 1798 – 1804
145. Zelcer N, Saeki T, Reid G, Beijnen JH, Borst P (2001): Characterization of drug transport by human multidrug resistance protein 3 (ABCC3) (2001): *J Biol Chem* 276 (49), 46400 – 46407
146. Zhang DW, Gu HM, Vasa M, Muredda M, Cole SP, Deeley RG (2003): Characterization of the role of polar amino acid residues within predicted transmembrane helix 17 in determining the substrate specificity of multidrug resistance protein 3. *Biochemistry* 42 (33), 9989 – 10000
147. Zimniak P (1993): Dubin-Johnson and Rotor syndromes: molecular basis and pathogenesis. *Semin Liver Dis* 13, 248 – 260
148. Zuckerman KS (1994): Efficacy of intensive, high-dose anthracycline-based therapy in intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphomas. *Semin Oncol Suppl.* 1, 59 – 64
149. Zunino F, Gambetta R, Di Marco A (1975): The inhibition in vitro of DNA polymerase and RNA polymerase by Daunomycin and Adriamycin. *Biochem Pharmacol* 24, 309 – 317

Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. J. Brockmöller für die Überlassung dieses interessanten Themas sowie die außergewöhnlich gute und angenehme Betreuung, besonders aber für seine konstruktiven Vorschläge und die geduldige Korrektur dieser Arbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. R. Kaiser möchte ich mich für die Hilfe bei den vielen Fragen zur Durchführung einer klinischen Studie recht herzlich bedanken.

Frau Dr. G. Kersting gilt mein größter Dank für die Durchführung und die Einführung in die Geheimnisse des experimentellen Teils dieser Arbeit sowie im besonderen Maße für die außergewöhnlich gute Zusammenarbeit beim Verfassen dieser Arbeit.

Herrn Dr. I. Meineke sei gedankt für die Erstellung der kompartmentellen Analyse von Doxorubicin.

Allen weiteren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung „Klinische Pharmakologie“ bin ich dankbar für die Unterstützung und freundliche Aufnahme in ihr Team.

Ein grosses Dankeschön geht an Aline Büchenschütz und Sabine Muhlke für ihre bereitwillige und freundschaftliche „Starthilfe“.

Bei Klaus Ottich möchte ich mich für das intensive Korrekturlesen der Arbeit bedanken.

Des Weiteren bin ich Herrn Prof. Dr. L. Trümper aus der Abteilung „Hämatologie und Onkologie“ und Herrn Prof. Dr. G. Emons aus der Abteilung „Gynäkologie und Geburtshilfe“ des Universitätsklinikums Göttingen für die Kooperation bei der Rekrutierung der Probanden zu Dank verpflichtet.

Allen Ärzten und dem Pflegepersonal der damaligen Stationen 0123, 3023, 4024 und 5023 danke ich herzlich für ihre Unterstützung bei der Durchführung dieser Studie.

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei den Patienten bedanken, die an dieser Studie teilgenommen haben. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen und ich wünsche ihnen alles Gute.

Lebenslauf

Am 27. Mai 1981 wurde ich, Katrin Wasser, als jüngstes Kind der Studienrätin Angelika Wasser, geb. Elbing, und des Studiendirektors Berndt Wasser in Bad Pyrmont geboren. Von 1987 bis 1991 verbrachte ich meine Grundschulzeit in Halvestorf. Anschließend wechselte ich an die OS West in Hameln und besuchte danach das Viktoria-Luisen-Gymnasium Hameln, an dem ich im Jahr 2000 mein Abitur ablegte.

Im Wintersemester 2000/2001 begann ich mit dem Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität Göttingen. Hier legte ich im Sommersemester 2002 meine ärztliche Vorprüfung ab. Den klinischen Teil des Humanmedizinstudiums absolvierte ich ebenfalls an der Georg-August-Universität Göttingen. Von April 2006 bis März 2007 befand ich mich im Praktischen Jahr. Das erste Tertial durchlief ich in der Abteilung für Innere Medizin am Klinikum Bremen Ost. Dort absolvierte ich auch die erste Hälfte des chirurgischen Tertials. Die zweite Hälfte verbrachte ich im Department of Surgery der Universität Pretoria in Südafrika. Das dritte Tertial absolvierte ich in der Abteilung für Neurologie des Universitätsklinikums Göttingen. Am 23.04.2007 legte ich das Dritte Staatsexamen ab und schloss das Studium mit der Gesamtnote „Gut“ ab. Ab dem 01.08.2007 beginne ich meine Facharztausbildung und Forschungstätigkeit in der Abteilung für Neurologie des Universitätsklinikums Göttingen.