

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
(Prof. Dr. med. J. Brockmöller)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Grundlegende Untersuchungen zur erblichen Variation der
Aktivitäten der Efflux-Transportproteine MDR1 und MRP2:
Eine Zwillingsstudie mit Talinolol als In-vivo-Testsubstanz**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

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

vorgelegt von

Valerie Eva Gal

aus

München

Göttingen 2015

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

I. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Jürgen Brockmöller

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Gerhard Burckhardt

III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Margarete Schön

Tag der mündlichen Prüfung: 13.04.2016

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	<i>Bedeutung genetischer Variation in der Medizin.....</i>	<i>1</i>
1.1.1	Genetische Variation in der Pharmakodynamik.....	2
1.1.2	Bedeutung der Pharmakokinetik in der Therapie.....	3
1.1.3	Genetische Variation in der Pharmakokinetik.....	5
1.1.4	Genetische Variation in Membran-Transportproteinen	6
1.1.4.1	Aufnahmetransporter	7
1.1.4.2	Effluxtransporter MDR1	8
1.1.4.3	Effluxtransporter MRP.....	16
1.2	<i>Das untersuchte Arzneimittel: Talinolol</i>	<i>20</i>
1.2.1	Allgemeine Bedeutung von Talinolol in der Medizin.....	20
1.2.1.1	Eigenschaften und Wirkmechanismus von Talinolol	20
1.2.1.2	Der Weg von Talinolol durch den Körper	21
1.2.1.3	Anwendung von Talinolol	22
1.2.1.4	Nebenwirkungen	23
1.2.2	Konzept der <i>In-vivo</i> -Testsubstanzen (probe drugs).....	23
1.2.3	Talinolol als Testsubstanz/probe drug.....	25
1.3	<i>Untersuchungskonzepte und Studiendesigns in der Pharmakogenetischen Forschung.....</i>	<i>26</i>
1.3.1	Zwillingsstudien	26
1.3.2	Familienstudien	29
1.4	<i>Aufgabenstellung</i>	<i>29</i>
2	Methoden.....	31
2.1	<i>Konzept der klinischen Studie</i>	<i>31</i>
2.2	<i>Details der klinischen Studie</i>	<i>32</i>
2.2.1	Probanden.....	32
	Tabelle 11: Zusammenfassung der Ein- und Ausschlusskriterien	33
	Ausschlusskriterien	33
2.2.2	Vorgespräch/Aufklärungsgespräch	34
2.2.3	Medizinisches Screening.....	35
2.2.4	Ablauf der Studie.....	35
2.2.5	Ernährungsvorschriften	40
2.2.6	Maßnahmen zur Sicherheit der Probanden	41
2.2.7	Dokumentation und Datenschutz	41
2.2.8	Rechte der Probanden.....	42

2.3	<i>Definition und Berechnung pharmakokinetischer Parameter</i>	42
2.3.1	Bioverfügbarkeit.....	42
2.3.1.1	Bioverfügbarkeit und AUC (<i>area under the curve</i>).....	42
2.3.2	Clearance – CL.....	43
2.3.3	Verteilungsvolumen- V	43
2.3.4	Halbwertszeit.....	44
2.3.5	Maximale Plasmakonzentration - c_{\max}	44
2.3.6	Mean residence time – MRT	44
2.3.7	Extrapolationen	44
2.4	<i>Analysemethoden für Talinolol-Konzentration</i>	45
2.5	<i>Analysemethoden für Genvarianten</i>	45
2.6	<i>Statistische Methoden</i>	46
2.6.1	Statistik für Erblichkeitsberechnungen	47
3	Ergebnisse	49
3.1	<i>Untersuchte Probandenstichprobe</i>	49
3.2	<i>Untersuchte bekannte Genvarianten in MDR1 und MRP2</i>	49
3.3	<i>Talinolol-Pharmakokinetik in der gesamten Stichprobe</i>	50
3.3.1	Nicht-parametrische pharmakokinetische Auswertung.....	50
3.4	<i>Talinolol-Pharmakokinetik: Intra- versus inter-individuelle Variabilität</i> 52	
3.4.1	Nicht-parametrische Auswertung.....	52
3.5	<i>Talinolol-Pharmakokinetik: Bedeutung der bisher bekannten Genvarianten an „unserer“ Stichprobe</i>	56
3.6	<i>Talinolol-Pharmakokinetik bei monozygoten versus dizygoten Zwillingen: Deskriptive Analyse</i>	65
3.6.1	Nicht-parametrische Auswertung.....	65
3.7	<i>Erblichkeitsberechnung nach statistischer Modellanalyse</i>	66
3.7.1	Nicht-parametrische Auswertung.....	66
3.8	<i>Einfluss von Umwelt und Genen nach der Formel von Vesell</i>	69
3.9	<i>Kardiale Wirkungen in Relation zu Ein- und Zwei-Eiigkeit</i>	70
4	Diskussion	73
4.1	<i>Vergleich der hier gemessenen Daten zu Talinolol mit den in der Literatur publizierten Daten</i>	74
4.2	<i>Variabilität in den Blutkonzentrationsverläufen von Talinolol nach oraler Dosierung</i>	77

4.3	<i>Vergleich der Eignung unterschiedlicher Pharmakokinetik-Parameter am Beispiel der Testsubstanz Talinolol.....</i>	80
4.4	<i>Variabilität in der Aktivität von MDR1.....</i>	82
4.4.1	<i>Verschiedene Testverfahren und Testsubstanzen zur Bestimmung der Aktivität von MDR1.....</i>	82
4.4.2	<i>Genetische Einflüsse auf die Aktivität von MDR1.....</i>	83
4.4.3	<i>Exogene Einflüsse auf die Aktivität von MDR1.....</i>	84
4.5	<i>Variabilität in der Aktivität von MRP2.....</i>	85
4.5.1	<i>Verschiedene Testverfahren und Testsubstanzen zur Bestimmung der Aktivität von MRP2.....</i>	85
4.5.2	<i>Genetische Einflüsse auf die Aktivität von MDR2.....</i>	86
4.5.3	<i>Exogene Einflüsse auf die Aktivität von MRP2.....</i>	88
4.6	<i>Erblichkeit der kardialen Wirkungen von Betablockern.....</i>	88
4.7	<i>Methodische Aspekte zu unterschiedlichen statistischen Messgrößen für Erblichkeit.....</i>	89
4.8	<i>Schwächen des Projektes und Ausblick auf weitere Arbeiten.....</i>	91
5	Zusammenfassung.....	93
6	Literaturverzeichnis.....	95

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Lokalisation und Funktion der Transporter MDR1 und MRP2	22
Abb. 2:	Häufigkeitsverteilung von C _{max} und AUC _{inf}	51
Abb. 3:	Konzentrationsverläufe	52
Abb. 4:	Intra- und interindividuelle Variabilität von AUC _{inf} bei monozygoten Zwillingen	55
Abb. 5:	Intra- und interindividuelle Variabilität von AUC _{inf} bei dizygoten Zwillingen	56
Abb. 6:	Korrelationsgraphiken ausgewählter Parameter	67
Abb. 7:	Pulsverlauf an einem Studientag	72
Abb. 8:	größter und kleinster gemessener Wert für C _{max} und AUC _{inf}	77
Abb. 9:	Variabilität der einzelnen Parameter	81
Abb. 10:	Verteilung der Genvarianten des rs717620-Gens auf den verschiedenen Kontinenten	87
Abb. 11:	Verteilung der Genvarianten des rs2273697-Gens auf den verschiedenen Kontinenten	87

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Lokalisation und Funktionen von P-Glykoprotein	9
Tabelle 2:	Auswahl von Substraten von p-Glykoprotein (MDR1)	9
Tabelle 3:	Die zuerst von Hoffmeyer et al. beschriebenen Genvarianten in MDR1	12
Tabelle 4:	Überblick über gefundene SNPs im MDR1 Gen	13
Tabelle 5:	Lokalisation und Funktion der MRP Isoformen	17
Tabelle 6:	Auswahl von Substraten von MRP2	18
Tabelle 7:	Überblick über gefundene SNPs im MDR2 Gen	18
Tabelle 8:	verwendete Arzneimittel und untersuchte Transporter und Enzyme	25
Tabelle 9:	Studienmedikation	31
Tabelle 10:	Studienkonzept	32
Tabelle 11:	Zusammenfassung der Ein- und Ausschlusskriterien	33
Tabelle 12:	Studienplan	35
Tabelle 13:	Ablauf der ersten Studienphase	37
Tabelle 14:	verwendete Abkürzungen zur Herleitung der Formel $rGC = SD_b^2 - SD_w^2 / SD_b^2$	47
Tabelle 15:	Untersuchte Probandenstichprobe	49
Tabelle 16:	Genvarianten in MDR1 und MRP2	50
Tabelle 17:	Pharmakokinetik von Talinolol der gesamten Stichprobe	51
Tabelle 18:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 3435 CC	56
Tabelle 19:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 3435 CT	57
Tabelle 20:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 3435 TT	57
Tabelle 21:	Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im 3435 Gen	58
Tabelle 22:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1236 CC	59
Tabelle 23:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1236 CT	59
Tabelle 24:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1236 TT	60
Tabelle 25:	Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im 1236 Gen	60
Tabelle 26:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1249 GG	61

Tabelle 27:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1249 GA	61
Tabelle 28:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1249 AA	62
Tabelle 29:	Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im 1249 Gen	62
Tabelle 30:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante im rs717620 GG	63
Tabelle 31:	Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante im rs717620 GA	63
Tabelle 32:	Pharmakokinetik von Talinolol des Probanden mit der Genvariante im rs717620 AA	64
Tabelle 33:	Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im rs717620 Gen	64
Tabelle 34:	Pharmakokinetik von Talinolol der monozygoten Zwillinge	65
Tabelle 35:	Pharmakokinetik von Talinolol der dizygoten Zwillinge	66
Tabelle 36:	Korrelationskoeffizienten und Erblichkeitsmaß	68
Tabelle 37:	Vergleich der Streuung innerhalb der Personen mit der Streuung zwischen den Personen	69
Tabelle 38:	deskriptive Statistik der Pulse der monozygoten Zwillinge	70
Tabelle 39:	deskriptive Statistik der Pulse der dizygoten Zwillinge	71
Tabelle 40:	Korrelationskoeffizienten und Erblichkeit vom Puls	72
Tabelle 41:	Vergleich pharmakokinetische Daten von Talinolol in der Literatur mit den Daten dieser Studie	75
Tabelle 42:	Vergleich von der Variation innerhalb unterschiedlicher Studien	78
Tabelle 43:	typische MDR1 Substrate mit den ermittelten pharmakokinetischen Parametern	83
Tabelle 44:	Medikamente und Naturstoffe mit Einfluss auf die Aktivität von MDR1	84

Abkürzungsverzeichnis

ABC	<i>ATP binding cassette</i>
AE	unerwünschtes Ereignis (<i>adverse event</i>)
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	<i>area under the curve</i> , Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BMI	<i>Body-Mass-Index</i>
CL	Clearance
CRF	Dokumentationsformular (<i>case report form</i>)
CYP	Cytochrom P-450-Enzym
DZ	dizygot, zweieiig
EKG	Elektrokardiogramm
EM	schneller Metabolisierer (<i>extensive metabolizer</i>)
H ²	Erblichkeit (<i>heritability</i>)
i.v.	intravenös
IM	intermediärer Metabolisierer (<i>intermediate metabolizer</i>)
MDR	<i>multidrug resistance</i>
MRP	<i>multidrug resistance-associated protein</i>
MRT	mittlere Verweildauer (<i>mean residence time</i>)
MZ	monozygot, eineiig
OAT	Anionen-Transporter (<i>organic anion transporter</i>)
OATP	organisches Anion Transport Protein (<i>organic anion transporting protein</i>)
OCT	Kationen-Transporter (<i>organic cation transporter</i>)
PEPT	<i>peptide transporter</i>
Pgp	P-Glykoprotein
PM	langsamer Metabolisierer (<i>poor metabolizer</i>)
p.o.	per os
PTC	<i>Phenylthiocarbamid</i>
r ²	Bestimmtheitsmaß

r_{DZ}	Pearson-Korrelationskoeffizient bei dizygoten Geschwistern
r_{MZ}	Pearson-Korrelationskoeffizient bei monozygoten Geschwistern
SAE	schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis (<i>serious adverse event</i>), ohne Klärung der Kausalität
SD_b	interindividuelle Standardabweichung (<i>between</i>)
SD_w	intraindividuelle Standardabweichung (<i>within</i>)
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
$T_{1/2}$	Halbwertszeit
TP	definierter Zeitpunkt während des Studienablaufs (<i>time point</i>)
V_G	genetische Variation
V_E	Variation durch Umweltfaktoren (<i>environmental</i>)
V_M	Variation durch Messfehler
URM	ultraschneller Metabolisierer (<i>ultra rapid metabolizer</i>)
ZNS	zentrales Nervensystem

1 Einleitung

1.1 Bedeutung genetischer Variation in der Medizin

Aufgrund stetig neu entwickelter Arzneistoffe in den letzten Jahrzehnten ist es möglich geworden, immer mehr Erkrankungen mit Medikamenten zu behandeln. Leider wird in sehr vielen Fällen nicht die gewünschte Wirkung erreicht. Oft kommt es zu keiner Wirkung, einer nur unzureichenden Wirkung oder die Therapie muss aufgrund von unerwünschten Wirkungen abgebrochen werden.

Eine Studie besagt, dass 20 bis 50 Prozent der Patienten, die mit Betablockern, Antidepressiva oder Statinen behandelt werden, keine, eine nur unzureichende Wirkung oder nicht akzeptable unerwünschte Wirkungen zeigen, sodass die Behandlung nicht weitergeführt werden kann (Schwab et al. 2002). In den USA sterben etwa 100.000 Menschen pro Jahr an einer unerwünschten Arzneimittelwirkung, damit zählen unerwünschte Arzneimittelwirkungen mit zu den häufigsten Todesursachen (Lazarou et al. 1998). Dies gilt nicht nur für die USA, auch in Europa wurden ähnliche Daten erhoben. Problem ist, dass verschiedene Patienten, die dasselbe Medikament in derselben Dosis erhalten, unterschiedliche Reaktionen zeigen. Ein Medikament hat demnach je nach Individuum ein unterschiedliches Wirkungsmuster.

Ursachen für die unterschiedliche Wirkung sind zum einen verschiedene Umwelteinflüsse, der Gesundheitszustand, Essgewohnheiten, Alter, etc. zum anderen genetische Faktoren (Evans und McLeod 2003; Steinberger et al. 2011). Durch die vollständige Sequenzierung des Genoms konnten verschiedene Genmerkmale gefunden werden, die für diese Unterschiede in der Wirkung von Arzneimitteln verantwortlich sein können. Bei der Analyse der klinischen Wirkungen und Nebenwirkungen muss man zwischen Faktoren unterscheiden, die die Pharmakokinetik (Einfluss des Körpers auf Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Medikamenten) und die Pharmakodynamik (Wirkungen des Medikaments auf den Körper) beeinflussen.

Es ist die Pharmakogenetik, die sich mit der genetischen Variabilität in der Pharmakokinetik und Pharmakodynamik, die verantwortlich für interindividuelle Unterschiede

bezüglich Wirkung und Auftreten von Nebenwirkungen eines Arzneimittels sind, auseinandersetzt (Schwab et al. 2002; Meyer 2004; Aktories et al. 2009).

Die Anfänge der Pharmakogenetik gehen auf Pythagoras zurück, der beobachtet hat, dass einige Menschen beim Verzehr der Ackerbohne (*Vicia faba*) eine lebensbedrohliche Hämolyse erlangten. Diese Hämolyse wurde nachträglich assoziiert mit einem Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel. Anfang des 20. Jahrhunderts wurden zunehmend Studien zur Untersuchung genetischer Polymorphismen durchgeführt. In einer dieser Studien wurden Probanden auf ihre geschmackliche Sensitivität bezüglich Phenylthiocarbamid (PTC) getestet. Diese Studie (*taste blindness*) war damals der Prototyp für zukünftige Studien und legte damit den Grundstein der pharmakogenetischen Forschung (Meyer 2004; Somogy 2008). Geprägt wurde der Begriff der Pharmakogenetik 1959 von dem Heidelberger Humangenetiker Vogel (Schwab et al. 2002). In den 60er Jahren gelang ein weiterer Fortschritt durch die von Vesell durchgeführten Zwillingsstudien. Immer wieder werden neue Polymorphismen entdeckt, die interindividuelle Arzneimittelwirkungen erklären können (Somogy 2008). Das Ziel ist es, für jeden einzelnen Patienten eine individualisierte Therapie zu ermöglichen, die eine geeignete Medikamentenauswahl und Dosisanpassung an das Individuum erlaubt. Somit könnten viele unerwünschte Arzneimittelwirkungen vermieden und dadurch auch enorme Kosten im Gesundheitswesen gespart werden (Schwab et al. 2002; Evans und McLeod 2003).

1.1.1 Genetische Variation in der Pharmakodynamik

Die Pharmakodynamik beschreibt die Vorgänge eines Arzneistoffes an seinem Wirkort und wird beschrieben durch Effekt-Konzentrations-Kurven. Sie beinhaltet die Art der Wirkung, die Wirksamkeit und den Ort der Wirkung. Auch bei gleichen Plasmakonzentrationen eines Substrates kann es zu interindividuellen Unterschieden in der tatsächlichen Wirkung kommen. Denn auch in der Pharmakodynamik werden Polymorphismen beschrieben, die die Funktion und Expression von Zielproteinen (Rezeptoren, Enzyme, Ionenkanäle, etc.) beeinflussen (Wehling 2005).

Als Beispiel wird hier der Beta₁-Rezeptor aufgeführt, über den unter anderem Talinolol seine Wirkung erzielt. Der Beta₁-Rezeptor, der vom ADRB1-Gen codiert ist, sitzt vor

allem am Myokard und reguliert die inotropen und chronotropen Wirkungen durch Katecholamine (Mahesh Kumar et al. 2008). Er zeigt große interindividuelle und interethnische Unterschiede bezüglich seiner Wirkung gegenüber Betablockern. Bisher wurden 36 SNPs beschrieben, wovon 2 Relevanz bezüglich der Wirkung von Betablockern und den Einfluss bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen haben. Es handelt sich zum einen um einen Basenaustausch von Adenin zu Guanin, der einen Aminosäureaustausch von Serin zu Glycin zur Folge hat (Ser49Gly), zum anderen ebenfalls um einen Basenaustausch, aber von Cytosin zu Guanin, der in einen Aminosäureaustausch von Arginin zu Glycin resultiert (Arg389Gly). Welchen Genotyp ein Individuum typischerweise besitzt, hängt auch von seiner ethnischen Herkunft ab. In verschiedenen Studien konnten unterschiedliche Wirkungen der Beta-blocker in unterschiedlichen Bevölkerungen festgestellt werden. Zum Beispiel reagieren dunkelhäutige Individuen schwächer auf Betablocker als hellhäutige Personen. Somit muss man bei Therapien immer auch auf interethnische Variabilität achten (Liu et al. 2006; Kurnik et al. 2008; Mahesh Kumar et al. 2008).

1.1.2 Bedeutung der Pharmakokinetik in der Therapie

Die Pharmakokinetik beschreibt den Einfluss des Körpers auf Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Medikamenten und lässt sich somit in verschiedene Teilbereiche gliedern (Absorption, Distribution, Metabolismus und Exkretion). Für eine effektive und sichere Therapie ist es notwendig, die Eigenschaften einer Substanz in allen pharmakokinetischen Teilbereichen zu kennen. Zunächst spielt die Absorption (Passage der Wirksubstanz vom Ort der Applikation in das Plasma), die abhängig vom Applikationsort ist, eine entscheidende Rolle. Bei der oralen Applikation von Arzneimitteln gibt es zahlreiche Faktoren, die die Absorption dieser Arzneimittel begrenzen. Ein sehr wichtiger Faktor, der die Aufnahme limitiert, ist der First-Pass-Metabolismus in der Leber. Oral zugeführte Arzneimittel werden zum größten Teil im Dünndarm resorbiert und über die Pfortader in die Leber transportiert, wo sie teilweise bereits präsystemisch metabolisiert werden (First-Pass-Metabolismus). Der Anteil der Wirksubstanz, der sich nach der Applikation im Plasma befindet, wird als orale Bioverfügbarkeit der Substanz bezeichnet. Sie wird auch definiert als der Quotient aus den Flächen unter der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve nach oraler Arzneimittelgabe und

i.v. Arzneimittelgabe (Pond und Tozer 1984). Die orale Bioverfügbarkeit wird allerdings nicht nur vom First-Pass-Metabolismus bestimmt, sondern es spielen auch intestinale Transporter eine entscheidende Rolle. Als Beispiel seien das P-Glykoprotein und der MRP2-Transporter, die Thema dieser Arbeit sind, genannt. Sie verringern die orale Bioverfügbarkeit verschiedener Arzneimittel, indem sie das Arzneimittel in den Darm zurück transportieren (Zagermann-Muncke 2006).

Nachdem sich das Arzneimittel im Plasma befindet, ist es wichtig zu wissen, wie sich die Substanz im Körper verteilt. Dabei ist unter anderem das Verteilungsvolumen, das Verhältnis zwischen der verabreichten Dosis eines Arzneimittels und der im Plasma befindlichen Konzentration des entsprechenden Arzneimittels zu berücksichtigen. Außerdem ist die Kenntnis, von welchen Transportern die Substanz transportiert wird, ob die Substanz an Plasmaproteine gebunden wird und ob die Substanz lipophilen (Fettliebend) oder eher hydrophilen (Wasserliebend) Charakter hat (Löslichkeitsverhalten), wichtig. Von diesen und noch weiteren Faktoren hängt es ab, in welchen Organen und Kompartimenten sich die Substanz anreichert und wie viel der eigentlichen Substanz sich im Plasma konzentriert. Das weitere Schicksal der Wirksubstanz wird durch den Metabolismus (Verstoffwechslung) und die Exkretion (Ausscheidung der Wirksubstanz) bestimmt. Es gibt einige Substanzen, die durch den Metabolismus erst aktiviert werden, sogenannte prodrugs, was bedeutet, dass diese Substanzen erst nach der Verstoffwechslung ihre volle Wirkung entfalten können (Giftung). Andere Substanzen werden durch den Metabolismus inaktiviert (Entgiftung).

Die Exkretion kann unter anderem renal, biliär und pulmonal erfolgen. Ein Maß für die Exkretion ist die Clearance, die angibt, wie viel Blutplasma pro Zeiteinheit von einer Substanz befreit wird. Wichtig für die Therapie ist es zu wissen, ob Grunderkrankungen an den Ausscheidungsorganen zugrunde liegen. Zum Beispiel kann es bei einer eingeschränkten Nierenfunktion zu Problemen bei der Ausscheidung von Substanzen über die Niere kommen (Krueger et al. 2001). In allen Teilbereichen der Pharmakokinetik, seien es am Metabolismus beteiligte Enzyme oder verschiedene Transporter, gibt es interindividuelle Unterschiede durch genetische Variationen, auf die in den folgenden Kapiteln näher eingegangen wird (Aktories et al. 2009).

Zusammenfassend kann man festhalten, dass es sehr wichtig ist, von jedem einzelnen Arzneimittel die pharmakokinetischen Eigenschaften zu kennen und die

Arzneimittelwahl und Dosierung an das Individuum unter Berücksichtigung seiner Erkrankungen und gegebenenfalls der genetischen Variationen anzupassen.

1.1.3 Genetische Variation in der Pharmakokinetik

In allen Teilbereichen der Pharmakokinetik können genetische Variationen auftreten. Klinisch relevant ist besonders die genetische Variabilität, die einen Einfluss auf die Aktivität metabolisierender Enzyme hat.

Die Metabolisierungsreaktionen im menschlichen Körper werden in zwei Phasen eingeteilt. In der ersten Phase werden unter anderem durch Oxidationen, Reduktionen, Hydrolysen und Hydratisierungen funktionelle Gruppen in ein Molekül eingebracht oder funktionelle Gruppen freigelegt. An dieser Reaktion sind vor allem Cytochrom-P450-Enzyme (CYP-Enzyme), Hämproteine am endoplasmatischen Retikulum, beteiligt. In der zweiten Phase finden Konjugationsreaktionen statt, die durch die Konjugation der reaktiven Substanz mit hydrophilen Substanzen das Ausscheiden des Stoffes möglich machen (Schwab et al. 2002).

Maßgeblich für die Metabolisierung eines Stoffes ist der CYP-Gehalt in der Leber. Dieser ist sehr variabel, was unter anderem auf genetische Polymorphismen zurückzuführen ist. Zurzeit sind 12 Isoformen des Enzyms bekannt, die für den Arzneimittel-metabolismus relevant sind (Schwab et. al 2002)

Bisher am besten erforscht sind Polymorphismen des CYP2D6-Enzyms. Durch das Auftreten von schweren Nebenwirkungen unter Debrisoquin und Sparteinbehandlung wurde 1975 erstmals ein komplettes Ausbleiben der Enzymaktivität festgestellt (Mahgoub et al. 1977; Eichelbaum et al. 1979). Inzwischen ist für 15 von mehr als 50 identifizierten Mutationen nachgewiesen worden, dass CYP2D6 gar nicht erst gebildet wird (Schwab et al. 2002).

Mehr als 50 Arzneistoffe sind Substrate von CYP2D6, welches damit eine erhebliche Relevanz bezüglich der Konzentration des zu metabolisierenden Stoffes besitzt. Es handelt sich dabei um folgende Medikamentengruppen: Antiarrhythmika der Klasse 1, Antidepressiva, Neuroleptika, Betablocker, HT₃-Rezeptor-Antagonisten, Amphetamine und Opioide. Die meisten dieser Substrate werden durch CYP2D6 zu unwirksamen Metaboliten abgebaut. Jedoch gibt es auch Medikamente wie Codein, Tramadol,

Tamoxifen und Encainid, sogenannte prodrugs, die erst durch das CYP2D6-Enzym aktiviert werden müssen, um eine Wirkung zu erzielen. Je nach Vorliegen genetischer Varianten im CYP2D6-Gen kann die Enzymaktivität sehr variabel sein. Individuen können daher phänotypisch in *poor metabolizer* (PM), *intermediate metabolizer* (IM), *extensive metabolizer* (EM) und *ultra rapid metabolizer* (URM) eingeteilt werden (Schwab et al. 2002; Brockmoller und Tzvetkov 2008). Bei langsamen Metabolisierern (PM) kann es entweder zur Akkumulation eines Arzneimittels kommen, somit unerwünschte Arzneimittelwirkungen und toxische Zustände hervorrufen oder im Falle eines prodrugs zu gar keiner Wirkung führen. Wird ein Arzneimittel sehr schnell metabolisiert (URM), können unter Umständen die therapeutische Wirkung ganz ausbleiben oder bei erst aktivierten Substanzen toxische Zustände entstehen. Bei ca. 7 % der weißen Bevölkerung ist die CYP2D6-Enzymaktivität herabgesetzt (PM), 1,5 - 5 % sind ultraschnelle Metabolisierer (Gerloff und Roots 2003)

Die Wirkung eines Arzneimittels hängt aber nicht alleine von der Enzymaktivität ab. Transportproteine, Zellstrukturen, Signaltransduktionswege und Rezeptoren beeinflussen ebenfalls die Effektivität eines Stoffes.

1.1.4 Genetische Variation in Membran-Transportproteinen

Arzneistoffe müssen, um an ihren Wirkort zu gelangen, Zellbarrieren überwinden.

Dies kann einfach durch passive Diffusion vonstattengehen, oft sind aber auch aktive Transportsysteme notwendig (Gerloff und Roots 2003).

Transportproteine dienen aber nicht nur der Aufnahme und Abgabe von Stoffen in Darm, Leber und Niere, sondern sie stellen auch eine lebenswichtige Barrierefunktion an Gehirn, Plazenta und Hoden dar. Ohne diese Schranken könnten toxische Substanzen ohne Probleme in die sensiblen Organe gelangen und dort erhebliche Schäden anrichten (Siegmond et al. 2002). Durch genetische Variabilität und Polymorphismen sind die Expression und die Funktion der Transporter sehr variabel. Hinzu kommt, dass viele Transporter in ihrer Funktion von verschiedenen Arzneimitteln beeinflusst werden und konkurrierende Arzneimittel, die Substrat desselben Transporters sind, sich gegenseitig behindern. Beispielsweise findet man erhöhte Plasmakonzentrationsspiegel von Digoxin bei gleichzeitiger Anwendung von Talinolol, da beide Stoffe Substrate des

Effluxtransporters P-Glykoprotein sind und bei gemeinsamer Verabreichung durch Verdrängung weniger über den Effluxtransporter P-Glykoprotein in den Darm zurücktransportiert wird (Gerloff und Roots 2003).

Transporter werden eingeteilt in Aufnahme- und Ausscheidungstransportsysteme, auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

1.1.4.1 Aufnahmetransporter

Wichtige Vertreter der Aufnahmetransporter sind die Familie der OATPs (*organic anion transporting protein*), OATs (*organic anion transporters*) und OCTs (*organic cation transporter*).

Genetische Variabilität ist vor allem für den Anionentransporter OATP und für den Kationentransporter OCT-1 beschrieben worden.

Ein Beispiel für die Variabilität in der Familie der OATPs ist der spezifische Anionentransporter OATP1B1, der hauptsächlich in der basolateralen Hepatozytenmembran exprimiert wird und die intrazelluläre Aufnahme (Influx) endogener Stoffe sowie von Medikamenten wie des HMG-CoA-Reduktaseinhibitors Pravastatin katalysiert. Bei dem OATP1B1 (SLC21A6)-Gen wurden verschiedene SNP's (*single nucleotide polymorphisms*) gefunden, die einen Einfluss auf die Expression und Transportfähigkeit des Transporters OATP1B1 haben, und somit die Plasmakonzentrationen seiner Substrate beeinflusst. Dabei sind besonders die Varianten Asn130Asp und Val174Ala klinisch relevant. Diese Polymorphismen werden für die unterschiedliche Verträglichkeit von HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren verantwortlich gemacht (Tirona et al. 2001; Marzolini et al. 2004). Auch OCT-1, dessen Funktion Einfluss auf die Bioverfügbarkeit kationischer Arzneimittel hat, findet man hauptsächlich in der basolateralen Hepatozytenmembran. Es wurden bereits 25 SNP's entdeckt, von denen bereits drei als klinisch relevant eingestuft werden konnten. Die Mutationen Arg61Cys, Cys88Arg und Gly401Ser beeinträchtigen die Funktion des Transporters und wirken sich somit auf die Wirkung der Arzneimittel aus, die Substrate des OCT-1-Transporters sind (Kerb et al. 2002). Eine neuere Studie zeigt, dass auch die Deletion 420Met, die nur zusammen mit dem Val408-Allel vorkommt, zu einer Aktivitätsänderung des OCT-1-Transporters führt (Tzvetkov et al. 2014).

1.1.4.2 Effluxtransporter MDR1

Die bedeutendsten Effluxtransporter der Pharmakokinetik sind die ABC (*ATP-binding cassette*) -Transporter.

Der wohl bekannteste Vertreter ist das P-Glykoprotein, das Genprodukt von MDR1 (*multidrug resistance*). Dieses ist auch der bedeutendste Transporter für die in der Studie benutzte Testsubstanz Talinolol. Zunächst wurde der MDR1-Transporter mit hoher Expression in Tumorzellen entdeckt, die eine Multiresistenz gegenüber sehr unterschiedlichen Zytostatika aufwiesen (Juliano und Ling 1976). Sehr klar wurde die physiologische Bedeutung erst Jahre später durch genetisch manipulierte Mäuse (Knockout- Mäuse), denen dieser Transporter vollständig fehlt. Der Transporter wird auch im Darm, in Leber, Niere und an verschiedenen Blutschranken (z.B. Blut-Hirn-Schranke) exprimiert und hat dort lebenswichtige Funktionen inne. Das P-Glykoprotein fördert die Ausscheidung von Xenobiotika über Urin und Galle und hemmt die Absorption dieser Stoffe im Gastrointestinaltrakt. Außerdem schützt es mit dem Vorkommen an der Blut-Hirn- und Blut-Hoden-Schranke sensible Organe vor dem Eindringen schädigender Substanzen (Schinkel 1997; Schinkel 1998; Cascorbi et al. 2001). Der Transporter ist mit zwei hydrophoben Anteilen in der apikalen Seite von Zellen verankert, zwei hydrophile Anteile zeigen ins Zytoplasma und binden ATP. Die Hydrolyse von ATP führt zu einer Konformationsänderung des P-Glykoproteins, wodurch ein Kanal entsteht, durch den Substrate in den Extrazellulärraum gepumpt werden können (Germann und Chambers 1998).

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über Lokalisation und Funktion des P-Glykoproteins.

Tabelle 1: Lokalisation und Funktionen von P-Glykoprotein

Lokalisation	Funktion
Intestinale Schleimhaut	Efflux in das Darmlumen, Limitation von Arzneimittelabsorption
Biliäre Hepatozyten	Transport in die Galle
Niere (Tubulusepithel)	Transport in das Tubuluslumen; Erhöhung der renalen Exkretion
Blut-Hirn-Schranke	Transport aus dem ZNS in das Blut; Schutz vor Xenobiotika
Tumorzellen	Transport aus dem Tumorgewebe in das Blut; Resistenz von verschiedenen Zytostatika

Zuschnitt aus (Siegmund et al. 2002; Gerloff und Roots 2003; Zagermann-Muncke 2006; Han et al. 2009)

Das Spektrum von Stoffen, die von MDR1 transportiert werden, ist sehr vielfältig. Interessanterweise sind die Substrate strukturell sehr unterschiedlich, allen gemeinsam ist nur der amphiphile Charakter, also eine Molekülstruktur mit teils hydrophoben (fettlöslichen) und teils hydrophilen (wasserlöslichen) Molekülteilen (Schinkel 1997; Sakaeda et al. 2003).

In der Tabelle 2 findet sich eine kleine Auswahl relevanter MDR1-Substrate:

Tabelle 2: Auswahl von Substraten von P-Glykoprotein (MDR1)

Wirkstoffgruppe	Wirkstoff
Beta-Blocker	Talinolol, Carvediol, Celiprolol
Calciumantagonisten	Diltiazem, Nicardipin, Verapamil
H1-Blocker	Fexofenadin, Terfenadin
HIV-Protease-Hemmer	Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir
Steroide	Dexamethason, Aldosteron, Hydrocortison
Immunsuppressiva	Ciclosporin, Sirolimus, Tacrolimus

Wirkstoffgruppe	Wirkstoff
Beta-Blocker	Talinolol, Carvediol, Celiprolol
Calciumantagonisten	Diltiazem, Nifedipin, Verapamil
H1-Blocker	Fexofenadin, Terfenadin
HIV-Protease-Hemmer	Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir
Steroide	Dexamethason, Aldosteron, Hydrocortison
Immunsuppressiva	Ciclosporin, Sirolimus, Tacrolimus
Zytostatika	Doxorubicin, Etoposid, Mitomycin, Mitoxantron, Paclitaxel, Teniposid
Antibiotika	Cefazolin, Cefoperazon, Erythromycin, Levofloxacin, Sparfloxacin, Rifampicin
Herzwirksame Pharmaka	Amiodaron, Digitoxin, Digoxin, Propafenon, Chinidin
ZNS-Pharmaka	Fluphenazin, Perphenazin, Phenoxazin, Phenytoin
Morphine	Morphium, Loperamid
Sonstige	Furosemid, Midazolam, Simvastatin, Losartan, Colchicin

Zusammenstellung aus (Gerloff und Roots 2003; Zagermann-Muncke 2006)

Die Expression und die Funktion des Transporters weisen starke interindividuelle Unterschiede auf (Siegmond et al. 2002). Dies beruht auf der Verabreichung von Medikamenten, die die Expression beeinflussen (Induktoren) oder die Aktivität hemmen (Inhibitoren), sowie auf verschiedenen Erkrankungen, aber auch auf genetischen Polymorphismen. Zum Beispiel kommt es bei der Gabe von Rifampicin zu einer P-Glykoprotein-Induktion. Bei einer gleichzeitigen Gabe eines Arzneimittels, welches Substrat von MDR1 ist, verringert sich dessen orale Bioverfügbarkeit (z.B. Talinolol) (Westphal et al. 2000b). Neben einer Reihe weiterer Induktoren gibt es eine Vielzahl von Inhibitoren, die entsprechend zu höheren Plasmaspiegeln eines Arzneimittels führen können (Zagermann-Muncke 2006). Zudem kann es bei einer gleichzeitigen Gabe von zwei Arzneimitteln, die beide Substrate von MDR1 sind, durch das

Wechselprinzip der kompetitiven Inhibition zu einer Wirkungsabschwächung von einem dieser Arzneimittel kommen.

Die genetische Variabilität beruht auf dem Vorkommen einer Vielzahl von SNPs. Hoffmeyer et al. führten 2000 eine ausführliche Untersuchung genetischer Polymorphismen am MDR1-Gen durch. Sie fanden 15 verschiedene Polymorphismen, 8 in Exons und 7 in Introns. 12 der gefundenen Polymorphismen waren nicht codierend und veränderten daher die Proteinsequenz nicht. An drei Stellen fand man einen Aminosäureaustausch. 14 der 15 gefundenen SNPs konnten nicht mit einer veränderten Funktion oder Expression des P-Glykoproteins in Verbindung gebracht werden. Nur der Polymorphismus in Exon 26 (C3435T) erbrachte eine signifikante Korrelation zur Aktivität von MDR1 (Hoffmeyer et al. 2000; Sakaeda et al. 2003). Homozygote Träger des Nukleotidaustauschs von Cytosin zu Thymin (3435TT) wiesen eine zweifach erniedrigte MDR1 Expression im Bezug zum Wildtyp auf. Nicht nur die MDR1-Expression, sondern auch deren Aktivität bei Betrachtung der Digoxin Plasmakonzentration wurden untersucht. Es konnten signifikante Zusammenhänge zwischen dem Exon 26 SNP und dem Digoxin Plasmaspiegel hergestellt werden, die sich noch deutlicher unter Rifampicinvorbehandlung (MDR1-Induktor) zeigten (Gerloff und Roots 2003). Bei einem T/T-Genotyp (erniedrigte P-Glykoprotein Expression) wurden im Vergleich zum C/C-Wildtyp höhere Plasmaspiegel gemessen (Hoffmeyer et al. 2000). Da die Höhe des Plasmaspiegels wichtiger Medikamente mit dem Vorkommen des SNPs in Exon 26 korreliert, kann es bei Gabe von z.B. dem Immunsuppressivum Cyclosporin A oder dem Antikoagulant Warfarin bei Patienten mit dem Polymorphismus zu schwerwiegenden Komplikationen kommen (Cascorbi et al. 2001).

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die von Hoffmeyer et. al gefundenen Polymorphismen und deren Häufigkeit.

Tabelle 3: Die von Hoffmeyer et al. beschriebenen Genvarianten in MDR1

Region	Wild- typ	Muta- tion	Anzahl der analysierten Individuen	Hetero- zygote (in %)	Homo- zygote (in %)	Kommentar
Exon 1	T	C	85	11,8	0	
Exon 2	G	A	188	11,2	0	
Exon 2	A	G	188	17,6	0,5	Aminosäureaustausch Asn-Asp
Intron	G	T	85	26	3,5	
Intron	G	C	85	1,2	0	
Exon 5	T	C	85	1,2	0	Aminosäureaustausch Phe-Leu
Intron	C	T	85	48,2	16,5	
Intron	C	T	85	2,4	0	
Exon 11	G	A	85	12,9	0	Aminosäureaustausch Ser-Asn
Exon 12	C	T	188	48,9	13,3	
Intron	C	T	188	11,7	0	
Intron	T	A	85	45,9	22,4	
Intron	A	G	85	1,2	0	
Exon 26	C	T	188	48,3	23,9	signifikante Korrelation zur Expression von P- Glykoprotein
Exon 26	C	T	188	0,53	0	

Nach Hoffmeyer et al. 2000

Auch nach der ausführlichen SNP Analyse von Hoffmeyer et al. wurden viele weitere Studien zum Einfluss von SNPs im MDR1 Gen auf die Pharmakokinetik durchgeführt. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über einige gefundene SNPs in den letzten Jahren und deren Auswirkungen.

Tabelle 4. Überblick über gefundene SNPs im MDR1-Gen

<u>SNP</u>	<u>Auswirkungen</u>	<u>Literatur</u>	
			<u>Betr. 3435 passend zu Expression gering bei</u>
3435 C>T	T: geringere Pgp-Expression und Effluxaktivität im Darm; Bioverfügbarkeit und Absorptionsgeschwindigkeit von Digoxin erhöht	(Gerloff und Roots 2003)	T
2677G/3435T	T: Assoziation mit hohen Digoxin-Plasmaspiegeln	(Gerloff und Roots 2003)	T
2677G/3435C	Assoziation mit niedrigen Digoxin-Plasmaspiegeln	(Gerloff und Roots 2003)	T
2677T/3435T			C
3435 C>T	geringere MDR1-Expression und hohe Digoxin Plasmaspiegel (homozygote Träger)	(Hoffmeyer et al. 2000; Cascorbi et al. 2001; Siegmund et al. 2002; Sakaeda et al. 2003)	T
2677A/3435T	geringere Aufnahme von Fexofenadine	(Chinn und Kroetz 2007)	C
3435T	erhöhte Cyclosporin A Aufnahme, geringere MDR1-Aktivität	(Chinn und Kroetz 2007)	T
3435 C>T	nicht näher beschriebene Veränderungen in der mRNA Struktur	(Wang und Sadee 2006)	-

<u>SNP</u>	<u>Auswirkungen</u>	<u>Literatur</u>	
3435 C>T	TT-Genotyp niedrigere MDR1-Expression als CC-Genotyp (TT/CT/CC-Genotypen zeigen alle eine erhöhte MDR1-Expression in Anwesenheit einer H. pylori-Infektion)	(Omar et al. 2012)	T
3435 C>T	Einfluss auf das Auftreten von Krampfanfällen und die Aufnahme des Antiepileptikums Phenytoin	(Ponnala et al. 2012)	-
Genotypkombination: 1236C>T, 2677G>T/A, 3435C>T	geringerer Gehalt an MDR1-mRNA im Intestinum	(Schwarz et al. 2007)	T
3435 C>T	häufiges Auftreten des SNP bei Patienten mit Hodgkin-Lymphom, aber kein Einfluss auf die Wirkung des ABVD-Schemas	(Mhaidat et al. 2011)	-
→ Zusammenfassend betrachtet ergeben die meisten Studien eine verminderte MDR1-Expression beim Vorhandensein des SNP 3435 C>T			

<u>SNP</u>	<u>Auswirkungen</u>	<u>Literatur</u>	
			<u>Betr. 2677 passend zu Expression gering bei</u>
2677G/3435T	hohe Digoxin- Plasmaspiegeln	(Gerloff und Roots 2003)	G
2677G/3435C	niedrige Digoxin- Plasmaspiegeln	(Gerloff und Roots 2003)	G
2677T/3435T			T
2677 G>T	geringere MDR1-Expression (homozygote Träger)	(Simon et al. 2007)	T
2677 G>T	geringere MDR1-Expression in der menschlichen Plazenta, höhere Werte für AUC bei oraler Talinololgabe	(Siegmond et al. 2002)	T
2677 G>A	höhere Werte für AUC bei oraler Talinololgabe	(Siegmond et al. 2002)	A
2677 G>T	verminderte MDR1-Funktion	(Chinn und Kroetz 2007)	T
2677A/3435T	geringere Aufnahme von Fexofenadine	(Chinn und Kroetz 2007)	G
2677G>T/A	schlechtere analgetische Wir- kung von piritramide und erhöhtes Vorkommen von Nebenwirkungen im Ver- gleich zum Wildtyp	(Matouskova et al. 2013)	-
→Tendenz: geringere MDR1 Expression, erhöhte Talinololaufnahme beim Vorhan- densein vom SNP 2677 G>T			

<u>SNP</u>	<u>Auswirkungen</u>	<u>Literatur</u>
1236 C>T	kein Einfluss auf die Aminosäuresequenz und somit MDR1 Expression	(Cascorbi et al. 2001)
1236 C>T	Veränderungen in der mRNA Struktur	(Wang und Sadee 2006)
1236 C>T	reduzierte Plasmakonzentrationen von Lopinavir	(Bellusci et al. 2013)

Aus den bisherigen Studien kann man schließen, dass vor allem SNPs an Position 3435 und 2677 einen Einfluss auf die Aktivität und Expression von MDR1 haben und somit den Transport von sehr vielen verschiedenen Arzneimitteln beeinflussen.

1.1.4.3 Effluxtransporter MRP

Ein weiterer bekannter und für viele Medikamente wichtiger Vertreter der ABC-Transporter ist das MRP (*multidrug resistance associated protein*). Das MRP wurde 1992 von Cole et al. genauso wie der MDR-Transporter an multiresistenten Tumorzellen entdeckt (Cole et al. 1992). Inzwischen sind 9 Isoformen bekannt (MRP1, MRP2, MRP3, MRP4, MRP5, MRP6, MRP7, ABCC11 und ABCC12), die sich strukturell sehr ähnlich sind, aber sich aufgrund der Anzahl von Transmembrandomänen in zwei Gruppen einteilen lassen (MRP1, 2, 3, 6 und 7 bestehen aus 3 Transmembrandomänen, MRP4, 5, 8 (ABCC11) und 9 (ABCC12) bestehen aus 2 Transmembrandomänen) (Borst et al. 2000; Haimeur et al. 2004). Man findet MRP, genauso wie das P-Glykoprotein, in exkretorischen Organen. Die einzelnen Lokalisationen und Funktionen der Isoformen sind soweit bekannt in der Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Lokalisation und Funktion der MRP-Isoformen

Isoform	Lokalisation	Funktion
MRP1	basolaterale Zellmembran ubiquitär	Transport organischer Anionen (z.B. mit Glutathion konjugierte Arzneimittel, Glucuronate, Sulfate)
MRP2	apikale Membran polarisierter Zellen in Leber, Niere und Darm	vor allem biliäre Exkretion endogener Stoffe und Xenobiotika
MRP3	basolaterale Membran von Zellen in Leber, Pankreas, Niere und Darm	Transport organischer Anionen
MRP4	Prostata, Lunge, Muskel, Pankreas, Hoden, Ovarien, Blase und Gallenblase	Transport organischer Anionen
MRP5	ubiquitär	Transport organischer Anionen
MRP6	basolaterale Membran von Zellen in Leber und Niere	Transport organischer Anionen
ABCC11	ubiquitär	Transport organischer Anionen
ABCC12	ubiquitär	Transport organischer Anionen

Zusammenfassung aus (Borst et al. 2000; Nies et al. 2002)

Im Folgenden wird auf das für diese Arbeit relevante MRP2 näher eingegangen.

Das MRP2 unterscheidet sich von den anderen Isoformen durch seine Lage an der apikalen Membran polarisierter Zellen und wird hauptsächlich in der Leber, aber auch im Darm und im proximalen Nierentubulus exprimiert. Der Transporter spielt eine besondere Rolle bei der Exkretion konjugierter Stoffe in die Galle und den Urin (Entgiftungsfunktion). Zudem ist das MRP2 in der Lage ungeladene Stoffe im Kotransport mit Glutathion zu transportieren (Jedlitschky et al. 2006).

Eine Auswahl von MRP2 Substrate sind in der Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Auswahl von Substraten von MRP2

Substratart	Wirkstoffe
endogene Substanzen	Leukotriene, Bilirubin, 17 β -Glucuronosylestradiol, Glutathion, Sulfate
Xenobiotika	Methotrexat, Cisplatin, Etoposid, Doxorubicin, Epirubicin, Mitoxantrone

Zusammenfassung aus (Konig et al. 1999; Borst et al. 2000)

Mutationen auf Chromosom 10 im MRP2-Gen manifestieren sich als Dubin Johnson Syndrom, einer schweren autosomal rezessiven Erkrankung mit vollständigem Funktionsverlust von MRP2. Leitsymptome dieses Gendefekts sind eine konjugierte Hyperbilirubinämie und Pigmentablagerungen in der Leber.

Patienten mit einem Dubin Johnson Syndrom sind zusätzlich gefährdet bei Arzneimitteltherapien, dessen Substrate von MRP2 transportiert werden (Fricker und Miller 2002; Gerloff und Roots 2003).

Aber auch bei gesunden Personen konnten genetische Veränderungen in Form von SNPs gefunden werden, die pharmakogenetische Auswirkungen haben. Die folgende Tabelle zeigt eine Auswahl der in den letzten Jahren gefundenen SNPs mit deren Auswirkungen.

Tabelle 7: Überblick über gefundene SNPs im MRP2-Gen

SNP	Auswirkungen	Literatur
-24 C>T	häufigeres Auftreten bei Patienten mit hepatotoxischen Schäden	(Daly et al. 2007)
-24 C>T	2 fach erhöhte AUC von Methotrexat bei weiblichen Patienten	(Rau et al. 2006)
-24 C>T	verminderte Aufnahme von Mycophenolsäure bei Nierentransplantierten Patienten, MPA AUC im <i>steady-state</i> -Zustand vermindert	(Lloberas et al. 2011)

SNP	Auswirkungen	Literatur
rs717620 -24 C>T	vermindertes Ansprechen auf Chemotherapie bei kleinzelligem Lungenkarzinom und verminderte Überlebensrate	(Campa et al. 2012)
1249 G>A	Assoziation mit einer höheren Transporteraktivität, signifikant niedrigere orale Bioverfügbarkeit für Talinolol	(Haenisch et al. 2008)
1249 G>A	Assoziation zur TDF (Tenofovir disoproxil fumarat) induzierten proximalen Tubulopathie	(Izzedine et al. 2006)
1446 C>G	Assoziation mit einer niedrigen Pravastation AUC, erhöhte mRNA-Expression in der Leber	(Niemi et al. 2006)

Andere Studien untersuchten weitere SNPs, die aber keine signifikanten Veränderungen in den Eigenschaften von MRP2 hervorrufen. Aus der obigen Tabelle lässt sich schließen, dass von den bisher detektierten SNPs vor allem die SNPs -24 C>T und 1249 G>A eine Rolle in der Pharmakogenetik spielen.

Trotz der bis heute geringen Anzahl an gefundenen SNPs, die Auswirkungen auf die chemotherapeutische Behandlung haben, wird MRP2 für die Entstehung von Resistenzen bei antitumoröser Therapie mit unter anderem Cisplatin, Etoposid, Doxorubicin und Epirubicin verantwortlich gemacht. Dies wurde mit Hilfe von transfektierten Zellen belegt, bei denen eine vermehrte Expression des MRP2 zu Resistenzen verschiedener Chemotherapeutika führte (Borst et al. 2000).

1.2 Das untersuchte Arzneimittel: Talinolol

1.2.1 Allgemeine Bedeutung von Talinolol in der Medizin

Talinolol, ein lang wirkender, selektiver Beta₁-Adrenorezeptorblocker, wird zum einen seit 1975 in Deutschland und Westeuropa zur Therapie von Bluthochdruck, koronaren Herzerkrankungen und Herzrhythmusstörungen eingesetzt, zum anderen ist es aufgrund seiner Eigenschaften eine wichtige In-vivo-Testsubstanz für Transportvorgänge in der Forschung (Gramatte et al. 1996).

1.2.1.1 Eigenschaften und Wirkmechanismus von Talinolol

Talinolol ist ein selektiver Beta₁-Rezeptor-Antagonist und wirkt somit hauptsächlich durch Unterdrückung von adrenergen Einflüssen am Myokard.

Die negativ chronotrope, negativ dromotrope und negativ inotrope Wirkung sowie die verminderte Plasmareninaktivität führen langfristig zu einer Senkung des Blutdruckes und Verminderung der Herzbelastung.

Die ersten pharmakokinetischen Untersuchungen mit Talinolol wurden 1975 an Hunden und Ratten durchgeführt. Beim Hund beträgt die Absorptionsquote 90 %, das Blutspiegelmaximum wird 1 - 2 Stunden nach Applikation erreicht und die Halbwertszeit beträgt 6,4 Stunden (Femmer et al. 1975b). An der Ratte führten Klemm und Wenzel Untersuchungen mit Radiokohlenstoff-markiertem Talinolol durch. Dabei fanden sie heraus, dass bei Ratten eine ausgeprägte biliäre Exkretion ohne Reabsorption der Substanz stattfindet und diese somit hauptsächlich fäkal innerhalb von 48 h wieder ausgeschieden wird (Klemm und Wenzel 1975). Heutzutage kennt man genauere Daten, die auf den Menschen zutreffen und sich von den damaligen Versuchen an Tieren etwas unterscheiden.

Talinolol ist gut geeignet für eine tägliche Einmalgabe, da es sich im Vergleich zu anderen Beta-Blockern durch eine lange Halbwertszeit auszeichnet. Die orale Dosis beträgt 50 bis 300 mg pro Tag. Talinolol hat eine ausreichende Lipidlöslichkeit und trotzdem beträgt die orale Bioverfügbarkeit nur etwa 55 %. Die Substanz wird zu weniger als 1 % im Körper metabolisiert, daher kann die geringe orale Bioverfügbarkeit nicht durch einen ausgeprägten First-Pass-Mechanismus bedingt sein (Gramatte et al. 1996). Die Ursache liegt in der verminderten Absorption, die durch eine Sekretion der Substanz im Darm durch verschiedene Transporter (P-Glykoprotein, MDR1) hervor-

rufen wird (Siegmond et al. 2003). Dafür spricht die Korrelation zwischen P-Glykoprotein-Expression und Plasmakonzentrationsspiegel (Siegmond et al. 2003). Der Plasmaspiegel zeigt einen biexponentiellen Verlauf. Die maximale Plasmakonzentration wird dosisabhängig nach 2 bis 3 Stunden erreicht. Bei oraler Gabe beträgt die Halbwertszeit $11,9 \pm 2,4$ h (50 mg) bzw. $11,45 \pm 2,41$ h (100 mg, single dose) bis $13,73 \pm 2,07$ h (100 mg, *steady state*) (Fachinfo-Cordanum 2001).

Die AUC (*area under the curve*) beträgt bei einer oralen Gabe von 50 mg 1321 ± 382 ng/ml·h, bei einer Dosis von 100 mg $3378,1 \pm 923,5$ ng/ml·h. Die Ausscheidung erfolgt nahezu unverändert renal (60 %) und extrarenal (40 %) (Fachinfo-Cordanum 2001).

1.2.1.2 Der Weg von Talinolol durch den Körper

Talinolol wird im Darm resorbiert und gelangt über den portalen Kreislauf in die Leber. Allerdings wird ein sehr großer Teil vorher durch die Transporter MDR1 und MRP2 wieder in den Darm befördert (1). Dadurch erklärt sich auch die geringe Bioverfügbarkeit von 55 %. Von der Leber verteilt sich Talinolol zum Teil in den Körper, der andere Teil wird wiederum über MDR1 und MRP2 in die Galle transportiert (2) und schließlich fäkal (40 %) ausgeschieden. Der restliche Anteil, der sich im Körper verteilt hat, wird später über die Nieren (60 %) ausgeschieden. Die beiden Transporter erhöhen die renale Exkretion durch Transport von Talinolol in das Tubuluslumen (3).

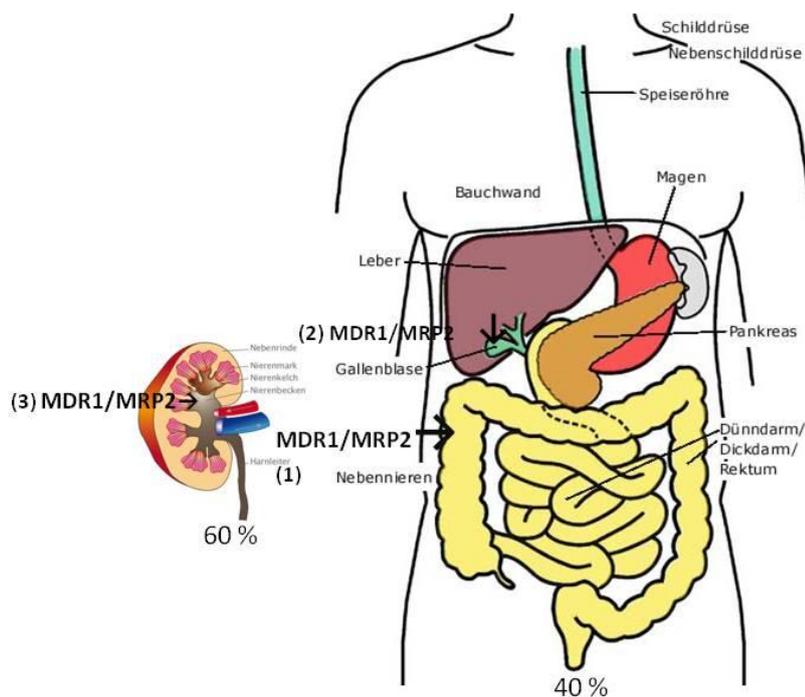
Abbildung 1: Lokalisation und Funktion der Transporter MDR1 und MRP2

Abbildung entnommen von folgenden Homepages: “www.chemgapedia.de“ und “www.chirurgie-frankfurt.com“ (Zugriff am 16.10.2014)

1.2.1.3 Anwendung von Talinolol

Seit 1975 wird Talinolol in Deutschland und in Westeuropa zur Behandlung der arteriellen Hypertonie, der koronaren Herzerkrankung und von tachykarden Herzrhythmusstörungen eingesetzt (Gramatte et al. 1996).

Weitere Anwendung findet Talinolol in der Therapie des hyperkinetischen Herzsyndroms und von supraventrikulären und ventrikulären Extrasystolen (Assmann 1995). Außerdem wird es bei akutem Herzinfarkt und darauffolgend in der Reinfarktprophylaxe eingesetzt. Aufgrund der β_1 -Selektivität ist es möglich nach individueller Empfindlichkeitsprüfung Talinolol auch bei Asthmatikern einzusetzen (Femmer et al. 1975a; Kandt und Hackenberger 1975).

1.2.1.4 Nebenwirkungen

Talinolol wird allgemein gut vertragen und zeigt im therapeutischen Bereich nur wenige Nebenwirkungen (Femmer et al. 1975a).

Trotzdem können je nach Dosierung gelegentlich unterschiedliche Nebenwirkungen auftreten. Es wurden zentralnervöse Störungen wie Müdigkeit, Schwindelgefühl, Kopfschmerzen, Schweißausbrüche, Schlafstörungen, Alpträume, verstärkte Traumaktivität, Antriebsschwäche sowie Sehstörungen beschrieben. Außerdem kann es zu einem verstärkten Blutdruckabfall, zu orthostatischen Dysregulationen, zu einer Sinusbradykardie, einem AV-Block 1. Grades und zu gastrointestinale Beschwerden kommen.

1.2.2 Konzept der *In-vivo*-Testsubstanzen (probe drugs)

Testsubstanzen sind Substanzen, die in der Forschung zur Beurteilung pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Aspekte verwendet werden, wobei es primär nicht um das Interesse an der Substanz selbst geht, sondern um die Messung der biologischen Eigenschaften. In der Pharmakologie wird zwischen Testsubstanzen unterschieden, die *In-vitro*, also in Laborexperimenten verwendet werden, um z.B. an einer Zellkultur oder einem Gewebehomogenat Eigenschaften zu messen (*In-vitro*-Testsubstanz) und Testsubstanzen, die am lebenden Organismus eingesetzt werden können, um am Organismus biologische Eigenschaften zu messen (*In-vivo*-Testsubstanzen, bzw. *In-vivo*-Diagnostika). In der Humanpharmakologie liegt einer der Schwerpunkte bei der Charakterisierung von Enzymen, die im Arzneimittelstoffwechsel eine Rolle spielen. Es handelt sich meistens um CYP-Enzyme, die für den Metabolismus von mehr als 90 % der Medikamente verantwortlich sind (CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6 und 3A). In manchen Fällen werden Testsubstanzen auch zur Erklärung der Pathogenese bestimmter Erkrankungen und zur Bestimmung der Nierenfunktion eingesetzt. *In-vivo*-Testsubstanzen sollten zugelassen, sicher und gut verträglich sein (Oswald et al. 2011). Die Dosis der Substanzen sollte für die Sicherheit des Empfängers so niedrig wie möglich gewählt werden. Allerdings muss gewährleistet sein, dass die Konzentrationen des Stoffes und dessen Metaboliten ausreichend hoch für die Analytik sind. Beachtet werden muss auch, dass bei der Strategie der kleinsten nötigen Dosis, sensitivere und spezifischere Methoden benötigt werden und damit die Kosten für die Analytik

steigen. Außerdem ist auf eine gegenwärtige und zukünftige Verfügbarkeit der verwendeten Substanzen zu achten. Grundsätzlich werden zwei Prinzipien bei der Anwendung von Testsubstanzen beschrieben. Zum einen können Testsubstanzen als Einzeldosis verabreicht werden, zum anderen als „Cocktail“ (Yin et al. 2004; Zhou et al. 2004; Liu et al. 2009). Da auch in dieser Studie mehrere Arzneimittel verabreicht wurden, wird hier auf die Anwendung eines „Cocktails“ näher eingegangen. Das Einsetzen mehrere Substanzen in einer Studie wurde erstmals 1988 von Breimer und Schellens beschrieben. Diese Methode etablierte sich immer mehr und es wurden fortlaufend mehr sinnvolle Arzneimittelkonstellationen dargestellt. Der „Pittsburgh Cocktail“, der „GW Cocktail“, der „Cooperstown Cocktail“ und der „Karolinska Cocktail“ sind heute die Bekanntesten (Stewart et al. 2011). Je nach Untersuchungsziel können zwei bis sechs verschiedene Medikamente eingesetzt werden. Durch diese Methode können mehrere Enzyme bzw. andere Phänotypen in einer Studie getestet werden, vermeidet intraindividuelle zeitliche Variabilitäten und spart Kosten und auch den Versuchsteilnehmern zusätzliche Unannehmlichkeiten. Sehr effektiv ist diese Methode auch zur Charakterisierung des Induktion- und Inhibitionspotentials der Arzneimittel auf die verschiedenen Enzyme und zur Analyse von Interaktionen unter den Substanzen. Da es immer mehr ältere und damit multimorbide Menschen gibt, nehmen diese oft mehrere Medikamente zur gleichen Zeit ein, sodass vor allem da dieser Aspekt von großer Bedeutung ist (Turpault et al. 2009). Die eingesetzten probe drugs sollten bei gleichzeitiger Charakterisierung mehrerer Enzyme und Transporter eine Spezifität zu dem untersuchenden Protein (Transporter, Enzym, etc.) haben und sich nicht gegenseitig beeinflussen bzw. metabolisch oder klinisch interagieren (Zhou et al. 2004). Zudem müssen bei bestimmten Arzneimitteln (z.B. Coffein) auch die äußeren Faktoren bedacht werden (Larsen et al. 1999). Festzuhalten ist, dass bei Beachtung wichtiger Vorgehensweisen die „Cocktail-Methode“ eine effektive Methode zur Beurteilung pharmakologischer Aspekte darstellt. Die folgende Tabelle zeigt den in dieser Studie verwendeten „Cocktail“ mit den dazugehörigen untersuchten Strukturen.

Tabelle 8: verwendete Arzneimittel und untersuchte Transporter und Enzyme

Probe drug	untersuchte Transporter	untersuchte Enzyme
Coffein		CYP1A2, NAT2
Metoprolol		CYP2D6
Midazolam		CYP3A4, CYP3A5
Talinolol	MDR1, MRP2	
Torasemid	OATP1B1 (= OATP-C)	CYP2C9

Da in dieser Arbeit nur die pharmakokinetischen und pharmakogenetischen Daten von Talinolol analysiert werden, sind Besonderheiten bei der Verwendung als probe drug im nächsten Kapitel aufgegriffen.

1.2.3 Talinolol als Testsubstanz/probe drug

Talinolol wird sehr häufig als Testsubstanz eingesetzt, vor allem zur Untersuchung des MDR1-Transporters. Da es nahezu nicht metabolisiert und unverändert wieder ausgeschieden wird, hängt dessen Bioverfügbarkeit stark von der Funktion und Expression seiner Transporter ab. Talinolol wird hauptsächlich von MDR1 (P-Glykoprotein) und MRP2 transportiert, sodass diese in den vorherigen und auch in dieser Studie mit dessen Hilfe untersucht wurden. Es eignet sich dafür besonders, da es bisher die einzige Substanz ist, bei der eine signifikante Sekretion (durch MDR1 und MRP2) in das Darmlumen beschrieben wurde (Zschiesche et al. 2002).

Mit Hilfe der Transporterselektivität von Talinolol ist es gelungen, Polymorphismen mit funktionellen Konsequenzen für die Transporter MDR1 und MRP2 zu finden und zu charakterisieren (Siegmond et al. 2002; Haenisch et al. 2008).

Außerdem können durch die Beobachtung des Plasmaspiegelverlaufs des Beta-Blockers verschiedene Arzneimittel und Substanzen ermittelt werden, die zu einer Hemmung bzw. Induktion des MDR1-Transporters führen (Siegmond et al. 2002). Beispielsweise führt Johanniskraut zu einer erhöhten MDR1-Expressivität, was zu einer Verminderung der oralen Bioverfügbarkeit von Talinolol führt. Das Ausmaß, wie stark der Transporter von verschiedenen Substanzen beeinflusst werden kann, ist auch Genotyp abhängig. Schwarz et al. beschreiben eine abgeschwächte induktive Wirkung von Johanniskraut beim Vorhandensein einer bestimmten Genotypkombination (1236C>T, 2677G>T/A

und 3435C>T) (Schwarz et al. 2007). In vielen weiteren Studien konnten Veränderungen der oralen Bioverfügbarkeit von Talinolol auf die Gabe von MDR1 oder MRP2 Induktoren oder Inhibitoren zurückgeführt werden (Giessmann et al. 2004; Pathak und Udupa 2010). Aufgrund der geringfügigen Metabolisierung von Talinolol ist es besonders geeignet zusammen mit anderen Arzneimitteln als „Cocktail“ verabreicht zu werden, da es den Stoffwechsel zeitgleich verabreichter Medikamente nicht relevant beeinflusst.

1.3 Untersuchungskonzepte und Studiendesigns in der Pharmakogenetischen Forschung

Die Pharmakogenetik beschäftigt sich mit der interindividuellen Variabilität bezüglich Wirkung und Nebenwirkung eines Arzneimittels. Als mittlerweile unverzichtbares Forschungsgebiet dient es dem Ziel einer individualisierten Arzneimitteltherapie. Da sehr viele verschiedene Faktoren Einfluss auf interindividuelle Variation haben, ist es schwierig, ein perfektes Untersuchungskonzept zu entwickeln. Als methodisch geeignet haben sich Zwillings- und Familienstudien herauskristallisiert, auf die im Folgenden näher eingegangen wird.

1.3.1 Zwillingsstudien

Zwillingsstudien werden eingesetzt, um den Einfluss von Umweltfaktoren und von Genen auf die Entwicklung des Menschen, seinen interindividuellen Unterschieden und die Pathogenese verschiedener Erkrankungen zu erforschen. Die Anfänge der Zwillingsstudien liegen im 19. Jahrhundert. Galton zählt zu den ersten Forschern, die sich mit Zwillingen auseinandersetzten. Den Unterschied zwischen monozygoten (MZ) und dizygoten (DZ) Zwillingen kannte man damals allerdings noch nicht. Die erste systematische Analyse bezüglich Ähnlichkeiten zwischen mono- und dizygoten Zwillingen machte der Dermatologe Siemens. Er verglich die Anzahl der Pigmentnävi zwischen MZ- und DZ- Zwillingen und stellte eine erhöhte Konkordanz zwischen den monozygoten im Vergleich zu den dizygoten Zwillingen fest. Dadurch zeigte er, wie wichtig der Einfluss genetischer Faktoren auf phänotypische Ausprägungen ist (Boomsma et al. 2002).

In klassischen Zwillingsstudien werden monozygote mit dizygoten Zwillingen verglichen. Monozygote Zwillinge stammen von *einer* befruchteten Eizelle und haben ein identisches Erbgut. Dizygoten Zwillinge dagegen sind nur zu 50 % identisch, so wie es normale Geschwister auch sind. Der Unterschied zwischen dizygoten Zwillingen und normalen Geschwistern liegt jedoch im Einfluss der Umweltfaktoren. Da Zwillinge zur selben Zeit in derselben Familie aufwachsen, haben sie den größten Teil ihrer Umweltfaktoren gemeinsam. Geschwister wachsen zwar auch in derselben Familie auf, sind aber trotzdem teilweise und mehr als Zwillinge anderen Umweltfaktoren ausgesetzt, da sie nicht in derselben Zeit aufwachsen (Vesell 1989; Boomsma et al. 2002).

Ein bedeutender Wissenschaftler in der pharmakogenetischen Forschung in den letzten Jahrzehnten war Elliot S. Vesell. Er führte sehr viele Studien durch, die sich mit den interindividuell unterschiedlichen pharmakogenetischen Aspekten eines Arzneimittels beschäftigten. Der Studienablauf war ähnlich zu der in dieser Arbeit beschriebenen Studie. Er verglich nach der Gabe eines Arzneistoffes dessen Konzentration im Plasma von mono- und dizygoten Zwillingen. Die grundsätzlichen Überlegungen zur Forschung an monozygoten und dizygoten Zwillingen lassen sich in einer Formel darstellen, mit der eine Aussage zum Einfluss von Umwelt und Genen getroffen werden kann:

$$(\sigma^2_{DZ} - \sigma^2_{MZ})/\sigma^2_{DZ}$$

σ^2_{DZ} = Varianz von innerhalb in der Studie untersuchten dizygoten Zwillingen

σ^2_{MZ} = Varianz von innerhalb in der Studie untersuchten monozygoten Zwillingen

Die Varianz σ^2 wurde wie folgt berechnet:

$$[\sum (\text{Unterschiede zwischen den Zwillingen})^2] / 2n$$

Wobei n für die Zahl der Zwillingspaare steht.

Die Formel $(\sigma^2_{DZ} - \sigma^2_{MZ})/\sigma^2_{DZ}$ erlaubt ein Ergebnis im Bereich zwischen 0 und 1. Je näher ein Wert sich der 1 nähert, desto größer ist der erbliche Einfluss. Folglich spre-

chen Resultate die gegen 0 gehen für einen größeren Einfluss von Umweltfaktoren. Das heißt je größer die Unterschiede in einer Kohorte MZ-Zwillinge sind, desto mehr Umweltfaktoren spielen bei der phänotypischen Ausprägung eine Rolle. Andersherum besteht ein größerer genetischer Einfluss, wenn MZ-Zwillinge eine größere Ähnlichkeit in der Pharmakokinetik zeigen, als DZ-Zwillinge (Vesell 1989).

Auf diese Art und Weise testet er eine Vielzahl von Arzneimitteln, wie zum Beispiel 1967 Phenylbutazon oder 1968 Antipyrine (Vesell und Page 1968b; Vesell und Page 1968a). Mit diesen Studien konnte gezeigt werden, welcher großen Einfluss genetische Faktoren für viele pharmakokinetische Variationen haben.

Aber auch einige kritische Punkte beim Einsatz von Zwillingsstudien sind zu betrachten. Man geht beim Vergleich von MZ- und DZ-Zwillingen davon aus, dass für beide die Umweltbedingungen gleich sind. Doch es ist bekannt, dass eineiige Zwillinge dazu neigen, sich ähnlicher zu verhalten als zweieiige Zwillinge (z.B. bezüglich Kleidung, Ernährung und Kosmetik). Dies könnte am ähnlicheren Einfluss der Eltern auf die Geschwister eines MZ-Paares im Vergleich zum Einfluss der Eltern auf DZ-Paare zurückzuführen sein. Daher könnte der genetische Beitrag zur phänotypischen Ausprägung überschätzt werden. Ein weiteres Problem ist der Einsatz von Zwillingsstudien zur Erforschung von Ursachen gewisser Erkrankungen, wie z.B. dem Down Syndrom. Denn sowohl das Vorkommen der Erkrankung als auch die Zwillingsgeburtenrate steigt mit dem Alter der Mutter, sodass weitere Faktoren hinzugezogen werden müssen, um genaue Korrelationen feststellen zu können (Vesell 1989). Neben den klassischen Zwillingsstudien gibt es noch weitere Studiendesigns mit Zwillingen, wie z.B. die Untersuchung von Zwillingen, die nicht in der gleichen Familie aufgewachsen sind (adoptierte Zwillinge). Hier besteht eine genetische Verbindung, jedoch sind ihre Umweltfaktoren unabhängig. Dadurch lassen sich auch in diesem Studiendesign Aussagen über den Einfluss von Umwelt und Genen auf die menschliche Variabilität machen (Boomsma et al. 2002).

Insgesamt ist festzustellen, dass Zwillingsstudien ein wichtiger und unverzichtbarer Bestandteil der pharmakogenetischen und ätiologischen Forschung sind, um interindividuelle Variationen erklären zu können.

1.3.2 Familienstudien

Familienstudien werden nicht eingesetzt, um herauszufinden, ob ein genetischer Zusammenhang zu bestimmten Variationen besteht, sondern sie schließen sich an Zwillingsstudien an, die einen genetischen Zusammenhang schon nachgewiesen haben. Sie haben das Ziel die Art der Vererbung nach Mendel zu identifizieren. Schon früh wurden Familienstudien eingesetzt, um die Vererbungsart interindividueller Variationen im Metabolismus verschiedener Arzneimittel herauszufinden (Vesell 1991).

Auch Familienstudien sind unersetzlich in der Erforschung genetisch interindividueller Unterschiede.

1.4 Aufgabenstellung

Das Ziel dieser Studie ist es der personalisierten Medizin, bei der für jeden Patienten für die entsprechende Erkrankung das optimale Arzneimittel in der optimalen Dosierung gewählt wird, einen Schritt näher zu kommen.

Dazu ist es notwendig zu wissen, wie viel der Unterschiede in der Wirkung von Arzneimitteln auf genetische Variation zurückzuführen ist. Um das herauszufinden eignen sich besonders Zwillingsstudien, in denen man monozygote und dizygote Zwillinge vergleicht. In unserer Studie sollen die In-vivo-Aktivitäten von MDR1 und MRP2 mit Hilfe der Testsubstanz Talinolol bestimmt und anschließend unter den Zwillingen verglichen werden. Der Vergleich erfolgte über die gemessenen Blutkonzentrationen und ermittelten pharmakokinetischen Parameter. Die Studie teilt sich in 3 identisch durchgeführte Studientage, sodass sowohl ein Vergleich zwischen den Zwillingen aber auch ein Vergleich der Werte von einer Person an den unterschiedlichen Studientagen erfolgen konnte. Somit lässt sich eine Aussage über den Einfluss von Genen auf die Aktivität der Membran-Transportproteine treffen. Wenn in ausreichend vielen Studien belegt wird, dass der genetische Einfluss eine große Rolle im Arzneimittelstoffwechsel spielt, so muss man im nächsten Schritt wissen, welche genauen Polymorphismen mit welcher Transporteraktivität einhergehen. Dazu gibt es bereits einige Studien, die aber bisher nur wenige Polymorphismen beschrieben haben,

die einen signifikanten Effekt auf die Aktivitäten von MDR1 und MRP2 haben. Unsere Studie soll zusätzlich in Ergänzung zu den anderen Studien die Auswirkungen der bei uns gefundenen Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von Talinolol, als In-vivo-Testsubstanz, und somit auf die Aktivität von MDR1 und MRP2 beschreiben.

Zusammenfassend hat unsere Studie die Aufgabe zum einen zu untersuchen wie groß der genetische Einfluss auf die Variation in der Pharmakokinetik der In-vivo-Testsubstanz Talinolol ist und zum anderen den Einfluss von verschiedenen gefundenen Polymorphismen auf die Aktivität der Membran-Transportproteinen MDR1 und MRP2 zu beschreiben.

2 Methoden

2.1 Konzept der klinischen Studie

Um erbliche Einflüsse auf die Wirkweise von Medikamenten zu untersuchen, eignet sich am besten die Durchführung einer Zwillingsstudie. Auf diese Weise kann festgestellt werden, wie hoch der Einfluss von Umwelt, Lebensgewohnheiten und erblichen Faktoren auf die Wirkung eines Medikamentes ist.

Bei der durchgeführten Zwillingsstudie handelte es sich um eine offene, nicht randomisierte, pharmakokinetische und pharmakogenetische Arzneimittelstudie.

Den Probanden wurden in festgelegten Abständen folgende fünf Medikamente verabreicht:

Tabelle 9: Studienmedikation

Substanz	Handelsname	Dosis	Art der Gabe
Talinolol	Cordanum 50mg	50 mg	p.o.
Caffeine	Percoffedrinol N	50 mg	p.o.
Metoprolol	Beloc i.v.	5 mg	i.v.
Torasemid	Torem 200 Infusionslösung	2,5 mg	i.v.
Midazolam	Dormicum V 5mg/5ml	0,2 mg	i.v.

Bei der Wahl der Medikamente wurde darauf geachtet, dass diese sich nicht gegenseitig beeinflussen und nicht über den gleichen Weg verstoffwechselt werden.

Mit Hilfe der Blut- und Urinkonzentrationen des Medikaments kann auf die Aktivität der entsprechenden Enzyme und Transporter geschlossen werden.

Die Konzentration von Midazolam im Blut gibt Hinweise auf die Aktivität von CYP3A4 und CYP3A5, die Konzentration von Torasemid auf die Aktivität von CYP2C9 und den Transporter OATP1B1, die Konzentration von Metoprolol auf die Aktivität von CYP2D6, die Konzentration von Coffein auf die Aktivität von CYP1A2 und NAT2 und die Konzentration von Talinolol im Blut gibt Hinweise auf die Aktivität der Transporter MDR1 und MRP2.

Das allgemeine Konzept der Studie ist in folgender Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 10: Studienkonzept

Geplante Anzahl an Probanden	120 gesunde Freiwillige (Zwillinge); 30 monozygote (MZ) und 30 dizygote (DZ) Zwillingspärchen
Geplante Anzahl an Studieneinrichtungen	Eine Studieneinrichtung, Institut für Klinische Pharmakologie der Universitätsmedizin Göttingen
Arbeitsvorgehen	Alle Probanden erhalten die gleiche Arzneimittelkombination
Grad der Verblindung	Offene, nicht verblindete Studie
Studiendesign	Prinzip der wiederholten Medikamentengabe
Andere wichtige Gesichtspunkte	Zwillingstudie zur Analyse der Erbllichkeit von pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Aspekten

2.2 Details der klinischen Studie

2.2.1 Probanden

Mögliche Studienteilnehmer waren gesunde monozygote oder dizygote gleichgeschlechtliche Zwillinge im Alter zwischen 18 und 65 Jahren. Voraussetzung für beide Zwillinge war ein BMI zwischen 18 kg/m² und 33 kg/m² und ein Körpergewicht zwischen 50 kg und 120 kg. Raucher wurden nur dann eingeschlossen, wenn die Rauchgewohnheiten des einen Zwillingen den Gewohnheiten des Anderen entsprachen (+/- 10 Zigaretten).

Zwingend notwendig bei weiblichen Probanden waren ein negativer Schwangerschaftstest und die Bereitschaft, während der Studie sichere Verhütungsmethoden zu verwenden. Zwischen Blut-, Plasma-, und Thrombozytenspende, Impfungen sowie einer Teilnahme an einer anderen klinischen Studie und der Zwillingstudie durften nicht weniger als 30 Tage vergangen sein.

Eindeutige Ausschlusskriterien waren Erkrankungen an Leber, Niere, Herz und Lunge (z.B. Asthma), insbesondere wenn die Gabe der Medikamente für diese Erkrankungen kontraindiziert war. Ein bekanntes Raynaud Syndrom führte zum Ausschluss der Probanden.

Probanden mit Überempfindlichkeitsreaktionen oder anaphylaktischen Ereignissen in der Vorgeschichte konnten nicht an der Studie teilnehmen, insbesondere wenn sich die allergische Reaktion auf ein Medikament bezogen hat.

Eingeschlossen werden konnten nur Zwillinge ohne chronische Erkrankungen (HIV, Hepatitis B oder Hepatitis C) und ohne Suchterkrankungen. Die Einnahme von Medikamenten mit Ausnahme von oralen Kontrazeptiva wurde nicht gestattet.

Eine wichtige Voraussetzung war die Kooperation der Probanden mit dem Studienpersonal und die strikte Einhaltung der Anweisungen.

Bevor die Studie begonnen werden konnte, waren ein ausführliches Vorgespräch und die Aufklärung von einem Studienarzt und eine schriftliche Einverständniserklärung beider Probanden notwendig.

Tabelle 11: Zusammenfassung der Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien
Vorliegen der schriftlichen Einverständniserklärung
Alter zwischen 18 und 65 Jahren
Gewicht 50 - 120 kg und BMI 18-33 kg/m²
Rauchgewohnheiten ähnlich des Zwillingspartners (+/- 10/d)
Keine pathologischen Untersuchungsergebnisse
Bei zweieiigen Zwillingspaaren: Gleichgeschlechtlichkeit
Bei Frauen: Negativer Schwangerschaftstest und Bereitschaft während der Studie zu verhüten
Keine Ausschlusskriterien laut Anamnese

Ausschlusskriterien
Teilnahme an einer klinischen Prüfung innerhalb der letzten 30d
Blutspende innerhalb der letzten 30 d
Schwangerschaft oder Stillzeit
Akute Erkrankungen oder Fieber >37.5 °C
Störungen der Leber- und/oder Nierenfunktion
Infektion der Nieren und/oder ableitenden Harnwege
Herzerkrankungen als Kontraindikationen für Betablocker
Chronische Erkrankungen (Hepatitis B, Hepatitis C, HIV)

Ausschlusskriterien
Größere gastro-intestinale Operationen und Erkrankungen
Bekanntes Raynaud Syndrom
Laborwerte außerhalb der Norm
Regelmäßige Medikamenteneinnahme (außer Pille)
Suchterkrankungen (z.B. Alkohol, Drogen, Medikamente)
Bekannte Arzneimittelallergie
Befund, der nach Ansicht des Personals Ablauf oder Ergebnis der Studie beeinträchtigen würde

2.2.2 Vorgespräch/Aufklärungsgespräch

Bevor sich die Probanden für die Teilnahme an der Studie entschlossen haben, fand ein ausführliches Vorgespräch statt, welches von einem Prüfarzt durchgeführt wurde. Inhalt des Gesprächs waren der Ablauf, Intention und Ziel der Studie, Informationen zu den eingesetzten Medikamenten mit den entsprechenden möglichen Nebenwirkungen und die Aufklärung über die Ernährungsvorschriften während der Studie. Nach Klärung offen gebliebener Fragen und dem Entschluss an der Studie teilzunehmen, wurde den Probanden die Probandeninformation, eine Kopie von der unterschriebenen Datenschutzerklärung und Probandeneinverständniserklärung, eine Kopie von der Einwilligung zur Aufnahme in die Probandenkartei und die Ernährungsvorschriften ausgehändigt.

Um den Probanden Bedenkzeit zur Studieneinwilligung zu geben, wurde zwischen Vorgespräch und Einwilligung der Probanden ein ausreichender Zeitraum gewährleistet.

Um das medizinische Screening durchführen zu können, waren folgende unterschriebenen Unterlagen notwendig: Datenschutzerklärung, Probandeneinverständniserklärung und ausgefüllter Ernährungsfragebogen.

2.2.3 Medizinisches Screening

Bei allen Zwillingen, die nach Vorgespräch und Einwilligung als Probanden in Frage kamen, wurde eine ausführliche Anamnese und Voruntersuchung durchgeführt.

Besonderes Augenmerk bei der Anamnese wurde auf Allergien, Leber- und Nierenerkrankungen gelegt. Ziel war es jedoch alle relevanten Erkrankungen und Ereignisse in der Vorgeschichte zu erfassen. Wichtig waren auch die Fragen nach der Einnahme von Medikamenten und das Vorliegen einer Suchterkrankung. Anschließend wurde bei den Probanden Lunge und Herz abgehört, Abdomen palpirt, Blutdruck, Temperatur und Puls gemessen. Außerdem gehörte zum körperlichen Screening ein EKG, eine Blutentnahme und eine Urinuntersuchung einschließlich Drogentest und bei weiblichen Probanden ein Schwangerschaftstest. Der Rachen wurde inspiziert, die Lymphknoten und die Schilddrüse wurden abgetastet. Bei Auffälligkeiten in der Anamnese konnten weitere Untersuchungen ergänzt werden.

2.2.4 Ablauf der Studie

Wenn aus medizinischer Sicht keine Bedenken bestanden, an der Studie teilzunehmen und die Probanden die schriftliche Einverständniserklärung abgegeben hatten, erfolgte die ärztliche Freigabe zur Durchführung der Studientage.

Die Studie bestand aus drei Studienphasen mit je zwei Studientagen. Der Abstand zwischen Screening und 1. Studientag durfte nicht mehr als 42 Tage betragen.

Zwischen den einzelnen Studienphasen musste mindestens ein Zeitraum von einer Woche eingehalten werden.

Tabelle 12: Studienplan

Visite:	1	2	3	4	5	6	7
Zeit (in Tagen)	-14	1	2	7	8	14	15
Einwilligung	x						
Prüfung Ein- und Ausschlusskriterien	x	x		x		x	
Ernährungsfragebogen	x	(x)		(x)		(x)	
Krankengeschichte (1)	x						
Frage Begleitmedikation	x	x	x	x	x	x	x

Visite:	1	2	3	4	5	6	7
körperliche Untersuchung	x						
Vitalparameter		x	x	x	x	x	x
Monitoring		x		x		x	
EKG	x	x	x	x	x	x	x
Schwangerschaftstest (2)	x	x		x		x	
Urinanalyse (3)	x	x		x		x	
Drogentest (4)	x	(x)		(x)		(x)	
Klinische Chemie (5)	x						
Medikamentengabe		x		x		x	
Blutentnahmen		x	x	x	x	x	x
Pharmakogenetikprobe	x						
DNA-Blutprobe zur Genotypisierung	x	x		(x)		(x)	
Urinsammlung		x	x	x	x	x	x
Körpertemperatur	x	x	x	x	x	x	x
Atemalkohol	x	x	(x)	x	(x)	x	(x)
adverse event monitoring		x	x	x	x	x	x
Zahlung der Aufwandsentschädigung							x

- (1) Erkrankungen/Symptome, die beim ersten Besuch erkannt werden, werden als Krankengeschichte (*medical history*) und nicht als *adverse event* notiert.
- (2) bei Frauen im gebärfähigem Alter
- (3) Standard Urin Dip stick: pH, spezifisches Gewicht, Leukozyten, Nitrite, Proteine, Glukose, Ketone, Urobilinogen, Bilirubin, Erythrozyten
- (4) folgenden Substanzen wurden getestet: Amphetamine, Benzodiazepine, Kokain, Metamphetamine, Opioide und Cannabis
- (5) kleines Blutbild: Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten; + Kalium, Calcium, Natrium, Kreatinin, Gesamt-Bilirubin, AST

Zwei Wochen vor jeder Studienphase waren bestimmte Ernährungsvorschriften einzuhalten. Am 1. Studientag erschienen die Probanden nüchtern morgens um 7:00 Uhr auf der Station. Zunächst wurde ein kurzer Gesundheitscheck durchgeführt, der unter anderem die Ermittlung der Körpertemperatur, ein EKG, Blutdruck- und Pulsmessung beinhaltete. Auch die Ermittlung des Atemalkohols wurde routinemäßig durchgeführt.

Bevor der Studientag gestartet werden konnte musste noch eine Urinprobe zur Urinanalyse, bei Verdacht zur Durchführung eines Drogentests und bei weiblichen Probanden zur Durchführung eines Schwangerschaftstests, abgegeben werden.

Wenn aus medizinischer Sicht keine Bedenken zur Teilnahme am Studientag bestanden, wurden den Probanden jeweils zwei Venenverweilkanülen gelegt. Die erste Venenverweilkanüle wurde benutzt zur Applikation der i.v. Medikation, die zweite für die Blutentnahmen. Bevor die erste Medikation gegeben wurde, mussten die Probanden auf die Toilette gehen, um die Blase vollständig zu entleeren. Ab diesem Zeitpunkt begann die Urinsammlung in 3 Liter großen Urinkanistern.

Der erste Zwilling wurde an den Monitor angeschlossen und nach einer erneuten Prüfung der Vitalparameter wurde diesem das erste Medikament i.v. verabreicht. Mit dem zweiten Zwilling wurde zeitversetzt 10 Minuten später gestartet.

Den weiteren Ablauf der ersten Studienphase beschreiben die folgenden zwei Tabellen.

Tabelle 13: Ablauf der ersten Studienphase

Zeit (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	240	300	360	420	480	1440
Zeitpunkt	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Zeitfenster (min)	-	5	5	10	10	10	15	15	15	30	30	30	60	60	120
Ein/Ausschlusskriterien	x														
Frage nach Medikamenteneinnahmen	x														
Zeit (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	240	300	360	420	480	1440

Zeit (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	240	300	360	420	480	1440
Zeitpunkt	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Zeitfenster (min)	-	5	5	10	10	10	15	15	15	30	30	30	60	60	120
Talinolol (p.o.)									50						
									mg						
Blutentnahme	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
DNA-Blutprobe zur Genotypisierung	x														
adverse event monitoring	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Studienphase							Übersicht								

Die Gabe von Midazolam, Torasemid und Metoprolol erfolgte i.v., Coffein und Talinolol wurden in Tablettenform oral verabreicht. Um einer Hypoglykämie vorzubeugen, bekamen die Probanden eine Stunde nach Verabreichung von Talinolol Apfelsaft gereicht. Zwei Stunden nach der letzten Medikamentengabe durften die Probanden Essen zu sich nehmen.

Am Zeitpunkt 11 und Zeitpunkt 14 wurde der Sammelurin gewogen und anschließend Proben genommen (3x 10 ml Urinmonovetten). Diese wurden eingefroren und der Rest des Urins im Kanister verworfen.

Die Blutproben zur pharmakokinetischen Analyse, die an 15 verschiedenen Zeitpunkten abgenommen wurden, wurden zentrifugiert, das Serum vom Blutkuchen separiert und das Serum anschließend eingefroren.

Mit Zeitpunkt 14 endete der 1. Studientag, die Venenverweilkanülen wurden entfernt und die Probanden konnten die Probandenstation verlassen.

24 Stunden nach der ersten Medikamentengabe mussten sich die Zwillinge erneut zum Zeitpunkt 15 auf der Probandenstation zur Beendigung der ersten Studienphase einfinden. An diesem letzten Zeitpunkt wurden noch einmal die Vitalparameter bestimmt, die Körpertemperatur ermittelt und ein EKG geschrieben. Eine letzte Blutentnahme wurde durchgeführt und der Urinsammelkanister, in den die Probanden den ganzen Urin seit dem Zeitpunkt 14 gesammelt haben, abgegeben. Der Sammelurin wurde gewogen und anschließend nach dem gleichen Procedere wie am Vortag Proben entnommen.

Jegliche unerwünschte Ereignisse, die während der Studie stattfanden, wurden in einem AE (*adverse event*)- Bogen dokumentiert.

Die folgenden zwei Studienphasen liefen nach genau dem gleichen Schema ab.

Pro Studienphase und Proband betrug die abgenommene Blutmenge 116,1 ml. Insgesamt, nach drei Studienphasen, belief sich die abgenommene Blutmenge auf rund 350 ml. Das entspricht weniger als eine einmalige Blutspende.

2.2.5 Ernährungsvorschriften

Ab 2 Wochen vor der ersten Studienphase mussten sich die Probanden an folgende Ernährungsvorschriften halten.

Ab 2 Wochen vor Studienbeginn und während der gesamten Studie durften keine Chininhaltigen Erfrischungsgetränke aufgenommen werden.

Ab 1 Woche vor Studienbeginn durften die Rauchgewohnheiten nicht geändert werden und die Aufnahme von Grapefruitsaft, Kaffee, Schwarzem Tee, Cola (etc.) wurde untersagt.

Ab 24 Stunden vor jedem Studientag durften keine intensivierten Diätmaßnahmen mit dem Ziel einer Gewichtsabnahme parallel zur Studie durchgeführt werden. Außerdem waren intensive sportliche Aktivitäten zu untersagen. Die Einnahme von Arznei- oder Nahrungsergänzungsmitteln ohne vorherige Rücksprache mit dem Studienarzt war nicht erlaubt. Voraussetzung war, dass keine Drogen eingenommen wurden. Zudem war das Führen von Kraftfahrzeugen am Studientag bis 20 Stunden nach Arzneimittelgaben verboten.

Ab 8 Stunden vor jedem Studientag durften keine Nahrungsmittel mehr eingenommen werden, damit die Nüchternheit gewährleistet war.

2.2.6 Maßnahmen zur Sicherheit der Probanden

Alle Probanden waren durch eine Probandenversicherung abgesichert.

Durch das Studienhandy konnte das Personal 24 h am Tag erreicht werden, sodass auch bei Notfällen nachts ein Ansprechpartner vorhanden war.

Während der Studientage wurden die Probanden mit einem Monitor (Aufzeichnung von EKG und Puls) überwacht und in regelmäßigen Abständen der Blutdruck gemessen. Eine Notfallklingel lag immer am Bett bereit. Bei einer Sinusbradykardie (Puls < 50/min) wurde auf die Gabe von Beta-Blockern verzichtet. Während der Durchführung der Studientage musste immer ein Arzt anwesend sein. Notfallmedikation und ein Notfallwagen waren vorhanden.

2.2.7 Dokumentation und Datenschutz

Zur Anonymisierung bekam jeder Proband eine Zahl zugeordnet, beginnend bei 1. Zur Unterscheidung der Zwillinge wurden diesen die Buchstaben A und B zugeordnet und zusätzlich Initialen vergeben, die jeweils aus den Anfangsbuchstaben von Vor- und Nachnamen bestanden. Mit Hilfe des „Studiencodes“ (z.B. 01A/01B) war immer eine eindeutige Identifikation des Probanden durch das Studienpersonal gegeben.

Aus Datenschutzgründen durften nie der vollständige Name und der Studiencode zusammen in einem Dokument abgelegt sein.

Alle Studien bezogenen Interventionen wurden in einem CRF (*case report form*) dokumentiert. Für jeden Probanden wurde ein CRF angelegt, der nur durch den Code den verschiedenen Probanden zugeordnet werden konnte.

Alle unerwünschten Ereignisse, die nach Einschluss in die Studie bis Abschluss der Studie auftraten, wurden als AE (*adverse event*) oder als SAE (*serious adverse event*) erfasst.

Ein Adverse event ist die Entwicklung eines unerwünschten medizinischen Zustandes oder eine Verschlechterung des Zustandes nach oder während der Gabe eines Arzneimittels, egal ob ein kausaler Zusammenhang zwischen Ereignis und der Applikation besteht. Ein unerwünschtes Ereignis kann ein Symptom, ein medizinischer Messparameter (z.B. Tachykardie im EKG) oder pathologische Untersuchungsergebnisse sein (z.B. Laborwerte).

Bei jedem Besuch wurden AEs erfragt und notiert. Für die Dokumentation mussten Startdatum, Enddatum, Intensität (mild, moderat, schwer), Dauer, Interventionen, Arzneimittelaufnahme (Arzneimittelbogen) und der Kausalzusammenhang (Zusammenhang zwischen

Ereignis und Arzneimittelgabe (sicher, wahrscheinlich, möglich, ausgeschlossen, nicht beurteilbar)) erfasst werden.

Ein *serious adverse event* (SAE) ist ein Ereignis, das mindestens eins der folgenden Kriterien erfüllt: zum Tode führt, lebensbedrohlich ist, zur Krankenhauseinweisung führt oder einen Krankenhausaufenthalt verlängert, zur persistierenden oder signifikanten Arbeitsunfähigkeit oder Behinderung führt, zu einer Fehlgeburt führt, ein wichtiges medizinisches Ereignis, das den Probanden gefährdet oder eine Intervention nötig wird, um die vorher beschriebenen Kriterien zu verhindern. Alle SAEs mussten innerhalb 24 Stunden der Studienleitung und dem Sponsor mitgeteilt werden. Des Weiteren wurden die Ethikkommission und das BfArM informiert.

2.2.8 Rechte der Probanden

Jeder Proband hatte das Recht, die Studie jederzeit ohne Begründung abzubrechen. Außerdem mussten ihm bei Bedarf alle Ergebnisse der Voruntersuchung vollständig mitgeteilt und eine Kopie dieser ausgestellt werden. Bei Abbruch der Studie wurde den Probanden der bis dahin geleistete Aufwand entschädigt.

2.3 Definition und Berechnung pharmakokinetischer Parameter

2.3.1 Bioverfügbarkeit

Unter Bioverfügbarkeit versteht man die Menge eines Arzneimittels, die nach extravasaler Applikation im systemischen Kreislauf verfügbar ist. Sie wird unter anderem durch die unvollständige Resorption im Darm und den First-Pass-Metabolismus in der Leber vermindert (präsystemische Elimination).

2.3.1.1 Bioverfügbarkeit und AUC (*area under the curve*)

AUC bezeichnet die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve. Sie ist proportional zu der Menge eines Arzneimittels, die in den Blutkreislauf gelangt und somit proportional zur bioverfügbaren Menge des Arzneimittels. Entspricht die AUC bei i.v.-Gabe der AUC bei oraler Gabe, so beträgt die orale Bioverfügbarkeit 100 %.

$$F = \text{AUC}_{\text{oral}} / \text{AUC}_{\text{intravenös}} \quad (F = \text{Bioverfügbarkeit})$$

Bei der Berechnung der AUC werden zwei unterschiedliche Messmethoden angewandt. AUC_{last} beschreibt die Fläche unter der Kurve bis zur letzten quantifizierbaren Konzentration. AUC_{inf} ist die Fläche unter der Kurve mit Exploration nach unendlich.

Zusätzlich lässt sich die AUC in partielle Bereiche aufteilen. Aufgrund des Konzentrationsverlaufes von Talinolol erschien es sinnvoll, in dieser Arbeit die partiellen AUC 0-360 Minuten und AUC 0-720 Minuten zu berechnen.

Zur Berechnung der AUC in dieser Arbeit wurde mittels der log-linearen Trapezregel die Fläche bis zur letzten Messung bestimmt. Es erfolgte also bis zu C_{\max} eine lineare und darauf folgend bis zum letzten Messzeitpunkt eine logarithmische Interpolation. Anschließend wurde die Restfläche vom letzten Messzeitpunkt an entsprechend dem Konzentrationsabfall der letzten drei bis fünf gemessenen Konzentrationen gegen unendlich (*infinity*) extrapoliert (AUC_{0-inf}). Alternativ kann auch lediglich die AUC bis zur letzten gemessenen Konzentration angegeben werden (AUC_{last}) (Matthaei 2014).

2.3.2 Clearance – CL

Die Gesamtplasmaclearance, gibt die Menge Plasma an, die pro Zeiteinheit von einem bestimmten Stoff befreit wird. Dies geschieht durch Ausscheidung des Stoffes vor allem über die Nieren und die Leber. Somit errechnet sich die Gesamtclearance aus Summe von renaler und hepatischer Clearance.

$$Cl_{\text{tot}} = Cl_{\text{ren}} + Cl_{\text{hepatisch}}$$

Die Gesamtclearance lässt sich aus dem Quotienten von Dosis (D) und AUC errechnen.

$$Cl_{\text{tot}} = D / AUC$$

2.3.3 Verteilungsvolumen- V

Das Verteilungsvolumen gibt die Menge an Flüssigkeit an, welche benötigt werden würde, um das gesamte Arzneimittel soweit aufzulösen, um dieselbe Konzentration zu erhalten, die im Plasma vorhanden ist. Es stellt somit eine Verbindung zwischen der verabreichten Dosis (D) und der Plasmakonzentration (c) des Arzneimittels her.

$c = D / V$ oder umgestellt

$V = D / c$

2.3.4 Halbwertszeit

Unter der Halbwertszeit versteht man die Zeit, in der sich die Plasmakonzentration eines Arzneimittels halbiert und somit zur Hälfte aus dem Körper eliminiert ist.

Diese Eliminationshalbwertszeit ist abhängig vom Verteilungsvolumen und der Clearance.

Es ergibt sich folgende Gleichung, wobei $\ln 2$ ungefähr 0,693 beträgt.

$$t_{1/2} = \ln 2 \times V / Cl$$

2.3.5 Maximale Plasmakonzentration - c_{\max}

Die maximale Plasmakonzentration beschreibt die höchste Konzentration, die das Arzneimittel im Plasma erreicht. Der Zeitpunkt, an dem die maximale Plasmakonzentration erreicht wird, wird als t_{\max} bezeichnet.

2.3.6 Mean residence time – MRT

MRT beschreibt die mittlere Verweildauer eines Partikels (z.B. Arzneimittels) im Körper.

2.3.7 Extrapolationen

Die Extrapolationen sind auf zwei verschiedenen Wegen möglich. Zum einen kann bis zur letzten tatsächlich gemessenen Größe extrapoliert werden (*observed*), zum anderen kann mit Hilfe der letzten tatsächlich gemessenen Werte ein erwarteter Wert errechnet werden, bis zu dem extrapoliert wird (*predicted*). Da mit dem letzteren Verfahren genauere Werte erreicht werden können, sind auch diese in dieser Arbeit verwendet worden.

2.4 Analysemethoden für Talinolol-Konzentration

Die Bestimmung der Plasmakonzentration von Talinolol erfolgte durch Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS-MS) am Dr. Margarete Fischer-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie in Stuttgart. Dazu wurde das Agilent 6460 Triple Quadrupole Massenspektrometer (Agilent, Waldbronn, Germany) gekoppelt an Agilent 1200 HPLC-System bestehend aus Degasser G1379B, binäre Pumpe G1312B, Wellplate Sampler G1367D und Säulentermostat G1316B verwendet. Um die Plasmakonzentrationen bestimmen zu können, mussten die Proben aufgearbeitet werden, indem zunächst 100 µl Plasma mit 10 µl der internen Standardarbeitslösung (Talinolol-d₅, Toronto Research Chemicals, Nr. T005002) versetzt wurden. Nach dem vortexen wurde das Gemisch 5 Minuten stehen gelassen. Es folgte eine Proteinfällung mit 200 µl Acetonitril mit anschließender 10 minütiger Zentrifugation bei 13000 U/min (Eppendorf Zentrifuge 5424). Der gesamte Überstand wurde in ein neues Eppendorf-Gefäß überführt und vollständig bei 37° C unter Stickstoff abgeblasen. Der Rückstand wurde in 50 µl Eluent aufgenommen und anschließend 5 Minuten bei 13000 U/min zentrifugiert. Schließlich wurden 40 µl des Überstandes in Wellplate umpipettiert und 10 µl für die LC-MS-MS-Messung verwendet. Die Trennung erfolgte mittels einer US6240 Säule (Modulo-cart QK Strategy 5 pro 100x2.1mm, Interchim). Die Detektion der Analyten erfolgte nach Elektro-Spray-Ionisation (electro spray ionisation). Eichgeraden werden aus den Kalibrierproben durch gewichtete (1/x) lineare Regression des Peakflächenverhältnisses Analyt / Interner Standard gegen das Konzentrationsverhältnis Analyt / Interner Standard erhalten. Die entsprechenden Deuterium-markierten Analoga der Analyten werden als interne Standards verwendet.

2.5 Analysenmethoden für Genvarianten

Zur Analyse von Genvarianten wurde jedem Probanden am ersten Studientag ein 2,7 ml-EDTA-Blutröhrchen abgenommen und bis zur Bearbeitung bei einer Temperatur von < -20 °C gelagert. Die Durchführung der Analysen erfolgte im Labor der Abteilung Klinische Pharmakologie der Universitätsmedizin Göttingen.

Durch die Bestimmung der Genvarianten, war auch die Feststellung des Zwillingsstatus möglich. Beim kompletten Übereinstimmen der Genvarianten lag Eineiigkeit vor, bei mindestens einer unterschiedlichen Genvariante zwischen den Zwillingspaaren lag Zweieiigkeit vor.

Zur Analyse der Genvarianten war zunächst die DNA-Extraktion notwendig. Sie erfolgte automatisch mit Hilfe des BioRobot EZ1 (Firma Qiagen). Dabei wurde der EZ1 DNA Blood Kit (Qiagen) verwendet, der auf Festphasenextraktion mit Hilfe von *Magnetic- Beads* basiert. Aus 350 µl Vollblut konnten dadurch 200 µl DNA-Lösung extrahiert werden. Die extrahierte DNA wurde anschließend mittels PCR (*polymerase chain reaction*; Polymerase-Kettenreaktion) amplifiziert. Anschließend wurden per DNA-Sequenzierung die Polymorphismen von MDR1 und MRP2 bestimmt, zu denen es aus der Literatur mindestens einen deutlichen Hinweis gab, dass diese einen Einfluss auf die Funktion des jeweiligen Transportproteins haben.

2.6 Statistische Methoden

Grundsätzlich gibt es in der statistischen Datenpräsentation und in der statistischen Analyse von metrischen Größen die so genannte parametrische und die nicht-parametrische Statistik. Die parametrische Statistik ist streng genommen nur dann anwendbar, wenn die Messwerte normalverteilt sind. Die Normalverteilung wird dann mit dem Mittelwert (MW) und der Standardabweichung (SD) beschrieben und die Frage, ob sich zwei Gruppen signifikant unterscheiden, wird mittels des t-Testes analysiert. Die Signifikanz von Unterschieden zwischen mehr als zwei Gruppen wird mittels der Varianzanalyse untersucht und eventuelle Korrelationen zwischen derartigen normalverteilten Größen werden mittels linearer Regressionsanalyse untersucht. Ein Vorteil der so genannten parametrischen Statistik ist, dass in dem Gebiet viele Verfahren auch für komplexe statistische Analysen gut etabliert sind, so auch die speziellen Verfahren zur Erblichkeitsanalyse.

Wenn die Messwerte nicht normalverteilt sind, was bei biologischen Größen oft der Fall ist, gibt es unterschiedliche Wege damit umzugehen. Eine nicht selten anzutreffende Praxis ist, über kleine Abweichungen von der Normalverteilung hinwegzusehen. Korrektere Verfahren wären die Transformation, zum Beispiel die Logarithmierung, wodurch oft die Verteilungen normalverteilt werden.

Die vielleicht beste Lösung der Präsentation von nicht normalverteilten Messwerten ist die so genannte nicht-parametrische Statistik. Dabei werden als Kenngrößen der Median (der Wert, der an mittlerer Stelle steht, wenn man die Werte der Größe nach sortiert), der Inter-Quartilenbereich (also bei 100 der Größe nach gereihten Messwerten der Bereich zwischen dem 25. und dem 75. Wert). Typische statistische Vergleiche in der

nichtparametrischen Analyse sind der U-Test für nicht verbundene (nicht miteinander zusammenhängende) Stichproben bzw. der Kruskal-Wallis-Test für mehr als 2 Gruppen.

2.6.1 Statistik für Erblichkeitsberechnungen

Die Erblichkeit kann nach der Formel von Falconer berechnet werden ($h_b^2 = 2(r_{mz} - r_{dz})$). Dazu werden die Korrelationen zwischen monozygoten und dizygoten Zwillingen herangezogen.

Eine weitere Möglichkeit, eine Aussage über die Erblichkeit zu treffen, hat Kalow beschrieben. Kalow ist der Auffassung, dass es möglich ist, durch die repetitive Gabe von Prüfsubstanzen und anschließendem Vergleich der Streuung innerhalb der Personen und zwischen den Personen Hinweise über die mögliche Erblichkeit zu gewinnen. Ein Maß für die Streuung beziehungsweise Variation ist die Standardabweichung und die Varianz.

Tabelle 14: verwendete Abkürzungen zur Herleitung der Formel

$$r_{GC} = \frac{SD_b^2 - SD_w^2}{SD_b^2}$$

Abkürzung	
SD_b	interindividuelle (<i>between</i>) Standardabweichung
SD_w	intraindividuelle (<i>within</i>) Standardabweichung
V_G	genetische Variation
V_E	Variation durch Umweltfaktoren (<i>environmental</i>)
V_M	Variation durch Messfehler

Die Varianz zwischen verschiedenen Personen kann man in der folgenden Gleichung darstellen:

$$SD_b^2 = V_G^2 + V_E^2 + V_M^2$$

Für die Varianz innerhalb von Personen ergibt sich somit entsprechend folgende Gleichung:

$$SD_w^2 = V_G^2 + V_E^2 + V_M^2$$

Da davon ausgegangen werden kann, dass bei repetitiven Gaben von Prüfstoffen der genetische Teil immer gleich bleibt, kann die obige Gleichung vereinfacht dargestellt werden als:

$$SD_w^2 = V_E^2 + V_M^2$$

Die genetische Determinante V_G^2 kann nun durch die Kombination der beiden obigen Gleichungen SD_w^2 und SD_b^2 bestimmt werden:

$$SD_b^2 - SD_w^2 = V_G^2$$

V_G^2 / SD_b^2 (entspricht $SD_b^2 - SD_w^2 / SD_b^2$) stellt das Maß für die Erblichkeit dar. Nach Kalow wird der ermittelte Wert aus dieser Gleichung als genetische Determinante (rGC) bezeichnet. Mit dieser Formel $rGC = SD_b^2 - SD_w^2 / SD_b^2$ lassen sich nun aus den ermittelten Standardabweichungen innerhalb der Personen und zwischen den Personen Hinweise auf mögliche Erblichkeit gewinnen (Kalow et al. 1998).

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchte Probandenstichprobe

Die untersuchte Probandenstichprobe bestand aus insgesamt 29 Zwillingspaaren, also 58 Personen. Davon waren 20 Paare eineiig und 9 Paare zweieiig. Verschiedene Merkmale wie Alter, Gewicht, Größe, BMI und Rauchgewohnheiten sind als Mittelwerte der gesamten Stichprobe und als Mittelwerte der ein- und zweieiigen Paare in folgender Tabelle dargestellt. Zudem zeigt die Tabelle die Geschlechterverteilung der untersuchten Probandenstichprobe.

Tabelle 15: Untersuchte Probandenstichprobe

	Total	M	W	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Größe (m)	BMI (kg/m ²)	Raucher aktuell
	n	n	n	MW (SD), darunter Bereich				n
Gesamt	58	26	32	24,1 (8,0) 18 - 56	68,5 (10,5) 53,5 - 94,4	1,74 (8,7) 1,57-1,95	22,5(2,6) 17,7-30,2	16
Eineiig	40	18	22	24,7 (8,6) 18 - 56	69,3 (11,3) 53,5 - 94,4	1,74(8,5) 1,57-1,93	22,8(2,5) 18,3-30,2	10
Zweieiig	18	8	10	22,9 (6,4) 18 - 36	66,7 (8,4) 55,9 - 81	1,73(9,4) 1,62-1,95	22,0(2,8) 17,7-27,9	6
*M männlich, W weiblich, MW Mittelwert, SD Standardabweichung								

Wie man aus der Tabelle sieht, unterschieden sich die mono- und dizygoten Zwillingspaare nicht wesentlich im Alter, Gewicht, Körpergröße und Body Mass Index.

3.2 Untersuchte bekannte Genvarianten in MDR1 und MRP2

In beiden Genen haben wir die Varianten analysiert, zu denen es aus der Literatur mindestens einen deutlichen Hinweis gab, dass diese einen Einfluss auf die Funktion des jeweiligen Transportproteins haben. In der folgenden Tabelle sind die jeweiligen Genvarianten der in dieser Arbeit betrachteten Zwillingspaare dargestellt. Die Homozygoten- und Heterozygotenfrequenz sind jeweils in Prozent angegeben.

Tabelle 16: Genvarianten in MDR1 und MRP2

Gen	rsNummer		wt/wt (C/C) n (%)	wt/var (C/T) n (%)	var/var (T/T) n (%)
MDR1	rs1045642	3435C>T	12 (20,7 %)	38 (65,5 %)	8 (13,8 %)
MDR1	rs1128503	1236C>T	18 (31 %)	29 (50 %)	11 (19 %)
Gen	rsNummer		wt/wt (G/G) n (%)	wt/var (G/A) n (%)	var/var (A/A) n (%)
MRP2	rs2273697	1249G>A	37 (63,8 %)	19 (32,8 %)	2 (3,4 %)
MRP2	rs717620	-24C>T	47 (81,1 %)	10 (17,2 %)	1 (1,7 %)

In der untersuchten Studienpopulation sind in der Genvariante 3435C>T 38 Personen und damit die meisten Probanden heterozygote Träger (C/T-Genotyp). Bei 12 Personen liegt der Wildtyp C/C vor, 8 Personen sind homozygote Träger des T/T-Genotyps. In der Genvariante 1236C>T sind ebenfalls die meisten Probanden (29 Personen) heterozygote Träger (C/T-Genotyp). Bei 18 Personen liegt der Wildtyp C/C vor, 11 Personen sind heterozygote Träger des T/T-Genotyps. Bei den beiden untersuchten Genvarianten im MRP2-Gen sind mit 63,8 % beim 1249G>A-Gen und 81,1 % beim -24C>T-Gen der Wildtyp (G/G-Genotyp) vorherrschend. Heterozygote Träger des A/A-Genotyp sind dagegen mit 3,4 % und 1,7 % sehr schwach vertreten.

3.3 Talinolol-Pharmakokinetik in der gesamten Stichprobe

3.3.1 Nicht-parametrische pharmakokinetische Auswertung

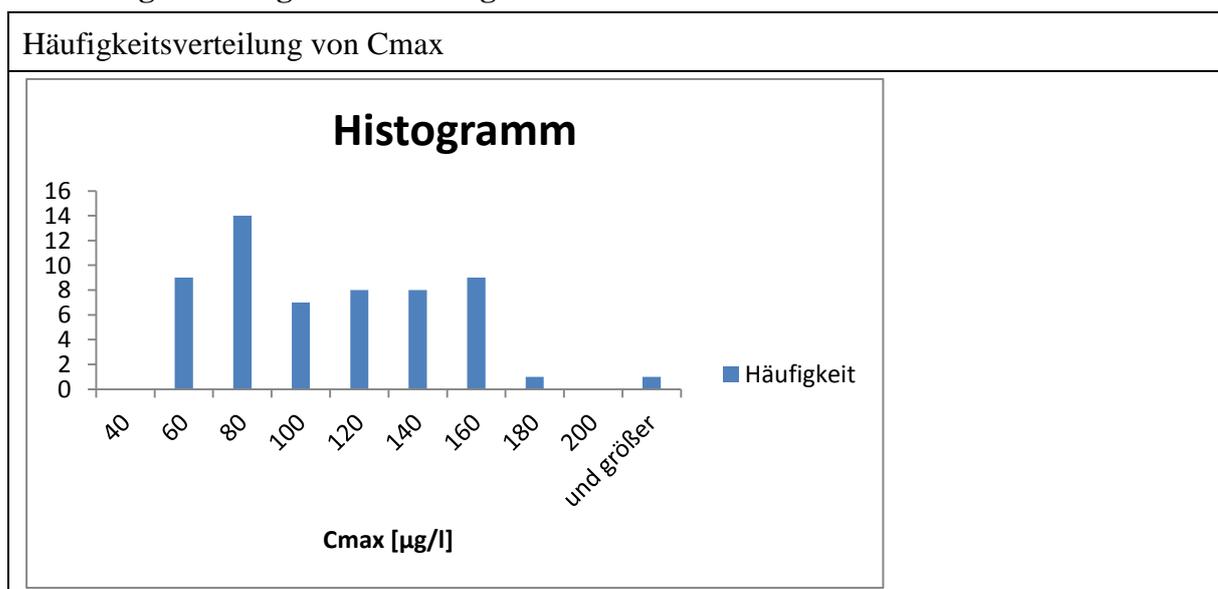
Aus den in der Studie ermittelten Blutkonzentrationen konnten verschiedene charakteristische Kenngrößen ermittelt werden. In der folgenden Tabelle sind diese Kenngrößen angegeben. Die Tabelle zeigt für jede Kenngröße den Median, die Interquartilenabstände, das Minimum, Maximum und den Quotienten aus Maximum und Minimum für die gesamte Stichprobe und ist somit repräsentativ für die Pharmakokinetik von Talinolol in dieser Stichprobe.

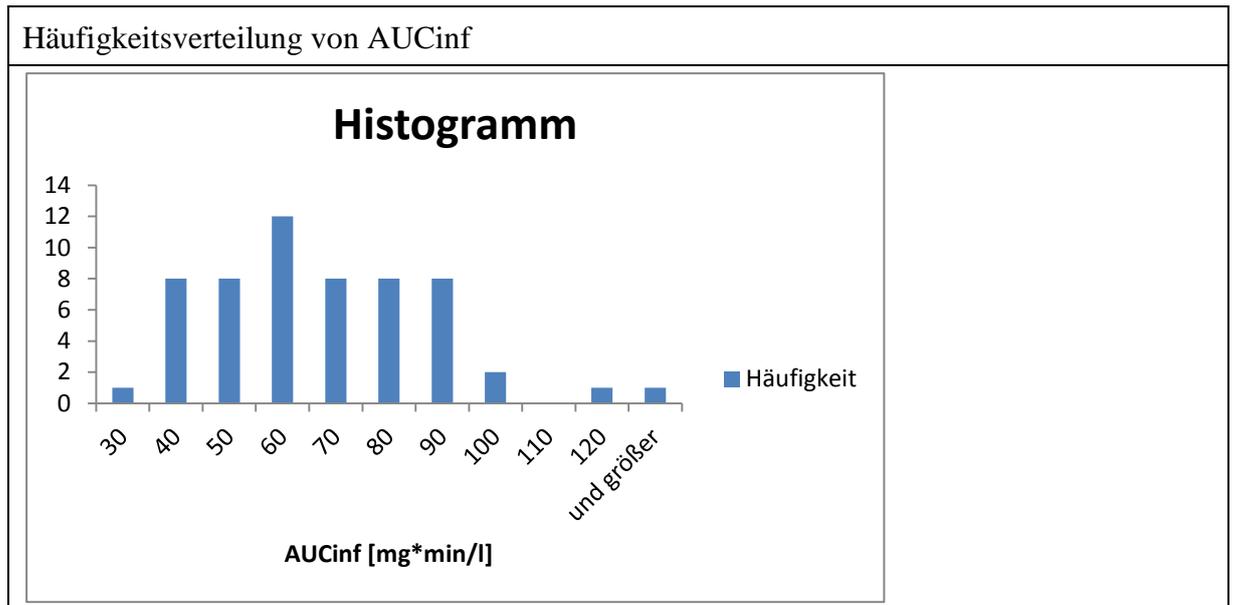
Tabelle 17: Pharmakokinetik von Talinolol der gesamten Stichprobe

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max	Max/ Min
T_{max}	min	166	118	181	31	297	9.58
C_{max}	$\mu\text{g/l}$	93.9	58.2	139.3	16.0	463.3	28.96
AUC_{last}	$\text{mg}\cdot\text{min/l}$	43.894	29.042	64.099	9.667	126.41	13.08
AUC_{inf}	$\text{mg}\cdot\text{min/l}$	58.469	41.135	79.159	13.326	151.26	11.35
AUC_{0-360}	$\text{mg}\cdot\text{min/l}$	17.550	11.613	24.355	4.136	56.095	13.56
AUC_{0-720}	$\text{mg}\cdot\text{min/l}$	30.620	20.701	42.515	7.111	89.825	12.63
$t_{1/2}$	min	652	589	784	115	2633	22.90
Cl	l/min	0.855	0.632	1.216	0.331	3.752	11.34
MRT	min	871	783	1039	300	3836	12.79

Parameter:
 T_{max} : Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration, C_{max} : maximale Blutkonzentration
 AUC_{last} : Fläche unter der Kurve bis zur letzten quantifizierbaren Konzentration
 AUC_{inf} : Fläche unter der Kurve, Extrapolation nach unendlich, $t_{1/2}$: terminale Halbwertszeit,
Cl: Clearance, MRT: mean residence time

Zur Verdeutlichung der Häufigkeitsverteilung von C_{max} und AUC_{inf} sind im Folgenden zwei Histogramme dargestellt. Zur Darstellung wurden die Mittelwerte der Parameter aus den 3 Studientagen von jedem einzelnen Probanden verwendet.

Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung von C_{max} und AUC_{inf} 

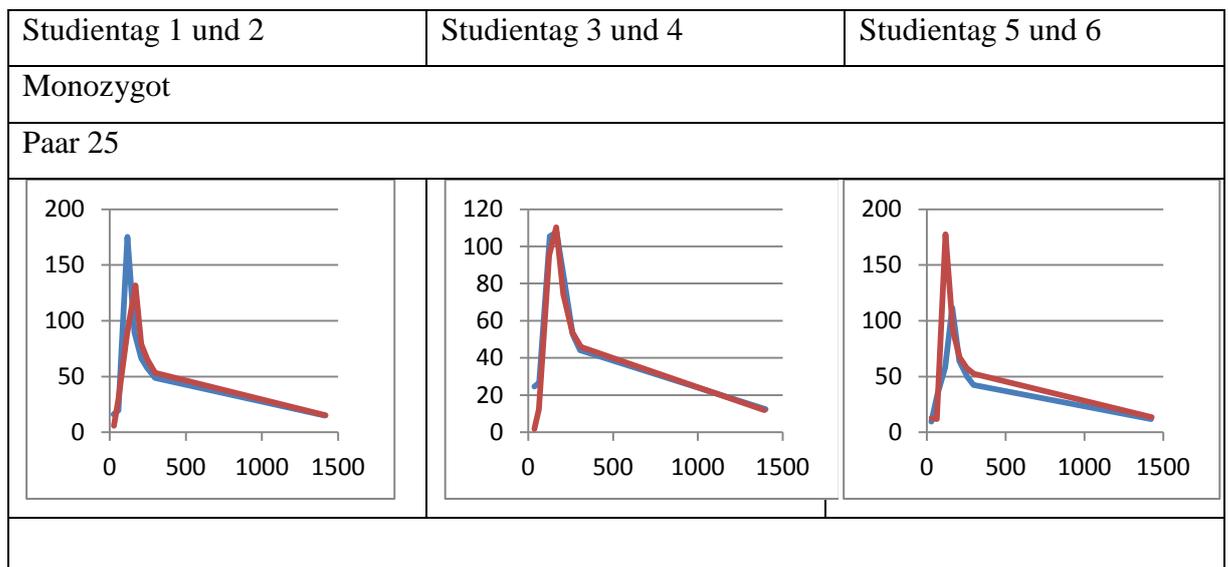


3.4 Talinolol-Pharmakokinetik: Intra- versus inter-individuelle Variabilität

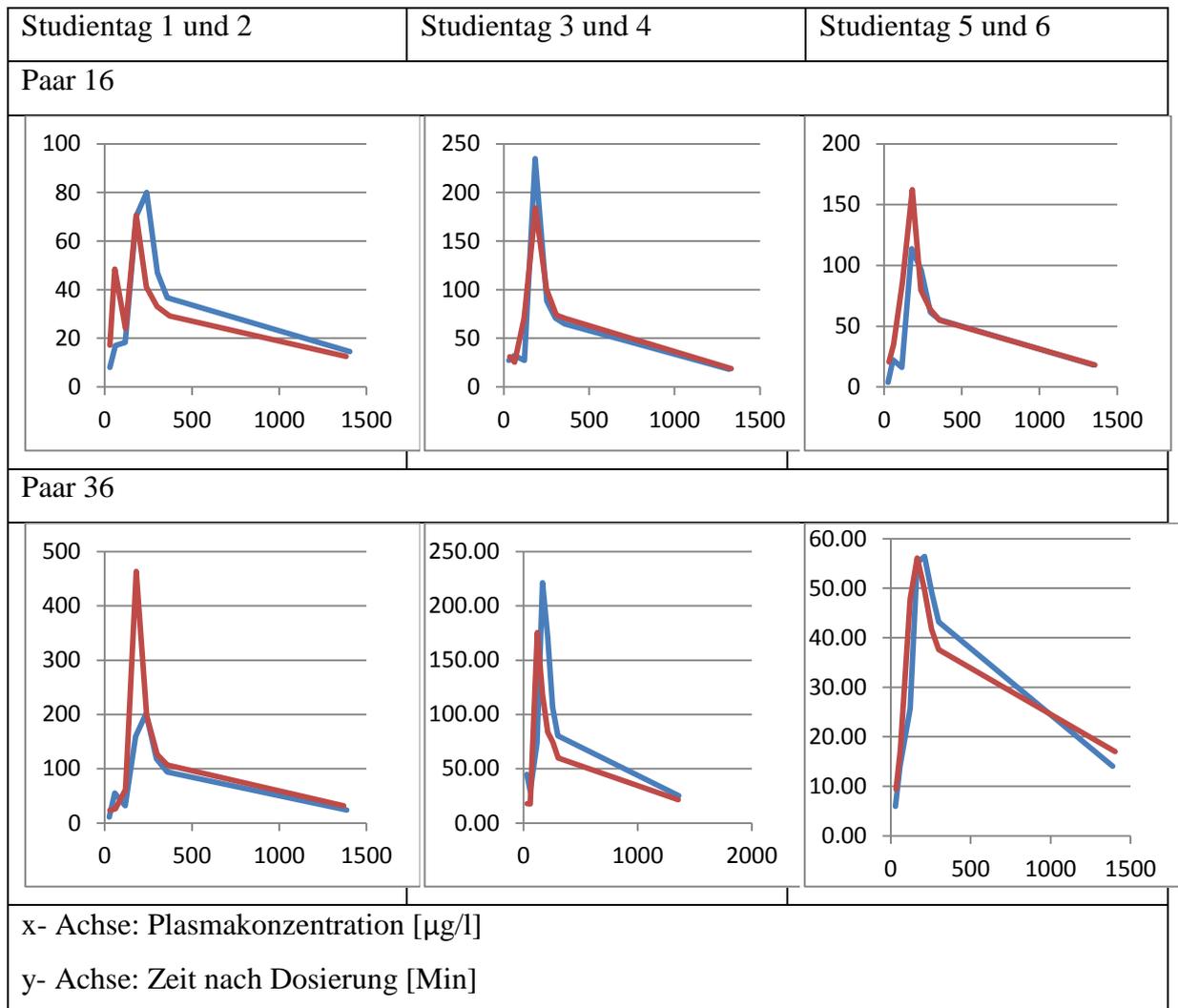
3.4.1 Nicht-parametrische Auswertung

Die Auswertung der Konzentrationsverläufe über die Tage hinweg zeigte zunächst eine sehr große Variabilität im Verlauf. Dies ist exemplarisch an 3 monozygoten Zwillingspaaren und 3 dizygoten Zwillingspaaren dargestellt.

Abbildung 3: Konzentrationsverläufe



Studentag 1 und 2	Studentag 3 und 4	Studentag 5 und 6
Paar 19		
Paar 38		
Dizygot		
Paar 3		
Empty cell for the bottom row of the table		



Es gibt Zwillingspaare, bei denen der Konzentrationsverlauf an den jeweiligen Studientagen fast identisch ist und sich auch die Verläufe an den verschiedenen Studientagen nur gering unterscheiden. Dies zeigt sich deutlich bei den oben gezeigten Paaren 25 und 38, die beide monozygot sind. Häufig aber gibt es größere Unterschiede bei den Konzentrationsverläufen, nicht nur zwischen den Zwillingspaaren, sondern auch zwischen den Studientagen eines einzelnen Zwillings. Beispielhaft sind dafür die Zwillingspaare 19 und 3. Wenn man alle Konzentrationsverläufe im Überblick betrachtet, erkennt man viele variable Verläufe jedes einzelnen Probanden (hohe intraindividuelle Variabilität) und auch variable Verläufe zwischen den Zwillingspaaren (hohe interindividuelle Variabilität). Dies spricht für einen großen Einfluss von äußeren Faktoren auf die Pharmakokinetik von Talinolol.

Im Folgenden wird die intra- und interindividuelle Variabilität graphisch für jedes Probandenpaar am Beispiel von AUCinf dargestellt.

Abbildung 4: Intra- und interindividuelle Variabilität von AUCinf bei monozygoten Zwillingen:

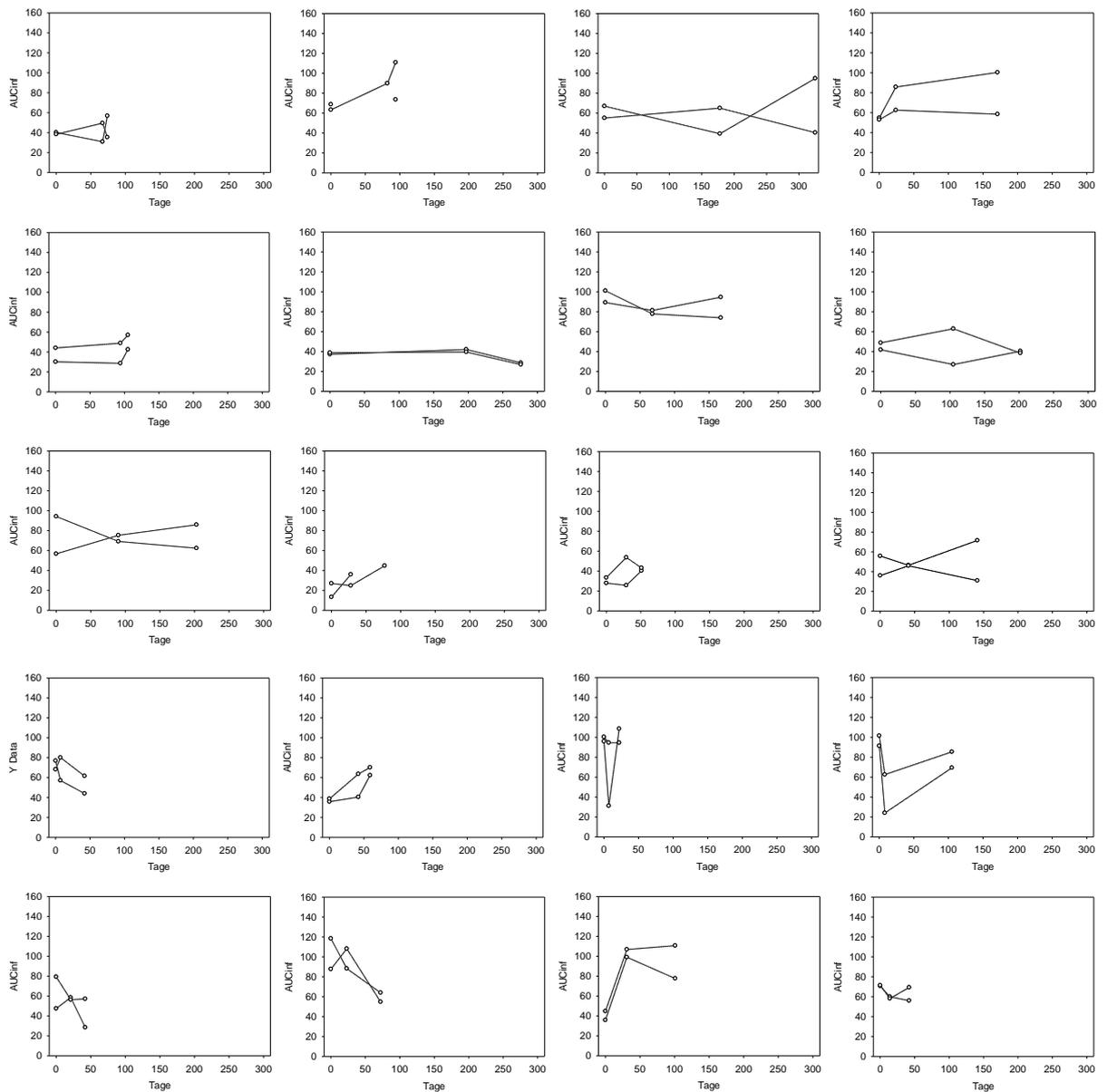
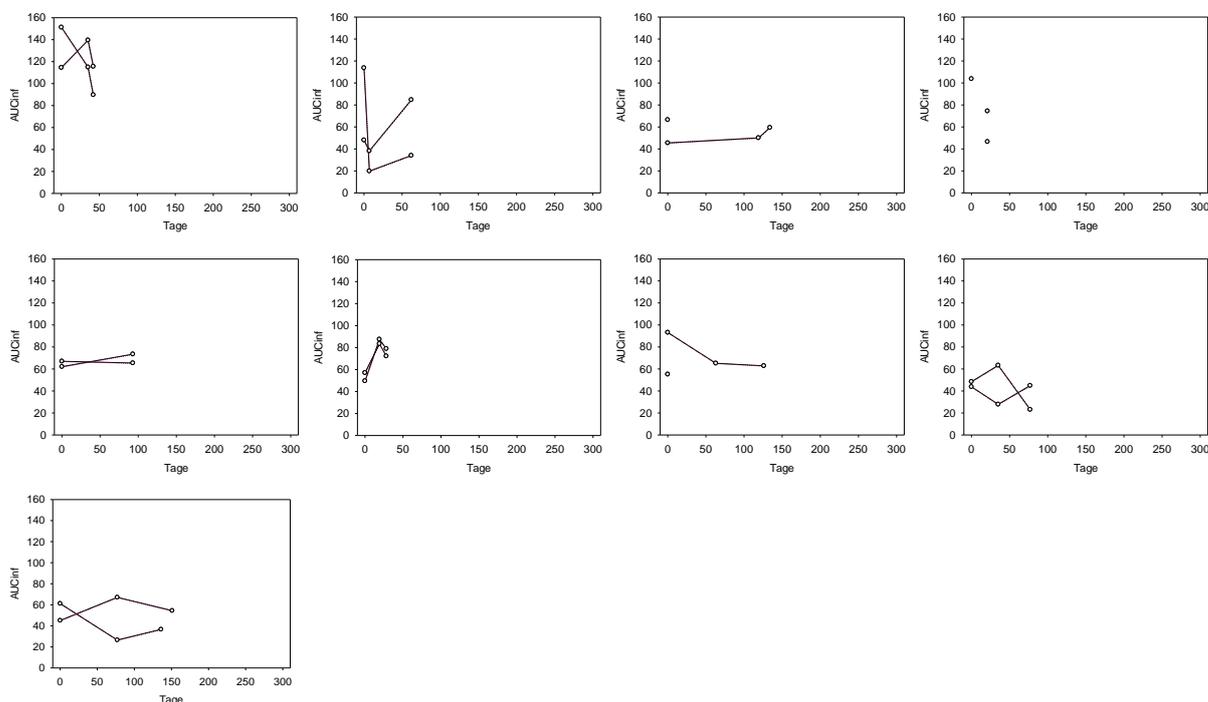


Abbildung 5: Intra- und interindividuelle Variabilität von AUCinf bei dizygoten Zwillingen:



3.5 Talinolol-Pharmakokinetik: Bedeutung der bisher bekannten Genvarianten an „unserer“ Stichprobe

In den für die Transporter MDR1 und MRP2 codierenden Genen haben wir die Varianten analysiert, zu denen es aus der Literatur mindestens einen deutlichen Hinweis gab, dass diese einen Einfluss auf die Funktion des jeweiligen Transportproteins haben.

Bei dem MDR1-Transporter war dies unter anderem das MDR1-3435 Gen, welches in der Wildtyp CC Form in der heterozygoten Form CT und in der TT Form vorkommt. Die folgenden 3 Tabellen zeigen zunächst die Pharmakokinetik von Talinolol bezogen auf die Genvarianten im MDR1-3435 Gen der Probanden.

Tabelle 18: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 3435 CC

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	154.2	120.0	198.3	116.0	232.0
Cmax	µg/l	107.4	55.9	142.9	40.1	153.0

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
AUClast	mg*min/l	52567.9	32413.6	57587.6	17911.6	76510.4
AUCinf	mg*min/l	70903.4	51634.2	87460.7	35063.0	89105.1
AUC 0-360	mg*min/l	20114.1	10577.5	23859.5	9200.9	30464.1
AUC 0-720	mg*min/l	36024.5	19938.3	40119.1	16267.1	50665.3
t1/2	Min	768.1	611.8	901.2	466.7	1517.3
Cl	l/min	0.7	0.7	1.0	0.6	1.5
MRT	Min	1046.4	841.6	1328.5	647.0	2194.5

Tabelle 19: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 3435 CT

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	155.5	119.3	179.7	57.7	245.0
Cmax	µg/l	94.1	70.4	137.2	51.2	269.3
AUClast	mg*min/l	44830.8	33127.8	55758.6	19773.0	95632.2
AUCinf	mg*min/l	58681.9	46602.3	75314.3	24687.6	123218.8
AUC 0-360	mg*min/l	17551.3	13692.2	22364.0	9085.7	39922.4
AUC 0-720	mg*min/l	32270.3	23301.2	37715.7	14864.8	66060.0
t1/2	Min	667.1	597.7	765.2	332.1	1112.3
Cl	l/min	0.9	0.7	1.2	0.4	2.6
MRT	Min	891.3	820.0	985.5	525.2	1564.7

Tabelle 20: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 3435 TT

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	137.0	119.5	177.8	97.3	200.7
Cmax	µg/l	87.7	67.6	100.9	44.6	131.6
AUClast	mg*min/l	34290.1	32836.7	44921.9	31434.4	57041.2
AUCinf	mg*min/l	45569.3	43728.2	60950.4	41026.5	73747.9

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
AUC 0-360	mg*min/l	14513.5	13255.5	19015.1	10422.4	22449.1
AUC 0-720	mg*min/l	23708.3	22431.7	30918.6	20153.9	38609.2
t1/2	Min	716.7	654.7	748.3	645.5	751.4
Cl	l/min	1.2	0.9	1.2	0.7	1.3
MRT	Min	936.7	896.2	981.6	834.4	998.5

In den meisten vorangegangenen Studien konnte eine verminderte MDR1-Expression beim Vorhandensein des SNP 3435 C>T gezeigt werden. Dies konnte vor allem durch eine erhöhte Absorption bestimmter vom MDR1 Transporter beförderten Stoffen gezeigt werden. Hier zeigten sich erhöhte Plasmakonzentrationsspiegel.

In unserer Stichprobe ließ sich eine erhöhte Absorption von Talinolol gemessen am Cmax bei Probanden mit der Genvariante C/C (Wildtyp) beobachten. Eine leicht niedrigere maximale Plasmakonzentration erreichten die Probanden mit dem C/T-Genotyp. Die geringsten maximalen Plasmakonzentrationsspiegel erreichten die Probanden, die homozygote Träger des SNP 3435C>T sind. Dies würde bedeuten, dass die MDR1 Expression in unserer Studienpopulation bei Probanden, die den Wildtyp aufweisen am Geringsten ist und bei homozygoten Trägern des SNP am Höchsten. Allerdings sind die Unterschiede der Mediane von Cmax in den einzelnen Gruppen mit den verschiedenen Genotypen nicht signifikant. Dies konnte mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Test gezeigt werden. Hier konnten folgende p-Werte berechnet werden.

Tabelle 21: Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im 3435-Gen

Genotypen	p-Wert
CC - CT	p = 0.889
CT - TT	p = 0.361
CC - TT	p = 0.418

Die zweite Genvariante, die wir untersucht haben, war das MDR1-1236 Gen, welches ebenfalls in der reinen Wildtypform (CC), in der heterozygoten Form (CT) und in der homozygot veränderten Form (TT) vorliegen kann.

Die nächsten 3 Tabellen zeigen die Pharmakokinetik von Talinolol, bezogen auf die Genvarianten im MDR1-1236 Gen der Probanden.

Tabelle 22: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1236 CC

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	167.7	130.2	199.5	116.0	239.3
Cmax	µg/l	111.3	85.2	146.5	40.1	269.3
AUClast	mg*min/l	56506.5	39476.5	64131.2	17911.6	95632.2
AUCinf	mg*min/l	71468.7	61719.7	87908.5	35063.0	123218.8
AUC 0-360	mg*min/l	21052.1	15496.1	24911.1	9200.9	39922.4
AUC 0-720	mg*min/l	37781.3	28454.9	45107.5	16267.1	66060.0
t1/2	Min	663.5	601.6	870.7	332.1	1517.3
Cl	l/min	0.7	0.6	0.9	0.4	1.5
MRT	Min	887.5	824.8	1224.0	525.2	2194.5

Tabelle 23: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1236 CT

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	150.8	118.7	180.8	57.7	245.0
Cmax	µg/l	80.5	70.2	117.1	51.2	154.8
AUClast	mg*min/l	43271.1	32830.0	54051.6	23142.4	67253.0
AUCinf	mg*min/l	56901.3	45751.7	68546.6	31297.9	90197.4
AUC 0-360	mg*min/l	15707.4	13324.3	20687.7	10532.4	26153.9
AUC 0-720	mg*min/l	28794.4	23037.8	35855.2	16967.8	45524.9
t1/2	Min	688.6	602.2	793.3	484.6	1112.3
Cl	l/min	0.9	0.7	1.2	0.6	1.7
MRT	Min	934.1	828.1	1059.7	707.4	1564.7

Tabelle 24: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1236 TT

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	156.0	120.5	176.5	97.3	200.7
Cmax	µg/l	87.4	62.4	119.6	44.6	158.2
AUClast	mg*min/l	33698.4	29483.1	51633.5	19773.0	74278.6
AUCinf	mg*min/l	44923.9	39387.6	69696.0	24687.6	96428.6
AUC 0-360	mg*min/l	14343.3	10957.2	20158.2	9085.7	28964.3
AUC 0-720	mg*min/l	23457.7	19897.6	34045.8	14864.8	49748.2
t1/2	Min	660.5	647.0	743.5	574.0	1085.7
Cl	l/min	1.2	0.9	1.3	0.5	2.6
MRT	Min	915.8	845.0	962.2	772.6	1505.0

Für den SNP 1236C>T gibt es weitaus weniger Studien, die einen eindeutigen Einfluss der Genvariante auf die Expression des Transporters zeigen. In unserer Studienpopulation erreichten Probanden mit dem Wildtyp die höchste maximale Talinololkonzentration, was für eine niedrige MDR1-Expression spricht. Heterozygote und homozygote Träger erreichten jeweils geringere maximale Plasmakonzentration. Allerdings sind auch hier die Unterschiede nicht signifikant.

Tabelle 25: Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im 1236Gen

Genotypen	p-Wert
CC - CT	p = 0.116
CT - TT	p = 0.674
CC - TT	p = 0.149

Beim MRP2-Transporter untersuchten wir ebenfalls 2 verschiedene Genvarianten, die jeweils in drei verschiedenen Formen auftreten können (GG, GA, AA). Die folgenden drei Tabellen zeigen zunächst die Pharmakokinetik von Talinolol bezogen auf die Genvarianten im Gen rs2273697 (1249 G>A).

Tabelle 26: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1249 GG

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	161	137	192.2	79.7	239.3
Cmax	µg/l	94.1	67.6	131.3	40.1	158.2
AUClast	mg*min/l	44122.6	32472.9	57343.3	19773.0	76510.4
AUCinf	mg*min/l	57775.2	44153.7	76907.5	24687.6	96428.6
AUC 0-360	mg*min/l	18082	12906.6	21917.1	9085.7	30464.1
AUC 0-720	mg*min/l	30918.6	22431.7	39263.1	14864.8	50665.3
t1/2	Min	659.6	609.2	741.8	332.1	1517.3
Cl	l/min	0.9	0.7	1.2	0.5	2.6
MRT	Min	893.4	826.1	960.0	525.2	2194.5

Tabelle 27: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1249 GA

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	121	118.2	175.9	57.7	245.0
Cmax	µg/l	100.6	72.0	139.1	46.9	269.3
AUClast	mg*min/l	48978.0	35272.2	55601.2	17911.6	95632.2
AUCinf	mg*min/l	62216.5	47080.9	72806.9	35063.0	123218.8
AUC 0-360	mg*min/l	20166.9	14378.7	22718.5	9200.9	39922.4
AUC 0-720	mg*min/l	34955.3	24273.4	37679.6	16267.1	66060.0
t1/2	Min	674.6	598.2	856.2	514.6	1112.3
Cl	l/min	0.8	0.7	1.3	0.4	1.5
MRT	Min	882.9	814.5	1196.7	671.8	1564.7

Tabelle 28: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante 1249 AA

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	123.5	98.3	148.7	98.3	148.7
Cmax	µg/l	69.3	68.1	70.4	68.1	70.4
AUClast	mg*min/l	33476.7	33127.8	33825.6	33127.8	33825.6
AUCinf	mg*min/l	53592.8	51634.2	55551.4	51634.2	55551.4
AUC 0-360	mg*min/l	13283.5	12701.7	13865.3	12701.7	13865.3
AUC 0-720	mg*min/l	22822.4	22343.7	23301.2	22343.7	23301.2
t1/2	Min	1024.4	970.0	1078.7	970.0	1078.7
Cl	l/min	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0
MRT	Min	1393.7	1335.5	1451.9	1335.5	1451.9

Die höchsten Plasmakonzentrationen von Talinolol erreichten Probanden mit dem G/A-Genotyp. Probanden mit dem A/A-Genotyp erreichten die geringsten Konzentrationspiegel. Dieses Ergebnis bestätigt die Aussagen bisheriger Studien, wo ebenfalls bei Probanden mit dem A/A-Genotyp niedrigere Plasmakonzentrationsverläufe bei MRP2 spezifischen Substanzen nachgewiesen werden konnten. Dies spricht für eine gesteigerte Aktivität des MRP2- Transporters beim Vorliegen der Genvariante A/A im 1249 Gen. Allerdings muss bedacht werden, dass in unserer Studienpopulation die Zahl der Probanden mit dem A/A-Genotyp zu gering ist, um eine definitive Aussage auf Gesetzmäßigkeit treffen zu können. Beim Hinzuziehen des Mann-Whitney-U-Testes sieht man auch hier, dass die Unterschiede der Mediane von Cmax nicht signifikant sind.

Tabelle 29: Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im 1249Gen

Genotypen	p-Wert
GG – GA	p = 0.565
GA – AA	p = 0.255
GG – AA	p = 0.281

Als zweite Genvariante haben wir das Gen rs717620 untersucht, welches ebenfalls in der Wildtypform G/G, in der heterozygoten G/A und in der homozygoten A/A Form vorliegen kann. Die folgenden 3 Tabellen zeigen wieder die Pharmakokinetik von Talinolol bezogen auf die verschiedenen Genvarianten.

Tabelle 30: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante im rs717620 GG

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	149.1	119.0	178.5	79.7	245.0
Cmax	µg/l	98.1	72.5	139.0	40.1	177.7
AUClast	mg*min/l	47864.7	33127.8	57041.2	17911.6	95632.2
AUCinf	mg*min/l	65302.3	46214.6	75314.3	24687.6	123218.8
AUC 0-360	mg*min/l	18431.1	13865.3	22449.1	9085.7	33829.3
AUC 0-720	mg*min/l	33116.0	23301.2	38263.5	14864.8	63064.0
t1/2	Min	678.4	611.8	767.2	514.6	1517.3
Cl	l/min	0.8	0.7	1.1	0.4	2.6
MRT	Min	911.8	834.5	1010.1	671.8	2194.5

Tabelle 31: Pharmakokinetik von Talinolol der Probanden mit der Genvariante im rs717620 GA

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max
Tmax	Min	190.2	155.0	232.0	57.7	239.3
Cmax	µg/l	64.7	56.3	122.7	44.6	269.3
AUClast	mg*min/l	36787.9	31434.4	45127.4	25322.4	95111.6
AUCinf	mg*min/l	50886.1	41434.4	58010.1	37670.4	118642.1
AUC 0-360	mg*min/l	13623.4	11841.6	20192.9	10422.4	39922.4
AUC 0-720	mg*min/l	23642.4	20153.9	40573.1	17773.7	66060.0
t1/2	Min	645.7	576.7	676.4	332.1	1038.5
Cl	l/min	1.0	0.9	1.3	0.4	1.4
MRT	Min	854.6	807.9	928.0	525.2	1396.7

Tabelle 32: Pharmakokinetik von Talinolol des Probanden mit der Genvariante im rs717620 AA

Parameter	Einheit	Wert
Tmax	Min	163.7
Cmax	µg/l	102.7
AUClast	mg*min/l	43542.8
AUCinf	mg*min/l	55845.2
AUC 0-360	mg*min/l	17873.8
AUC 0-720	mg*min/l	32852.0
t1/2	Min	484.6
Cl	l/min	1.5
MRT	Min	707.4

Für dieses Gen mit den vorkommenden Genvarianten gibt es zwar, wie in der Einleitung beschrieben, einige Studien, die verschiedene Assoziationen mit dem Vorhandensein der Genvarianten knüpfen, allerdings ist noch keine einheitliche Tendenz festzustellen. Die Aussage wird auch hier dadurch herabgesetzt, dass nur ein Proband in unserer Studienpopulation den Genotypen A/A trägt. Betrachtet man nun nur die Mediane des Wildtyps und der heterozygoten Form G/A, so erreichen Probanden mit dem Wildtyp leicht höhere Plasmaspiegel im Vergleich zu den Probanden mit der heterozygoten Form. Doch auch hier sind die Unterschiede nicht signifikant.

Tabelle 33: Signifikanz der Unterschiede der Mediane von Cmax der verschiedenen Genvarianten im rs717620 Gen

Genotypen	p-Wert
GG – GA	p = 0.137
GA – AA	p = 0.635
GG – AA	p = 0.912

3.6 Talinolol-Pharmakokinetik bei monozygoten versus dizygoten Zwillingen: Deskriptive Analyse

3.6.1 Nicht-parametrische Auswertung

Zur Beschreibung der Pharmakokinetik von Talinolol bei monozygoten versus dizygoten Zwillingen vergleichen wir jeweils die Mediane der verschiedenen pharmakokinetischen Parameter. Bei monozygoten Zwillingen ergeben sich insgesamt niedrigere maximale Blutkonzentration zu einem früheren Zeitpunkt. Die Halbwertszeit ist etwas kürzer und die Clearance etwas größer als bei den dizygoten Zwillingen. Bei der Berechnung des p-Wertes zeigt sich jedoch, dass die Unterschiede nicht signifikant sind ($p = 0.147$ für C_{max} , $p = 0.823$ für die Halbwertszeit, $p = 0.294$ für die Clearance). Wie groß jeweils die Unterschiede im Detail sind zeigen die folgenden beiden Tabellen.

Tabelle 34: Pharmakokinetik von Talinolol der monozygoten Zwillinge

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max	Max/ Min
T_{max}	Min	166	118	180	31	297	9.58
C_{max}	µg/l	92.9	54.9	129.0	16.0	241.0	15.06
AUC_{last}	mg*min/l	43.241	28.479	58.955	9.667	93.083	9.63
AUC_{inf}	mg*min/l	57.193	40.284	77.700	13.326	118.41	8.89
AUC 0-360	mg*min/l	17.185	11.277	23.367	4.136	37.219	9.00
AUC 0-720	mg*min/l	29.911	20.083	39.800	7.111	62.605	8.80
t_{1/2}	Min	652	592	766	203	2633	12.97
Cl	l/min	0.874	0.643	1.242	0.422	3.752	8.89
MRT	Min	869	788	1007	332	3836	11.55
<i>Parameter:</i>							
<i>T_{max}: Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration, C_{max}: maximale Blutkonzentration</i>							
<i>AUC_{last}: Fläche unter der Kurve bis zur letzten quantifizierbaren Konzentration</i>							
<i>AUC_{inf}: Fläche unter der Kurve, Extrapolation nach unendlich, t_{1/2}: terminale Halbwertszeit,</i>							
<i>Cl: Clearance, MRT: mean residence time</i>							

Tabelle 35: Pharmakokinetik von Talinolol der dizygoten Zwillinge

Parameter	Einheit	Median	25 %	75 %	Min	Max	Max/ Min
T_{max}	Min	178	120	199.75	53	257	4.85
C_{max}	µg/l	111	65.0	160.6	24.1	463.3	18.2
AUC_{last}	mg*min/l	46.459	30.845	70.231	12.262	126.41	10.31
AUC_{inf}	mg*min/l	62.065	45.725	84.350	19.805	151.26	7.64
AUC 0-360	mg*min/l	18.656	12.457	27.711	5.778	56.095	9.71
AUC 0-720	mg*min/l	32.722	22.534	49.317	9.869	89.825	9.10
t_{1/2}	Min	670	546	799	115	1350	11.74
Cl	l/min	0.806	0.593	1.101	0.331	2.525	7.63
MRT	Min	872	739	1092	300	1841	6.14
<i>Parameter:</i>							
<i>T_{max}: Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration, C_{max}: maximale Blutkonzentration</i>							
<i>AUC_{last}: Fläche unter der Kurve bis zur letzten quantifizierbaren Konzentration</i>							
<i>AUC_{inf}: Fläche unter der Kurve, Extrapolation nach unendlich, t_{1/2}: terminale Halbwertszeit,</i>							
<i>Cl: Clearance, MRT: mean residence time</i>							

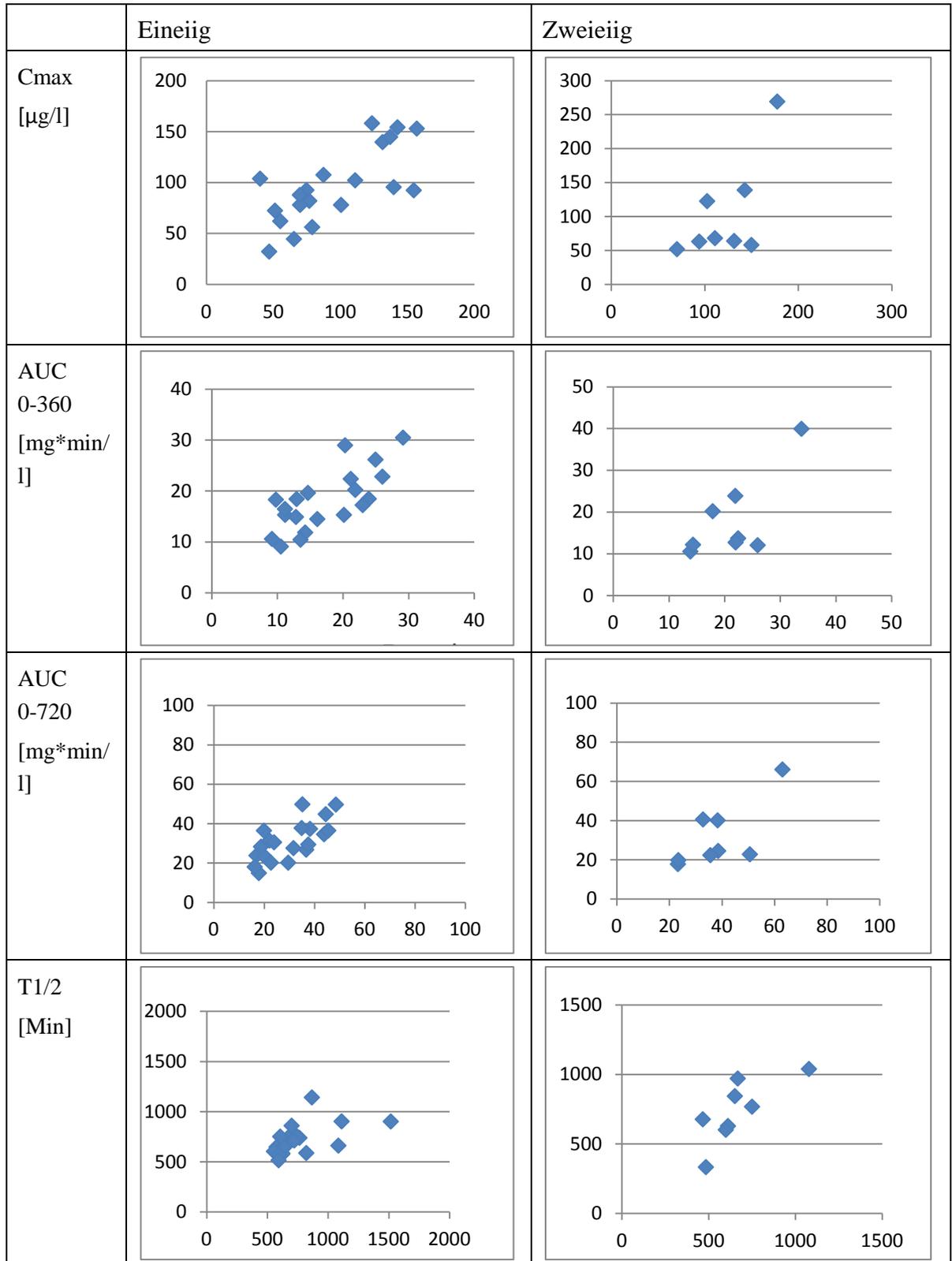
3.7 Erblichkeitsberechnung nach statistischer Modellanalyse

3.7.1 Nicht-parametrische Auswertung

Ein hohes Maß an Erbllichkeit bedeutet, dass bei monozygoten Zwillingen die Messwerte der beiden sehr ähnlich sind (also eine hohe Korrelation haben), während die Messwerte oder Parameter der dizygoten Zwillinge weniger gut korrelieren. Aus den Korrelationen zwischen monozygoten und dizygoten Zwillingen lässt sich dann ein Erbllichkeitsindex ausrechnen.

Die Korrelationen ausgewählter Parameter zwischen mono- und dizygoten Zwillingen sind für einige Parameter exemplarisch in den folgenden Graphiken dargestellt.

Abbildung 6: Korrelationsgraphiken ausgewählter Parameter



Nach der Formel von Falconer ($h_b^2 = 2(r_{mz}-r_{dz})$) lässt sich die Erblichkeit der Pharmakokinetik von Talinolol bzw. die Erblichkeit der pharmakokinetischen Parameter von Talinolol berechnen. Diese, die Korrelationskoeffizienten und das Erblichkeitsmaß sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 36: Korrelationskoeffizienten und Erblichkeitsmaß

Parameter	Parameter	r (p) Eineiig	r (p) Zweieiig	h (Erblichkeit)
Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration	t_{max}	0.293 (0.211)	0.725 (0.042)	-0.864
Maximale Blutkonzentration	C_{max}	0.727 (0.000284)	0.678 (0.0643)	0.098
Fläche unter der Kurve (bis zum letzten quantifizierbaren Wert.)	AUC_{last}	0.705 (0.000522)	0.784 (0.0213)	-0.158
Fläche unter der Kurve (zwischen 0 und 6 Stunden)	AUC_{0-6}	0.735 (0.000223)	0.730 (0.0397)	0.01
Fläche unter der Kurve (zwischen 0 und 12 Stunden)	AUC_{0-12}	0.701 (0.000569)	0.718 (0.0449)	-0.034
Fläche unter der Kurve (Exploration nach unendlich)	AUC_{inf}	0.752 (0.00013)	0.841 (0.00889)	-0.178
Halbwertszeit (terminal)	$t_{1/2}$	0.534 (0.0153)	0.748 (0.0327)	-0.428
Clearance (<i>predicted</i>)	Cl	0.650 (0.00192)	0.590 (0.123)	0.12
<i>mean residence time (predicted)</i>	MRT	0.609 (0.00434)	0.681 (0.0629)	-0.144

Eine weitere Möglichkeit eine Aussage über die Erbllichkeit zu treffen, hat Kalow beschrieben. Mit der Formel (Beschreibung und Herleitung im Methodenteil)

$rGC = SD_b^2 - SD_w^2 / SD_b^2$ lassen sich aus den ermittelten Standardabweichungen innerhalb der Personen und zwischen den Personen Hinweise auf mögliche Erbllichkeit gewinnen. Der ermittelte Wert aus dieser Gleichung wird als genetische Determinante (rGC) bezeichnet (Kalow et al. 1998).

In der folgenden Tabelle sind jeweils die Standardabweichungen mit den jeweiligen errechneten Werten für die genetische Determinante dargestellt.

Tabelle 37: Vergleich der Streuung innerhalb der Personen mit der Streuung zwischen den Personen

Parameter	Mittlere Standardabweichung innerhalb der Personen	Mittlere Standardabweichung zwischen den Personen	genetische Determinante rGC
Tmax	32.53	41.38	0.382
Cmax	41.99	42.81	0.038
AUClast	14074	17546	0.357
AUCinf	16105	21204	0.423
AUC 0-360	5867	6643	0.220
AUC 0-720	9786	11639	0.293
t 1/2	167.2	188.6	0.214
Cl	0.297	0.386	0.406
MRT	239.9	272.3	0.224

3.8 Einfluss von Umwelt und Genen nach der Formel von Vesell

Elliot S. Vesell hat zu grundsätzlichen Überlegungen zur Forschung an monozygoten und dizygoten Zwillingen eine Formel aufgestellt. Mit der Formel $(\sigma^2_{DZ} - \sigma^2_{MZ})/\sigma^2_{DZ}$ kann eine Aussage zum Einfluss von Umwelt und Genen getroffen werden. Die Herleitung der Formel befindet sich in der Einleitung.

Ein zentraler Punkt dieser Formel ist, die Unterschiede zwischen den Zwillingen zu analysieren. Den Studien von Vesell entsprechend wurde dafür auch in dieser Arbeit die maximale Plasmakonzentration von Talinolol verwendet. In unserer Studie erhalten wir bei Anwendung der Formel ein Ergebnis von 0,48. Dies würde bedeuten, dass die Plasmakonzentration von Talinolol gleichermaßen von den Genen wie von der Umwelt abhängt.

3.9 Kardiale Wirkungen in Relation zu Ein- und Zwei-Eiigkeit

Kardiale Wirkungen kann man anhand von Blutdruck und Puls bestimmen. Da Talinolol einen größeren Einfluss auf den Puls hat, wurden an verschiedenen Zeitpunkten vor und nach der Talinololgabe die Pulse der Probanden ermittelt.

Um die kardiale Wirkung von Talinolol zu analysieren, betrachten wir die Ausgangspulse an TP1, die Pulse an den Zeitpunkten an denen Talinolol die höchste Konzentration hat (Cmax an TP10 und 11) und zum Vergleich die Pulse an den Zeitpunkten an den Metoprolol die höchste Konzentration hat (Cmax an TP5). Die folgende Tabelle zeigt jeweils die Mittelwerte, den Median, die Interquartilenabstände, Minimum, Maximum und den Quotienten aus Maximum und Minimum an den jeweiligen Zeitpunkten getrennt nach Zwillingsstatus.

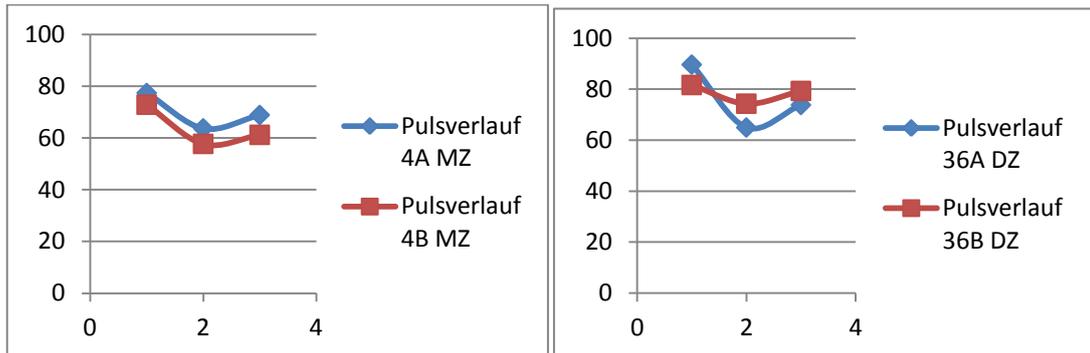
Tabelle 38: deskriptive Statistik der Pulse der monozygoten Zwillinge

Parameter	Mittelwert	Median	25 %	75 %	Min	Max	Max/Min
MW aus den Pulsen von TP1 (Ruhepuls)	70	69	63.75	76.33	48	99	2.05
MW aus den Pulsen von TP5 (maximale Mp- Wirkung)	61	60	54.75	65.42	48	85	1.76
MW aus den Pulsen von TP10 und TP11 (maximale Tn-Wirkung)	67	66	61.08	70.46	56	87	1.56
Mp- Effekt	-9	-9	-25	-4.83	-18	3	-6.63
Tn- Effekt	-3	-2	-8.13	1.54	-19	9	-2.18

Tabelle 39: deskriptive Statistik der Pulse der dizygoten Zwillinge

Parameter	Mittelwert	Median	25 %	75 %	Min	Max	Max/Min
MW aus den Pulsen von TP1 (Ruhepuls)	69	60	58.50	75.92	55	90	1.64
MW aus den Pulsen von TP5 (maximale Mp- Wirkung)	60	57	54.58	67.75	41	80	1.95
MW aus den Pulsen von TP10 und TP11 (maximale Tn-Wirkung)	65	62	57.42	73.67	50	90	1.8
Mp- Effekt	-8	-7	-9.83	-5.92	-25	-1	25
Tn- Effekt	-3	-2	-4.93	-0.08	-16	6	-2.67

Wie man in der Tabelle sieht, besteht ein klarer Pulsabfall am Zeitpunkt 5, wenn Metoprolol seine volle Wirkung entfaltet hat. Im Mittel beträgt der Pulsabfall durch Metoprolol 8 Schläge pro Minute bei den dizygoten Zwillingen und 9 Schläge pro Minute bei den monozygoten Zwillingen. An den Zeitpunkten 10 und 11 hat Talinolol den maximalen Blutspiegel erreicht. Die Pulse sind an diesen Zeitpunkten höher als nach Metoprololgabe, aber niedriger als die Ausgangspulse. Talinolol bewirkt im Mittel sowohl bei den monozygoten als auch bei den dizygoten Zwillingen einen Pulsabfall von 3 Schlägen pro Minute. Talinolol weist damit im Vergleich zum Metoprolol eine geringere kardiale Wirkung auf, jedoch hat Talinolol auch eine geringe Pulssenkung zur Folge. Zur Veranschaulichung folgen zwei exemplarische graphische Darstellungen.

Abbildung 7: Pulsverlauf an einem Studientag

X-Achse: Zeitpunkt Pulsmessung (vor Medikation, nach Metoprolol-Gabe, nach Talinolol-Gabe)

Y-Achse: Puls

Mit Hilfe der Korrelation unter monozygoten und dizygoten Zwillingen lässt sich eine Aussage über die Erbllichkeit vom Puls treffen. Die folgende Tabelle zeigt die errechneten Daten.

Tabelle 40: Korrelationskoeffizienten und Erbllichkeit vom Puls

Parameter	Parameter	r (p) Eineiig	r (p) Zweieiig	h (Erblichkeit)
MW aus den Pulsen von TP1	Ruhepuls	0.606 (0.00465)	0.869 (0.00234)	-0.526
MW aus den Pulsen von TP5	Puls unter maximaler Mp-Wirkung	0.443 (0.0504)	0.720 (0.0287)	-0.574
MW aus den Pulsen von TP10 und TP11	Puls unter maximaler Tn-Wirkung	0.593 (0.00584)	0.933 (0.000241)	-0.68

In dieser Studie korrelierten die Pulse der dizygoten Zwillinge viel mehr als die der monozygoten, was für eine geringe Erbllichkeit sprechen würde.

4 Diskussion

In dieser Arbeit sollte Talinolol als In-vivo-Testsubstanz für die Aktivität von Membran-Transportproteinen analysiert werden. Ziel der Arbeit ist es der individualisierten Arzneimitteltherapie einen Schritt näher zu kommen. Dabei sollte untersucht werden, inwieweit Unterschiede in der Wirkweise, Wirkstärke und Wirkdauer von Medikamenten (am Beispiel von Talinolol) auf die Genetik zurückzuführen ist und ob weitere genetische Varianten in Form von Polymorphismen gesucht werden sollten, die eine veränderte Transporteraktivität hervorrufen.

In unserer Studie zeigte sich zunächst überraschenderweise eine sehr große Streuung der Blutkonzentrationsprofile auch bei der jeweils gleichen Person zwischen den unterschiedlichen Studientagen. Talinolol wurde untersucht als In-vivo-Indikatorsubstanz für die Aktivität von MDR1 und MRP2. Obwohl sich eine insgesamt große Variabilität ergab, war dennoch erkennbar, dass einige Personen stets höhere und andere stets niedrigere Konzentrationen hatten. Die beobachteten Blutkonzentrationen wurden in Form von pharmakokinetischen Parametern zusammengefasst und dabei zeigte sich entsprechend eine große Variabilität der pharmakokinetischen Parameter.

Erstaunlicherweise zeigten dizygote Zwillinge untereinander ein ähnlicheres pharmakokinetisches Verhalten, als monozygote Zwillingspaare untereinander. Dies würde für eine geringe Erbllichkeit in der Pharmakokinetik von Talinolol sprechen. Allerdings war die Fallzahl der dizygoten Zwillinge mit $n = 9$ recht niedrig, so dass der Zufall für die Präzision der Korrelationsberechnungen hier auch noch eine Rolle spielt.

Die gefundenen genetischen Varianten zeigten im Bezug auf die Plasmakonzentrationsverläufe von Talinolol keine signifikanten Unterschiede, sodass hier erst einmal kein relevanter Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein bestimmter Genvarianten und der Transporteraktivität von MDR1 und MRP2 gesehen werden kann.

Zusätzlich sollte in dieser Studie die Erbllichkeit der kardialen Wirkungen von Betablockern untersucht werden. Am Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration des

Betablockers Metoprolol zeigte sich im Mittel ein Pulsabfall von 8 Schlägen pro Minute, am Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration des Betablockers Talinolol zeigte sich im Mittel ein Pulsabfall von 3 Schlägen pro Minute. Allerdings glichen sich die Pulsverläufe der dizygoten Zwillinge mehr als die Pulsverläufe der monozygoten Zwillinge.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die in unserer Studie doch recht große Variabilität in den Blutkonzentrationen und in den pharmakokinetischen Parametern vermuten lässt, dass exogene Faktoren einen recht großen Einfluss auf die Wirkweise von Talinolol haben und auch die Pulsverläufe maßgeblich von exogenen Faktoren beeinflusst werden.

4.1 Vergleich der hier gemessenen Daten zu Talinolol mit den in der Literatur publizierten Daten

Talinolol wird hauptsächlich über die Transporter MDR1 und MRP2 transportiert, so gut wie nicht metabolisiert und nahezu unverändert renal und extrarenal ausgeschieden (Gramatte et al. 1996; Siegmund et al. 2003). Deshalb und weil es bisher die einzige Substanz ist, bei der eine signifikante Sekretion (durch MDR1 und MRP2) in das Darmlumen beschrieben wurde, eignet sich Talinolol besonders gut, die Aktivität von den Transportern MDR1 und MRP2 zu analysieren. Es gibt viele verschiedene Studien, die über die pharmakokinetischen Parameter von Talinolol die Transportfähigkeit und die Beeinflussbarkeit der Transporter durch andere Wirkstoffe beschreiben.

Im Folgenden sollen zunächst unsere Daten zur Pharmakokinetik von Talinolol mit einigen ausgewählten anderen publizierten Daten verglichen werden.

Tabelle 41: Vergleich pharmakokinetische Daten von Talinolol in der Literatur mit den Daten dieser Studie

Parameter	Einheit	Unsere Studie 50 mg	Publizierte Daten	Dosis [mg]	Zitat
T_{max}	min	166	216	100	(Westphal et al. 2000a)
			204	100	(Westphal et al. 2000b)
			198	50	(Schwarz et al. 2005)
			161	100	(Bernsdorf et al. 2006)
C_{max}	µg/l	93,9	168	50	(Trausch et al. 1995)
			132*	100	(Westphal et al. 2000a)
			164*	100	(Westphal et al. 2000b)
			45	50	(Schwarz et al. 2005)
			168.5*	100	(Bernsdorf et al. 2006)
AUC_{inf}	mg* min/l	58.469	79.26	50	(Trausch et al. 1995)
			89.1*	100	(Westphal et al. 2000a)
			26.19*	100	(Westphal et al. 2000b)
			92.61*	100	(Giessmann et al. 2004)
			25.62	50	(Schwarz et al. 2005)
			103.14*	100	(Bernsdorf et al. 2006)
t_{1/2}	min	652	714	50	(Trausch et al. 1995)
			672	100	(Westphal et al. 2000a)
			900	100	(Westphal et al. 2000b)
			900	100	(Giessmann et al. 2004)
			546	50	(Schwarz et al. 2005)
			780	100	(Bernsdorf et al. 2006)
Cl	l/min	0.855	0.575	100	(Westphal et al. 2000a)
			0.654	100	(Westphal et al. 2000b)
			0.576	100	(Giessmann et al. 2004)

* Die in der Regel sich proportional zur Dosis verhaltenden pharmakokinetischen Parameter C_{max} und AUC wurden auf eine Dosis von 50 mg normiert.

Da in vielen Studien eine höhere Dosis von Talinolol verwendet wurde, sind einige Parameter, zum Beispiel C_{\max} , nicht direkt zu vergleichen, deshalb habe ich diejenigen Parameter, die von der Dosis abhängen, auf die Dosis normiert. Eine derartige Normierung ist für die meisten Medikamente zulässig, es gibt nur wenige Substanzen bzw. Medikamente (z.B. Ethylalkohol, Theophyllin oder Phenytoin), bei denen Maximalkonzentration und AUC sich nicht proportional zur Dosis verhalten.

Beim Vergleich der ermittelten pharmakokinetischen Parameter lässt sich erkennen, dass es doch durchaus sehr große Unterschiede in den verschiedenen Studien gibt. Besonders deutlich zeigen sich die Unterschiede in der AUC_{inf}. Hier findet man Unterschiede um den Faktor 4. Diese große Variabilität könnte sich zum Einen durch die vorhandenen Polymorphismen bzw. unterschiedlichen Genvarianten in der jeweiligen Studienpopulation, aber auch durch die Untersuchung unterschiedlicher ethnischer Gruppen erklären. Zum Anderen gibt es eine Vielzahl äußerer Faktoren, die eine solche Variabilität hervorrufen können. Äußere Faktoren könnten zum Beispiel unterschiedliche Ernährungsvorschriften während der Studie bzw. unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten im Allgemeinen, unterschiedliche Ein- und Ausschlusskriterien, aber auch die Verwendung unterschiedlicher Präparate mit einer unterschiedlich guten Bioverfügbarkeit sein.

Besonders auffällig sind die niedrigen Werte für C_{\max} und AUC in der Studie von Schwarz et al.. In dieser Studie wurden 24 gesunde, weiße, nicht rauchende Männer untersucht. Das Essen war bis 5 Stunden nach Medikamenteneinnahme nicht erlaubt. Die Einnahme von Medikamenten und das Trinken bzw. Essen von Grapefruit, anderen Citrusfrüchten und Fruchtsäften war für 1 Woche vor Studienbeginn und während der Studie untersagt. Somit gibt es zunächst erstmal keine eindeutige Erklärung für die auffällig niedrigen Werte. Wahrscheinlich kommen diese Werte zufällig durch unterschiedliche Genvarianten oder durch hier nicht feststellbare äußere Faktoren zustande.

Auffällig hohe Werte zeigt die AUC in der Studie von Bernsdorf et al.. Hier wurden 18 weiße, gesunde Probanden untersucht, die nach bestimmten MDR1 Haplotypen ausgewählt wurden. Die Selektion auf bestimmte Haplotypen könnte eine mögliche Ursache für die hohen Werte sein. In Frage kommen hier natürlich zusätzlich die oben aufgeführten Kriterien und weitere äußere Faktoren. Keine großen Unterschiede zwischen den verschiedenen Studien lassen sich im Zeitpunkt der maximalen Blutkonzentration

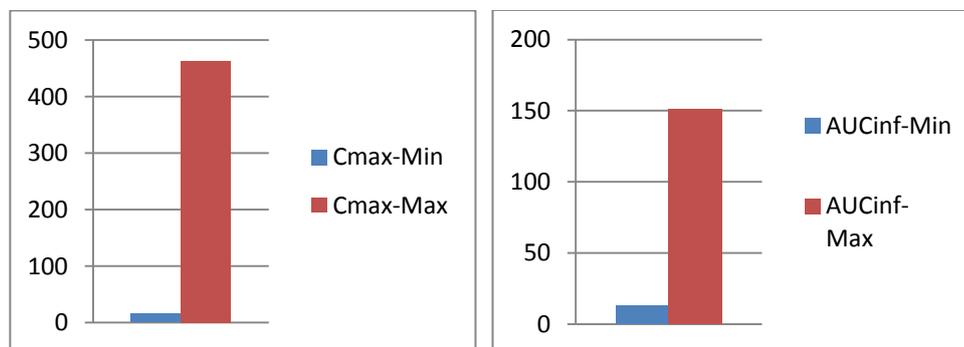
feststellen. Wenn man speziell unsere Daten betrachtet, zeigt sich im Vergleich zu den anderen Studien eine relativ geringe AUC_{inf} und eine vergleichsweise hohe Clearance.

4.2 Variabilität in den Blutkonzentrationsverläufen von Talinolol nach oraler Dosierung

Die große Variabilität der Pharmakokinetik von Talinolol äußerte sich in unserer Studie in allen pharmakokinetischen Parametern. Die größte Variabilität zeigten die Parameter C_{\max} und $t_{1/2}$. AUC_{inf} zeigte auch eine große Variabilität, die aber im Vergleich zu C_{\max} geringer war.

Zum einen gab es in unserer Studie eine hohe interindividuelle Variabilität, das heißt, die Blutkonzentrationsverläufe und die pharmakokinetischen Parameter zwischen den Probanden waren zum Teil sehr unterschiedlich. Zum anderen zeigte unsere Studie aber auch eine hohe intraindividuelle Variabilität, das heißt, die Blutkonzentrationsverläufe und pharmakokinetischen Parameter eines einzelnen Probanden an den verschiedenen Studientagen waren auch sehr unterschiedlich. Die genauen Daten zur Variabilität befinden sich in der Tabelle 3.8 und von AUC_{inf} in den Abbildungen 3.3 und 3.4 im Ergebnisteil. Zur Veranschaulichung, wie groß in unserer Studie die Unterschiede zwischen den Probanden waren, folgen zwei Diagramme für C_{\max} und AUC_{inf} mit den jeweils in dieser Studie größten und kleinsten gemessenen Werten.

Abbildung 8: größter und kleinster gemessener Wert für C_{max} und AUC_{inf}



Auch in anderen Studien sind die Blutkonzentrationsverläufe und somit die Pharmakokinetik von Talinolol teils sehr variabel. Am besten wäre es, die verschiedenen Studien

anhand des Quotienten aus Maximalwert und Minimumwert zu vergleichen, da man dadurch am besten die unterschiedliche Variabilität erkennen könnte. Leider wurden in vergleichbaren Studien die maximalen und minimalen Werte nur sehr selten veröffentlicht. Daher soll im Folgenden die Variabilität in den unterschiedlichen Studien durch die jeweiligen Standardabweichungen dargestellt werden. Nachteil der Standardabweichung ist, dass diese nur bei normalverteilten Daten korrekt die Variation wiedergibt und somit oft fehlerhaft ist. Trotzdem sollen im Folgenden zur Erkennung einer Tendenz die Standardabweichungen verschiedener Studien verglichen werden.

Tabelle 42: Vergleich von der Variation innerhalb unterschiedlicher Studien

Parameter	SD* Unsere Studie	SD* Trausch et al., 1995	SD* Westphal et al., 2000	SD* Schwarz et al., 2005
C_{\max} [$\mu\text{g/l}$]	42.81	67	58	24
t_{\max} [min]	41.38	48	96.6	90
AUC_{inf} [$\text{mg}\cdot\text{min/l}$]	21.204	22.92	29.16	11.52
$t_{1/2}$ [min]	189	144	54	246

*SD = Standardabweichung

Als mögliche Ursache für die interindividuelle Variabilität kommen, wie oben bereits beschrieben unterschiedliche MDR1-Gen-Expressionen und Polymorphismen in Betracht. Dazu wurden bereits eine Reihe von Studien durchgeführt, aber nur wenige konnten tatsächlich die veränderte Aktivität der Transporter MDR1 und MRP2 und somit die unterschiedliche Pharmakokinetik von Talinolol mit bestimmten Genvarianten erklären. Die einzelnen Polymorphismen, die für eine veränderte Transporteraktivität verantwortlich gemacht werden können, sind bereits ausführlich in der Einleitung beschrieben worden (siehe Tabellen 4 und 7).

Bisher sind wir davon ausgegangen, dass Talinolol nur über die Transporter MDR1 und MRP2 transportiert wird. Allerdings wird in einzelnen Studien spekuliert, dass noch weitere Transporter Einfluss auf die Aufnahme von Talinolol haben könnten und somit auch Auswirkungen auf die Pharmakokinetik von Talinolol besitzen (Siegmond et al. 2002; Bernsdorf et al. 2006; Shirasaka et al. 2009).

Da sich die große Variabilität in unserer Studie nicht nur zwischen den Zwillingspaaren zeigt, sondern in vielen Parametern zwischen monozygoten Zwillingspaaren größer ist als zwischen dizygoten Zwillingspaaren, muss man daraus schließen, dass äußere Faktoren doch einen erheblichen Einfluss auf die Pharmakokinetik von Talinolol haben. Auch die Tatsache, dass die Blutkonzentrationsverläufe und die Pharmakokinetik eines einzelnen Probanden an den verschiedenen Studientagen teilweise so unterschiedlich waren (intraindividuelle Variabilität), lässt sich nicht durch genetische Faktoren erklären, sondern müssen andere Gründe haben. Interessanterweise machte es keinen Unterschied, wie weit die einzelnen Studientage auseinander gelegen haben. Äußere Faktoren, die dabei eine Rolle gespielt haben könnten, sind vielfältig. Hier sollen einige beispielhaft erläutert werden.

Grundsätzlich muss man bedenken, dass beide Transporter MDR1 und MRP2 induzierbar sind, d.h. dass die Expression durch eine Reihe von Naturstoffen und eine Reihe von Medikamenten teils sehr erheblich gesteigert wird (Giessmann et al. 2004; Schwarz et al. 2005; Haenisch et al. 2008). Das spielt insbesondere in der Darmwand eine Rolle, da dort mit der Nahrung viele Substanzen eintreten, die induzierend wirken können. Zwar kann in den Probandenstudien weitgehend ausgeschlossen werden, dass die Probanden andere Medikamente nehmen, auch gibt es bestimmte Ernährungsvorschriften, aber eine komplette Kontrolle und Vereinheitlichung der Ernährung kann selten gewährleistet werden.

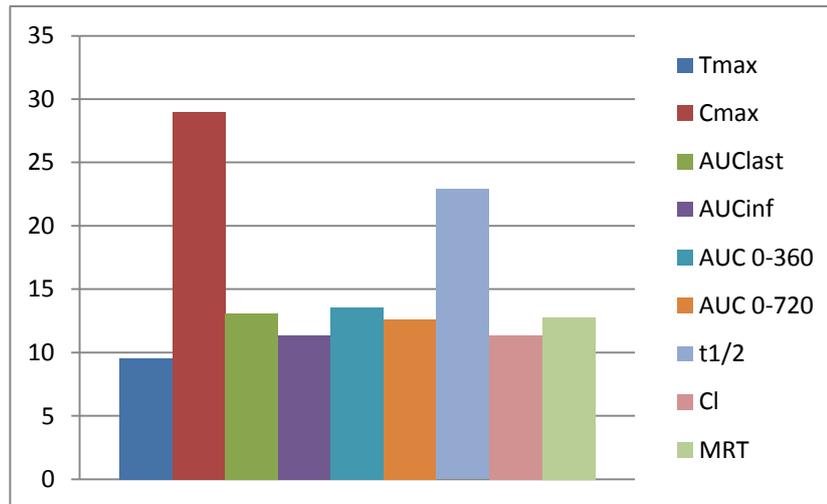
Es gibt mehrere Studien die zeigen, dass die Aufnahme von Talinolol nicht nur von bestimmten Nahrungsmitteln und Medikamenten beeinflusst wird, sondern diese auch abhängig vom Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme ist. Bei gleichzeitiger Einnahme von Talinolol und Nahrung reduziert sich die Bioverfügbarkeit von Talinolol signifikant (Gramatte et al. 1996; Weitschies et al. 2005). Der unterschiedliche Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme der Probanden wäre eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Konzentrationsverläufe bei ein und demselben Probanden. Allerdings haben wir versucht diesen Einflussfaktor zu minimieren, indem unsere Probanden an allen drei Studientagen bis zu immer demselben Zeitpunkt nach Talinololeinnahme nüchtern bleiben mussten. Ein Problem jedoch könnte sein, dass die Probanden jeweils unterschiedlich viel und auch unterschiedliche Nahrung zu sich genommen haben. Dieser möglicherweise beeinflussende Faktor wurde nicht streng reguliert.

Okyar A. et al. führten 2012 eine Studie an Ratten durch, in der sie feststellten, dass die MDR1-Transporteraktivität einem circadianen Rhythmus unterliegt. Nachts, in der aktiven Phase der Ratten, zeigte sich eine höhere MDR1 abhängige Sekretion in den Darm als tagsüber, in der nicht aktiven Phase der Ratten (Okyar et al. 2012). Das unterschiedliche Verhalten an den jeweiligen Studientagen, hinsichtlich Wachheitszustand und Schlafverhalten, könnte also mitverantwortlich für die intraindividuelle Variabilität sein.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in unserer Studie vorhandene inter- und intraindividuelle Variabilität auch in anderen Studien aufgetreten ist und diese sicherlich nicht durch einen einzelnen Faktor erklärbar ist, sondern durch viele verschiedene Faktoren begründet sein muss. Durch die Tatsache, dass die Pharmakokinetik von Talinolol in unserer Studie bei dizygoten Zwillingen ähnlicher ist als bei monozygoten Zwillingen untereinander und auch die intraindividuellen Verläufe sehr variabel sind, müssen exogene Faktoren, wie zum Teil schon in verschiedenen Studien gezeigt, auch in unserer Studie eine große Rolle in der Aufnahme von Talinolol gespielt haben.

4.3 Vergleich der Eignung unterschiedlicher Pharmakokinetik-Parameter am Beispiel der Testsubstanz Talinolol

In Hinblick auf die Identifizierung von erblichen Faktoren wären Parameter dann besonders günstig, wenn sie bei Mehrfachmessung jeweils sehr ähnliche Werte haben. Wie in Tabelle 17 (Pharmakokinetik von Talinolol in der gesamten Stichprobe) zu sehen ist, hatte die geringste Variabilität bei Mehrfachmessung T_{\max} gefolgt von AUC_{inf} und den partiellen AUCs. Zur Veranschaulichung wie groß bei den einzelnen Parametern die Variabilität bei Mehrfachmessungen war, folgt eine graphische Darstellung mit dem Verhältnis größter über kleinster Wert.

Abbildung 9: Variabilität der einzelnen Parametern

y-Achse: Max/Min (Verhältnis größter über kleinster Wert)

Da AUC_{inf} sehr ähnliche Werte bei Mehrfachmessungen im Vergleich zu den anderen Parametern aufzeigt, wurde dieser Parameter in dieser Arbeit in den Mittelpunkt für weitere Analysen gestellt. Aber auch Parameter mit schlechter Übereinstimmung wurden in die Analyse aufgenommen. So z.B. die Parameter C_{max} und $t_{1/2}$, die eine große Variabilität zwischen den einzelnen Messungen aufweisen. Die große Variation bei C_{max} hängt unter anderem natürlich damit zusammen, dass es sich hier um nur einen Messpunkt handelt, d.h. hier geht mehr als bei den anderen Größen auch die Messgenauigkeit in die Streuung ein. Daneben spielt bei C_{max} eine Rolle, dass man ja nur zu vorgegebenen Zeiten Blut abnimmt, die wirkliche Maximalkonzentration kann irgendwo dazwischen liegen.

Die große Variation in der terminalen Halbwertszeit liegt teilweise in der Methode der Berechnung. Die Halbwertszeit ist ja nur perfekt im 1-Kompartiment-Modell definiert, aber in Wirklichkeit verteilen sich die Medikamente in vielen verschiedenen Kompartimenten, so dass die Konzentrationen später nach Einnahme des Medikaments mit unterschiedlichen Halbwertszeiten abfallen. Somit hängt der gemessene Wert stark davon ab, in welchem Zeitraum man den Konzentrationsabfall misst.

4.4 Variabilität in der Aktivität von MDR1

4.4.1 Verschiedene Testverfahren und Testsubstanzen zur Bestimmung der Aktivität von MDR1

MDR1 ist ein an der äußeren Zellmembran von Darm (apikal, d.h. zum Darmlumen hin) und Leberzellen (apikal, d.h. zu den Gallengängen hin) exprimierter Effluxtransporter. Durch den Efflux-Transport reduziert MDR1 für fast alle Medikamente die Bioverfügbarkeit und kann daher für Wirkungen und Nebenwirkungen von Medikamenten eine wichtige Rolle spielen.

Es gibt grundsätzlich zwei Wege um die Aktivität von MDR1 zu testen. Zum einen lassen sich Tests an isolierten Zellkulturen durchführen, sogenannte In-vitro-Testverfahren. Hier können zum Beispiel Caco-2, HCT-8 oder T84 Zelllinien verwendet werden. Da es sich bei den Zelllinien um epitheliale Zellen handelt, exprimieren diese das MDR1 auf ihrer apikalen Seite. Daher ist es möglich den Einfluss des Transporters auf die Aufnahme von Arzneistoffen auf zellulärer Ebene zu analysieren. Somit konnte auf zellulärer Ebene gezeigt werden, dass eine verringerte Bioverfügbarkeit von verschiedenen Arzneistoffen die Folge der MDR1 Aktivität ist (Fricker und Miller 2002).

Zum anderen werden Tests an lebenden Menschen durchgeführt, sogenannte In-vivo-Testverfahren. Es gibt eine Vielzahl von Substraten, die von MDR1 transportiert werden (siehe Tabelle 2 in der Einleitung), allerdings sind nur wenige gezielt beim Menschen verabreicht worden, um zu messen, wie variabel die In-vivo-Aktivität von MDR1 ist. Hierzu zählen vor allem das auch in dieser Studie verwendete Talinolol, aber auch Digoxin und Fexofenadin (Gerloff und Roots 2003; Chinn und Kroetz 2007). Viele weitere Substanzen wurden verwendet, um den Einfluss der jeweiligen Substanz auf die Aktivität von MDR1 zu testen und somit die Auswirkungen auf die Pharmakokinetik von z.B. Talinolol und Digoxin festzustellen. Zu den Substanzen, die die Aktivität von MDR1 steigern und somit die Bioverfügbarkeit von Talinolol verringern zählen zum Beispiel Rifampin und Grapefruit (Westphal et al. 2000b; Schwarz et al. 2005).

Die folgende Tabelle zeigt ausgewählte Studien mit den typischen Testsubstanzen von MDR1 mit den ermittelten pharmakokinetischen Parametern.

Tabelle 43: typische MDR1-Substrate mit den ermittelten pharmakokinetischen Parametern

MDR1 Substrat	Parameter	Genotyp	Mittelwert (Standardabweichung)	Zitat
Fexofenadin (180 mg)	AUCinf	2677GG/3435CC (G/C)	242 ± 110 mg * min / l	(Shon et al. 2005)
	AUCinf	2677TT/3435TT (T/T)	312 ± 115 mg * min / l	(Shon et al. 2005)
	Cl/F	2677GG/3435CC (G/C)	48.4 ± 21.3 l/min	(Shon et al. 2005)
	Cl/F	2677TT/3435TT (T/T)	31.9 ± 11.5 l/min	(Shon et al. 2005)
Digoxin (0.5mg)	AUC(0-72)		1.38 ± 0.2 mg * min / l	(Westphal et al. 2000a)
	Cl/F		0.214 ± 0.059 l/min	(Westphal et al. 2000a)

4.4.2 Genetische Einflüsse auf die Aktivität von MDR1

Die meisten Studien, die sich mit der Aktivität von MDR1 beschäftigen, versuchen Polymorphismen zu detektieren, die einen Einfluss auf die MDR1 Gen Expression und MDR1 Transporteraktivität haben.

Die Polymorphismen, die mit einer veränderten Bioverfügbarkeit von verschiedenen Testsubstanzen in Verbindung gebracht werden können, sind in Tabelle 4 in der Einleitung beschrieben. Der Einfluss verschiedener Polymorphismen auf die Expression und Aktivität von MDR1, so wie er in den meisten Fällen in der Literatur beschrieben ist, konnte in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Hier zeigte sich viel mehr eine erhöhte Plasmakonzentration bei Probanden, die den Wildtyp im 3435C>T Gen vorwiesen, was für eine verminderte Aktivität oder geringere Expression des MDR1 Transporters sprechen würde. In der Literatur wird gehäuft das SNP 3435C>T mit einer verminderten Aktivität des MDR1 Transporters in Verbindung gebracht.

Die Diskrepanz zwischen einigen Studien in der Vergangenheit und unsere Studie, könnte verschiedene Ursachen haben. Da muss zunächst wieder auf unterschiedliche Größen der Probandengruppen hingewiesen werden. Zudem können Unterschiede in der Art der Verabreichung und in der Menge der verabreichten Dosis von Talinolol eine mögliche Erklärung für die Diskrepanz darstellen. Die zunächst auffallenden ungleich verteilt vorkommenden Genvarianten sollten kein Kriterium für die Diskrepanz sein, da ähnliche Studien vergleichbare Verteilungshäufigkeiten haben (Cascorbi et al. 2001; Narumiya et al. 2011). Die Zahl der heterozygoten Träger war mit 65,5 % stark vertreten, homozygote Träger gab es 8 (13,8 %).

Der Polymorphismus im 1236 Gen zeigte ebenfalls in der Wildtyp Form die geringste Aktivität des MDR1-Transporters. Da es zu diesem Polymorphismen noch nicht so viele Studien gibt, lässt sich abwarten, ob die Tendenz, dass es beim Vorkommen des SNP zu einer erhöhten MDR1-Aktivität kommt.

4.4.3 Exogene Einflüsse auf die Aktivität von MDR1

Da die Variabilität in der Aktivität von MDR1 nicht nur von genetischen Faktoren abhängig gemacht werden kann, soll hier nochmal näher auf den Einfluss äußerere Faktoren eingegangen werden. Denn auch in unserer Studie, so wie oben beschrieben, scheinen exogene Faktoren einen bedeutenden Einfluss auf die Aktivität von MDR1 zu haben. In der Literatur werden verschiedene Medikamente und Naturstoffe beschrieben, die die Transporteraktivität beeinflussen und somit die Bioverfügbarkeit verschiedenster Arzneistoffe verändert. Einen Überblick liefert die nachfolgende Tabelle.

Tabelle 44: Medikamente und Naturstoffe mit Einfluss auf die Aktivität von MDR1

Substanz	Wirkung	Literatur
Carbamazepin	induziert die intestinale MDR1 mRNA	(Giessmann et al. 2004)
Grapefruit	reduziert die orale Bioverfügbarkeit von Talinolol	(Schwarz et al. 2005)

Substanz	Wirkung	Literatur
Rifampicin	induziert MDR1, erhöht die intestinale Talinololsekretion	(Westphal et al. 2000b; Haenisch et al. 2008)
Johanniskraut	induziert MDR1 und reduziert die orale Bioverfügbarkeit von Talinolol	(Schwarz et al. 2007)
Duloxetin	inhibiert die Funktion von MDR1	(Ruike et al. 2010)

Des Weiteren sind vereinzelt in der Literatur stoffunabhängige Faktoren beschrieben worden, die ebenfalls Einflüsse auf die Aktivität von MDR1 haben. So z.B. in der Studie von Okyar A. et al., der wie im vorherigen Kapitel bereits beschrieben, von einer Tagesrhythmik abhängigen Aktivität von MDR1 ausgeht (Okyar et al. 2012).

Unsere Ergebnisse haben durch den Vergleich von mono- und dizygoten Zwillingen gezeigt, dass exogene Faktoren eine große Rolle in der Aktivität von MDR1 spielen müssen. Welche das im Detail sind, lässt sich nur schwer sicher feststellen. Auszuschließen ist nur, dass in unserer Studie durch das Verbot der Einnahme von Medikamenten, dieser exogene Faktor eher keine Rolle gespielt haben dürfte. Es gab zwar auch gewisse Ernährungsvorschriften, aber da eine vollständige Kontrolle und Vereinheitlichung der Ernährung nicht möglich ist, lassen sich eventuell daher einige Aktivitätsunterschiede erklären. Auch die von Okyar beschriebene zirkadiane Variation in der Aktivität von MDR1 stellt eine interessante Tatsache da, die auch in unserer Studie eine Rolle gespielt haben könnte und die vielleicht in weiteren Studien näher untersucht werden müsste.

4.5 Variabilität in der Aktivität von MRP2

4.5.1 Verschiedene Testverfahren und Testsubstanzen zur Bestimmung der Aktivität von MRP2

MRP2 ist ein weiterer an der Oberfläche von Zellen lokalisierter Effluxtransporter. Ähnlich wie von MDR1 ist bekannt, dass MRP2 auch die Ausscheidung von Xenobiotika über Urin und Galle fördert und die Absorption dieser Stoffe im Gastrointestinaltrakt hemmt. Somit reduziert auch MRP2 die Bioverfügbarkeit vieler

Medikamente und spielt damit ebenfalls eine wichtige Rolle für die zu verabreichende Dosis eines Medikaments. Allerdings sind bisher weitaus weniger Substanzen bekannt, die über den MRP2-Transporter transportiert werden als über den MDR1-Transporter. Im Unterschied zu MDR1 ist MRP2 zusätzlich in der Lage ungeladene Stoffe im Ko-transport mit Glutathion zu transportieren (Jedlitschky et al. 2006).

Auch für MRP2 wurden sowohl In-vitro, als auch In-vivo-Testverfahren durchgeführt. Viele Studien führten In-vivo-Testverfahren an transfizierten Zellen durch, um MDR2-abhängige Resistenzen von verschiedensten Chemotherapeutika herauszufinden. Beispielhaft seien hier die MRP2 bedingten Resistenzen von Etoposid und Vincristin in transfizierten MDCKII Zellen und die MRP2 bedingten Resistenzen von Cisplatin, Etoposid, Doxorubicin und Epirubicin in transfizierten HEK293 Zellen genannt (Konig et al. 1999). Bei den In-vivo durchgeführten Studien liegt der Schwerpunkt, wie auch beim MDR1-Transporter, in der Detektion von verschiedenen Polymorphismen, die die Genexpression und die Funktion von MRP2 bestimmen. In-vivo-Testsubstanzen waren vor allem diverse Chemotherapeutika, aber auch z.B. Pravastatin. Insgesamt muss man allerdings feststellen, dass über die Variabilität in der Aktivität von MRP2 deutlich weniger Studien als für MDR1 vorliegen, der als wichtigster Vertreter in der Klasse der ABC-Transporter angesehen wird.

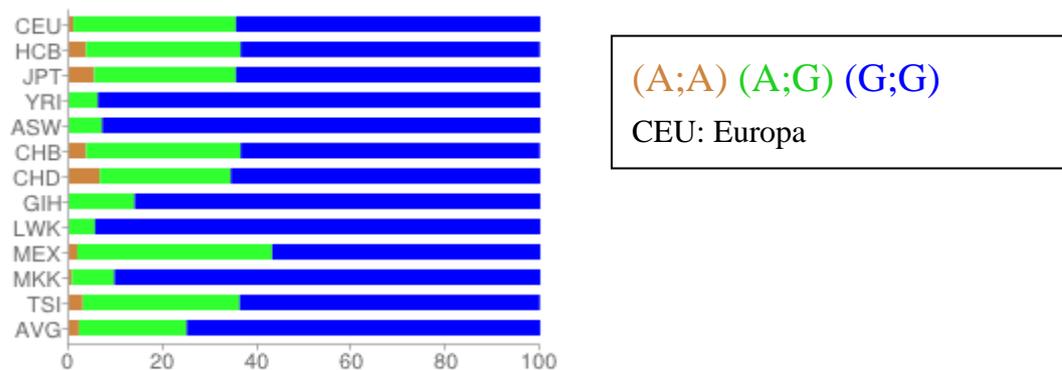
4.5.2 Genetische Einflüsse auf die Aktivität von MDR2

In der Literatur findet man gehäuft zwei Polymorphismen, die eindeutig eine veränderte Aktivität des MRP2 Transporters hervorrufen (siehe Tabelle 7 in der Einleitung). Es konnten noch eine Reihe weiterer Polymorphismen gefunden werden, aber die meisten hatten keinen Einfluss auf die MRP2-Aktivität.

In unserer Studie untersuchten wir die beiden Polymorphismen, für die es in verschiedenen Studien schon des Öfteren Hinweise auf eine mögliche veränderte MRP2-Aktivität gab. Problematisch für die Auswertung, aber repräsentativ ist die Allelfrequenz der Genvarianten in unserer Studienpopulation. Im rs2273697 Gen war der A/A-Genotyp nur mit 3,4 %, im rs717620 nur mit 1,7 % vertreten. Die folgenden beiden Abbildungen zeigen die Allelfrequenzen der beiden untersuchten Gene auf den verschiedenen Kontinenten. Es lässt sich erkennen, dass in Europa der Genotyp A/A in

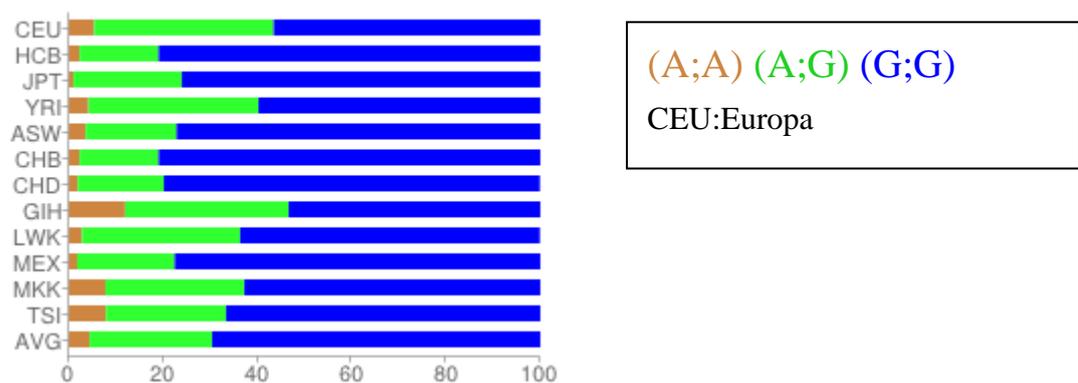
beiden Genen nur mit wenigen Prozent vertreten ist und der G/G-Genotyp am häufigsten vorkommt.

Abbildung 10: Verteilung der Genvarianten des rs717620-Gens auf den verschiedenen Kontinenten



Der Homepage "<http://www.snpedia.com/index.php/Rs717620>" entnommen.
(Zugriff am 18.01.2015)

Abbildung 11: Verteilung der Genvarianten des rs2273697 Gens auf den verschiedenen Kontinenten



Der Homepage "<http://www.snpedia.com/index.php/Rs2273697>" entnommen.
(Zugriff am 18.01.2015)

Kritisch ist nun zu hinterfragen, ob bei der Betrachtung der Blutkonzentration eines oder zwei Probanden, die den seltenen Genotyp A/A tragen, ein Schluss auf den genetischen Einfluss auf die MRP2-Aktivität gemacht werden darf. Zumindest lässt sich feststellen, dass die Probanden mit dem Genotyp A/A im rs2273697 Gen die niedrigsten Plasmakonzentrationen von Talinolol aufweisen. Dies bestätigt Aussagen vorheriger Studien, dass das Vorhandensein des A/A-Genotyps in einer erhöhten MRP2-Aktivität resultiert. Ob die übrigen nicht signifikanten Unterschiede der Plasmakonzentrationen von Talinolol tatsächlich auf die unterschiedlichen Genvarianten zurückzuführen sind, lässt sich mit dieser Studie nicht sicher beurteilen. Es ist weiterhin in Betracht zu ziehen, dass diese Unterschiede auch durch verschiedene exogene Einflüsse hervorgerufen werden könnten.

4.5.3 Exogene Einflüsse auf die Aktivität von MRP2

Da auch bei MRP2 die Variabilität in der Aktivität nicht nur durch genetische Aspekte zu erklären ist, spielen auch hier exogene Faktoren eine entscheidende Rolle. Da sich die äußeren Faktoren, die Einfluss auf die Aktivität von MRP2 haben nicht von denen unterscheiden, die Einfluss auf die Aktivität von MDR1 haben, soll hier nicht nochmal im Detail darauf eingegangen werden. Festzuhalten ist nur, dass es für MRP2 weitaus weniger Studien gibt, die bestimmte Stoffe beschreiben, die einen Einfluss auf dessen Aktivität besitzen.

4.6 Erbllichkeit der kardialen Wirkungen von Betablockern

In unsere Studie haben wir zunächst die Höhe der Pulse zu Beginn (Ruhepuls) mit den Pulsen an den Zeitpunkten bei maximaler Metoprololkonzentration und bei maximaler Talinololkonzentration verglichen, um allgemein Aussagen über die kardialen Wirkungen der beiden untersuchten Betablocker zu erhalten. Hier zeigte sich, dass sowohl Metoprolol als auch Talinolol einen Pulsabfall zur Folge haben, wobei Talinolol einen geringeren kardialen Einfluss aufweist. Die ermittelten Daten decken sich mit den bereits in der Literatur beschriebenen Daten zu den kardialen Einflüssen von Betablockern (Modersohn und Femmer 1975). Um eine Aussage bezüglich der Erbllichkeit der kardialen Wirkungen von Betablockern bzw. bezüglich der Erbllichkeit

von Pulsfrequenzen zu erhalten haben wir die Pulsverläufe zwischen mono- und dizygoten Zwillingen verglichen. Erstaunlicherweise korrelierten in unserer Studie die Pulse der dizygoten Zwillinge mehr als die der monozygoten Zwillinge. Sowohl die Ruhepulse, als auch die Pulse unter maximaler Metoprolol- und Talinololwirkung zeigten bei den dizygoten Zwillingen einen ähnlicheren Verlauf als bei den monozygoten Zwillingen. Somit zeigt unsere Studie im Grunde genommen keine Erblichkeit von Pulsfrequenzen. In verschiedenen weiteren Zwillingsstudien wurde allerdings durchaus eine moderate Erblichkeit verschiedener kardialer Parameter festgestellt.

Die Erblichkeit beruhte sich in den meisten Studien auf Werte zwischen 10 % und 60 % (Snieder et al. 2007; Osztovits et al. 2011). Dass in unserer Studie die Erblichkeit so gering scheint, ist wahrscheinlich durch die geringe Anzahl dizygoter Zwillinge vom Zufall bedingt. Da die Untersuchungen über die Erblichkeit vom Puls nicht den zentralen Punkt in dieser Studie darstellen sollten, waren die Rahmenbedingungen zur optimalen Pulsbestimmung nicht gegeben. So können einige Störfaktoren, wie z.B. unterschiedliches situatives Verhalten der Zwillinge während der Pulsmessung, Einfluss auf unser Ergebnis gehabt haben. Allerdings sind unsere Ergebnisse, dass Umweltfaktoren einen großen Einfluss auf Pulsfrequenzen haben, auch nicht ganz abwegig, da auch in anderen Studien ein hoher Einfluss von Umweltfaktoren auf kardiale Wirkungen beschrieben wird. Osztovits et al. beschreiben zum Beispiel einen viel höheren Einfluss von Umweltfaktoren auf kardiovaskuläre autonome Funktionen als von genetischen Faktoren (Osztovits et al. 2011). Die äußeren Faktoren, die einen Einfluss auf den Puls haben sind vielfältig. So hängt dieser zum Beispiel stark von den sportlichen und alltäglich durchgeführten Aktivitäten ab.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass das Pulsverhalten eines Individuums eine hohe Komplexität aufweist und sowohl genetische Faktoren als auch exogene Faktoren eine große Rolle spielen.

4.7 Methodische Aspekte zu unterschiedlichen statistischen Messgrößen für Erblichkeit.

Die Erblichkeit eines Merkmals gibt den Anteil der Merkmalsstreuung an, der auf die genotypische Variation in einer Population zurückzuführen ist. Eine gebräuchliche

Methode zur Untersuchung der Erbllichkeit ist die Zwillingsmethode. Ziel der Zwillingsmethode ist es, die phänotypische Varianz in einen genetisch bedingten Anteil und in einen umweltbedingten Anteil zu zerlegen. Allgemein gesagt besteht eine hohe Erbllichkeit, wenn die Unterschiede der monozygoten Zwillingspaare geringer sind als die der dizygoten Zwillinge. Um eine Erbllichkeit genau berechnen zu können, wären neben allen additiven Genwirkungen noch die Gendominanz und die Geninteraktionen zu berücksichtigen. Da sich diese einzelnen Komponenten der Merkmalsvarianz nicht direkt messen lassen, stellt die Zwillingsmethode eine Möglichkeit dar, den genetisch bedingten Anteil eines Merkmals zu schätzen. Es gibt verschiedene Formeln zur Erbllichkeitsschätzung, die im Prinzip alle auf dem Vergleich der Intrapaarvarianzen bzw. Intrapaar Korrelationen basieren. In dieser Arbeit wurde die Formel nach Falconer verwendet, die die Erbllichkeit h^2 in der einfachen Formel $h^2 = 2(r_{mz} - r_{dz})$ beschreibt. Ein großer Nachteil all dieser Formeln zur Erbllichkeitsschätzung im Rahmen von Zwillingsstudien ist, dass sie in der Regel weder mögliche Kovariationen und Interaktionen von erblichen Faktoren und äußeren Faktoren noch die Varianz zwischen den Paaren berücksichtigt. Ein Verfahren, das diese Aspekte in die Berechnung mit einfließen lässt stellt die „*Multiple Abstract Variance Analysis*“ (MAVA)- Methode dar. Da diese Methode rechnerisch sehr aufwendig ist und praktisch kaum durchführbar, konnte sie sich nicht durchsetzen (Trautner 1992).

Eine Alternativmethode zur Berechnung der Erbllichkeit stellte 1998 Kalow vor. Er bezieht sich vor allem auf das Prinzip der Mehrfachmessung, indem er die Variabilität innerhalb eines Individuums mit der Variabilität zwischen den Individuen bei mehrfachen Messungen vergleicht. Die mathematische Herleitung der angewandten Formel ($r_{GC} = SD_b^2 - SD_w^2 / SD_b^2$) ist bereits im Methodenteil ausführlich beschrieben.

Ein Vorteil dieser Methode ist, dass sie nicht an Zwillingen durchgeführt werden muss und somit einfacher und kostengünstiger ist. Allerdings wird mit dieser Methode die Erbllichkeit häufig zu hoch eingeschätzt, zum Beispiel wenn die Umwelteinflüsse sowohl die initiale Messung als auch die wiederholte Messung beeinflussen (Kalow et al. 1998).

Da in unserer Studie auch Mehrfachmessungen durchgeführt wurden, konnten wir zusätzlich diese Methode zur Aussage des genetischen Einflusses anwenden. Wenn man die Ergebnisse der beiden Formeln in unserer Studie vergleicht, so ergibt die

Berechnung nach Kalow eine insgesamt höhere Erblichkeit in der Pharmakokinetik von Talinolol, als die Formel nach Falconer. Dies könnte zum Beispiel wie oben schon erwähnt am Einfluss äußerer Faktoren auf die einzelnen Messungen liegen. Somit ist es möglich, dass die Umweltfaktoren, die an den unterschiedlichen Messtagen auf die Probanden gewirkt haben eine höhere Erblichkeit vortäuschen.

Insgesamt ist festzuhalten, dass auch wenn es geringe Unterschiede in den Ergebnissen der beiden Formeln gibt, beide Methoden eine in unserer Studie geringe Erblichkeit in der Pharmakokinetik von Talinolol aufzeigen.

4.8 Schwächen des Projektes und Ausblick auf weitere Arbeiten

In dem Projekt sollten mit einer ausgewählten Studienpopulation grundlegende Untersuchungen zur erblichen Variation der Aktivitäten der Efflux-Transportproteine MDR1 und MRP2 erfolgen. Die Studienpopulation wurde nach genauen Kriterien, die im Methodenteil ausführlich aufgeführt sind, ausgewählt, um eine valide Studie zu erhalten. Allerdings ergab sich das Problem, dass wir eine viel größere Anzahl an monozygoten Zwillingen rekrutieren konnten als dizygoten Zwillinge.

Auch Bemühungen, die Rekrutierung auf Bundesebene auszuweiten, veränderten das Verhältnis der mono- und dizygoten Zwillinge nicht. Dies erklärte sich auch dadurch, dass wir nur gleichgeschlechtliche dizygoten Zwillinge in die Studie eingeschlossen haben und somit insgesamt die Zahl der möglichen dizygoten Studienteilnehmerpaare reduziert wurde.

Untersucht wurden insgesamt 20 monozygote und 9 dizygoten Zwillingspaare. Dass einige ermittelten pharmakokinetischen Parameter sich bei dizygoten Zwillingen weniger unterscheiden als die pharmakokinetischen Parameter der monozygoten Zwillinge, deutet auf einen großen Einfluss von exogenen Faktoren hin. Allerdings sollte bei der Interpretation der Daten das Ungleichgewicht in der Anzahl der mono- und dizygoten Probanden berücksichtigt werden. Denn durch die geringe Anzahl dizygoter Zwillinge sind die Ergebnisse in dieser Gruppe weniger repräsentativ.

Als weiterer limitierender Faktor in der Interpretation der Daten gilt die Tatsache, dass Talinolol nicht exklusiv von einem Transporter transportiert wird, sondern Substrat von

sowohl MDR1 als auch MRP2 ist. Zur Analyse der Transporter wären besser Substrate geeignet, die wirklich nur von einem Transporter transportiert werden. So geht man für Digoxin und Fexofenadin davon aus, dass sie nur von MDR1 transportiert werden und dadurch wären z.B. diese beiden Substanzen besser zur Analyse der MDR1-Aktivität geeignet. Da Talinolol Substrat von MDR1 und MRP2 ist, ist es schwierig zu differenzieren, welcher Transporter mehr Einfluss auf die Bioverfügbarkeit und somit Pharmakokinetik hat. Da aber Talinolol ansonsten ideale Eigenschaften für die Analyse der Transporter hat, so wie in der Einleitung ausführlich beschrieben, schien es geeigneter, in dieser Studie Talinolol als Testsubstanz zu verwenden.

Eine kritische Anmerkung soll auch der Auswertung der kardialen Wirkungen von Talinolol zukommen. Zunächst muss festgehalten werden, dass die Auswirkung der kardialen Wirkungen von Talinolol nicht zentraler Punkt des Projekts war und somit die Kritik relativiert werden muss. Um die kardialen Wirkungen eines Medikaments festzustellen, ist es sinnvoll, nur eine kardial wirkende Testsubstanz zu verwenden. Zusätzlich sollte eine striktere Vorschreibung von Tätigkeiten erfolgen, um Pulsanstiege durch emotionale oder andere Gegebenheiten zu minimieren.

In unserer Studie zeigte sich eindeutig, dass exogene Faktoren eine wichtige Rolle in der Aufnahme und Wirkweise von Talinolol spielen. Auch wenn die Daten aufgrund der geringen Studienpopulation und der Diskrepanz in der Anzahl mono- und dizygoter Zwillinge nicht überinterpretiert werden dürfen, wäre es wünschenswert, in weiteren Studien den Einfluss äußerer Faktoren auf die Pharmakokinetik von verschiedenen Medikamenten mehr Bedeutung zuzuschreiben.

5 Zusammenfassung

Das zentrale Ziel dieser Studie ist es, der personalisierten Medizin, bei der für jeden Patienten für die entsprechende Erkrankung das optimale Arzneimittel in der optimalen Dosierung gewählt wird, einen Schritt näher zu kommen. Dazu ist es notwendig herauszufinden, wie viel der Wirkweise von Medikamenten sich auf die Genetik zurückführen lassen. Wenn Ergebnisse von klinischen Studien ausreichend belegen, dass der Einfluss von genetischen Faktoren bedeutsam für die Wirkweise von Medikamenten ist, kann sich eine genetische Analyse vor Therapiebeginn als sinnvoll erweisen.

Zwillingsstudien eignen sich am besten, um den Einfluss von Genen und Umweltfaktoren auf interindividuelle Unterschiede zu erforschen.

So haben wir eine Zwillingsstudie mit 20 monozygoten und 9 dizygoten Zwillingen durchgeführt. Dabei wurde Talinolol als In-vivo-Testsubstanz für die Aktivität der Membran-Transportproteine MDR1 und MRP2 analysiert.

Es wurden an drei verschiedenen Studientagen, die mindestens eine Woche auseinander liegen mussten, jeweils die gleiche Menge an Talinolol verabreicht und anschließend in festgelegten regelmäßigen Abständen die Blutkonzentration bestimmt. Man kann davon ausgehen, dass die gemessene Blutkonzentration die Aktivität von MDR1 und MRP2 widerspiegelt. Überraschenderweise zeigte sich eine sehr große Streuung der Blutkonzentrationsprofile sowohl zwischen den Personen (interindividuelle Variabilität) als auch innerhalb einer Person zwischen den unterschiedlichen Studientagen (intraindividuelle Variabilität). Die maximal gemessenen Blutkonzentrationen C_{\max} unterschieden sich zwischen den Personen bis zu einem Faktor von 29 (niedrigster gemessener Wert: 16.0 $\mu\text{g/l}$, höchster gemessener Wert: 463.3 $\mu\text{g/l}$). Innerhalb einer Person unterschieden sich die Blutkonzentrationen maximal um den Faktor 11.7 (niedrigster gemessener Wert: 16.0, höchster gemessener Wert: 187.4). Trotz der aufgetretenen großen Variabilität gab es auch Personen, die an allen drei Studientagen fast identische Blutkonzentrationen zeigten.

Zusätzlich zeigten dizygoten Zwillinge ähnlichere Blutkonzentrationsverläufe untereinander als die meisten monozygoten Zwillinge. Die Blutkonzentrationsverläufe

in Bezug zu den verschiedenen Genvarianten von MDR1 und MRP2 zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Auch die in dieser Arbeit betrachteten Pulsverläufe ähnelten sich bei dizygoten Zwillingen mehr als bei monozygoten Zwillingen. Die Korrelationskoeffizienten (r) an den Zeitpunkten zu Beginn (TP1), bei maximaler Metoprololkonzentration (TP5) und bei maximaler Talinololkonzentration (TP10+11) waren bei den monozygoten Zwillingen TP1 0.606, TP5 0.443, TP10+11 0.593 und bei den dizygoten Zwillingen TP1 0.869, TP5 0.720, TP10+11 0.933.

Die insgesamt große Variabilität in den Blutkonzentrationsverläufen innerhalb einer Person und die Tatsache, dass die Variabilität unter monozygoten Zwillingen größer als die unter dizygoten Zwillingen war, spricht für einen geringen genetischen Einfluss und einen großen Einfluss von Umweltfaktoren. Des Weiteren zeigten die Probanden mit verschiedenen Genvarianten auch keine signifikanten Unterschiede in den Konzentrationsverläufen. Dies würde bedeuten, dass es zunächst nicht sinnvoll wäre, vor jeder Arzneimitteltherapie mit Talinolol oder anderen MDR1 und MRP2-Substraten eine genetische Analyse durchzuführen, sondern besser den Einfluss äußerer Faktoren stärker in den Blick zu nehmen. Jedoch sollte bedacht werden, dass durch die geringe Anzahl dizygoter Zwillinge in unserer Studie das Ergebnis auch zum Teil vom Zufall geprägt sein kann.

Bei Betrachtung unserer Studie und den zu diesem Thema durchgeführten anderen Studien ist festzuhalten, dass sowohl die Genetik als auch Umwelteinflüsse einen Einfluss auf die Wirkweise von Medikamenten haben und abschließend noch nicht sicher geklärt werden konnte, ob es tatsächlich sinnvoll ist, vor jeder Arzneimitteltherapie eine genetische Analyse durchzuführen.

6 Literaturverzeichnis

- Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Urban und Fischer, Elsevier GmbH, München 2009
- Assmann I (1995): The actions of talinolol, a beta 1-selective beta blocker, in cardiac arrhythmia and acute myocardial infarction. *Curr Med Res Opin* **13** (6), 325-42
- Bellusci CP, Rocco C, Aulicino P, Mecikovsky D, Curras V, Hegoburu S, Bramuglia GF, Bologna R, Sen L, Mangano A (2013): Influence of MDR1 C1236T polymorphism on lopinavir plasma concentration and virological response in HIV-1-infected children. *Gene* **522** (1), 96-101
- Bernsdorf A, Giessmann T, Modess C, Wegner D, Igelbrink S, Hecker U, Haenisch S, Cascorbi I, Terhaag B, Siegmund W (2006): Simvastatin does not influence the intestinal P-glycoprotein and MPR2, and the disposition of talinolol after chronic medication in healthy subjects genotyped for the ABCB1, ABCC2 and SLCO1B1 polymorphisms. *Br J Clin Pharmacol* **61** (4), 440-50
- Boomsma D, Busjahn A, Peltonen L (2002): Classical twin studies and beyond. *Nat Rev Genet* **3** (11), 872-82
- 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), 1295-302
- Brockmoller J, Tzvetkov MV (2008): Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol* **64** (2), 133-57
- Campa D, Muller P, Edler L, Knoefel L, Barale R, Heussel CP, Thomas M, Canzian F, Risch A (2012): A comprehensive study of polymorphisms in ABCB1, ABCC2 and ABCG2 and lung cancer chemotherapy response and prognosis. *Int J Cancer* **131** (12), 2920-8
- Cascorbi I, Gerloff T, John 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 MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* **69** (3), 169-74
- Chinn LW, Kroetz DL (2007): ABCB1 pharmacogenetics: progress, pitfalls, and promise. *Clin Pharmacol Ther* **81** (2), 265-9
- Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, Mackie JE, Grant CE, Almquist KC, Stewart AJ, Kurz EU, Duncan AM, Deeley RG (1992): Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* **258** (5088), 1650-4
- Daly AK, Aithal GP, Leathart JB, Swainsbury RA, Dang TS, Day CP (2007): Genetic susceptibility to diclofenac-induced hepatotoxicity: contribution of UGT2B7, CYP2C8, and ABCC2 genotypes. *Gastroenterology* **132** (1), 272-81
- Eichelbaum M, Spannbrucker N, Steincke B, Dengler HJ (1979): Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *Eur J Clin Pharmacol* **16** (3), 183-7
- Evans WE, McLeod HL (2003): Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* **348** (6), 538-49
- Fachinfo-Cordanum (2001). "Cordanum, Cordanum 50, Cordanum 100", AWD Pharma.

- Femmer K, Bartsch R, Leonhardt U, von Littrow C, Riedel H (1975a): [The pharmacology of (+/-)-1-(4-cyclohexylureido-phenoxy)-2-hydroxy-3-tert-butylaminopropane (Talinolol, Cordanum, 02-115)]. *Pharmazie* **30** (10), 642-51
- Femmer K, Klemm W, Nurnberger H (1975b): [The pharmacokinetics of 1-(4-cyclohexylureidophenoxy)-2-hydroxy-3-tert-butylaminopropane (talinolol, Cordanum, 02-115). 1. Blood levels in dogs]. *Pharmazie* **30** (10), 673-5
- Fricker G, Miller DS (2002): Relevance of multidrug resistance proteins for intestinal drug absorption in vitro and in vivo. *Pharmacol Toxicol* **90** (1), 5-13
- Gerloff T, Roots I (2003): [Pharmacogenetic implications of transmembrane transporters for the uptake, distribution and excretion of drugs]. *Dtsch Med Wochenschr* **128** (46), 2431-6
- Germann UA, Chambers TC (1998): Molecular analysis of the multidrug transporter, P-glycoprotein. *Cytotechnology* **27** (1-3), 31-60
- Giessmann T, May K, Modess C, Wegner D, Hecker U, Zschesche M, Dazert P, Grube M, Schroeder E, Warzok R et al. (2004): Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* **76** (3), 192-200
- Gramatte T, Oertel R, Terhaag B, Kirch W (1996): Direct demonstration of small intestinal secretion and site-dependent absorption of the beta-blocker talinolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* **59** (5), 541-9
- Haenisch S, May K, Wegner D, Caliebe A, Cascorbi I, Siegmund W (2008): Influence of genetic polymorphisms on intestinal expression and rifampicin-type induction of ABCC2 and on bioavailability of talinolol. *Pharmacogenet Genomics* **18** (4), 357-65
- Haimaur 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
- Han Y, Guo D, Chen Y, Tan ZR, Zhou HH (2009): Effect of continuous silymarin administration on oral talinolol pharmacokinetics in healthy volunteers. *Xenobiotica* **39** (9), 694-9
- Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, et al. (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 U S A* **97** (7), 3473-8
- Izzedine H, Hulot JS, Villard E, Goyenville C, Dominguez S, Ghosn J, Valantin MA, Lechat P, Deray AG (2006): Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis* **194** (11), 1481-91
- Jedlitschky G, Hoffmann U, Kroemer HK (2006): Structure and function of the MRP2 (ABCC2) protein and its role in drug disposition. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* **2** (3), 351-66
- Juliano RL, Ling V (1976): A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* **455** (1), 152-62
- Kalow W, Tang BK, Endrenyi L (1998): Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* **8** (4), 283-9
- Kandt D, Hackenberger F (1975): [Clinicopharmacological studies on the bronchoconstrictive side effect of the beta-receptor blockader talinolol

- (Cordanum, 02-115) in patients with asthma or chronic obstructive lung diseases]. *Pharmazie* 30 (10), 681-3
- Kerb R, Brinkmann U, Chatskaia N, Gorbunov D, Gorboulev V, Mornhinweg E, Keil A, Eichelbaum M, Koepsell H (2002): Identification of genetic variations of the human organic cation transporter hOCT1 and their functional consequences. *Pharmacogenetics* 12 (8), 591-5
- Klemm W, Wenzel A (1975): [The pharmacokinetics of 1-(4-cyclohexylureidophenoxy)-2-hydroxy-3-tert-butylaminopropane (talinalol, Cordanum, 02-115) 2. Excretion, blood level and distribution of the ¹⁴C-labeled compound in the rat]. *Pharmazie* 30 (10), 675-7
- Konig J, Nies AT, Cui Y, Leier I, Keppler D (1999): Conjugate export pumps of the multidrug resistance protein (MRP) family: localization, substrate specificity, and MRP2-mediated drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 1461 (2), 377-94
- Krueger M, Achenbach H, Terhaag B, Haase H, Richter K, Oertel R, Preiss R (2001): Pharmacokinetics of oral talinalol following a single dose and during steady state in patients with chronic renal failure and healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther* 39 (2), 61-6
- Kurnik D, Li C, Sofowora GG, Friedman EA, Muszkat M, Xie HG, Harris PA, Williams SM, Nair UB, Wood AJ et al. (2008): Beta-1-adrenoceptor genetic variants and ethnicity independently affect response to beta-blockade. *Pharmacogenet Genomics* 18 (10), 895-902
- Larsen JT, Hansen LL, Brosen K (1999): Tacrine is not an ideal probe drug for measuring CYP1A2 activity in vivo. *Br J Clin Pharmacol* 48 (5), 663-8
- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN (1998): Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 279 (15), 1200-5
- Liu J, Liu ZQ, Yu BN, Xu FH, Mo W, Zhou G, Liu YZ, Li Q, Zhou HH (2006): beta1-Adrenergic receptor polymorphisms influence the response to metoprolol monotherapy in patients with essential hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 80 (1), 23-32
- Liu Y, Jiao J, Zhang C, Lou J (2009): A simplified method to determine five cytochrome p450 probe drugs by HPLC in a single run. *Biol Pharm Bull* 32 (4), 717-20
- Lloberas N, Torras J, Cruzado JM, Andreu F, Oppenheimer F, Sanchez-Plumed J, Gentil MA, Brunet M, Ekberg H, Grinyo JM (2011): Influence of MRP2 on MPA pharmacokinetics in renal transplant recipients-results of the Pharmacogenomic Substudy within the Symphony Study. *Nephrol Dial Transplant* 26 (11), 3784-93
- Mahesh Kumar KN, Ramu P, Rajan S, Shewade DG, Balachander J, Adithan C (2008): Genetic polymorphisms of beta1 adrenergic receptor and their influence on the cardiovascular responses to metoprolol in a South Indian population. *J Cardiovasc Pharmacol* 52 (5), 459-66
- Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL (1977): Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet* 2 (8038), 584-6
- Marzolini C, Tirona RG, Kim RB (2004): Pharmacogenomics of the OATP and OAT families. *Pharmacogenomics* 5 (3), 273-82

- Matouskova O, Slanar O, Adamkova J, Pafko P, Perlik F, Adamek S (2013): Impact of MDR1 genetic polymorphisms on postoperative piritramide analgesia. *Bratisl Lek Listy* 114 (3), 133-5
- Matthaei J: Erblichkeit in der Aktivität der Enzyme CYP2D6 und CYP2C9 sowie des Transporters OATP1B1 unter Berücksichtigung der bereits bekannten genetischen Varianten. Med. Diss. Göttingen 2014
- Meyer UA (2004): Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet* 5 (9), 669-76
- Mhaidat NM, Alshogran OY, Khabour OF, Alzoubi KH, Matalka, II, Haddadin WJ, Mahasneh IO, Aldaher AN (2011): Multi-drug resistance 1 genetic polymorphism and prediction of chemotherapy response in Hodgkin's Lymphoma. *J Exp Clin Cancer Res* 30 68
- Modersohn D, Femmer K (1975): [Studies on the action of talinolol (Cordanum, 02-115) on the coronary blood circulation]. *Pharmazie* 30 (10), 652-5
- Narumiya K, Metzger R, Bollschweiler E, Alakus H, Brabender J, Drebber U, Holscher AH, Warnecke-Eberz U (2011): Impact of ABCB1 C3435T polymorphism on lymph node regression in multimodality treatment of locally advanced esophageal cancer. *Pharmacogenomics* 12 (2), 205-14
- Niemi M, Arnold KA, Backman JT, Pasanen MK, Godtel-Armbrust U, Wojnowski L, Zanger UM, Neuvonen PJ, Eichelbaum M, Kivisto KT et al. (2006): Association of genetic polymorphism in ABCC2 with hepatic multidrug resistance-associated protein 2 expression and pravastatin pharmacokinetics. *Pharmacogenet Genomics* 16 (11), 801-8
- Nies AT, Konig J, Cui Y, Brom M, Spring H, Keppler D (2002): Structural requirements for the apical sorting of human multidrug resistance protein 2 (ABCC2). *Eur J Biochem* 269 (7), 1866-76
- Okyar A, Dressler C, Hanafy A, Baktir G, Lemmer B, Spahn-Langguth H (2012): Circadian variations in exsorbitive transport: in situ intestinal perfusion data and in vivo relevance. *Chronobiol Int* 29 (4), 443-53
- Omar M, Crowe A, Parsons R, Ee H, Tay CY, Hughes J (2012): P-glycoprotein expression in *Helicobacter pylori*-positive patients: the influence of MDR1 C3435T polymorphism. *J Dig Dis* 13 (8), 414-20
- Oswald S, Terhaag B, Siegmund W (2011): In vivo probes of drug transport: commonly used probe drugs to assess function of intestinal P-glycoprotein (ABCB1) in humans. *Handb Exp Pharmacol* (201), 403-47
- Osztovits J, Horvath T, Littvay L, Steinbach R, Jermendy A, Tarnoki A, Tarnoki D, Metneki J, Kollai M, Jermendy G (2011): Effects of genetic vs. environmental factors on cardiovascular autonomic function: a twin study. *Diabet Med* 28 (10), 1241-8
- Pathak SM, Udupa N (2010): Pre-clinical evidence of enhanced oral bioavailability of the P-glycoprotein substrate talinolol in combination with morin. *Biopharm Drug Dispos* 31 (2-3), 202-14
- Pond SM, Tozer TN (1984): First-pass elimination. Basic concepts and clinical consequences. *Clin Pharmacokinet* 9 (1), 1-25
- Ponnala S, Chaudhari JR, Jaleel MA, Bhiladvala D, Kaipa PR, Das UN, Hasan Q (2012): Role of MDR1 C3435T and GABRG2 C588T gene polymorphisms in seizure occurrence and MDR1 effect on anti-epileptic drug (phenytoin) absorption. *Genet Test Mol Biomarkers* 16 (6), 550-7

- Rau T, Erney B, Gores R, Eschenhagen T, Beck J, Langer T (2006): High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: impact of ABCB2 polymorphisms on plasma concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 80 (5), 468-76
- Ruik Z, Junhua C, Wenxing P (2010): In vitro and in vivo evaluation of the effects of duloxetine on P-gp function. *Hum Psychopharmacol* 25 (7-8), 553-9
- Sakaeda T, Nakamura T, Okumura K (2003): Pharmacogenetics of MDR1 and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Pharmacogenomics* 4 (4), 397-410
- Schinkel AH (1997): The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol* 8 (3), 161-70
- Schinkel AH (1998): Pharmacological insights from P-glycoprotein knockout mice. *Int J Clin Pharmacol Ther* 36 (1), 9-13
- Schwab M, Marx C, Zanger UM, Eichelbaum M; Fischer-Bosch M (2002): Pharmakogenetik der Zytochrom-P-450-Enzyme: Bedeutung für Wirkungen und Nebenwirkungen von Medikamenten. *Dtsch Arztebl* 2002; 99(8): A-497/B-400/C-377
- Schwarz UI, Seemann D, Oertel R, Miehle S, Kuhlisch E, Fromm MF, Kim RB, Bailey DG, Kirch W (2005): Grapefruit juice ingestion significantly reduces talinolol bioavailability. *Clin Pharmacol Ther* 77 (4), 291-301
- Schwarz UI, Hanso H, Oertel R, Miehle S, Kuhlisch E, Glaeser H, Hitzl M, Dresser GK, Kim RB, Kirch W (2007): Induction of intestinal P-glycoprotein by St John's wort reduces the oral bioavailability of talinolol. *Clin Pharmacol Ther* 81 (5), 669-78
- Shirasaka Y, Li Y, Shibue Y, Kuraoka E, Spahn-Langguth H, Kato Y, Langguth P, Tamai I (2009): Concentration-dependent effect of naringin on intestinal absorption of beta(1)-adrenoceptor antagonist talinolol mediated by p-glycoprotein and organic anion transporting polypeptide (Oatp). *Pharm Res* 26 (3), 560-7
- Shon JH, Yoon YR, Hong WS, Nguyen PM, Lee SS, Choi YG, Cha IJ, Shin JG (2005): Effect of itraconazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of fexofenadine in relation to the MDR1 genetic polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 78 (2), 191-201
- Siegmund W, Ludwig K, Giessmann T, Dazert P, Schroeder E, Sperker B, Warzok R, Kroemer HK, Cascorbi I (2002): The effects of the human MDR1 genotype on the expression of duodenal P-glycoprotein and disposition of the probe drug talinolol. *Clin Pharmacol Ther* 72 (5), 572-83
- Siegmund W, Ludwig K, Engel G, Zschiesche M, Franke G, Hoffmann A, Terhaag B, Weitschies W (2003): Variability of intestinal expression of P-glycoprotein in healthy volunteers as described by absorption of talinolol from four bioequivalent tablets. *J Pharm Sci* 92 (3), 604-10
- Simon C, Stieger B, Kullak-Ublick GA, Fried M, Mueller S, Fritschy JM, Wieser HG, Pauli-Magnus C (2007): Intestinal expression of cytochrome P450 enzymes and ABC transporters and carbamazepine and phenytoin disposition. *Acta Neurol Scand* 115 (4), 232-42
- Snieder H, van Doornen LJ, Boomsma DI, Thayer JF (2007): Sex differences and heritability of two indices of heart rate dynamics: a twin study. *Twin Res Hum Genet* 10 (2), 364-72
- Somogy A (2008): Evolution of pharmacogenomics. *Proc West Pharmacol Soc* 51 1-4

- Steinberger D, Lentjes K-U, Post M (2011): Pharmakogenetik - Mit der genetischen Diagnostik von Medikamentenunverträglichkeit zur individualisierten Arzneimitteltherapie. Bio.logis Zentrum für Humangenetik.
- Stewart NA, Buch SC, Conrads TP, Branch RA (2011): A UPLC-MS/MS assay of the "Pittsburgh cocktail": six CYP probe-drug/metabolites from human plasma and urine using stable isotope dilution. *Analyst* 136 (3), 605-12
- Tirona RG, Leake BF, Merino G, Kim RB (2001): Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J Biol Chem* 276 (38), 35669-75
- Trausch B, Oertel R, Richter K, Gramatte T (1995): Disposition and bioavailability of the beta 1-adrenoceptor antagonist talinolol in man. *Biopharm Drug Dispos* 16 (5), 403-14
- Trautner HM: Lehrbuch der Entwicklungspsychologie: Grundlagen und Methoden. Hogrefe Verlag, Göttingen 1992
- Turpault S, Brian W, Van Horn R, Santoni A, Poitiers F, Donazzolo Y, Boulenc X (2009): Pharmacokinetic assessment of a five-probe cocktail for CYPs 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 and 3A. *Br J Clin Pharmacol* 68 (6), 928-35
- Tzvetkov MV, Seitz T, Bokelmann K, Mueller T, Brockmoller J, Koepsell H (2014): Does the haplotype Met408-Del420, which was apparently predictive for imatinib efficacy, really exist and how strongly may it affect OCT1 activity? *Blood* 123 (9), 1427-9
- Vesell ES (1989): Pharmacogenetic perspectives gained from twin and family studies. *Pharmacol Ther* 41 (3), 535-52
- Vesell ES (1991): Genetic and environmental factors causing variation in drug response. *Mutat Res* 247 (2), 241-57
- Vesell ES, Page JG (1968a): Genetic control of drug levels in man: phenylbutazone. *Science* 159 (3822), 1479-80
- Vesell ES, Page JG (1968b): Genetic control of drug levels in man: antipyrine. *Science* 161 (3836), 72-3
- Wang D, Sadee W (2006): Searching for polymorphisms that affect gene expression and mRNA processing: example ABCB1 (MDR1). *AAPS J* 8 (3), E515-20
- Wehling M: Klinische Pharmakologie. Thieme, Stuttgart 2005
- Weitschies W, Bernsdorf A, Giessmann T, Zschiesche M, Modess C, Hartmann V, Mrazek C, Wegner D, Nagel S, Siegmund W (2005): The talinolol double-peak phenomenon is likely caused by presystemic processing after uptake from gut lumen. *Pharm Res* 22 (5), 728-35
- Westphal K, Weinbrenner A, Giessmann T, Stuhr M, Franke G, Zschiesche M, Oertel R, Terhaag B, Kroemer HK, Siegmund W (2000a): Oral bioavailability of digoxin is enhanced by talinolol: evidence for involvement of intestinal P-glycoprotein. *Clin Pharmacol Ther* 68 (1), 6-12
- Westphal K, Weinbrenner A, Zschiesche M, Franke G, Knoke M, Oertel R, Fritz P, von Richter O, Warzok R, Hachenberg T et al. (2000b): Induction of P-glycoprotein by rifampin increases intestinal secretion of talinolol in human beings: a new type of drug/drug interaction. *Clin Pharmacol Ther* 68 (4), 345-55
- Yin OQ, Lam SS, Lo CM, Chow MS (2004): Rapid determination of five probe drugs and their metabolites in human plasma and urine by liquid

- chromatography/tandem mass spectrometry: application to cytochrome P450 phenotyping studies. *Rapid Commun Mass Spectrom* 18 (23), 2921-33
- Zagermann-Muncke P (2006): Wenn Arzneistoffe Transportproteine beeinflussen. Von <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2381> (Zugriff am 15.03.2015)
- Zhou H, Tong Z, McLeod JF (2004): "Cocktail" approaches and strategies in drug development: valuable tool or flawed science? *J Clin Pharmacol* 44 (2), 120-34
- Zschesche M, Lemma GL, Klebingat KJ, Franke G, Terhaag B, Hoffmann A, Gramatte T, Kroemer HK, Siegmund W (2002): Stereoselective disposition of talinolol in man. *J Pharm Sci* 91 (2), 303-11
- “<http://www.snpedia.com/index.php/Rs717620>“ (Zugriff am 18.01.2015)
- “<http://www.snpedia.com/index.php/Rs2273697>“ (Zugriff am 18.01.2015)
- www.chemgapedia.de (Zugriff am 16.10.2014)
- www.chirurgie-frankfurt.com (Zugriff am 16.10.2014)

Danksagung:

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Brockmöller für die Promotionsmöglichkeit und die sehr gute und stets freundliche Betreuung bei dem Verfassen dieser Arbeit.

Ich danke Frau Dr. med. Cordula Sachse-Seeboth und Herrn Daniel Sehart für die gute Einarbeitung und die sehr angenehme Zusammenarbeit während der Studiendurchführung auf der Probandenstation der klinischen Pharmakologie.

Ein weiterer besonderer Dank geht an Herrn Dr. med. Johannes Matthaei für die allzeit sehr gute Betreuung sowohl während der Studiendurchführung, als auch beim Verfassen dieser Arbeit.

Desweiteren danke ich unserer Study Nurse Ulrike Schöning für die Unterstützung der Studiendurchführung auf der Probandenstation.

Zudem danke ich den zuständigen Mitarbeitern in den Laboren am Institut für Klinische Pharmakologie der Universitätsmedizin Göttingen sowie am Dr. Margarete-Fischer-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie Stuttgart für die Durchführung der bioanalytischen Untersuchungen.

Zuletzt möchte ich allen Zwillingspaaren danken, die an dieser Studie teilgenommen haben.

Lebenslauf:

Geboren bin ich am 01.11.1988 in München. Meine Kindheit und die gesamte Schulzeit habe ich in Homburg (Saar) verbracht. Meine Grundschulzeit begann 1995 in der Grundschule Hohenburg in Homburg. Danach besuchte ich das Christian von Mannlich Gymnasium, an dem ich 2008 das Abitur ablegte. Die gymnasiale Zeit wurde zudem geprägt durch den Leistungssport, den ich in der Leichtathletik betrieben habe.

Mein Humanmedizinstudium absolvierte ich von 2008-2015 an der Georg-August-Universität Göttingen. Dieses beinhaltete unter anderem Famulaturen in Göttingen, Tübingen, Salzburg und Wuhan (China) und das Praktische Jahr in Göttingen, Szeged (Ungarn) und Schwerin. Im Juli 2011 begann ich die hier schriftlich abgefasste klinische Studie mit Zwillingen in der Abteilung der klinische Pharmakologie der Universität Göttingen mit dem Thema *Grundlegende Untersuchungen zur erblichen Variation der Aktivitäten der Efflux-Transportproteine MDR1 und MRP2: Eine Zwillingsstudie mit Talinolol als in-vivo Testsubstanz*. Von 2011-2014 leitete ich im Hochschulsport die Abteilung Leichtathletik und hatte die Obmannfunktion inne. Im Mai 2015 legte ich die mündliche Abschlussprüfung der ärztlichen Prüfung in Göttingen ab und freue mich ab September in den Helios Kliniken Schwerin in der Abteilung Innere Medizin meine ärztliche Tätigkeit aufzunehmen.

Jenseits beruflicher Interessen gilt meine Leidenschaft dem Sport und der Trainertätigkeit in der Leichtathletik. Daneben interessiere ich mich für andere Kulturen und reise sehr gerne.