Arzneitherapieempfehlungen auf pharmakogenetischer Basis

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach

Klinische Pharmakologie

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Julia Kirchheiner, geb. Stingl
geboren am 28.07.1971 in Nürnberg

Dekane: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen
Prof. Dr. Martin Paul

Eingereicht: Oktober/2003
Öffentlich-wissenschaftlicher Vortrag: 21. Juni 2004

Gutachter: 1. Prof. Dr. Gerd Geisslinger, Institut für Klinische Pharmakologie Univ. Frankfurt
2. Prof. Dr. Manfred Göthert, Institut für Pharmakologie, Univ. zu Bonn

Diese Habilitationsschrift ist eine kumulative Arbeit und basiert auf dem Inhalt der nachfolgenden Publikationen (P1-11), die im Anhang zusammengestellt sind.

P1 **Kirchheiner J**, Meineke I, Müller G, Bauer S, Rohde W, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Influence of CYP2C9 and CYP2D6 polymorphisms on pharmacokinetics of nateglinide in genotyped healthy volunteers. *Clin Pharmacokinetics* 2004; in press. (Impact Faktor, IF 2002: 4,20)

P2 **Kirchheiner J**, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, Roots I. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 71: 286-296. (IF 5,06)

P3 **Kirchheiner J**, Bauer S, Meineke I, Rohde W, Prang V, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Impact of CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tolbutamide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 101-109. (IF 5,54)

P4 **Kirchheiner J**, Störmer E, Meisel C, Steinbach N, Roots I, Brockmöller J. Influence of *CYP2C9* genetic polymorphisms on pharmacokinetics of celecoxib and its metabolites. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 473-480. (IF 5,54)

P5 **Kirchheiner J**, Meineke I, Steinbach N, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Pharmacokinetics of diclofenac and inhibition of cyclooxygenases 1 and 2: no dependence from the CYP2C9 genetic polymorphism in humans. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55: 51-61. (IF 2,2)

P6 **Kirchheiner J**, Meineke I, Freytag G, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Enantiospecific effects of cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenases 1 and 2. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 62-75. (IF 5,06)

P7 **Kirchheiner J**, Kudlicz D, Meisel C, Bauer S, Meineke I, Roots I, Brockmöller J. Influence of CYP2C9-polymorphisms on pharmacokinetics and cholesterol lowering activity of (-)3S,5R- and (+)3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74: 186-194. (IF 5,06)

P8 **Kirchheiner J**, Müller G, Meineke I, Wernecke KD, Roots I, Brockmöller J. Effects of polymorphisms in CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 on trimipramine pharmacokinetics. *J J Clin Psychopharmacol* 2003; 23:459-66. (IF 4,01)

P9 **Kirchheiner J**, Meineke I, Müller G, Roots I, Brockmöller J. Contributions of CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 to the biotransformation of E- and Z-doxepin in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 571-580. (IF 5,54)

P10 **Kirchheiner J**, Brøsen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjöqvist F, Spina E, Brockmöller J. CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* 2001; 104: 173-192. (IF 2,11)

P11 **Kirchheiner J,** Nickchen K, Bauer M, Licinio J, Wong ML, Roots I, Brockmöller J. Therapeutic implications from pharmacogenetics in antidepressant and antipsychotic drug therapy. *Mol Psychiatr* 2004; in press. (IF 6,25)

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINFÜHRUNG 4

1.1 GENETISCHE VARIABILITÄT UND IHRE FOLGEN FÜR ARZNEIMITTELWIRKUNGEN UND -RISIKEN 4

1.1.1 Genetische Polymorphismen im Bereich der Pharmakokinetik 6

1.1.2 Genetische Variabilität auf Seiten der Pharmakodynamik 10

1.2 PHARMAKOGENETISCHE DIAGNOSTIK IN DER ARZNEITHERAPIE 12

1.3 PHARMAKOGENETISCH BASIERTE THERAPIEEMPFEHLUNGEN 13

1.4 ZIELSETZUNG 14

2 ZUSAMMENFASSUNG DER METHODIK 16

2.1 PROBANDENSTUDIEN (P 1-9) 16

2.2 METAANALYSE PHARMAKOGENETISCHER DATEN (P10 UND P11) 17

2.3 KALKULATIONSMETHODEN FÜR DOSISEMPFEHLUNGEN 18

3 ZUSAMMENFASSENDE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE 21

3.1 PROBANDENSTUDIEN ZUM *CYP2C9*-POLYMORPHISMUS 21

3.1.1 Studien zu oralen Antidiabetika (P1-3) 21

3.1.2 Studien zu nichtsteroidalen Antiphlogistika (P4-6) 22

3.1.3 Studie zu Cholesterin-Synthesehemmer Fluvastatin (P7) 24

3.2 BEDEUTUNG DER CYP2D6-, CYP2C19-, UND CYP2C9-POLYMORPHISMEN FÜR DIE PHARMAKOKINETIK VON DOXEPIN UND TRIMIPRAMIN (P8, 9) 27

3.3 METAANALYSE PHARMAKOGENETISCHER DATEN IN DER THERAPIE MIT PSYCHOPHARMAKA (P10, 11) 29

4 DISKUSSION UND MEDIZINISCHE RELEVANZ 34

4.1 AUSWIRKUNG PHARMAKOGENETISCHER VARIABILITÄT AUF DEN THERAPIEERFOLG 34

4.2 PHARMAKOGENETISCH BASIERTE DOSIERUNGSEMPFEHLUNGEN IM KONTEXT MIT ANDEREN EINFLUSSFAKTOREN AUF DEN ARZNEIMITTELMETABOLISMUS 37

4.3 ZUKÜNFTIGE PERSPEKTIVEN PHARMAKOGENOMISCHER FORSCHUNG 38

5 ZUSAMMENFASSUNG 40

REFERENZEN 42

DANKSAGUNG 48

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG 49

1 Einführung

1.1 Genetische Variabilität und ihre Folgen für Arzneimittelwirkungen und -risiken

Bei der Vorordnung eines Medikamentes lässt sich oft nicht ausreichend vorhersagen, ob bei einem Patienten ein zufrieden stellender Therapieerfolg erreicht wird, oder ob die Gabe zu Therapieversagen bzw. Nebenwirkungen führen wird. Nach Erhebungen von Lazarou et al. [Lazarou, 1998] beträgt bei Klinikpatienten die Inzidenz schwerer unerwünschter Arzneimittelwirkungen 6,7 Prozent, die der tödlichen 0,37 Prozent. Arzneimittelnebenwirkungen sind damit die fünfthäufigste Todesursache in den USA – nach koronarer Herzkrankheit, Krebs, Schlaganfall und Lungenkrankheiten und noch vor Unfällen, Diabetes mellitus und Pneumonie. Allein die direkten Folgekosten von Arzneimittelnebenwirkungen werden in den Vereinigten Staaten auf 1,4 bis 4 Milliarden US-Dollar im Jahr geschätzt [Lazarou, 1998]. Für Europa liegen ähnliche Daten vor [Schneeweiss, 2002].

Die Pharmakogenetik befasst sich mit dem Einfluss genetischer Variabilität auf die Arzneimittelwirkung [Evans, 2003]. Eines der wesentlichen Ziele ist es, die Auswahl und Dosierung eines Arzneimittels optimal an den individuellen Bedarf eines Patienten anzupassen und so relative Überdosierungen, die Ursache vieler Arzneimittelnebenwirkungen sind, zu vermeiden. Genetische Variabilität beeinflusst die Wirkung von Arzneimitteln von der Absorption bis zur vollständigen Elimination [Evans, 2003]. In Abb. 1 sind die Auswirkungen genetischer Varianten auf die individuelle Arzneimittelwirkung dargestellt. Genetische Variabilität findet man auf Seiten der Pharmakokinetik (Absorption, Distribution, Metabolismus und Elimination) eines Medikamentes sowie der Pharmakodynamik (Medikamenteneffekte). Nahezu alle Enzyme des Fremdstoffmetabolismus weisen genetische Varianten (Polymorphismen) auf, die zu Aktivitätseinschränkung bis hin zum völligen Ausfall führen können [Evans, 1999]. Bei heterozygoten Trägern sind im Vergleich zu den homozygoten die betreffenden Aktivitätsunterschiede abgeschwächt. Varianten in Genen von Arzneimitteltransportern beeinflussen die Aufnahme und Verteilung von Fremdstoffen im Organismus. Genetische Varianten in den Zielstrukturen von Medikamenten, wie Arzneimittelrezeptoren oder intrazellulären Molekülen der Signaltransduktion und Genregulation, haben Auswirkungen auf die molekularen Arzneimitteleffekte.

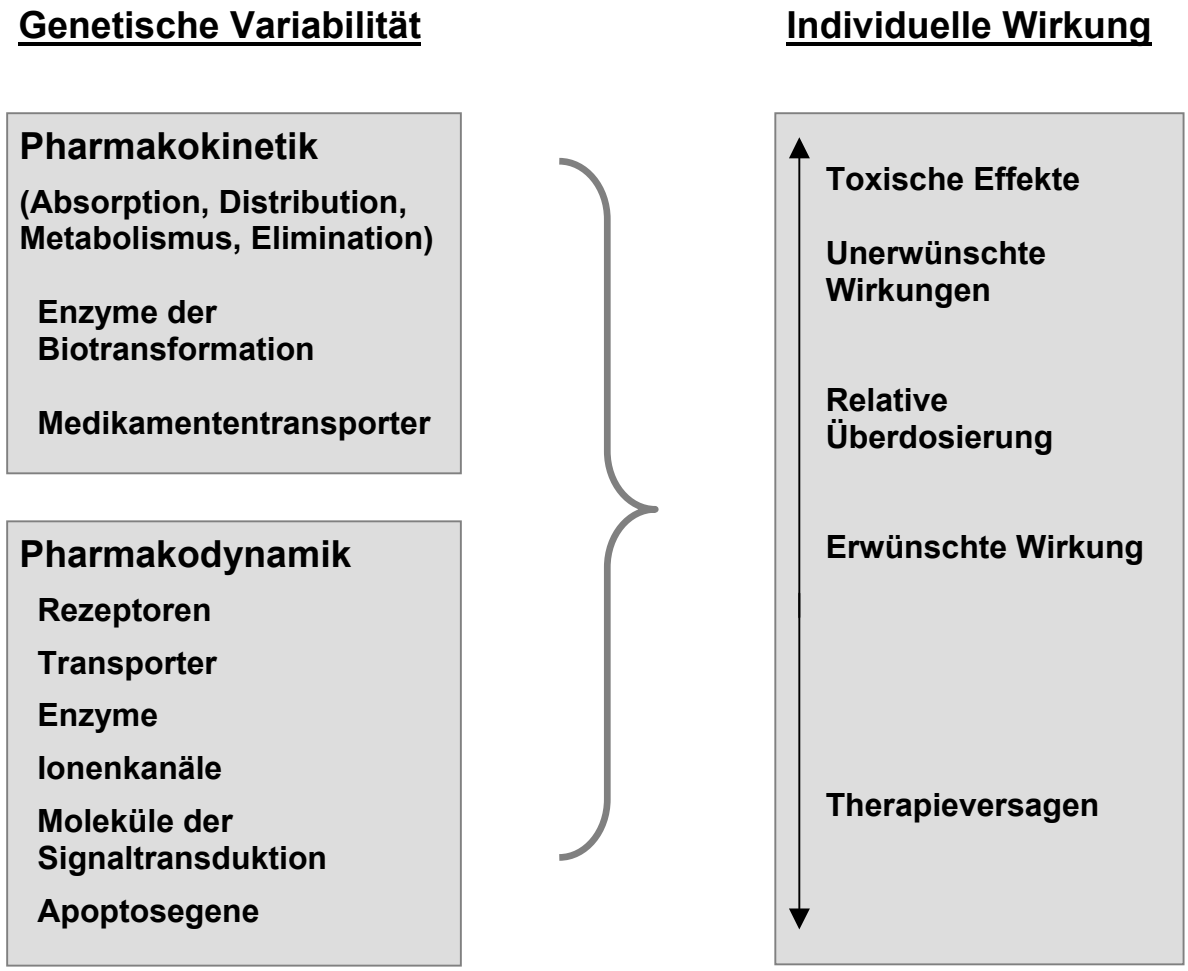

Abb. 1: Zusammenspiel pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Strukturen als Ursachen für Variabilität in der Arzneimittelwirkung.

In Zukunft erhofft man sich aufgrund der raschen Entwicklung molekularbiologischer Technologien, die genetische Variabilität in der Arzneimittelwirkung auf breiter Basis aufklären zu können und dieses Wissen sowohl für die Arzneimittelentwicklung als auch zur Individualisierung der modernen Arzneitherapie einzusetzen.

Genetische Polymorphismen in Molekülen, die eine Rolle für die Krankheitsgenese spielen, haben häufig auch Auswirkungen auf die Wirksamkeit einer Arzneitherapie. Umgekehrt können Varianten in Enzymen des Arzneistoffmetabolismus auch Auswirkungen auf die Entstehung von Krankheiten (Krankheitssuszeptibilität) haben, da sie auch am Abbau körpereigener Substanzen und Fremdstoffe aus Nahrung und der Umwelt mitwirken. [Lindpaintner, 2003]. Bei bestehenden Krankheiten kann die molekulargenetische Information in vielen Fällen zu einer präziseren Diagnose führen und somit eine gezielte Therapie ermöglichen.

1.1.1 Genetische Polymorphismen im Bereich der Pharmakokinetik

Pharmakogenetische Varianten in Enzymen des Arzneistoffmetabolismus führen zu Unterschieden in der Pharmakokinetik, also zu Unterschieden in den Konzentrationen von Arzneistoffen und deren Metaboliten im Blut und in den Zielgeweben. Die Pharmakokinetik von Arzneimitteln und der Einfluss genetischer Variabilität wird durch pharmakokinetische Kenngrößen wie Plasmakonzentrationen, Clearance, Verteilungsvolumen, Eliminationshalbwertszeit und Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (*area under the concentration time curve*, AUC) beschrieben.

Tabelle 1 enthält wichtige Enzyme des Arzneimittelstoffwechsels, die einen funktionell bedeutsamen erblichen Polymorphismus aufweisen. Die so genannten Phase-I-Reaktionen der Arzneistoff-Biotransformation umfassen kleine Molekülmodifikationen (Oxidations- und Reduktionsreaktionen) und werden meist durch die Enzymfamilie der Cytochrom-P450-Enzyme (CYP) vermittelt. Fünf Vertreter dieser Enzymfamilie, CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 und CYP1A2, metabolisieren den weitaus größten Teil aller lebergängigen Arzneimittel [Shimada, 1994]. Für CYP2D6 und CYP2C19 sind genetische Polymorphismen bekannt, die zu einem völligen Fehlen des jeweiligen Enzyms führen [De Morais, 1994, Sachse, 1997]. Bei CYP2C9 gibt es Polymorphismen, welche die Enzymaktivität stark herabsetzen [Miners, 1998]. Die interindividuelle Variabilität der Aktivität von CYP3A4 ist hingegen nach heutigem Kenntnisstand nur zu einem geringen Teil durch definierte Genpolymorphismen erklärbar [Sata, 2000].

Tabelle 1: Wichtige Enzyme des Arzneimittel- bzw. Fremdstoff-Stoffwechsels, mit einem erblichen Polymorphismus

Phase I	**Funktionelle Bedeutung des Polymorphismus**	**Häufigkeit homo-zygoter genetischer Varianten***	**Bedeutung u.a. für folgende Arzneistoffe**
Cytochrom P450 (CYP) 1A2	hohe Induzierbarkeit	46%	Clozapin, Imipramin, Koffein, Lidocain, Paracetamol, Theophyllin
CYP2A6	reduzierte Aktivität	1%	Fadrazol, Halothan, Losigamon, Nikotin, Tegafur
CYP2B6	reduzierte Aktivität	2%	Bupropion, Propofol
CYP2C8	reduzierte Aktivität	1,7%	Carbamazepin, Cerivastatin, Paclitaxel, Pioglitazon, Rosiglitazon, Tolbutamid, Verapamil, Warfarin
CYP2C9	reduzierte Aktivität	1-3%	Celecoxib, Clopidogrel, Diclofenac, Fluvastatin, Glibenclamid, Ibuprofen, Losartan, Phenprocoumon, Phenytoin, Piroxicam, Sildenafil, Tolbutamid, Torasemid, Warfarin
CYP2C19	fehlende Aktivität	3%	Diazepam, Lansoprazol, Omeprazol, Pantoprazol, Proguanil, Propranolol, Rabeprazol
CYP2D6	fehlende Aktivität und extrem hohe Aktivität durch Genduplikation	7% 2-3%	Ajmalin, Amitriptylin, Carvedilol, Codein, Flecainid, Fluoxetin, Galanthamin, Haloperidol, Metoprolol, Mexiletin, Ondansetron, Propafenon, Tamoxifen, Timolol, Tropisetron
CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7	Aktivitätsabschwächung Expression von CYP3A7 beim Erwachsenen	mehrere, teils seltene Mutationen	Chinidin, Cyclosporin A, Cortisol, Dapson, Diltiazem, Erythromycin, Lidokain, Midazolam, Nifedipin, Paclitaxel, Sildenafil, Simvastatin, Tacrolimus, Triazolam, Verapamil, Zolpidem
Flavinabhängige Monooxygenase 3 (FMO3)	verminderte Aktivität	9%	Perazin, Sulindac, Albendazol, Benzydamin
Butyrylcholinesterase (BCHE)	verminderte Aktivität	0,03%	Succinylcholin
Dihydropyrimidin-dehydrogenase (DPYD)	verminderte Aktivität	< 1%	5-Fluoruracil
Phase II			
Arylamin-N-Acetyltransferase 2 (NAT2)	langsame Acetylierer	55%	Isoniazid, Hydralazin, Sulfonamide, Procainamid, Dapson
Uridin-Diphosphat-Glukuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1)	reduzierte Aktivität	10,9%	Irinotecan
Glutathion-S-Transferase M1 (GSTM1)	fehlende Aktivität	55%	Disposition zu Harnblasenkarzinom
Catechol-O-Methyltransferase (COMT)	verminderte Aktivität	25%	Estrogene, L-Dopa, α-Methyldopa, Amphetamin
Thiopurin-S-Methyltransferase (TPMT)	fehlende Aktivität	0,3%	Azathioprin, 6-Mercaptopurin

* Häufigkeit auf homozygoten Genotyp unter Kaukasiern bezogen. Tabelle nach [Kirchheiner, 2003].

Das Enzym CYP2D6 ist am Stoffwechsel von knapp einem Viertel aller Arzneimittel beteiligt, darunter sind viele Antidepressiva, Antipsychotika, Beta-Adrenorezeptor-Antagonisten, Antiarrhythmika, Antitussiva und Antiemetika. Eine genetisch bedingte Defizienz tritt bei ca. 7% der weißen Bevölkerung auf (Langsam-Metabolisierer, *poor metabolizer*, PM) und führt dazu, dass Medikamente, die ganz oder überwiegend über CYP2D6 metabolisiert werden, eine deutlich verlangsamte Elimination, d.h. höhere und länger anhaltende Plasmaspiegel, aufweisen. Dadurch erhöht sich die Wirkung einer Standarddosis erheblich, und es treten gehäuft Nebenwirkungen im Sinne einer Überdosierungsreaktion auf. Die Ursache liegt in genetischen Polymorphismen, die bei Langsam-Metabolisierern homozygot zu finden sind [Sachse, 1997]. Bei CYP2D6 gibt es außerdem bei ca. 1-3% der weißen Bevölkerung den Sonderfall einer stark erhöhten Aktivität aufgrund einer Genduplikation (ultraschnelle Metabolisierer, *ultrafast metabolizer*, UM) [Dahl, 1995]. Die betreffenden Individuen besitzen mehrere aktive Gene auf Chromosom 22 und eliminieren CYP2D6-Substrate extrem schnell. Die restlichen Individuen sind entweder heterozygote Träger (etwa 40% der weißen Bevölkerung, intermediäre Metabolisierer, *intermediate metabolizer*, IM) oder Träger zweier aktiver *CYP2D6* Allele (etwa 50%, Normal-Metabolisierer, *extensive metabolizer*, EM).

Ein weiteres polymorphes Enzym mit Bedeutung für die Pharmakokinetik vieler Arzneimittel ist CYP2C19, das unter anderem am Stoffwechsel von Protonenpumpenhemmern, Benzodiazepinen, Antidepressiva und Phenytoin beteiligt ist [Desta, 2002]. Etwa 3% der weißen Bevölkerung sind Langsam-Metabolisierer ohne CYP2C19-Aktivität [Xie, 1999]. Es bestehen große interethnische Unterschiede in der Häufigkeit von Genpolymorphismen von *CYP2C19*, z. B. wurden in asiatischen Bevölkerungen 12-22% Langsam-Metabolisierer gefunden [Bertilsson, 1995].

Die Bedeutung von CYP2C9 im Arzneistoffwechsel des Menschen wurde erst relativ spät untersucht, obwohl aus In-vitro-Studien bereits zahlreiche Substrate wie nichtsteroidale Antiphlogistika, orale Antidiabetika, orale Antikoagulantien sowie Losartan und Phenytoin bekannt waren [Miners, 1998]. Zwei *CYP2C9*-Allele führen zu einer herabgesetzten Enzymaktivität: *CYP2C9*3* bewirkt bei den meisten CYP2C9-Substraten einen verlangsamten Abbau und liegt bei weniger als 1% der Kaukasier homozygot vor, während *CYP2C9*2* (ebenfalls zu 1% homozygot), in den meisten klinischen Studien nur geringe Auswirkung auf die Enzymaktivität zeigte [Kirchheiner, 2002, Kirchheiner, 2002, Kirchheiner, 2002, Yasar, 2001]. Eine Ausnahme macht das CYP2C9-Substrat S-Warfarin:

Träger des Genotyps *CYP2C9*2/*2* haben sowohl eine signifikant niedrigere orale S-Warfarin-Clearance [Scordo, 2002] als auch ein höheres Blutungsrisiko [Aithal, 1999].

Tabelle 2: Medikamente, mit mindestens einem Abbauweg über CYP2C9

Medikamente			
NSAIDs	**Antiinfektiva**	**Orale Antidiabetika**	**Hypnotika, Antiepileptika**
Aceclofenac	Dapson	Rosiglitazon	
Acetylsalicylsäure	Sulfadiazin	Troglitazon	Phenobarbital
Azapropazon	Sulfamethoxazol		Hexobarbital
Celecoxib	Trimethoprim	Tolbutamid	Phenytoin
Diclofenac		Glibenclamid	Valproinsäure
Flurbiprofen	Terbinafin	Glimepirid	
S-Ibuprofen			Temazepam
Indomethazin	Azidothymidin	Nateglinid	Zopiclon
Lornoxicam	Nelfinavir		Zolpidem
Mefenaminsäure	Nevirapin		
Meloxicam			
S-Naproxen	**Angiotensin-Antagonisten**	**Vitamin-K-Antagonisten**	**Psychopharmaka**
Phenylbutazon			
Piroxicam		S-Warfarin	R-Fluoxetin
Suprofen	Losartan	R,S-Phenprocoumon	Moclobemid
Tenoxicam	Candesartan	R,S-Acenocoumarol	Sertralin
Valdecoxib	Irbesartan	Dicoumarol	Venlafaxin
			Perazin
			Perphenazin
Analgetika	**Leukotrienantagonisten, Lipoxigenasehemmer**	**Diuretika**	**Diverse**
Paracetamol		Torasemid	Fluvastatin
Antipyrin	Zafirlukast	Tienilinsäure	Tetrahydro-cannabinol
Aminopyrin	Zileuton		Sildenafil
Amidopyrin			Seratrodast
Phenacetin			Carvedilol
Giftstoffe			
Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe	**Insektizide, Herbizide**		**Diverse**
	Chlorpyrifos		Ochratoxin A
	Methoxychlor		Nikotin
Benzo[a]pyren			
Dibenzo[a]pyren			
Naphthalen			
Körpereigene und synthetische Hormone und andere körpereigene Mediatoren			
Steroidhormone	**Synthetische Hormone**	**Fettsäurederivate**	
Estradiol	Desogestrel	Arachidonsäure	
Estron	Tamoxifen	Linolensäure	
Progesteron			
Testosteron			

Unterstrichen: Medizinische Bedeutung durch Untersuchungen am Menschen belegt oder sehr wahrscheinlich, nach [Bertz, 1997, Rendic, 2002]

Neben der Familie der Cytochrom-P450-Enzyme gibt es noch viele weitere Enzyme des Arzneistoffwechsels, welche genetische Polymorphismen tragen (Tabelle 1). Während die Enzyme der Phase I des Arzneistoffmetabolismus vorwiegend an Oxidations- und Reduktions-Reaktionen beteiligt sind, vermitteln die Enzyme der Phase II Konjugationen mit wasserlöslichen Säureresten, wodurch Arzneimittel nierengängig werden. Die Häufigkeiten von genetischen Polymorphismen einiger Phase-II-Enzyme sowie die Auswirkungen auf den Arzneimittelstoffwechsel sind in Tabelle 1 gelistet.

1.1.2 Genetische Variabilität auf Seiten der Pharmakodynamik

Genetische Variabilität in den Zielstrukturen der Arzneimittelwirkung, wie Rezeptoren oder Molekülen der Signaltransduktion können die Wirkung und Tolerabilität von Arzneimitteln beeinflussen. Ein Beispiel dafür ist der ß2-Adrenorezeptor, welcher an der Regulation des Gefäßtonus und der Bronchodilatation beteiligt ist. Zwei Punktmutationen, Arg16Gly und Gln27Glu, gehen mit veränderter Wirkung von ß2-Adrenorezeptor-Agonisten einher, sowohl was die Vasodilatation, als auch was die Bronchodilatation betrifft [Dishy, 2001, Drysdale, 2000, Israel, 2000]. Weitere genetische Polymorphismen mit Einfluss auf die Arzneimittelwirkung sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Polymorphe Gene mit Einfluss auf die Arzneimittelwirkung am Rezeptor oder an der Zielstruktur

Gen	Beispiel	Klinische Auswirkung	Referenz
Beta-2-Adrenozeptor (ADRB2)	Albuterol, Isoproterenol	Unterschiedliche Bronchodilatation bei bestimmten Allelen	[Dishy, 2001, Drysdale, 2000, Israel, 2000]
		Tachyphylaxie, Agonist-vermittelte Desensibilisierung und Wirkung von Genotyp abhängig	
Dopamintransporter (DAT1)	L-Dopa	Auftreten von Psychose oder Dyskinesie	[Kaiser, 2003]
5-Lipoxygenase (ALOX5)	Zileuton	Keine antiasthmatische Wirksamkeit bei Trägern der Tandem-Repeat-Promotor-Variante	[Drazen, 1999]
Apolipoprotein E (APOE)	Tacrin	Wirksam nur bei ApoE4-negativen Patienten mit M. Alzheimer	[Poirier, 1995]
O-6-Methylguanin-DNA-Methyl-transferase (MGMT)	Alkylantien	Promotor-Methylierung und günstige Therapieergebnisse bei Patienten mit Gliomen	[Esteller, 2000]
Spannungsabhängiger Kaliumkanal Typ 2 (KCNE2)	Sulfamethoxa-zol, Procainamid, Oxatomid	Arzneimittel-induziertes Long-QT-Syndrom bei Trägern der Variante	[Sesti, 2000]
Glycoprotein IIIa (ITGB3)	Thrombozyten-aggregations-hemmer (Aspirin, Abciximab)	Geringere Wirksamkeit bei Trägern von PL^{A2}	[Cooke, 1998, Michelson, 2000, Wheeler, 2002]
Cholesterylestertransfer-protein (CETP)	Pravastatin	Verlangsamte Entwicklung einer koronaren Arteriosklerose nur bei Trägern von B1B1	[Kuivenhoven, 1998]
α-Adducin (ADD1)	Hydrochlorothi azid (HCT)	Bei Kochsalzreduktion und Therapie mit HCT stärkerer Blutdruckabfall bei Trägern von 460Gly/Trp	[Cusi, 1997]
Angiotensin konvertierendes Enzym (ACE)	Enalaprilat	Länger anhaltende und stärkere Wirksamkeit bei Trägern des Genotyps Ins/Ins	[Ueda, 1998]

Tabelle nach [Kirchheiner, 2003].

1.2 Pharmakogenetische Diagnostik in der Arzneitherapie

Die pharmakogenetische Diagnostik bietet die Möglichkeit, vor Beginn einer medikamentösen Therapie die Auswahl eines Medikamentes und dessen Dosierung an den individuellen Arzneistoffmetabolismus und Besonderheiten der Krankheitsgenese anzupassen. Pharmakogenetische Untersuchungen betreffen Parameter, die altersunabhängig für Therapien mit verschiedenen Medikamentengruppen relevant sind. Dennoch ist es derzeit nicht in jedem Falle sinnvoll, eine Genotypisierung vor Beginn einer Arzneitherapie durchzuführen, sondern nur bei Therapien mit Medikamenten, die eine enge therapeutische Breite oder ein Risiko für schwere unerwünschte Arzneimittelwirkungen haben, wenn genetische Faktoren wesentlich an der Variabilität der Pharmakokinetik und -dynamik beteiligt sind. In Zukunft werden molekulargenetische Tests zunehmend eingesetzt werden, insbesondere in der Diagnostik oder bei der Auswahl von Medikamenten, deren Wirkung an einen bestimmten Genotyp oder an ein bestimmtes Genexpressionsprofil geknüpft ist. Ein bereits regelmäßig praktiziertes Beispiel ist die Behandlung des Mamma-Karzinoms mit Trastuzamab (Herceptin®), einem spezifischen Antikörper gegen Her-2-Rezeptoren. Die Behandlung ist nur dann indiziert, wenn eine Überexpression an Her-2-Rezeptoren im Tumorgewebe nachgewiesen wurde, was nur bei etwa einem Drittel der Patientinnen der Fall ist [Baselga, 1996].

Die pharmakogenetische Forschung befindet sich, obwohl schon mehr als 50 Jahre alt, immer noch in der Phase der Generierung und Sammlung wissenschaftlicher Daten. Ihre Erkenntnisse haben bisher nur in wenigen Fällen Eingang in die klinische Praxis gefunden.

Ob und in welchem Maße pharmakogenetische Diagnostik in der praktischen Medizin Anwendung finden wird, hängt davon ab, inwieweit das Ergebnis einer Genotypisierung für die Arzneitherapie relevant ist, und ob in geeigneten Studien dargelegt werden kann, dass dieses Vorgehen die Lebensqualität und die Überlebensrate von Patienten tatsächlich verbessert. Die Kosten und der Aufwand für derartige Bestimmungen müssen in einem positiven Verhältnis zum Nutzen stehen. Eine wesentliche Voraussetzung der praktischen Anwendung der Pharmakogenetik ist dabei, dass klare Regeln entwickelt werden, welche therapeutischen Konsequenzen mit bestimmten Genotypen oder Expressionsprofilen verbunden sind.

1.3 Pharmakogenetisch basierte Therapieempfehlungen

Therapieempfehlungen können in Form von Dosisempfehlungen und Behandlungs-Algorithmen formuliert werden. Für Unterschiede in der Pharmakokinetik bieten sich nach dem Bioäquivalenzprinzip abgeleitete Dosisempfehlungen an, die Unterschiede in oraler Clearance oder Eliminationshalbwertszeit kompensieren. In Abb. 2 ist dieses Prinzip am Beispiel des Cytochrom-P450-Enzyms CYP2D6 verdeutlicht. Die verschiedenen Plasma-konzentrations-Zeitverläufe eines CYP2D6-Substrates bei Individuen mit genetisch bedingten Unterschieden in der CYP2D6 Aktivität sind schematisch dargestellt. Danach müssen, um die Unterschiede in den Plasmakonzentrationen bei den vier dargestellten Genotypgruppen auszugleichen, ganz verschiedene Dosierungen gewählt werden, welche z.B. bei ca. 50% der üblichen Durchschnittsdosierung für die PMs liegen könnten.

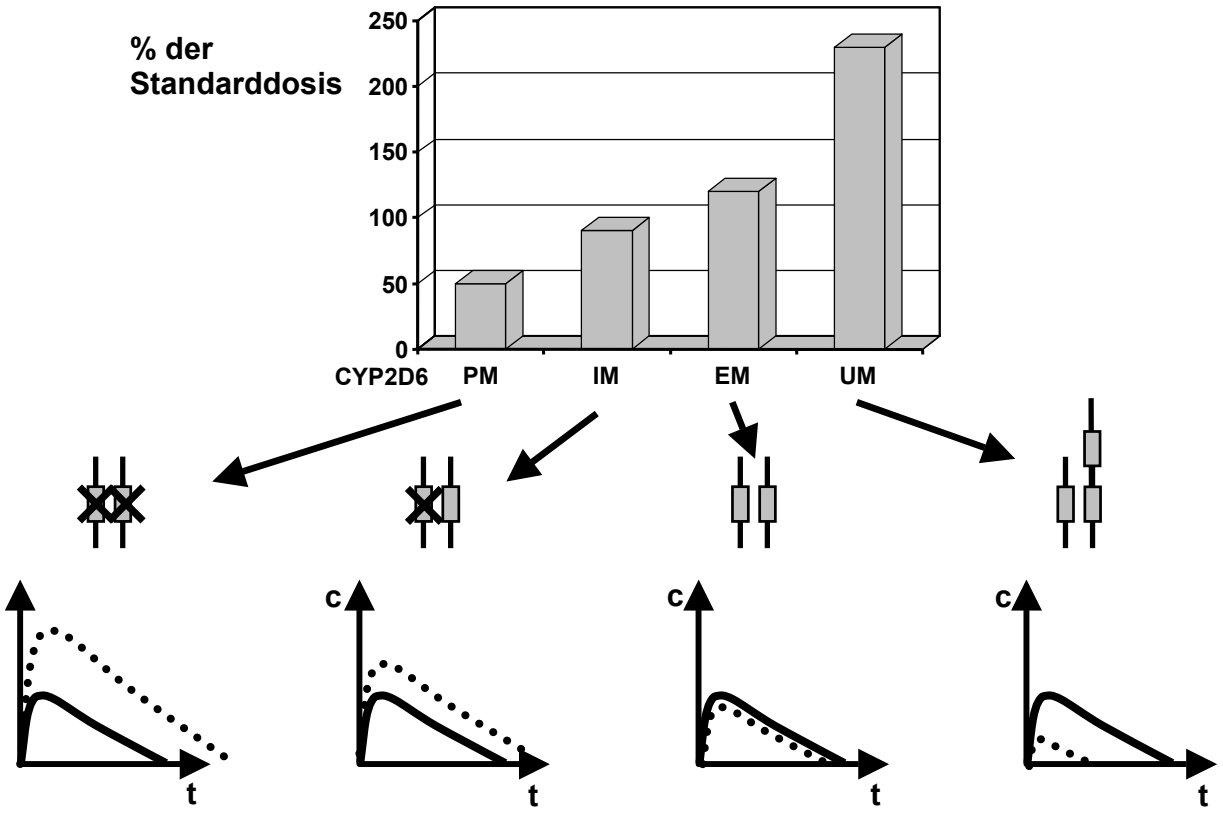

Abb.2: Es werden Charakteristika von vier Patienten mit unterschiedlichem CYP2D6-Phänotyp (PM – defizienter Metabolisierer [poor metaboliser]; IM - intermediärer Metabolisierer [heterozygot], EM – Schnell-Metabolisierer [extensive metaboliser], UM – Ultraschnell-Metabolisierer) und schematisch der zugrunde liegende Genotyp gezeigt. Eine identische Dosierung für alle 4 Patienten würde zu sehr unterschiedlichen Konzentrations-Zeit-Kurven (gepunktete Linien) und damit zu sehr unterschiedlichen Wirkungen (keine Wirkung bei UM, Gefahr von starken und lange andauernden Nebenwirkungen bei PM) führen. Erst die an den CYP2D6-Genotyp adaptierte Dosierung, die durch Änderung der Einzeldosis und des Dosierungsintervalles erreicht werden kann (die Säulen zeigen die prozentuale Dosisanpassung für den jeweiligen Genotyp) führt zu den für alle Patienten angestrebten vergleichbaren Konzentrationsverläufen (durchgezogene Linien).

Die Höhe der Dosisanpassung hängt von den empirisch gefundenen Genotyp-bedingten Unterschieden in der Pharmakokinetik ab. Diese werden z. B. davon beeinflusst, ob ein Medikament ausschließlich über CYP2D6 abgebaut wird, oder ob andere Enzyme bzw. Eliminationswege parallel beteiligt sind. Klinisch relevante Unterschiede in der Größenordnung von mehr als 50% können in der Regel durch Dosierungsanpassungen wie „eine halbe Tablette mehr oder weniger“ berücksichtigt werden, wobei im Falle von Arzneimitteln mit geringer therapeutischer Breite oder linearer Dosis-Wirkungsbeziehung unter Umständen auch schon geringere pharmakokinetische Unterschiede klinisch bedeutsam sind.

Bezüglich der genetischen Variabilität in den Zielstrukturen der Arzneimittelwirkung gestaltet sich dagegen die Ableitung von Therapieempfehlungen schwieriger. Genotypen und Genexpressionsprofile können lediglich eine Wahrscheinlichkeitsaussage liefern, in wieweit bei einem Individuum ein erhöhtes Risiko für eine bestimmte Medikamentennebenwirkung oder für ein Versagen der Therapie vorliegt. Nur in sehr wenigen Fällen besteht ein eindeutiger dichotomer Zusammenhang zwischen Arzneimittelwirkung und Genotyp. Dies wäre dann der Fall, wenn die Arzneimittelwirkung an das Vorhandensein einer einzigen Variante gebunden ist, wie im Beispiel des Medikamentes Herceptin an die Überexpression des Her-2-Rezeptors [Baselga, 1996]. In den meisten Fällen aber spielen viele Gene und damit individuelle genetische Profile eine Rolle und bestimmen im Zusammenspiel mit anderen Faktoren wie Krankheitsbesonderheit, individuelle Charakteristika des Patienten (Alter, Geschlecht und Körperfunktionen) den Erfolg einer Arzneitherapie. Die Identifizierung von individuellen Genotyp-Profilen kann es in der Zukunft erlauben, Genotyp-basierte therapeutische Strategien in der Medikamentenauswahl und Anwendung zu etablieren.

1.4 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeiten war es, die Einflüsse von genetischen Polymorphismen der Cytochrom-P450-Enzyme CYP2D6, CYP2C19 und CYP2C9 auf den Arzneimittelstoffwechsel mittels klinischer Studien zu untersuchen, um aus den Ergebnissen konkrete, auf dem jeweiligen Genotypen basierende Dosisempfehlungen abzuleiten.

Bezüglich des polymorphen Enzyms CYP2C9 wurden Studien an gesunden Probanden durchgeführt, um systematisch die Auswirkung der sechs häufigsten Genotypen von *CYP2C9*, gebildet von den beiden Varianten *CYP2C9*2* und *CYP2C9*3*, auf die

Pharmakokinetik und auf pharmakodynamische Surrogatparameter bei verschiedenen Substraten von CYP2C9 zu charakterisieren (P1-7) und daraus Dosierungsanpassungen abzuleiten.

Für wichtige Antidepressiva, für die bisher keine entsprechenden Studien vorlagen, sollten Probandenstudien durchgeführt werden, die den Einfluss von Genpolymorphismen von *CYP2D6, CYP2C19* und *CYP2C9* auf die Pharmakokinetik untersuchen (P8, 9).

Für die Arzneitherapie der Depression sollte eine systematische Analyse aller bisher publizierten klinischen Studien vorgenommen werden, die den Einfluss von Polymorphismen in den genannten CYP-Enzymen auf pharmakokinetische und pharmakodynamische Parameter von Antidepressiva untersucht hatten, um damit eine breite Datenbasis für die Ableitung von pharmakogenetisch basierten Dosierungsempfehlungen zu schaffen (P10).

Das Konzept der pharmakogenetisch basierten Therapieempfehlungen sollte für den Bereich der Psychopharmakatherapie mit Antidepressiva und Antipsychotika auf genetische Varianten in Strukturen der Arzneimittelwirkung, wie Rezeptoren und Transportermoleküle ausgedehnt werden. Zu diesem Zweck wurde eine systematische Analyse zu genetischen Daten mit Auswirkung auf den Erfolg der Arzneitherapie und auf unerwünschte Arzneimittelwirkungen durchgeführt (P11).

2 Zusammenfassung der Methodik

2.1 Probandenstudien (P 1-9)

Klinische Studien in der Pharmakogenetik können entweder an gesunden Probanden (entsprechend den Phase-I-Studien der Arzneimittelentwicklung) oder an Patienten (entsprechend den Phasen II-IV) durchgeführt werden. Es können Untersuchungen an unselektierten Kollektiven (Design der Kohortenstudie) oder an nach ihrem Genotyp ausgewählten Probanden (so genannte Panel-Studie) gemacht werden. Letzteres Studiendesign wurde hier angewandt.

Über Aushänge, Anzeigen und Informationsveranstaltungen wurden 516 gesunde Probanden und Probandinnen europäischer Abstammung rekrutiert, die sich prinzipiell zur Teilnahme an klinischen Studien bereit erklärten. Alle Probanden gaben ihr Einverständnis zur Genotypisierung bezüglich häufiger Varianten der Enzyme CYP2D6, CYP2C19 und CYP2C9. Sämtliche Studien wurden von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Charité geprüft und genehmigt.

Mittels DNA-Extraktion, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließender Analyse von Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) oder mittels Real-Time PCR-Methoden basierend auf Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer wurde eine Genotypisierung für die folgenden Allele nach den in der Literatur veröffentlichten Methoden durchgeführt [Aynacioglu, 1999, De Morais, 1994, Sachse, 1997]:

*CYP2D6: *3, *4, *5* (Deletion)*, *6*, sowie die Duplikation

*CYP2C19: *2*

*CYP2C9: *2* und *3*.

Anhand der Genotypdaten wurden die Probanden folgendermaßen für die Studien (P1-7) ausgewählt: *CYP2C9*1/*1*: n = 4 oder mehr, *CYP2C9*1/*2*: n = 4, *CYP2C9*1/*3*: n = 4, *CYP2C9*2/*2*: n = 3, *CYP2C9*2/*3*: n = 3, *CYP2C9*3/*3*: n = 3. Die Fallzahl n = 3 für die Genotypen *CYP2C93/*3, *2/*3* oder *2/*2* ergab sich aus dem seltenen Auftreten (weniger als 1%) dieser Genotypen in der Bevölkerung. Sie ist jedoch ausreichend, um klinisch relevante Unterschiede in der Clearance der Größenordnung um Faktor 2 und mehr zu erkennen.

Für die Studien (P8, 9) zu CYP2D6, CYP2C19 und CYP2C9 mit den Antidepressiva Doxepin und Trimipramin wurden jeweils 7 Probanden mit homozygotem und heterozygotem Genotyp eines inaktiven *CYP2D6*- bzw. *CYP2C19*-Allels (intermediäre und Langsam-

Metabolisierer) sowie 3 Probanden mit dem seltenen Genotyp *CYP2C9*3/*3* ausgewählt. Es wurde darauf geachtet, dass die Probanden mit den ausgewählten Varianten für die jeweiligen beiden anderen polymorphen Enzyme Träger des Wildtyps waren. Die Referenzgruppe bestand aus Individuen, die bezüglich aller drei polymorphen Enzyme den Wildtyp-Genotyp trugen (*CYP2D6*1/*1, CYP2C19*1/*1* oder *CYP2C9*1/*1*).

Probanden, die in die klinischen Studien eingeschlossen wurden, mussten Nichtraucher sein und durften keine körperlichen oder seelischen Erkrankungen haben. Probandinnen durften keine oralen Kontrazeptiva nehmen und nicht schwanger sein.

Es wurden jeweils Einzeldosen der Medikamente Celecoxib (100 mg), Fluvastatin (40 mg), Nateglinid (180 mg), Diclofenac (50 mg), Ibuprofen (600 mg), Glibenclamid (3,5 mg) und Tolbutamid (500 mg) gegeben und die Plasmakonzentrations-Zeit-Verläufe über eine für das Anfluten und die Elimination der einzelnen Substanzen relevante Zeit mittels HPLC gemessen. Aus den Plasmakonzentrations-Zeit-Verläufen wurden die pharmakokinetischen Parameter Clearance, AUC, Halbwertszeit, und die maximale Plasmakonzentration für jede Genotyp-Gruppe mit nichtparametrischen pharmakokinetischen Verfahren sowie populationspharmakokinetisch geschätzt.

Nach Möglichkeit wurde für jede Substanz auch ein pharmakodynamischer Parameter bestimmt, der es erlauben sollte, eine Aussage über die Auswirkung pharmakogenetisch bedingter Unterschiede in der Pharmakokinetik auf den Therapieerfolg zu machen. Bei Studien mit den oralen Antidiabetika Nateglinid, Tolbutamid und Glibenclamid wurden orale Glucosetoleranztests mit Glucose- und Insulinbestimmungen durchgeführt (P1-3), bei Untersuchungen mit den nichtsteroidalen Antiphlogistika Diclofenac, Ibuprofen und Celecoxib erfolgte die Messung von Thromboxan-B2- und Prostaglandin-E2-Konzentrationen als Parameter für die Hemmung der Cyclooxygenasen-1 (Cox-1) und Cox-2 (P4-6). Für Fluvastatin (P7) wurden die Gesamtcholesterin-, High-Density-Lipoprotein (HDL)-, Low-Density-Lipoprotein (LDL)- und die Trigyceridkonzentrationen vor und nach 14tägiger Einnahme gemessen.

2.2 Metaanalyse pharmakogenetischer Daten (P10 und P11)

Grundlage der Metaanalyse war eine Literaturrecherche in den Datenbanken PubMed und Embase sowie gezielte Anschreiben der Arzneimittelhersteller bezüglich unveröffentlichter Daten. Es wurden alle Daten aus Studien an Patienten oder gesunden Probanden (Kaukasier) bis März 2003 (für P10 bis 2000) erfasst, die pharmakokinetische oder

pharmakodynamische Größen von Antidepressiva oder Antipsychotika in Abhängigkeit der unterschiedlichen Genotypen von *CYP2D6* oder *CYP2C19* gemessen hatten. Die Daten wurden wirkstoffspezifisch ausgewertet. Für jedes Antidepressivum wurden die Parameter Clearance, AUC oder Talspiegel unter Steady-State-Bedingungen für die Gruppen der schnellen, intermediären und Langsam-Metabolisierer (für CYP2D6 auch die der ultraschnellen) aufgeführt und aus diesen Daten Dosierungsanpassungen für jeden Metabolisierertyp errechnet. Wenn mehrere Studien zum gleichen Medikament vorlagen, wurden nach Fallzahl gewichtete Mittelwerte aus den Parametern der einzelnen Studien gebildet. Im Falle aktiver Metaboliten wurden ähnlich wie beim therapeutischen Drug Monitoring die Summe aus Muttersubstanz und Metabolit verwendet und daraus die Clearance für die Gesamtexposition berechnet. Entsprechend wurden bei razemischen Substanzen mit nur einem aktiven Enantiomer Dosierungsberechnungen nur auf diesem basierend durchgeführt. Für jeden Wirkstoff wurde unter Einbeziehung der gesamten gefundenen Daten eine Aussage zur voraussichtlichen Relevanz der Enzympolymorphismen für die Therapie gemacht und ein Dosierungshinweis gegeben.

Auf Seiten der Pharmakodynamik wurden Daten zum Einfluss von Genpolymorphismen in Zielstrukturen der Arzneimittelwirkung deren Bedeutung für die Prädiktion des Therapieerfolgs und unerwünschter Arzneimittelwirkungen für Antidepressiva und Antipsychotika ausgewertet. Es wurde nach signifikanten Einflüssen gesucht und jeweils die Effektgröße als Odds-Ratio für die Auswirkung des Genotyps auf bessere Response oder auf mehr Nebenwirkungen angegeben. In einigen Fällen konnten keine Häufigkeiten ermittelt werden. Es wurde dann der Quotient der prozentualen Besserung in den jeweiligen Genotyp-Gruppen gemessen mittels psychiatrischer Rating-Skalen als Effektgröße angegeben.

2.3 Kalkulationsmethoden für Dosisempfehlungen

Zur Berechnung genotypspezifischer Dosierungsanpassungen wurden die pharmakokinetischen Größen Clearance, AUC oder Talspiegel unter Steady-State-Bedingungen verwendet. Die wirksame Medikamentenfraktion wurde dabei im Falle aktiver Metaboliten aus der Summe der Konzentrationen von Muttersubstanz und Metabolit oder im Falle von razemischen oder stereoisomerischen Mixturen aus den Konzentration der aktiven Komponenten berechnet.

Die Berechnung sei am Beispiel des CYP2D6 erläutert. Bei Kaukasiern gibt es 7-10% PMs, 40% IMs und 50% EMs und 1-3% UMs. Die übliche, vom Hersteller empfohlene

Standarddosis (D_{av}) wurde dabei als empirisch gewonnen betrachtet, und ging in die Berechnung als gewichtetes Mittel der für die jeweiligen genetischen Subpopulationen spezifischen Dosierungen ein. Bei der Wichtung wurden die Anteile auf eine Nachkommastelle gerundet (also 10% PMs) und der Anteil der UMs vernachlässigt:

$$D_{av} = 0{,}1 \cdot D_{PM} + 0{,}4 \cdot D_{IM} + 0{,}5 \cdot D_{EM} \qquad (1)$$

wobei D_{PM}, D_{IM} und D_{EM} die für die Gruppe der Langsam-, intermediär, und Schnell-Metabolisierer jeweils die optimale Dosis ist.

Die spezifischen Dosierungen für die einzelnen Metabolisierergruppen errechnen sich gemäß der Verhältnisse der pharmakokinetischen Parameter (Cl für Clearance) als:

$$D_{PM}/D_{EM} = Cl_{PM}/Cl_{EM} \qquad (2)$$

und

$$D_{IM}/D_{EM} = Cl_{IM}/Cl_{EM} \qquad (3)$$

Wenn man die Standarddosis D_{av} als 100% setzt, erhält man durch Einsetzen der Gleichungen (2) und (3) in (1) den folgenden Term:

$$D_{EM}\,(\%) = 100 / (0{,}1 \cdot Cl_{PM}/Cl_{EM} + 0{,}4 \cdot Cl_{IM}/Cl_{EM} + 0{,}5) \qquad (4)$$

Damit kann die Dosisanpassung für EMs ausgerechnet werden, wenn die Clearance-Werte für PMs, IMs und EMs bekannt sind. Wird der errechnete Wert in (2) und (3) eingesetzt, erhält man die Dosisanpassung für PMs und IMs (D_{PM} und D_{IM}).

In vielen Fällen waren keine Daten für die intermediären Metabolisierer vorhanden. Dann wurde unter Annahme einer linearen Gen-Dosisbeziehung die Clearance für die intermediären Metabolisierer als $Cl_{IM} = ½ \cdot (Cl_{PM}+Cl_{EM})$ errechnet und in (3) eingesetzt.

Für die Gruppe der UMs wurde ein linearer Gen-Dosis-Effekt (drei aktive Gene) zugrunde gelegt und als Dosierungsempfehlung die Hälfte der Differenz zwischen Dosis EM und Dosis PM zur Dosis EM addiert ($D_{UM} = 0.5(D_{EM}-D_{PM})+D_{EM}$).

Für CYP2C19 liegen die Häufigkeiten der einzelnen Metabolisierergruppen bei Kaukasiern bei 3% PM, 27% IM und 70% EM. Die Gleichung (1) lautet deshalb für CYP2C19:

$$D_{av} = (0{,}03 \cdot D_{PM} + 0{,}27 \cdot D_{IM} + 0{,}7 \cdot D_{EM}) \qquad (5)$$

3 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse

3.1 Probandenstudien zum *CYP2C9*-Polymorphismus

3.1.1 Studien zu oralen Antidiabetika (P1-3)

Bei den drei getesteten oralen Antidiabetika Tolbutamid, Glibenclamid und Nateglinid zeigte *CYP2C9*3* einen signifikanten Einfluss auf die Pharmakokinetik. Im Falle von Tolbutamid hatten Träger des Genotyps *CYP2C9*3/*3* eine im Mittel sechsfach niedrigere Clearance als Wildtyp-Träger bei einer Einzeldosis von 500 mg. Für Glibenclamid und Nateglinid betrug ihre Clearance im Vergleich zum Wildtyp 50%. Die heterozygoten Träger mit den Genotypen *CYP2C9*1/*3* und **2/*3* lagen dazwischen. In Abb. 3 sind die unterschiedlichen Werte der Clearance von Tolbutamid in Abhängigkeit vom *CYP2C9*-Genotyp dargestellt.

Das Allel *CYP2C9*2* zeigte keinen bedeutenden Einfluß auf pharmakokinetische Parameter der drei oralen Antidiabetika. Für eine Reihe zusammenfassender Analysen wurden die Genotyp-Gruppen daher wie folgt zusammengefasst: Schnell-Metabolisierer: Genotypen *CYP2C9*1/*1,*1/*2* und **2/*2*; Intermediäre Metabolisierer: *CYP2C9*1/*3* und **2/*3*; Langsam-Metabolisierer: *CYP2C9*3/*3*.

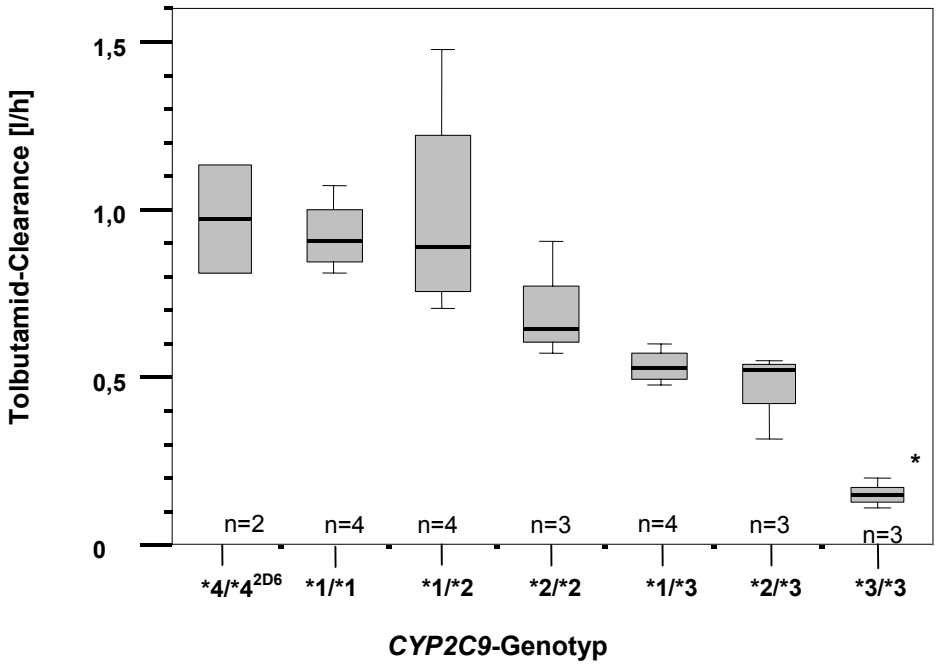

Abb. 3: Orale Clearance von Tolbutamid in gesunden Probanden mit unterschiedlichen *CYP2C9*-Genotypen. *4/*4^{2D6} : Langsammetabolisierer bezüglich CYP2D6 und Wildtyp bezüglich CYP2C9. * $p<0.001$ für *CYP2C9*3/*3 versus *1/*1

Die Untersuchung des pharmakodynamischen Surrogatparameters „Verlauf der Insulin- und Glukosekonzentration“ zeigte bei den getesteten gesunden Probanden keine oder nur sehr geringe Genotyp-bedingte Unterschiede.

3.1.2 Studien zu nichtsteroidalen Antiphlogistika (P4-6)

Bei Ibuprofen und Celecoxib hat *CYP2C9*3* einen deutlichen Einfluss auf die pharmakokinetischen Parameter Clearance, AUC und Halbwertszeit. Für beide Substanzen waren die oralen Clearance-Werte bei homozygoten Trägern von *CYP2C9*3* etwa halb so hoch wie für Träger des Wildtyp *CYP2C9*1/*1*. Für diese Substanzen hatte *CYP2C9*2* keine Auswirkung auf die Clearance (Abb. 4 u. 5).

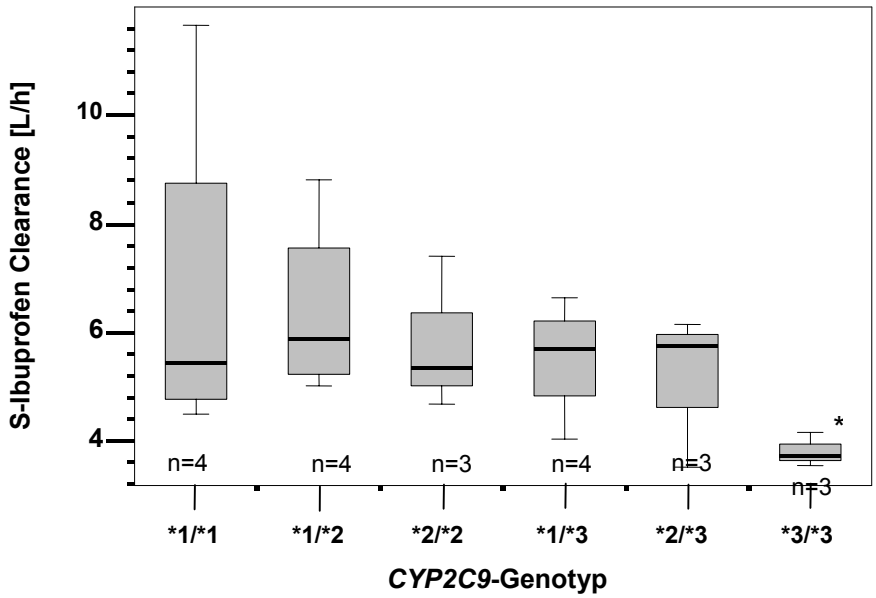

Abb. 4: Orale Clearance von S-Ibuprofen bei gesunden Probanden in Abhängigkeit vom *CYP2C9*-Genotyp. * p=0.008 für *CYP2C9*3/*3* versus **1/*1*.

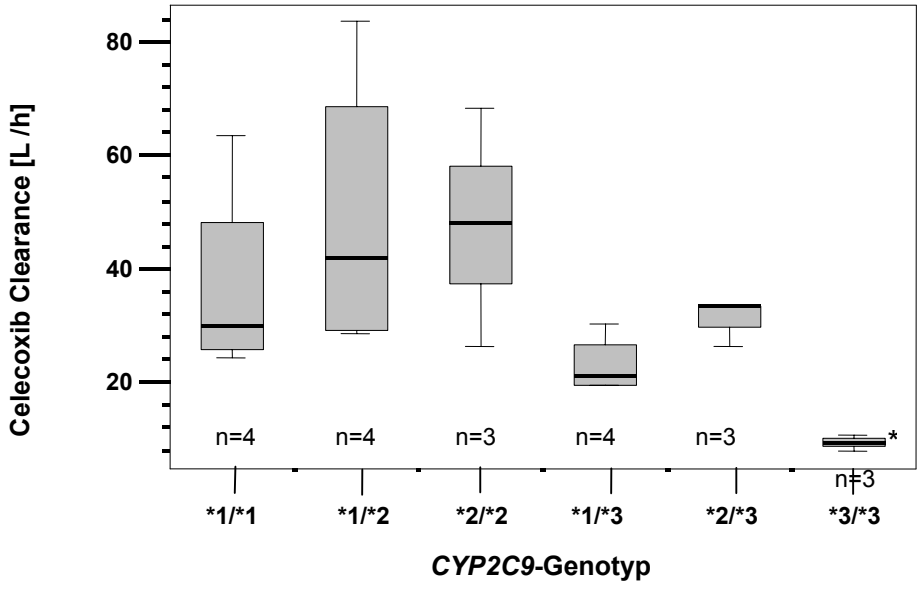

Abb. 5: Orale Clearance von Celecoxib bei gesunden Probanden in Abhängigkeit vom *CYP2C9*-Genotyp. * p= 0.003 für *CYP2C9*3/*3* versus **1/*1*.

Die pharmakodynamischen Auswirkungen der CYP2C9-bedingten Unterschiede in der Pharmakokinetik von Ibuprofen wurden anhand der Thromboxan-B2- (Cox-1) und Prostaglandin-E2-Verläufe (Cox-2) im Blut ermittelt. Die Thromboxan- und Prostaglandin-Konzentrationsverläufe nach Gabe von 600 mg Ibuprofen ließen einen Trend zu längerer Unterdrückung bei Trägern des Genotyps *CYP2C9*3/*3* erkennen.

Für Diclofenac, für welches die 4-Hydroxylierung als spezifisch durch CYP2C9 katalysiert beschrieben wurde [Bort, 1999, Leemann, 1993, Mancy, 1999, Tang, 1999], konnte in unserer Untersuchung an Probanden keine Abhängigkeit von *CYP2C9*-Polymorphismen gefunden werden. Auch die quantitative Bestimmung des 4-Hydroxy-Diclofenac im Plasma zeigte keine *CYP2C9*-Genotyp bedingten Unterschiede.

3.1.3 Studie zu Cholesterin-Synthesehemmer Fluvastatin (P7)

Der *CYP2C9*-Genotyp beeinflusste die Pharmakokinetik sowohl des aktiveren Enantiomers 3R,5S-Fluvastatin, als auch des kaum aktiven 3S,5R-Fluvastatin: das Allel

*CYP2C9*3* zeigte einen signifikanten Einfluss mit mehr als 3fach erniedrigter mittlerer oraler Clearance der beiden Enantiomere (Abb. 6).

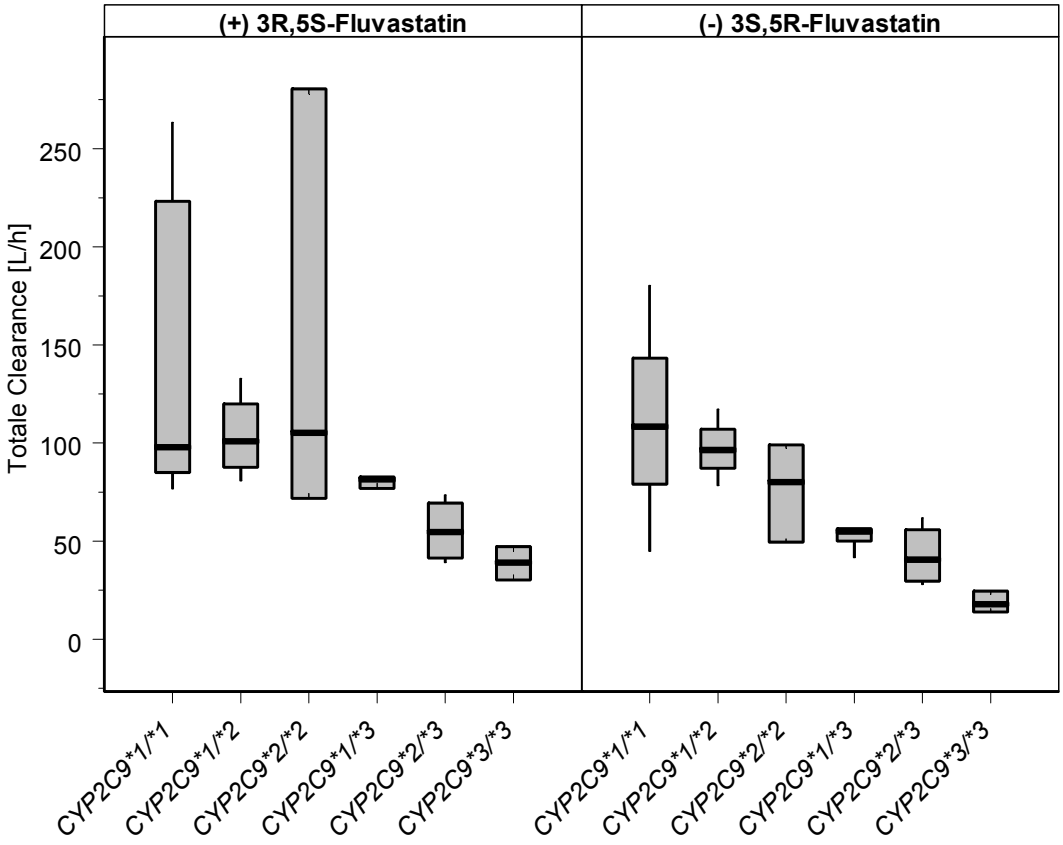

Abb. 6: Orale Clearance von 3R,5S- und 3S,5R-Fluvastatin bei Probanden mit unterschiedlichem *CYP2C9*-Genotyp.

Es wurde weiterhin untersucht, ob die Unterschiede in den pharmakokinetischen Parametern von Fluvastatin sich in Cholesterin senkenden Eigenschaften widerspiegelten. Dafür nahmen die Probanden über 14 Tage 40 mg Fluvastatin abends ein. Gesamtcholesterin-, HDL-, LDL- und Triglyceridkonzentrationen im Serum wurden vor und nach 14-tägiger Einnahme gemessen. Bei allen gesunden Probanden war eine signifikante Senkung des Gesamtcholesterins trotz normal hoher Ausgangswerte zu beobachten. Das Ausmaß der Senkung korrelierte jedoch nicht mit der AUC von Fluvastatin, so dass sich die Unterschiede zwischen den verschiedenen *CYP2C9*-Genotypen nicht in der Cholesterinsenkung abbildeten. Diese Aussage gilt jedoch nur für Gesunde.

Zusammenfassend zeigten die hier aufgeführten Studien zu *CYP2C9*-Polymorphismen den deutlichen Einfluss des Genotyps *CYP2C9*3/*3* auf die Clearance von CYP2C9-

Substraten. Die Unterschiede zwischen den mittleren Clearance-Werten von Trägern des Genotyps *CYP2C9*1/*1* zu denen des Genotyps *CYP2C9*3/*3* betragen das 4-5fache für Tolbutamid und Glibenclamid und das 2-3fache bei Nateglinid, Ibuprofen, Celecoxib und Fluvastatin; kein Unterschied besteht bei Diclofenac (Tabelle 4). Die Unterschiede in den bei den gesunden Probanden gemessenen pharmakodynamischen Parametern waren geringer ausgeprägt. Daraus lassen sich die klinischen Folgen bei Patienten noch wenig abschätzen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Zusammenfassende Darstellung des Einflusses des *CYP2C9*-Genotyps auf Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von den untersuchten Substraten.

Medikament	**Mittlere orale totale Clearance (Standardabweichung) [L/h] bei Trägern des CYP2C9-Genotyps[1]**			**Pharmakodynamische Surrogatparameter bei gesunden Probanden**	**Mögliche klinische Bedeutung**
	***1/*1, *1/*2, *2/*2**	***1/*3, *2/*3**	***3/*3**		
Tolbutamid	0,9 (0,2)	0,5 (0,9)	0,2 (0,5)	Keine Unterschied für Insulin und Glukose	Unterschiede in Häufigkeit von Hypoglykämie, diabetischen Spätkomplikationen?
Glibenclamid	3,6 (1,2)	2,3 (0,3)	0,7 (0,9)	Trend erkennbar, aber nicht signifikant	
Nateglinid	8,7 (1,9)	6,5 (1,5)	3,9 (0,3)	Einfluss von CYP2C9 auf Glucose und Insulin bei höheren Dosierungen sichtbar	
Fluvastatin	122 (57,4)	67,5 (31,4)	25,6 (6,4)	Cholesterinsenkung nicht mit Genotyp korreliert	Wirkunterschiede bei Hypercholesterinämie in Abhängigkeit von CYP2C9?
Doxepin	560 (420)		233 (31)	Keine Messung	Unterschiede in UAWs?
Trimipramin	298 (94)		186 (90)	Keine Messung	
S-Ibuprofen	6,4 (2,2)	5,4 (1,2)	3,8 (0,3)	Unterschiede in PGE2 und TXB2 geringer als in Clearance, aber vorhanden.	Unterschiede in Häufigkeit von Ulcera, Nierenschäden etc.?
Celecoxib	44,2 (20,5)	26,5 (6,1)	9,3 (1,4)	Keine Messung	
Diclofenac	26,5 (7,6)	30,3 (19,2)	23,1 (5,2)	Keine Unterschiede in Abh. von CYP2C9	

[1]: In drei Gruppen unterteilt entsprechend der Anzahl des funktionell besonders bedeutenden Alleles *CYP2C9*3*

In Abb. 7 sind die Unterschiede der mittleren Clearances in Gruppen von homozygoten und heterozygoten Trägern des *CYP2C9*3* Allels bezogen auf die Clearance in Trägern des Wildtyps (als 100%) dargestellt. Würde man Dosierungsanpassungen auf die pharmakokinetischen Unterschiede basieren, entsprächen die prozentualen Erniedrigungen der Clearances in etwa den Dosisreduktionen.

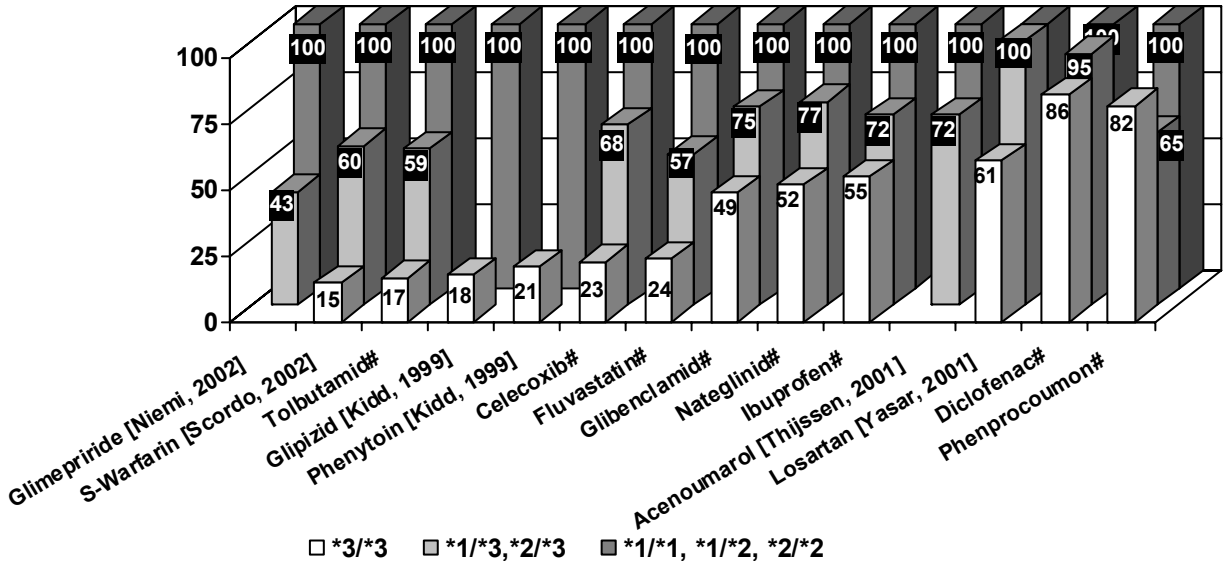

Abb. 7: Prozentuale mittlere Clearance-Werte von CYP2C9 Substraten bei Trägern von *CYP2C9*3/ *3* oder **1/ *3, *2/ *3* im Verhältnis zu Trägern von **1/ *1, *1/ *2, *2/ *2* (100%).
#: eigene Untersuchungen,

3.2 Bedeutung der CYP2D6-, CYP2C19-, und CYP2C9-Polymorphismen für die Pharmakokinetik von Doxepin und Trimipramin (P8, 9)

Doxepin und Trimipramin, die mit 502.000 bzw. 827.000 Verordnungen pro Jahr (bezogen auf 2001) zu den am häufigsten verordneten Antidepressiva in Deutschland zählen [Lohse, 2002], gab es, abgesehen von Einzelfallbeschreibungen zu Trimipramin und CYP2C19 und CYP2D6 keinerlei In-vivo- oder In-vitro-Daten zur Spezifizierung der an der Biotransformation beteiligten Enzyme [Eap, 1992, Eap, 2000]. Daher wurden Studien zu diesen beiden Antidepressiva und dem Einfluss der polymorphen Enzyme CYP2D6, CYP2C19 und CYP2C9 durchgeführt.

Für die Studien mit Trimipramin und Doxepin wurden Träger von genetischen Varianten unterschiedlicher Enzyme eingeschlossen, um eine Abschätzung der Bedeutung jedes einzelnen Enzyms an der Biotransformation in vivo zu ermöglichen. Der *CYP2D6* Genotyp zeigte einen deutlichen Einfluss auf die Blutkonzentrationen sowohl von Doxepin als auch Trimipramin: bei homozygoten Trägern der CYP2D6-Defizienz ist die mittlere orale Clearance von Doxepin auf die Hälfte und die von Trimipramin auf weniger als ein Siebtel im Vergleich zu Trägern von 2 Wildtyp-Allelen reduziert. Eine Folgestudie, die die Pharmakokinetik von Trimipramin unter Steady-State-Bedingungen, sowie nach intravenöser Dosierung untersuchte, zeigte, dass sich der Genotyp von CYP2D6 vor allem auf die orale

Bioverfügbarkeit auswirkt. Außerdem wurden die Trimipraminkonzentrationen enantioselektiv bestimmt, was eine Präferenz von CYP2D6 zu S-Trimipramin zeigte.

CYP2C19 hatte ebenfalls einen Einfluss auf die Elimination von Trimipramin. Bei Trägern des Genotyps *CYP2C19*2/*2* fanden sich im Vergleich zu Trägern des aktiven Genotypes *CYP2C19*1/*1* etwa halb so hohe mittlere Clearance-Werte für Trimipramin und Doxepin und deutlich verminderte AUCs für die demethylierten Metaboliten. Bei diesen beiden Antidepressiva, wie auch für andere bereits beschrieben [Baumann, 1986, Brøsen, 1986, Koyama, 1996, Madsen, 1996, Madsen, 1997, Mellström, 1986, Skjelbo, 1993], scheint damit CYP2C19 vorwiegend an der Demethylierung beteiligt zu sein, während CYP2D6 die Hydroxylierung sowohl der Muttersubstanz als auch des Desmethyl-Metaboliten katalysiert.

Doxepin ist als Gemisch aus 85% E-Doxepin und 15% Z-Doxepin im Handel. Eine stereoselektive Analyse zeigte, dass CYP2D6 nur die Pharmakokinetik von E-Doxepin und CYP2C19 nur die von Z-Doxepin beeinflußt. Beide Stereoisomere zeigen pharmakologische Effekte, wobei dem Z-Isomer mehr antidepressive Eigenschaften zugeschrieben werden [Otsuki, 1972, Ribbentrop, 1965, Schaumann, 1966]. Der Einfluss des *CYP2D6*-Genotyps auf den Verlauf der Plasmakonzentrationen von razemischem Doxepin über die Zeit ist in Abb. 8 für 8 Schnell-, 8 intermediäre und 8 Langsam-Metabolisierer von CYP2D6 dargestellt. Die Langsam-Metabolisierer haben höhere Plasmakonzentrationen und eine längere Eliminationsdauer.

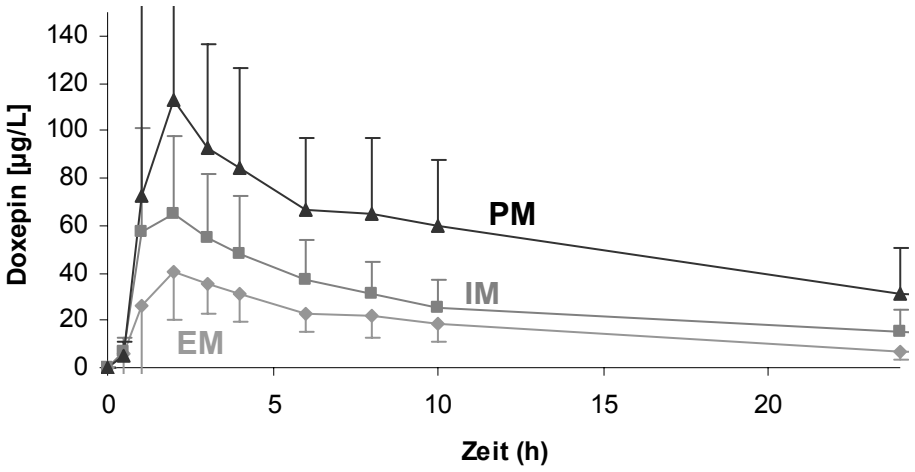

Abb. 8: Plasmakonzentrations-Zeitverläufe (Mittelwertskurven) nach Einnahme einer Dosis von 75 mg Doxepin in gesunden Probanden, die Langsam-, Intermediär und Schnell-Metabolisierern bezüglich CYP2D6 waren (n=8 für jede Gruppe).

Der Einfluss von CYP2C9 auf den Metabolismus von Doxepin und Trimipramin wurde mit Hilfe dreier Träger des Genotyps *CYP2C9*3/*3* untersucht. Für Doxepin zeigte sich eine Erniedrigung der Clearance des E-Stereoisomers, während für Trimipramin keine signifikant niedrigere Clearance zu beobachten war.

3.3 Metaanalyse pharmakogenetischer Daten in der Therapie mit Psychopharmaka (P10, 11)

Insgesamt wurden 32 Antidepressiva und 25 Antipsychotika in die Datenabfrage einbezogen. Für 34 Wirkstoffe wurden pharmakokinetische Daten gefunden, die sich auf CYP-Polymorphismen beziehen, wobei sich bei 14 von 21 Antidepressiva und 8 von 13 Antipsychotika signifikante Einflüsse des *CYP2D6*- oder *CYP2C19*-Genotyps auf pharmakokinetische Parameter wie Clearance, AUC oder Talspiegel zeigten. Basierend auf diesen Daten wurden Dosierungsanpassungen für die unterschiedlichen Metabolisierergruppen von CYP2D6 bzw. CYP2C19 ausgerechnet. Abb. 9 zeigt die Dosisanpassungen, die für PMs und EMs in den einzelnen Studien mit trizyklischen Antidepressiva ermittelt wurden. Die Dosierungsanpassungen wurden für alle vorhandenen Einzelstudien berechnet. Studien, die Daten zu aktiven Metaboliten enthielten, oder enantioselektive Analysen durchführten sowie die Art der Dosierung (multiple Dosierung versus Einmalgabe) in den Studien wurde dabei nicht unterschieden. Die Größe der Quadrate ist proportional der Fallzahl der Studie. Man erkennt eine gute Übereinstimmung der Studienergebnisse.

Abb. 10 präsentiert die für jede Substanz aus den jeweiligen Studien gewonnenen Dosisanpassungen für 11 Antidepressiva. Die Studien wurden wie folgt in der Berechnung der Dosisanpassungen berücksichtigt: Wenn es Studien mit Mehrfachgabe des jeweiligen Medikamentes gab, wurden nur diese einbezogen. Es wurden, wenn vorhanden, Daten zur aktiven Medikamentenfraktion (also etwa die Summe aus aktivem Metaboliten und Muttersubstanz) verwendet. Studien, die diese Daten nicht hatten, wurden dann weggelassen. Für Amitriptylin, Clomipramin und Mianserin wurden die Dosierungsanpassungen basierend auf der Summe von Hauptmetabolit und Muttersubstanz berechnet [Kirchheiner, 2001].

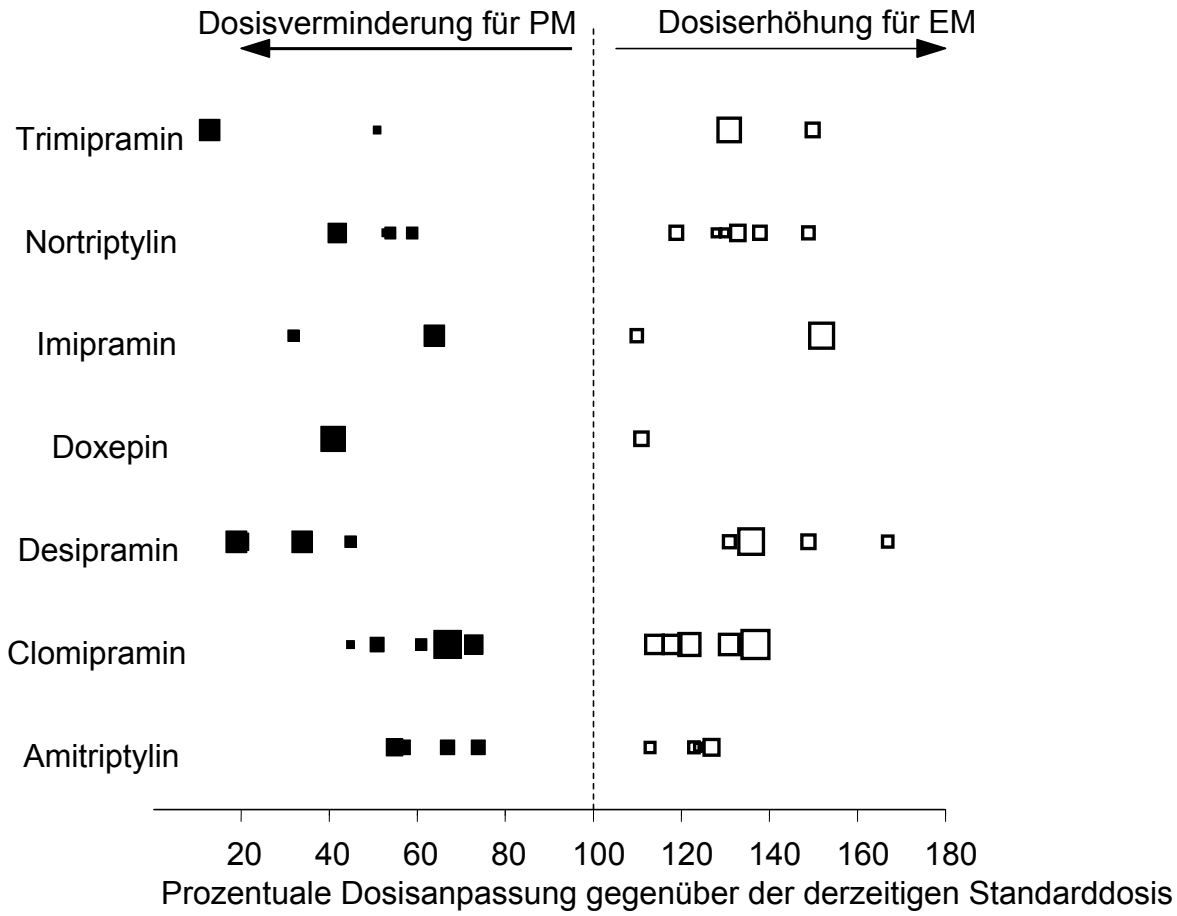

Abb. 9: Aus den Daten unterschiedlicher Studien berechnete Dosisanpassungen zur Berücksichtigung des *CYP2D6*-Polymorphismus. Jedes Quadrat entspricht dem Ergebnis einer Studie. Die Größe der Quadrate ist proportional zur Fallzahl. Schwarze Quadrate - Langsam-Metabolisierer (PM), weiße Quadrate - Schnellmetabolisierer (EM). Die dieser Darstellung zugrunde liegenden Originaldaten entstammen den Publikationen [Balant Gorgia, 1982, Baumann, 1986, Bergmann, 2001, Bertilsson, 1980, Brøsen, 1986, Brøsen, 1986, Dahl, 1996, Dalén, 1998, Duag, 1999, Eap, 2000, Kirchheiner, 2002, Kirchheiner, 2003, Mellström, 1981, Mellström, 1983, Mellström, 1986, Morita, 2000, Nielsen, 1992, Nielsen, 1994, Nielsen, 1994, Spina, 1987, Spina, 1997, Steiner, 1987, Suzuki, 1997, Yue, 1998].

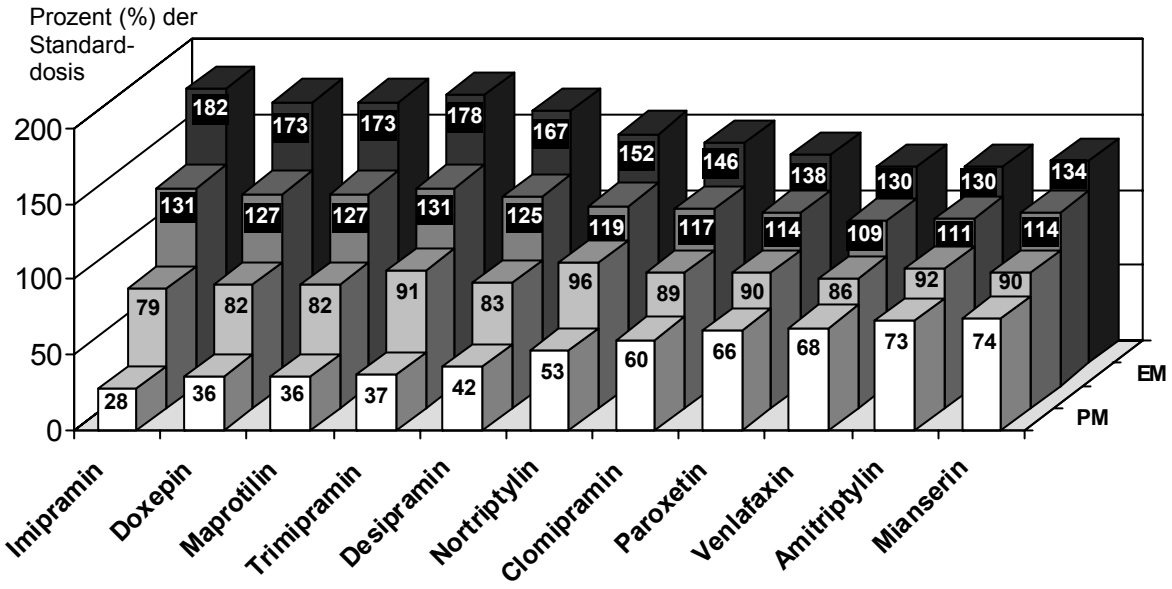

Abb. 10: Dosierungsanpassungen von Antidepressiva in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. PM: Langsam-Metabolisierer, IM: Intermediär-Metabolisierer, EM: Schnell-Metabolisierer und UM: Ultraschnell-Metabolisierer. Die Daten zu den UMs wurden für diese Abbildung unter Annahme eines linearen Gen-Dosis-Effektes extrapoliert. Wenn es Studien mit Mehrfachgabe des jeweiligen Medikamentes gab, wurden nur diese einbezogen. Für Amitriptylin, Clomipramin und Mianserin wurden die Dosierungsanpassungen basierend auf der Summe von Hauptmetabolit und Muttersubstanz berechnet und es sind nur die Studien eingegangen, die diese Daten gemessen hatten [Kirchheiner, 2001].

Die Auswertung der Daten zur Bedeutung des CYP2D6-Polymorphismus für Therapieerfolg und unerwünschte Arzneimittelwirkungen zeigte, dass nur sehr wenige Studien diese Fragen überhaupt untersucht hatten. Die meisten Studien wurden bei Gesunden durchgeführt, und von den Studien, die Wirksamkeit oder Nebenwirkungen mittels der Hamilton-Skala [Hamilton, 1980] oder mittels systematischer Erfassungen von Nebenwirkungen an Patienten durchgeführt hatten, waren mangels zu geringer Fallzahlen keine definitiven Aussagen abzuleiten [Baumann, 1986, Dahl, 1994, Koyama, 1996, Lessard, 1999, Mihara, 1997, Morinobu, 1997, Spina, 1997].

Systematische Untersuchungen zum Einfluß genetischer Varianten auf die Wirksamkeit von Antidepressiva wurden u. a. zu Polymorphismen in Serotonin- und Dopamin-Rezetorsubtypen, sowie in Serotonin- und Dopamin-Transportern durchgeführt. Die Ergebnisse lassen nur schwache Effekte einzelner Genotypen auf den Therapieerfolg erkennen. In Abb. 11 sind Daten zum Erfolg einer Therapie mit Clozapin in Abhängigkeit von Polymorphismen serotonerger und dopaminerger Rezeptoren dargestellt. Die Studiengröße ist in Form der Größe der schwarzen Quadrate abgebildet. Man erkennt, dass die meisten Studien

eine geringe Effektgröße der einzelnen Genotypen auf die Response zeigen (Odds ratio < 2) und dass teilweise widersprüchliche Ergebnisse vorhanden sind. Abgebildet sind Rezeptoren, von denen man vermutet, dass sie direkt an der Wirkung von Clozapin beteiligt sind mit folgenden Polymorphismen: der Aminsäureaustausch Cystein→Serin in Codon 23 des Serotonin-2C-Rezeptors (HTR2C Cys23Ser), der Basenaustausch Thymin→Cytosin an Position 102 (HTR2A 102T>C) und der Aminosäureaustausch Histidin→Thymin in Codon 452 des Serotonin-2A-Rezeptors (HTR2A His452Tyr) sowie der 48-Basenpaar-Tandem-Repeat im Dopamin-D4-Rezeptor (DRD4 48-bp VNTR) und der Aminosäureaustausch Serin nach Glycin in Codon 9 des Dopamin-D3-Rezeptors (DRD3 Ser9Gly). Die Ergebnisse dieser systematischen Recherche sowie aller weiterer Daten zu Genotyp-bedingten Unterschieden in Wirksamkeit und Nebenwirkungen von Antidepressiva und Antipsychotika wurden in einem weiteren systematischen Review für die Zeitschrift Molecular Psychiatry zusammengefasst (P11). Dabei zeigte sich, dass derzeit aus den Ergebnissen genetischer Studien zu pharmakodynamischen Varianten keine Therapieempfehlungen abgeleitet werden können, da entweder zu wenig Daten vorliegen, oder Assoziationen beschrieben werden, die in der Folge nicht repliziert werden konnten. Der durch einen Genotyp verursachte Unterschied in Therapieerfolg oder in Nebenwirkungen war durchwegs gering, so dass sehr wahrscheinlich kein monogenetischer Einfluss vorliegt. Damit können aber auch keine Therapieentscheidungen aus den Ergebnissen abgeleitet werden. In Zukunft mag die Untersuchung von mehreren Genotypen gleichzeitig sowie von Gen-Interaktionen und das Studium weiterer in die Arzneimittelwirkung involvierter Varianten ein vollständigeres Bild des genetischen Einflusses auf den individuellen Therapieerfolg geben.

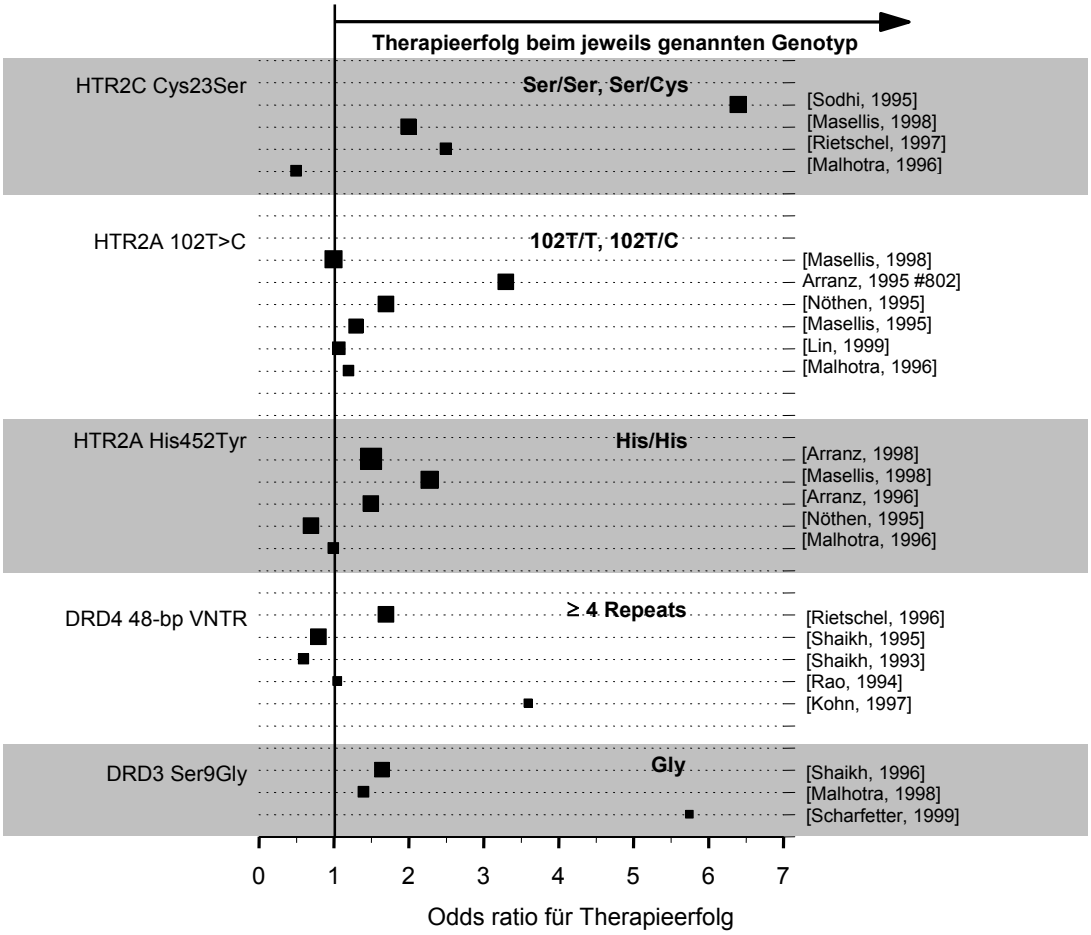

Abb 11: Darstellung des Einflusses (quantifiziert als Odds Ratio) genetischer Polymorphismen in Serotonin- und Dopaminrezeptoren auf die Clozapin-Wirkung. Abgebildet sind Rezeptoren, von denen man vermutet, dass sie direkt an der Wirkung von Clozapin beteiligt sind mit folgenden Polymorphismen: der Aminosäureaustausch Cystein zu Serin in Codon 23 des Serotonin-2C-Rezeptors (HTR2C Cys23Ser), der Basenaustausch Thymin nach Cytosin an Position 102 (HTR2A 102T>C) und der Aminosäureaustausch Histidin zu Thymin in Codon 452 des Serotonin-2A-Rezeptors (HTR2A His452Tyr), sowie der 48-Basenpaar-Tandem-Repeat im Dopamin-D4-Rezeptor (DRD4 48-bp VNTR) und der Aminosäureaustausch Serin nach Glycin in Codon 9 des Dopamin-D3-Rezeptors (DRD3 Ser9Gly). Die Fallzahl der Studien ist in Form der Größe der schwarzen Quadrate dargestellt.

4 Diskussion und medizinische Relevanz

4.1 Auswirkung pharmakogenetischer Variabilität auf die Arzneitherapie

Genetische Polymorphismen beeinflussen die individuelle Arzneimittelwirkung. In den für diese Arbeit durchgeführten Studien wurden klinisch bedeutsame Unterschiede in pharmakokinetischen Parametern von Arzneimitteln untersucht, die durch unterschiedliche genetische Varianten in Enzyme der Biotransformation verursacht sind. Insbesondere zum Cytochrom P450 Enzym 2C9 wurden erstmalig systematische Studien zu allen sechs durch die beiden Allele *CYP2C9*2* und **3* entstehenden Genotypen bei gesunden Probanden durchgeführt. Die Untersuchung von insgesamt 8 CYP2C9 Substraten zeigte quantitativ unterschiedliche Einflüsse jeweils auf die orale Clearance und AUC dieser Pharmaka, wobei bei allen Substraten das Allel *CYP2C9*3* eine stärker herabgesetzte Clearance zur Folge hatte als die Variante *CYP2C9*2*. Ähnliche Ergebnisse gibt es zu anderen CYP2C9-Substraten, wie Warfarin, Losartan, Phenytoin, Glipizide und Acenocoumarol [Kidd, 1999, Niemi, 2002, Scordo, 2002, Thijssen, 2001, Yasar, 2001]]. Jedoch wurde in keiner dieser Studien eine Zahl von drei oder mehr homozygoten Trägern weder von *CYP2C9*2* noch *CYP2C9*3* erreicht. Die klinische Bedeutung dieser genetisch bedingten Unterschiede in der Pharmakokinetik hängt von den jeweiligen Substanzen und deren Nebenwirkungsrisiken ab. Der Genotyp *CYP2C9*3/*3* kommt zwar nur in unter 1% in der Bevölkerung vor [Yasar, 1999], ist aber mit einer auf die Hälfte oder noch weniger reduzierten Clearance für alle untersuchten CYP2C9-Substrate (ausgenommen Diclofenac und Phenprocoumon, die in vivo nur zu einem geringen Anteil über CYP2C9 metabolisiert werden) verknüpft (siehe Abb. 7). Bei Einnahme von oralen Antidiabetika wie die untersuchten Sulfonylharnstoffe Glibenclamid, Glipizid, Glimepirid oder Tolbutamid sowie Nateglinid haben Patienten mit diesem Genotyp mit höheren Blutkonzentrationen zu rechnen, was ein erhöhtes Hypoglykämierisiko mit sich bringt.

Ob eine Genotypisierung eines Patienten vor Beginn einer Arzneitherapie sinnvoll ist, hängt davon ab, ob die Folgen eines Genotyps durch Änderung der Arzneitherapie berücksichtigt werden können. Im Zusammenhang mit den hier vorgestellten Studien wurde deshalb eine Kalkulationsmethode nach dem Prinzip der Bioäquivalenz entwickelt, die zum Ausgleich von genetisch bedingten Unterschieden in der Clearance von Arzneistoffen durch Anpassung der individuellen Dosis an den Genotyp führt [Kirchheiner, 2001]. Es wurden erstmalig Dosierungsanpassungen für Antidepressiva und Antipsychotika in Abhängigkeit von Polymorphismen in *CYP2D6* und *CYP2C19* formuliert, die klinisch umgesetzt werden

können. Es überrascht, dass trotz der vielen pharmakogenetischen Studien, die in die systematische Analyse eingingen, bisher konkrete Schlussfolgerungen oder Therapieempfehlungen vermieden wurde und es bei der bloßen Beschreibung der genetischen Einflüsse blieb. Die errechneten Dosierungsempfehlungen sind jedoch noch nicht für die Anwendung in der Praxis validiert. Dies muss durch prospektive Untersuchungen zum Benefit der genotyp-basierten Dosierung versus der üblichen Dosisfindung Seite: 35 [0]nach anderen Verfahren wie Therapeutischen Drug Monitoring oder klinischer Überprüfung der individuellen Wirksamkeit und Verträglichkeit geschehen.

Im Falle des S-Warfarin, ein CYP2C9-Substrat, wird die Dosierung über Bestimmung des Gerinnungsparameters INR (*International normalized ratio*) empirisch bei jedem Patient gefunden. Die über Bestimmung der INR gefundene mittlere Tagesdosis bei Patienten, die für *CYP2C9* genotypisiert wurden, zeigte eine erstaunlich gute Übereinstimmung mit den pharmakogenetisch aus den *CYP2C9* genotyp-bedingten Unterschieden in der oralen Clearance vorhergesagten Dosisanpassungen [Higashi, 2002, Scordo, 2002] (Abb. 12).

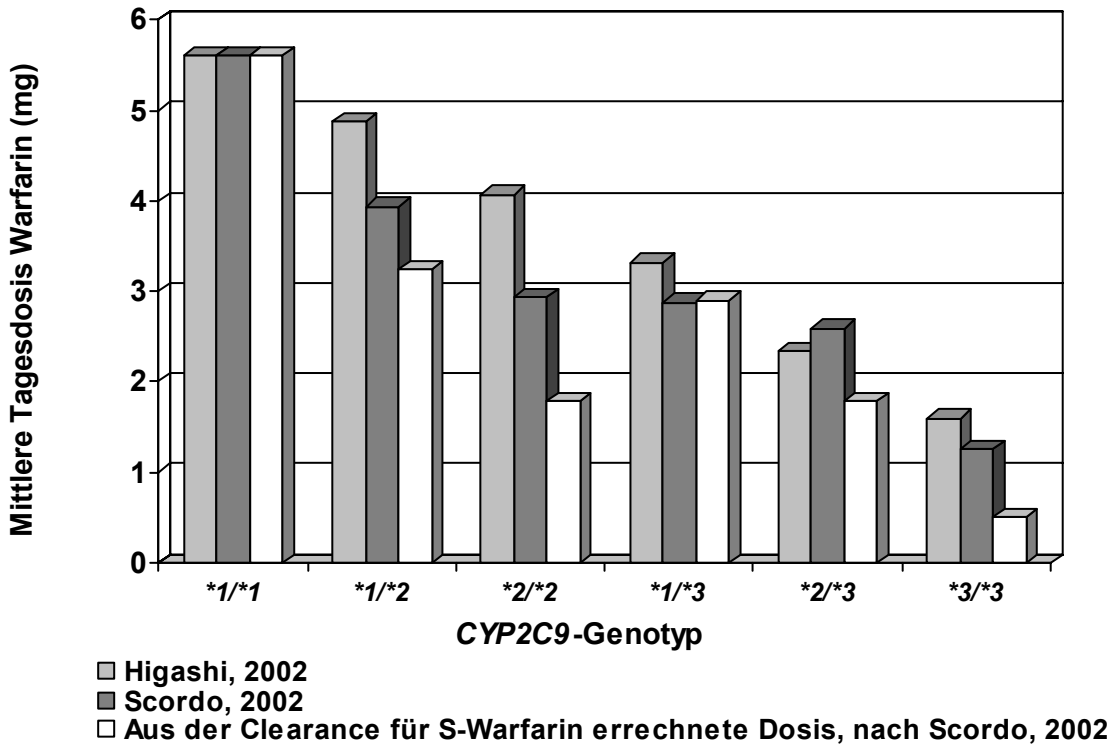

Abb. 12: Mittlere Dosis für Warfarin ermittelt einmal empirisch über den INR der Patienten (grau) [Higashi, 2002, Scordo, 2002] und andererseits (weiß) die aus den Unterschieden in der oralen Clearance errechneten Dosierungsanpassungen für die jeweiligen *CYP2C9*-Genotypen [Scordo, 2002].

Auf der Seite der genetischen Variabilität in Zielstrukturen der Antidepressiva- und Antipsychotikawirkung war die Ableitung konkreter Dosierungs- oder Therapieempfehlungen derzeit noch nicht möglich. Die systematische Analyse aller pharmakogenetischer Daten zur Response von Antidepressiva und Antipsychotika ergab, dass die bisher vorhandenen Daten zu genetischen Varianten in Zielstrukturen der Antidepressiva-Wirkung, wie den Serotonin-, Noradrenalin- und Dopamintransportern und –rezeptoren keine valide Prädiktion der Therapie-Response ermöglichen. Die Datenlage ist, obwohl sehr viele Studien gemacht wurden, insgesamt widersprüchlich und die Effektgröße der einzelnen genetischen Einflüsse ist klein (Odds ratio meist <2) [Kirchheiner, in press].

Es besteht die Frage, ob es sich hier um ein prinzipielles Problem bei der genetischen Charakterisierung von Phänotypen wie z. B. Non-Respondern handelt, oder ob die untersuchten Gene nicht die für die eigentlich antidepressive oder antipsychotische Wirkung relevanten sind. Untersuchungen zur antidepressiven Langzeitwirkung zeigten, dass die neuronale Atrophie in Hirnregionen wie dem präfrontalen Kortex und der Hippocampusregion, die man bei Depression beobachtet, durch unterschiedliche Therapieverfahren, wie Elektrokrampftherapie, antidepressive Medikation oder die Therapie mit Phasenprophylaktika, gleichermaßen im Sinne einer Nervenzellregeneration beeinflusst wird [Manji, 2003]. Es scheint also in der Langzeitwirkung antidepressiv wirkender Maßnahmen eine substanzunabhängige Heilung im Sinne einer Neuroregeneration in Gang gesetzt zu werden. Die dieser Neuroregeneration zugrunde liegenden genetischen Strukturen und deren Varianten könnten weiteren Aufschluss über das individuelle Ansprechen auf antidepressive Therapie geben. Gene aus dem Bereich des Mitogen aktivierte Protein Kinasen (MAP-Kinase)-Signalweges oder Signaltransduktionsfaktoren wie das cAMP (cyclisches Adenosin-Monophosphat) responsive element bindende Protein (CREB), oder an der Regulation der Apoptose beteiligte Gene wie BCL-2 (historisch benannt nach der Zelllinie, in der eine Überexpression entdeckt wurde: b-cell lymphoma -2) und Wachstumsfaktoren wie der Brain derived neurotrophic factor (BDNF) und deren Rezeptoren sind Kandidatengene für die Untersuchung der antidepressiven Langzeiteffekte [Manji, 2003].

Auch die Analyse genetischer Daten kann unter Umständen tatsächlich vorliegende Einflüsse verschleiern oder nicht-replizierbare Ergebnisse kreieren. Genetische Varianten treten nicht isoliert auf, sondern werden in Blöcken vererbt. Diese Blöcke umfassen große Bereiche der DNA, die man aufgrund der Kopplung genetischer Varianten erkennt. Es kann vorkommen, dass so genannte stille genetische Varianten, die selbst keine funktionelle Bedeutung haben, mit anderen, funktionell bedeutsamen verknüpft sind. Die Kopplung

diverser Genpolymorphismen im Bereich eines Gen-Lokus bezeichnet man als Haplotyp [Wall, 2003]. Das Haplotyp-Konzept verspricht, dass es in Zukunft möglich sein wird, Genotypisierungen auf relativ wenige Indikator-Bestimmungen zu beschränken, die Aussagen über funktionell bedeutsame Varianten machen.

4.2 Pharmakogenetisch basierte Dosierungsempfehlungen im Kontext mit anderen Einflussfaktoren auf den Arzneimittelmetabolismus

Genetische Faktoren sind nur ein Teil der vielen Einflussgrößen, welche für individuelle Unterschiede in der Arzneimittelwirkung verantwortlich sind (Abb. 13). Für eine individuelle Behandlung von Patienten müssen Faktoren wie Alter des Patienten, Gewicht und Geschlecht, aber auch Krankheit (insbesondere Leber-, Nieren-, Herzerkrankungen) oder Schwangerschaft in Betracht genommen werden. Daneben spielen Lebensstil, Genussmittel wie Zigarettenrauchen und Alkohol und auch Ernährung eine wichtige Rolle und können zu Veränderungen im Arzneimittelstoffwechsel führen. Nahrungsbestandteile, wie z. B. im Grapefruitsaft enthaltene Stoffe können die Elimination von Arzneimitteln erheblich beeinflussen [Ho, 2001]. Arzneimittel-Wechselwirkungen müssen berücksichtigt werden, aber auch Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln und Nahrungsstoffen [Sorensen, 2002]. Sehr wichtig für den Erfolg einer Arzneitherapie ist auch die Compliance der Patienten: Insbesondere in der psychiatrischen Pharmakotherapie wird ein Großteil der Medikamente nicht wie verordnet eingenommen [Mcdonald, 2002].

Pharmakogenetische Dosierungsempfehlungen sind daher nur einer unter vielen Aspekten zur Individualisierung der Arzneitherapie. Um pharmakogenetische Dosierungsempfehlungen sinnvoll und sicher anwenden zu können, ist eine genaue Anamnese bezüglich individueller Faktoren, weiterer Medikamente, und Komorbidität notwendig. Der behandelnde Arzt muss die Einzelgrößen für eine individuelle Arzneitherapie abwägen. So kann es beispielsweise sein, dass ein Ultraschnell-Metabolisierer bezüglich CYP2D6 aufgrund inhibitorisch wirkender Komedikation keine erhöhte Aktivität des Enzyms aufweist und mit einer Dosiserhöhung, wie sie aufgrund seines Genotyps sinnvoll erscheinen würde, überdosiert wäre [Laine, 2001].

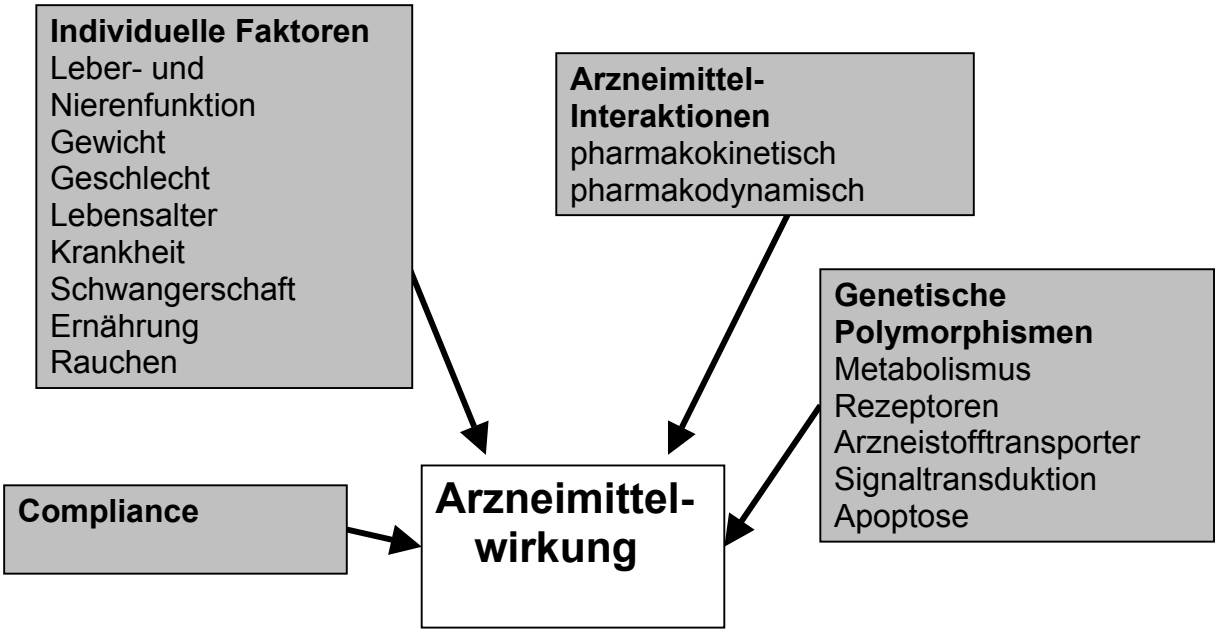

Abb. 13: Darstellung von individuellen Faktoren, die die Arzneimittelwirkung beeinflussen.

4.3 Zukünftige Perspektiven pharmakogenomischer Forschung

Die dargestellten Beispiele zeigen, dass eine Fülle von Daten vorliegen, um einen ersten Versuch einer genetisch optimierten individualisierten Arzneitherapie unternehmen zu können. In erster Linie dürfte die genetisch begründete Dosisanpassung Eingang in die Praxis finden. Man muss bedenken, dass dieser pharmakogenetische Aspekt doch nur für einen kleineren Teil der Gesamtzahl der Medikamente zutrifft. In der Größenordnung dürften es ca. 200-300 wichtige Arzneimittel sein. Im Sinne einer Evidenz-basierten Medizin wird man fordern, dass die Überlegenheit einer solchen dosisadjustierten Medikation im Vergleich zur Gabe von Standarddosen durch klinische Studien belegt wird. Erste Arbeiten hierzu liegen bereits zur Gabe von Azathioprin und 6-Mercaptopurin vor [Mcleod, 2002]. Auch sollten die Therapiekosten generell niedriger sein, wenn Phasen einer Non-Responder-Therapie oder Kosten durch auftretende Nebenwirkungen vermieden werden. Dieser pharmakoökonomische Aspekt ist von großer Bedeutung. Da genetische Eigenschaften sich im Laufe des Lebens nicht ändern, muss die Bestimmung therapierelevanter Genotypen nur einmal im Leben vorgenommen und die Information vom Patienten aufbewahrt werden, ähnlich wie seine Blutgruppenmerkmale. Allerdings bestehen erhebliche interethnische Unterschiede in Auftreten und Häufigkeit genetischer Varianten und die therapierelevanten Genotypen und

daraus abzuleitenden klinischen Therapieempfehlungen unterscheiden sich je nach Ethnizität unter Umständen erheblich.

Es ist zu erwarten, dass die Analysekosten pro Variante in der nächsten Zeit drastisch sinken werden, insbesondere durch den Einsatz von sog. Genchips, mit denen zahlreiche Mutationen gleichzeitig bestimmt werden können. So wurden bereits Genchips zusammengestellt, die viele Enzyme des Arzneimittelstoffwechsels und toxikologisch relevante Gene gleichzeitig messen können oder aber Gene, die bei kardiovaskulären oder Krebserkrankungen von Bedeutung sind. Gegenwärtig dienen diese Genchips fast nur der Forschung. Es ist zu hoffen, dass in einer künftigen Therapie die genetische Information über den Patienten bereits bei Therapiebeginn mitberücksichtigt wird.

Mit steigender Datenfülle werden ethische Aspekte und Schutz des Individuums vor Missbrauch genetischer und persönlicher Daten eine zunehmende Rolle spielen. Gesetzgebung und Versorgungsträger müssen sich mit den ethischen Aspekten der Pharmakogenomik auseinandersetzen.

Das notwendige Wissen für den Umgang mit pharmakogenetisch-basierten Therapiekonzepten muss auch den praktisch tätigen Arzt erreichen. Diese Information könnte u.a. im Beipackzettel der Medikamente enthalten sein oder über die Praxis-Software vermittelt werden. Die Umsetzung der Pharmakogenetik sollte auch in der ärztlichen Fortbildung thematisiert werden.

5 Zusammenfassung

Genetische Polymorphismen in den Enzymen CYP2D6, CYP2C19 und CYP2C9 beeinflussen die Pharmakokinetik medizinisch bedeutsamer Arzneimittel wie Antidepressiva, oraler Antidiabetika und nichtsteroidaler Antiphlogistika in erheblichem Ausmaß. In der Zukunft kann die Bestimmung genetischer Varianten bei Patienten zur Verbesserung der Arzneitherapie genutzt werden, jedoch nur dann, wenn klinische Konsequenzen wie konkrete Therapieempfehlungen aus den genetischen Daten abgeleitet werden können.

An gesunden Probanden wurde die die Bedeutung der beiden Aminosäurevarianten des Enzyms CYP2C9, Arg144Cys (*CYP2C9**2) und Leu359Ile (*CYP2C9**3) für die Pharmakokinetik von Tolbutamid, Glibenclamid, Nateglinid, Diclofenac, Ibuprofen, Celecoxib und Fluvastatin untersucht. Die Analyse der pharmakokinetischen Parameter ergab eine erheblich erniedrigte Clearance für diese Substrate bei homozygoten Trägern der Allelvariante *CYP2C9*3*, wie sie etwa 1% in der Bevölkerung tragen. Um bioäquivalente Konzentrationsverläufe zu erreichen, müssten diese Patienten deutlich niedrigere Dosierungen (unter 50%) der meisten der untersuchten CYP2C9-Substrate erhalten. Hingegen zeigte die *CYP2C9*2*-Variante nur einen geringen Einfluss auf die Pharmakokinetik der untersuchten Medikamente.

Für den Bereich der Therapie mit Antidepressiva und Antipsychotika sollte untersucht werden, inwieweit umfassende pharmakogenetisch begründete Therapieempfehlungen gegeben werden können. Eine systematische Analyse aller bisher publizierten Daten zum Einfluss von Polymorphismen von *CYP2D6*, *CYP2C19* und *CYP2C9* ergab, dass für die meisten gängigen Antidepressiva bereits Studien zur Bedeutung von Cytochrom-P450-Polymorphismen durchgeführt wurden. Für die beiden in Deutschland sehr häufig verwendeten Trizyklika Trimipramin und Doxepin dagegen lagen keine ausreichenden Daten vor. Beide Medikamente wurden deshalb bei Probanden getestet, die jeweils Träger eines oder zweier Allele mit defizienter oder herabgesetzter Enzymaktivität von CYP2D6, CYP2C19 oder CYP2C9 waren. Es ergab sich ein deutlicher Einfluss des *CYP2D6*-Genotyps, ein schwächerer von *CYP2C19* und des Genotyps *CYP2C9*3/*3*. Eine Dosisreduktion für Langsam-Metabolisierer von CYP2D6 und etwas moderater für Langsam-Metabolisierer von CYP2C19, sowie für Träger des Genotyps *CYP2C9*3/** erscheint für diese beiden Antidepressiva sinnvoll.

Die eigenen Daten und die Daten für andere Antidepressiva aus der Literatur wurden dazu verwendet, eine Methode zur Ableitung von pharmakogenetisch basierten

Dosierungsempfehlungen zu entwickeln. Auf dem Prinzip der Bioäquivalenz basierend wurden Dosierungsanpassungen für unterschiedliche Genotypen je nach Unterschieden in der Clearance von Substanzen errechnet. Durch diese Dosierungsanpassungen können zumindest theoretisch die durch herabgesetzte Enzymaktivität verursachten Unterschiede in den Plasmakonzentrationsverläufen von Medikamenten ausgeglichen werden. Dabei wurden aktive an der Arzneimittelwirkung teilhabende Metaboliten mit berücksichtigt.

Auf Seiten der Pharmakodynamik wurden die vielen Studien zu genetischen Polymorphismen in Serotonin-, Dopaminrezeptoren und Transportern und auch zu anderen Kandidatengenen für die Antidepressiva-, und Antipsychotikawirkung analysiert. Jedoch lassen sich aus den teilweise geringen Einflüssen einzelner Genotypen auf die Arzneimittelwirkung derzeit noch keine pharmakodynamisch begründeten Therapieempfehlungen ableiten.

Zusammenfassend lassen sich also bereits heute pharmakogenetisch basierte Dosierungsempfehlungen für viele Medikamente berechnen. Derartige Empfehlungen müssen prospektiv überprüft, validiert und angepasst werden. Auf Seiten der Zielmoleküle der Arzneimittelwirkung ist eine Ableitung genetisch basierter Therapieempfehlungen schwieriger. Das Ziel, konkrete Therapieempfehlungen aus genetischen Daten abzuleiten, ist eine notwendige Bedingung, um Pharmakogenetik in die klinische Praxis der Arzneitherapie einzuführen.

Referenzen

Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999; 353: 717-9.

Arranz MJ, Collier DA, Munro J, Sham P, Kirov G, Sodhi M, Roberts G, Price J, Kerwin RW. Analysis of a structural polymorphism in the 5-HT2A receptor and clinical response to clozapine. *Neurosci Lett* 1996; 217: 177-8.

Arranz MJ, Munro J, Owen MJ, Spurlock G, Sham PC, Zhao J, Kirov G, Collier DA, Kerwin RW. Evidence for association between polymorphisms in the promoter and coding regions of the 5-HT2A receptor gene and response to clozapine. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 61-6.

Aynacioglu AS, Brockmöller J, Bauer S, Sachse C, Guzelbey P, Ongen Z, Nacak M, Roots I. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 48: 409-15.

Balant Gorgia AE, Schulz P, Dayer P, Balant L, Kubli A, Gertsch C, Garrone G. Role of oxidation polymorphism on blood and urine concentrations of amitriptyline and its metabolites in man. *Arch Psychiatr Nervenkr* 1982; 232: 215-22.

Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L. Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1996; 14: 737-44.

Baumann P, Jonzier Perey M, Koeb L, Küpfer A, Tinguely D, Schopf J. Amitriptyline pharmacokinetics and clinical response: II. Metabolic polymorphism assessed by hydroxylation of debrisoquine and mephenytoin. *Int Clin Psychopharmacol* 1986; 1: 102-12.

Bergmann TK, Bathum L, Brosen K. Duplication of CYP2D6 predicts high clearance of desipramine but high clearance does not predict duplication of CYP2D6. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57: 123-7.

Bertilsson L, Eichelbaum M, Mellström B, Säwe J, Schulz HU, Sjöqvist F. Nortriptyline and antipyrine clearance in relation to debrisoquine hydroxylation in man. *Life Sci* 1980; 27: 1673-7.

Bertilsson L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet* 1995; 29: 192-209.

Bertz RJ, Granneman GR. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 210-58.

Bort R, Mace K, Boobis A, Gomez Lechon MJ, Pfeifer A, Castell J. Hepatic metabolism of diclofenac: role of human CYP in the minor oxidative pathways. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 787-96.

Brøsen K, Klysner R, Gram LF, Otton SV, Bech P, Bertilsson L. Steady-state concentrations of imipramine and its metabolites in relation to the sparteine/debrisoquine polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol* 1986; 30: 679-84.

Brøsen K, Otton SV, Gram LF. Imipramine demethylation and hydroxylation: impact of the sparteine oxidation phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 40: 543-9.

Cooke GE, Bray PF, Hamlington JD, Pham DM, Goldschmidt-Clermont PJ. PlA2 polymorphism and efficacy of aspirin. *Lancet* 1998; 351: 1253.

Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M, Glorioso N, Lanzani C, Manunta P, Righetti M, Rivera R, Stella P, Troffa C, Zagato L, Bianchi G. Polymorphisms of alpha-adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997; 349: 1353-7.

Dahl ML, Tybring G, Elwin CE, Alm C, Andreasson K, Gyllenpalm M, Bertilsson L. Stereoselective disposition of mianserin is related to debrisoquin hydroxylation polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 1994; 56: 176-83.

Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman Sundberg M, Sjoqvist F. Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 516-20.

Dahl ML, Bertilsson L, Nordin C. Steady-state plasma levels of nortriptyline and its 10-hydroxy metabolite: relationship to the CYP2D6 genotype. *Psychopharmacology Berl* 1996; 123: 315-9.

Dalén P, Dahl ML, Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L. 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 63: 444-52.

de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 1994; 269: 15419-22.

De Morais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol* 1994; 46: 594-598.

Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 913-58.

Dishy V, Sofowora GG, Xie HG, Kim RB, Byrne DW, Stein CM, Wood AJ. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization. *N Engl J Med* 2001; 345: 1030-5.

Drazen JM, Yandava CN, Dube L, Szczerback N, Hippensteel R, Pillari A, Israel E, Schork N, Silverman ES, Katz DA, Drajesk J. Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. *Nat Genet* 1999; 22: 168-70.

Drysdale CM, McGraw DW, Stack CB, Stephens JC, Judson RS, Nandabalan K, Arnold K, Ruano G, Liggett SB. Complex promoter and coding region beta 2-adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict in vivo responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 10483-8.

DUAG. Clomipramine dose-effect study in patients with depression: Clinical end points and pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 66: 152-165.

Eap CB, Laurian S, Souche A, Koeb L, Reymond P, Buclin T, Baumann P. Influence of quinidine on the pharmacokinetics of trimipramine and on its effect on the waking EEG of healthy volunteers. A pilot study on two subjects. *Neuropsychobiology* 1992; 25: 214-20.

Eap CB, Bender S, Gastpar M, Fischer W, Haarmann C, Powell K, Jonzier Perey M, Cochard N, Baumann P. Steady state plasma levels of the enantiomers of trimipramine and of its metabolites in CYP2D6-, CYP2C19- and CYP3A4/5-phenotyped patients. *Ther Drug Monit* 2000; 22: 209-14.

Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000; 343: 1350-4.

Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-91.

Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 2003; 348: 538-49.

Hamilton M. Rating depressive patients. *J Clin Psychiatry* 1980; 41: 21-4.

Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, Rettie AE. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *Jama* 2002; 287: 1690-8.

Ho PC, Saville DJ, Wanwimolruk S. Inhibition of human CYP3A4 activity by grapefruit flavonoids, furanocoumarins and related compounds. *J Pharm Pharm Sci* 2001; 4: 217-27.

Israel E, Drazen JM, Liggett SB, Boushey HA, Cherniack RM, Chinchilli VM, Cooper DM, Fahy JV, Fish JE, Ford JG, Kraft M, Kunselman S, Lazarus SC, Lemanske RF, Martin RJ, McLean DE, Peters SP, Silverman EK, Sorkness CA, Szefler SJ, Weiss ST, Yandava CN. The effect of polymorphisms of the beta(2)-adrenergic receptor on the response to regular use of albuterol in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 75-80.

Kaiser R, Hofer A, Grapengiesser A, Gasser T, Kupsch A, Roots I, Brockmoller J. L-Dopa-induced adverse effects in PD and dopamine transporter gene polymorphism. *Neurology* 2003; 60: 1750-5.

Kidd RS, Straughn AB, Meyer MC, Blaisdell J, Goldstein JA, Dalton JT. Pharmacokinetics of chlorpheniramine, phenytoin, glipizide and nifedipine in an individual homozygous for the CYP2C9*3 allele. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 71-80.

Kirchheiner J, Brøsen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjoqvist F, Spina E, Brockmöller J. CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* 2001; 104: 173-92.

Kirchheiner J, Bauer S, Meineke I, Rohde W, Prang V, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Impact of CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tolbutamide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 101-109.

Kirchheiner J, Brockmöller J, Meineke I, Bauer S, Rohde W, Meisel C, Roots I. Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 71: 286-296.

Kirchheiner J, Meineke I, Freytag G, Meisel C, Roots I, Brockmöller J. Enantiospecific effects of cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenases 1 and 2. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 62-75.

Kirchheiner J, Meineke I, Muller G, Roots I, Brockmöller J. Contributions of CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 to the biotransformation of E- and Z-doxepin in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 571-80.

Kirchheiner J, Meisel C, Goldammer M, Gerloff T, Kaiser R, Roots I. Pharmakogenetik als Basis neuer Therapiekonzepte. *Bundesgesundheitsblatt* 2003; 46: 835-844.

Kirchheiner J, Muller G, Meineke I, Wernecke KD, Roots I, Brockmoller J. Effects of polymorphisms in CYP2D6, CYP2C9, and CYP2C19 on trimipramine pharmacokinetics. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23: 459-66.

Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Licinio J, Wong M-L, Roots I, Brockmöller J. Therapeutic implications from pharmacogenetics in antidepressant and antipsychotic drug therapy. *Mol Psychiatry* in press;

Kohn Y, Ebstein RP, Heresco-Levy U, Shapira B, Nemanov L, Gritsenko I, Avnon M, Lerer B. Dopamine D4 receptor gene polymorphisms: relation to ethnicity, no association with schizophrenia and response to clozapine in Israeli subjects. *Eur Neuropsychopharmacol* 1997; 7: 39-43.

Koyama E, Tanaka T, Chiba K, Kawakatsu S, Morinobu S, Totsuka S, Ishizaki T. Steady-state plasma concentrations of imipramine and desipramine in relation to S-mephenytoin 4'-hydroxylation status in Japanese depressive patients. *J Clin Psychopharmacol* 1996; 16: 286-93.

Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, de Knijff P, McPherson R, Bruschke AV, Lie KI, Kastelein JJ. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *N Engl J Med* 1998; 338: 86-93.

Laine K, Tybring G, Hartter S, Andersson K, Svensson JO, Widen J, Bertilsson L. Inhibition of cytochrome P4502D6 activity with paroxetine normalizes the ultrarapid metabolizer phenotype as measured by nortriptyline pharmacokinetics and the debrisoquin test. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 327-35.

Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998; 279: 1200-5.

Leemann T, Transon C, Dayer P. Cytochrome P450TB (CYP2C): a major monooxygenase catalyzing diclofenac 4'-hydroxylation in human liver. *Life Sci* 1993; 52: 29-34.

Lessard E, Yessine M, Hamelin B, O'Hara G, LeBlanc J, Turgeon J. Influence of CYP2D6 activity on the disposition and cardiovascular toxicity of the antidepressant agent venlafaxine in humans. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 435-443.

Lin CH, Tsai SJ, Yu YW, Song HL, Tu PC, Sim CB, Hsu CP, Yang KH, Hong CJ. No evidence for association of serotonin-2A receptor variant (102T/C) with schizophrenia or clozapine response in a Chinese population. *Neuroreport* 1999; 10: 57-60.

Lindpaintner K. Pharmacogenetics and the future of medical practice. *J Mol Med* 2003; 81: 141-53.

Lohse M, Lorenzen A, Müller-Oerlinghausen B. Psychopharmaka. *Arzneiverordnungsreport 2002* 2002; Springer, Heidelberg. 641-678.

Madsen H, Hansen TS, Brøsen K. Imipramine metabolism in relation to the sparteine oxidation polymorphism--a family study. *Pharmacogenetics* 1996; 6: 513-9.

Madsen H, Rasmussen BB, Brøsen K. Imipramine demethylation in vivo: impact of CYP1A2, CYP2C19, and CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 61: 319-24.

Malhotra AK, Goldman D, Ozaki N, Breier A, Buchanan R, Pickar D. Lack of association between polymorphisms in the 5-HT2A receptor gene and the antipsychotic response to clozapine. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1092-4.

Malhotra AK, Goldman D, Ozaki N, Rooney W, Clifton A, Buchanan RW, Breier A, Pickar D. Clozapine response and the 5HT2C Cys23Ser polymorphism. *Neuroreport* 1996; 7: 2100-2.

Malhotra AK, Goldman D, Buchanan RW, Rooney W, Clifton A, Kosmidis MH, Breier A, Pickar D. The dopamine D3 receptor (DRD3) Ser9Gly polymorphism and schizophrenia: a haplotype relative risk study and association with clozapine response. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 72-5.

Mancy A, Antignac M, Minoletti C, Dijols S, Mouries V, Duong NT, Battioni P, Dansette PM, Mansuy D. Diclofenac and its derivatives as tools for studying human cytochromones P450 active sites: Particular efficiency and regioselectivity of P450 2Cs. *Biochemistry.* 1999; 38: 14264-14270.

Manji HK, Quiroz JA, Sporn J, Payne JL, Denicoff K, N AG, Zarate CA, Jr., Charney DS. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry* 2003; 53: 707-42.

Masellis M, Paterson AD, Badri F, Lieberman JA, Meltzer HY, Cavazzoni P, Kennedy JL. Genetic variation of 5-HT2A receptor and response to clozapine. *Lancet* 1995; 346: 1108.

Masellis M, Basile V, Meltzer HY, Lieberman JA, Sevy S, Macciardi FM, Cola P, Howard A, Badri F, Nöthen MM, Kalow W, Kennedy JL. Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology* 1998; 19: 123-32.

McDonald HP, Garg AX, Haynes RB. Interventions to enhance patient adherence to medication prescriptions: scientific review. *Jama* 2002; 288: 2868-79.

McLeod HL, Siva C. The thiopurine S-methyltransferase gene locus -- implications for clinical pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2002; 3: 89-98.

Mellström B, Bertilsson L, Säwe J, Schulz HU, Sjöqvist F. E- and Z-10-hydroxylation of nortriptyline: relationship to polymorphic debrisoquine hydroxylation. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 30: 189-93.

Mellström B, Bertilsson L, Lou YC, Säwe J, Sjöqvist F. Amitriptyline metabolism: relationship to polymorphic debrisoquine hydroxylation. *Clin Pharmacol Ther* 1983; 34: 516-20.

Mellström B, Säwe J, Bertilsson L, Sjöqvist F. Amitriptyline metabolism: association with debrisoquin hydroxylation in nonsmokers. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 39: 369-71.

Michelson AD, Furman MI, Goldschmidt-Clermont P, Mascelli MA, Hendrix C, Coleman L, Hamlington J, Barnard MR, Kickler T, Christie DJ, Kundu S, Bray PF. Platelet GP IIIa Pl(A) polymorphisms display different sensitivities to agonists. *Circulation* 2000; 101: 1013-8.

Mihara K, Otani K, Tybring G, Dahl ML, Bertilsson L, Kaneko S. The CYP2D6 genotype and plasma concentrations of mianserin enantiomers in relation to therapeutic response to mianserin in depressed Japanese patients. *J Clin Psychopharmacol* 1997; 17: 467-71.

Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 525-38.

Morinobu S, Tanaka T, Kawakatsu S, Totsuka S, Koyama E, Chiba K, Ishizaki T, Kubota T. Effects of genetic defects in the CYP2C19 gene on the N-demethylation of imipramine, and clinical outcome of imipramine therapy. *Psychiatry Clin Neurosci* 1997; 51: 253-7.

Morita S, Shimoda K, Someya T, Yoshimura Y, Kamijima K, Kato N. Steady-state plasma levels of nortriptyline and its hydroxylated metabolites in Japanese patients: impact of CYP2D6 genotype on the hydroxylation of nortriptyline. *J Clin Psychopharmacol* 2000; 20: 141-9.

Nielsen KK, Brøsen K, Gram LF. Steady-state plasma levels of clomipramine and its metabolites: impact of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. Danish University Antidepressant Group. *Eur J Clin Pharmacol* 1992; 43: 405-11.

Nielsen KK, Brøsen K, Hansen MG, Gram LF. Single-dose kinetics of clomipramine: relationship to the sparteine and S-mephenytoin oxidation polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 1994; 55: 518-27.

Nielsen KK, Brøsen K, Hansen MG, Gram LF. Glucuronidation clearance of 8-hydroxyclomipramine in relation to sparteine and mephenytoin phenotype [letter]. *Eur J Clin Pharmacol* 1994; 47: 209-10.

Niemi M, Cascorbi I, Timm R, Kroemer HK, Neuvonen PJ, Kivisto KT. Glyburide and glimepiride pharmacokinetics in subjects with different CYP2C9 genotypes. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 326-32.

Nöthen MM, Rietschel M, Erdmann J, Oberlander H, Moller HJ, Nober D, Propping P. Genetic variation of the 5-HT2A receptor and response to clozapine. *Lancet* 1995; 346: 908-9.

Otsuki I, Ishikawa J, Sakai M, Shimabara K, Momiyama T. Comparison of the pharmacological activities of doxepin hydrochloride with those of its geometric isomers. *Pharmacometrics (Tokyo)* 1972; 6: 973-984.

Poirier J, Delisle MC, Quirion R, Aubert I, Farlow M, Lahiri D, Hui S, Bertrand P, Nalbantoglu J, Gilfix BM, et al. Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 12260-4.

Rao PA, Pickar D, Gejman PV, Ram A, Gershon ES, Gelernter J. Allelic variation in the D4 dopamine receptor (DRD4) gene does not predict response to clozapine. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51: 912-7.

Rendic S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metab Rev* 2002; 34: 83-448.

Ribbentrop A, Schaumann W. Pharmacologic studies of doxepin, an antidepressive agent with centrally anticholinergic and sedative effects. *Arzneimittelforschung* 1965; 15: 863-8.

Rietschel M, Naber D, Oberlander H, Holzbach R, Fimmers R, Eggermann K, Moller HJ, Propping P, Nöthen MM. Efficacy and side-effects of clozapine: testing for association with allelic variation in the dopamine D4 receptor gene. *Neuropsychopharmacology* 1996; 15: 491-6.

Rietschel M, Naber D, Fimmers R, Moller HJ, Propping P, Nöthen MM. Efficacy and side-effects of clozapine not associated with variation in the 5-HT2C receptor. *Neuroreport* 1997; 8: 1999-2003.

Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 284-95.

Sata F, Sapone A, Elizondo G, Stocker P, Miller VP, Zheng W, Raunio H, Crespi CL, Gonzalez FJ. CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 67: 48-56.

Scharfetter J, Chaudhry HR, Hornik K, Fuchs K, Sieghart W, Kasper S, Aschauer HN. Dopamine D3 receptor gene polymorphism and response to clozapine in schizophrenic Pakastani patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 1999; 10: 17-20.

Schaumann W, Ribbentrop A. Interference of the central anticholinergic effect in experimental animal tests of potential antidepressives. *Arzneimittelforschung* 1966; 16: 646-9.

Schneeweiss S, Hasford J, Gottler M, Hoffmann A, Riethling AK, Avorn J. Admissions caused by adverse drug events to internal medicine and emergency departments in hospitals: a longitudinal population-based study. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58: 285-91.

Scordo MG, Pengo V, Spina E, Dahl ML, Gusella M, Padrini R. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 702-10.

Sesti F, Abbott GW, Wei J, Murray KT, Saksena S, Schwartz PJ, Priori SG, Roden DM, George AL, Jr., Goldstein SA. A common polymorphism associated with antibiotic-induced cardiac arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 10613-8.

Shaikh S, Collier D, Kerwin RW, Pilowsky LS, Gill M, Xu WM, Thornton A. Dopamine D4 receptor subtypes and response to clozapine. *Lancet* 1993; 341: 116.

Shaikh S, Collier DA, Sham P, Pilowsky L, Sharma T, Lin LK, Crocq MA, Gill M, Kerwin R. Analysis of clozapine response and polymorphisms of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) in schizophrenic patients. *Am J Med Genet* 1995; 60: 541-5.

Shaikh S, Collier DA, Sham PC, Ball D, Aitchison K, Vallada H, Smith I, Gill M, Kerwin RW. Allelic association between a Ser-9-Gly polymorphism in the dopamine D3 receptor gene and schizophrenia. *Hum Genet* 1996; 97: 714-9.

Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 414-23.

Skjelbo E, Gram LF, Brøsen K. The N-demethylation of imipramine correlates with the oxidation of S-mephenytoin (S/R-ratio). A population study. *Br J Clin Pharmacol* 1993; 35: 331-4.

Sodhi MS, Arranz MJ, Curtis D, Ball DM, Sham P, Roberts GW, Price J, Collier DA, Kerwin RW. Association between clozapine response and allelic variation in the 5-HT2C receptor gene. *Neuroreport* 1995; 7: 169-72.

Sorensen JM. Herb-drug, food-drug, nutrient-drug, and drug-drug interactions: mechanisms involved and their medical implications. *J Altern Complement Med* 2002; 8: 293-308.

Spina E, Steiner E, Ericsson O, Sjöqvist F. Hydroxylation of desmethylimipramine: dependence on the debrisoquin hydroxylation phenotype. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 41: 314-9.

Spina E, Gitto C, Avenoso A, Campo GM, Caputi AP, Perucca E. Relationship between plasma desipramine levels, CYP2D6 phenotype and clinical response to desipramine: a prospective study. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; 51: 395-8.

Steiner E, Spina E. Differences in the inhibitory effect of cimetidine on desipramine metabolism between rapid and slow debrisoquin hydroxylators. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 42: 278-82.

Suzuki A, Otani K, Mihara K, Yasui N, Kaneko S, Inoue Y, Hayashi K. Effects of the CYP2D6 genotype on the steady-state plasma concentrations of haloperidol and reduced haloperidol in Japanese schizophrenic patients. *Pharmacogenetics* 1997; 7: 415-8.

Tang W, Stearns RA, Wang RW, Chiu SH, Baillie TA. Roles of human hepatic cytochrome P450s 2C9 and 3A4 in the metabolic activation of diclofenac. *Chem Res Toxicol* 1999; 12: 192-9.

Thijssen HH, Drittij MJ, Vervoort LM, de Vries-Hanje JC. Altered pharmacokinetics of R- and S-acenocoumarol in a subject heterozygous for CYP2C9*3. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 292-8.

Ueda S, Meredith PA, Morton JJ, Connell JM, Elliott HL. ACE (I/D) genotype as a predictor of the magnitude and duration of the response to an ACE inhibitor drug (enalaprilat) in humans. *Circulation* 1998; 98: 2148-53.

Wall JD, Pritchard JK. Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* 2003; 4: 587-97.

Wheeler GL, Braden GA, Bray PF, Marciniak SJ, Mascelli MA, Sane DC. Reduced inhibition by abciximab in platelets with the PlA2 polymorphism. *Am Heart J* 2002; 143: 76-82.

Xie HG, Stein CM, Kim RB, Wilkinson GR, Flockhart DA, Wood AJ. Allelic, genotypic and phenotypic distributions of S-mephenytoin 4'-hydroxylase (CYP2C19) in healthy Caucasian populations of European descent throughout the world. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 539-49.

Yasar U, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Sjoqvist F. Validation of methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254: 628-31.

Yasar U, Tybring G, Hidestrand M, Oscarson M, Ingelman-Sundberg M, Dahl ML, Eliasson E. Role of CYP2C9 polymorphism in losartan oxidation. *Drug Metab Dispos* 2001; 29: 1051-6.

Yue QY, Zhong ZH, Tybring G, Dalén P, Dahl ML, Bertilsson L, Sjöqvist F. Pharmacokinetics of nortriptyline and its 10-hydroxy metabolite in Chinese subjects of different CYP2D6 genotypes. *Clin Pharmacol Ther* 1998; 64: 384-90.

Danksagung

Danksagen möchte ich zunächst Herrn Prof. Dr. Ivar Roots, dem Direktor des Institutes für Klinische Pharmakologie der Charité, der durch seine Begeisterungsfähigkeit und Empathie meine wissenschaftliche Entwicklung entscheidend geprägt und gefördert hat.

Mein Dank gilt weiterhin meinem wissenschaftlichen Lehrer und Kollegen Prof. Dr. Jürgen Brockmöller, für die vielen Stunden Ausbildung in allen Techniken des wissenschaftlichen Arbeitens, für das Vertrauen in meine Fähigkeiten und die immer optimistische Einstellung zur Forschung.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei den medizinischen Doktoranden, die ihren Weg in die Klinische Pharmakologie gefunden haben und mit Verantwortungsgefühl und Sorgfalt an den Studien mitgearbeitet haben. Alle an dieser Arbeit beteiligten Doktoranden haben überdurchschnittlichen Einsatz gezeigt und die Probanden aufgrund ihrer Begeisterung und Freundlichkeit für in die Studien einbinden können.

Den medizinisch technischen Assistentinnen Anja Alfandega und Jasmin El-Din möchte ich für den überdurchschnittlichen Arbeitseinsatz, für die Genauigkeit, Zuverlässigkeit und Verantwortung danken, mit der sie die vielen Genotypisierungen im Labor durchgeführt haben.

Die vorliegenden Arbeiten wären ohne die großzügige Förderung durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung „Leitprojektverbund Pharmakogenetische Diagnostik“ (FKZ EC 01 GG 9845/5) nicht möglich gewesen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsvefahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 26.10. 2003

_____

Dr. med. Julia Kirchheiner