

**Arzneimitteltherapiesicherheit für
Dextromethorphan in der Selbstmedikation – ein
Beitrag des Apothekers zur personalisierten
Arzneimitteltherapie**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Stephanie Röhm

aus Köln

Aus dem Institut der Klinischen Pharmazie und Pharmakotherapie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Dextromethorphan in der Selbstmedikation	2
1.2	Das Cytochrom-P450-System	5
1.3	Personalisierte Arzneimitteltherapie, Pharmakogenetik von CYP2D6 und Dextromethorphan	10
1.4	Wissenstest und Umfrage zur Pharmakogenetik	11
1.5	Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika	11
1.6	Zielsetzung der Arbeit	12
2	Methoden	13
2.1	Wissenstest und Umfrage zur Pharmakogenetik	13
2.1.1	Fragebögen an Patienten	13
2.1.2	Fragebögen an Ärzte und Apotheker	13
2.1.3	Auswertung der Fragebögen	15
2.2	Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika	16
2.3	Pharmakogenetische Studie mit Dextromethorphan	17
2.3.1	Studiendesign und Studienprotokoll	17
2.3.2	Allgemeine Anmerkungen zum Studienablauf	18
2.3.3	Probandencharakterisierung	18
2.3.3.1	Einschlusskriterien	19
2.3.3.2	Ausschlusskriterien	19
2.3.4	Kriterien für den Abbruch bei einzelnen Patienten	19
2.3.5	Kriterien für den Abbruch der gesamten Studie	19
2.3.6	Primärer Endpunkt	19
2.3.7	Sekundäre und weitere Endpunkte	20
2.3.8	Statistik	20
2.3.9	Phänotypisierung für CYP2D6	21
2.3.10	Genotypisierung	24
2.3.10.1	Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion	24
2.3.10.2	Besonderheiten der real-time PCR (RT-PCR)	26
2.3.10.3	Aufreinigung der DNS aus Vollblut	27

2.3.10.4	Genotypisierung des CYP2D6-Gens _____	28
2.3.10.5	Relative Quantifizierung (Delta-Delta C _t Methode) _____	29
2.3.11	Wiener Test System _____	32
2.3.11.1	Allgemeines zum psychologischen Testverfahren _____	32
2.3.11.2	Vigilanz und der Vigilanztest (VIGIL) _____	33
2.3.11.3	Reaktion und der Reaktionstest (RT) _____	34
2.3.12	Fragebögen _____	36
2.3.12.1	Fragebogen zum Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen _____	36
2.3.12.2	Online-Fragebogen zur erneuten Arzneimitteleinnahme nach Kenntnis des eigenen CYP2D6-Genotyps _____	36
3	Material _____	38
3.1	DNS-Isolierung _____	38
3.2	Genotypisierung _____	38
3.3	HPLC _____	38
3.3.1	Arzneistoffe und Reagenzien _____	38
3.3.2	Lösungsmittel und Lösungen _____	39
3.3.3	HPLC-Apparatur _____	40
3.4	Verbrauchsmaterialien _____	40
3.5	Laborgeräte _____	41
3.6	Software _____	41
4	Ergebnisse _____	42
4.1	Wissenstest und Umfrage über die Pharmakogenetik _____	42
4.2	Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika _____	45
4.3	Pharmakogenetische Studie mit Dextromethorphan _____	48
4.3.1	Charakteristika der Probanden _____	48
4.3.2	Geno- und Phänotypisierung für das Enzym CYP2D6 _____	50
4.3.2.1	Ergebnisse der Real-time-PCR _____	50
4.3.2.2	Genotypisierung _____	53
4.3.2.3	Phänotypisierung _____	54
4.3.2.4	Korrelation des CYP2D6 Geno- und Phänotyps _____	56
4.3.3	Unerwünschte Wirkungen nach Dextromethorphaneinnahme _____	58
4.3.3.1	Auswertung der Fragebögen _____	58

4.3.3.2	Vorhersagewahrscheinlichkeit des Genotyps mit Hilfe der Ergebnisse der unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach Dextromethorphaneinnahme	66
4.3.3.3	Berechnung der „number needed to harm“	68
4.3.4	Reaktionszeiten und Aufmerksamkeit	69
4.3.4.1	Ergebnisse des Vigilanztests	69
4.3.4.2	Ergebnisse des Reaktionstests	71
4.3.5	Auswertung des Online-Fragebogens	75
5	Diskussion	81
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	81
5.2	Wissenstest und Umfrage zur Pharmakogenetik	82
5.3	Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika in der psychiatrischen Ambulanz	83
5.4	CYP2D6 Geno- und Phänotypisierung	86
5.4.1	Genotypisierung	86
5.4.2	Phänotypisierung	86
5.4.3	Korrelation des Geno- und Phänotyps	87
5.5	Unerwünschte Wirkungen nach Dextromethorphaneinnahme	89
5.6	Aufmerksamkeit- und Reaktionsfähigkeit nach Dextromethorphaneinnahme	91
5.7	Erneute Einnahme von Dextromethorphan	92
5.8	Personalisierte Arzneimitteltherapie: Dosisempfehlung für Dextromethorphan in Anbetracht der diskutierten Ergebnisse	93
6	Schlussfolgerung und Ausblick	95
7	Zusammenfassung	97
7.1	Summary	98
8	Literaturverzeichnis	99
9	Anhang	108
9.1	Abkürzungsverzeichnis	108
9.2	Abbildungsverzeichnis	110
9.3	Tabellenverzeichnis	112

10	Lebenslauf	116
11	Danksagungen	118

1 Einleitung

Die moderne Arzneimitteltherapie trägt maßgeblich zu unserer hohen Lebensqualität und fortwährend steigenden Lebenserwartung bei (Lichtenberg 2009). Sie sollte daher so optimal wie möglich eingesetzt werden; das bedeutet größtmöglicher Nutzen und (maximal) wenig Risiko. Da jedes Arzneimittel nicht nur erwünschte, sondern auch unerwünschte Wirkungen zeigt, bleibt die Einnahme eines Arzneimittels immer mit einem Gesundheitsrisiko verbunden. Durch die stetig größer werdende Anzahl von verordneten Arzneistoffen in den letzten Jahrzehnten wächst dieses Risiko. So wird in den USA zunehmend über Krankenhausaufnahmen und sogar Todesfälle durch unerwünschte Wirkungen berichtet (Lazarou et al. 1998). Dabei soll die Anzahl an Todesfällen die Höhe an Verkehrstoten erreichen. Systematische Untersuchungen für Deutschland liegen nicht vor. Es gibt jedoch keine Hinweise, dass zwischen den entwickelten Industrieländern bei unerwünschten Arzneimittelereignissen gravierende landesspezifische Unterschiede existieren. Es besteht daher großes öffentliches Interesse, unnötige Risiken bei Arzneimittelverordnungen zu erkennen und Strategien zu entwickeln, diese gezielt zu vermeiden. Mittlerweile gibt es in den USA, Kanada, Großbritannien und der Bundesrepublik Initiativen und Aktionspläne öffentlicher Behörden, um die Sicherheit im Umgang mit Arzneimitteltherapien zu erhöhen (Quality Interagency Coordination Task Force, The Institute for Safe Medication Practices Canada March 2008). In Deutschland werden diese Strategien unter dem Titel „Verbesserung der Arzneimitteltherapiesicherheit“ geführt (Bundesministerium für Gesundheit 29.November 2007).

Dem Apotheker kommt im Zuge der Arzneimitteltherapiesicherheit besonders in der Selbstmedikation eine hohe Verantwortung zu, weil er der Einzige am Therapieprozess Beteiligte ist, der Informationen über die gesamte Medikation des Patienten erhält. Inzwischen werden ca. 45% aller abgegebenen Arzneimittelpackungen für die Selbstmedikation abgegeben (Gesundheitsberichtserstattung des Bundes 2007). Diese Zahl nimmt weiter zu (Gesundheitsberichtserstattung des Bundes et al. 2009). Gerade hier kommt es vor, dass unerwünschte Wirkungen nicht systematisch erfasst sind. Die Therapie kann daher für den Sicherheitsaspekt nicht in Gänze abgeschätzt werden.

Ein wichtiges Arzneimittel in der Selbstmedikation ist der Hustenstiller Dextromethorphan mit einer täglichen Verordnungshäufigkeit von 0,1 Mio. definierten Tagesdosen (DDD) (Schwabe 2008). Aufgrund seiner zentralnervösen unerwünschten Wirkungen wird er gerade von Jugendlichen missbräuchlich eingesetzt (Röhm et al. 2007). Aber auch bei bestimmungsgemäßem Gebrauch können laut Fachinformation Übelkeit, Benommenheit bis zu Halluzinationen auftreten. Auf Grund dieser Nebenwirkungen wird von einer Teilnahme am Straßenverkehr nach seiner Einnahme abgeraten. Da er zusätzlich über einen Stoffwechselweg abgebaut wird, der bei ca. 10% der Kaukasier nicht aktiv ist, bleibt bisher die Frage offen, wie stark diese Stoffwechselgruppe von unerwünschten Wirkungen betroffen ist und ob diese Symptome schon nach der üblichen Einzel- bzw. der doppelten Dosis auftreten. Ist dies der Fall, wäre aus Arzneimitteltherapiesicherheitsaspekten zu diskutieren, ob diese Personengruppe überhaupt Dextromethorphan erhalten sollte.

1.1 Dextromethorphan in der Selbstmedikation

Dextromethorphan ist chemisch gesehen ein synthetisches Opioid. Es ist eine enantiomerenreine Verbindung. Seit 1954 wird Dextromethorphan als hustenstillendes Mittel gegen trockenen Husten und Reizhusten eingesetzt, denn es dämpft den Hustenreflex durch Erhöhung der zentralen Reizschwelle. In seinem Wirkmechanismus unterscheidet sich Dextromethorphan deutlich von anderen therapeutisch genutzten Opioiden, denn in therapeutischen Konzentrationen bindet Dextromethorphan nicht an einen Opioidrezeptor, sondern wirkt antagonistisch am NMDA-Rezeptor. Dextromethorphan besitzt einen pharmakologisch aktiven Metaboliten, das Dextrorphan. Beide wirken als Agonisten im zentralen Nervensystem unter anderem an Sigma- und der PCP2 Untereinheit des NMDA-Rezeptors (Dopamin-Wiederaufnahme). Die Wirkung tritt in der Regel nach 15 Minuten ein und hält drei bis sechs Stunden an.

Dextromethorphan ist zugelassen für Erwachsene und Kinder ab 12 Jahren. Empfohlen wird eine Dosierung von 30 mg alle sechs Stunden. Die Höchstdosis von 120 mg pro Tag soll nicht überschritten werden. In der Fachinformation sind häufige (1-9%) und sehr seltene (weniger als 0,01‰) unerwünschte Wirkungen für Dextromethorphan angegeben. Als häufige werden Müdigkeit, Schwindelgefühl, Übelkeit und Erbrechen, als sehr seltene Benommenheit und Halluzinationen angegeben. In der Fachinformation wird weiterhin daraufhingewiesen, dass im Fall einer Überdosierung folgende Symptome auftreten können: Verstärkung der unerwünschten Wirkungen, insbesondere der zentralen Effekte sowie Auftreten einer Atemdepression, einer Tachykardie, eines Blutdruckanstiegs, verschwommenen Sehens, eines Nystagmus, von Ataxie, Krampfanfällen, Erregbarkeit, Halluzinationen und von Psychosen. Nach Einnahme von Dextromethorphan sollen keine Maschinen bedient werden, da die auftretende Müdigkeit das Reaktionsvermögen einschränken könnte. Auch die aktive Teilnahme am Straßenverkehr kann beeinträchtigt sein (Fachinformation Hustenstiller Ratiopharm[®], April 2007).

Für die Aspekte der Arzneimitteltherapiesicherheit in der Selbstmedikation ist bei Dextromethorphan von besonderer Relevanz, dass dieser Hustenstiller nahezu ausschließlich über das arzneistoffverstoffwechelnde Enzym Cytochrom P450 2D6 (CYP2D6) abgebaut wird und es dafür unter Kaukasiern mehrere Personengruppen gibt, die ihn auf Grund langsamerer Enzymaktivität unterschiedlich schnell metabolisieren. In Abhängigkeit der Schnelligkeit des Abbaus kann es zu mehr oder weniger starken unerwünschten Wirkungen kommen. Bei Personen mit dem Metabolisierungsstatus PM (=langsam) wurden nach Dextromethorphan-Gabe sowie bei EM (=normal) nach Dextromethorphan mit CYP2D6-Inhibitor-Gabe erhöhte Plasmaspiegel gemessen (Capon et al. 1996, Abdul Manap et al. 1999). Des Weiteren gibt es Untersuchungen zu pharmakodynamischen Unterschieden bei CYP2D6-Genotypen nach Dextromethorphan-Einnahme. Diese wurden bislang jedoch hauptsächlich auf die hustenstillende Wirkung untersucht (Abdul Manap et al. 1999). Bei Gabe einer 4-fachen Einmaldosis von Dextromethorphan zeigten sich insbesondere bei den PM unerwünschte Wirkungen im Rahmen einer Kohortenstudie (Funck-Brentano et al. 2005). Es ist aber nicht klar, ob diese unerwünschten Wirkungen schon unter der empfohlenen Einfach- oder Doppeldosis

auftreten. Wenn das der Fall wäre, wäre auch wichtig zu wissen, wie die unerwünschten Wirkungen vom Patienten wahrgenommen werden, ob sie subjektiv seine Alltagstauglichkeit beeinflussen und insbesondere natürlich, ob ihre Aufmerksamkeit und die Reaktionsfähigkeit beeinträchtigt sind. Hierzu liegt bislang keine prospektive Arbeit vor, die aufgrund der Subjektivität der Symptome auch Plazebo-kontrolliert durchgeführt sein muss.

Missbrauchspotential von Dextromethorphan

Die Potenz von Dextromethorphan, auf das menschliche zentrale Nervensystem zu wirken, wird insbesondere an seinem Missbrauchspotential deutlich. Im Jahr 2005 warnte die US-amerikanische Zulassungsbehörde vor einer missbräuchlichen Einnahme von Dextromethorphan durch 2,4 Millionen Jugendliche. Akute Gefahr bestand, weil fünf Jugendliche starben (Food and Drug Administration, 2005). Es war schon lange bekannt, dass das in der Szene bezeichnete „DEX“, „DMX“ oder „DXM“ psychotrope Eigenschaften besitzt und zu Euphorie, sensiblerem Körperempfinden, veränderter Zeitwahrnehmung, Gefühl des Schwebens, taktilen, optischen und akustischen Halluzinationen, Sehstörungen, Paranoia und Orientierungsstörungen führen kann. Daneben treten aber auch Tachykardien, Bluthochdruck sowie Schlaflosigkeit auf (Banerji et al. 2001, Kirages et al. 2003, Bryner et al. 2006). Ob diese auf die pharmakologische Wirkung der Muttersubstanz oder eher auf den Metaboliten Dextrophan zurückzuführen sind, ist noch nicht geklärt (Goetz et al. 2005).

Als Vorstufen der Halluzinationen schildern die Betroffenen die zentralen Wirkungen als „Breit-sein“ oder auch Rauschzustand, der dem Alkoholrausch ähnlich ist. Im Internet kann man diese „Trip“-Erfahrungen nachlesen. Denn hier tauschen insbesondere junge Menschen ihre Rauscherfahrungen über „DEX“ aus. Dies belegt, dass auch in Deutschland Dextromethorphan missbräuchlich verwendet wird (Röhm et al. 2007). Experten befürchten, dass die durch Dextromethorphan induzierten Halluzinationen zu einem unüberlegten Gebrauch anderer Drogen führen und sich die Konsumenten so potenziell selbst gefährden.

Dextromethorphan und Pharmakogenetik

Für die Fragestellung, welche Personengruppen für die unerwünschten Wirkungen von Dextromethorphan besonders gefährdet sind, erschließt sich aus seinem Metabolismus. Nach oraler Einnahme wird es rasch und praktisch vollständig resorbiert. Nach 2 Stunden werden in der Regel maximale Plasmaspiegel erreicht. Es liegt nicht an Plasmaeiweiß gebunden vor. Dextromethorphan unterliegt einem ausgeprägten hepatischen Firstpass-Metabolismus. Dextromethorphan wird über das Cytochrom P450-Isoenzyme CYP2D6 metabolisiert (s. Abbildung 1). Die Hauptmetaboliten nach O- und N-Demethylierung sind das pharmakologisch aktive Dextrophan sowie dessen inaktives Glucuronid und Sulfat-Ester. Weitere Metaboliten sind Methoxy-Methorphan und Hydroxy-Methorphan.

Dextromethorphan und seine Metaboliten werden überwiegend im Urin ausgeschieden. Die Eliminationshalbwertszeiten von Dextromethorphan und damit auch von Dextrorphan sind von der eingenommenen Dosis und vom CYP2D6-Phänotyp der Patienten abhängig, und sie steigen zusätzlich mit zunehmender Anwendungsdauer. Die Eliminationshalbwertszeit von Dextromethorphan variiert deshalb stark (Funck Bretano et al. 2005) Die Eliminationshalbwertszeit von Dextrorphan beträgt 2,5 bis 3,5 Stunden. Dextromethorphan und sein aktiver Metabolit Dextrorphan können die Blut-Hirn-Schranke passieren.

Weil der dominierende Abbauweg von Dextromethorphan die O-Demethylierung zu Dextrorphan ist, die durch CYP2D6 katalysiert wird, werden hohe Konzentrationen von Dextrorphan in Serum und Urin gemessen. Bestimmt man im Urin Dextromethorphan und Dextrorphan und bildet den Quotienten, lässt sich die individuelle Enzymaktivität von CYP2D6 errechnen. Im Englischen spricht man von der so genannten „metabolic ratio“ (MR). Sie dient als Aktivitätsparameter des CYP2D6 aus den Urinkonzentrationen von Muttersubstanz/ Metabolit. Von einem normalen Metabolismus wird gesprochen, wenn die metabolische Kapazität des CYP2D6 ($\log MR \text{ DEX/DTX}$) kleiner als -1,52 ist, von einem eingeschränkten, wenn sie größer als -1,52 ist und von einem langsamen Metabolismus, wenn sie größer als -0,52 ist (Sachse et al. 1997, Chladek et al. 2000).

Dextromethorphan kann demnach als Testsubstanz zur Aktivitätsmessung des Enzyms CYP2D6 im Rahmen der so genannten Phänotypisierung eingesetzt werden (Woodworth et al. 1987, Funck-Brentano et al. 2005, Röhm et al. 2007). Es hat in dieser Funktion andere Substanzen abgelöst, die bedenklicher sind (z. B. das Antiarrhythmikum Spartein).

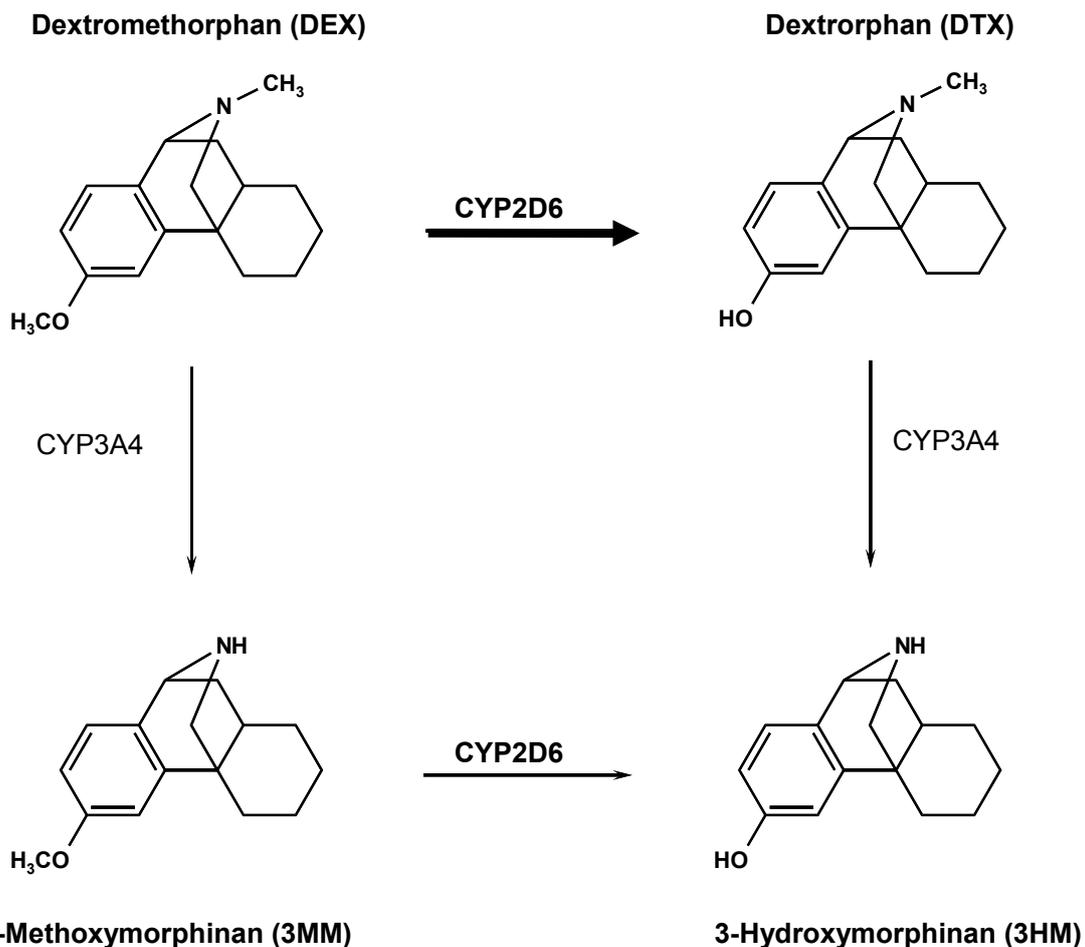


Abbildung 1: Metabolisierung von Dextromethorphan über CYP2D6.

Dextromethorphan wird über Cytochrom P450 2D6 (CYP2D6) zum Metaboliten Dextrorphan metabolisiert. Des Weiteren wird es über Cytochrom P450 3A4 zu 3-Methoxymorphinan (3MM) abgebaut, welches wieder über CYP2D6 zu 3-Hydroxymorphinan (3HM) verstoffwechselt wird. Dextrorphan wird zu einem geringen Teil über CYP3A4 zu 3-Hydroxymorphinan (3HM) abgebaut.

1.2 Das Cytochrom-P450-System

Biotransformationsreaktionen dienen im menschlichen Organismus dazu, Stoffe mit lipophilen Eigenschaften chemisch so zu verändern, dass sie in wasserlöslicher Form aus der Niere ausgeschieden werden können. Hierbei spielen die Leberenzyme Cytochrom-P450-Familie (CYP) eine entscheidende Rolle. Die CYP-Enzyme der Reihe P450 sind eine Klasse von Hämproteinen. Für ihre abbauende (katalytische) Aktivität benötigen sie sowohl Sauerstoff, als auch Nicotinamid-Adenin-dinucleotid-Phosphat (Omura et al. 1965). Das Cytochrom-P450-System beschreibt eine große Familie, die eine breite Substratspezifität aufzeigt. Die mikrosomalen Cytochrome sind deshalb auch überwiegend im glatten endoplasmatischen Retikulum der Leber ansässig. Im Prozess des oxidativen Pharmakometabolismus sind sie für die Umwandlung des Hauptanteils der lipophilen Substanzen in hydrophilere Substanzen verantwortlich (Wijnen et al. 2007). In der Phase-I-Reaktion der Biotransformation übernehmen sie eine Schlüsselrolle und

sorgen, neben dem Abbau und der Ausscheidung körperfremder Stoffe, auch für die Verwertung von körpereigenen Substraten wie Steroiden, Prostaglandinen oder Fettsäuren (Tomaszewski et al. 2008).

Die einzelnen Iso-Enzyme des P450-Systems werden CYP-Familien und -Unterfamilien zugeordnet, deren Systematik sich nach dem Ausmaß der Aminosäuresequenzhomologie richtet. Der Großteil der einzelnen P450-Enzyme kommt in der Leber vor, aber auch in Lunge, Darmmukosa und Niere sind CYP-Enzyme zu finden. Den Hauptanteil am Abbau von Fremdstoffen im menschlichen Organismus, insbesondere von Arzneimitteln, haben die Familien CYP1, CYP2 und CYP3 (Evans et al. 1999). Die Einteilung der Enzyme in Familien und Subfamilien innerhalb dieses Systems basiert auf der Ähnlichkeit der Gene. Die Terminologie erklärt sich wie folgt: „Cyto“ kommt aus dem Griechischen (Kytos) und bedeutet Zelle. „Chrome“ heißt gefärbt, „P“ steht für pigmentiert und „450“ für die Absorptionsspitze bei 450 Nanometer. Die folgenden Zahlen (z. B. 2D6) im Cytochrom P450-System repräsentieren die Familie, der jeweilige Buchstabe steht für die Subfamilie und die letzte Zahl für das einzelne Enzym (DeVane et al. 2002).



Der CYP2D Genlocus besteht aus drei Genen, dem CYP2D6-Gen und den zwei Pseudogenen CYP2D7 und CYP2D8, die eine hohe Homologie zu CYP2D6 zeigen. Das CYP2D6-Gen ist auf Chromosom 22 q13 lokalisiert (s. Abbildung 1) und besteht aus neun kodierenden Abschnitten, so genannten Exons, und acht nicht kodierenden Abschnitten, den Introns. Das Gen wird polymorph exprimiert; d. h. es hat viele Mutationen. Mutationen sind Variationen, die zu weniger als 1% in der Bevölkerung auftreten. Treten sie häufiger auf, spricht man von Polymorphismen. Zurzeit sind für das CYP2D6-Gen 58 Allele mit insgesamt mehr als 100 Allel-Varianten in einer einheitlichen Nomenklatur erstellt worden: „The CYP allele nomenclature homepage“ (Ingelman-Sundberg et al. 2001).

CYP2D6 zeigt vielfältige Polymorphismen und ist das bisher am besten untersuchte der mikrosomalen Isoenzyme. Es besitzt einen relativ geringen Gewichtsanteil von 2% in der Leber (DeVane and Markowitz 2002). Die Enzyme CYP2C9, CYP2C19 und CYP2D6 zeichnen sich durch eine große Vielfalt an Polymorphismen aus, wobei in der vorliegenden Arbeit CYP2D6 im Mittelpunkt steht. Erstmals wurde der Polymorphismus des CYP2D6 nach dem Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen mit dem Antihypertensivum Debrisoquin entdeckt. Später wurde ein Zusammenhang mit CYP2D6 hergestellt. Deshalb trägt der CYP2D6-Metabolismus auch den Namen Debrisoquin-Metabolismus. Andere Charakteristika für dieses Enzym sind: die Eigenschaft schon bei klinisch relevanten Konzentrationen einiger Substrate abgesättigt zu sein (Spigset et al. 1998, Yamamoto et al. 2005), die Stereoselektivität in Abhängigkeit einiger Substrate (z. B. Propranolol, Debrisoquine) oder Inhibitoren (z. B. Quinidine) (Ward et al. 1989, Eap et al. 2001, Kirchheiner et al. 2002) und die Eigenschaft, nicht induzierbar zu sein (Food and Drug Administration, 2006). Substrate von CYP2D6 sind eine Reihe kardiovaskulärer

Medikamente, neuroaktiver Substanzen wie Neuroleptika, trizyklische Antidepressiva und die Morphinderivate Codein und Dextromethorphan und das Chemotherapeutikum Tamoxifen (Flockhard August 2007, Food and Drug Administration, 2006). Neben CYP2D6 ist CYP3A4 mit einem Anteil von 30% das am stärksten exprimierte Isoenzym der Cytochrom-Familie in der Leber (Yamazaki et al. 1994) und ist bei sehr vielen klinisch wichtigen Medikamenteninteraktionen involviert (Colette et al. 2002, Zanger et al. 2008).

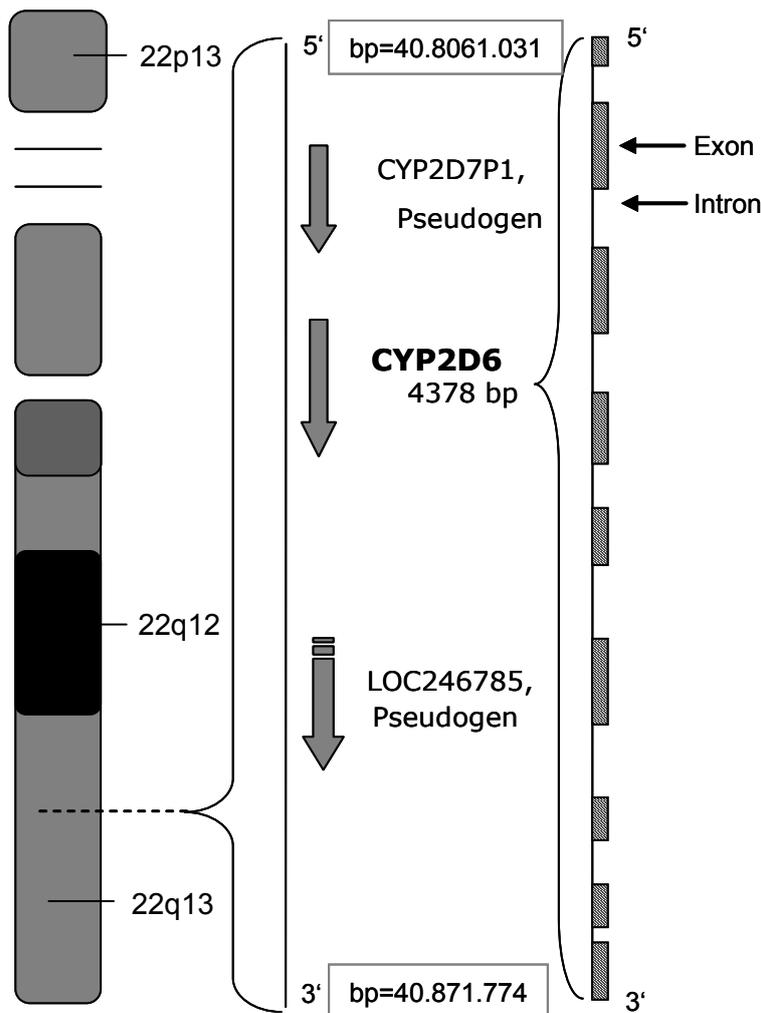


Abbildung 2: Ausschnitt aus einem Ideogramm des Chromosoms 22. Im Abschnitt 22q13.1 liegt das Gen für CYP2D6.

CYP2D6 = Zytochrom P450 2D6, bp = Basenpaare, p = kurzer Teil des Chromosoms, q = langer Abschnitt des Chromosoms, 3' = 3' Ende der Desoxyribonukleinsäure, 5' = 5' Ende der Desoxyribonukleinsäure.

Die Aktivität des CYP2D6-Enzyms variiert zwischen den Individuen und unter ethnischen Gruppen (Ingelman-Sundberg et al. 2007). Eine Reihe von Genen, die für die CYP-Enzyme codieren, besitzen unterschiedliche Allele aufgrund von Polymorphismen. Einzelne Genmutationen können durch DNS-Analysen identifiziert werden. Ein genetischer Polymorphismus hat die Expression von Proteinen (hier Enzymen) zur Folge, die funktionell normal, eingeschränkt oder inaktiv sind. Tabelle 1 zeigt die Bezeichnung

der Allele, die Beschreibung der Punktmutation und die Auswirkung auf den Aminosäureaustausch. Je nachdem welche Aminosäure gebildet wird, kann es dazu kommen, dass nicht korrekt gefaltete Proteine entstehen oder die Synthese abgebrochen wird.

Das Enzym CYP2D6 spielt im Arzneimittelstoffwechsel eine bedeutende Rolle, da es am Abbau von circa 25% aller Arzneistoffe beteiligt ist (Evans and Relling 1999). CYP2D6 ist das bislang am besten untersuchte, polymorph exprimierte, arzneistoffmetabolisierende Enzym. Im Vergleich zum Wildtyp (= normale Gen-Ausprägung) können bei den genetischen Variationen einzelne oder mehrere Basenpaare ausgetauscht, das Gen oder Genabschnitte deletiert oder aber das Gen multipliziert sein. Diese Variationen werden unter der Bezeichnung Single Nucleotide Polymorphismen (SNP) zusammengefasst.

Tabelle 1: Bezeichnung der untersuchten CYP2D6-Allele mit dem zugrunde liegenden Basenaustausch und die Auswirkung auf die Proteinsynthese

Allele	Basenaustausch	Proteinwechsel
CYP2D6*1	Kein (Referenzallel)	Kein (Referenzprotein)
CYP2D6*2	[-1584 C<G; 2850C<T; 4180G<C]	p.Arg296Cys; Ser486Thr
CYP2D6*2xN (Duplikation)	mehrere Kopien	p.Arg296Cys; Ser486Thr
CYP2D6*3	2549A del	p.Arg259fsX1
CYP2D6*4	[100 C<T; 1846 G<A]	p.Pro34Ser; Gly169fsX13
CYP2D6*5	Deletion CYP2D6 Gen	p.0
CYP2D6*6	1707Tdel	p.Trp152 (frameshift)
CYP2D6*10	[100 C<T; 4180G<C]	p.Pro34Ser; Ser486Thr
CYP2D6*41	[2850C<T; 4180G>C]	p.Ser486Thr; Arg296Cys

CYP2D6 = Cytochrom P450 2D6, p = Protein, Arg = Arginin, C = Cystein, Gly = Glycin, Pro = Prolin, Ser = Serin, Thr = Threonin, Trp = Tryptophan, G = Guanin, T = Thymin, A = Adenin, die Zahl zwischen den Aminosäuren beschreibt die Position, an der diese ausgetauscht wurde, del = deleted, fsX1 = vorwärts Strang.

Inzwischen sind über 80 Allelvarianten im CYP2D6-Gen in internationaler Nomenklatur beschrieben worden, von denen mindestens 15 für ein nicht-funktionstüchtiges Enzym codieren (Ingelman-Sundberg et al. 2001). Aufgrund der Tatsache, dass CYP2D6 polymorph exprimiert wird, kommt es zu einer interindividuell stark variierenden Aktivität des Enzyms. In der Folge variiert auch das Ausmaß der Metabolisierung in Individuen. Die Bevölkerung kann daher nach der Kombination ihrer Allele und der daraus resultierenden Aktivität des CYP2D6-Enzyms kategorisiert werden: Normale, so genannte Extensive Metabolisierer (Extensive Metabolizer, EM), die 75–80% der kaukasischen Bevölkerung ausmachen, eingeschränkte Metabolisierer (Intermediate Metabolizer, IM),

die zu 10–15% der kaukasischen Bevölkerung vorkommen und als dritte Gruppe langsame Metabolisierer (Poor Metabolizer, PM), die mit einer Prävalenz von 8–10% in der kaukasischen Bevölkerung (Broly et al. 1991, Gaedigk et al. 1991) auftreten. Langsame Metabolisierer (PM) sind genotypisch durch zwei defekte Allele definiert, eingeschränkte Metabolisierer (IM) besitzen ein eingeschränktes und ein defektes Allel und extensive Metabolisierer (EM) tragen zwei intakte Allele oder nur ein intaktes und ein eingeschränktes bzw. inaktives (Meyer 2000). Darüber hinaus werden Personen mit einer stark erhöhten Metabolisierungsrate des CYP2D6 beschrieben. Eine Erklärung hierfür sind Duplikationen bzw. Multiplikationen des CYP2D6-Gens. Sie können zu einer gesteigerten Aktivität des Enzyms (1–2% der kaukasischen Bevölkerung sind Ultra Rapid Metabolizer, URM) führen, erklären jedoch bisher nur ca. 30% der URM (Johansson et al. 1993). Bei den PM liegt eine nahezu fehlende bis sehr geringe, bei den IM eine eingeschränkte Metabolisierungskapazität vor, so dass Wirkspiegel der Arzneistoffe, die hauptsächlich über dieses Enzym eliminiert werden, um ein Vielfaches ansteigen können. Diese Personen sind schon bei einer Einmal-Gabe jener Arzneistoffe, die über CYP2D6 abgebaut werden, einer höheren Arzneistoffexposition ausgesetzt (Dickinson et al. 2007). Im Gegensatz dazu führt ein beschleunigter Metabolismus, verursacht durch eine hohe Aktivität des CYP2D6 Enzyms, häufig zu niedrigen Plasmaspiegeln bei den Arzneistoffen, bei denen es maßgeblich in die Verstoffwechslung eingreift (Bertilsson et al. 1993, Meyer et al. 1997). Therapieversagen ist eine mögliche Konsequenz (Eichelbaum et al. 2006). Bei PM und IM äußert sich eine unzureichende Metabolisierung in einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Auftretens von stärkeren und/oder vermehrt unerwünschten Arzneimittelwirkungen (Chou et al. 2000, Rau et al. 2004, de Leon et al. 2005, Funck-Brentano et al. 2005, Röhm et al. 2007).

Wichtig zum Verständnis der Pharmakogenetik ist es, dass grundsätzlich zwei Möglichkeiten bestehen, die Metabolisierungsgeschwindigkeit eines Patienten zu bestimmen: Zum einen ist es möglich, anhand einer Untersuchung der DNS entsprechende Gene zu lokalisieren und die zugrunde liegenden genetischen Variationen dieser Enzymaktivität zu untersuchen, die auf Patientengruppen verschiedener Metabolisierungsgeschwindigkeit schließen lassen (Genotypisierung). Zum anderen kann man einen Arzneistoff applizieren und anhand der Metabolitenkonzentrationen im Urin die Aktivität von Enzymen errechnen (Phänotypisierung). Der Phänotyp beschreibt das Verhältnis der Muttersubstanz zum umgesetzten Metaboliten Dextrorphan über CYP2D6 (siehe 1.7.2). Die Charakterisierung der Erbinformation wird mittels molekularbiologischer Verfahren durchgeführt. Der Phänotyp korreliert mit dem Genotyp, so dass an Hand des Genotyps der Phänotyp vorhergesagt werden kann (McElroy et al. 2000).

1.3 Personalisierte Arzneimitteltherapie, Pharmakogenetik von CYP2D6 und Dextromethorphan

Grundsätzlich stößt man bei der Suche nach der optimalen Arzneimitteltherapie für jeden einzelnen Patienten oder Personengruppe sehr schnell auf die Frage: Welche Faktoren machen die Arzneimittelwirkung beim Patienten aus? Faktoren wie Körpergröße und Körpermasse können einfach erkannt und in die Arzneimitteltherapie einbezogen werden. Auch das Alter der Patienten sowie Nieren- und Leberfunktion werden in der individuellen Therapiesteuerung berücksichtigt. Für das individuelle Profil eines Patienten sind aber auch, wie in den vorigen Abschnitten besprochen, genetische Merkmale wichtig, die die Pharmakokinetik auf Arzneimittel beeinflussen. Wenn diese genetischen Anlagen bei mehr als 1% der Bevölkerung vorhanden sind, spricht man von Polymorphismen. Werden nun diese Unterschiede im Ansprechen auf Arzneimittel in die Therapiestrategie von vornherein miteinbezogen, also eine Therapie nach spezieller vorheriger Diagnostik durchgeführt wird, spricht man von personalisierter Arzneimitteltherapie. Eine andere Bezeichnung dafür ist die stratifizierte Therapie. Es handelt sich also bei der „personalisierten“ oder „stratifizierten“ Arzneimitteltherapie in der Medizin um eine weitere therapiebezogene diagnostische Charakterisierung, die zu einem höheren Therapieerfolg für den Patienten führen soll. Wenn für Dextromethorphan bekannt wäre, dass selbst unter empfohlenen Einmal- oder Doppeldosen bestimmte genetische Merkmale wie z.B. mutierte Stoffwechselfgene des CYP2D6 zu einer übermäßigen Beladung des Organismus mit Dextromethorphan und damit zu nicht tolerierbaren oder auch potentiell gefährdenden unerwünschte Wirkungen führen würden, dann sollten solche Patientengruppen von vornherein eine andere Therapiestrategie erfahren. Das bedeutet, dass eine Arzneimitteltherapie durch die „Personalisierung“ oder „Stratifizierung“ zielgerichtet und maßgeschneidert für eine Personengruppe durchgeführt werden kann.

Die Anzahl an Arzneimitteln, die in die Selbstmedikation entlassen werden, wird in den kommenden Jahren weiter steigen. Eine Aufgabe des Apothekers ist die Erfassung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen. Um diese Arzneimitteltherapiesicherheit in der Selbstmedikation zu erhöhen, muss aber nicht nur der Apotheker diese Zusammenhänge verstanden haben, sondern es muss auch in der Bevölkerung und bei den anderen Gesundheitsberufen eine Bereitschaft zu mehr Arzneimitteltherapiesicherheit und dem Wissen um die Möglichkeit zur Personalisierung der Arzneimitteltherapie existieren, um langfristig eine Kultur sensibel für Arzneimitteltherapiesicherheit etablieren zu können. Als erste Schritte hierzu wurden eine Umfrage bei Patienten, Ärzten und Apothekern zur Pharmakogenetik, sowie eine regionale Verordnungsanalyse zu den aktuell verschriebenen Antidepressiva und Neuroleptika durchgeführt. Bei Neuroleptika und Antidepressiva spielt der CYP2D6-Polymorphismus ebenfalls eine Rolle.

1.4 Wissenstest und Umfrage zur Pharmakogenetik

Eine Umfrage in der Europäischen Union von 2005 hatte ergeben, dass die Bevölkerung ein deutliches Interesse an den Entwicklungen in der pharmakogenetischen Forschung zeigt. Im Ländervergleich besteht jedoch im Vergleich mit den anderen EU-Ländern wie Frankreich oder Belgien ein erheblicher Informationsbedarf im Hinblick auf die Anwendungsmöglichkeiten der Pharmakogenetik (Gaskell 2005). Da die pharmakogenetische Diagnostik helfen kann, die Arzneimitteltherapie bedarfsgerecht auf Patienten abzustimmen, könnten Ärzte und Apotheker sich gemeinsam um die Therapieoptimierung bemühen. Aber wie ist der Kenntnisstand hierzu? Können diese Instrumente schon zielsicher von den Berufsgruppen eingesetzt werden? Dazu wurden Ärzte, Apotheker und Apothekenkunden aktuell regional befragt.

1.5 Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika

Da viele Antidepressiva und Neuroleptika ebenfalls über CYP2D6 abgebaut werden, teils aktive Metabolite bilden, eine geringe therapeutische Breite haben, Interaktionen mit anderen Arzneistoffen eingehen, eine psychiatrische Therapie häufig keine Monotherapie ist und (unabhängig von der Metabolisierungskapazität des CYP2D6) die Therapie ohnehin oft mit unerwünschten Wirkungen einhergeht, kann die Therapie mit diesen Arzneimitteln ebenfalls davon profitieren, wenn der Metabolisierungsstatus des Patienten mit in die Dosisüberlegungen einbezogen würde (Kirchheiner et al. 2001, Kirchheiner et al. 2004). Von den Autoren wurden mit Hilfe pharmakokinetischer Daten von Antidepressiva und Neuroleptika erste hypothetische Dosisanpassungen für CYP2D6 Phäno- bzw. Genotypen vorgenommen. Inwiefern Psychopharmaka, die hauptsächlich über CYP2D6 verstoffwechselt werden, aber in der aktuellen Verschreibungspraxis überhaupt noch eine Relevanz besitzen wurde mit Hilfe einer regionalen Verordnungsanalyse untersucht. Diese sollte zeigen, ob die Pharmakogenetik heutzutage noch von Bedeutung in der ambulanten Therapie ist und Bedarf für eine Umsetzung in die Praxis besteht.

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Die moderne Arzneimitteltherapie trägt maßgeblich zu unserer hohen Lebensqualität und fortwährend steigenden Lebenserwartung bei (Lichtenberg 2009). Da fast jeder zweite Patient Arzneimittel für die Selbstmedikation kauft, wachsen Bedeutung und Verantwortung in der Arzneimitteltherapiesicherheit bei den Apothekern. Zu den dabei auftretenden unerwünschten Wirkungen fehlen häufig Daten, was die Therapie unsicher macht. In der vorliegenden Arbeit sollen daher moderne Untersuchungsinstrumente zur Etablierung einer Therapiestrategie genutzt werden, um zielsicher und maßgeschneidert den Einsatz eines wichtigen Arzneistoffs im Rahmen der Selbstmedikation, nämlich den Hustenstiller Dextromethorphan, zu steuern. Darüber hinaus sollen in die Betrachtung auch vom Arzt potentiell verordnete Arzneistoffe einfließen, die mit den Selbstmedikationsarzneistoffen in Wechselwirkung treten können. Zu den eingesetzten Instrumenten gehören die klinische Pharmakogenetik, eine Umfrage bei Patienten, Ärzten und Apothekern, eine Verordnungsanalyse in einer Arztpraxis und einer Apotheke sowie die Durchführung einer klinischen Studie. Um zu evaluieren, ob sich erlittene unerwünschte Wirkungen unter Dextromethorphan auf eine zukünftige Arzneimittelleinnahme auswirken, wurde schließlich retrospektiv eine Online-Umfrage durchgeführt. In der Arbeit wurden dafür folgende Fragestellungen berücksichtigt:

- Um zu erfahren, wie das Wissen zur Pharmakogenetik bei Apothekern und Ärzten, sowie das Interesse von Patienten an dieser Thematik ist, wird eine Umfrage bei Apothekern und Ärzten sowie Patienten durchgeführt.
- Um zu erfahren, in welchem Ausmaß eine wichtige verschreibungspflichtige Arzneistoffgruppe für die gleiche klinisch-pharmakogenetische Fragestellung, die für das Dextromethorphan von Bedeutung ist, betroffen sein kann, wird eine Verordnungsanalyse in einer Apotheke und einer Arztpraxis über Antidepressiva und Neuroleptika durchgeführt.
- Um die Einnahme von einem in der Selbstmedikation wichtigen Hustenstiller, Dextromethorphan, sicherer zu machen, wird eine prospektive, Plazebo-kontrollierte, klinische Studie durchgeführt, die das Auftreten von unerwünschten Wirkungen nach Einnahme von Dextromethorphan in Abhängigkeit vom Geno- und Phänotyp des CYP2D6 untersucht.
- Da das Bedienen von Maschinen und die aktive Teilnahme am Straßenverkehr nach Einnahme von Dextromethorphan nicht empfohlen wird, werden im Rahmen dieser Studie auch die Reaktionszeit bzw. Aufmerksamkeit in Abhängigkeit vom Genotyp in einem psychometrischen Testsystem untersucht.
- Um zu erfahren, welchen Einfluss der Genotyp auf die zukünftige Einnahme von Dextromethorphan bei den Studienteilnehmern hat, wird bei ihnen eine Umfrage zum zukünftigen Gebrauch von Dextromethorphan und weiteren ähnlich verstoffwechselten Medikamenten gemacht.

2 Methoden

2.1 Wissenstest und Umfrage zur Pharmakogenetik

Vom Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, wurde ein Fragebogen entworfen und eine Umfrage in einem Zeitraum von zwölf Wochen bei Apothekern, niedergelassenen Ärzten und Patienten in Apotheken in den Regionen Düsseldorf, Herne und Lüdenscheid durchgeführt. Je nach Zielgruppe wurden maximal zehn Fragen auf zwei Seiten gestellt, die von den Befragten persönlich ausgefüllt wurden.

2.1.1 Fragebögen an Patienten

Die Fragebögen für die Patienten enthielten dieselben allgemeinen Fragen wie die der Apotheker und Ärzte zu ihrer derzeitigen Lebenssituation und zur Pharmakogenetik. Die Patienten sollten den Begriff Pharmakogenetik definieren, ankreuzen, ob sie ihn vorher schon einmal gehört haben und welches Interesse sie einem Monitoring zur Pharmakogenetik entgegenbringen. Sie sollten außerdem Auskunft über den Geldbetrag geben, den sie für eine pharmakogenetische Untersuchung aufzubringen bereit wären. Die Beteiligten wurden zu ihren Erfahrungen mit Arzneimitteln befragt, wie z. B. bereits erlittene Nebenwirkungen, die eine Therapie erheblich beeinflusst haben oder ob sie aktuell einer Dauermedikation unterliegt und von wem sie sich gerne pharmakogenetisch beraten lassen würden (s. Abbildung 3).

2.1.2 Fragebögen an Ärzte und Apotheker

Apotheker und Ärzte hingegen erhielten einen Fragebogen mit allgemeinen und fachlichen Fragen; letztere dienten zur Prüfung des Fachwissens („Wissenstest“). Die allgemeinen Fragen bezogen sich auf die Begriffsdefinition und auf das Interesse an Fort- und Weiterbildung auf dem Sektor der Pharmakogenetik. Der Wissenscheck enthielt sechs Fragen zur Pharmakogenetik, die für das Verständnis der Therapieoptimierung wichtig sind (s. Abbildung 3 und 4).

 <p>HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DÜSSELDORF</p>	<p>Allgemeiner Fragebogen</p>	 <p>Klinische Pharmazie & Pharmakotherapie</p>
Angaben zur Person		
Geschlecht	w <input type="radio"/>	m <input type="radio"/>
Alter	_____	Jahre
Berufsjahre	_____	Jahre
A1 Haben Sie den Begriff Pharmakogenetik schon einmal gehört?		
A1a Wenn ja, können Sie ihn erklären? _____		
A1b Wenn nein, was stellen Sie sich darunter vor? _____		
A2	Möchten Sie persönlich wissen, ob Sie genetische Variationen aufweisen, die Einfluss haben auf	
	die Wirkung von Arzneimitteln	<input type="radio"/>
	die Entstehung von Krankheiten	<input type="radio"/>
A3	Wer soll die pharmakogenetische Diagnostik bezahlen?	
	Krankenkasse	<input type="radio"/>
	Kosten zahle ich selber	<input type="radio"/>
A4	Glauben Sie, dass die Inzidenz von depressiven Erkrankungen in den nächsten Jahren	
	zunehmen wird	<input type="radio"/>
	abnehmen wird	<input type="radio"/>
A5	Würden Sie Fortbildungsveranstaltungen besuchen, bei denen Sie angefangen von den genetischen Grundlagen bis über die arzneimittelbezogenen Probleme, die Krankheiten und die ethisch-rechtliche Situation zur adäquaten Beratung umfassend informiert würden?	
	ja	<input type="radio"/>
	nein	<input type="radio"/>
A6	Würden Sie bei diesen Fortbildungsveranstaltungen auch Ihre eigene genetische Variation testen?	
	ja	<input type="radio"/>
	nein	<input type="radio"/>

Abbildung 3: Allgemeine Fragen der Umfrage an Ärzte, Apotheker und Patienten.

A1- A6 = Frage zum allgemeinen Teil




HEINRICH HEINE
UNIVERSITÄT
DÜSSELDORF

Klinische Pharmazie
& Pharmakotherapie

W1 Was bedeutet Polymorphismus ?

- Auftreten einer Genvariation in der Population mit einer Häufigkeit von mehr als 1%
- Erniedrigte/ erhöhte Chromosomenzahl
- Synonym für Mutation

W2 Welche Auswirkungen können Veränderungen an arzneistoffmetabolisierenden Enzymen haben?

- Veränderte Halbwertszeit
- Veränderte Wirkung eines Pharmakons
- Vermehrtes Auftreten von unerwünschten Wirkungen

W3 Was muss bei der Behandlung eines langsamen Metabolisierers (PM) beachtet werden?

- Die Dosis muss erhöht werden
- Die Dosis muss erniedrigt werden
- Je nach Medikament kann die Dosis erhöht oder erniedrigt werden

W4 Bei welchem der folgenden Cytochrom P450-Subtypen treten gehäuft medikamenten-bezogene Polymorphismen auf?

- CYP 23A4
- CYP 2D6
- CYP 14K5

W5 Was schätzen Sie, wie viele Arzneistoffe werden über CYP2D6 verstoffwechselt?

- Weniger als ein Zehntel
- Mehr als ein Zehntel, aber weniger als die Hälfte
- Fast alle

W6 Welche der folgenden Antidepressiva werden über CYP2D6 verstoffwechselt?

- Sertralin
- Fluoxetin
- Doxepin
- Amitriptylin

Abbildung 4: Fragen des Wissenstests an Ärzte und Apotheker.

W1- W6 = Wissensfrage

2.1.3 Auswertung der Fragebögen

Jede Frage erhielt einen definierten Schlüssel zur Auswertung. Nur vollständig richtig beantwortete Fragen wurden mit einem Punkt bewertet. Nicht beantwortete Fragen wurden als „unentschlossen“ gedeutet und mit null Punkten versehen. Zur statistischen Berechnung dienen der Chi-Quadrat-Test nach Pearson (Kreuztabellen), der Wilcoxon-White-Test (parameterfrei für zwei unabhängige Stichproben), der Kruskal-Wallis-Test

(parameterfrei für k unabhängige Stichproben) und der McNemar-Test (für verbundene Stichproben mit dichotomem Merkmal).

2.2 Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika

Da besonders Antidepressiva und Neuroleptika über CYP2D6 verstoffwechselt werden, sollte untersucht werden, welche Rolle dieses Enzym für die Verstoffwechslung der heutzutage häufig verordneten Substanzen spielt. Dazu wurden Verschreibungen einer psychiatrisch-neurologischen Praxis einer Großstadt und eingegangene Rezepte einer, von der Praxis entfernt gelegenen, Apotheke ausgewertet.

Die Patientendaten wurden auf folgende Kriterien hin untersucht: Alter der Patienten, Geschlecht, und verordnete Arzneimittel. Aus den Patientenakten der Praxis wurden zusätzlich Diagnosen nach der „International Classification of Diseases“ (ICD-10-Code F.00-99) dokumentiert. Die Daten wurden nach der Indikation der Arzneistoffe (Klassifikation nach dem „Anatomical Therapeutic Chemical Classification System“ (ATC-Code) strukturiert. Das Einschlusskriterium für die Aufnahme in die Analyse war, dass die Patienten mindestens ein Antidepressivum bzw. ein Neuroleptikum verschrieben bekamen. Es wurde herausgearbeitet, wie viele dieser Verschreibungen relevant über CYP2D6 verstoffwechselt wurden. Relevant heißt in diesem Zusammenhang, dass es bereits Studien über ein vermehrtes Auftreten an Nebenwirkungen bei PM bei diesem Arzneistoff gibt oder >10% über dieses Enzym metabolisiert werden (Bertilsson et al. 1997, Mihara et al. 1997, Chou et al. 2000, Otani et al. 2000, Brockmüller et al. 2002, Dahl 2002). Diese Einschlusskriterien wurden mit den bereits veröffentlichten Daten zu Antidepressiva und Neuroleptika, für die bereits Dosisanpassungen empfohlen wurden, abgeglichen (Kirchheiner et al. 2001, Kirchheiner et al. 2004).

2.3 Pharmakogenetische Studie mit Dextromethorphan

2.3.1 Studiendesign und Studienprotokoll

Erste Untersuchungen wurden an einer Serie von Probanden durchgeführt, die eine Einzel- oder Doppeldosis Dextromethorphan erhielten. Hierbei wurden Studierende der Pharmazie im Rahmen der Lehrveranstaltung im Seminar Klinische Pharmazie gefragt, ob Sie bereit wären, Dextromethorphan einzunehmen, um zu erfahren, welcher CYP2D6-Verstoffwechslungstyp sie sind. Dextromethorphan wurde hierbei für die Phänotypisierung eingenommen und ergänzend zur Genotypisierung durchgeführt. Ausgehend von dem Auftreten individueller schwerer unerwünschter Arzneimittelwirkungen kristallisierte sich die Notwendigkeit für ein Plazebo-kontrolliertes Design heraus. Es wurde anhand erster Ergebnisse vermutet, dass das eingesetzte Dextromethorphan im Rahmen der Selbstmedikation für einzelne Personengruppen aufgrund der beobachteten unerwünschten Wirkungen kein geeignetes Hustenmittel sein könne.

Es wurde daher eine doppelblinde, Plazebo-kontrollierte, prospektive Studie zur Untersuchung des Einflusses des CYP2D6-Genotypes auf die Reaktionsgeschwindigkeit und das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach Einnahme von Dextromethorphan bei freiwilligen Studierenden, also gesunden Probanden, durchgeführt. Die Teilnahme an der Studie wurde Studierenden der Pharmazie des letzten Studienjahres angeboten. Das hatte für die Studierenden den Vorteil, die Hintergründe der Personalisierten Arzneimitteltherapie unmittelbar erfahren zu können. Sie konnten sich so insbesondere für den Bereich der Selbstmedikation auf die Aufgabe der Arzneimitteltherapieoptimierung für den individuellen Patienten vorbereiten. Die Rekrutierung erfolgte im Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Alle Probanden wurden über die Ziele und Risiken der Studie aufgeklärt und gaben schriftlich ihr Einverständnis zur Teilnahme an Phäno- und/oder Genotypisierung und der Teilnahme an den Untersuchungen zur Aufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit. Nach Beendigung der Untersuchungen erhielten die Studierenden dann ausführliche Informationen über ihren Geno- und Phänotyp und über Arzneistoffe, die potentiell zu einer Wechselwirkung mit ihrem Genotyp führen könnten. Für die Probanden bestand ein Versicherungsschutz für die Untersuchungen im Rahmen ihres Pharmaziestudiums. Die klinische Studieneinheit in den Räumen des Instituts für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie war vom Koordinierungszentrum für Klinische Studien der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf als geeignet für die Durchführung solcher Untersuchungen befunden worden. Für die klinischen Untersuchungen lag ein positives Votum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vor.

Die Probanden erhielten randomisiert Kapseln, die entweder Plazebo, eine Einfach- oder eine Doppeldosis Dextromethorphan enthielten. Die Einnahme von Plazebo galt als Kontrolle, um sowohl gleiche Grundwerte (Basislinie) der Reaktionszeiten bei PM, IM und

EM zu erheben, als auch unerwünschte Arzneimittelwirkungen unter Plazebo zu vergleichen. Mit der Gabe einer doppelten Dosis wurde die Frage verfolgt, ob eine Dosisabhängigkeit für eine mögliche Einschränkung der Aufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit besteht. Die Probanden nahmen jeweils 12 Stunden vor dem Test die Kapsel doppelverblindet ein. Um eine mögliche Einbuße in der Aufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit in Abhängigkeit des Geno- und Phänotyps zu messen, galten für alle Probanden die gleichen Versuchsbedingungen. Der Proband wurde in einen ruhigen, hellen Raum gesetzt, um sechs Tests des Wiener Test Systems (WTS) durchzuführen (Dauer ca. 50 Minuten). Die Zusammensetzung der einzelnen Tests wird in 2.3.11 genauer erläutert. Vor jedem Testverlauf ist eine Übungsphase integriert, so dass alle Aufgaben von dem Probanden verstanden wurden, bevor die eigentliche Aufnahme der Daten erfolgt. Der Proband hatte vor und während des Tests Gelegenheit, Fragen zu stellen. Um einen Erinnerungseffekt zu vermeiden, war ein Zeitabstand von drei bis vier Wochen zwischen den Tests einzuhalten. Die Probanden wurden vor dem Test ihres Reaktions- und Aufmerksamkeitsvermögens einmalig phäno- und genotypisiert (siehe 2.3.10 und 2.3.11).

2.3.2 Allgemeine Anmerkungen zum Studienablauf

Die Studie wurde an gesunden Männern und Frauen durchgeführt. Zu Beginn wurde die Studie mit einer Screeningphase eingeleitet. Diese diente dazu, ein Kollektiv von PM und IM ausfindig zu machen. Vor Beginn der Studie wurde jeder Proband über den Studienablauf, seine Risiken, seine Rechte und die Verwaltung seiner Daten aufgeklärt. Nach 24 Stunden Bedenkzeit, konnten sie dann ihr schriftliches Einverständnis geben. Dann erst wurden sie in die Studie eingeschlossen. Jeder Studienteilnehmer hatte die Möglichkeit zu jeder Zeit die Studie abzubrechen. Den Probanden wurde freigestellt, ob sie die Ergebnisse ihres Geno- und Phänotyps und ihre Reaktionsfähigkeit mitgeteilt bekommen. Der Proband wurde weiter über die Aufbewahrung, die Dauer der Verwendung und die Art des Umganges mit den Daten unterrichtet.

Nach jeder Einnahme einer Kapsel wurde das Befinden des Probanden in Form eines Fragebogens abgefragt. Es wurde nach den unerwünschten Wirkungen gefragt, die innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Kapseleinnahme auftraten (siehe 2.3.12).

In der Screeningphase wurde dem Probanden eine Identifikationsbezeichnung (ID) zur Anonymisierung zugeteilt. Die körperliche Untersuchung wurde als Voraussetzung für die Teilnahme vorangestellt.

2.3.3 Probandencharakterisierung

Die Rekrutierung und Untersuchung der Probanden fand im Institut für klinische Pharmazie und Pharmakotherapie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf statt. Alle teilnehmenden Personen mussten folgende Voraussetzungen erfüllen:

2.3.3.1 Einschlusskriterien

- Geschlecht: männlich oder weiblich
- Alter: 18–60 Jahre
- Körpergewicht: 60–95 kg
- Unterschriebene Einverständniserklärung

2.3.3.2 Ausschlusskriterien

- Erkrankungen des Herz-/Kreislaufsystems, der Nieren, des Gastro-Intestinaltraktes, des Zentralnervensystems, des Blutgerinnungssystems, der Atemwege
- Diabetes mellitus
- Metabolische Azidose
- Abhängigkeit von Alkohol oder Medikamenten
- Allergische Reaktionen auf die verwendeten Wirkstoffe oder sonstige Bestandteile
- Schwere Erkrankung in den letzten vier Wochen vor Studienbeginn
- Schwangerschaft (mündliche Befragung)
- Aktuelle Einnahme von Medikamenten

2.3.4 Kriterien für den Abbruch bei einzelnen Patienten

- Medikamentenunverträglichkeit nach Gabe einer Dextromethorphan-Kapsel
- Blutdruckabfall bzw. Blutdruckerhöhung systolisch unter/über die altersentsprechende dritte Perzentile, Unwohlsein, Benommenheit oder Somnolenz des Probanden
- Andere, bei Beginn der Studie nicht vorhersehbare Erkrankungen des Probanden
- Nichteinhalten der Prüfungsbedingungen

2.3.5 Kriterien für den Abbruch der gesamten Studie

- Auftreten schwerwiegender unerwünschter Wirkungen bei einem oder mehr Probanden
- Auftreten schwerwiegender, bisher unbekannter unerwünschter Wirkungen

2.3.6 Primärer Endpunkt

Ziel dieser Studie war es, das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) in Abhängigkeit vom Genotyp zu erfassen.

Eine Fallzahlberechnung basierte auf Daten der Literatur, die das Auftreten von unerwünschten Wirkungen nach einer Phänotypisierung mit 80 mg Dextromethorphan untersucht hat (Funck-Brentano et al. 2005). Die darauf basierende Fallzahl wurde mit dem Chi-Quadrat Test berechnet und ergab, dass pro Genotypgruppe ein $n=5$ eingeschlossen werden muss, um eine Power von 80% zu erreichen. Für eine Auswertung sind demnach $n=5$ PM unter Placebo, Einzel- und Doppeldosis notwendig, um einen Unterschied im Auftreten von unerwünschten Wirkungen zwischen den Genotypen zu zeigen. Diese Zahlen wurden unter der Beachtung gewählt, dass $n=5$ an eine Grenze stößt, bei der die Approximation durch eine Normalverteilung zuverlässig ist.

2.3.7 Sekundäre und weitere Endpunkte

Als sekundärer Endpunkt wurden das Auftreten und die Art der unerwünschten Arzneimittelwirkung ausgewertet. Dieser wurde mithilfe der persönlichen Angaben aus den Fragebögen für die jeweiligen Gruppen (EM, IM, PM) ermittelt.

Es sollte die Frage beantwortet werden, ob und in welchem Ausmaß ein Unterschied im Vigilanztest (VIGIL) des WTS (Zielparameter = Mittelwert der Reaktionszeit Richtige in Sekunden) für die drei unterschiedlichen Metabolisierungstypen (EM, IM, PM) auf Grund einer genetischen Veränderung für das Verstoffwechslungsenzym CYP2D6 besteht.

Weiterhin wurde die Messung der Reaktionszeit als mittlere Reaktionszeit in Millisekunden (ms) herangezogen. Diese wurde mithilfe des standardisierten Reaktionstests der FEV5 Nr. 2 gemessen. Der Effekt wird durch den Vergleich der Reaktionszeiten zwischen PM, IM und EM quantifiziert.

Erste Untersuchungen ließen erkennen, dass die Messung der Reaktionszeit im Reaktionstest und Vigilanztest eine intraindividuelle Variabilität aufweisen. Die darauf basierende Fallzahlberechnung für diesen Endpunkt ergab, dass $n=30$ PM und IM eingeschlossen werden müssen, um einen messbaren Effekt zwischen den Genotypen zu sehen. Diese Probandenzahl wurde in den vorliegenden Ergebnissen nicht erreicht. Die Auswertung der WTS-Tests ist daher als eine Zwischenauswertung anzusehen und wird weiter durchgeführt.

2.3.8 Statistik

Die angegebenen Werte sind arithmetische Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen, n bezeichnet die Anzahl der Einzelwerte. Bei der Auswertung der Ergebnisse des Wiener Test Systems werden auf Grund der hohen Variabilität und Streuung Mediane angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Programms SPSS (Version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) und SAS (Version 9.1.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Da das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen nicht normalverteilt ist und diskrete Werte vergeben wurden (ja, nein), wurde der nicht-parametrische Chi-Quadrat-Test zur Bewertung des Einflusses vom CYP2D6-Genotyp genutzt. Da die Zahlen klein sind, wurde ein Fisher's Exakt Test mit

Bonferroni-Adjustierung in die Berechnung miteinbezogen. Die Reaktionszeiten des Vigilanz- und des Reaktionstests wurden mit Hilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und des Kruskal-Wallis-Tests erhoben, da diese nicht normalverteilt sind. P-Werte kleiner 0,05 wurden als statistisch signifikant betrachtet. Für die Korrelation von pharmakokinetischen oder -dynamischen Daten mit dem Metabolisierungsstatus der Patienten wurden lineare Regressionsanalysen durchgeführt und mittels ANOVA auf statistische Signifikanz geprüft. Boxplots wurden erstellt, um Mediane der Reaktionszeiten und die Streuung (25.te, 75.te Perzentile) darum nach Genotypen darzustellen. Q-Q Plots wurden erstellt, um die Verteilung der Genotypen auf eine Normalverteilung zu prüfen.

Sensitivität und Spezifität wurden für die Vorhersage eines Genotyps nach den aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen berechnet. Dies sind statistische Größen, die die Fähigkeit eines Tests (Versuchsdurchführung) beschreiben, zwischen Gesunden und Kranken zu unterscheiden. Als „krank“ wurden die Personen definiert, die an unerwünschten Arzneimittelwirkungen litten, die keine Nebenwirkungen hatten, waren „gesund“. Die Sensitivität gibt ein Maß dafür, wie viele richtig positive (= genotypische Analyse ergibt IM oder PM) Befunde ein Test im Vergleich zur Anzahl aller Erkrankten liefert. Die Spezifität gibt an, wie viele Patienten vom Test als richtig gesund erkannt werden. Die Effizienz dieser Diagnostik gibt dann als kombinierte Kennzahl aus positiv prädiktivem Wert (PPV, positive predicted value) und negativ prädiktivem Wert (NPV, negative predicted value) ein Maß dafür, wie viele richtig positive und richtig negative Fälle ein diagnostisches Verfahren detektiert. Das Testergebnis wurde im Vergleich zu einem Gold-Standard ermittelt. Um die Sensitivität und Spezifität für die Vorhersage des CYP2D6-Genotyps anhand der unerwünschte Arzneimittelwirkung zu bestimmen, konnte keine anerkannte Standardmethode herangezogen werden; deswegen wurde gegen die Genotypisierung als Gold-Standard getestet.

Die epidemiologische Größe „number needed to harm“ (NNH) wurde berechnet, um die aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen unter Einzeldosis zwischen IM und PM im Vergleich zu EM zu beurteilen. NNH bedeutet die Anzahl der Patienten unter einer bestimmten Therapie, die erforderlich ist, um über eine bestimmte Zeit ein unerwünschtes Ereignis zu erzeugen (Kleespies Version Oktober 2005). NNH errechnet sich aus dem Kehrwert der „absoluten Risiko Zunahme“ (ARI). Die absolute Risiko Zunahme beschreibt die Differenz aus dem Auftreten des unerwünschten Ereignisses in der experimentellen Gruppe und dem Auftreten des unerwünschten Ereignisses in der Kontrollgruppe.

2.3.9 Phänotypisierung für CYP2D6

Die Phänotypisierung für das Enzym CYP2D6 erfolgte mithilfe der Testsubstanz Dextromethorphan (enthalten in NeoTussan[®] Hustensaft und Hustenstiller ratiopharm[®]). Alle Probanden nahmen zur Nacht eine oder zwei Kapseln Hustenstiller ratiopharm[®] ein. Eine Kapsel Hustenstiller enthält 22 mg Dextromethorphan. Jeder Proband gab eine Urinprobe vor der Einnahme (T_0 -Wert) und eine Probe des über 8 Stunden gesammelten Urins nach der Einnahme des entsprechenden Dextromethorphans ab (T_8 -Wert). Aus der

Probe des Sammelurins wurden die Muttersubstanz Dextromethorphan (DEX) und der durch O-Desmethylierung entstehende Hauptmetabolit Dextrophan (DTX) bestimmt. Die Arzneistoffe wurden mittels High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) per Fluoreszenzdetektion mit Verapamil als internem Standard nachgewiesen (Jurima-Romet et al. 1997). Die Methode wurde leicht modifiziert angewendet. Das Dextromethorphan-Verhältnis (metabolic ratio = MR) zwischen DEX und DTX dient als Index der CYP2D6-Enzymaktivität in vivo. Sie wurde aus dem Urin für jeden Proband auf folgende Weise bestimmt:

$$\text{MR} = \frac{\mu\text{mol DEX in 0 – 8 h Urinprobe}}{\mu\text{mol DTX in 0 – 8 h Urinprobe}}$$

Die metabolische Kapazität für CYP2D6 errechnet sich, wie oben beschrieben, aus dem Quotienten aus den Konzentrationen der Muttersubstanz und des Metaboliten und/oder des Logarithmus' des Quotienten. Mit Abnahme dieses Wertes steigt die Schnelligkeit der Metabolisierung. Poor Metabolizer werden Probanden genannt, deren logarithmierte metabolische Kapazität größer 0,29 ist (Schmid et al. 1985, Sachse et al. 1997). Abbildung 5 zeigt beispielhaft ein Chromatogramm für ein EM und einen PM.

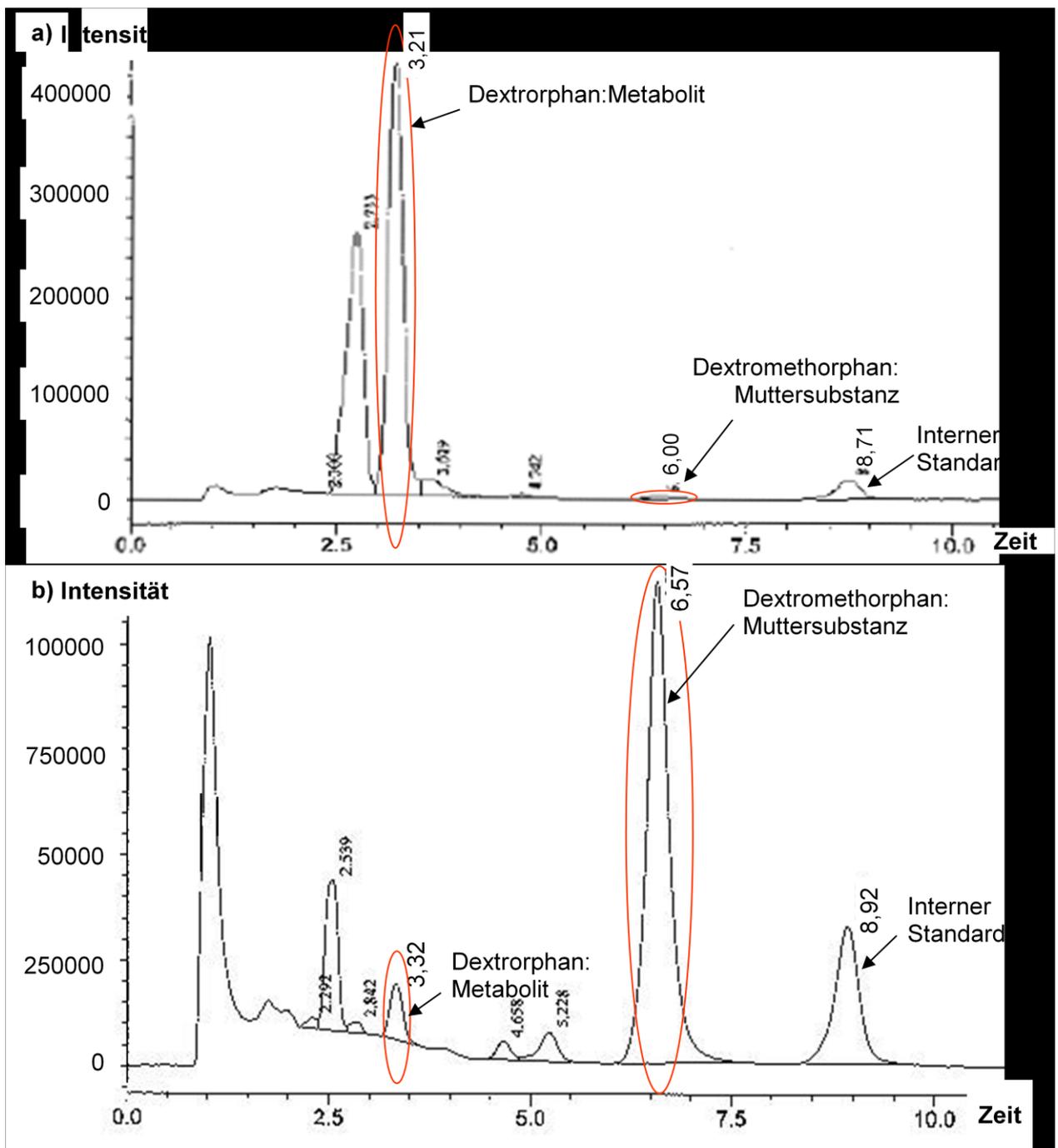


Abbildung 5: Chromatogramme zur Phänotypisierung aus dem Probandenurin.

Dargestellt sind die Peaks von Dextromethorphan, dem Metabolit Dextrorphan und dem internen Standard Verapamil: a) Chromatogramm eines extensiven Metabolisierers, b) Chromatogramm eines langsamen Metabolisierers

Zur Bestimmung werden 2000 Einheiten Beta-Glucuronidase werden in 1 ml 0,1 mol/l Kaliumacetatpufferlösung pH 5,0 gelöst. 1 ml Urin wird damit versetzt und über Nacht bei 37° C inkubiert. Zu den Probandenproben werden jeweils zwei Vergleichsproben analysiert. Die Vergleichsproben werden vor der Inkubation zusätzlich mit 50 µl Dextromethorphan- und 50 µl Dextrorphan- Lösung versetzt. Nach der Inkubation werden allen Proben mit Ausnahme des Nullwertes der Probanden 50 µl der Verapamil-

Standardlösung hinzugefügt. Über eine Festphasenextraktion werden sie aufgereinigt. Dazu werden Cyanopropyl-(CN-)Säulen verwendet, die mit einer entsprechenden Vorrichtung auf eine Vakuumkammer gesteckt werden. Die Reinigung und Aktivierung der Säulen erfolgt zweimal mit je 1 ml Methanol und zweimal mit je 1 ml Aqua bidest.. Die Überstände der zentrifugierten Plasmaproben werden auf die Säulen gegeben und langsam mithilfe des Vakuums durch die Säulen gezogen. Anschließend wird zweimal mit je 1 ml Aqua bidest gespült, um wasserlösliche Restbestandteile zu entfernen. Die Analyten werden mit zweimal 250 µl Extraktionspuffer von der Säule gewaschen und in Eppendorfgefäßen aufgefangen. Diese aufgereinigte Probe wird 20 Minuten bei 4000 rpm und 4°C zentrifugiert. Die Überstände werden in die HPLC-Gefäße überführt.

Als Fließmittel für die HPLC wird ein Gemisch aus 0,25 mol/l Kaliumacetatpuffer pH 4 und Acetonitril im Verhältnis 50 : 50 (V/V) hergestellt und verwendet. Die CN-Vor- und Trennsäule werden eine Stunde vor Analysenbeginn mit der mobilen Phase equilibriert. Die Fließgeschwindigkeit beträgt 1,2 ml/min bei einer Analysenzeit von elf Minuten. Bei einer Wellenlänge von 270 nm erfolgt die Anregung zur Fluoreszenz, die bei 300 nm gemessen wird. Das Injektionsvolumen beträgt 2 µl.

2.3.10 Genotypisierung

2.3.10.1 Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion, PCR, ist eine Methode zur Herstellung zahlreicher Kopien eines ausgewählten DNS-Abschnittes durch enzymatische Vervielfältigung. Diese Reaktion wird durch eine thermostabile (Taq) DNS-Polymerase enzymatisch katalysiert (Mullis et al. 1987). Durch zwei Oligonukleotide, so genannte Primer, werden spezifische Bindungsstellen im Nukleinsäure-Strang, zu denen sie komplementär sind, geschaffen. Der DNS-Bereich zwischen diesen Primern wird in den darauf folgenden PCR-Schritten exponentiell von der Polymerase vervielfältigt. Der Ablauf der Reaktion erfolgt in Form von Zyklen mit wechselnden Temperaturen (s. Abbildung 6).

Für den Ablauf der Reaktion ist ein Reaktionsansatz nötig, der alle Bausteine enthält, die für die Neusynthese eines DNS-Stranges benötigt werden: Desoxyribonukleotid-triphosphate (dNTPs), Polymerase, Oligonukleotid-Primerpaar, Puffer und die zu vervielfältigende DNS. In einem PCR-Thermocycler wird dieses Gemisch zunächst auf ca. 94°C erhitzt, wodurch sich die doppelsträngige DNS in zwei komplementäre Einzelstränge auftrennt (Denaturierung). Danach kühlt das Gerät das Reaktionsgemisch auf 45–60°C ab, wobei sich die Temperatur nach dem Schmelzpunkt der verwendeten Primer richtet. Die Schmelztemperatur ist abhängig von der Anzahl und dem Verhältnis an Doppel- und Dreifachbindungen (Adenin-Thymin (A-T)-Bindung doppelt, Cytosin-Guanin (C-G)-Bindung dreifach). Bei der gewählten Temperatur, die nicht mehr als fünf Grad von der Schmelztemperatur abweichen darf, ist es den beiden Primern möglich, an der ihnen exakt komplementäre Stelle des DNS-Matrizenstranges zu binden (Annealing). Andere, nicht voll komplementäre Primerbindungen können aufgrund der thermischen Energie

dabei nicht ausgebildet werden. Im darauf folgenden Schritt erfolgt nun die eigentliche Neusynthese der DNS. Die thermostabile DNS-Polymerase (Taq-Polymerase) synthetisiert, ausgehend vom 3'-Ende von ihrer Bindungsstelle an den Primern, einen zur Matrize komplementären DNS-Strang. Diese Reaktion läuft bei 72° C ab. Durch die Abfolge des Temperaturschemas im Thermocycler wird die DNS-Menge in jedem Zyklus verdoppelt. Nach ca. 40 Zyklen liegt eine ausreichende Konzentration DNS zur weiteren Analyse vor.

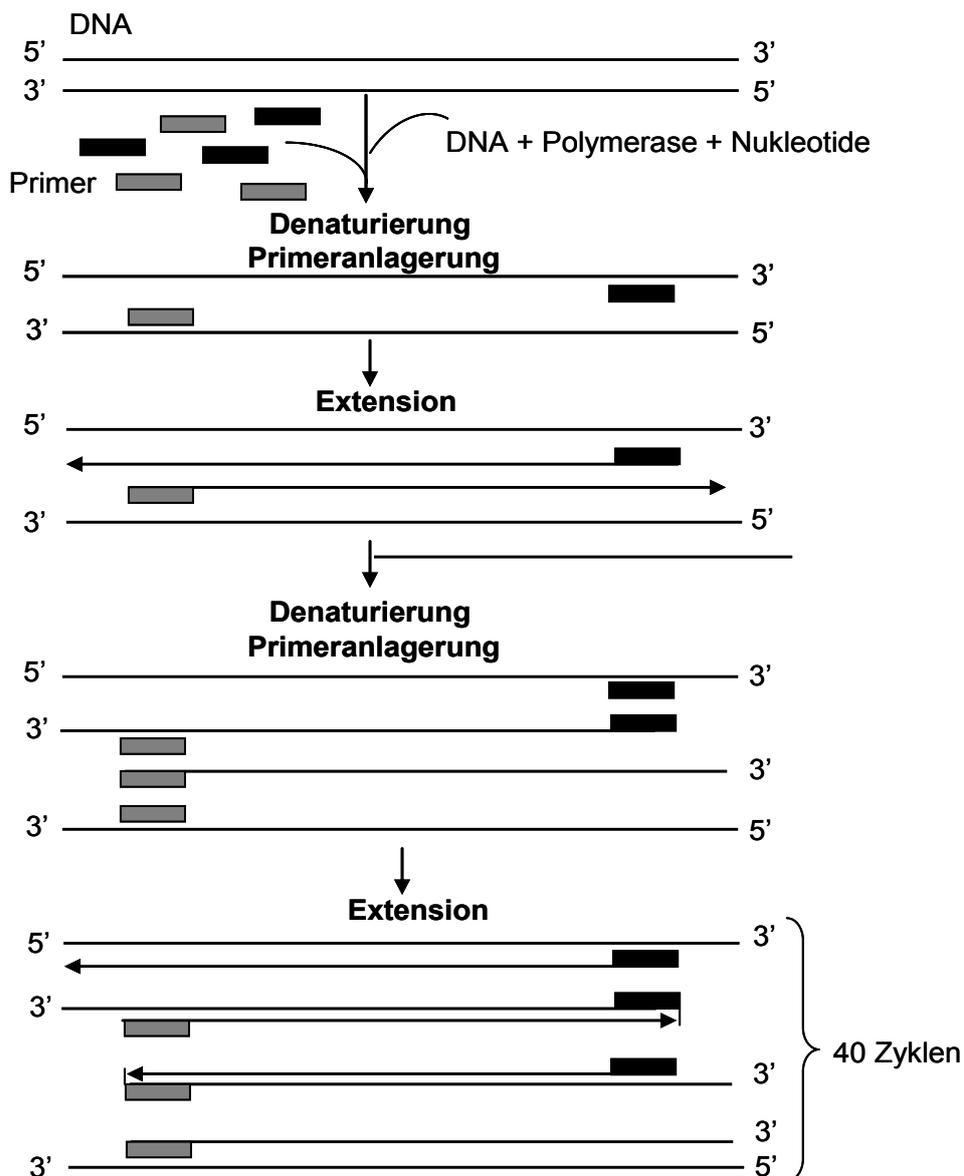


Abbildung 6: Allgemeines Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion.

DNA = Desoxyribonukleinsäure.

2.3.10.2 Besonderheiten der Real-time PCR (RT-PCR)

Die real-time PCR erlaubt es, die DNS, die tatsächlich vervielfältigt wird, auf einem Bildschirm zu sehen und dadurch den gesamten Verlauf zu verfolgen.

Es gibt unterschiedliche Ausführungen der RT-PCR. Die im Folgenden beschriebene Methode beruht auf dem TaqMan[®] RT-PCR-Prinzip, mit dem auch in der Klinischen Pharmazie an der Heinrich-Heine-Universität gearbeitet wird und die DNS der später genannten Probanden analysiert wurde. Beim TaqMan[®] oder auch „5'-Nuclease assay“ liegt zwischen den spezifischen Oligonukleotid-Primern ein zusätzliches, fluoreszenzmarkiertes Oligonukleotid, die so genannte „TaqMan-probe“. TaqMan-probes sind Sonden, die mit einem Reporterprotein (fluoreszierender Farbstoff) und einem Elektronen aufnehmenden Protein, dem so genannten Quencher, markiert sind. Die Fluoreszenzemission wird bei der intakten TaqMan-Sonde durch die Nähe zum Quencher unterdrückt. Die Farbstoffe inhibieren sich, so dass kein Proton übertragen werden kann (siehe Abbildung 7). Es entsteht ein Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer, kurz FRET. Dieser ist distanzabhängig und funktioniert nur, wenn der so genannte Förster-Radius nicht überschritten wird. Der Reporter sitzt am 5'-Ende und ist ein kurzwelliger Farbstoff wie z. B. ein roter. Der Quencher sitzt am 3'-Ende und ist ein langwelliger Farbstoff wie z. B. ein grüner. Als Reporter wird bei den oben genannten Methoden Fluorescein (FAM) und VIC[®], als Quencher Rhodamin (TAMRA) verwendet. Die Extinktion von FAM beträgt 490 nm, von VIC 530 nm und die Emission liegt bei 530 nm bzw. 575 nm.

Nachdem die DNS denaturiert ist, die TaqMan-Sonde an ihr spezifisch komplementäres Stück der DNS gebunden hat und die Temperatur zur Verlängerungsphase („annealing“) wieder abkühlt, binden auch die Primer an die DNS (Abbildung 7a). Die Taq-Polymerase wird aktiv und verlängert den Strang der DNS mit Nukleotiden (Abbildung 7b). Während sie den kodogenen DNS-Strang verdoppelt und an diesem entlang fährt, spaltet sie die Taqman[®]-Sonde ab (Abbildung 7c). Der Reporter wird dabei vom Quencher getrennt, so dass der Reporter seine erworbene Energie abgibt, ohne dass diese abgefangen wird. Mit Hilfe eines Computers wird diese Menge qualitativ erfasst. Mit der sich in jedem Zyklus wiederholenden Denaturierung und Verlängerung, bindet die Sonde und wird wieder abgespalten. Die Fluoreszenz nimmt stetig zu und kann in Echtzeit („real time“) detektiert werden.

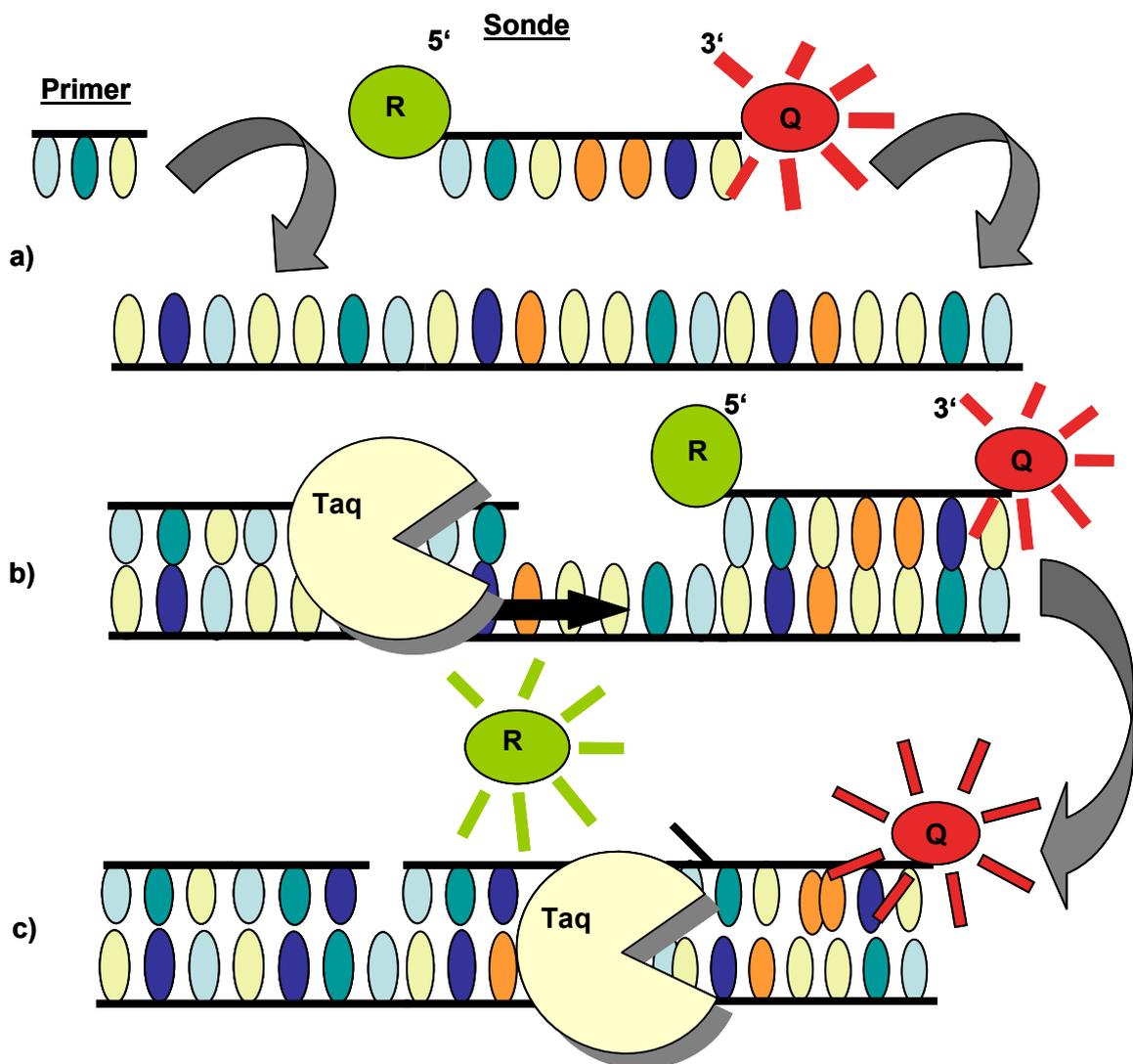


Abbildung 7: Schema der Polymerase Kettenreaktion nach dem TaqMan®-Prinzip:

a) Anlagerung der Primer und der Sonde an den komplementären DNS-Strang. An den Enden befinden sich Reporter (R) und Quencher (Q), b) Verlängerung durch die Taq-Polymerase, c) erst nach Abspaltung der Reporters vom Quencher durch die 5'-3'-Exonukleaseaktivität der Taq-Polymerase (Taq) wird die Reporterfluoreszenz messbar und zeigt die Synthese des spezifischen Zielstranges an.

2.3.10.3 Aufreinigung der DNS aus Vollblut

Da für die PCR die reine DNS eingesetzt wird, muss die DNS aus den Zellkernen der Leukozyten der Blutprobe isoliert und aufgereinigt werden. Dazu werden als erstes 20 µl Proteinase K (QIAmp® DNS Blood Mini Kit, Qiagen, Düsseldorf) und dann 200 µl des entnommenen EDTA-Blutes in ein 1,5 ml Eppendorfgefäß pipettiert. Nach der Zugabe von 200 µl Lysis Puffer AL (QIAmp® DNS Blood Mini Kit, Qiagen Düsseldorf) zu jeder Probe werden sie 15 Sekunden gemixt und anschließend bei 56° C für 10 Minuten im Eppendorf Thermomixer comfort inkubiert. Zu den nun lysierten Zellen, die DNS freigesetzt haben, wird 200 µl Ethanol (96-100%) zugesetzt und für 15 Sekunden *gevortexed*. Nach dem Mixen wird kurz zentrifugiert, um Tropfen, die am Rand des Eppendorfgefäßes

hängengeblieben sind, zu beseitigen. Die Flüssigkeit wird in QIAamp Mini spin column pipettiert (die Säule sitzt auf einem 2 ml Eppendorfgefäß) und bei $6000 \times g$ (8000 rpm) für 1 Minute zentrifugiert. Die Flüssigkeit im Eppendorfgefäß wird verworfen. Nun werden 500 µl Puffer AW1 auf den QIAamp Mini spin column pipettiert und bei $6000 \times g$ (8000 rpm) für 1 Minute zentrifugiert. Das Filtrat wird wieder verworfen. 500 µl Puffer AW2 wird auf die Säule gegeben und für drei Minuten bei $20000 \times g$ (14000 rpm) zentrifugiert. Damit die Säule ganz trocken ist, wird anschließend für eine Minute zu gleichen Bedingungen noch einmal in einem neuen Eppendorfgefäß zentrifugiert. Die Säule wird nun auf ein neues Eppendorfgefäß gesetzt (DNS low bind tube, Eppendorf) und mit HPLC-reinem Wasser oder Puffer AE (Qiagen, Düsseldorf) für eine Minute bei Raumtemperatur inkubiert bevor die DNS aus der Säule bei $6000 \times g$ (8000 rpm) zentrifugiert wird.

Für die Quantifizierung der DNS wird der Gehalt durch photometrische Messung der Absorption bei 260 nm bestimmt und nach dem Lambert-Beerschen Gesetz berechnet. Das Verhältnis aus den im Spektrometer gemessenen Absorptionspeaks von der DNS (260 nm) und dem Absorptionsmaximum von RNS und Proteinen (280 nm) lässt auf die Reinheit der verwendeten Proben schließen. Es wird nur DNS mit einem Quotienten zwischen 1,7 und 2,0 zur RT-PCR eingesetzt. Die Proben werden anschließend im Kühlschrank bei 8° C gelagert.

2.3.10.4 Genotypisierung des CYP2D6-Gens

Nachdem die DNS isoliert, aufgereinigt und quantifiziert ist, kann man sie auf entsprechende Genvariationen untersuchen. Diese Untersuchung nennt man Genotypisierung. Die einzelnen Basenaustausche im CYP2D6-Gen werden dabei mithilfe der RT-PCR über zwei fluoreszenzmarkierte Sonden absolut, also unabhängig von der eingesetzten DNS-Menge, detektiert. Dies stellt eine reine Detektion des Endpunktes dar. Eine Quantifizierung ist in diesem Fall nicht möglich, da nicht auf die eingesetzte Ausgangs-DNS-Menge geschlossen werden kann und das Endprodukt lediglich qualitativ bestimmt wird. Es werden dabei, wie oben beschrieben, zwei Sonden (ein Reporter und ein Quencher) eingesetzt, die eine spezifische Basenabfolge aufweisen. Die eine Sonde bindet an den Wildtyp (sofern vorhanden), die andere bindet komplementär an den jeweiligen Basenaustausch. Für die zu untersuchenden Allele CYP2D6*2, *3,*4,*6, *10 und *41 wurden bereits vorgefertigte, validierte Assays der Firma Applied Biosystems (Foster, USA, CA) eingesetzt (pre-developed assay, PDA und drug metabolizing enzyme assay, DME) bei denen die Basenfolge der Sonden und Primer nicht bekannt ist. Über die jeweilige Farbstoffemission kann der Genotyp folgendermaßen bestimmt werden: Wenn während der Amplifikation einer Basenabfolge nur ein Farbstoff sichtbar wird, kann der Patient als homozygoter Wildtyp oder Mutante charakterisiert werden. Werden beide Farbstoffe emittiert, zeigt der Patient eine Heterozygotie auf, da beide Sonden gebunden und abgespalten worden sind. Als so genannten Wildtyp bezeichnet man das Allel CYP2D6*1. Da das Allel CYP2D6*2 in seinen funktionellen Eigenschaften und der Häufigkeit seines Auftretens (32%) ähnlich zu CYP2D6*1 (36%) ist (Sachse et al. 1997),

werden beide Allele im Folgenden unter dem Begriff Wildtyp zusammengefasst. Die Allele CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5 und CYP2D6*6, die zu einer Synthese eines inaktiven CYP2D6 Enzyms führen, erklären in der kaukasischen Bevölkerung über 96% der PM-Phänotypen, weshalb sich die molekulare Diagnostik der PM meist auf diese vier Allele beschränkt (Hersberger et al. 2000). Die Methode zur Detektion des fehlenden Gens CYP2D6*5, wie auch die Bestimmung der Mehrfachexpression des Gens sind unter „Relative Quantifizierung“ (s. 2.3.11.5) beschrieben.

Die Genotypisierung erfolgte in der Screening-Phase der klinischen Studie (Dextromethorphan-Studie; s. 2.7) und wurde einmalig durchgeführt. Für die Genotypisierung wurden 2–5 ml Blut aus einer großen Armvene entnommen. Bis zu 400 µl werden für die Isolierung der DNS aus den Leukozyten benötigt. Die restliche Menge wurde als Rückstellmuster bei -20° C eingefroren.

Ein Reaktionsansatz setzt sich für die Bestimmung einer Blutprobe wie folgt zusammen:

- TaqMan 2X PCR Master Mix (Applied Biosystems) 12,5 µl
- Allelischer Diskriminierungsmix:

CYP2D6*4 pre-developed assay (PDA) 2,5 µl

bzw.

CYP2D6*2, *3, *6, *10 und *41 drug metabolizing enzyme assay (DMEA) 1,25 µl

- Zu untersuchende DNS 20,0 ng
- Wasser (HPLC rein) ad 25 µl

Bei *4 wird zusätzlich ein Ansatz mit AL1- und AL2-DNS (Kontrolle) pipettiert (je 5 µl).

Pro Person wird immer ein doppelter Ansatz präpariert und ein Ansatz ohne DNS, stattdessen Wasser, für jede Mutation mit untersucht. Die Proben werden bei folgenden Zyklusbedingungen analysiert:

- 50°: 2:00 min.
- 95°: 10:00 min.
- 92°: 0:15 s.
- 60°: 1:30 min.

2.3.10.5 Relative Quantifizierung (Delta-Delta C_t Methode)

Die Relative Quantifizierung ist eine Methode, um die Anzahl an Genen zu bestimmen. Präzisiert bedeutet das, fehlende oder mehrfach exprimierte Gene zu detektieren. Die relative Quantifizierung bietet einen akkuraten Vergleich zwischen dem Verhältnis des Expressionsstatus einer bekannten Referenz (Kalibrator) mit bekanntem Expressionsstatus und einer Probe (Target), deren Expressionsstatus unbekannt ist. Die Quantifizierung der PCR basiert auf der Berechnung des Fluoreszenz-Schwellenwertes, dem so genannten „threshold cycle“ oder C_t-Wert.

Die Vorteile der relativen Quantifizierung gegenüber konventionellen Methoden, DNS zu messen, sind die hohe Sensitivität, das Potenzial für die hohe Durchschleusung an Proben (kein Gel-Gießen) und die akkurate Quantifizierung. Um dieses zu erzielen und experimentelle Fehler kontrollieren zu können, die durch die Prozesse während der Extraktion und durch die Vervielfältigungsmechanismen der DNS entstehen, wird ein Normalisierungsverfahren angewendet. Es gibt unterschiedliche Verfahren. So kann z. B. auf die Probengröße normalisiert werden, auf die gesamte DNS-Menge oder auf das Messen einer internen Referenz bzw. eines Housekeeping-Gens. Housekeeping-Gene sind Gene, die in allen Körperzellen, unabhängig von äußeren Einflüssen, mit gleicher Anzahl (meist zwei) exprimiert werden.

Um eine Deletion des CYP2D6-Gens (CYP2D6*5) oder auch eine Mehrfachexpression des Gens zu detektieren, ist eine absolute Quantifizierung nicht sensitiv genug. Für die quantitative Erfassung eines Gens ist eine exakte Ausgangsmenge nötig. Deswegen ist eine relative Quantifizierung erforderlich. In der vorliegenden Arbeit wurde auf ein Housekeeping-Gen, hier dem Albumin (Schaeffeler et al. 2003), normalisiert und so die Expression des CYP2D6-Gens quantifiziert. Die relative Quantifizierung wurde nach der Delta-Delta-C_t-Methode (Livak et al. 2001) durchgeführt, die im Folgenden näher beschrieben wird.

Die exponentielle Vervielfältigung der DNS wird im idealen Fall durch die folgende Gleichung beschrieben:

$$X_n = X_0 \times (1 + E_x)^n$$

(X_n = Anzahl der Moleküle zum Zyklus n, X₀ = Anzahl der Moleküle zu Zyklusbeginn, E_x = Effizienz der Vervielfältigung, n = Anzahl der Zyklen)

Bei der relativen Quantifizierung wird eine Sequenz des Referenz-Gens (hier: Albumin) und eine Sequenz des Targetgens (hier: CYP2D6) vervielfältigt; einmal von einer Kalibrator-DNS (Probe mit bekanntem Expressionsstatus) und einmal einer unbekannt Probe. Die allgemeine oben beschriebene Gleichung lässt sich entsprechend der obigen Gleichung auf die Referenz-DNS übertragen:

$$R_R = R_0 \times (1 + E_R)^{C_t R} = K_R$$

(R_R = der Zyklus, an dem der Schwellenwert des Referenzgens überschritten wird, R₀ = die Anzahl der initialen Referenzgene, E_R = Effizienz der Amplifikation des Referenzgens, C_{t R} = „threshold-cycle“ des Referenzgens, K_R = Konstante der Referenz)

Äquivalent kann man die Gleichung für das Referenzgen in eine Gleichung für das Targetgen (R_T) umformulieren, so dass sich auch aus dem Verhältnis der beiden

$$R_T / R_R = K_T / K_R = K$$

eine Konstante (K) ergibt.

In der RT-PCR mit dem TaqMan[®], bei der Sonden eingesetzt werden, hängen R_T und R_R von Faktoren innerhalb der PCR ab, beispielsweise der Abspaltung der Sonden, Größe und Beschaffenheit des Reporter-Farbstoffs, der zu amplifizierenden Sequenzfolge und deren Effekt auf die Fluoreszenz. Eine Voraussetzung für die Vergleichbarkeit von Referenzgenamplifikation und Targetgenamplifikation sind ähnliche Effizienzen dieser zu vergleichenden Systeme. Solange die Effizienzen von Ziel- und Referenzgen sehr ähnlich sind, muss E nicht gleich 1 sein, da sie in Relation zueinander gesetzt werden. Wenn die Voraussetzungen innerhalb der Ansätze gleich sind, sollte jedoch die Vervielfältigung äquivalent verlaufen.

Die Effizienzen der Amplifikationen zweier Gene (der Referenz und des Targetgens) können verglichen werden, indem eine Verdünnungsserie für beide Gene erstellt und unter den gegebenen Bedingungen vervielfältigt wird. Mit Hilfe der C_T -Werte werden Standardkurven für die jeweiligen Gene in ein Diagramm aufgetragen. Die Effizienz berechnet sich aus der folgenden Gleichung:

$$E = 10^{(-1/S)} - 1$$

Dabei beschreibt S die Steigung der Standardkurve. Eine Steigung m (gemäß der Geradengleichung $y = mx + b$) von $-3,32$ bedeutet somit eine Effizienz von 100%, d. h. eine Verdopplung der Amplikate pro Zyklus. Wenn $m = -3,58$ ist, ergibt sich eine Effizienz von 90%. Der C_T -Wert wird jeweils aus der Kurve der RT-PCR (auf dem Bildschirm) abgelesen. Die Differenzen der C_T -Werte beider Verläufe werden schließlich gegen den Logarithmus der Probenmenge aufgetragen (s. Abb. 5). Effizienzen sind vergleichbar, wenn bei dieser Gegenüberstellung die Steigung der Regressionsgeraden $<0,1$ ist.

$$E_T = E_R = E$$

Daraus ergibt sich, dass auch R_T/R_R sowie T_0/R_0 im Verhältnis gleich sind, also die Differenzen der C_T -Werte bei jeder Verdünnung konstant sind.

$$\begin{aligned} T_0/R_0 \times (1 + E)^{C_{T_R} - C_{T_T}} &= K \\ &= X_N \times (1 + E)^{-\Delta C_t} = K \end{aligned}$$

Expressionsdifferenzen von Genen werden durch das Verhältnis einer unbekannt Probe zum Kalibrator erkannt. Jedes X_N der unbekannt Probe (q) wird durch das X_N des Kalibrators (cb) dividiert:

$$\text{Verhältnis} = \frac{K \times (1 + E)^{\Delta C_t q}}{K \times (1 + E)^{\Delta C_t cb}}$$

wobei gilt: $\Delta C_t q = C_t \text{ Targetgen} - C_t \text{ Referenzgen}$ und $\Delta C_t cb = C_t \text{ Targetgen} - C_t \text{ Referenzgen}$

Der sich daraus ergebende Delta-Delta C_T -Wert ergibt sich für jede Probe:

$$= (1 + E)^{-\Delta\Delta Ct}$$

Wenn die PCR-Effizienzen des Targetgens und der endogenen Kontrolle vergleichbar sind, kann die Formel zusammengefasst und normalisiert werden zu:

$$= (1 + E)^{-\Delta\Delta Ct} \Rightarrow 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Für die relative Quantifizierung ist es wichtig, ein geeignetes Gen als Referenz zu wählen. Da die Expressionslevel in unterschiedlichen Geweben und unter unterschiedlichen experimentellen Bedingungen variieren können, wird für Bestimmung der Anzahl an Genen des CYP2D6 die modifizierte Methode (Schaeffeler et al. 2003) verwendet. Zur Validierung dieser Methode an der Klinischen Pharmazie und Pharmakotherapie an der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf wurden zunächst 50 Proben intern durch eine weitere Person validiert (s. Tabelle 13 im Anhang). Die Ergebnisse stimmten mit den zuvor erhobenen überein. Zur externen Validierung wurden 10 Proben ausgewählt, in denen alle zu bestimmenden Mutationen CYP2D6*2, *3, *4, *5, *6 enthalten waren. Diese wurden an Epidauros Biotechnologie AG zur Genotypisierung versandt. Alle von der Firma ermittelten Probenergebnisse stimmten mit unseren Ergebnissen überein.

2.3.11 Wiener Test System

2.3.11.1 Allgemeines zum psychologischen Testverfahren

Das Wiener Test System (WTS) ist ein computergestütztes psychologisches Testverfahren, das Anfang der 1990er Jahre von der Firma Dr. G. Schuhfried GmbH in Form einer Apparatur, unter anderem, als universelles Testsystem für die Messung von Konzentrations- und Aufmerksamkeitsfähigkeit im Straßenverkehr (nach Fahrerlaubnisverordnung FeV nach Anlage 5) entwickelt wurde. Das Wiener Test System ist für die Leistungsuntersuchung zur Fahrgastbeförderung nach den genannten gesetzlichen Anforderungen entwickelt worden und wird z. B. bei Trunkenheit am Steuer eingesetzt (Schuhfried 1996). Es ist eine standardisierte, validierte Testbatterie, mit denen die verkehrspsychologisch relevante Fähigkeiten Belastbarkeit, Orientierungs-, Konzentrations- und Aufmerksamkeitsleistung sowie Reaktionsfähigkeit werden mit diesem Testpaket untersucht werden.

Für die Studie wird ein Testpaket von sechs Tests aus dem WTS verwendet. Zum einen besteht es aus dem validierten FeV 5 Nr. 2, der eine Zusammenstellung aus fünf Testformen zur Konzentrations- und Reaktionsfähigkeit umfasst, zum weiteren ein Vigilanztest, der nach Quatember und Maly die Aufmerksamkeit der Probanden testet (Maly et al. 1980, Quatember et al. 1980).

Die einzelnen Testformen des gesamten Testpakets sind im Folgenden aufgeführt und erläutert:

1. Reaktionstest (RT): Test zur Messung der Reaktionszeit auf optische und akustische Reize.

2. Linienverfolgungstest (LVT): Der LVT ist ein visueller Wahrnehmungstest zur Erfassung der konzentrierten gezielten Wahrnehmung. Einfache Strukturen in einem komplexen Umfeld sollen zielgerichtet verfolgt werden, um die visuelle Wahrnehmungsleistung zu messen.
3. Determinationstest (DT): Der DT ist ein komplexer Mehrfach-Reiz-Reaktionstest, der die reaktive Belastbarkeit, Aufmerksamkeitsstörungen und Reaktionsgeschwindigkeit bei fortlaufend geforderten schnellen und unterschiedlichen Reaktionen auf rasch wechselnde optische und akustische Reize testet.
4. Cognitrone (COG): Allgemeiner Leistungstest zur Erfassung von Aufmerksamkeit und Konzentration.
5. Tachistoskopischer Verkehrsauffassungstest (TAVTMB): Verfahren zur Prüfung der optischen Wahrnehmung. Er bietet eine eindimensionale Erfassung der „Überblicksgewinnung“.
6. Der Vigilanztest (VIGIL) misst die Reaktion auf selten auftretende Sprünge eines bewegten Lichtreizes.
7. Zur Auswertung der Studie werden der unter erstens genannte Reaktionstest (RT) und der unter sechstens genannte Vigilanztest (VIGI) herangezogen. Bei diesen beiden Tests wird die Messung der Reaktionszeit als ein objektiver Messparameter für die Auswirkungen der zentralnervösen unerwünschten Wirkungen wie Müdigkeit, Schwindel und Abgeschlagenheit herangezogen. Dextromethorphan wirkt antagonistisch am NMDA-Rezeptor, was zu einer Einschränkung der kognitiven Funktionen wie Reaktion führen könnte (s. 1.6.4).
8. Messungen zur Einschränkung des Reaktionsvermögens und der Aufmerksamkeit werden weit verbreitet zur Bewertung der Fahrtüchtigkeit nach Pharmakaeinnahme eingesetzt (Ebert et al. 1999, Larsen et al. 1999, Lautenbacher et al. 2002). Besonders Arzneistoffe, die zentral dämpfend wirken, werden hierbei getestet (Bundesanstalt für Strassenwesen 1997, Gaertner et al. 2006).

2.3.11.2 Vigilanz und der Vigilanztest (VIGIL)

Der Einfluss von Dextromethorphan auf die Vigilanz in Abhängigkeit des Genotyps soll gemessen werden. Es gibt drei Formen des Phänomens der Aufmerksamkeit (Schuhfried Mai, 2006): Die erste Komponente wird als generelle Wachheit bezeichnet. Die zweite Komponente des Aufmerksamkeitsprozesses ist die selektive Aufmerksamkeit. Selektiv deshalb, weil relevante Merkmale einer gestellten Aufgabe fokussiert und erfasst, irrelevante dagegen unterdrückt werden müssen. Sie ist eng mit dem Begriff der Konzentrationsfähigkeit verknüpft, da Konzentration als kurzzeitige, mehrere Minuten dauernde, aktive Hinwendung der Aufmerksamkeit verstanden wird. Die dritte Form der Aufmerksamkeit ist die Vigilanz. Sie wird als Daueraufmerksamkeit (oder im Gegenteil

Schläfrigkeit) definiert. Sie ist die primäre Zielgröße, die in der Studie gemessen wird. Die Vigilanz bezeichnet die Aufrechterhaltung der Aufmerksamkeitsleistungen über einen längeren Zeitraum. Relevante Stimuli, die typischerweise nur sehr selten und in unregelmäßigen Intervallen erscheinen, müssen unterschieden werden von zahlreichen irrelevanten Stimuli. Nach Davies und Parasuraman wird die Daueraufmerksamkeit als die kontinuierliche Wiederholung von Aufmerksamkeitsoperationen gekennzeichnet (Parasuraman 1984). Eine typische Vigilanzleistung erbringt z. B. ein Radarbeobachter, der über lange Zeit hinweg aufmerksam sein muss, um auf seinem Bildschirm ein Signal zu entdecken, welches sich gegen irrelevante Hintergrundreize abhebt (Sturm 1989).

Ein Vigilanztest wird durchgeführt, um die Stärke eines typischen Leistungsabfalls zu messen. Mit zunehmender Testdauer unter gleich bleibenden Bedingungen lässt bei jedem Menschen die Aufmerksamkeit nach (Mackworth 1964). Als Referenzzeitraum gelten dazu meist 30 Minuten. Der Leistungsabfall wird durch eine Monotonie der Aufgabe und die fehlende Rückmeldung, die so genannte Verstärkung, der Versuchsperson während der Testverläufe erklärt (Jasper et al. 1956).

Aus einer Vielzahl von Vigilanzexperimenten haben sich folgende Kriterien bewährt:

- Gefordert wird eine Versuchsdauer von mindestens 25 Minuten, während der von der Versuchsperson ununterbrochene Wachsamkeit verlangt wird.
- Die relevanten Signale sollten unregelmäßig und ohne Vorwarnung erscheinen.
- Die relevanten Signale sollten nicht die sog. „unwillkürliche Aufmerksamkeit“ erwecken, d. h. sie werden von den meisten Beobachtern als „schwach“ (von geringer Intensität) empfunden.
- Die relevanten Signale sollten selten auftreten. Meist werden maximal 60 kritische Reize pro Stunde empfohlen.

Diese Kriterien werden vom Vigilanztest, der in der Testbatterie implementiert ist, erfüllt. Der Vigilanztest dauert 27 Minuten.

2.3.11.3 Reaktion und der Reaktionstest (RT)

Mit einem Reaktionstest ist die Messung der Reaktionszeit als Einfachwahlreaktion und bei einfachen Mehrfachwahlreaktionen möglich. Beim Reaktionstest, der für diese Studie ausgewählt wurde, stehen die Reizmodalitäten Licht/Ton und die Merkmale Rot/Gelb/Weiß zur Verfügung, so dass sich unterschiedliche Reizkonstellationen zur Reaktionszeitmessung herstellen lassen. Diese können von Einzelreizen bis hin zu gleichzeitig oder sequentiell dargebotenen Reizkombinationen reichen. Die in der Studie verwendete Form misst die Reaktionszeit auf optische und akustische Reize. Der Reaktionstest vereinigt sequentielle als auch parallele Verarbeitungsmechanismen. Um den komplexen Vorgang der Reizverarbeitung in Gehirn einfacher verständlich zu machen, ist er in Abbildung 8 schematisch aufgegliedert.

Unter der Reaktionszeit versteht man im Allgemeinen die Zeit zwischen einem Reiz und einer beobachtbaren Reaktion des Individuums. In der Literatur wird die Reaktionszeit

definiert als die Zeit, die zwischen einem Signal und dem Beginn der mechanischen Bewegungsantwort vergeht, unter der Instruktion, möglichst schnell zu reagieren (Dorsch 1994). Da es sich hier um Genauigkeiten im Millisekundenbereich handelt, muss das eingesetzte Testinstrument sehr zuverlässig und genau sein.

Um eine ausschließliche und möglichst genaue Messung der Reaktionszeit zu gewährleisten, sollte die Reizkonstellation so einfach wie möglich gestaltet sein. Damit wird verhindert, dass der Proband auf etwaige andere Reize reagiert. Beim verwendeten Test wird die Reaktionszeit zwischen dem möglichst raschen Betätigen einer Drucktaste auf eine Kombination eines akustischen und eines visuellen Reizes (Farbe Gelb und Ton) hin gemessen. Mit seiner Reaktion beantwortet der Proband nur die Frage, ob eine bestimmte Reizkonstellation vorgelegen hat. Diese bekommt er in der Instruktion mitgeteilt. Das bedeutet, die Leistung, für die die Zeit verbraucht wird, ist eine Gedächtnisleistung: Der Proband muss die dargebotene Reizkonstellation als die relevante wiedererkennen. Wenn diese, wie beim Reaktionstest, einfach zu behalten ist, handelt es sich dennoch nicht um einen Gedächtnistest. Gemessen wird immer das, was Variabilität in der Testleistung verursacht. Über die Variabilität dieser Reaktionszeiten ist bekannt, dass sie bei vergleichsweise einfach strukturierten Reizen hauptsächlich von der aktuell im Gedächtnis verfügbaren Menge an relevanten Reizen abhängt. Variiert die Menge relevanter Reize nicht, so kann die intra- und interindividuelle Variabilität in der Reaktionszeit nur noch von der variabel erbrachten Wiedererkennungslleistung abhängen (modifiziert nach Schuhfried, 2006).

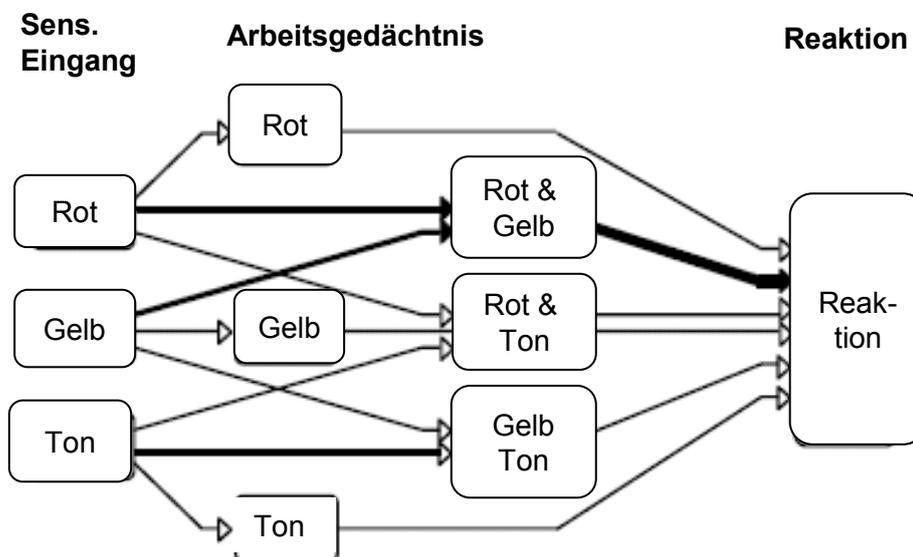


Abbildung 8: Grundannahmen eines sequentiellen und eines parallelen Reizverarbeitungsmodells.

Das Modell ist angewandt auf die Situation beim Reaktionstest des Wiener Test Systems; modifiziert nach Schuhfried, 2006).

2.3.12 Fragebögen

2.3.12.1 Fragebogen zum Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen

Jeder Studienteilnehmer erhielt zu jeder Kapselinnahme einen Fragebogen, in dem er Fragen zu eventuell aufgetretenen Nebenwirkungen beantworten musste (s. Abbildung 9).

 <p>HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DÜSSELDORF</p>	<p>Fragebogen zu: Phänotypisierung und Genotypisierung als Diagnose zur Erhöhung der Arzneimittelsicherheit am Beispiel Dextromethorphan: Studie bei gesunden Probanden</p>	 <p>Klinische Pharmazie & Pharmakotherapie</p>																				
Studien-ID: _____ Geburtsdatum: _____ Kapselnummer: _____																						
<p>Fragebogen zu unerwünschten Wirkungen nach der Einnahme nach einer Kapsel der Studienmedikation. Bitte geben Sie an, ob und wenn welche unerwünschten Wirkungen bei Ihnen nach Einnahme der Kapsel aufgetreten sind. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Frau Stephanie Röhm.</p> <p>Befinden in den ersten 24 Stunden (1.Tag):</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 80%;"><i>Benommenheit, Schwindel</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Übelkeit</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Müdigkeit</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Kopfschmerzen</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Euphorie</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Schlafstörungen</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Keine Beschwerden</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td><i>Sonstige Probleme</i></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;"><i>nein</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: right;"><i>ja</i></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p style="text-align: right;"><i>wenn ja, welche:</i> _____</p>			<i>Benommenheit, Schwindel</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Übelkeit</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Müdigkeit</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Kopfschmerzen</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Euphorie</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Schlafstörungen</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Keine Beschwerden</i>	<input type="checkbox"/>	<i>Sonstige Probleme</i>		<i>nein</i>	<input type="checkbox"/>	<i>ja</i>	<input type="checkbox"/>
<i>Benommenheit, Schwindel</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Übelkeit</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Müdigkeit</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Kopfschmerzen</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Euphorie</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Schlafstörungen</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Keine Beschwerden</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>Sonstige Probleme</i>																						
<i>nein</i>	<input type="checkbox"/>																					
<i>ja</i>	<input type="checkbox"/>																					

Abbildung 9: Fragebogen zum Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach der Einnahme einer Studienkapsel.

2.3.12.2 Online-Fragebogen zur erneuten Arzneimitteleinnahme nach Kenntnis des eigenen CYP2D6-Genotyps

Es wurde ein Fragebogen entwickelt, der retrospektiv die klinische Relevanz der Genotypen PM und IM auf die Arzneimitteltherapie erfasste (s. Abbildung 10). Hier wurde gefragt, ob und wie sich die Einstellung auf eine erneute Einnahme von Dextromethorphan verändert hat. Ob das Verhalten der Probanden durch die Kenntnis des Genotyps auf eine zukünftige Pharmakotherapie Einfluss nimmt, sollte des Weiteren

evaluiert werden. Der Online-Fragebogen wurde mit einem Anschreiben und dem entsprechenden Link an alle ehemaligen Studienteilnehmer verschickt. Mit Hilfe der ersten Frage, die nach dem Namen fragte, wird auf den Genotyp, das Alter und Geschlecht geschlossen. Da man die Befragten durch die Studie persönlich kannte, war die Anonymisierung nicht gegeben. Die Fragen zwei und drei sind so genannte „Dummie“-Fragen. Sie wurden nicht zur Auswertung herangezogen, sollten dem Teilnehmer aber helfen, sich in die Situation zurückzusetzen. Erfragt wurde das Befinden nach der damaligen Dextromethorphan-Einnahme. Fragen vier und fünf zielten daraufhin, ob sie Dextromethorphan bzw. andere Arzneimittel erneut einnehmen würden. In Frage sechs und sieben wollten wir wissen, ob die Kenntnis des Genotyps für die Probanden einen Einfluss auf die zukünftige Arzneimitteltherapie hat.

1. Wie heißen Sie? _____

2. Hatten Sie nach der Einnahme von Dextromethorphan unerwünschte Wirkungen?

	Ja	Nein	Weiß ich nicht
	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

3. Unter welchen unerwünschten Wirkungen litten Sie? (Mehrfachantworten möglich)

Keine Beschwerden	<input type="radio"/>
Benommenheit	<input type="radio"/>
Übelkeit	<input type="radio"/>
Kopfschmerzen	<input type="radio"/>
Müdigkeit	<input type="radio"/>
Euphorie	<input type="radio"/>
Schlafstörungen	<input type="radio"/>

4. Wie fühlten Sie sich nach der Einnahme?

	Sehr gut	Gut	Eher schlecht	Sehr schlecht	Weiß nicht
	<input type="radio"/>				

5. Ich werde Dextromethorphan ohne Bedenken erneut einnehmen

	Ich stimme voll zu	Ich stimme eher zu	Ich lehne eher ab	Ich lehne völlig ab	Weiß nicht
	<input type="radio"/>				

6. Ich werde andere Arzneimittel ohne Bedenken einnehmen

	<input type="radio"/>				
--	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

7. Seit Kenntnis meines Genotyps, bin ich mit Arzneimitteln aufmerksamer und frage bezüglich der Verstoffwechslung nach

	<input type="radio"/>				
--	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

Abbildung 10: Online-Fragebogen zur erneuten Arzneimitteleinnahme nach Kenntnis des eigenen CYP2D6-Genotyps.

3 Material

3.1 DNS-Isolierung

- QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, Düsseldorf)

3.2 Genotypisierung

- Human serum albumin exon 12 forward primer: 5'-TGTTGCATGAGAAAACGCCA-3'
- Human serum albumin exon 12 reverse primer: 5'-GTCGCCTGTTCACCAAGGAT-3'
- Human serum albumin exon 12 TaqMan Sonde:
- 5'-AAGTGACAGAGTCACCAAATGCTGCACAGNT
- Reporter = 5'FAM und Quencher = 3'TAMRA
- CYP2D6*4 predevelopped assay (PDA); Part number 4312555, (Applied Biosystems; Branchburg, New Jersey, USA)
- CYP2D6*2 drug metabolism genotyping assay; Assay ID C_27102425, (Applied Biosystems; Branchburg, New Jersey, USA)
- CYP2D6*3, drug metabolism genotyping assay; Assay ID C_32407232 (Applied Biosystems; Branchburg, New Jersey, USA)
- CYP2D6*10, drug metabolism genotyping assay; Assay ID C_32407243, (Applied Biosystems; Branchburg, New Jersey, USA)
- CYP2D6*41 drug metabolism genotyping assay; Assay ID C_34816116, (Applied Biosystems; Branchburg, New Jersey, USA)
- Wasser (HPLC rein)

3.3 HPLC

3.3.1 Arzneistoffe und Reagenzien

- Beta-Glucuronidase (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland)
- Dextromethorphan (Hoffmann-La-Roche AG, Basel, Schweiz)
- [(+)-cis-1, 3, 4, 9, 10, 10a-Hexahydro-6-methoxy-11-methyl-2H-10, 4a-iminoethano-phen-anthren]
- Dextrorphan (Hoffmann-La-Roche AG, Basel, Schweiz)
- [(+)-cis-1, 3, 4, 9, 10, 10a-Hexahydro-6-hydroxy-11-methyl-2H-10, 4a-iminoethano-phenanthren]

- Kaliumhydroxid (Merck, Darmstadt, Deutschland)
- Neo-Tussan[®], Wirkstoff Dextromethorphan (Novartis Consumer Health, München, Deutschland)
- Hustenstilller ratiopharm[®], Wirkstoff Dextromethorphan (Ratiopharm, Ulm, Deutschland)
- Verapamil (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland)
- [(+)-5-[3, 4-Dimethoxyphenethyl)methylamino]-2-(3, 4-dimethoxyphenyl)-2-isopropyl-valeronitril]

3.3.2 Lösungsmittel und Lösungen

Alle Substanzen wurden, wenn nicht anders angegeben, mit der höchsten im Handel befindlichen Reinheit verwendet. Für die Lösungsmittel sind die Gefahrenhinweise und Sicherheitsratschläge angegeben.

Acetonitril, HPLC grade (Merck, Darmstadt, D)	R 11-23/24/25	S 16-27-45
Eisessig (Merck, Darmstadt, D)	R 10-35	S 23-26-45
Methanol, HPLC grade (Merck, Darmstadt, D)	R 11-23/25	S 7-16-24-45
Dextromethorphan Extraktionspuffer	20:80	Kaliumacetatpuffer (0,1 mol/l, pH 5,0)/Acetonitril
Dextromethorphan Standardlösung	10 µg/ml	in 50% Methanol
Dextrorphan Standardlösung	10 µg/ml	in 50% Methanol
Kaliumacetatpuffer	0,5 mol/l	28,5 ml/l Eisessig
	pH 3,5	ad pH 3,5 mit konz. KOH
Kaliumacetatpuffer	0,25 mol/l	14,3 ml/l Eisessig
	pH 4,0	ad pH 4,0 mit konz. KOH
Kaliumacetatpuffer	0,1 mol/l	5,72 ml Eisessig
	pH 5,0	ad pH 5,0 mit konz. KOH
Methanol 50%	50:50 (V/V)	Methanol/Aqua bidest
Verapamil Standardlösung	10 µg/ml	in 50% Methanol

3.3.3 HPLC-Apparatur

- LC Workstation Class LC10 (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- SIL-10A-Autoinjektor (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- LC-10AT-Pumpe (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- RF-10A-Fluoreszenzdetektor (Shimadzu, Kyoto, Japan)
- Spherisorb C6-Vorsäule (CS-Chromatographie, Langerwehe, Deutschland)
- 17 × 4 mm Innendurchmesser, 5 µm Partikelgröße
- Spherisorb C6-Trennsäule (CS-Chromatographie, Langerwehe, Deutschland)
- 150 × 4,6 mm Innendurchmesser, 5 µm Partikelgröße
- Class-VP Software, Version 5.03 (Shimadzu, Kyoto, Japan)

3.4 Verbrauchsmaterialien

- Aqua ad iniectabilia (Pharmacia & Upjohn, Erlangen, Deutschland)
- Blutaufräufreinigungsröhrchen (Quiagen, Düsseldorf, Deutschland)
- Eppendorf tubes, DNS low bind tube 1,5 ml (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- TaqMan[®] Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems; Branchburg, New Jersey, USA)
- Bond-Elut-CN-Extraktionssäulen (Varian, Harbor City, USA)
400 µm Partikelgröße, 100 mg/ml Säulenvolumen
- Leerplasma (Blutspende der wissenschaftlichen Mitarbeiter der Klinischen Pharmazie, Universität Düsseldorf, Deutschland)
- Eppendorfgefäße (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Monovette 5 ml (Sarstedt, Nuembrecht, Deutschland)
- Butterfly (Sarstedt, Nuembrecht, Deutschland)
- Pipettenspitzen 10 µl, 100 µl (Starlab GmbH, Ahrensburg, Deutschland)
- Pipettenspitzen mit Filter 100µl (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland)
- Pipettenspitzen ohne Filter 10 µl, 100 µl, 1ml (VWR, Deutschland)
- Sarstedt-Röhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland)

3.5 Laborgeräte

- Fotometer (Thermo Scientific, Wisconsin, USA)
- Thermomixer (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Eppendorf Zentrifuge (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)
- Kühltruhen, -20° C, -80° C (Kryotec, Hamburg, Deutschland)
- Magnetrührer (Heidolph, Kehlheim, Deutschland)
- 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Singapore)
- pH-Meter (Knick, Berlin, Deutschland)
- Schüttelinkubator (OSFT-HS-R, CLF Laborgeräte GmbH, Emersacker, Deutschland)
- Vakuumkammer Vac-Elut (CS-Chromatographie, Langerwehe, Deutschland)
- Vakuumpumpe (KNF Neuberger, Freiburg, Deutschland)
- Vortexer (Heidolph, Kehlheim, Deutschland)

3.6 Software

- Microsoft Excel, Version für Microsoft Office XP (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA)
- SPSS, Version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)
- Wiener Test System 6.3 (Schuhfried GmbH, Österreich)

4 Ergebnisse

4.1 Wissenstest und Umfrage über die Pharmakogenetik

Insgesamt wurden 202 Personen (80 Apotheker in ihrer Offizin, 42 niedergelassene Ärzte und 80 Patienten in den gewählten Apotheken) befragt (Röhm et al. 2008). Die Umfrage wurde erst durchgeführt, nachdem das mündliche Einverständnis der Apothekenleiter erteilt wurde. Alle Bögen wurden vollständig ausgefüllt und für die Auswertung verwendet. Antworten zu Verständnisfragen wurden während der Beantwortung erteilt. Die richtigen Antworten wurden bei Interesse mit den Befragten im Anschluss besprochen. Die Charakteristika der Befragten sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Charakteristika der Befragten

	Apotheker	Ärzte	Patienten
Anzahl der Befragten	80	42	80
Geschlecht (weiblich)	42%	29%	66%
Alter (Mittelwert in Jahren und Standardabweichung)	42 ± 10,0	43 ± 7,7	49
Berufsjahre (Mittelwert und Standardabweichung)	15 ± 10,2	15 ± 7,9	-

Im Wissenstest unterschieden sich Ärzte und Apotheker in der richtigen Beantwortung mit einer Ausnahme einer Frage nicht. Es zeigte sich, dass Apotheker, im Gegensatz zu Ärzten, CYP2D6 als polymorphes Enzym kannten bei dem es zu arzneimittelbezogenen Problemen kommen kann. Obwohl bei dieser Frage zwei von drei Enzymen frei erfunden waren, wussten die Ärzte nicht die richtige Antwort (42% vs. 5%, $p < 0,05$). Die Ergebnisse des Wissenstests von Ärzten und Apothekern ist in Abbildung 11 dargestellt. In punkto Arzneimittelverstoffwechslung konnten 75% der Apotheker im Unterschied zu 62% der Ärzte korrekt erklären, was ein Polymorphismus ist. Auch die Frage, die die Arzneimittelverstoffwechslung von CYP2D6 thematisierte (s. Tabelle 3, Frage 5), wurde von Ärzten und Apothekern ähnlich richtig beantwortet (64% vs. 69%). 43% der Ärzte und 28% der Apotheker beantworteten weiterhin die Frage nach Beachtung der Dosierung eines langsamen Metabolisierers vollständig richtig (s. Tabelle 3, Frage 6). Die Ergebnisse des Wissenstest sind in Abbildung 11 dargestellt.

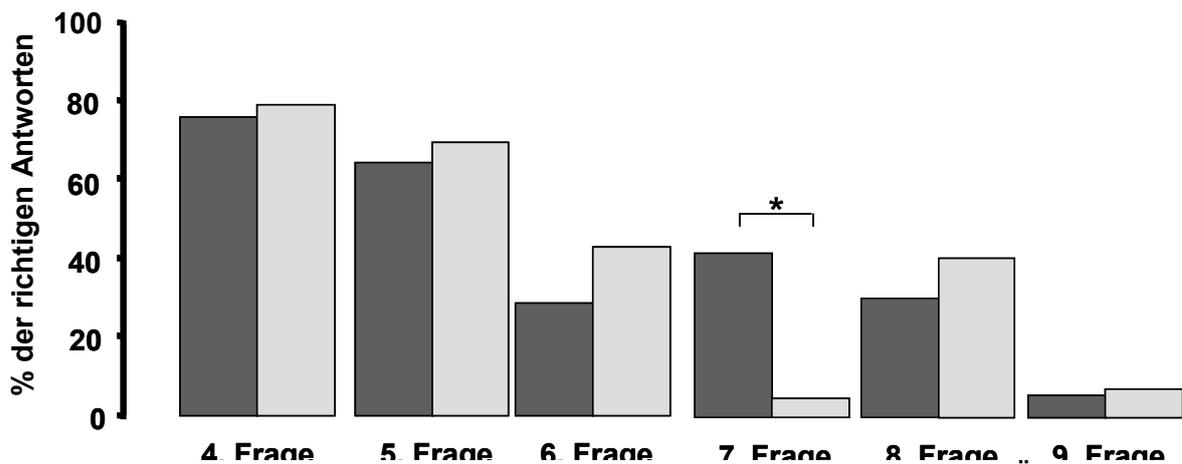


Abbildung 11: Richtige Antworten in Prozent der Fragen des Wissenstests von Ärzten und Apothekern. In dunkelgrau dargestellt sind die Ergebnisse der Apotheker, in hellgrau die der Ärzte. *= $p < 0,05$

In den Fragen außerhalb des Wissenstests stellen sich die Ergebnisse wie folgt dar: Die meisten Ärzte (90,5%) und Apotheker (72,5%) hatten den Begriff der Pharmakogenetik schon gehört, nur 13% der Ärzte und 48% der Apotheker konnten ihn jedoch genau erklären. Die Patienten sind in hohem Maß bereit, pharmakogenetische Untersuchungen durchführen zu lassen (73% bzw. 50% in Bezug auf Arzneimittel bzw. Krankheiten), 60% der Befragten sehen aber die Krankenkassen in der Pflicht, die Kosten zu übernehmen. Wenn man aus diesem Kollektiv Patienten herausfiltert, die einer Dauermedikation unterliegen, würden sogar fast alle (95% der Befragten) ihren Genotyp testen lassen und 93% möchten die Beratung von Arzt und Apotheker in Anspruch nehmen. Die abschließende Frage zur Fortbildungsbereitschaft zu diesem Thema wurde von 57% der Apotheker und 88% der Ärzte bejaht. Die Ergebnisse der Umfrage sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Fragenszusammenstellung und Ergebnisse (% richtige Antworten) der Umfrage bei Ärzten, Apothekern und Patienten

	Apotheker	Ärzte	Patienten
I. ALLGEMEINE FRAGEN			
1. Haben Sie den Begriff Pharmakogenetik schon einmal gehört?^Δ			
a) Ja	72%	90%	9%
b) Nein			
1.a Können Sie ihn erklären bzw. was stellen Sie sich darunter vor?#	48%	13%	3%
2. Möchten Sie persönlich wissen, ob Sie genetische Variationen aufweisen, die Einfluss haben auf			
a) die Wirkung von Arzneimitteln	x	x	a) 73%
b) die Entstehung von Krankheiten			b) 50%
3. Wer soll die pharmakogenetische Diagnostik bezahlen?			
a) Krankenkasse			a) 60%
b) Kosten trage ich selber	x	x	
II. WISSENSTEST[°]			
4. Was bedeutet Polymorphismus?			
a) Auftreten einer Genvariation in der Population mit einer Häufigkeit von mehr als 1%	75%	62%	x
b) Erniedrigte/ erhöhte Chromosomenzahl			
c) Synonym für Mutation			
5. Welche Auswirkungen können Veränderungen an arzneistoffmetabolisierenden Enzymen haben?			
a) <u>Veränderte Halbwertszeit</u>	64%	69%	x
b) <u>Veränderte Wirkung eines Pharmakons</u>			
c) <u>Vermehrtes Auftreten von unerwünschten Wirkungen</u>			
6. Was muss bei der Behandlung eines langsamen Metabolisierers (PM) beachtet werden?			
a) <u>Die Dosis muss erhöht werden</u>	28%	43%	x
b) <u>Die Dosis muss erniedrigt werden</u>			
c) <u>Je nach Medikament kann die Dosis erhöht oder erniedrigt werden</u>			
7. Bei welchen der folgenden Cytochrom P450-Subtypen treten gehäuft medikamentenbezogene Polymorphismen auf?			
a) CYP23A4	42%	5%*	x
b) <u>CYP2D6</u>			
c) CYP14K5			
8. Was schätzen Sie, wie viele Arzneistoffe werden über CYP2D6 verstoffwechselt?			
a) Weniger als ein Zehntel	30 %	41%	x
b) <u>Mehr als ein Zehntel, aber weniger als die Hälfte</u>			
c) Fast alle			
9. Welche der folgenden Antidepressiva werden über CYP2D6 verstoffwechselt?			
a) Sertralin			
b) <u>Fluoxetin</u>	6%	7%	x
c) <u>Doxepin</u>			
d) <u>Amitriptylin</u>			
10. Würden Sie Fortbildungsveranstaltungen besuchen, bei denen Sie angefangen von den genetischen Grundlagen bis über die arzneimittelbezogenen Probleme, die Krankheiten und die ethisch-rechtliche Situation zur adäquaten Beratung umfassend informiert würden? ^Δ			
a) Ja	57%	88%	x
b) Nein			

Grau unterlegt oben = allgemeine Fragen, grau unterlegt unten = Wissenstest, Δ = % positive Antworten, # = % richtige Antworten, ° = % richtige Antworten; richtige Antworten sind unterstrichen, x = Fragen nicht gestellt, * = p<0,05.

4.2 Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika

Es wurden 172 Datensätze von Patienten aus einer psychiatrisch-neurologischen Praxis in der Region Köln im Zeitraum von drei Wochen und 1706 Rezepte einer Apotheke aus einem Zeitraum von 25 Werktagen aufgenommen. Aus den Patientenakten der Praxis ging hervor, dass 81 Verordnungen für 80 Patienten, die psychisch erkrankt waren, geschrieben wurden. In der Apotheke gingen 67 Rezepte ein, auf denen Antidepressiva und/oder Neuroleptika verschrieben waren. In beiden untersuchten Zentren waren Frauen doppelt so häufig betroffen wie Männer (53 : 27 bzw. 48 : 19). Das Alter der Patienten aus der Praxis betrug im Median 67 Jahre, das der Kunden der Apotheke 57 Jahre. In einer Arbeit von Wittchen et al. von 2000 wird ausgeführt, dass Analysen der Inzidenzkurven darauf hindeuten, dass sich Depressionen grundsätzlich in jeder Altersstufe manifestieren können (Bijl et al. 2002, Wittchen 2005). Die kumulative Ersterkrankungsinzidenz steigt ab der Adoleszenz kontinuierlich an und flacht demnach in der fünften Lebensdekade etwas ab. Nach Befunden des Bundesgesundheits surveys ist ein Erstauftreten vor dem 20. Lebensjahr eher selten; sowohl für Frauen als auch für Männer liegt der Gipfel des mittleren Ersterkrankungsalters (eine depressive Episode oder Dysthymie) in den ersten Jahren der vierten Lebensdekade (Frauen: 31,7 Jahre, Männer: 33 Jahre). Die entsprechenden Inzidenzraten aus einer Arbeit von Bijl und Kollegen betragen 4,45 pro 100 Personenjahre für Männer und 6,94 für Frauen (eine Erkrankung nach Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM III-R)) (Bijl et al. 2002). Somit bestätigen die Daten aus der regionalen Analyse die demographischen Daten zu psychischen Erkrankungen in Deutschland. Eine Übersicht der Ergebnisse ist in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Übersicht der ermittelten Daten aus der psychiatrisch-neurologischer Praxis und der Apotheke

	Psychiatr.- neurolog. Praxis	Apotheke
Alle Patienten/Verschreibungen	172	1706
Psychiatrische Patienten	80	67
Median Alter (Spanne) [Jahre]	67 (11-97)	57 (19-91)
Verschreibungen der AD und NL	81	79
CYP2D6 unabhängige NL- Verschreibungen	30 (37%)	26 (33%)
CYP2D6 unabhängige AD- Verschreibungen	17 (21%)	17 (21%)
CYP2D6-abhängige NL	19 (23%)	10 (13%)
CYP2D6-abhängige AD	15 (19%)	26 (33%)

NL = Neuroleptika, AD = Antidepressiva, CYP2D6 = Zytochrom P450 2D6.

Die Analyse der Patientenakten aus der Praxis ergab unter 80 Patienten Verschreibungen von insgesamt 49 Neuroleptika und 32 Antidepressiva, wovon 19 (23%) CYP2D6-abhängige Neuroleptika und 15 (19%) CYP2D6-abhängige Antidepressiva waren (s. Abbildung 12). Auf den in der Apotheke eingegangenen Rezepten wurden insgesamt 79 Neuroleptika und Antidepressiva verschrieben: 36 Neuroleptika und 43 Antidepressiva, von denen 10 (13%) bzw. 26 (33%) CYP2D6-abhängig sind. Amitriptylin (4x in der Arztpraxis, 12x in der Apotheke) und Risperidon (je 7x in Praxis bzw. Apotheke) sind die beiden Arzneistoffe der jeweiligen Stoffklasse, die am häufigsten verordnet wurden. Fast die Hälfte (42%) der über drei Wochen verschriebenen Antidepressiva und Neuroleptika aus der Praxis werden CYP2D6-abhängig verstoffwechselt. Die Ergebnisse der Apotheke, die nicht in unmittelbarer Nähe der Arztpraxis lokalisiert ist, sind ähnlich in Bezug auf die Anzahl der CYP2D6-abhängig verstoffwechselten Arzneimittel: 46% der verschriebenen Psychopharmaka sind CYP2D6-abhängig verstoffwechselte Antidepressiva und Neuroleptika.

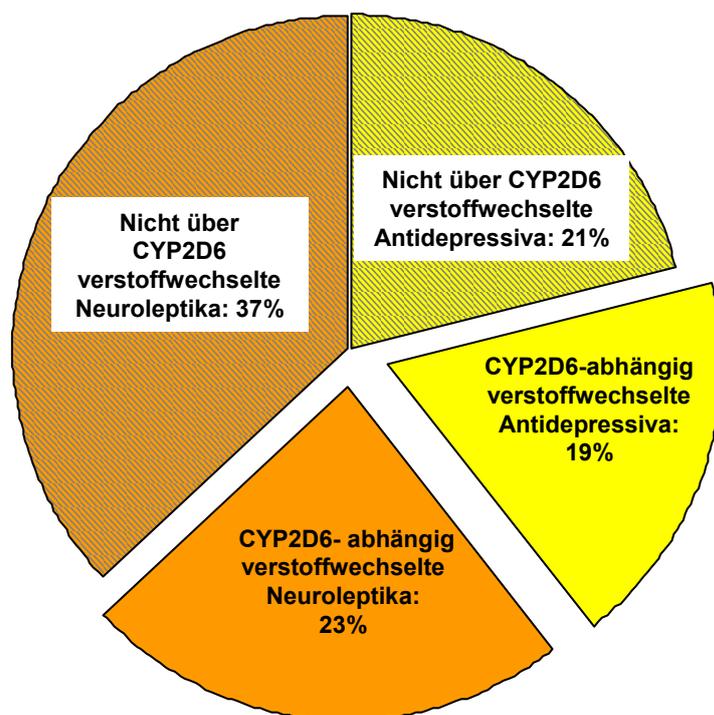


Abbildung 12: In der ärztlichen Praxis verschriebene Antidepressiva und Neuroleptika.

Orange schraffiert = Anteil (%) nicht über CYP2D6 verstoffwechselte Neuroleptika, orange = Anteil (%) über CYP2D6 verstoffwechselte Neuroleptika: Fluphenazin (n=3), Perphenazin (n=3), Promethazin (n=4), Risperidon (n=7), Zuclopenthixol (n=2), gelb schraffiert = Anteil (%) nicht über CYP2D6 verstoffwechselte Antidepressiva, gelb = Anteil (%) über CYP2D6 verstoffwechselte Antidepressiva: Amitriptylin (n=4), Clomipramin (n=1), Doxepin (n=1), Fluoxetin (n=2), Imipramin (n=1), Mirtazapin (n=2), Paroxetin (n=2), Trimipramin (n=2).

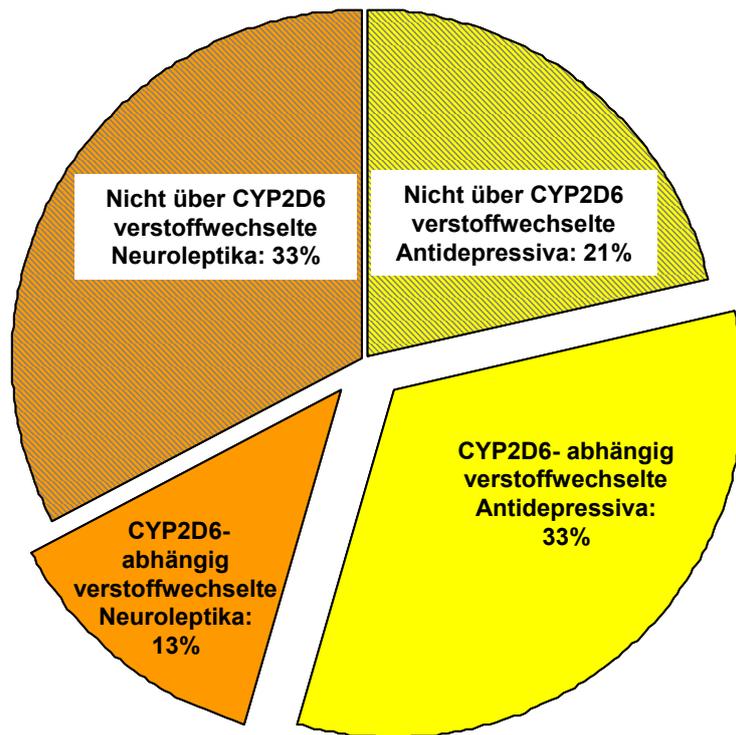


Abbildung 13: In der Apotheke verschriebene Antidepressiva und Neuroleptika.

Orange schraffiert = Anteil (%) nicht über CYP2D6 verstoffwechselte Neuroleptika, orange = Anteil (%) über CYP2D6 verstoffwechselte Neuroleptika: Haloperidol (n=1), Promethazin (n=2), Risperidon (n=7), gelb schraffiert = Anteil (%) nicht über CYP2D6 verstoffwechselte Antidepressiva, gelb = Anteil (%) über CYP2D6 verstoffwechselte Antidepressiva: Amitriptylin (n=12), Clomipramin (n=1), Fluoxetin (n=3), Imipramin (n=2), Paroxetin (n=2), Trimipramin (n=6).

4.3 Pharmakogenetische Studie mit Dextromethorphan

4.3.1 Charakteristika der Probanden

Insgesamt bestand die Gesamtpopulation aus 149 Probanden, unterteilt in 15 PM, elf IM und 123 EM. Die zur Ergebnisanalyse herangezogenen Daten der Probanden waren heterogen; nicht alle erhobenen Daten waren für jeden Probanden verfügbar. Für 141 Probanden sind sowohl Geno- als auch Phänotyp bestimmt worden. Davon lagen bei 58 Probanden Plazebo-kontrollierte Daten für aufgetretene unerwünschte Wirkungen sowie für die Reaktionszeiten des Reaktionstests und des Vigilanztests im WTS nach den jeweiligen Dosen vor. Im Mittel betrug das Alter der Probanden $28 \pm 10,3$ Jahre. Ein PM brach die Studie nach der ersten Kapsel wegen zu starker unerwünschter Arzneimittelwirkungen ab. Nach Entblindung wurde festgestellt, dass der Proband die doppelte Dosis erhalten hatte.

Tabelle 5 charakterisiert die Probanden der Gesamtpopulation und die einzelnen Kollektive entsprechend der jeweiligen Untersuchungsmethoden (Genotyp, Phänotyp, unerwünschte Arzneimittelwirkungen, Probanden des Wiener Test Systems).

Tabelle 5: Charakteristika der in die Studie eingeschlossenen Probanden

Probanden-Charakteristika	n (%)
Gesamtpopulation	149 (100)
Alter in Jahren (Mittelwert) [Bereich]	28 [20-80]
Geschlecht	
Weiblich	115 (77,2)
Männlich	34 (22,8)
Genotypen	
EM	123 (82,5)
IM	11 (7,4)
PM	15 (10,1)
Phänotypen	
EM	117 (78,0)
IM	11 (7,3)
PM	13 (8,6)
UAW-Bögen	
Gesamtkollektiv	121 (100,0)
Alter in Jahren (Mittelwert) [Bereich]	27,0 [22-55]
Geschlecht	
Weiblich	90 (74,4)
Männlich	31 (25,6)
Genotypen	
EM	100 (82,6)
IM	8 (6,6)
PM	13 (10,7)
Vigilanztest	
Gesamtkollektiv	44 (100,0)
Alter in Jahren (Mittelwert) [Bereich]	28,8 [22-40]
Geschlecht	
Weiblich	32 (72,7)
Männlich	12 (27,3)
Genotypen	
EM	36 (81,8)
IM	3 (6,8)
PM	5 (11,4)
Reaktionstest	
Gesamtkollektiv	43 (100,0)
Alter in Jahren (Mittelwert) [Bereich]	25,9 [22-40]
Geschlecht	
Weiblich	31 (72,1)
Männlich	12 (27,9)
Genotypen	
EM	35 (81,4)
IM	3 (7,0)
PM	5 (11,6)

EM = CYP2D6 extensive Metabolisierer, IM = CYP2D6 intermediäre Metabolisierer, PM = CYP2D6 langsame Metabolisierer. n = Anzahl der Probanden, wenn nicht anders angegeben.

4.3.2 Geno- und Phänotypisierung für das Enzym CYP2D6

4.3.2.1 Ergebnisse der Real-Time-PCR

Die Bestimmung der Anzahl der CYP2D6-Gene wurde über eine relative Quantifizierung durchgeführt. Das Gen, das für Albumin codiert, wurde dabei als Referenzgen gewählt. Voraussetzung für ein Referenzgen ist, dass es bei der Amplifikation dieselbe Effizienz wie das Zielgen hat. Denn die Effizienzen der Vervielfältigung der in Relation gestellten Gene, also des Zielgens CYP2D6 und des Referenzgens für Albumin, müssen vergleichbar sein (Livak and Schmittgen 2001). Die Überprüfung der Reaktionseffizienz geschieht mit Hilfe einer Standardkurve, die zuvor über unterschiedliche DNS-Konzentrationen erstellt worden ist. Die Änderung im Ct-Wert dividiert durch die Änderung in der Kopienzahl, ergibt die Steigung m der Standardgerade $y = mx + b$. Die Steigung einer Reaktion wird für die Bestimmung der exponentiellen Amplifikation und der Reaktionseffizienz verwendet (s. 2.3.10.5). Abbildung 14 zeigt die Amplifikationen und die vergleichbaren Effizienzen des Referenzgens Albumin (schwarzes Quadrat) und des Zielgens CYP2D6 mit den entsprechenden Regressionsgeraden (Albumin= schwarze, durchgezogene Linie, CYP2D6= graue, gestrichelte Linie). Unter der Voraussetzung, dass bei der Ermittlung der Anzahl der Gene für alle Proben dieselbe Menge DNS eingesetzt wird, pro Zyklus diese Menge verdoppelt, Albumin konstant mit zwei Genen exprimiert wird (Housekeeping-Gen) und die Effizienzen der Vervielfältigung der beiden Gene miteinander vergleichbar sind, kann in der exponentiellen Phase über die Anzahl der Zyklen auf die Anzahl der Gene geschlossen werden.

Die zwei Standardkurven (Referenz- und Zielgen) sind in Abbildung 15 dargestellt.

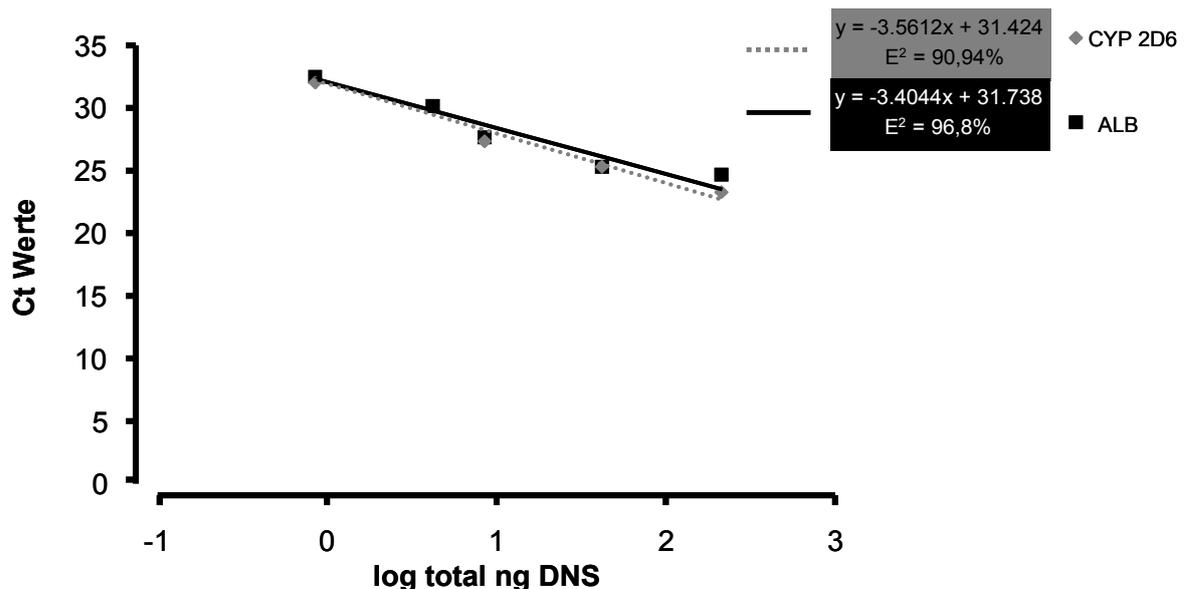


Abbildung 14: Ermittelte Effizienzen aus den Amplifikationsplots des Referenzgens Albumin (schwarzes Quadrat) und des Zielgens CYP2D6 (graue Raute).

C_t-Wert = Zyklus, bei dem der Schwellenwert zur Detektion überschritten wird, log total ng DNS = Logarithmus der gesamten Menge DNS, die eingesetzt wurde, in Nanogramm (ng).

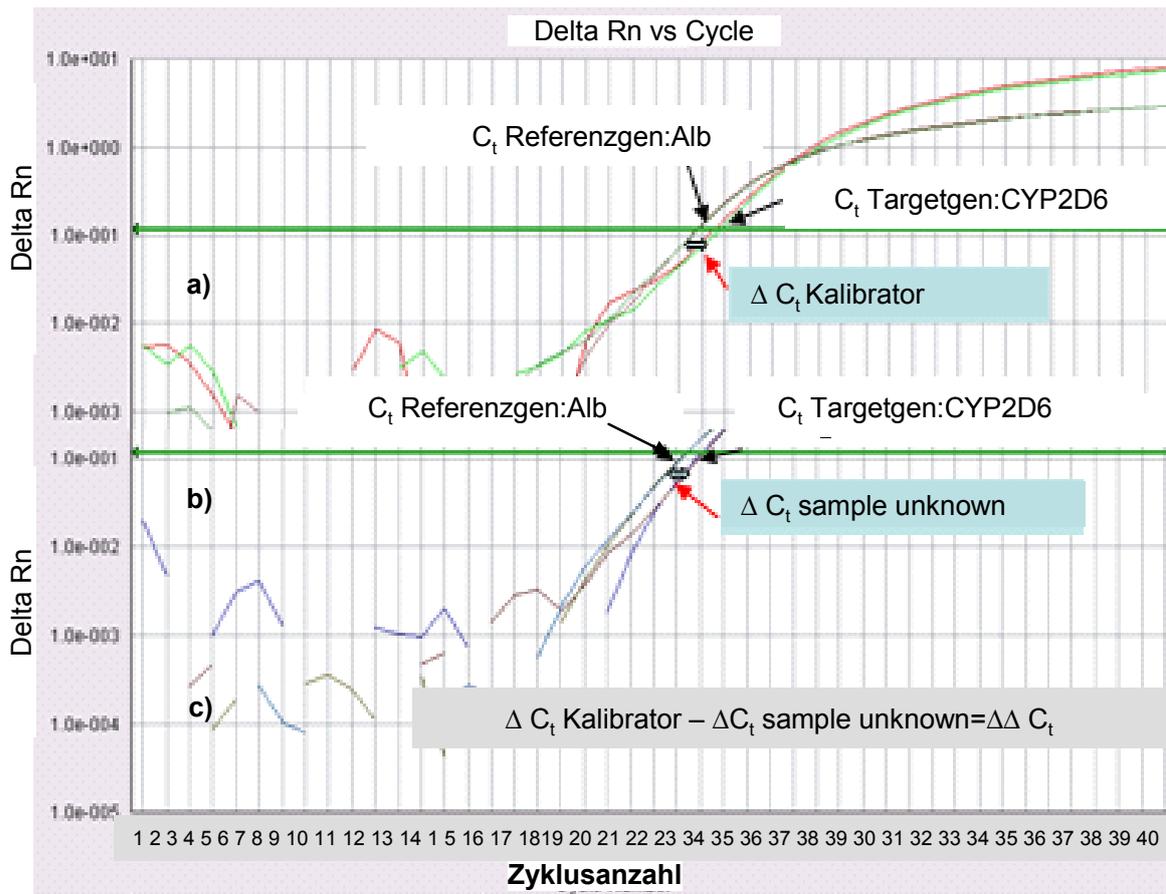


Abbildung 15: Darstellung der Amplifikationsplots zur Ermittlung der Anzahl an CYP2D6 Genen in Relation zu Albumin (fehlend oder dupliziert).

a) Ermittlung des ΔC_t aus der Differenz der Zyklen von Albumin und CYP2D6 für den Kalibrator, b) Ermittlung des ΔC_t aus Differenz der Zyklen von Albumin und CYP2D6 für die unbekannte Probe (sample unknown), c) Ermittlung des $\Delta\Delta C_t$ aus der Differenz des jeweiligen ΔC_t Werte von Kalibrator und unbekannter Probe.

Die Detektion der Allele CYP2D6*2, *3, *4, *6, *10 und *41 erfolge mit vorentwickelter, validierter Assays der Firma Applied Biosystems. Da die Sonden an das jeweilige komplementäre DNS-Strangteilstück (Wildtyp oder polymorphes Allel) binden und bei Vervielfältigung wieder abgespalten werden, kann über die unterschiedliche Farbmarkierung der Sonde der Genotyp bestimmt werden. Abbildung 16 zeigt beispielhaft die Detektion des heterozygoten Allels CYP2D6*2 (Abbildung 16d), des homozygoten Wildtyps CYP2D6*3 (Abbildung 16e) und des homozygot mutanten Allels CYP2D6*4 (Abbildung 16f). Die nicht exponentiell verlaufenden Linien zeigen, dass nichts vervielfältigt wurde; es ist der Kontrollansatz mit Wasser statt DNS (NTC, no template control).

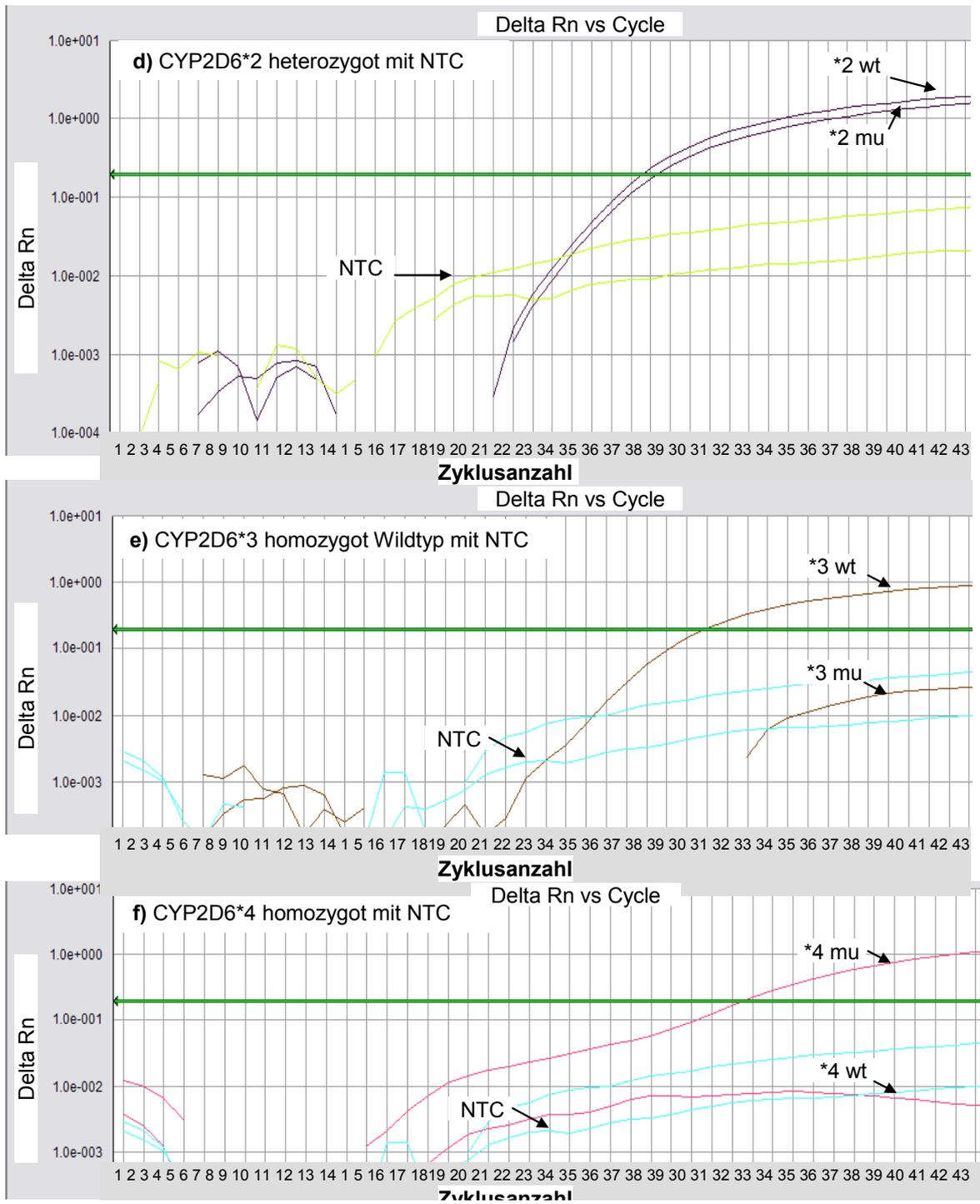


Abbildung 16: Darstellung der Amplifikationsplots zur Ermittlung der CYP2D6 Allele.

d) Zwei Amplifikationsplots der Allele CYP2D6*2: eine für die Amplifikation der Mutante, eine für die des Wildtyps. Die Person ist heterozygot für CYP2D6*2. NTC = Wasser statt DNS (no template control, e) Amplifikationsplot des Alleles CYP2D6*3: homozygot Wildtyp. NTC = Wasser statt DNS (no template control, f) Amplifikationsplot des Alleles CYP2D6*4: homozygot Mutante. NTC=Wasser statt DNS (no template control).

CYP2D6 = Zytochrom P450 2D6, mu = Mutante, wt = Wildtyp.

4.3.2.2 Genotypisierung

Es wurden insgesamt 149 Personen genotypisiert. Es wurden die Polymorphismen CYP2D6 *2, *3, *4, *5, *6, *10 und *41 untersucht. Die Häufigkeiten der aufgetretenen Single Nukleotide Polymorphismen (SNP) bei der Genotypisierung sind in Tabelle 6 im Vergleich zu den Prävalenzen der Single Nukleotide Polymorphism (SNP) aus der Literatur aufgeführt. Die errechneten Prozentsätze der ermittelten Daten sind mit der Literatur vergleichbar. Darüber hinaus wurden die Ergebnisse auch durch eine interne und externe Validierung von zehn ausgewählten DNS-Proben bestätigt (s. Tabelle 14 und 15 im Anhang). Die Auswahl der Proben für diese externe Validierung wurde dabei so getroffen, dass alle polymorphen Allele (CYP2D6*3, *4, *5, *6), die detektiert wurden, einbegriffen waren.

Die Prävalenz der einzelnen Allele in der Population weist eine hohe Variabilität zwischen den Bevölkerungsgruppen auf. Die Angaben in Tabelle 6 beziehen sich auf die untersuchte Gesamtpopulation, die nicht ausschließlich aus Kaukasiern bestand. Da nicht jede Person zwei Allele trägt, sondern null (bei *5/*5, einer kompletten CYP2D6 Gendeletion) bis drei (in der untersuchten Gesamtpopulation wurden nicht mehr gefunden), beziehen sich die prozentualen Angaben bei 149 Probanden nicht auf 298 Allele, sondern in diesem Fall auf 293 Allele. Es wurden neun Probanden mit drei Allelen identifiziert, zwei PM hingegen hatten kein CYP2D6-Gen und bei 12 Probanden lag nur ein Gen vor. Eine größere Anzahl als drei Gene wurde nicht gefunden. CYP2D6*4 ist das Allel mit der größten Häufigkeit (18,3%), *10 tritt als zweithäufigstes auf (12,2%). Unter den 149 genotypisierten Probanden fanden sich 15 PM, elf IM und 123 EM.

Tabelle 6: Vergleich der Häufigkeiten des Auftretens einzelner Single Nukleotide Polymorphismen (SNP) der vorliegenden Studie mit Literaturdaten (Marez et al. 1997, Sachse et al. 1997, Griese et al. 1998)

Genotyp	Studiendaten 2008	Sachse et al. 1997	Griese et al. 1998	Marez et al. 1997
CYP2D6*1	30,9%	36,4%	35,6%	32,2%
CYP2D6*2	24,3%	35,0%	28,5%	n. u.
CYP2D6*3	2,0%	2,0%	1,0%	1,6%
CYP2D6*4	18,3%	20,7%	19,5%	15,6%
CYP2D6*5	4,1%	2,0%	4,1%	6,9%
CYP2D6*6	2,0%	0,9%	1,3%	1,0%
CYP2D6*10	12,2%	n. u.	n. u.	n. u.
CYP2D6*41	3,1%	n. u.	n. u.	n. u.
CYP2D6*Xx2, (Duplikation)	3,1%	0,5%	1,0%	n. u.
	n = 149	n = 589	n = 195	n = 672

CYP2D6*1 = Wildtyp, CYP2D6*2 bis *41 = Allelvariationen, CYP2D6*Xx2 = Duplikation eines Allels, n = Anzahl der Probanden, n. u. = nicht untersucht.

4.3.2.3 Phänotypisierung

Aus dem Gesamtkollektiv wurde bei 141 Probanden der Phänotyp bestimmt. Die anderen acht Probanden haben ihren Urin entweder nicht abgegeben oder nahmen andere Arzneimittel ein, die mit der Wirkung bzw. dem Abbau von Dextromethorphan interagierten. Bei zwei Probanden (1,48%) war kein Metabolit mehr nachweisbar. Die logarithmierte Metabolisierungskapazität lag im Mittel bei $-2,09 \pm 0,88$. Unter den 141 phänotypisierten Probanden fanden sich 13 PM, 11 IM und 117 EM. Damit lag der Prozentsatz an PM (9,2%) im Bereich von Angaben der Literatur (Bertilsson 1995, Zanger et al. 2004), der Anteil der IM (7,8%) jedoch deutlich darunter. URM können mit 22 mg Dextromethorphan phänotypisch nicht eindeutig diskriminiert werden, da schon bei normaler Metabolisierungsgeschwindigkeit nach acht Stunden nur geringe Mengen Dextromethorphan im Urin nachweisbar sind. Tabelle 7 gibt die Grenzen der mit Dextromethorphan gemessenen Metabolisierungskapazitäten an. Die zur Diskriminierung der drei Genotypen EM, IM und PM in der Literatur beschriebenen Grenzen der MR_{DEX} von $\log 0,029$ (-0,53) und $\log 0,29$ (-1,53), konnten in der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie, durch den Abgleich mit der Genotypisierung bestätigt werden (s. Abbildung 18).

Tabelle 7: Grenzwerte für die Kategorisierung von PM, IM und EM nach der Phänotypisierung mit Dextromethorphan

Aktivität	Log Dextromethorphan zu Dextrophan	n
hohe ("normale") Enzymaktivität = extensive metabolizer (EM)	< -1,53	117
geringe Enzymaktivität = intermediate metabolizer (IM)	-1,53 bis -0,53	11
keine Enzymaktivität = poor metabolizer (PM)	> -0,53	13

n = Anzahl

Das Histogramm, das die Häufigkeitsverteilung der metabolischen Kapazität für CYP2D6 in der untersuchten Population darstellt, lässt eine dreigipflige Verteilung zwischen EM, IM und PM vermuten (Abbildung 17). Am häufigsten trat der Phänotyp EM auf (links vom ersten grauen Trennstrich). Dieser zeigt eine logarithmierte Gauss'sche Normalverteilung. Auf vier Kommastellen genau wurde die Metabolisierungskapazität berechnet und der Übergang zwischen IM und PM verläuft fließend. Die phänotypische Einteilung in EM, IM und PM mit Hilfe der beschriebenen Grenzen (s. Tabelle 7) ist signifikant (ANOVA mit anschließender Tukey-Kramer Adjustierung für multiple Testungen, $p < 0,01$). Bei einem Probanden war kein Dextrophan mehr nachweisbar. Dieser hat damit theoretisch eine Metabolisierungskapazität von minus unendlich $\lg 0$. Hier wurde das metabolische Verhältnis auf 0,0001 gesetzt, um einen Wert zu erhalten. Es ist die höchste Metabolisierungskapazität für CYP2D6, die, ausgedrückt als Logarithmus des Quotienten aus Dextromethorphan zu Dextrophan ($\log MR$), -4 ergibt. Die geringste Metabolisierungskapazität, die nachgewiesen werden konnte, lag bei einem Verhältnis Muttersubstanz zu Metabolit von 4,74 ($\log = 0,68$).

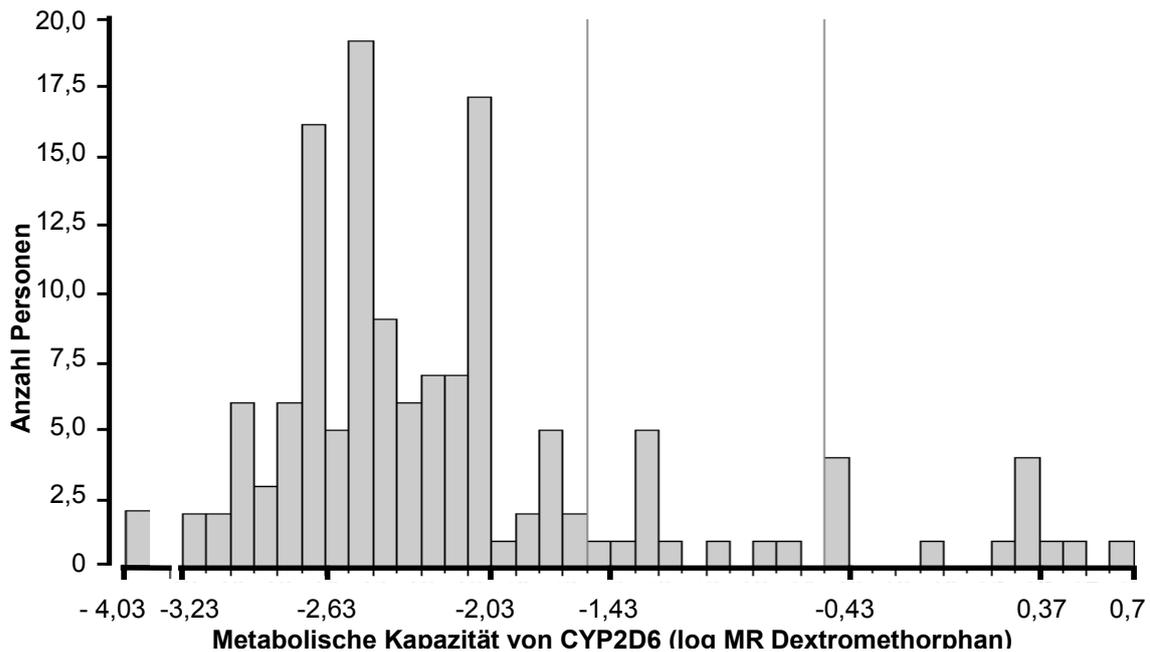


Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der metabolischen Kapazität (MR) für die drei CYP2D6 Genotypen EM, IM und PM in Düsseldorf bei 141 untersuchten gesunden Probanden.

Nach der Größe der metabolischen Kapazität erfolgte die Einteilung (von links bis zur ersten grauen Unterteilung) in extensive (EM), intermediäre (IM) bis zur zweiten grauen Abtrennung und dahinter langsame Metabolisierer (PM).

4.3.2.4 Korrelation des CYP2D6 Geno- und Phänotyps

Für 141 Probanden wurden sowohl Geno- als auch Phänotyp erhoben und konnten korreliert werden. Bei allen Personen, die phänotypisch den langsamen Metabolisierern zuzuordnen waren, wurden zwei Mutationen identifiziert, die zusammen zu einer fehlenden Enzymaktivität von CYP2D6 führen, so dass durch die Bestimmung des Genotyps der Phänotyp vorhergesagt werden kann und umgekehrt. Für drei PM und einen IM wurde exakt der Grenzwert zu IM bzw. EM berechnet (= -1,52, MEANS Procedure). Die Probanden, die keinen der CYP2D6*3, *4, *5, *6, *10 oder *41 Polymorphismen oder die Kombination Wildtyp mit einem der genannten Allele hatten, sind als wt/wt und wt/*0 und wt/*01 zusammengefasst dargestellt. 83 EM verteilten sich über eine logarithmierte metabolische Kapazität von -4,00 bis -1,54.

Repräsentativ für die Heterozygoten unter den EM wurden wt/*4-Probanden herausgesucht und separat aufgeschlüsselt. Das CYP2D6*4 Allel wurde als Beispiel gewählt, da es die höchste Auftretenswahrscheinlichkeit hat. Obwohl gerade diese Personen als genotypisch heterozygot und in der Literatur oftmals als IM charakterisiert werden, zeigen sie phänotypisch keinen eingeschränkten Metabolismus für CYP2D6. Alle wurden als EM eingestuft und haben keine verlangsamte Metabolisierungskapazität (s. Abbildung 18). Ihre (logarithmierte) metabolische Kapazität verteilt sich ähnlich wie die der wt/wt-Gruppe. CYP2D6*0 wurde als Bezeichnung für ein nicht funktionstüchtiges Allel gewählt, so dass *0/*0 als PM benannt wurden. IM wurden als *0/*01 benannt, da sie ein

Allele tragen, das zur eingeschränkten Aktivität (= *01) des CYP2D6 führen (CYP2D6*10 oder *41) und ein Allel, das für ein nicht funktionstüchtiges Allel (CYP2D6*3, *4, *5, *6) codiert (= *0). In der Gruppe der EM (mit homozygoter Mutation CYP2D6*2 oder *1 oder dem Vorliegen der Kombination von CYP2D6*1 bzw. *2 und der Mutation CYP2D6*10 bzw. *41) lagen die Werte der metabolischen Aktivität im Mittel bei $-2,42 \pm 0,43$ ($n = 117$). In der Gruppe der IM (= *0/*01) lag die logarithmierte Metabolisierungskapazität im Mittel mit $-1,17 \pm 0,27$ ($n = 11$) somit niedriger als bei den EM. Die logarithmierte Metabolisierungskapazität der PM lag im Mittel bei $0,08 \pm 0,45$ ($n = 13$). Nur bei drei Personen lässt die Phänotypisierung einen ultraschnellen Metabolismus vermuten. Ob dies zutrifft, kann mit Dextromethorphan als Testsubstanz nicht zuverlässig ausgesagt werden.

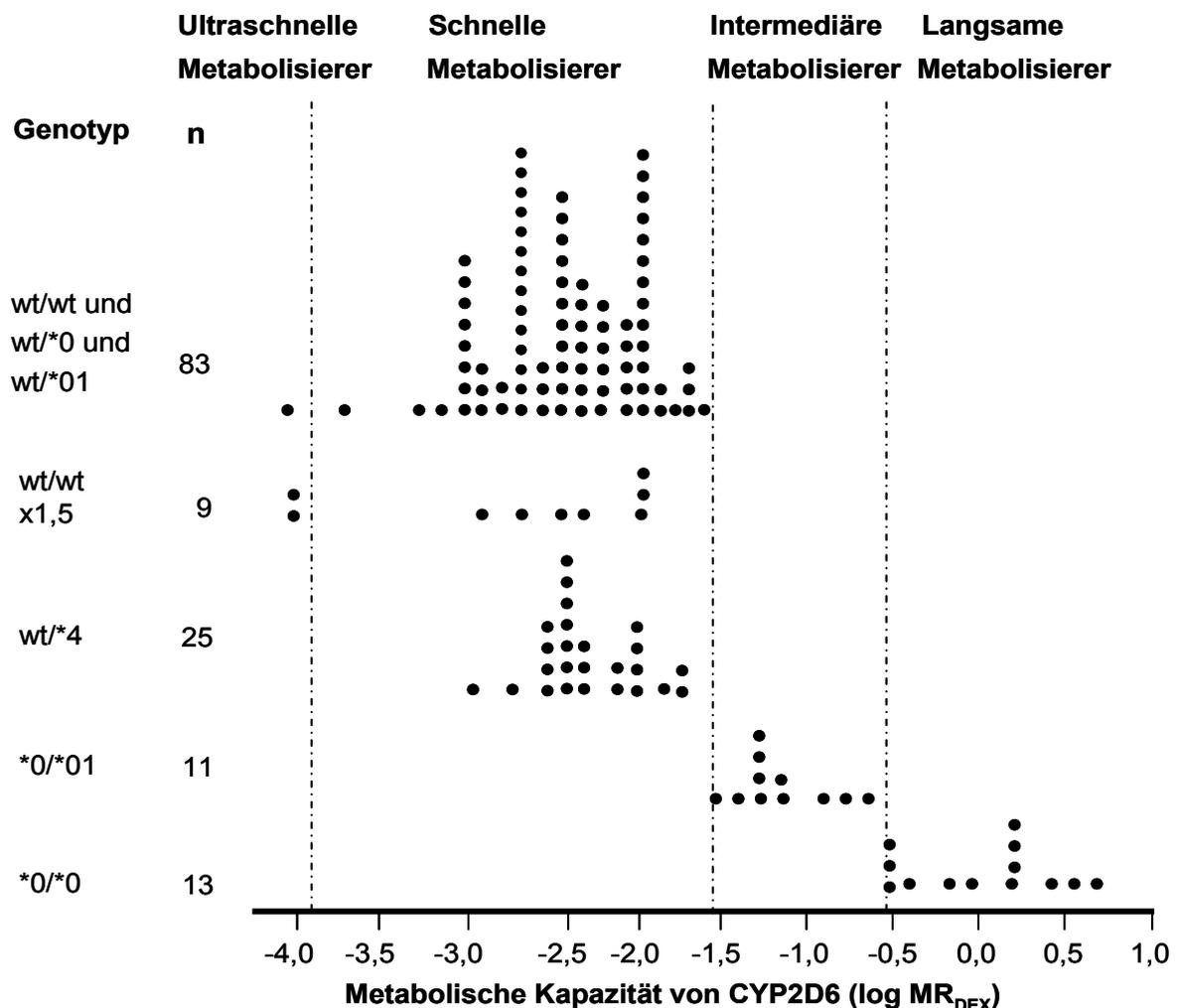


Abbildung 18: Korrelation des Genotyps zur metabolischen Kapazität von CYP2D6 (log MR_{DEX}).

Eine Population von $n = 141$ wurde mit Dextromethorphan phänotypisiert. Die Abszisse zeigt das logarithmierte metabolische Verhältnis für Dextromethorphan ($\log MR_{DEX}$). Genotypen sind mit der Anzahl der Personen links aufgeführt. CYP2D6*3, *4, *5, *6 wurden mit *0 als Symbol für ein nicht aktives Allel zusammengefasst, CYP2D6*10 und *41 als *01 eingeschränkt aktiv. *0/*0 = PM, *0/*01 = IM, wt = Wildtyp, wt/*4 = Wildtyp/Allel, wt/wt x1,5 bezeichnet drei Allele.

4.3.3 Unerwünschte Wirkungen nach Dextromethorphaneinnahme

4.3.3.1 Auswertung der Fragebögen

Es wurden insgesamt $n = 241$ unerwünschte Arzneimittelwirkungs- (UAW)- Bögen eingereicht. Die Ergebnisse der Angaben von unerwünschten Wirkungen nach der Einnahme von Plazebo, einer Einzeldosis und einer Doppeldosis Dextromethorphan sind in Abbildung 19 dargestellt. Die Balken zeigen die prozentuale Wahrscheinlichkeit des Auftretens von unerwünschten Arzneimittelwirkungen in der Gesamtpopulation, unabhängig von Art und Häufigkeit. Es lässt sich erkennen, dass in der Gesamtpopulation 29,0% unerwünschte Arzneimittelwirkungen nach Einzeldosis (= 22 mg Dextromethorphan) und 33,7% nach Doppeldosis (= 44 mg Dextromethorphan) aufgetreten sind. Der Plazebo-Effekt lag bei 13,8%. Unterschiede für alle auftretenden unerwünschten Arzneimittelwirkungen wurden jedoch unter Einzeldosis und Doppeldosis berechnet (Fisher's Exact Test nach Bonferroni-Holm-Adjustierung, $p < 0,01$).

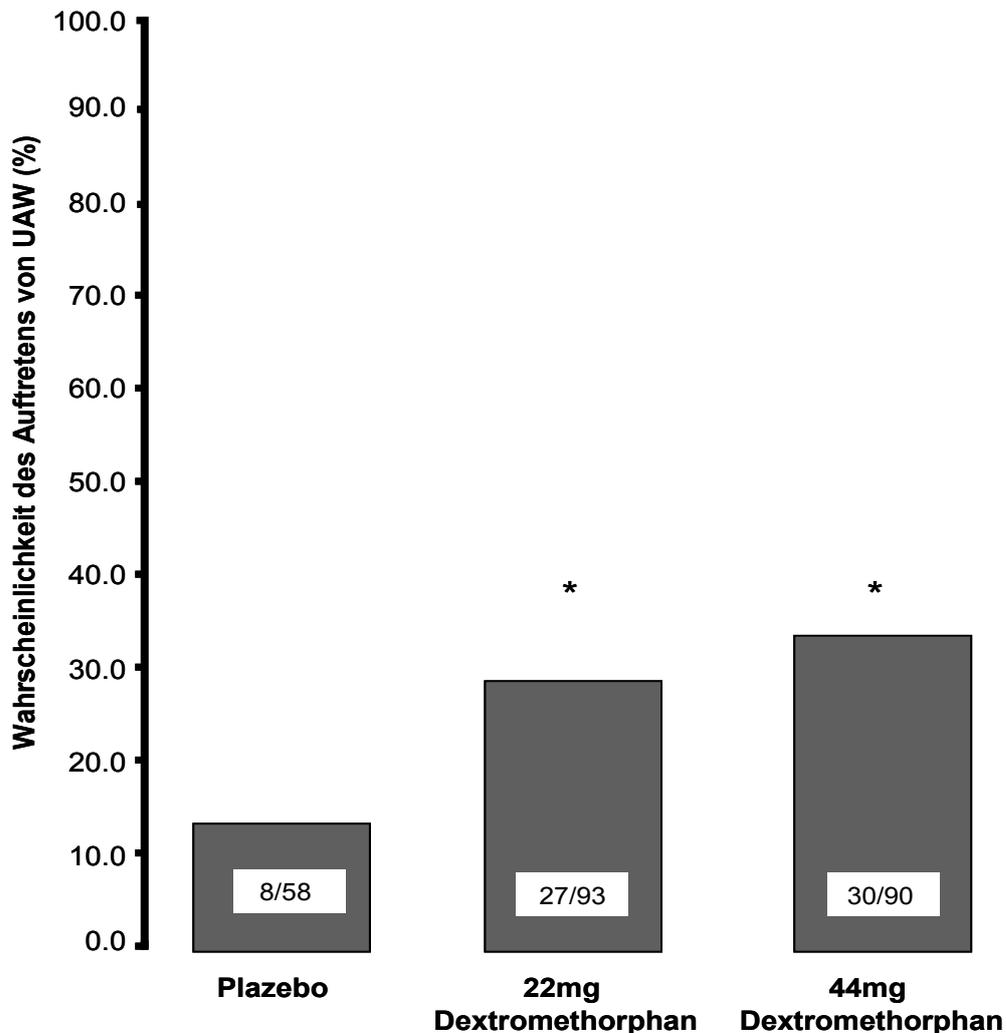


Abbildung 19: Auftretenswahrscheinlichkeit unerwünschter Wirkungen in der Gesamtpopulation nach Plazebo, Einzel- (22 mg) und Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan.

n = Anzahl der Probanden, * = im Gesamtkollektiv ist $p < 0,05$. Im Balken ist die Anzahl der Probanden aufgeführt.

Genotypisch subkategorisiert, konnten unter Plazebo 49 EM, drei IM und 6 PM, unter Einzeldosis 73 EM, acht IM, 12 PM und unter Doppeldosis 70 EM, neun IM und 11 PM in die Analyse einbezogen werden. Es liegen insgesamt 14 Fragebögen von PM zur Auswertung vor, wovon zwei Doppelmessungen waren, da die unerwünschten Arzneimittelwirkungen einmal nach Einnahme Dextromethorphan nach der Phänotypisierung und später im Rahmen der Plazebo-kontrollierten Studie abgefragt wurden. Diese Doppelmessungen wurden zur Auswertung herausgenommen; so dass sechs PM in die vorliegende Auswertung unter Plazebo, 12 unter Einzeldosis und elf unter Doppeldosis eingingen. Bei Differenzierung der Gesamtpopulation nach den drei Genotypen wird deutlich, dass der Plazebo-Effekt bei IM (33,3%) und PM (16,6%) höher als bei EM (13,8%) liegt. Der scheinbar hohe Prozentsatz bei den IM lässt sich durch die kleine Anzahl IM-Probanden ($n = 3$) und PM-Probanden ($n = 6$) zurückführen. 17,8% aller aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach Einzeldosis treten bei EM auf und 22,8% der EM leiden nach Doppeldosis unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen. Im Vergleich dazu treten 75,0% und 62,5% unerwünschte Wirkungen nach Einzeldosis bei PM bzw. IM auf. Es wird erkennbar, dass der Großteil der in der Gesamtpopulation aufgetretenen unerwünschten Wirkungen von IM und PM angegeben wurden. Die prozentualen Angaben der unerwünschten Wirkungen unter doppelter Dosis sind mit denen der Einzeldosis nur bei EM vergleichbar. PM und IM leiden gegenüber EM mehr unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen unter Einzel- wie auch unter Doppeldosis (Chi-Quadrat mit Fischer Adjustierung). Diese Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt.

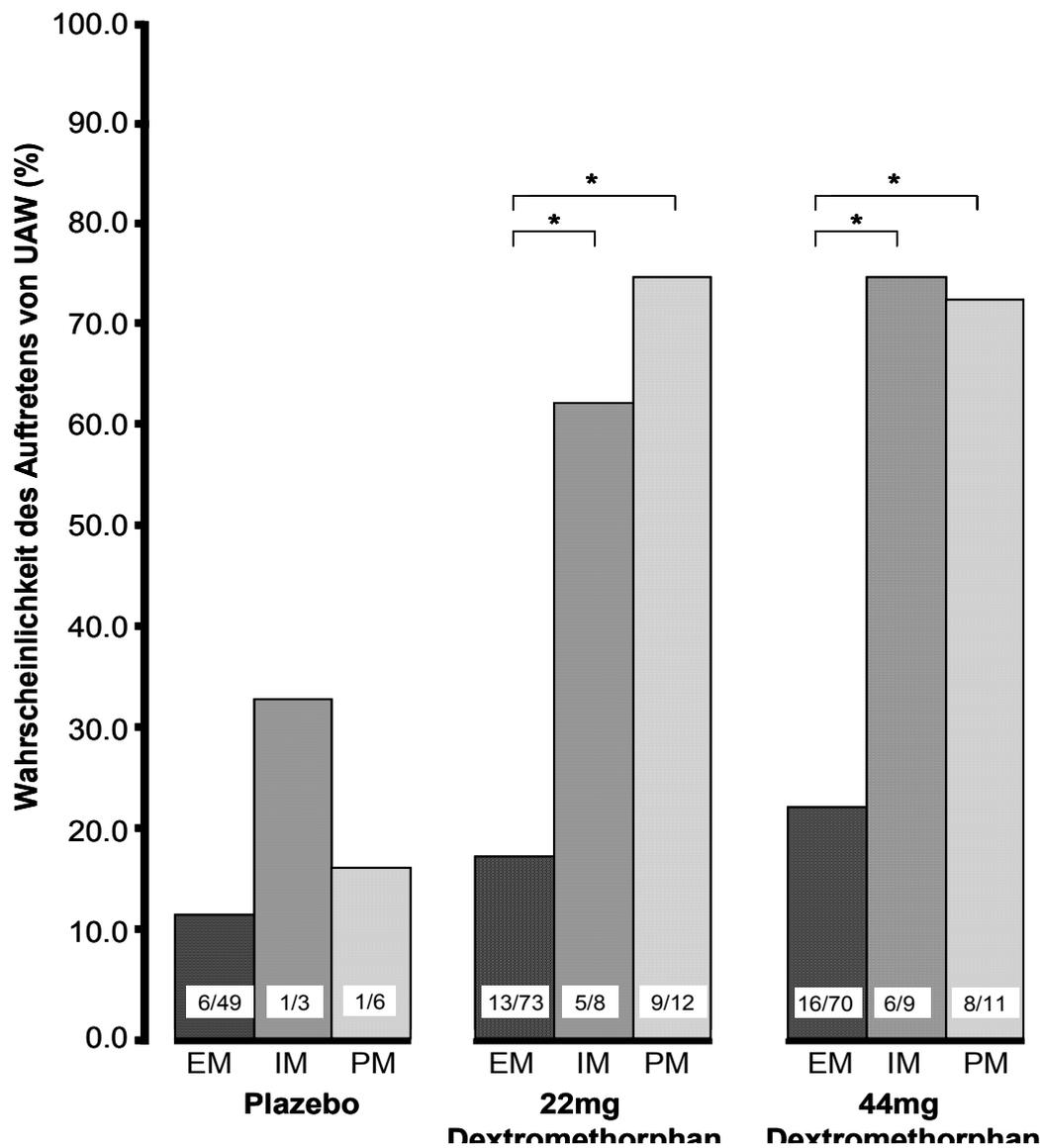


Abbildung 20: Aufgliederung der Auftretenswahrscheinlichkeit in Prozent unerwünschter Wirkungen unter Placebo, Einzeldosis (22 mg) und doppelte Einzeldosis (44 mg) Dextromethorphan in Abhängigkeit des Genotyps.

UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkungen, n = Anzahl der Probanden, EM = extensiver Metabolisierer, IM = intermediärer Metabolisierer, PM = langsamer Metabolisierer. Im Balken ist die Anzahl der Probanden aufgeführt. * = $p < 0,05$

Es wurden 93 unerwünschte Wirkungs-Bögen für die Gesamtpopulation nach Einnahme einer Einzeldosis ausgewertet, bei denen insgesamt 45 einzelne unerwünschte Wirkungen angekreuzt wurden. Bei 90 Bögen aus der Befragung nach Doppeldosis wurden 71 einzelne unerwünschte Wirkungen angegeben. Die Auswertung dieser Bögen nach den Angaben der einzelnen abgefragten unerwünschten Arzneimittelwirkungen lässt Unterschiede erkennen. In der Gesamtpopulation wurden nach Einzeldosis am häufigsten Kopfschmerzen angegeben (14-mal), gefolgt von Schwindel/Benommenheit und Schlafproblemen (13-mal bzw. 9-mal). Unter Doppeldosis ergab sich folgendes Ergebnis: Schwindel/Benommenheit wurde als häufigste unerwünschte Arzneimittelwirkung angegeben (16-mal), gefolgt von Kopfschmerzen, Müdigkeit (je 14-mal) und Übelkeit (13-mal). Die Ergebnisse für die Gesamtpopulation unter Plazebo, Einzel- und Doppeldosis zeigt Abbildung 21.

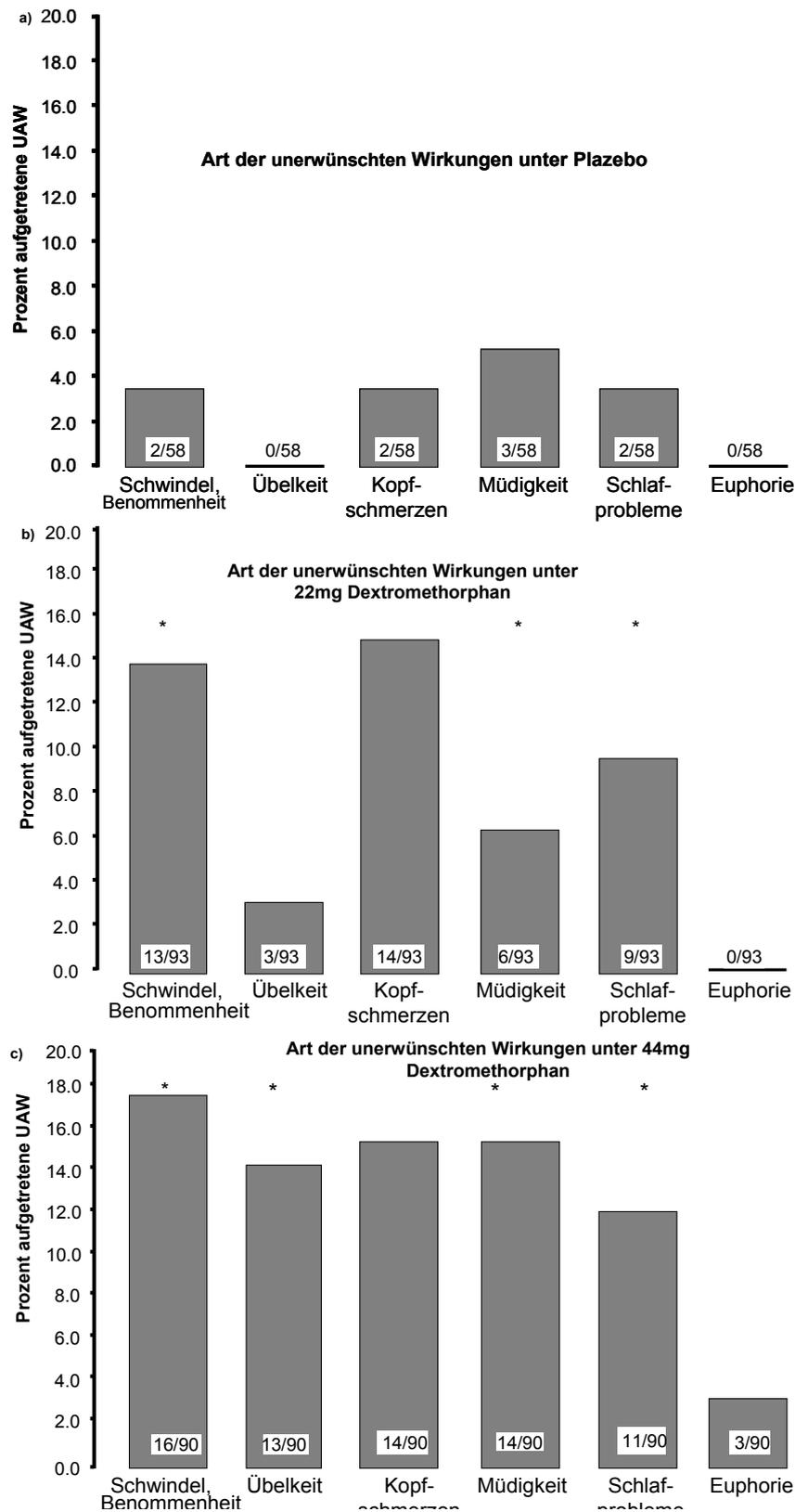


Abbildung 21: Prozent einzelner unerwünschter Wirkungen in Prozent unter Plazebo, Einzeldosis (22 mg), Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan in der Gesamtpopulation.

a) n = 58 unter Plazebo, b) n = 93 unter Einzeldosis, c) n = 90 unter doppelte Einzeldosis sind die Prozent der differenzierten aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) dargestellt.

*= unter den Genotypen ist $p < 0,05$.

Wie in Abbildung 22 dargestellt, verteilen sich diese Ergebnisse folgendermaßen auf die Genotypen EM, IM und PM: Unter Plazebo wurden von EM dreimal Müdigkeit, einmal Kopfschmerzen, einmal Schwindel und einmal Schlafprobleme angegeben, von einem PM Kopfschmerzen, einem Schlafprobleme und einem IM Schwindel.

Unter Einzeldosis gaben 13 von 73 EM an, unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) zu leiden. Insgesamt gab es 19 einzelne Nennungen, wobei von sechs Probanden zwei unerwünschte Wirkungen angekreuzt wurden. Kein EM gab mehr als zwei unerwünschte Wirkungen an. Von diesen 13 EM nannten die meisten Kopfschmerzen (9,6%) oder Schwindel (6,9%). Unter den acht IM-Probanden hatten drei keine unerwünschten Arzneimittelwirkungen. Insgesamt lagen von ihnen sieben Nennungen vor. Die meisten litten dabei unter Schwindel/Benommenheit (37,5%) und Schlafstörungen (25,0%). PM hatten die meisten unerwünschten Wirkungen. Unter den 12 PM wurden insgesamt 19 unerwünschte Arzneimittelwirkungen angegeben. Sie gaben hauptsächlich an, unter Kopfschmerzen zu leiden (50,0%). Im Vergleich zu den anderen Genotypen litten besonders PM zudem unter Schlafstörungen (50% unter Einzeldosis vs. 72,7% unter Doppeldosis). Auch zwei von acht IM nach Einzeldosis bzw. von neun nach Doppeldosis gaben dies an, jedoch nach beiden Dosen nur je ein EM. EM litten nach Einnahme einer Doppeldosis hauptsächlich an Kopfschmerzen (11,4%) und Müdigkeit (10,0%). IM litten am meisten unter Benommenheit/Schwindel (44,4%). PM gaben 72,7% unter Schlafstörungen zu leiden. Euphorie wurde nur unter Doppeldosis von zwei EM angegeben. Es wird deutlich, dass EM insgesamt deutlich weniger an unerwünschten Wirkungen litten. Der Unterschied im Auftreten von Schwindel/Benommenheit, Müdigkeit und Schlafstörungen ist in der Gesamtpopulation unter Einzel- und Doppeldosis signifikant (Chi-Quadrat-Test; $p < 0,05$). Die Unterschiede im Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen unter Doppeldosis sind stärker ausgeprägt als die unter Einzeldosis. So gaben IM nach der Einnahme der doppelten Dosis häufiger an unter Übelkeit (22,2%), Kopfschmerzen (33,3%), Schwindel (44,4%) und Schlafproblemen (22,2%) zu leiden. Bei PM trat im Vergleich zur Einzeldosis häufiger Übelkeit unter Doppeldosis auf (Chi-Quadrat-Test; $p = 0,004$). Die Werte in absoluten Zahlen sind zusätzlich in Tabelle 8 aufgeführt.

Um nicht nur Gruppenunterschiede, sondern auch Unterschiede im Detail zwischen den einzelnen Genotypgruppen zu bestimmen, wurden die unerwünschten Arzneimittelwirkungen einzeln unter jeder Dosis gegeneinander (EM-IM, EM-PM, IM-PM) mit einer multivariaten Analyse (ANOVA) nach Bonferroni-Holm-Adjustierung getestet. Unter Plazebo unterschieden sich die Genotypen nicht. Unter Einzeldosis treten bei PM und IM gegenüber EM häufiger Benommenheit/Schwindel und Schlafstörungen ($p < 0,01$) auf. Weiterhin waren PM gegenüber EM müder ($p < 0,01$). Nach Gabe einer Doppeldosis litten PM und IM gegenüber EM auch unter mehr Benommenheit/Schwindel und Schlafstörungen ($p < 0,05$). PM sind gegenüber EM häufiger müde und ihnen war übel ($p < 0,05$).

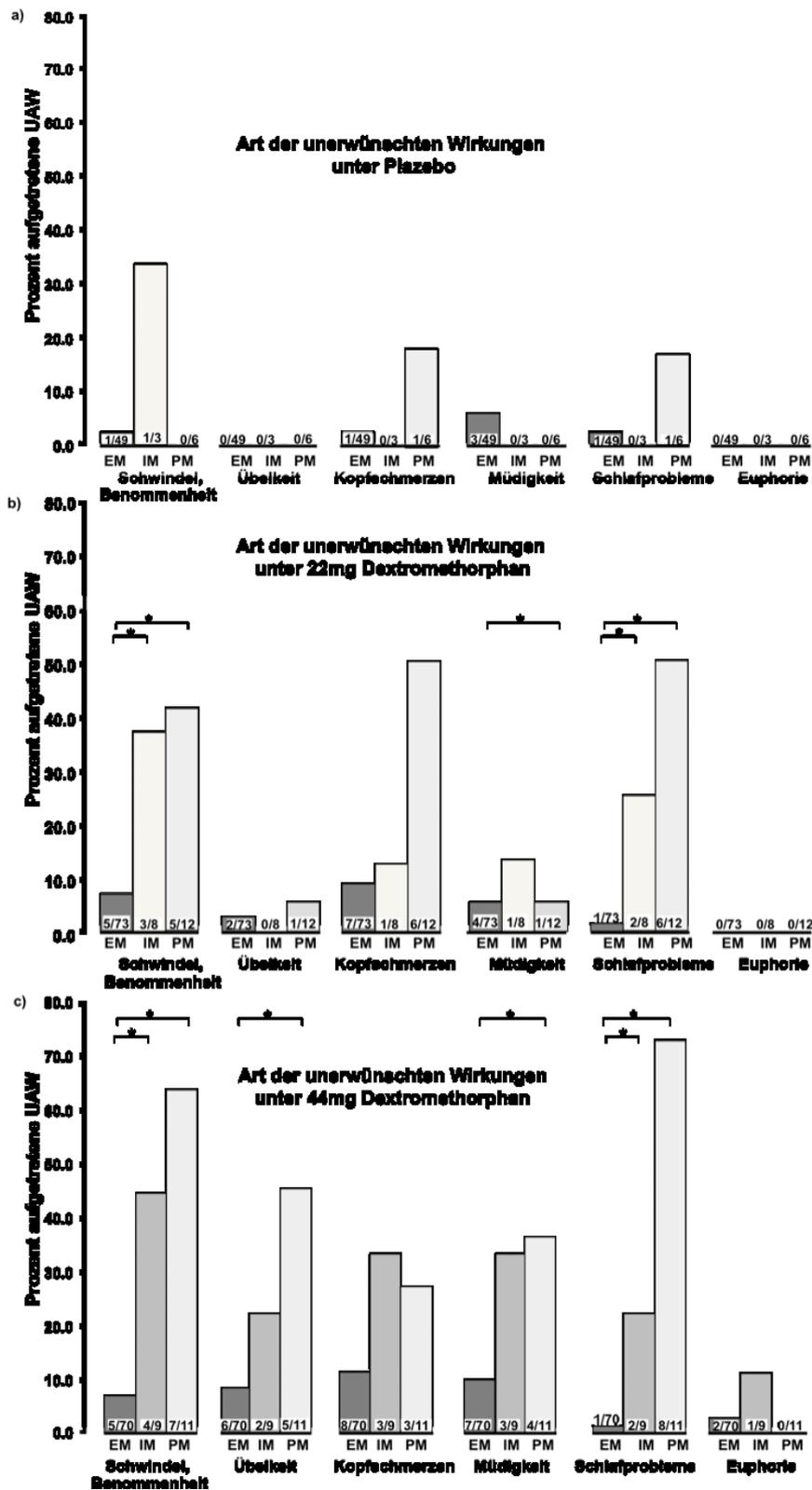


Abbildung 22: Prozent einzelner unerwünschter Wirkungen unter Placebo, Einzel- (22 mg) und Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan in Abhängigkeit vom Genotyp.

a) $n = 58$ unter Placebo, b) $n = 93$ unter Einzeldosis und c) $n = 90$ unter Doppeldosis sind die Prozent der differenzierten aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) der Genotypen EM (schwarz schraffierter Balken), IM (grau schraffierter Balken) und PM (hellgrau schraffierter Balken) unterschieden, $*p < 0,05$.

Tabelle 8: Übersicht der unerwünschten Wirkungen in der Gesamtpopulation und den Genotypen extensive Metabolisierer (EM), intermediäre Metabolisierer (IM) und langsame Metabolisierer (PM)

a)

Allgemeines Auftreten der UAW

Dosis	0 (0mg DEX)	1 (22mg DEX)	2 (44mg DEX)
Gesamtpopulation (n/n(gesamt))	8/58	27/93	30/90
Genotypen			
EM	6/49	13/73	16/70
IM	1/3	5/8	6/9
PM	1/6	9/12	8/11

EM = extensive Metabolisierer, IM = intermediäre Metabolisierer, PM = langsame Metabolisierer, UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkung, n = Anzahl

b)

Auftreten einzelner UAW

	Schwin- del	Übel- keit	Kopf- schmerzen	Müdig- keit	Schlafpro- bleme	Eupho- rie
Dosis	0 (0mg DEX)					
Gesamtpopulation (n/n(gesamt))	2/58	0/58	2/58	3/58	2/58	0/58
Genotypen						
EM	1/49	0/49	1/49	3/49	1/49	0/49
IM	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
PM	0/6	0/6	1/6	0/6	1/6	0/6
Dosis	1 (22mg DEX)					
Gesamtpopulation (n/n(gesamt))	13/93	3/93	14/93	6/93	9/93	0/93
Genotypen						
EM	5/73	2/73	7/73	4/73	1/73	0/73
IM	3/8	0/8	1/8	1/8	2/8	0/8
PM	5/12	1/12	6/12	1/12	6/12	0/12
Dosis	2 (44mg DEX)					
Gesamtpopulation (n/n(gesamt))	16/90	13/90	14/90	14/90	11/90	3/90
Genotypen						
EM	5/70	6/70	8/70	7/70	1/70	2/70
IM	4/9	2/9	3/9	3/9	2/9	1/9
PM	7/11	5/11	3/11	4/11	8/11	0/11

EM = extensive Metabolisierer, IM = intermediäre Metabolisierer, PM = langsame Metabolisierer, UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkung, n = Anzahl

4.3.3.2 Vorhersagewahrscheinlichkeit des Genotyps mit Hilfe der Ergebnisse der unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach Dextromethorphan-Einnahme

Um die Vorhersagewahrscheinlichkeit des Genotyps an Hand der durchgeführten Online-Befragung zu aufgetretenen unerwünschten Wirkungen zu ermitteln, werden Spezifität und Sensitivität berechnet (s. Tabelle 9). Die Sensitivität gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Proband, der an unerwünschten Wirkungen leidet, als PM diagnostiziert wird. Die Sensitivität des Tests für die Detektion der PM beträgt 75,0%. Demnach würden von 100 untersuchten Personen, die an unerwünschten Arzneimittelwirkungen leiden, 75 einen PM-Genotypstatus aufzeigen. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Proband, der keine unerwünschten Wirkungen hat, genotypisch als EM zu bestimmen, wird als Spezifität bezeichnet. Die Spezifität des vorliegenden Tests für EM beträgt 82%. Das bedeutet, dass unter 100 untersuchten Personen, die keine unerwünschten Wirkungen haben, 82 mit einem EM-Genotypstatus korrekt ausgeschlossen werden. Das bedeutet, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von 18% für eine Person, die nicht im CYP2D6-Metabolismus eingeschränkt ist, weiterhin die Möglichkeit besteht, unerwünschte Wirkungen zu erleiden. Die dargestellten unerwünschten Arzneimittelwirkungen traten bei EM und PM nach der Einnahme einer Einzeldosis von 22 mg Dextromethorphan auf.

Tabelle 9: Spezifität und Sensitivität der Vorhersage des Genotyps an Hand von UAW

		Zustand- bestimmt als "Gold-Standard": Genotypisierung		
		- (PM)	+ (EM)	
Test - ergebnis	<i>Positiv (UAW)</i>	9	13	Positiv prädiktiver Wert (PPV)
	<i>Negativ (Ø UAW)</i>	3	60	Negativ prädiktiver Wert (NPV)
		Sensitivität	Spezifität	

UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkungen, EM = Extensiver Metabolisierer (für das CYP2D6-Gen), PM = Langsamer Metabolisierer (für das CYP2D6-Gen), Ø = keine.

Der Parameter, der die Aussagekraft eines Testverfahrens einschätzt, ist der positiv prädiktive Wert (PPV). Er wird an Hand der folgenden Formel berechnet:

$$PPV = \frac{\text{Anzahl Richtig Positiv}}{\text{Anzahl Richtig Positiv} + \text{Falsch Positiv}}$$

Im Unterschied zur Sensitivität gibt er die richtig positiven Tests nicht im Verhältnis zur Anzahl Erkrankter, sondern zur Anzahl positiver Tests an. Der prädiktive Wert bezüglich des Auftretens von unerwünschten Wirkungen bei der getesteten Person hängt entscheidend von der Prävalenz der Krankheit in der getesteten Population ab. Positiv und negativ prädiktiver Wert werden deshalb neben der Spezifität und der Sensitivität berechnet. Sie geben die Wahrscheinlichkeit an, mit der eine vorhergesagte UAW (= Patient mit positivem Test) auch tatsächlich positiv (UAW hat) ist. Der positiv prädiktive Wert für alle untersuchten Probanden liegt bei 41%. Der negativ prädiktive Wert (NPV) bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, mit der ein negatives Ergebnis auch negativ ist, also tatsächlich keine UAW auftreten. Er wird wie folgt berechnet:

$$NPV = \frac{\textit{Anzahl Richtig Negativ}}{\textit{Anzahl Richtig Negativ} + \textit{Falsch Negativ}}$$

Der negativ prädiktive Wert beträgt nach der durchgeführten Untersuchung 95%. Die Prävalenz der Erkrankten muss mit der Prävalenz der Gesamtpopulation übereinstimmen. Da PM in der Literatur mit einer Häufigkeit von 8-10% unter Kaukasiern vorkommen, in dieser Untersuchung aber 14% PM (n=12 von 85 untersuchten Probanden) identifiziert wurden, muss man mit der Extrapolation der Studienergebnisse vorsichtig sein.

4.3.3.3 Berechnung der „number needed to harm“

Eine Möglichkeit zur Beurteilung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen ist die Berechnung der „number needed to harm“ (NNH) (McQuay et al. 1997). Diese Zahl gibt an, wie viele Personen durchschnittlich behandelt werden müssen, bis ein unerwünschtes Ereignis auftritt. Die vorliegende Dextromethorphan-Studie zeigt, dass das absolute Risiko für das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach der Einnahme von 22 mg Dextromethorphan bei IM um 48,9% (= absolute risk increase, ARI), bei PM um 61,4% und bei EM um 4,3% erhöht ist. Diese Ergebnisse ergaben sich im Vergleich zur Kontrollgruppe, die für alle die EM-Gruppe unter Plazebo beinhaltet, erhöht ist. Das bedeutet, dass 2,0 IM, 1,6 PM ausreichen, hingegen aber 23,3 EM untersucht werden müssen, um ein unerwünschtes Ereignis zu detektieren (s. Tabelle 10).

Tabelle 10: Berechnung der number needed to harm (NNH)



EM = extensive Metabolisierer, IM = intermediäre Metabolisierer, PM = langsame Metabolisierer, *= keine absoluten Zahlen, d =Tage, n =Anzahl, UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkungen.

ARI: absolute Risikoerhöhung, errechnet: % Plazebo/Vergleich minus % Dextromethorphan.

NNH: number needed to harm, errechnet: 100 dividiert durch ARI * 100.

4.3.4 Reaktionszeiten und Aufmerksamkeit

4.3.4.1 Ergebnisse des Vigilanztests

Der Vigilanztest ist der Test aus dem Wiener Test System, der gewählt wurde, um die Aufmerksamkeit der Probanden zu messen. In der Reaktionszeitanalyse des Vigilanztests wird die Reaktionszeit auf seltene Reize, auf die richtig reagiert wurde, gemessen. Der so genannte „Mittelwert der Reaktionszeit Richtige“ in Sekunden (s) wurde als Zielparameter verwendet. Als Gesamtpopulation wurden $n = 44$ Probanden für alle Dosen eingeschlossen. Es konnten dabei $n = 36$ EM, $n = 3$ IM und $n = 5$ PM unter Plazebo, Einzeldosis (22 mg) und doppelter Dosis (44 mg) Dextromethorphan ausgewertet werden. Abbildung 23 zeigt die Ergebnisse, die für die jeweiligen Genotypen unter entsprechender Dosis analysiert wurden.

Die langsamste Reaktionszeit aller Probanden wurde von einem EM unter Doppeldosis erreicht (0,84 s), die schnellste unter Einzeldosis (0,34 s), auch von einem EM. Es konnte keine Signifikanz unter Plazebo, Einzel- oder Doppeldosis berechnet werden (Tukey-Kramer-Adjustment, Kruskal-Wallis-Test $p > 0,05$). Wenn man die Mittelwerte der gemessenen Daten „Mittelwert der Reaktionszeit Richtige“ genotyp-spezifisch aufträgt, ergeben sich folgende Ergebnisse: EM reagierten unter Plazebo und Einzeldosis im Median mit 0,46 s und unter Doppeldosis mit 0,44 s. Die 95. Perzentile der EM verläuft von 0,58 s unter Plazebo über 0,62 s unter Einzeldosis bis zu 0,63 s nach Einnahme der doppelten Dosis. Vergleicht man diese Werte mit denen der IM und PM wird deutlich, dass diese unter Einzel- und Doppeldosis niedriger liegen (0,57 und 0,59 bei IM vs. 0,62 und 0,59 bei PM). Die Mediane wie auch die 75. Perzentilen der IM und PM liegen unter allen Dosen höher, wobei die der PM am höchsten liegen (s. Abbildung 23).

Betrachtet man die Mittelwerte (\pm Standardabweichung), betragen diese bei EM 0,46 s (\pm 0,05) unter Plazebo, 0,47 s (\pm 0,06) unter Einzeldosis und 0,47 s (\pm 0,07) unter Doppeldosis. Im Vergleich dazu reagierten PM im Mittel mit 0,48 s (\pm 0,05) unter Plazebo, mit 0,53 s (\pm 0,08) unter Einzeldosis und mit 0,52 s (\pm 0,07) unter Doppeldosis etwas langsamer. Nach Einnahme einer Einzeldosis scheint demnach der „Mittelwert für die Reaktionszeit Richtige“ im Mittel zu steigen, unter doppelter Dosis tritt jedoch keine weitere Änderung auf. Diese Beobachtung findet sich bei allen Genotypen. Die Mittelwerte der IM betragen 0,50 (\pm 0,08) vs. 0,52 (\pm 0,05) vs. 0,52 s (\pm 0,07). Da nur drei IM-Probanden eingeschlossen werden konnten, kann keine fundierte Aussage getroffen werden. Da die Variabilität des „Mittelwertes der Reaktionszeit Richtige“ hoch ist und viel weniger IM und PM als EM eingeschlossen wurden, ist es schwierig, Unterschiede zu detektieren. Tabelle 11 führt Mittelwerte und Mediane der Genotypgruppen unter Plazebo, Einzel- und Doppeldosis auf.

Im Vergleich zum nahezu unveränderten Median der EM unter allen Dosen, wird ein Trend erkennbar, dass IM und PM langsamer reagieren, auch wenn diese Gruppen sehr klein sind. Statistisch ließ sich kein Unterschied nachweisen, da eine Gruppengröße mit maximal 5 sehr klein ist und die intraindividuelle Variabilität gleichzeitig zu hoch ist.

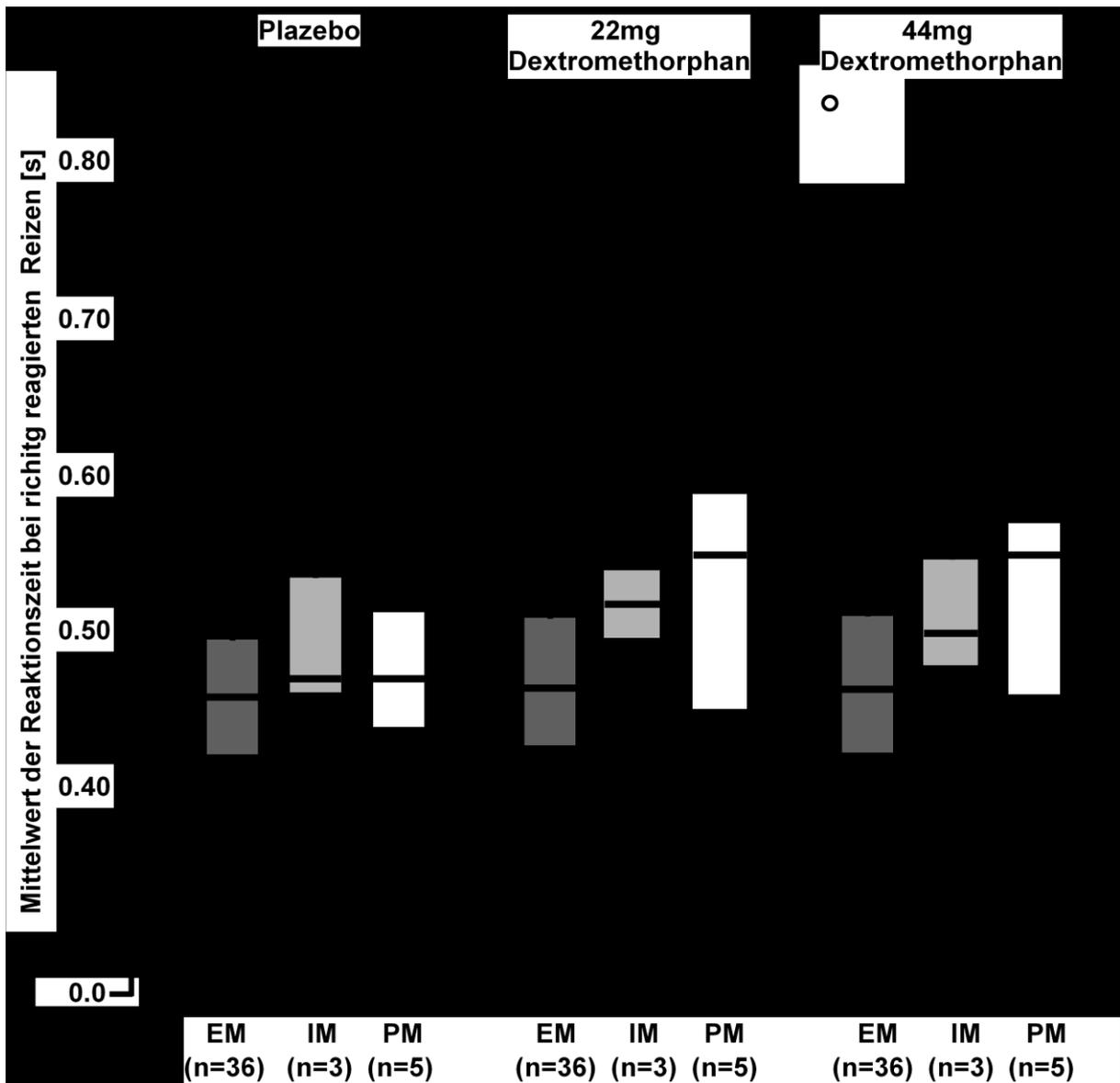


Abbildung 23: Mittelwert der Reaktionszeit bei richtig reagierten Reizen des Vigilanztests unter Plazebo, Einzel- (= 22 mg) und Doppeldosis (= 44 mg) Dextromethorphan für die verschiedenen Genotypen.

Dargestellt ist der Mittelwert der Reaktionszeit Richtige in Sekunden (s) unter Plazebo, Einzel- und Doppeldosis bei unterschiedlichen Genotypen. Die Reaktionszeit wurde im Vigilanztest des Wiener Test Systems gemessen. In dem Boxplot sind der Median, die 25te und 75te Perzentile (Box) und die oberen und unteren Grenzen des Normalbereichs (Fehlerbalken) und die Ausreißer (°) dargestellt. Bei jeder Dosis wurde nach den folgenden Genotypen unterschieden: EM (dunkelgraue Box), IM (hellgraue Box) und PM (weiße Box).

Tabelle 11: Übersicht der Reaktionszeiten des Vigilanztests

Vigilanztest	Mittelwert der Reaktionszeit bei richtig reagierten Reizen (s)					
	Mittelwert \pm SD			Median		
	EM (n = 36)	IM (n = 3)	PM (n = 5)	EM (n=36)	IM (n=3)	PM (n=5)
Dosis 0 (0 mg DEX)	0,46 \pm 0,05	0,50 \pm 0,08	0,48 \pm 0,05	0,46	0,47	0,47
Dosis 1 (22 mg DEX)	0,47 \pm 0,06	0,52 \pm 0,05	0,53 \pm 0,08	0,46	0,52	0,55
Dosis 2 (44 mg DEX)	0,47 \pm 0,47	0,52 \pm 0,07	0,52 \pm 0,07	0,44	0,50	0,55

SD = Standardabweichung, DEX = Dextromethorphan, EM = extensiver Metabolisierer, IM = intermediärer Metabolisierer, PM = langsamer Metabolisierer, n = Anzahl.

4.3.4.2 Ergebnisse des Reaktionstests

Der Reaktionstest des Wiener Test Systems misst eine Reaktion auf einen kombinierten Stimulus (Ton und Farbe) als „mittlere Reaktionszeit“ in Millisekunden (ms). Dieser Parameter wurde, wie auch der Vigilanztest, als sekundärer Endpunkt der Studie gewählt. Als Gesamtpopulation wurden n = 43 Probanden für alle Dosen eingeschlossen, wovon n = 35 EM, n = 3 IM und n = 5 PM unter Plazebo, Einzeldosis (22 mg) und doppelter Dosis (44 mg) Dextromethorphan waren. Abbildung 24 zeigt die Ergebnisse, die für die jeweiligen Genotypen unter entsprechender Dosis analysiert wurden. Die geringste Reaktionszeit betrug 292 ms und wurde unter doppelter Dosis bei einem EM gemessen. Die langsamste Reaktionszeit lag bei 707 ms und wurde unter doppelter Dosis bei einem EM gemessen. Die Dosis hat keinen Einfluss auf den Median der Reaktionszeit (Tukey-Kramer-Adjustment, Kruskal-Wallis-Test $p > 0,05$). Sie variiert unter allen Dosen zwischen dem Minimum von 292 ms und dem Maximum von 610 ms (Ausreißer = 707 ms unter doppelter Dosis) und ist somit sehr hoch.

35 EM reagierten unter Plazebo im Mittel (\pm Standardabweichung) mit 425 ms (\pm 58), drei IM mit 458 ms (\pm 84) und fünf PM mit 415 ms (\pm 66). Nach Einnahme einer Einzeldosis lagen die Reaktionszeiten der EM bei 421 ms (\pm 66), der IM bei 469 ms (\pm 37) und der PM bei 436 ms (\pm 75) und nach einer Doppeldosis die mittleren Zeiten der EM bei 430 ms (\pm 81), der IM bei 451 ms (\pm 71) und der PM bei 463 ms (\pm 41). Die „mittlere Reaktionszeit“ ist zwischen den Genotypen EM, IM und PM nicht unterschiedlich (Tukey-Kramer-Adjustment, Kruskal-Wallis-Test $p > 0,05$). Der Median der „mittleren Reaktionszeit“ der EM liegt unter allen Dosen immer knapp über 400 ms: Plazebo = 422 ms, Einzeldosis = 418 ms, Doppeldosis = 424 ms und der Unterschied der medianen Reaktionszeiten zwischen Einzel und Doppeldosis liegt bei den EM bei 6 ms im Gegensatz dazu steigt der Median bei IM im Vergleich von Einzel- zu Doppeldosis leicht (460 ms bzw. 483 ms). Die Mediane der „mittleren Reaktionszeit“ der PM steigen nach Einzeldosis (437 ms) und auch weiter nach Doppeldosis bis auf 473 ms an. Die

Variabilität der Reaktionszeiten ist auch hier besonders bei EM hoch, die 25. und die 75. Perzentile sind dabei gleichmäßig um den Median verteilt. Bei IM und PM ist die Variabilität geringer, die 25. Perzentile ist dabei unter Einzel- und Doppeldosis nicht gleichmäßig um den Median verteilt, was auf die geringe Anzahl der Probanden in den Gruppen zurückzuführen ist. Auffällig ist die geringe Variabilität der PM unter Plazebo. Hier liegt die Basislinie der IM (447 ms) und der PM (437 ms) im Median höher als die der EM (422 ms), wie in Abbildung 24 abgebildet ist. Tabelle 12 stellt die Mittelwerte und Mediane der Genotypgruppen unter den entsprechenden Dosierungen dar.

Auch bei dem Reaktionstest ist der Median der EM unter allen Dosen nahezu unverändert. Dennoch wird ein Trend erkennbar, dass IM und PM langsamer reagieren, auch wenn diese Gruppen sehr klein sind. Statistisch ließ sich kein Unterschied nachweisen, da eine Gruppengröße mit maximal 5 sehr klein ist und die intraindividuelle Variabilität gleichzeitig zu hoch ist.

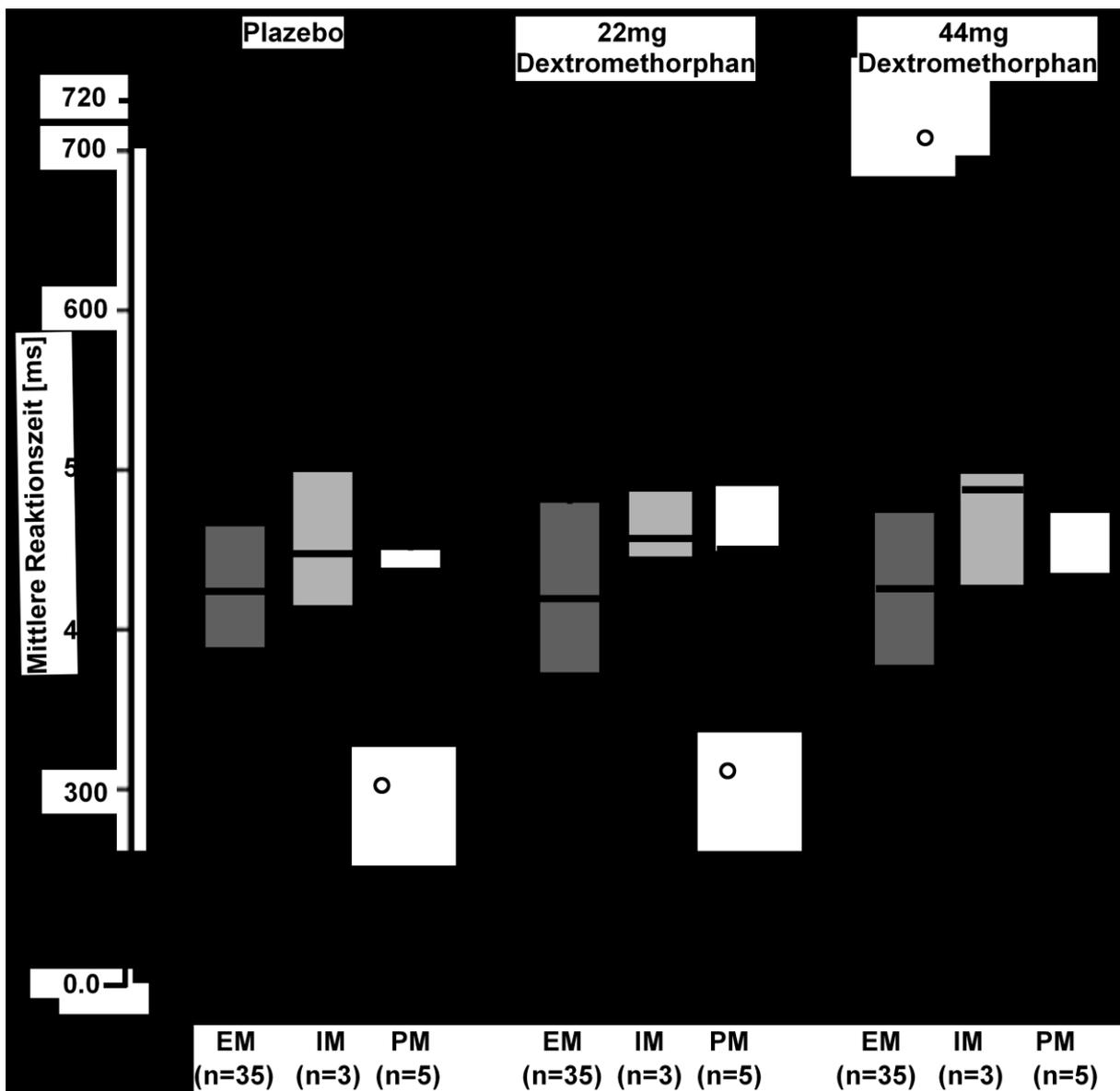


Abbildung 24: Mittlere Reaktionszeit des Reaktionstests der verschiedenen Genotypen unter Placebo, Einzel- (= 22 mg) und Doppeldosis (= 44 mg) Dextromethorphan.

Dargestellt ist die mittlere Reaktionszeit in Millisekunden (ms) unter Placebo, Einzel- und Doppeldosis bei unterschiedlichen Genotypen. Die Reaktionszeit wurde im Reaktionstest der Wiener Test Systems gemessen. In dem Boxplot sind der Median, die 25. und 75. Perzentile (Box) und die oberen und unteren Grenzen des Normalbereichs (Fehlerbalken) dargestellt und die Ausreißer (O). Bei jeder Dosis wurde nach den folgenden Genotypen unterschieden: EM (dunkelgraue Box), IM (hellgraue Box) und PM (weiße Box).

Tabelle 12: Übersicht der Reaktionszeiten des Reaktionstests

Reaktionstest	mittlere Reaktionszeit (ms)					
	Mittelwert \pm SD			Median		
	EM (n=35)	IM (n=3)	PM (n=5)	EM (n=35)	IM (n=3)	PM (n=5)
Dosis 0 (0 mg DEX)	425 \pm 58	458 \pm 84	415 \pm 66	422	447	437
Dosis 1 (22mg DEX)	421 \pm 66	469 \pm 37	436 \pm 75	418	460	449
Dosis 2 (44mg DEX)	430 \pm 81	451 \pm 71	463 \pm 41	424	483	473

SD = Standardabweichung, DEX = Dextromethorphan, EM = extensiver Metabolisierer, IM = intermediärer Metabolisierer, PM = langsamer Metabolisierer, n = Anzahl.

4.3.5 Auswertung des Online-Fragebogens

Es wurden 131 Probanden zur Beantwortung des Online-Fragebogens eingeladen. 16 Personen wurden mit der vorhandenen Email-Adresse nicht erreicht, so dass sich eine Zahl von 115 möglichen Antworten ergeben hätte. Tatsächlich schickten 55 Personen den Fragebogen ausgefüllt ab. Damit ergibt sich eine Rücklaufquote von 47,8%. Davon wurden zwei anonym beantwortet und konnten nicht zur Auswertung herangezogen werden, so dass sich eine Gesamtpopulation von 53 Bögen (46,1%) ergibt. Nach der genotypischen Differenzierung antworteten 38 EM, vier IM und elf PM. Die Charakteristika der Population sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13: Charakteristika der Befragten des Online-Fragebogens

Charakteristik der Befragten	n (%)
Anzahl aller beantworteten Bögen	53 (100)
EM	38 (71,7)
IM	4 (7,5)
PM	11 (20,8)
Alter (Spanne) [Jahre]	32,9 (24–58)
Geschlecht	
Weiblich	39 (73,6)
Männlich	14 (26,4)

n = Anzahl der Befragten, EM = extensive Metabolisierer, IM = intermediäre Metabolisierer, PM = langsame Metabolisierer.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der einzelnen Fragen aufgeführt, auf die die Online-Umfrage abzielte. Die ersten drei Fragen des Fragebogens dienen zur Erinnerung an die Situation und wurden nicht für die Auswertung benötigt. Im Fragebogen war es wichtig zu erfahren, ob die Probanden Dextromethorphan erneut einnehmen würden. PM und IM verneinten weitestgehend diese Frage nach den gemachten Erfahrungen. Das Ergebnis der folgenden Frage, ob die Erfahrungen auch auf andere Arzneimittel übertragbar sind, fiel nicht so eindeutig aus. PM, IM und EM würden demnach andere Arzneimittel ohne Bedenken wieder einnehmen. Die nächste Frage zielte auf den Einfluss der Kenntnis des Genotyps auf die Einnahme von Arzneimitteln ab. Es zeigte sich, dass PM mehr auf die Verstoffwechslung achten, seitdem sie ihren Genotyp kennen, aber insgesamt alle Probanden interessiert sind. Die Auswertung aller Fragen ist in Tabelle 16 (s. Anhang) aufgeführt. Die Ergebnisse der oben beschriebenen Fragen sind im Folgenden detailliert beschrieben.

Frage vier des Fragebogens ist somit die erste Frage, die analysiert wurde, welche auf das Befinden nach der Einnahme von Dextromethorphan zielte. 6 Probanden (11,3%) sagten „sehr gut“, 31 (58,5%) „gut“, 9 (16,9%) „eher schlecht“, vier (7,5%) „sehr schlecht“ und drei (5,6%) wussten es nicht mehr. Nur EM beantworteten diese Frage mit „sehr gut“, drei PM (27,3%) mit „gut“, drei PM (27,3%) und vier IM (100,0%) mit „eher schlecht“ und vier PM (36,4%), aber kein IM und EM mit „sehr schlecht“.

Frage fünf war in drei Unterfragen (5a–c) gegliedert. 5a zielte darauf ab, ob der Proband nach seinen Erfahrungen mit Dextromethorphan diesen Arzneistoff erneut einnehmen würde. Darauf antworteten aus der Gesamtpopulation 19 (35,8%) mit „ich stimme voll zu“, 10 (18,8%) mit „ich stimme eher zu“, 12 (22,6%) mit „ich lehne eher ab“, 7 (13,2%) mit „ich lehne völlig ab“ und fünf Probanden wussten es nicht. Nach genotypischer Sortierung ergab sich folgendes Ergebnis: Je ein PM sagte, dass er voll zustimmt bzw. eher zustimmt. 18 (47,4%) EM stimmten dem gegenüber voll zu, welches einen signifikanten Unterschied zu PM ergibt (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,05$). Neun EM (23,7%) stimmten eher zu. Zwei PM (18,2%), alle IM (100,0%) und 6 EM (15,8%) beantworteten die Frage mit „ich lehne eher ab“, was häufiger bei IM als bei PM und EM war (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,05$). Sieben PM (63,4%) lehnten eine weitere Einnahme völlig ab. Das ist signifikant verschieden gegenüber EM (Chi-Quadrat-Test, $p < 0,05$). Die Ergebnisse dieser Frage sind in Abbildung 25 dargestellt.

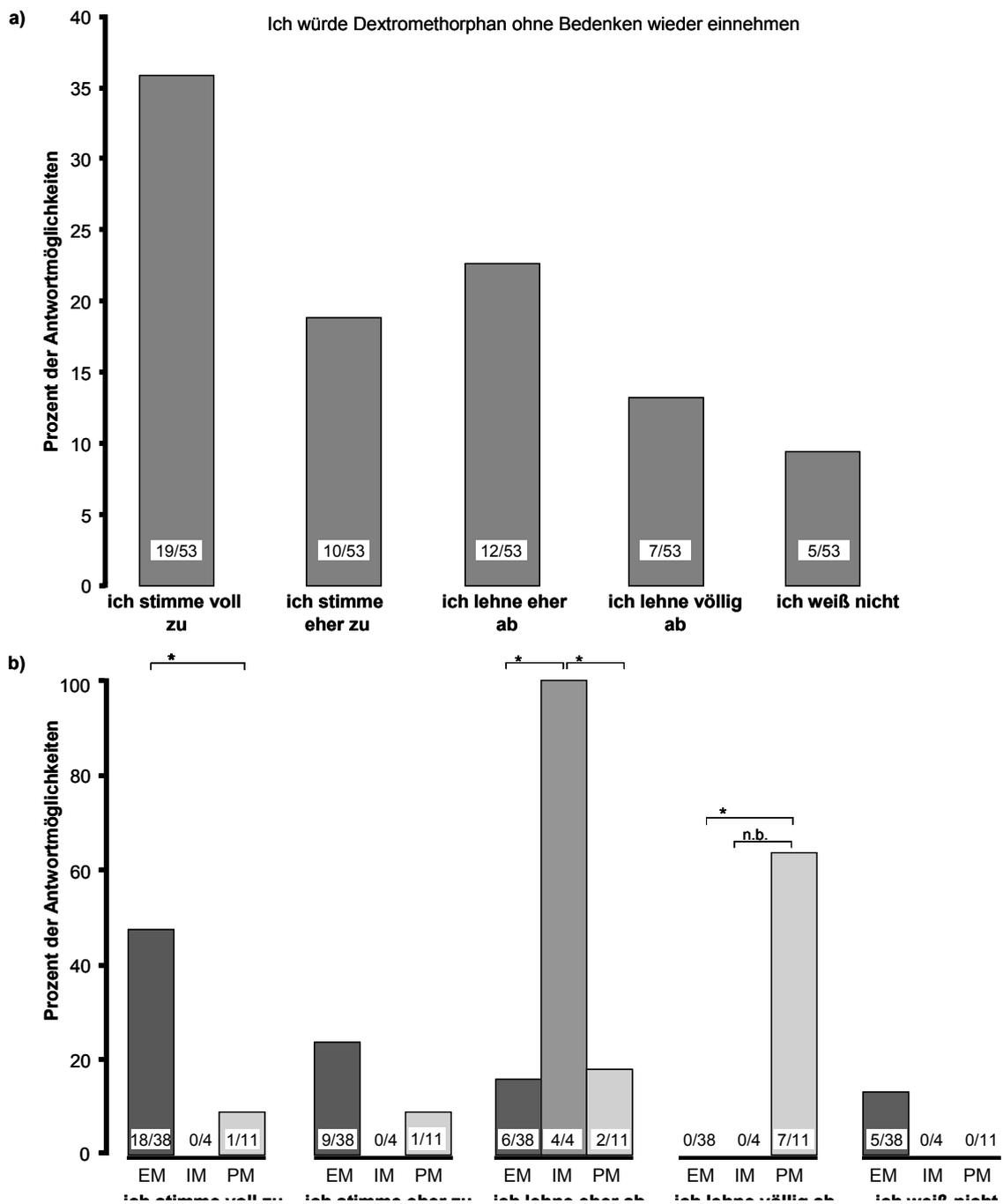


Abbildung 25: Ergebnisse des Online-Fragebogens: Ich würde Dextromethorphan ohne Bedenken wieder einnehmen.

a) Ergebnisse der Gesamtpopulation in Prozent. In den Balken befindet sich die Anzahl der Befragten. b) Ergebnisse der Genotypen EM = extensiver Metabolisierer, IM = intermediärer Metabolisierer, PM = langsamer Metabolisierer in Prozent, * = $p < 0,05$, n.b. = nicht berechenbar. Die Zahlen geben die Anzahl der Befragten an.

Frage 5b stellte eine Erweiterung von 5a dar und erforschte, ob die Probanden auch andere Arzneimittel nach den Erfahrungen einnehmen würden. In der Gesamtpopulation stimmten 28 (52,8%) Probanden dem völlig zu, 17 (32,1%) stimmten dem eher zu, zwei

lehnten eher ab und sechs wussten es nicht. Die beiden Probanden, die eher ablehnten, waren EM. Sechs PM (54,5%) und zwei IM (50,0%) nehmen andere Arzneimittel erneut wieder ein, vier PM (36,4%) und zwei IM (50,0%) beantworteten diese Frage auch noch positiv mit: „ich stimme eher zu“. Die Ergebnisse stellt Abbildung 26 dar.

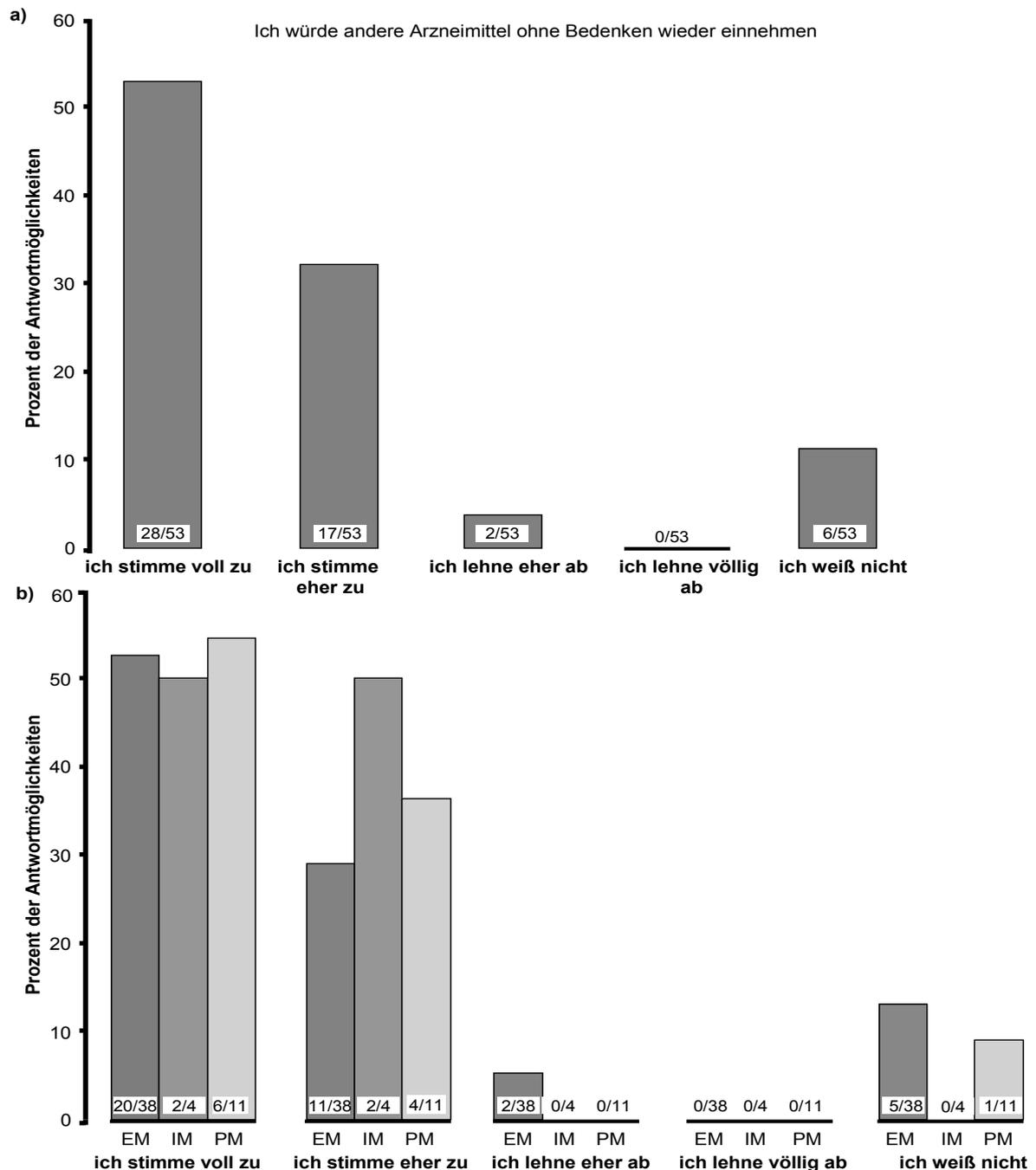


Abbildung 26: Ergebnisse des Online-Fragebogens: Ich würde andere Arzneimittel ohne Bedenken wieder einnehmen.

a) Ergebnisse der Gesamtpopulation in Prozent. In den Balken befindet sich die Anzahl der Befragten. b) Ergebnisse der Genotypen EM = extensiver Metabolisierer, IM = intermediärer Metabolisierer, PM = langsamer Metabolisierer in Prozent. In den Balken befindet sich die Anzahl der Befragten.

Frage 5c zielte darauf ab, ob die Probanden nach Kenntnis ihres Genotyps mehr auf die Arzneimittelverstoffwechslung von Arzneimitteln achten und dafür bei Arzt oder Apotheker nachfragen. Aus der Gesamtpopulation antworteten 12 (22,6%) mit „ich stimme voll zu“, 25 (47,1%) mit „ich stimme eher zu“, sieben (13,2%) lehnten eher ab, fünf lehnten völlig ab (9,4%) und vier Probanden wussten es nicht. Nach genotypischer Kategorisierung stimmten zwei PM (18,2%), ein IM (25,0%) und neun EM (23,7%) dabei völlig zu und sieben PM (63,6%) bzw. ein IM (25,0%) und 17 EM (44,7%) stimmten dem eher zu. Kein PM lehnte eher oder völlig ab. Ein IM lehnte völlig (25,0%), einer eher ab (25%) und sechs EM lehnten eher (15,8%), vier (10,5%) völlig ab. Die Ergebnisse zeigt Abbildung 27.

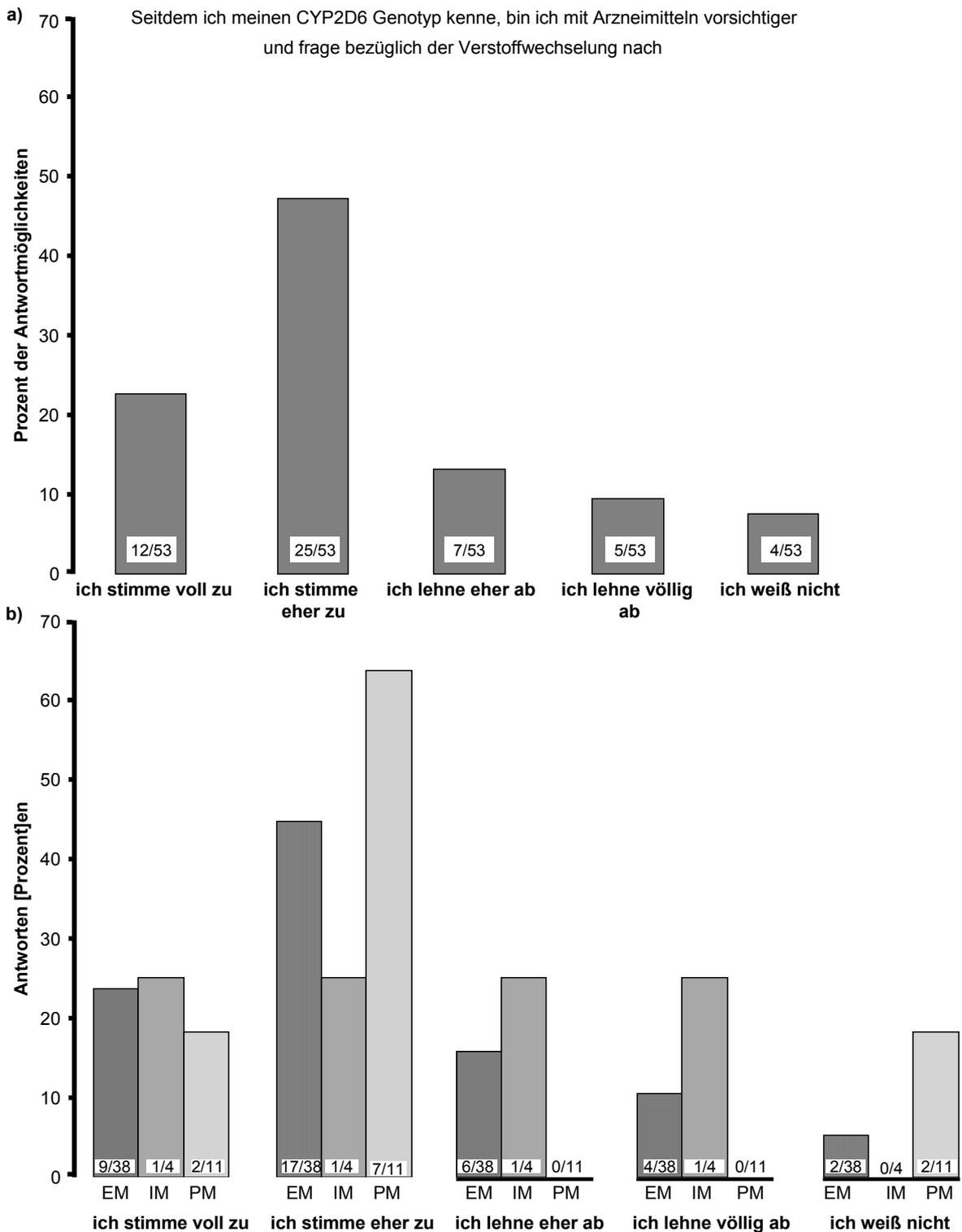


Abbildung 27: Ergebnisse des Frage des Online-Fragebogens: Seitdem ich meinen CYP2D6-Genotyp kenne, bin ich mit Arzneimitteln vorsichtiger und frage bezüglich der Verstoffwechslung nach.

a) Ergebnisse der Gesamtpopulation in Prozent. In den Balken befinden sich die Anzahl der Befragten. b) Ergebnisse der Genotypen EM = extensiver Metabolisierer, IM = intermediärer Metabolisierer, PM = langsamer Metabolisierer in Prozent. In den Balken befindet sich die Anzahl der Befragten.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Dextromethorphan ist ein wichtiger Arzneistoff in der Selbstmedikation. Ob und in welchem Ausmaß selbst bei indizierter Einmaldosis bei Patienten zentralnervöse unerwünschte Wirkungen wie Müdigkeit, Schwindel und/oder Schlafstörungen zu einer starken subjektiven Beeinträchtigung der Tagesaktivität führen, war unbekannt. Man vermutete, dass das Auftreten solcher Symptome mit dem polymorphen Abbau von Dextromethorphan durch CYP2D6 in Zusammenhang stand. In diesem Fall hätte man einen Ansatzpunkt für eine gezielte Therapie bzw. Stratifizierung dieser Personengruppen für eine personalisierte Arzneimitteltherapie. In einer prospektiven Studie wurden daher die unerwünschten Wirkungen nach Gabe eines Placebos, einer Einzel- und einer Doppeldosis Dextromethorphan bei den drei CYP2D6-Genotypen EM, IM und PM untersucht. Ebenso wurde die Reaktionszeit der Probanden im Rahmen eines Reaktions- und Vigilanztests 12 Stunden nach Einnahme gemessen. Darüber hinaus wurden Apotheker, Ärzte und Patienten über ihre Kenntnisse genetischer Polymorphismen befragt, sowie in einer regionalen Verordnungsanalyse das Verschreibungsverhalten von Psychopharmaka analysiert, weil diese hauptsächlich über CYP2D6 abgebaut werden und damit einen Beratungsbedarf für Fragen der Arzneimitteltherapiesicherheit aufweisen. Die Hauptergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

- Die Umfrage über die Bedeutung der Pharmakogenetik hat ergeben, dass die meisten Ärzte und Apotheker wissen, was sich hinter dem Begriff Pharmakogenetik verbirgt, allerdings fehlen beiden Berufsgruppen Hintergrundinformationen, um dieses Werkzeug aktiv zur Verbesserung der Arzneimitteltherapiesicherheit einzusetzen.
- Die Auswertung der psychiatrischen Verschreibungen hat ergeben, dass von den aktuell in der Verordnung befindlichen Antidepressiva und Neuroleptika ca. 50% über CYP2D6 verstoffwechselt werden. Erkenntnisse und Untersuchungen, die für einen Patienten im Rahmen der personalisierten Arzneimitteltherapie für Dextromethorphan durchgeführt werden, können für den Patienten damit auch über diesen speziellen Fall Dextromethorphan hinaus von Nutzen sein und zeigen damit auch die breitere Einsatzmöglichkeit dieser Therapiestrategie auf.
- Personen, die einen eingeschränkten CYP2D6-Metabolismus zeigen, haben schon nach der Einnahme einer Einzeldosis ein 4-fach erhöhtes Risiko für unerwünschte Wirkungen, eingeschränkte Metabolisierer ein 3-faches. Schlafstörungen und Benommenheit/Schwindel sind unerwünschte Arzneimittelwirkungen, die nach einer Einzeldosis Dextromethorphan bei PM und IM häufiger als bei EM auftreten.
- Die Reaktionsfähigkeit und die Aufmerksamkeit waren für keinen der CYP2D6-Genotypen in der untersuchten Gruppe eingeschränkt.
- Acht der elf untersuchten PM (81,8%) würden auf Grund der erlittenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen Dextromethorphan nicht wieder einnehmen.

5.2 Wissenstest und Umfrage zur Pharmakogenetik

Der Kenntnisstand unter Apothekern und Ärzten zur Pharmakogenetik sowie das Interesse bei beiden Berufsgruppen und den befragten Patienten dazu, wurden in einer Umfrage erhoben, denn die Umsetzung der Pharmakogenetik in die Praxis hängt vom Kenntnisstand der Ärzte und Apotheker dieses Themas ab. Sie sind bei der Arzneimittelverordnung und -beratung diejenigen, die auf genetische Besonderheiten aufmerksam machen können und demzufolge die Therapie individualisieren können. Welchen Stellenwert die Pharmakogenetik bereits für die Bevölkerung aufweist, zeigt eine EU-Umfrage, in der die Bürger Europas die Pharmakogenetik auf Platz zwei der förderungswürdigen Wissenschaften und Technologien, nach der Nanotechnologie, aber vor die Gentherapie und die Forschung an genetisch veränderten Lebensmitteln (Gaskell 2005) stellt.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführte regionale Umfrage im Raum Nordrhein-Westfalens gab einen Einblick in den Wissensstand der Pharmakogenetik und dessen Stellenwert in Fachkreisen sowie bei den Patienten (Röhm et al. 2008). Die Ergebnisse der Umfrage bestätigen das große Interesse von Patienten, die in Apotheken befragt wurden, zur Pharmakogenetik: 95% der Patienten mit einer bestehenden Dauermedikation würden ihren Genotyp testen lassen.

Die durchgeführte Umfrage unter Ärzten und Apothekern zeigte ein zweigeteiltes Ergebnis: auf der einen Seite konnten allgemeine Wissensfragen (wie z.B. die Definition des Polymorphismus) mehrheitlich beantwortet werden, detaillierte Fragen wurden auf der anderen Seite nur von einzelnen Personen beider Fachgruppen richtig beantwortet. Gesamt betrachtet ist das Wissen zur Pharmakogenetik demnach in den beiden Berufsgruppen sehr ähnlich: Es fehlt beiden Fachgruppen an detaillierten Hintergrundinformationen zur Pharmakogenetik, um dem bestehenden Interesse der Patienten gerecht zu werden. Lediglich die Ergebnisse einer einzigen Frage unterschieden sich zwischen den beiden Berufsgruppen: mehr Apotheker als Ärzte kannten CYP2D6 als polymorphes Enzym (42% vs. 5%, $p < 0.05$). Dass Patienten von dem pharmakogenetisch eingesetzten Wissen und der gemeinsamen Beratung der Ärzte und Apotheker erheblich profitieren könnten, ist bereits in mehreren Fallbeispielen vorgestellt und diskutiert worden (Schmid et al. 2009, Schmid et al. 2009, Schmid et al. 2009). Daher können und sollen die Berufsgruppen sich gemeinsam um die Therapieoptimierung bemühen. Im Mittelpunkt der personalisierten Arzneimittel steht die Auswahl des Arzneimittels und gegebenenfalls die Anpassung der Dosis des Arzneimittels auf den Patienten, der durch seine genetische Prädisposition ein höheres Risiko für unerwünschte Arzneimittelwirkungen aufweist. Dass hierfür Apotheker und Ärzte bei dieser Aufgabe zusammenarbeiten und ihre Kenntnisse gemeinsam für den Patienten einsetzen sollen, wird auch von 93% der befragten Kunden unterstützt: sie (die befragten Kunden) würden die Beratung von Arzt und Apotheker gleichermaßen in Anspruch nehmen wollen.

In der gleichen Art und Weise hat sich die deutsche Gesundheitspolitik positioniert: eine sichere und effektive Arzneimitteltherapie soll zukünftig in viel stärkerem Maße im Zentrum der Bemühungen stehen. Das ist so im Aktionsplan des Bundesgesundheitsministeriums für die Jahre 2008 und 2009 vorgesehen (Bundesministerium für Gesundheit 2007). Aber nicht nur die Politik und die Patienten alleine fordern eine konsequente Umsetzung der personalisierten Arzneimitteltherapie, auch die Berufsgruppen der Ärzte und Apotheker erachten diese Thematik als wichtig, was durch ihre hohe Bereitschaft zur Fort- und Weiterbildung unterstrichen wird (57% der Apotheker und 88% der Ärzte).

Die zentrale Schlussfolgerung der Umfrage lautet daher: um eine gezielte Interpretation pharmakogenetischer Daten in der Praxis gewährleisten zu können und zukünftig den Patienten dieses diagnostische Werkzeug zur möglichen Förderung einer verbesserten Wirksamkeit und Sicherheit der Arzneimitteltherapie zugänglich zu machen, sind Fort- und Weiterbildungen in beiden Berufsgruppen erforderlich. Die Ergebnisse können so interpretiert werden, dass die Pharmakogenetik in Fachkreisen noch nicht den Stellenwert erlangt hat, der nötig ist, um Einfluss auf die Arzneimitteltherapie von speziellen Patientenpopulationen zu nehmen. Unter der Voraussetzung, dass Ärzte und Apotheker kooperieren, profitiert auch der Patient von der pharmakogenetischen Beratung maximal, da dies zu Veränderungen im Ordnungsverhalten führt. Die breite Anwendbarkeit dieser Kenntnisse zeigt u. a. auch die aktuelle regionale Verordnungsanalyse von Psychopharmaka.

5.3 Verordnungsanalyse über CYP2D6-abhängig verstoffwechelte Antidepressiva und Neuroleptika in der psychiatrischen Ambulanz

Die Auswertung der psychiatrischen Verschreibungen hat ergeben, dass ca. 50% der verordneten Antidepressiva und Neuroleptika CYP2D6-abhängig verstoffwechselt werden. Der CYP2D6-Polymorphismus hat daher auch über die therapeutische Anwendung von Dextromethorphan hinaus eine wichtige klinische Bedeutung für die heutige Therapie.

Die regional durchgeführte Verordnungsanalyse in einer öffentlichen Apotheke und einer psychiatrisch-neurologischen Praxis einer Großstadt in Nordrhein-Westfalen zeigten, dass Amitriptylin am häufigsten aus der Klasse der Antidepressiva und Risperidon aus der Klasse der Neuroleptika verordnet wurde. Amitriptylin wurde 1962 als erstes trizyklisches Antidepressivum auf dem Arzneimittelmarkt eingeführt. Es ist somit mit eines der ältesten Antidepressiva und zeigt zudem anticholinerge und kardiale Nebenwirkungen (Steimer et al. 2004, 2005). Nach den Daten der Verordnungsanalyse kommt Amitriptylin aber mit einem CYP2D6-abhängigem Metabolismus immer noch zur Anwendung, obwohl es neuere Arzneistoffe gibt, die nur geringfügig CYP2D6-abhängig verstoffwechselt werden (z.B. Citalopram, Sertralin). Der Grund für die häufige Verordnung von Amitriptylin liegt wahrscheinlich in der langen klinischen Erfahrung der Ärzte und den relativ geringen Tagesdosiskosten begründet. Auch das atypische Neuroleptikum Risperidon, welches erst im Jahre 2000 in die Therapie eingeführt wurde, zeigt einen CYP2D6-abhängigen

Metabolismus (de Leon et al. 2005). Bei den verordneten CYP2D6-abhängig verstoffwechselten Arzneistoffen der neurologisch-psychiatrischen Praxis sowie der Apotheke wurden Fluoxetin, Paroxetin und Trimipramin als Antidepressiva am nächst häufigsten nach Amitriptylin verordnet. In der Verordnungshäufigkeit der CYP2D6-abhängig verstoffwechselten Neuroleptika zeichnete sich folgendes Bild ab: aus den psychiatrischen Verordnungen der Arztpraxis zeigte sich, dass Promethazin und Haloperidol am häufigsten verordnet wurden, aus den Verschreibungen der Apotheke Fluphenazin und Perphazin.

Die Verordnungsanalyse zeigt beispielhaft die klinische Relevanz des CYP2D6-Polymorphismus in der Pharmakotherapie über Dextromethorphan hinaus auf, da bei den oben aufgeführten Arzneistoffen PM und IM einen eingeschränkten Metabolismus aufweisen und somit erhöhte Plasmakonzentrationen zu erwarten sind. Dies könnte auch mit einem erhöhten Risiko für vermehrte unerwünschte Wirkungen verbunden sein.

Die Ergebnisse der regional durchgeführten Verordnungsanalyse werden auch durch den Arzneimittelverordnungsreport bestätigt, welcher die Verschreibungshäufigkeit von Psychopharmaka in Deutschland jährlich untersucht und auswertet. Auf der Grundlage von etwa 500 Mio. Rezepten, die zu Lasten der gesetzlichen Krankenversicherung (GKV) ausgestellt und über öffentliche Apotheken abgerechnet wurden, berichtet dieser über die Verordnungs- und Umsatzmengen der führenden (Original-) Präparate (und Generika) aller Wirkstoffklassen im ambulanten Bereich. Der Arzneimittelverordnungsreport ist die einzige, in der Literatur veröffentlichte Arbeit, die systematisch und kontinuierlich Verschreibungen in Deutschland erfasst. Grundlage der Klassifikation des Arzneimittelverordnungsreports ist das anatomisch-therapeutisch-chemische Klassifikationssystem (ATC-System), wobei als Mengeneinheit die so genannte definierte Tagesdosis („Defined Daily Doses“, DDD) verwendet wird. Die DDD ist eine rechnerische Größe, die die mittlere Tagesdosis bei Erwachsenen für einen Wirkstoff angibt. Laut dem Arzneimittelverordnungsreport von 2008 (Schwabe 2008) wurde Amitriptylin 91,2 Mio. mal als definierte Tagesdosen (DDD) verschrieben. Dies entspricht prozentual einem Anteil von 46,6% an den gesamten Verordnungen (195,7 Mio. DDD) trizyklischer Antidepressiva. An zweite Stelle rückt Doxepin mit 55,4 Mio. DDD (28,3%), gefolgt von Trimipramin (15,5%). Die vier am häufigsten verordneten SSRI sind Citalopram (169,5 Mio. DDD entsprechen 53,3% aller SSRI-Verordnungen), Fluoxetin (41,2 Mio. DDD bzw. 13,0%) und Sertralin (39,2 Mio. DDD bzw. 12,3%) und Paroxetin (32,3 Mio. DDD bzw. 10,1%). Amitriptylin, Trimipramin, Fluoxetin und Paroxetin sind die Antidepressiva, die auch in der Verordnungsanalyse wiedergefunden wurden; als CYP2D6-abhängig verstoffwechselt.

Im Vergleich zu den Antidepressiva (Gesamt-DDD) werden Neuroleptika mit 254,5 Mio. DDD weitaus weniger häufig verordnet. Dabei sind Promethazin (30,2 Mio. DDD; das entspricht 11,9% aller verordneten Neuroleptika), gefolgt von Haloperidol (19,4 Mio. DDD bzw. 7,6%) und Perazin (15,9 Mio. DDD bzw. 2,4%) die am häufigsten verordneten Neuroleptika.

Wenn man die Analyse des Arzneimittelverordnungsreports mit der Verordnungsanalyse der vorliegenden Arbeit vergleicht, wird deutlich, dass sie sich in den Kriterien, nach denen die Daten aufgenommen wurden, grundsätzlich nicht unterscheiden: beide Analysen wurden auf Grundlage des ATC-Klassifikationssystems durchgeführt; die Verordnungsanalyse der vorliegenden Arbeit unterteilt darüber hinaus noch in Bezug auf die CYP2D6-Verstoffwechslung. Als rechnerische Größe wurden weiterhin die einzelnen Verschreibungen und nicht eine mittlere Tagesdosis aufgenommen und ausgewertet. Wenn man die aufgeführten Antidepressiva und Neuroleptika des Arzneiverordnungsreports auf die CYP2D6-Verstoffwechslung hin untersucht, werden folgende Ergebnisse deutlich: Amitriptylin ist das im Arzneiverordnungsreport am häufigsten verschriebene und über CYP2D6-verstoffwechselte Antidepressivum, gefolgt von Doxepin. Auch Fluoxetin, Paroxetin und Trimipramin, die diesen Stoffwechselweg haben und sich in den gezeigten Ergebnissen der Verordnungsanalyse dieser Arbeit wiederfinden, gehören zu den am häufigsten verordneten Antidepressiva im Arzneimittelverordnungsreport. Daraus lässt sich schließen, dass die Antidepressiva, die über CYP2D6 relevant verstoffwechselt werden, zu den Antidepressiva zählen, die 2007 in Deutschland (Arzneiverordnungsreport 2008) am häufigsten verschrieben wurden. Bei den Neuroleptika finden sich Promethazin und Haloperidol als Arzneistoffe, die sich aus den Ergebnissen der Verordnungsanalyse verschrieben und relevant über CYP2D6 verstoffwechselt wurden, auch unter den drei häufigsten aller verordneten Neuroleptika in Deutschland. Auch diese Arzneistoffe fanden sich in der regional durchgeführten Verordnungsanalyse wieder. Ein Grund für diese Verschreibungshäufigkeit könnte, analog zum Verschreibungsverhalten der Ärzte bei Amitriptylin, in der langjährigen klinischen Erfahrung der Ärzte mit diesen Substanzen und im geringeren Preis liegen.

Wie einleitend beschrieben, unterstreichen die Ergebnisse der Verordnungsanalyse die klinische Relevanz des CYP2D6-Polymorphismus bei der heutigen psychiatrischen Pharmakotherapie für das Sicherheitsdenken in unserer Gesellschaft. Obwohl diese im Vergleich zum Arzneiverordnungsreport nur eine geringe Anzahl an Rezepten und Patientendaten umfassten, kann man erkennen, dass die Daten aus einer Grundgesamtheit stammen.

Für den Bereich der Psychopharmaka ist der Arzt der primäre Ansprechpartner für den Patienten und der Apotheker kann hier beratend für den Patienten und Arzt zur Verfügung stehen. In der täglichen Praxis nehmen Patienten auch Arzneistoffe aus dem Bereich der Selbstmedikation ein. Fünfundvierzig Prozent der Arzneimittelpackungen werden in diesem Bereich an den Patienten abgegeben. Hier trägt der Apotheker eine große Verantwortung für die Arzneimitteltherapiesicherheit und Informationen hierüber sind häufig nicht ausreichend vorhanden, wie in der vorliegenden Arbeit bei dem Hustenstiller Dextromethorphan gezeigt werden konnte. Als Grundlage zur Bewertung der Arzneimitteltherapiesicherheit von Dextromethorphan wurden die Probanden phäno- und genotypisiert und entsprechend ihres aus der Literatur definierten Metabolisierungsstatus in PM, IM und EM kategorisiert.

5.4 CYP2D6 Geno- und Phänotypisierung

5.4.1 Genotypisierung

Die Häufigkeit der einzelnen Allele innerhalb des Probandenkollektivs stimmt mit der angenommenen Verteilung in der kaukasischen Bevölkerung überein (Sachse et al. 1997). Für die Bestimmung des CYP2D6-Genotyps wurde auf die sechs am häufigsten auftretenden Allele untersucht (Ingelman-Sundberg et al. 2001). Neben dem intakten Allel vom Wildtyp (CYP2D6*1) wurden die Mutationen CYP2D6*3, *4, *5, *6, *10 und *41 festgestellt. Mit Abstand am häufigsten unter den nicht funktionstüchtigen Allelen tritt CYP2D6*4 unter Kaukasierern mit 20-25% auf. Damit ist es gleichzeitig das Allel, was mit 70-90% für den Genotyp PM verantwortlich ist (Zanger et al. 2004). In der untersuchten Studienpopulation trat bei 25 Probanden CYP2D6*4 heterozygot zusammen mit einem Allel vom Wildtyp auf. Sechs Probanden zeigten zudem ein homozygotes Vorkommen vom Allel CYP2D6*4, wodurch dieses auch in der vorliegenden Untersuchung die häufigste Ursache (40%) für das Auftreten eines PM darstellte. Bei sechs weiteren PM lag CYP2D6*4 heterozygot vor. Das Allel CYP2D6*5, welche bei homozygoten Vorkommen ebenfalls zur Ausprägung eines manifesten PM führt, trat bei zwei Probanden homozygot auf. Die Häufigkeit der Mutation CYP2D6*5 wird mit ca. 2% beschrieben (Sachse et al. 1997), welche in dieser Untersuchung höher lag (4,1%). Der Grund dafür liegt darin, dass ein Zwillingpaar untersucht wurde, bei denen CYP2D6*5 homozygot vorlag. Dadurch bedingt sind allein vier von insgesamt elf CYP2D6*5 darauf zurückzuführen. Das Allel CYP2D6*5 bezeichnet eine komplette Deletion des Gens. Diese Deletion wurde mithilfe der real-time PCR detektiert, sodass die vervielfältigte DNS im Gel nicht mehr aufgetrennt werden muss, was einen zusätzlichen sehr arbeitsaufwändigen Schritt bedeutet. Diese Methodik, die so genannte relative Quantifizierung, wurde bereits in der Literatur beschrieben (Schaeffeler et al. 2003) und im Institut der Klinischen Pharmazie und Pharmakotherapie etabliert. Hierfür erfolgte eine interne und eine externe Validierung der Methode. Darüber hinaus wurden frühere Untersuchungen bestätigt, dass mit Hilfe der PCR die Detektion der wichtigsten CYP2D6-Allele innerhalb eines Tages möglich ist (Muller et al. 2003). Es konnte gezeigt werden, dass die Real-Time PCR eine zeit- und materialsparende, sowie einfach durchzuführende Methode zum Nachweis der Deletion ist und sich zur Bestimmung der Polymorphismen von CYP2D6 im Routinebetrieb mit einem hohen Probendurchsatz eignet.

5.4.2 Phänotypisierung

Trotz der Etablierung zuverlässiger Verfahren zur Genotypisierung spielt die CYP2D6-Phänotypisierung als eine weit verbreitete und gut etablierte Methode zur Bestimmung der Enzymaktivität mittels der Messung des Metabolismus der Modellsubstanz Dextromethorphan weiterhin eine wichtige Rolle (Jacqz-Aigrain et al. 1993, Kohler et al. 1997). In Anlehnung an Jurima-Romet et al. (Jurima-Romet et al. 1997) dient der Quotient von Muttersubstanz (DEX) und O-demethyliertem Hauptmetabolit (DTX) als

Aktivitätsmarker von CYP2D6 und wird nach einer definierten Zeit post applicationem, wie unter 2.3.9 beschrieben, bestimmt. Wenn CYP2D6 nicht aktiv bzw. vorhanden ist, gibt es einen alternativen Abbauweg von DEX, eine N-Demethylierung zu 3-MM, der hauptsächlich durch das Enzym CYP3A4 katalysiert wird.

Wie erwartet konnten in der vorliegenden Untersuchung vier Phänotypen unterteilt werden: ultra schnelle, schnelle, intermediäre und langsame Metabolisierer. Um die Genotypen zu differenzieren wird das Verhältnis der Konzentrationen von Dextromethorphan zu Dextrorphan herangezogen. Bei einem DMX/DTX Verhältnis $>0,3$ wird die Person als PM klassifiziert, bei $<0,3$ als EM. Dazwischen liegen die IM. Die Verteilung der logarithmierten Metabolisierungskapazität ($\log \text{DEX/DTX}$) erlaubte die Identifikation von EM, IM und PM. Bei EM lag der Mittelwert der Verteilung des logarithmiert transformierten Verhältnisses bei $-2,42 \pm 0,43$, bei IM bei $-1,17 \pm 0,27$ und bei PM bei $0,082 \pm 0,45$ und PM. Diese Mittelwerte stimmen mit vorherigen Berichten überein (Schmid et al. 1985, Funck-Brentano et al. 1992). Ähnlich wie in früheren Untersuchungen zeigen die vorliegenden Ergebnisse eine dreigipflige Verteilung des CYP2D6-Metabolisierungsverhältnisses (Funck-Brentano et al. 1992). Unter den 141 Probanden wurden phänotypisch 13 PM detektiert, was einem Anteil von 9,2% entspricht. Der in der Literatur angegebene Prozentsatz an kaukasischen PM von ca. 8% wird somit leicht überschritten (Sachse et al. 1997), was daran liegen könnte, dass Familienmitglieder der Probanden untersucht wurden und das Kollektiv nicht ausschließlich rein zufällig zusammensetzt war. Wenn man diese Familienmitglieder ($n=3$) für die Prävalenzberechnung ausschließt, ergibt sich ein Prozentsatz PM von 7,1%, der geringfügig unter dem des in der Literatur beschriebenen Prozentsatzes liegt. IM traten in der untersuchten Population mit einer Häufigkeit von 7,8% auf. Dieser Prozentsatz ist deutlich geringer als 10–15%, wie in der Literatur angegeben (Bock et al. 1994, Meyer 2000). Da die Häufigkeit der einzelnen beschriebenen Allele gefunden werden konnte, ist die geringe Anzahl vermutlich eher zufällig.

5.4.3 Korrelation des Geno- und Phänotyps

Genotyp-Phänotyp-Korrelationen wurden in dieser Studie mit DNS-Proben aus Vollblut und Urinproben der Testsubstanz Dextromethorphan in einem Kollektiv aus 141 Probanden untersucht, die aber nicht unbedingt kaukasischer Abstammung sein mussten. Die Korrelationen sind nicht immer eindeutig. Unterscheidet man in der Aktivität des CYP2D6 nur zwischen EM und PM, so werden im Allgemeinen gute Korrelationen zwischen Phänotyp und Genotyp gefunden (McElroy et al. 2000, Schwab et al. 2002, Schwab M 2002, Chou et al. 2003). So wurden bei Sachse et al. ebenfalls mit 22 mg Dextromethorphan, jedoch aus dem Sammelurin von fünf Stunden, 589 Probanden phäno- und genotypisiert. Sie fanden 2 Probanden mit dem Genotypstatus EM und phänotypisch PM. Obwohl in der Untersuchung IM phänotypisch nicht explizit differenziert und analysiert wurden, wird bei eigener Betrachtung deutlich, dass nicht alle IM in der definierten Metabolisierungskapazität von $\log \text{MR}_{\text{DEX}} -1,52$ bis $-0,52$ liegen. Auch finden sich einige als EM genotypisierte in diesem Bereich. Eine weitere Arbeit von Chou et al.

haben eine CYP2D6 Phänotyp- Genotyp- Korrelation mit 60 mg Dextromethorphan bei 236 Probanden durchgeführt und konnten IM auch nicht eindeutig zu EM und PM abgrenzen. In dieser Arbeitsgruppe bleibt zu berücksichtigen, dass CYP2D6*41 nicht untersucht wurde und damit ein großer Teil der IM genotypisch verborgen bleibt. In der vorliegenden Untersuchung konnte eine Korrelation zwischen Phänotyp und Genotyp bei den EM und PM von 100% erzielt werden, was zeigt, wie sorgfältig die Untersuchung durchgeführt worden ist. Das bedeutet, dass bei sorgfältiger Vorgehensweise bezüglich der PM-Differenzierung eine Geno- oder Phänotypisierung in der Praxis angewendet werden kann. Aber auch eine Abtrennung von EM zu IM ist mit der Phänotypisierung in der vorgelegten Untersuchung eindeutig durchzuführen, auch wenn der Übergang keine Log-Stufe beinhaltet und „langsame EM“ fast dieselbe Metabolisierungskapazität haben wie „schnelle IM“.

Die Genotypisierung und die Phänotypisierung wurden anonym, ohne Namen der Probanden und nur an Hand der Studienidentifikationsnummer, durchgeführt. Des Weiteren liefen Phänotypisierung und Genotypisierung unabhängig voneinander ab. Die Untersuchung der Proben der Genotypisierung und der Phänotypisierung wurde von zwei unterschiedlichen Personen durchgeführt. Dennoch liegen drei Probanden mit dem CYP2D6-Genotyp IM exakt auf dem Grenzwert zu EM. Der Unterschied in der Metabolisierungskapazität zwischen einem „langsamen EM“ und einem „schnellen IM“ ist sehr gering (log MR -1,55 vs. -1,52). Faktoren wie eine im Vergleich zur Literatur quantitativ unterschiedliche Einnahmemenge des Hustensaftes aus dem Gefäß und die Verlässlichkeit der Probanden bei der korrekten Sammlung des Urins könnten eine Rolle bei der Messgenauigkeit spielen. Diesen Variablen der Phänotypisierung steht die Genotypisierung gegenüber, bei der zwei Allele von den drei häufigsten, die zu Einschränkung führen (CYP2D6*10 CYP2D6*41), untersucht wurden, und alle Genotypen innerhalb der genannten Grenzen richtig klassifiziert wurden. Bei der Genotypisierung wird man daher keine 100%ige Sicherheit für die Klassifizierung des IM-Metabolisierungsstatus im Gegensatz zur Phänotypisierung, bei der die tatsächliche Metabolisierungsrate gemessen wird, erreichen. Andererseits ist eine Phänotypisierung wiederum für die Patienten und Probanden aufwendig durchzuführen. Sie ist auch nicht immer möglich, wenn der Patient zum Beispiel Arzneistoffe einnimmt, die CYP2D6 selbst inhibieren (z.B. Paroxetin). Hier würde der Patient phänotypisch einen eingeschränkten Metabolismus zeigen, aber genotypisch nicht IM oder PM sein.

Aufgrund der Vielzahl der bereits bekannten Allelmutationen ist es kurz- und sicherlich auch mittelfristig nicht möglich, eine 100% exakte Genotypisierung zur Erkennung jeglicher IM- Phänotypen kosteneffizient und in angemessenen Zeitrahmen zu etablieren. Eine präventive Erkennung der IM ist aber besonders bei der Einnahme von Medikamenten mit geringer therapeutischer Breite ebenso von Bedeutung wie bei den PM. Beide Verfahren bringen also Vor- und Nachteile mit sich, sodass man im Einzelfall individuell entscheiden muss. Da PM und IM mit Hilfe der Genotypisierung mit nahezu 100%iger Wahrscheinlichkeit zuverlässig identifiziert werden können, empfiehlt sich somit auch über die vorliegende Untersuchung hinaus dieses moderne Verfahren als das

einfachere, Patienten-schonendere, Arzneimittel-unabhängigere und schnellere Verfahren zur Beurteilung einer eingeschränkten Aktivität eines Enzyms.

5.5 Unerwünschte Wirkungen nach Dextromethorphan-Einnahme

Eine Vielzahl häufig verabreichter psychoaktiver Arzneimittel oder kardiovaskulärer Begleitmedikamente wird über das CYP2D6-Enzym verstoffwechselt, so dass nicht selten Interaktionen wie eine Sättigung oder eine Inhibition des Abbauweges resultieren (Brosen 1988, Ereshefsky et al. 2000). Diese Arzneimittelinteraktionen können den Therapieverlauf beeinflussen und verzögern. Eine Meta-Analyse von prospektiven Studien fand heraus, dass das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen einer der 4. und 6. häufigsten Gründe bei hospitalisierten Patienten in USA ist (Lazarou et al. 1998). Neben Faktoren wie Alter, Geschlecht und Erkrankung spielen genetische Faktoren, die 20-95% der Variabilität der Arzneistoffverteilung und Wirkungskraft erklären, die entscheidende Rolle für die Erfolgswirksamkeit und Toxizität (Evans et al. 2003). Pharmakokinetische Schlussfolgerungen auf Grund eines CYP2D6- Polymorphismus wurden bereits gezogen: So wurden bei PM nach Dextromethorphan-Gabe und bei EM nach Dextromethorphan mit CYP2D6-Inhibitor-Gabe erhöhte Plasmaspiegel gemessen (Capon et al. 1996, Abdul Manap et al. 1999, Dickinson et al. 2007). Auch pharmakodynamische Untersuchungen zur hustenstillenden Wirkung von Dextromethorphan wurden durchgeführt (Capon et al. 1996, Abdul Manap et al. 1999). Die Hypothese hierbei, dass PM bzw. EM unter CYP2D6-Inhibitor-Gabe eine stärkere Hustenstillung nach Dextromethorphan-Einnahme haben, wurde nicht bestätigt. Dextromethorphan ist bei beiden Metabolisierungsgruppen wirksam. Unerwünschte Wirkungen wurden aber nach einer Überdosierung von über 300 und 360 mg Dextromethorphans in Fallberichten beschrieben (Manaboriboon et al. 2005). In einer multivariaten Analyse konnte außerdem gezeigt werden, dass die Metabolisierungskapazität und der PM-Phänotyp, neben weiteren untersuchten Faktoren, die einzig unabhängigen Indikatoren für das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen waren (Funck-Brentano et al. 2005). Diese Untersuchung wurde im Vergleich zu unserer Studie nicht Plazebo-kontrolliert, sondern lediglich nach einer Phänotypisierung mit 80 mg Dextromethorphan durchgeführt. Dies entspricht einer 4-fachen der indizierten Dosis. Unerwünschte Wirkungen sind für den klinischen Alltag sehr relevant, da sie oftmals therapielimitierend sein können und den maßgeblichen Faktor in der Arzneimittelsicherheit der Selbstmedikation bilden.

Es war allerdings nicht bekannt, ob auch unter der empfohlenen Einmaldosis (22 mg Dextromethorphan) unerwünschte Wirkungen auftreten können, die den Patienten so einschränken. Darüber hinaus beinhalten unerwünschte Arzneimittelwirkungen wie Schwindel, Übelkeit und Kopfschmerzen immer auch einen Plazebo-Effekt. Es fehlten daher Plazebo-kontrollierte Studien, die aussagekräftig in Bezug auf die klinisch-praktische Relevanz der unerwünschten Wirkungen nach Dextromethorphan-Einnahme sind und damit eine Entscheidungsgrundlage für eine Anpassung der Therapie an bestimmte Personengruppen bieten konnten. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführte

Studie untersuchte daher systematisch und unter Einführung einer Placebo-Kontrolle unerwünschte Wirkungen in Abhängigkeit des CYP2D6-Genotyps, um zukünftig die Arzneimittelsicherheit in der Selbstmedikation, auch bei bestimmungsgemäßem Gebrauch, zu erhöhen.

Mit Hilfe eines Fragebogens wurden in der vorliegenden Arbeit die unerwünschten Wirkungen nach randomisierter, doppelblinder und Placebo-kontrollierter Gabe einer Einzel- (22 mg) und Doppeldosis (44 mg) für den CYP2D6-Genotyp der Probanden erfasst. Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen, die auf dem Fragebogen angegeben wurden, unterschieden sich zwischen den Genotypen. PM und IM litten mehr unter unerwünschten Wirkungen. Von 12 PM hatten nur drei keine unerwünschten Wirkungen. Von den neun PM, die unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen litten, gab es nach Addition der einzelnen insgesamt 21 Nennungen. Das bedeutet, dass pro Proband zwei und mehr Nennungen auf dem Bogen angegeben wurden. Ein CYP2D6-PM wurde bereits in Untersuchungen mit anderen Arzneistoffen mit erhöhten unerwünschten Arzneimittelwirkungen assoziiert (Rau et al. 2004, de Leon et al. 2005). Eine pharmakoökonomische Studie fand zudem heraus, dass Patienten, die CYP2D6-abhängige Medikamente, in diesem Fall Antidepressiva, erhielten, einen längeren stationären Aufenthalt als Patienten ohne CYP2D6-abhängige Medikation hatten (Chou et al. 2000, Rau et al. 2004, de Leon et al. 2005). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen demnach vorangegangene Untersuchungen, an denen in der Regel verschreibungspflichtige Arzneistoffe beteiligt waren. Die Aussagekraft über das Auftreten von unerwünschten Wirkungen ist in der vorliegenden Untersuchung im Vergleich zur Untersuchung von Funck-Bretano et al. viel höher, da in der vorliegenden Untersuchung typische in der Praxis verwendete Einmal- bzw. Doppeldosen eingesetzt wurden wie sie in der Packungsbeilage empfohlen werden. Der CYP2D6-Genotyp spielt somit schon unter Einzel- und Doppeldosis eine Rolle für das Auftreten von klinisch relevanten unerwünschten Wirkungen. Obwohl nicht immer ein Zusammenhang zwischen erhöhten Plasmaspiegeln durch reduzierte bzw. fehlende CYP2D6-Aktivität und einem erhöhten Risiko, unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu erleiden, hergestellt werden konnte (Spina et al. 1997), lässt sich für die weitere Forschung die Hypothese formulieren, dass das vermehrte und verstärkte Auftreten der unerwünschten Wirkungen bei IM und PM auf erhöhte Konzentrationen Dextromethorphan zurückzuführen ist. Dass auch EM trotz schneller Metabolisierung unter unerwünschten Wirkungen leiden, kann vermutlich auch auf den pharmakodynamisch sehr ähnlich wirkenden aktiven Metaboliten Dextrophan zurückgeführt werden (Pechnick et al. 2004) (siehe 1.1).

In der vorliegenden Arbeit wurden die unerwünschten Wirkungen, die mit Dextromethorphan assoziiert und aus ersten Beobachtungen neu ergaben (wie Schlafstörung), abgefragt (Fachinformation April 2007). Hierbei konnte gezeigt werden, dass PM und auch IM nach der Einnahme von Dextromethorphan vor allem häufiger unter Schlafstörungen leiden. Nach mündlichen Berichten der Probanden sind es Durchschlafstörungen. Sie berichteten, dass sie mitten in der Nacht (ca. sechs Stunden nach Einnahme) plötzlich aufwachten und hellwach waren. Die PM (n = 7) und IM (n = 2), die unter Schlafstörungen litten, erzählten von der gleichen Art Vorkommnissen. Auch das

Aufwachen und das subjektive Empfinden nach der Einnahme wurden, unabhängig voneinander, ähnlich beschrieben. Da Dextromethorphan zentral wirksam ist, treten die meisten unerwünschten Wirkungen im zentralen Nervensystem auf. Die neurologische Toxizität von Dextromethorphan äußert sich in Müdigkeit, Schwindel und Benommenheit. Schlaflosigkeit und Rastlosigkeit werden mit der Bindung von Dextromethorphan an D₂-Rezeptoren in Verbindung gebracht und zählen zu den manischen Symptomen (Drachtman et al. 2002). Dieser Mechanismus wird auch für die Halluzinationen unter hohen Dosen (Missbrauch) verantwortlich gemacht und ist eine mögliche Erklärung der nächtlichen Schlafstörungen. Bei eingeschränkter Metabolisierung (insbesondere bei PM) sind die Patienten einer 5,6-fach höheren Dextromethorphanplasmaspiegel exponiert (Dickinson et al. 2007), was vermuten lässt, dass diese sogar zum Abbruch der Studie bei einer Probandin führte und zeigt, dass diese Subpopulation der PM schon nach Gabe einer Einzeldosis Konzentrationen ausgesetzt sind, die sonst nur bei Personen auftreten und erwünscht werden, die Dextromethorphan missbräuchlich einsetzen. Demnach ist Dextromethorphan für PM kein geeignetes Präparat in der Selbstmedikation und entsprechend den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung selbst bei empfohlener Einzel- und Doppeldosis, also bestimmungsgemäßigem Gebrauch, vom Apotheker nicht zu empfehlen.

5.6 Aufmerksamkeit- und Reaktionsfähigkeit nach Dextromethorphaneinnahme

In der Packungsbeilage und der Fachinformation von Dextromethorphan befindet sich der Warnhinweis, dass die Einnahme von Dextromethorphan das Reaktionsvermögen durch die auftretende Müdigkeit soweit verändern kann, dass die Fähigkeit zur aktiven Teilnahme am Straßenverkehr beeinträchtigt wird (Fachinformation Hustenstiller ratiopharm 2007). Daher wurden in der vorliegenden Untersuchung 12 Stunden nach der jeweiligen Studienkapsel das Reaktionsvermögen und die Vigilanz getestet. Der Zeitraum von 12 Stunden nach Einnahme ergab sich aus der Tatsache, dass der Hustenstiller häufig aufgrund seiner sedierenden Eigenschaften zur Nacht von den Patienten eingenommen wird und in der vorliegenden Studie überprüft werden sollte, ob „am Morgen danach“ noch ein Sicherheitsrisiko für den Patienten besteht. Auch die Probanden nahmen Dextromethorphan vor dem Schlafengehen ein. Am nächsten Vormittag nahmen sie dann an Tests zur Überprüfung des Konzentrationsvermögens und der Reaktionsfähigkeit teil, die für wissenschaftliche Fragestellungen nach Arzneimitteleinnahmen regelmäßig von der Bundesanstalt für Strassenwesen eingesetzt werden. Dieser Test ist ein validierter, standardisierter und weitgehend intelligenzunabhängiger Test. Als ein typisches kommerziell verfügbares Testsystem wurde das so genannte „Wiener Test-System“ der Firma Schuhfried GmbH repräsentativ gewählt. Dieses System wurde bereits vielfach genutzt (Bundesanstalt für Strassenwesen, Larsen et al. 1999, Lautenbacher et al. 2002, Gaertner et al. 2006). In der Studie wurde als sekundärer Endpunkt zum einen die Vigilanz mit Hilfe der mittleren Reaktionszeit in Sekunden (s.) auf einen seltenen Reiz (hüpfender Punkt) am Bildschirm

und zum zweiten die Reaktionsfähigkeit über die Reaktionszeit (ms) auf einen Reiz (Ton und Farbe Gelb) gemessen. Die Ergebnisse dieser Tests zeigten eindeutig, dass Dextromethorphan 12 Stunden nach Einnahme selbst bei PM zu keiner klinisch bedeutenden Beeinträchtigung der Aufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit führt. Es ist in den vorliegenden Untersuchungen zwar ein Trend sichtbar, jedoch konnte unter der beobachteten Probandenzahl keine statistische Signifikanz ermittelt werden. Der Effekt einer eingeschränkten Reaktionsfähigkeit scheint nach den vorliegenden Untersuchungen nicht so groß und somit auch besonders für PM und IM nicht von so hoher Relevanz zu sein, dass er sich bereits in kleinen Probandengruppen zeigt. Dextromethorphan schränkt nach diesen Untersuchungen weder die Reaktionszeit noch die Aufmerksamkeit bei keinem der untersuchten Genotypen ein. Da kein Unterschied gemessen werden konnte, ist es unwahrscheinlich, dass eine verstärkte Einschränkung der Fahrtauglichkeit unter Dextromethorphan ca. 12 Stunden nach Einnahme zu erwarten ist. Dextromethorphan kann in Bezug auf die Reaktionszeit zu den sicheren Arzneimitteln gezählt werden – zumindest wenn es 12 Stunden nach der Einnahme gemessen wird. Im Einzelfall ist natürlich immer Vorsicht geboten, insbesondere dann, wenn Patienten zusätzlich sedierende Arzneimittel eingenommen haben oder die Nachtruhe im Alltag und eben nicht unter Studienbedingungen durch andere Ereignisse beeinträchtigt wurde. Das gilt jedoch nicht nur für PM und IM, sondern genauso für EM.

Untersuchungen von Effekten, deren Ursache hohe Dosen Dextromethorphan haben könnten, konzentrieren sich bisher auf die Wirkung von Dextrophan (Werling et al. 2007). So sind bisher auch nicht die Folgen von hohen Dextromethorphankonzentrationen im Plasma und im ZNS untersucht worden, denn der Hauptteil der Bevölkerung, ca. 80% der Bevölkerung, zählt zu den EM. Die Wirkungen konnten bisher nicht eindeutig der Muttersubstanz, oder dem Metaboliten zurückgeführt werden, da die Metabolisierungsrate von Dextromethorphan zu Dextrophan sehr hoch ist. Durch die genotypische Diskriminierung wird dies in dieser Arbeit erstmals möglich. Limitiert wird der Rückschluss nur durch eine fehlende Korrelation mit (parallel) gemessenen Plasmaspiegeln. Die Ergebnisse zeigen, dass die alkoholartigen Wirkungen bei PM auftreten. Die Effekte könnten also auf das Dextromethorphan zurückzuführen sein, das PM auch noch nach 24 Stunden erhöht im Blut und ZNS haben (Dickinson et al. 2007). EM haben den Arzneistoff zu diesem Zeitpunkt bereits eliminiert.

5.7 Erneute Einnahme von Dextromethorphan

Die Frage an die Probanden nach Teilnahme an der Studie, ob sie Dextromethorphan ohne Bedenken wieder einnehmen würden, lehnten 64% der PM dieses völlig ab. 15% der EM lehnten es eher ab, im Vergleich zu 18% der PM und 100% der IM. Die erlebten unerwünschten Arzneimittelwirkungen haben also, vor allem bei PM, einen nachhaltigen Eindruck hinterlassen. Die Kenntnis ihres eigenen Genotyps nimmt Einfluss bei allen Genotypus-Zugehörigen, wenn auch tendenziell wieder stärker bei PM. Diese Aussagen korrelieren mit dem Gefühl nach der Einnahme, bei dem sich PM schlechter fühlten als IM, denen es wiederum schlechter ging als EM. Dennoch würden PM und IM, und mit der

Ausnahme von zwei EM, auch diese Genotypgruppe andere Arzneimittel einnehmen. Eine andere Arbeitsgruppe hat den Einfluss des Genotyps auf die erneute Arzneimittelaufnahme bisher noch nicht untersucht.

Die Art der unerwünschten Wirkungen im Vergleich des studienbegleitenden Fragebogens zur Online-Befragung lässt sich objektiv nicht unterscheiden. Auf dem studienbegleitenden Fragebogen wurde nach einzelnen Beschwerden gefragt, die nicht näher klassifiziert wurden. Wenn ein Proband „Kopfschmerzen“ auf dem Fragebogen angegeben hatte, wurden diese, unabhängig von der Stärke oder der Kombination mit anderen unerwünschten Wirkungen, gewertet. Im Online-Fragebogen wurden diese Beschwerden nun im Gesamtempfinden ausdifferenziert. Es ist davon auszugehen, dass nur der Proband, der schwere oder als sehr einschränkend und unangenehm empfundene unerwünschte Arzneimittelwirkungen unter Dextromethorphan erlitt, diesen Wirkstoff aller Wahrscheinlichkeit nach nicht mehr einnehmen würde. Es wurde deutlich, dass PM im Gegensatz zu EM Dextromethorphan auf Grund der aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen nicht mehr einnehmen würden. Keiner der EM, obwohl diese zu 20% unerwünschte Arzneimittelwirkungen hatten, war der Meinung, dass er Dextromethorphan nicht wieder einnehmen würde.

Das Ergebnis der Umfrage, ob die Probanden nach Kenntnis ihres Genotyps zukünftig in Bezug der Verstoffwechslung nachfragen, zeigt auch, dass sich PM sehr für die Metabolisierung weiterer Arzneimittel interessieren. Dies ist nachvollziehbar, weil die PM die erlittenen unerwünschten Wirkungen als sehr unangenehm empfanden und diese sie bei den alltäglichen Aktivitäten sehr eingeschränkt haben. Das Risiko für unerwünschte Wirkungen sollte daher möglichst stark reduziert oder vermieden werden. Für die Gruppe der IM ist ein Schluss nur mit Vorbehalt zu ziehen, da hier nur vier beantwortete Bögen vorlagen. Aus diesen vier resultiert auch der 100%-Wert. Interessant ist, dass alle IM überlegten, ob sie Dextromethorphan wieder einnehmen würden, es also zwar nicht ausschließen, aber dem auch nicht voll zustimmten. Das entspricht dem Ergebnis, dass IM etwas schwächere unerwünschte Wirkungen als PM zeigten.

Der Therapieerfolg und die Arzneimitteltherapiesicherheit sind also vom CYP2D6-Genotyp abhängig und das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei PM ist sogar oftmals Therapie limitierend. Dextromethorphan ist demnach ein Arzneistoff, der nach dem Genotyp personalisiert dosiert bzw. für PM eine Alternative ausgewählt werden sollte.

5.8 Personalisierte Arzneimitteltherapie: Dosisempfehlung für Dextromethorphan in Anbetracht der diskutierten Ergebnisse

Die im Rahmen der Arbeit aufgezeigte eingeschränkte Arzneimitteltherapiesicherheit unter Dextromethorphan bei IM und PM unterstreicht, dass auch die Empfehlung zur Einnahme von Dextromethorphan personalisiert abgegeben werden sollte. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass insbesondere PM, aber auch IM, mehr unerwünschte Wirkungen schon nach der Einnahme einer Einzeldosis haben.

Aufmerksamkeit und Reaktionsfähigkeit sind 12 Stunden nach Einnahme nicht beeinträchtigt. Die schwere subjektive Beeinträchtigung der PM bereits durch die Einmaldosis von Dextromethorphan zeigt sich daran, dass PM Dextromethorphan nicht erneut einnehmen würden. Ein PM brach die Studie sogar ab. Welche Empfehlungen kann man den Patienten nun geben? Bei Kenntnis des Phäno- oder Genotyps für CYP2D6 könnte man eine Dosisanpassung durchführen. Das ist für die Arzneistoffgruppe der Antidepressiva und Neuroleptika von der Gruppe Kirchheiner empfohlen worden (Kirchheiner et al. 2001). Welche Dosisempfehlung aufgrund des Phäno- oder Genotyps sollte demnach für Dextromethorphan gegeben werden?

Es ist bekannt, dass die Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve (AUC) für Dextromethorphan infolge der erniedrigten Clearance (75 L/h vs. 20 L/h) bei PM 5,6-fach so hoch wie bei normalen Metabolisierern ist (Dickinson et al. 2007). In dem hier untersuchten Kollektiv wurde für 141 Probanden die metabolische CYP2D6-Kapazität bestimmt. Diese lag im Mittel bei $-2,42 \pm 0,4$ und die aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen waren positiv mit der metabolischen Kapazität korreliert. PM litten am meisten unter Nebenwirkungen und IM mehr als EM. Demnach ist es für Patienten sinnvoll, den CYP2D6- Genotyp bzw. Phänotyp zu kennen und die Dosis anzupassen. Grundlage zur Berechnung der Dextromethorphanosis für PM und IM bildet Folgendes:

Nach Angaben der Hersteller beträgt die Plasmaeliminationshalbwertszeit 1,2–2,2 Stunden, kann jedoch bei einem genetischen Polymorphismus (PM) bis zu 48 Stunden betragen (Fachinformation April 2007) und somit sehr stark variieren. Die Wirkung tritt nach 15–30 Minuten ein und die Dauer beträgt drei bis sechs Stunden. Ausgehend von diesen Angaben kann man einen Plasmaspiegelverlauf für einen PM simulieren. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt, dem oben genannten entsprechend, ca. das 20-fache und die Clearance ist um das 3,75-fache reduziert (Dickinson et al. 2007). Da Dextromethorphan eine lineare Pharmakokinetik besitzt, könnte für PM die Dosis um ca. $\frac{1}{4}$, also auf 5 mg Dextromethorphan, reduziert werden, um eine den schnellen Metabolisierer vergleichbare, systemische Verfügbarkeit zu erzielen. Bei dieser Dosisberechnung ist zu berücksichtigen, dass es sich hierbei um eine rein mathematischen Vorschlag handelt. Da es bei IM und PM auch unterschiedliche Metabolisierungskapazitäten gibt, ein jeder Mensch unterschiedlich stark pharmakodynamisch reagiert sind wahrscheinlich auch 5 mg nicht für alle eingeschränkten Metabolisierungstypen gleichermaßen geeignet. In einer weiteren klinischen Studie könnte diese Fragestellung untersucht werden. Pragmatisch könnte man allerdings auch sagen, dass man in Anbetracht des hohen Risikos der genannten unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei PM, für diese Personengruppe eine Therapie mit Dextromethorphan auch bei Einmal- bzw. Doppeldosis, also bei bestimmungsgemäßem Gebrauch, nicht empfiehlt sondern eine Therapiealternative im Rahmen der Selbstmedikation vorschlägt.

6 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit leisten einen Beitrag für die Arzneimitteltherapiesicherheit von Dextromethorphan in der Selbstmedikation. An diesem Arzneistoff konnte exemplarisch gezeigt werden, dass die Einnahme des freiverkäuflichen Hustenstillers insbesondere für PM, aber wahrscheinlich auch bei IM, nicht ausreichend sicher ist. Die Häufigkeit von PM und IM in unserer Bevölkerung beträgt zusammen ca. 23%. Damit handelt es sich bei diesen Ergebnissen um einen für unsere Bevölkerung sehr relevanten Beitrag für die Arzneimitteltherapiesicherheit. Für die hustenstillende Therapie könnte für diese Patientenpopulation ein alternativer Arzneistoff gewählt werden, wie zum Beispiel Pentoxyverin.

Die Ergebnisse der Umfrage haben gezeigt, dass Patienten Interesse an einer pharmakogenetischen Diagnostik haben, die helfen soll, unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu reduzieren. Sie möchten dafür von Ärzten und Apothekern gemeinsam beraten werden. Der Kenntnisstand zur Pharmakogenetik von beiden Berufsgruppen scheint jedoch nicht ausreichend, um auf ein Fachwissen schließen zu können, das geeignet wäre, dem Patienten beratend zur Seite zu stehen. Detaillierte Hintergrundinformationen beider Fachgruppen fehlen, um die pharmakogenetischen Aspekte für die Arzneimitteltherapie als Werkzeug zielsicher einsetzen zu können. Um eine gezielte Interpretation pharmakogenetischer Daten in der Praxis zu gewährleisten, sind Weiterbildungen erforderlich, aus denen sich dann eine Umsetzung in die Praxis für den Patienten ergeben kann.

Die durchgeführte regionale Verordnungsanalyse von Psychopharmaka öffnet aber auch den Blick über den Rand der Selbstmedikation hinaus und schlägt die Brücke zu verschreibungspflichtigen Arzneistoffen, die ebenfalls in hohem Umfang von CYP2D6 verstoffwechselt werden und mit 50% Verordnungshäufigkeit von klinischer Relevanz sind. Eine beratende Tätigkeit des Apothekers für den Arzt und den Patienten kann helfen, auch die Pharmakotherapie bei psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen, insbesondere für PM und IM, in Zukunft sicherer zu gestalten.

Die vorliegende Arbeit zeigt vor allem, wie wichtig die Dokumentation, Analyse und Bewertung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen in der Selbstmedikation durch den Apotheker sind. Es gibt nämlich keine andere Berufsgruppe, die für diese Arzneistoffe eine systematische Bewertung unmittelbar vornehmen könnte.

Im Rahmen der modernen Strategie einer personalisierten Arzneimitteltherapie kann die vorliegende Untersuchung hier sogar eine Vorbildfunktion einnehmen. Das vermehrte Auftreten unerwünschter Wirkungen bei IM und PM nach Dextromethorphaneinnahme zeigt, dass diese einem deutlich höheren Risiko schon bei der indizierten Dosis ausgesetzt sind und auch unter weiteren, in der Packungsbeilage nicht beschriebenen Nebenwirkungen (hier: Schlafstörungen), leiden. Entweder sollte bei PM und evtl. IM für Dextromethorphan die Dosis dem Genotyp entsprechend angepasst oder auf alternative Arzneistoffe zurückgegriffen werden. Diese Ergebnisse bilden eine Grundlage für Untersuchungen des pharmakogenetischen Einflusses des CYP2D6 auf andere CYP2D6-

relevant verstoffwechselte Arzneimittel(therapien). Die genotyp-spezifisch aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen sind nicht lebensbedrohlich. Sie können dennoch den Einzelnen im Alltag erheblich einschränken und im Einzelfall sogar sehr schwer sein, welches der Abbruch der Studie auf Grund zu starker unerwünschter Wirkungen eines PM zeigt. Genotyp-basierte Dosisanpassungen sind für manche Antidepressiva und Neuroleptika bereits veröffentlicht worden. Für die Therapie von PM mit Dextromethorphan wurde in dieser Arbeit erstmals ein Dosierungsregime vorgeschlagen, welches eine vergleichbare systemische Verfügbarkeit des Arzneistoffes wie bei EM zum Ziel hat. Es wäre sinnvoll, dieses für IM und PM zu prüfen, da die beschriebene Dosis-Empfehlung nur auf Grundlage der Pharmakokinetik abgegeben und die individuell sehr variierende Pharmakodynamik nicht berücksichtigt wurde. Ob eine Dosisadaption für IM und PM die Arzneimittelsicherheit und auch die Compliance für die Arzneistoffe erhöhen kann, die über dieses Enzym relevant verstoffwechselt werden, muss im Weiteren untersucht werden.

7 Zusammenfassung

Die Arzneimitteltherapie ist für den Gesundheitszustand und die Lebensqualität unserer Bevölkerung entscheidend. Durch Kosteneinsparungen im deutschen Gesundheitssystem kommt der Selbstmedikation in der Arzneimitteltherapie eine wachsende Bedeutung zu. Etwa 45% der Arzneimittelpackungen werden hier abgegeben. Für diese Patienten ist der Apotheker der primäre Ansprechpartner aber damit auch maßgeblich für die Arzneimitteltherapiesicherheit verantwortlich, die häufig unzureichend bekannt ist. In der vorliegenden Arbeit wurde daher systematisch die Arzneimitteltherapiesicherheit eines in der Selbstmedikation wichtigen Hustenstillers, nämlich Dextromethorphan, untersucht. Die Frage war, ob sich eine Personengruppe auf der Grundlage des Genotyps von Cytochrom P450 2D6 identifizieren lässt, für die die Arzneimitteltherapiesicherheit bei Einnahme von Dextromethorphan gefährdet ist und die damit vor Beginn der Therapie identifiziert und dann speziell beraten werden sollte.

Die Ergebnisse der durchgeführten Plazebo-kontrollierten prospektiven Probandenstudie ergaben, dass selbst unter Dextromethorphan in üblicher Einmal- oder Doppeldosis bei langsamen (PM) und eingeschränkten Metabolisierern (IM) erhebliche unerwünschte Wirkungen wie Schlaflosigkeit, Übelkeit, Schwindel und Kopfschmerzen auftreten, die bei einem PM-Probanden sogar zum Abbruch der Studie geführt haben. PM hatten schon nach Einnahme einer Einzeldosis gegenüber normalen Metabolisierern (EM) ein 4-fach erhöhtes Risiko für unerwünschte Arzneimittelwirkungen, IM ein 3-fach höheres Risiko ($p < 0,05$). Die Bedeutung dieser unerwünschten Wirkung wird deutlich in der Befragung der Probanden nach Beendigung der Studie: 82% der PM im Vergleich zu 7% der EM würden Dextromethorphan nicht wieder einnehmen. Die Aufmerksamkeit oder Reaktionszeit 12 Stunden nach Einnahme von Dextromethorphan war jedoch nicht beeinträchtigt. Folgerichtig sollte also mindestens die Personengruppe der PM vor Therapiebeginn durch Genotypisierung oder Phänotypisierung identifiziert werden. Ihnen könnte entweder eine Dosisanpassung, im Sinne einer deutlich niedrigeren Dextromethorphanosis, oder ein Ausweichen auf einen anderen Arzneistoff empfohlen werden. Die Wichtigkeit der Untersuchung wird deutlich, weil PM und IM zusammengenommen ca. 23% unserer Bevölkerung ausmachen. Mit dieser Therapiestrategie der personalisierten oder stratifizierten Arzneimitteltherapie kann der Apotheker demnach einen wichtigen Beitrag zur Arzneimitteltherapiesicherheit im Rahmen der Selbstmedikation leisten.

Dass ein eingeschränkter bzw. fehlender CYP2D6-Metabolismus nicht nur im Rahmen der Selbstmedikation von Dextromethorphan von Bedeutung ist, zeigt die durchgeführte regionale Verordnungsanalyse von Psychopharmaka: immer noch werden zu ca. 50% Arzneistoffe verordnet, die über CYP2D6 verstoffwechselt werden. Wie eine weitere Umfrage im Rahmen dieser Dissertation ergab, reicht im Augenblick das Fachwissen von Apothekern und Ärzten noch nicht aus, um eine adäquate Beratung in pharmakogenetischen Fragestellungen auszuüben. Es besteht demnach dafür dringender Fort- und Weiterbildungsbedarf beider Berufsgruppen.

7.1 Summary

Pharmacotherapy is important for improving the quality of life of our population. Recent cost cutting in healthcare is causing an increase in self-directed pharmacotherapy. Around 45% of all medication is given over the counter. The pharmacist is the primary person to contact those patients and is responsible for effective pharmacotherapy, though the most effective treatment is often undetermined. In this work the pharmaceutical safety of an important cough suppressant, Dextromethorphan, was systematically examined. The question analysed was whether people with a higher risk of side effects from Dextromethorphan can be identified prior to treatment by their Cytochrom P450 2D6 genotype and whether personalized therapy can then be prescribed.

Results of the performed placebo-controlled volunteer study showed that when administered single or double doses, poor metabolizers (PM) and intermediate metabolizers (IM) suffer from severe side-effects just like insomnia, drowsiness, nausea and headache. This led to a termination of participation in the study. The risk of adverse reactions increased four-fold for PM compared to extensive metabolizers (EM) and three-fold for IM ($p < 0.05$). The significance of these adverse reactions becomes evident in the survey taken after the study: 82% of PM compared to 7% of EM would not take Dextromethorphan again. Reaction-time and vigilance measured 12 hours after drug intake were not reduced. Thus, at least the PM group should be identified by geno- or phenotyping before they are put on therapy with Dextromethorphan and treated accordingly. Using a lower dose or choosing a different drug is highly recommended for these patients. The importance of this work becomes clear since PM and IM account for ca. 23 % of our population. Sticking to this therapeutic strategy of personalized or stratified pharmacotherapy, the pharmacist can improve self-medicated pharmacotherapy.

The fact that CYP2D6-metabolism is relevant for Dextromethorphan medication was shown in a regional prescription analysis of antipsychotic drugs; ca. 50 % of antipsychotic drugs prescribed were found to be metabolized by CYP2D6. Another survey showed that pharmacists and doctors are not yet educated to advise patients adequately in pharmacogenetic questions. An urgent demand for training for these caregivers exists.

8 Literaturverzeichnis

Abdul Manap R, Wright CE, Gregory A, Rostami-Hodjegan A, Meller ST, Kelm GR, et al. The antitussive effect of dextromethorphan in relation to CYP2D6 activity. *Br J Clin Pharmacol* 1999;48:382-7.

Banerji S, Anderson IB. Abuse of Coricidin HBP cough & cold tablets: episodes recorded by a poison center. *Am J Health Syst Pharm* 2001;58:1811-4.

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.

Bertilsson L, Dahl ML, Sjoqvist F, Aberg-Wistedt A, Humble M, Johansson I, et al. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet* 1993;341:63.

Bertilsson L, Dahl ML, Tybring G. Pharmacogenetics of antidepressants: clinical aspects. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1997;391:14-21.

Bijl RV, De Graaf R, Ravelli A, Smit F, Vollebergh WA. Gender and age-specific first incidence of DSM-III-R psychiatric disorders in the general population. Results from the Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study (NEMESIS). *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2002;37:372-9.

Bock KW, Schrenk D, Forster A, Griese EU, Morike K, Brockmeier D, Eichelbaum M. The influence of environmental and genetic factors on CYP2D6, CYP1A2 and UDP-glucuronosyltransferases in man using sparteine, caffeine, and paracetamol as probes. *Pharmacogenetics* 1994;4:209-18.

Brockmoller J, Kirchheiner J, Schmider J, Walter S, Sachse C, Muller-Oerlinghausen B, Roots I. The impact of the CYP2D6 polymorphism on haloperidol pharmacokinetics and on the outcome of haloperidol treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:438-52.

Broly F, Gaedigk A, Heim M, Eichelbaum M, Morike K, Meyer UA. Debrisoquine/sparteine hydroxylation genotype and phenotype: analysis of common mutations and alleles of CYP2D6 in a European population. *DNA Cell Biol* 1991;10:545-58.

Brosen K. The relationship between imipramine metabolism and the sparteine oxidation polymorphism. *Dan Med Bull* 1988;35:460-8.

Bryner JK, Wang UK, Hui JW, Bedodo M, MacDougall C, Anderson IB. Dextromethorphan abuse in adolescence: an increasing trend: 1999-2004. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006;160:1217-22.

Bundesanstalt für Strassenwesen. Arzneimittel und Fahrtüchtigkeit- Metaanalyse experimenteller Studien. *Wirtschaftsverlag NW*, 1997.

Bundesministerium für Gesundheit. Aktionsplan 2008/2009 zur Verbesserung der Arzneimitteltherapeusicherheit (AMTS) in Deutschland, 29.November 2007.

- Capon DA**, Bochner F, Kerry N, Mikus G, Danz C, Somogyi AA. The influence of CYP2D6 polymorphism and quinidine on the disposition and antitussive effect of dextromethorphan in humans. *Clin Pharmacol Ther* 1996;60:295-307.
- Chladek J**, Zimova G, Beranek M, Martinkova J. In-vivo indices of CYP2D6 activity: comparison of dextromethorphan metabolic ratios in 4-h urine and 3-h plasma. *Eur J Clin Pharmacol* 2000;56:651-7.
- Chou WH**, Yan FX, de Leon J, Barnhill J, Rogers T, Cronin M, et al. Extension of a pilot study: impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness. *J Clin Psychopharmacol* 2000;20:246-51.
- Chou WH**, Yan FX, Robbins-Weilert DK, Ryder TB, Liu WW, Perbost C, et al. Comparison of two CYP2D6 genotyping methods and assessment of genotype-phenotype relationships. *Clin Chem* 2003;49:542-51.
- Colette D**, Thürmann P. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen. *Dtsch Med Wochenschr* 2002;1025-28.
- Dahl ML**. Cytochrome p450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics: useful aid to prescribing? *Clin Pharmacokinet* 2002;41:453-70.
- De Leon J**, Susce MT, Pan RM, Fairchild M, Koch WH, Wedlund PJ. The CYP2D6 poor metabolizer phenotype may be associated with risperidone adverse drug reactions and discontinuation. *J Clin Psychiatry* 2005;66:15-27.
- DeVane CL**, Markowitz JS. Psychoactive drug interactions with pharmacotherapy for diabetes. *Psychopharmacol Bull* 2002;36:40-52.
- Dickinson GL**, Rezaee S, Proctor NJ, Lennard MS, Tucker GT, Rostami-Hodjegan A. Incorporating in vitro information on drug metabolism into clinical trial simulations to assess the effect of CYP2D6 polymorphism on pharmacokinetics and pharmacodynamics: dextromethorphan as a model application. *J Clin Pharmacol* 2007;47:175-86.
- Dorsch F**. *Psychologisches Wörterbuch*. Verlag Hans Huber, Bern, 1994.
- Drachtman RA**, Cole PD, Golden CB, James SJ, Melnyk S, Aisner J, Kamen BA. Dextromethorphan is effective in the treatment of subacute methotrexate neurotoxicity. *Pediatr Hematol Oncol* 2002;19:319-27.
- Eap CB**, Bondolfi G, Zullino D, Savary-Cosendai L, Powell-Golay K, Kosel M, Baumann P. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. *J Clin Psychopharmacol* 2001;21:330-4.
- Ebert U**, Kirch W. Effects of captopril and enalapril on electroencephalogram and cognitive performance in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1999;55:255-7.
- Eichelbaum M**, Ingelman-Sundberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med* 2006;57:119-37.

- Ereshfsky L**, Dugan D. Review of the pharmacokinetics, pharmacogenetics, and drug interaction potential of antidepressants: focus on venlafaxine. *Depress Anxiety* 2000;12 Suppl 1:30-44.
- Evans WE**, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 2003;348:538-49.
- Evans WE**, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487-91.
- Fachinformation**. Hustenstiller ratiopharm Dextromethorphan. Ratiopharm GmbH April 2007.
- Flockhard D**. Drug interactions: Cytochrome P450 Drug interaction table. <http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm> (Accessed 2008).
- Food and Drug Administration**. Drug Development and Drug Interactions: Table of Substrates, Inhibitors and Inducers. www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm081177.htm (Accessed 2008).
- Food and Drug Administration**. FDA warns against abuse of Dextromethorphan. www.fda.gov/bbs/topics/ANSWERS/2005/ANS01360.html (Accessed 2008).
- Funck-Brentano C**, Boelle PY, Verstuyft C, Bornert C, Becquemont L, Poirier JM. Measurement of CYP2D6 and CYP3A4 activity in vivo with dextromethorphan: sources of variability and predictors of adverse effects in 419 healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:821-9.
- Funck-Brentano C**, Thomas G, Jacqz-Aigrain E, Poirier JM, Simon T, Bereziat G, Jaillon P. Polymorphism of dextromethorphan metabolism: relationships between phenotype, genotype and response to the administration of encainide in humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;263:780-6.
- Gaedigk A**, Blum M, Gaedigk R, Eichelbaum M, Meyer UA. Deletion of the entire cytochrome P450 CYP2D6 gene as a cause of impaired drug metabolism in poor metabolizers of the debrisoquine/sparteine polymorphism. *Am J Hum Genet* 1991;48:943-50.
- Gaertner J**, Radbruch L, Giesecke T, Gerbershagen H, Petzke F, Ostgathe C, et al. Assessing cognition and psychomotor function under long-term treatment with controlled release oxycodone in non-cancer pain patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:664-72.
- Gaskell S**. Europeans and Biotechnology in 2005: Patterns and Trends. Eurobarometer 64, 2005.
- Gesundheitsberichtserstattung des Bundes**. Gesundheitsbericht, Gesundheit in Deutschland 2006. (Accessed 2008).

- Gesundheitsberichtserstattung des Bundes**, Bundesvereinigung deutscher Apothekerverbände. Arzneimittelumsatz in Apotheken. www.gbe-bund.de (Accessed 2009).
- Goetz MP**, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW, et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol* 2005;23:9312-8.
- Griese EU**, Zanger UM, Bruderhans U, Gaedigk A, Mikus G, Morike K, et al. Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* 1998;8:15-26.
- Hersberger M**, Marti-Jaun J, Rentsch K, Hanseler E. Rapid detection of the CYP2D6*3, CYP2D6*4, and CYP2D6*6 alleles by tetra-primer PCR and of the CYP2D6*5 allele by multiplex long PCR. *Clin Chem* 2000;46:1072-7.
- Ingelman-Sundberg M**, Oscarson M, Daly AK, Garte S, Nebert DW. Human cytochrome P-450 (CYP) genes: a web page for the nomenclature of alleles. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:1307-8.
- Ingelman-Sundberg M**, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther* 2007;116:496-526.
- Jacqz-Aigrain E**, Funck-Brentano C, Cresteil T. CYP2D6- and CYP3A-dependent metabolism of dextromethorphan in humans. *Pharmacogenetics* 1993;3:197-204.
- Jasper H**, Sharpless S. Habituation of the arousal reaction. *Brain* 1956;79:655-80.
- Johansson I**, Lundqvist E, Bertilsson L, Dahl ML, Sjoqvist F, Ingelman-Sundberg M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:11825-9.
- Jurima-Romet M**, Foster BC, Casley WL, Rode A, Vloshinsky P, Huang HS, Geertsen S. CYP2D6-related oxidation polymorphism in a Canadian Inuit population. *Can J Physiol Pharmacol* 1997;75:165-72.
- Kirages TJ**, Sule HP, Mycyk MB. Severe manifestations of coricidin intoxication. *Am J Emerg Med* 2003;21:473-5.
- Kirchheiner J**, Brosen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, et al. 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**, Meineke I, Muller G, Roots I, Brockmoller 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**, Nickchen K, Bauer M, Wong ML, Licinio J, Roots I, Brockmoller J. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 2004;9:442-73.

Kleespies C. Begriffe und Methoden der evidenzbasierten Medizin. Ein Glossar. <http://www.di-em.de/publikationen.php> (Accessed 2009).

Kohler D, Hartter S, Fuchs K, Sieghart W, Hiemke C. CYP2D6 genotype and phenotyping by determination of dextromethorphan and metabolites in serum of healthy controls and of patients under psychotropic medication. *Pharmacogenetics* 1997;7:453-61.

Larsen B, Otto H, Dorscheid E, Larsen R. [Effects of long-term opioid therapy on psychomotor function in patients with cancer pain or non-malignant pain]. *Anaesthesist* 1999;48:613-24.

Lautenbacher S, Sernal J, Krieg JC. Divided and selective attention in panic disorder. A comparative study of patients with panic disorder, major depression and healthy controls. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2002;252:210-3.

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.

Lichtenberg FR. Zwischen Nutzen und Kritik: Der Einfluß von Arzneimitteln auf das Gesundheitssystem. Vol. 4. Schweizerischer Kongress für Gesundheitsökonomie und Gesundheitswissenschaften, Bern 2007.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C(T)} Method. *Methods* 2001;25:402-8.

Mackworth JF. Performance Decrement In Vigilance, Threshold, And High-Speed Perceptual Motor Tasks. *Can J Psychol* 1964;18:209-23.

Maly J, Quatember R. [Neuropsychology of frontobasal and frontoconvex brain lesions]. *Z Klin Psychol Psychother* 1980;28:267-76.

Manaboriboon B, Chomchai C. Dextromethorphan abuse in Thai adolescents: A report of two cases and review of literature. *J Med Assoc Thai* 2005;88 Suppl 8:S242-5.

Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, et al. Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics* 1997;7:193-202.

McElroy S, Sachse C, Brockmoller J, Richmond J, Lira M, Friedman D, et al. CYP2D6 genotyping as an alternative to phenotyping for determination of metabolic status in a clinical trial setting. *AAPS PharmSci* 2000;2:E33.

McQuay HJ, Moore RA. Using numerical results from systematic reviews in clinical practice. *Ann Intern Med* 1997;126:712-20.

Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000;356:1667-71.

Meyer UA, Zanger UM. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37:269-96.

- 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.
- Muller B**, Zopf K, Bachofer J, Steimer W. Optimized strategy for rapid cytochrome P450 2D6 genotyping by real-time long PCR. *Clin Chem* 2003;49:1624-31.
- Mullis KB**, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987;155:335-50.
- Omura T**, Sato R, Cooper DY, Rosenthal O, Estabrook RW. Function of cytochrome P-450 of microsomes. *Fed Proc* 1965;24:1181-9.
- Otani K**, Aoshima T. Pharmacogenetics of classical and new antipsychotic drugs. *Ther Drug Monit* 2000;22:118-21.
- Parasuraman RD**. Varieties of attention.: Academic Press, New York 1984.
- Pechnick RN**, Poland RE. Comparison of the effects of dextromethorphan, dextrorphan, and levorphanol on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;309:515-22.
- Quality Interagency Coordination Task Force**. Doing What Counts for Patient Safety: Federal Actions to Reduce Medical Errors and Their Impact.
- Quatember R**, Maly J. Neuropsychological methods of examination of age-specific performance parameters. *Wien Med Wochenschr* 1980;130:688-92.
- Rau T**, Wohlleben G, Wuttke H, Thuerauf N, Lunkenheimer J, Lanczik M, Eschenhagen T. CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants-a pilot study. *Clin Pharmacol Ther* 2004;75:386-93.
- Röhm S**, Schmidt D, Laer S. Was wissen wir über Pharmakogenetik. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 2008;27:3034.
- Röhm S**, Stürer S, Pietsch J, Laer S. Dextromethorphan- Ein Hustenmittel? *Dtsch. Apoth. Ztg.* 2007;31:42-8.
- Sachse C**, Brockmoller 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.
- Schaeffeler E**, Schwab M, Eichelbaum M, Zanger UM. CYP2D6 genotyping strategy based on gene copy number determination by TaqMan real-time PCR. *Hum Mutat* 2003;22:476-85.
- Schmid B**, Bircher J, Preisig R, Kupfer A. Polymorphic dextromethorphan metabolism: co-segregation of oxidative O-demethylation with debrisoquin hydroxylation. *Clin Pharmacol Ther* 1985;38:618-24.
- Schmid D**, Laer S. Wege aus der Depression. Wenn pharmakogenetische Besonderheiten eine antidepressive Therapie ins Leere laufen lassen. *Dtsch. Apoth. Ztg.* 2009;26.

- Schmid D**, Laeer S. Wenn der Schmerz nicht nachlässt. Dtsch. Apoth. Ztg. 2009;18.
- Schmid D**, Laeer S. Wenn die Blutgerinnung nicht zu hemmen ist. Dtsch. Apoth. Ztg. 2009;9.
- Schmid D**, Laeer S. Wenn Helicobacter pylori sich nicht ausrotten lässt. Dtsch. Apoth. Ztg. 2009;49.
- Schuhfried DG**. Reaktionstest, Version 29.00. Kurzbezeichnung Reaktionstest Mai, 2006.
- Schuhfried GS**. Verkehrspsychologische Testbatterie nach FEV Anlage 5 Nr.2. Katalog 1996.
- Schwab M**, Marx C, Zanger U, Eichelbaum M. Pharmakokinetik der Zytochrom-P-450-Enzyme. Dtsch Arztebl 2002;99:A497-504 (Heft 8).
- Schwab M**, Zanger UM, Eichelbaum M. Pharmakokinetik der Zytochrom-P-450-Enzyme. Dtsch Arztebl 2002;99:A497-504 (Heft 8).
- Schwabe U**, Paffrath, D. Arzneiverordnungsreport 2008: Springer Verlag, 2008.
- Spigset O**, Granberg K, Hagg S, Soderstrom E, Dahlqvist R. Non-linear fluvoxamine disposition. Br J Clin Pharmacol 1998;45:257-63.
- 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.
- Steimer W**, Zopf K, von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J, et al. Allele-specific change of concentration and functional gene dose for the prediction of steady-state serum concentrations of amitriptyline and nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 extensive and intermediate metabolizers. Clin Chem 2004;50:1623-33.
- Steimer W**, Zopf K, von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J, et al. Amitriptyline or not, that is the question: pharmacogenetic testing of CYP2D6 and CYP2C19 identifies patients with low or high risk for side effects in amitriptyline therapy. Clin Chem 2005;51:376-85.
- Sturm W**. Aufmerksamkeitsstörungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart:1989.
- The Institute for Safe Medication Practices Canada**. Getting Started Kit: Medication Reconciliation in Long-Term Care Prevention of Adverse Drug Events How-to Guide. Quebec campaign March 2008;1.0:1-83.
- Tomaszewski P**, Kubiak-Tomaszewska G, Pachecka J. Cytochrome P450 polymorphism-molecular, metabolic, and pharmacogenetic aspects. II. Participation of CYP isoenzymes in the metabolism of endogenous substances and drugs. Acta Pol Pharm 2008;65:307-18.
- Ward SA**, Walle T, Walle UK, Wilkinson GR, Branch RA. Propranolol's metabolism is determined by both mephenytoin and debrisoquin hydroxylase activities. Clin Pharmacol Ther 1989;45:72-9.

Werling LL, Lauterbach EC, Calef U. Dextromethorphan as a potential neuroprotective agent with unique mechanisms of action. *Neurologist* 2007;13:272-93.

Wijnen PA, Op den Buijsch RA, Drent M, Kuipers PM, Neef C, Bast A, et al. Review article: The prevalence and clinical relevance of cytochrome P450 polymorphisms. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26 Suppl 2:211-9.

Wittchen HU. Psychische Störungen in Deutschland und der EU, Größenordnung und Belastung. 2005.

Woodworth JR, Dennis SR, Hinsvark ON, Amsel LP, Rotenberg KS. Bioavailability evaluation of a controlled-release dextromethorphan liquid. *J Clin Pharmacol* 1987;27:133-8.

Woodworth JR, Dennis SR, Moore L, Rotenberg KS. The polymorphic metabolism of dextromethorphan. *J Clin Pharmacol* 1987;27:139-43.

Yamamoto T, Itoga H, Kohno Y, Nagata K, Yamazoe Y. Prediction of oral clearance from in vitro metabolic data using recombinant CYPs: comparison among well-stirred, parallel-tube, distributed and dispersion models. *Xenobiotica* 2005;35:627-46.

Yamazaki H, Guo Z, Persmark M, Mimura M, Inoue K, Guengerich FP, Shimada T. Bufuralol hydroxylation by cytochrome P450 2D6 and 1A2 enzymes in human liver microsomes. *Mol Pharmacol* 1994;46:568-77.

Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004;369:23-37.

Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem* 2008;392:1093-108.

Teile der vorliegenden Arbeit und weitere Forschungsprojekte wurden bereits wie folgt publiziert oder sind in Vorbereitung:

I. Originalarbeiten

Röhm S, Stürer S, Pietsch J, Läer S. Dextromethorphan - Ein Hustenmittel? Deutsche Apotheker Zeitung 2007;31:42-8.

Röhm S, Schmidt D, Läer S. Was wissen wir über Pharmakogenetik. Dtsch. Apoth. Ztg. 2008;27:3034.

Gorny M, Röhm S, Läer S, Niehues T. Pharmacogenomic Adaptation of Antiretroviral Therapy: Overcoming the Failure of Lopinavir in an African Infant with CYP2D6 Ultra Rapid Metabolism. Eur J Clin Pharmacol, im Druck 2009.

II. Vorträge und Poster mit publiziertem Abstract

Röhm S, Frobel A-K, Tot E, Läer S. Actual necessity of predictive CYP2D6-gendiagnosics in psychiatric therapy. PSWC-Meeting 2007. Final Program and Abstracts 2004: 44 (2007).

Röhm S, Frobel A-K, Tot E, Läer S. Actual necessity of predictive CYP2D6-gendiagnosics in psychiatric therapy. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 375 Supplement, R 537 (2007).

9 Anhang

9.1 Abkürzungsverzeichnis

AD	Antidepressiva
AE	Unerwünschtes Ereignis
AIR	Engl.: absolute risk increase= absolute Risikoerhöhung
AMG	Arzneimittelgesetz
ANOVA	Engl.: Analysis of variance = Varianzanalyse
DEX	Dextromethorphan
DDD	Engl. defined daily doses, tägliche Tagesdosen
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DTX	Dextrorphan
DME assay	Drug metabolizing enzyme assay (Firma Applied Biosystems)
EM	Extensive metabolizer
FEV2	Fahreignungsverfahren Nummer 2
ID	Identifikationsnummer
IM	Intermediate metabolizer
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KOH	Kaliumhydroxid
l	Liter
ln	Natürlicher Logarithmus zur Basis e
Min	Zeitmessung in Minuten
MR	Metabolische Ratio
ms	Zeitmessung in Millisekunden
NR	Neuroleptika
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
MW	Arithmetischer Mittelwert

n	Anzahl
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
p	Wahrscheinlichkeit
PCR	Engl.: Polymerase-Chain-Reaktion= Polymerase-Kettenreaktion
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der H_3O^+ -Konzentration
PK	Pharmakokinetik
PM	Poor metabolizer
rpm	Engl.: Rotations per minute = Umdrehungen pro Minute
PPV	Engl. positive predicted value= positiv vorhergesagter Wert
NPV	Engl.: negative predicted value= negativ vorhergesagter Wert
s	Zeitangabe Sekunden
SD	Standardabweichung
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
URM	Ultra rapid metabolizer, ultra schneller Metabolisierer
Vs.	versus, lat. gegenüber
WTS	Wiener Test System

9.2 Abbildungsverzeichnis

Liste der in der Arbeit dargestellten Abbildungen:

Abbildung 1:	Metabolisierung von Dextromethorphan über CYP2D6. _____	5
Abbildung 2:	Ausschnitt aus einem Ideogramm des Chromosoms 22. Im Abschnitt 22q13.1 liegt das Gen für CYP2D6. _____	7
Abbildung 3:	Allgemeine Fragen der Umfrage an Ärzte, Apotheker und Patienten. _____	14
Abbildung 4:	Fragen des Wissenstests an Ärzte und Apotheker. _____	15
Abbildung 5:	Chromatogramme der Phänotypisierung. _____	23
Abbildung 6:	Schema für das allgemeine Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion. _____	25
Abbildung 7:	Schema der Polymerase Kettenreaktion nach dem TaqMan-Prinzip: _____	27
Abbildung 8:	Grundannahmen eines sequentiellen und eines parallelen Reizverarbeitungs-modells. _____	35
Abbildung 9:	Fragebogen zum Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen nach der Einnahme einer Studienkapsel. _____	36
Abbildung 10:	Online-Fragebogen zur erneuten Arzneimitteleinnahme nach Kenntnis des eigenen CYP2D6-Genotyps. _____	37
Abbildung 11:	Richtige Antworten in Prozent der Fragen des Wissenstests von Ärzten und Apothekern. In dunkelgrau dargestellt sind die Ergebnisse der Apotheker, in hellgrau die der Ärzte. $*=p<0,05$ _____	43
Abbildung 12:	In der ärztlichen Praxis verschriebene Antidepressiva und Neuroleptika. _____	46
Abbildung 13:	In der Apotheke verschriebene Antidepressiva und Neuroleptika. _____	47
Abbildung 14:	Ermittelte Effizienzen aus den Amplifikationsplots des Referenzgens Albumin (schwarzes Quadrat) und des Zielgens CYP2D6 (graue Raute). _____	50
Abbildung 15:	Darstellung der Amplifikationplots zur Ermittlung der Anzahl an CYP2D6 Genen in Relation zu Albumin (fehlend oder dubliert). _____	51
Abbildung 16:	Darstellung der Amplifikationplots zur Ermittlung der CYP2D6 Allele. _____	52
Abbildung 17:	Häufigkeitsverteilung der metabolischen Kapazität (MR) für die drei CYP2D6 Genotypen EM, IM und PM in Düsseldorf bei 141 untersuchten gesunden Probanden. _____	56
Abbildung 18:	Korrelation des Genotyps zur metabolischen Kapazität von CYP2D6 ($\log MR_{DEX}$). _____	57

Abbildung 19: Auftretenswahrscheinlichkeit unerwünschter Wirkungen in der Gesamtpopulation nach Plazebo, Einzel- (22 mg) und Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan. _____	58
Abbildung 20: Aufgliederung der Auftretenswahrscheinlichkeit in Prozent unerwünschter Wirkungen unter Plazebo, Einzeldosis (22 mg) und Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan in Abhängigkeit des Genotyps. _____	60
Abbildung 21: Prozent einzelner unerwünschter Wirkungen in Prozent unter Plazebo, Einzeldosis (22 mg), Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan in der Gesamtpopulation. _____	62
Abbildung 22: Prozent einzelner unerwünschter Wirkungen unter Plazebo, Einzel- (22 mg) und Doppeldosis (44 mg) Dextromethorphan in Abhängigkeit vom Genotyp. _____	64
Abbildung 23: Mittelwert der Reaktionszeit bei richtig reagierten Reizen des Vigilanztests unter Plazebo, Einzel- (= 22 mg) und Doppeldosis (= 44 mg) Dextromethorphan für die verschiedenen Genotypen. _____	70
Abbildung 24: Mittlere Reaktionszeit des Reaktionstests der verschiedenen Genotypen unter Plazebo, Einzel- (= 22 mg) und Doppeldosis (= 44 mg) Dextromethorphan. _____	73
Abbildung 25: Ergebnisse des Online-Fragebogens: Ich würde Dextromethorphan ohne Bedenken wieder einnehmen. _____	77
Abbildung 26: Ergebnisse des Online-Fragebogens: Ich würde andere Arzneimittel ohne Bedenken wieder einnehmen. _____	78
Abbildung 27: Ergebnisse des Frage des Online-Fragebogens: Seitdem ich meinen CYP2D6-Genotyp kenne, bin ich mit Arzneimitteln vorsichtiger und frage bezüglich der Verstoffwechslung nach. _____	80

9.3 Tabellenverzeichnis

Liste der in der Arbeit dargestellten Tabellen:

Tabelle 1:	Bezeichnung der untersuchten CYP2D6-Allele mit dem zugrunde liegenden Basenaustausch und die Auswirkung auf die Proteinsynthese _____	8
Tabelle 2:	Charakteristika der Befragten _____	42
Tabelle 3:	Fragenzusammenstellung und Ergebnisse (% richtige Antworten) der Umfrage bei Ärzten, Apothekern und Patienten _____	44
Tabelle 4:	Übersicht der ermittelten Daten aus der psychiatrisch-neurologischer Praxis und der Apotheke _____	45
Tabelle 5:	Charakteristika der in die Studie eingeschlossenen Probanden _____	49
Tabelle 6:	Vergleich der Häufigkeiten des Auftretens einzelner Single Nukleotide Polymorphismen (SNP) der vorliegenden Studie mit Literaturdaten (Marez et al. 1997, Sachse et al. 1997, Griese et al. 1998) _____	54
Tabelle 7:	Grenzwerte für die Kategorisierung von PM, IM und EM nach der Phänotypisierung mit Dextromethorphan _____	55
Tabelle 8:	Übersicht der unerwünschten Wirkungen in der Gesamtpopulation und den Genotypen extensive Metabolisierer (EM), intermediäre Metabolisierer (IM) und langsame Metabolisierer (PM) _____	65
Tabelle 9:	Spezifität und Sensitivität der Vorhersage des Genotyps an Hand von UAW _____	66
Tabelle 10:	Berechnung der number needed to harm (NNH) _____	68
Tabelle 11:	Übersicht der Reaktionszeiten des Vigilanztests _____	70
Tabelle 12:	Übersicht der Reaktionszeiten des Reaktionstests _____	74
Tabelle 13:	Charakteristika der Befragten des Online-Fragebogens _____	75
Tabelle 14:	Ergebnisse der internen Validierung der Genotypisierung von CYP2D6 _____	113
Tabelle 15:	Ergebnisse der externen Validierung Epidaurus Biotechnologie AG _____	113
Tabelle 16:	Übersicht der Auswertung des Online-Fragebogens _____	115

Tabelle 14: Ergebnisse der internen Validierung der Genotypisierung von CYP2D6

Proband	Untersucher 1	Untersucher 2	Übereinstimmung	
			ja = 1	nein = 0
001	*1/*4	*1/*4	1	
002	*1/*4	*1/*4	1	
003	*1/*1	*1/*1	1	
004	*1/*1	*1/*1	1	
005	*1/*5	*1/*5	1	
006	*5/*6	*4/*6	1	
007	*1/*4	*1/*4	1	
008	*1/*1	*1/*1	1	
009	*1/*1	*1/*1	1	
010	*1/*4	*1/*4	1	
011	*1/*1	*1/*1	1	
012	*1/*1	*1/*1	1	
013	*5/*5	*5/*5	1	
014	*4/*1	*4/*1	1	
015	*1/*1	*1/*1	1	
016	*4/*1	*4/*1	1	
017	*4/*4	*4/*4	1	
018	*4/*1	*4/*1	1	
019	*4/*5	*4/*5	1	
020	*4/*4	*4/*4	1	
021	*1/*1	*1/*1	1	
022	*1/*1	*1/*1	1	
023	*1/*1	*1/*1	1	
024	*1/*1	*1/*1	1	
025	*1/*1	*1/*1	1	
026	*1/*1	*1/*1	1	
027	*1/*1	*1/*1	1	
028	*1/*1	*1/*1	1	
029	*1/*1	*1/*1	1	
030	*1/*1	*1/*1	1	
031	*1/*1	*1/*1	1	
032	*1/*5	*1/*5	1	
033	*1/*1	*1/*1	1	
034	*1/*5	*1/*5	1	
035	*1/*1	*1/*1	1	
036	*1/*1	*1/*1	1	
037	*1/*1	*1/*1	1	
038	*1/*1	*1/*1	1	
039	*1/*1	*1/*1	1	
040	*1/*1x2	*1/*1x2	1	
041	*1/*1	*1/*1	1	
042	*1/*1	*1/*1	1	
043	*4/*6	*4/*6	1	
044	*1/*1	*1/*1	1	
045	*1/*1	*1/*1	1	
Summe: 45	45	45	45	

Aufgelistet sind alle untersuchten 45 Probanden mit den ermittelten Genotypen aus zwei unabhängigen Untersuchern, *1 = Wildtyp, *4, *5 und *6 = defiziente Allele für CYP2D6.

Tabelle 15: Ergebnisse der externen Validierung Epidaurus Biotechnologie AG

CYP2D6				
internal_code	external_code	allele 1	allele 2	phenotype
UD00000001	P01	*1	*5	EM
UD00000002	P02	*5	*5	PM
UD00000003	P03	*1	*2	EM
UD00000004	P04	*4	*4	PM
UD00000005	P05	*4	*6	PM
UD00000006	P06	*41	*41X2	ND
UD00000007	P07	*1	*4	EM
UD00000008	P08	*41	*5	IM
UD00000009	P09	*5	*6	PM
UD00000010	P10	*1	*2	EM

Aufgelistet sind die 10 untersuchten Probanden mit den ermittelten Genotypen der externen Validierung der Epidauros Biotechnologie AG, *1, *2= Wildtyp, *4,*5 und *6 = defiziente Allele für CYP2D6, *41= eingeschränktes Allel für CYP2D6, EM= extensiver Metabolisierer, IM= intermediärer Metabolisierer, PM= langsamer Metabolisierer, internal code= interne Codierung, External Code= Codierung der Universität Düsseldorf.

Tabelle 16: Übersicht der Auswertung des Online-Fragebogens

Tabellarische Übersicht: Auswertung des Online-Fragebogens							
Frage: Hatten Sie nach der Einnahme von DEX UAW?							
	<i>ja</i>	<i>nein</i>	<i>weiß nicht</i>				
Gesamtpopulation (n=53)	18	32	5				
EM (n=38)	6	31	3				
IM (n=4)	4	0	0				
PM (n=11)	8	1	2				
Frage: unter welchen UAW litten Sie?							
	<i>keine Beschwerden</i>	<i>Benommenheit/ Schwindel</i>	<i>Übelkeit</i>	<i>Kopfschmerzen</i>	<i>Müdigkeit</i>	<i>Euphorie</i>	<i>Schlafstörungen</i>
Gesamtpopulation (n=53)	33	15	5	2	18	5	7
EM (n=38)	32	3	0	0	7	0	0
IM (n=4)	0	4	1	1	2	1	1
PM (n=11)	1	8	4	1	9	0	6
Frage: Wie fühlten Sie sich nach der Einnahme?							
	<i>sehr gut</i>	<i>gut</i>	<i>eher schlecht</i>	<i>sehr schlecht</i>	<i>weiß nicht</i>		
Gesamtpopulation (n=53)	6	31	9	4	3		
EM (n=38)	6	28	2	0	2		
IM (n=4)	0	0	4	0	0		
PM (n=11)	0	3	3	4	1		
Frage: Ich werde DEX ohne Bedenken wieder einnehmen							
	<i>Ich stimme voll zu</i>	<i>Ich stimme eher zu</i>	<i>Ich lehne eher ab</i>	<i>Ich lehne völlig ab</i>	<i>weiß nicht</i>		
Gesamtpopulation (n=53)	19	10	12	7	5		
EM (n=38)	18	9	6	0	5		
IM (n=4)	0	0	4	0	0		
PM (n=11)	1	1	2	7	0		
Frage: Ich werde andere Arzneimittel ohne Bedenken wieder einnehmen							
	<i>Ich stimme voll zu</i>	<i>Ich stimme eher zu</i>	<i>Ich lehne eher ab</i>	<i>Ich lehne völlig ab</i>	<i>weiß nicht</i>		
Gesamtpopulation (n=53)	28	17	2	0	6		
EM (n=38)	20	11	2	0	5		
IM (n=4)	2	2	0	0	0		
PM (n=11)	6	4	0	0	1		
Frage: Seit Kenntnis meines Genotyps, bin ich mit AM vorsichtiger und frage bezüglich der Verstoffwechslung nach							
	<i>Ich stimme voll zu</i>	<i>Ich stimme eher zu</i>	<i>Ich lehne eher ab</i>	<i>Ich lehne völlig ab</i>	<i>weiß nicht</i>		
Gesamtpopulation (n=53)	12	25	7	5	4		
EM (n=38)	9	17	6	4	2		
IM (n=4)	1	1	1	1	0		
PM (n=11)	2	7	0	0	2		

DEX = Dextromethorphan, UAW = unerwünschte Arzneimittelwirkungen, n = Anzahl der Befragten, EM = extensive Metabolisierer, IM = intermediäre Metabolisierer, PM = langsame Metabolisierer.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Stephanie Röhm
 Geboren: 29.12.1978 (Engelskirchen)
 Eltern: Bernd Röhm
 Monika Röhm, geb. Pulch
 Adresse: Arnoldsstraße 16, 50679 Köln

Schulbildung

1984 – 1989 Grundschule Neufelder Straße, Köln
 1989 – 1995 Hölderlin-Gymnasium, Mülheim, Köln
 06/1995 – 09/1996 Private High School Heritage, USA
 Auslandsjahr in Ft. Lauderdale, Florida
 1996 – 1999 Johann-Gottfried-Herder-Gymnasium,
 Buchheim, Köln
 02.06.1999 Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Studium und Praktika

10/1999 – 02/2002 Studium der Pharmazie an der
 Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität, Bonn
 28.08.2001 Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
 07/2002 – 10/2002 Universität Kansas, USA; Auslandssemester
 Forschungsprojekt (Gen-/Biotechnologie)
 10/2002 – 4/2004 Fortsetzung des Studiums an der
 Rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität, Bonn
 04/2004- 10/2004 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
 6-monatiges Praktikum bei der Beiersdorf AG in
 Hamburg im Rahmen der Approbationsordnung

11/2004- 4/2005	Pharmaziepraktikantin in der Apotheke am Neumarkt in Köln
5.07.2005	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
1/2008- 4/2008	Praktikum an der University of Memphis, Tennessee

Berufliche Tätigkeit

7/2005- 8/2008	Dissertation im Fach Klinische Pharmazie an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1/2009- heute	Apothekerin in der Birken Apotheke, Leverkusen Opladen

11 Danksagungen

Frau Prof. Dr. Stephanie Lärer möchte ich sehr herzlich für die Ermöglichung der Erstellung meiner Doktorarbeit, die interessante Aufgabenstellung und die Unterstützung dabei danken.

Meinen Kolleginnen und meinem Kollegen aus der Klinischen Pharmazie und Pharmakotherapie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf möchte ich mich bedanken, die mir bei der aufwendigen Datenakquisition mühevoll geholfen haben: Im Speziellen Frau Edith Tot, die die Genotypisierung durchgeführt hat und das Wiener Test System, Herrn Daniel Schmidt, der mich maßgeblich bei den Ergebnissen der Studie unterstützt hat und Frau Birgit Schroers, die die Phänotypisierung durchgeführt hat, ein Dankeschön. Allen Studenten, die teilgenommen haben, möchte ich herzlich danken.

Herrn Dr. Reinhard Willers aus dem Zentrum für Information der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf möchte ich für die Unterstützung zur Ausarbeitung meiner Ergebnisse insbesondere bei statistischen Fragestellungen und die zahlreichen anregenden Diskussionen herzlich danken.

Herrn Wolfram Linke möchte ich für seine großes Engagement für die graphische Aufarbeitung und fortwährenden Lösungen für Microsoft-Unannehmlichkeiten danken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Kollegen Herrn Dr. André Breddemann, der mich mit wissenschaftlichem und moralischem Beistand begleitet hat. Ich möchte ich mich ganz herzlich für die gute Zusammenarbeit und die tolle Unterstützung bedanken. Alle anderen Kollegen danke ich für die Unterstützung mit großer Geduld, stets neuer Ermutigung und zahlreichen wertvollen Anregungen und Hinweisen.

Insbesondere möchte ich Frau Dr. Stefanie Schellhammer aus ganzem Herzen für die ehrlichen und Gedanken-anregenden Gespräche danken, die mich immer weiter gebracht haben. Für ihre immense Hilfsbereitschaft und kostbaren Tipps möchte bin ich sehr dankbar und schätze die von ihr eingebrachte Mühe ungemein.

Ein ganz herzlicher Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern ohne die die Arbeit und die Jahre dahin in dieser Form gar nicht möglich gewesen wären. Sie haben mich immer aufgefangen und standen hinter mir. Vielen Dank Hannes Röhm, der mir bei der Durchsicht der Arbeit sehr geholfen hat. Allen meinen Freunden, die mir immer geduldig und lang zugehört haben, mich abgelenkt, mich aufgebaut und immer an mich geglaubt haben, ein Dankeschön aus tiefem Herzen.

Und ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Andreas Strelzyk für seinen großartigen Beistand und unendliche Motivation, fortwährendes Verständnis und seine Geduld während der langen Phase bedanken, die mich durch Täler hat gehen lassen. Durch ihn und dass er immer sein Bestes gegeben hat, durfte ich weiter wachsen.

Die beeindruckende Darstellung der vielen wichtigen Lebenssituationen mit dieser Promotion bleibt mir unvergessen.

Die hier vorgelegte Dissertation habe ich eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Düsseldorf, den