



DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„CYP2C19-abhängige Pharmakokinetik von
Pantoprazol in Intensivpatienten“

verfasst von / submitted by

Lisa Greß

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree
of

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2017 / Vienna, 2017

Studienkennzahl lt. Studienblatt /degree
programme code as it appears on
the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ. Prof. Dr. Bernd Jilma

Mitbetreut von / Co-Supervisor:

Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Walter Jäger

Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Ao. Univ. Prof. Dr. Bernd Jilma bedanken, der es mir ermöglicht hat, die praktische Arbeit meiner Diplomarbeit in seiner Arbeitsgruppe durchzuführen und somit neue Gebiete meines Fachbereiches kennenzulernen.

Ich möchte weiters Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Walter Jäger für die Ermöglichung dieser Kollaboration und die stets motivierenden Worte danken.

Mein Dank gilt ebenso Dr. Christian Schörgenhofer, der mich sowohl bei der praktischen Arbeit als auch beim Schreiben meiner Diplomarbeit unterstützt hat und immer bemüht war, meine Zeit im AKH Wien lehrreich zu gestalten.

Außerdem möchte ich einen herzlichen Dank an das Team der Klinischen Pharmakologie des AKH Wien aussprechen, besonders Sabine Schranz, Christa Drucker und Karin Petroczi, die mich sehr freundlich aufgenommen und meinen Aufenthalt angenehm gestaltet haben.

Natürlich möchte ich mich auch bei meinen Eltern, meinem Freund Nino und seiner gesamten Familie bedanken, die mich sowohl moralisch als auch finanziell unterstützt und immer an mich geglaubt haben.

Zu guter Letzt schulde ich meinen Freundinnen Dank, die mich durch das gemeinsame Studium begleitet und das Vertrauen in mich nie verloren haben.

INHALTSVERZEICHNIS

1. ALLGEMEINER TEIL	1
1.1 PANTOPRAZOL	1
1.1.1 <i>Eigenschaften und Anwendungsgebiete</i>	1
1.1.2 <i>Wirkungsmechanismus</i>	2
1.1.3 <i>Metabolismus</i>	2
1.1.4 <i>Unerwünschte Wirkungen und Interaktionen</i>	3
1.1.5 <i>Verwendung in der Intensivmedizin</i>	4
1.2 CYTOCHROM-P ₄₅₀ -ENZYME	5
1.2.1 <i>Allgemeines</i>	5
1.2.2 <i>Pharmakogenetik</i>	8
1.2.3 <i>Induktion</i>	11
1.2.4 <i>Inhibition</i>	13
1.2.5 <i>CYP-Expression bei verschiedenen intensivmedizinischen Krankheitsbildern</i>	16
2 ZIELSETZUNG	19
3 EXPERIMENTELLER TEIL	20
3.1 MATERIAL	20
3.1.1 <i>Applizierte Arzneiform</i>	20
3.1.2 <i>Chemikalien</i>	20
3.1.3 <i>Geräte</i>	20
3.2 METHODEN	21
3.2.1 <i>Studiendesign</i>	21
3.2.2 <i>Untersuchtes Patientenkollektiv</i>	22
3.2.3 <i>Ablauf der Studie</i>	23

4	ERGEBNISSE	26
5	DISKUSSION	37
6	ZUSAMMENFASSUNG	42
7	ABSTRACT	43
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	44
9	TABELLENVERZEICHNIS	45
10	QUELLENVERZEICHNIS	46

1 Allgemeiner Teil

1.1 Pantoprazol

1.1.1 Eigenschaften und Anwendungsgebiete

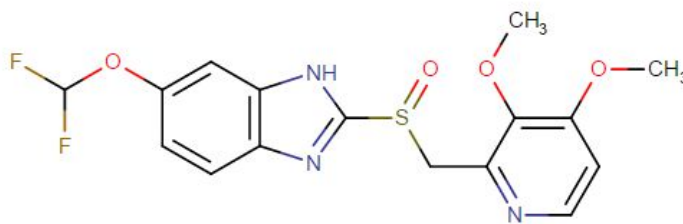


Abbildung 1: Struktur von Pantoprazol [1]

CAS-Nummer: 102625-70-7

Molekulargewicht: 383.37

Summenformel: C₁₆H₁₅F₂N₃O₄S

IUPAC-Nomenklatur: 6-(difluoromethoxy)-2-[(3,4-dimethoxypyridin-2-yl)methanesulfinyl]-1H-1,3-benzodiazole [1]

Pantoprazol ist als Pantoloc® seit 1995 in Österreich zugelassen [2].

Es handelt sich dabei um ein lipophiles Benzimidazolderivat aus der Gruppe der Protonenpumpeninhibitoren, zu denen weiters Omeprazol, Lansoprazol und Rabeprazol gehören. Diese Arzneistoffgruppe inhibiert die H⁺-K⁺-ATPase irreversibel und vermindert somit die Produktion von Magensäure. Alle Vertreter werden bei erosiver gastroösophagealer Refluxkrankheit, Ulcus ventriculi, Ulcus duodeni, chronischer Gastritis, Zollinger-Ellison-Syndrom sowie zur Eradikation von *Helicobacter pylori* eingesetzt. Im Rahmen einer Eradikationstherapie werden Proto-

nenpumpenhemmer in Kombination mit zwei bis drei Antibiotika verwendet. Prophylaktisch wird Pantoprazol bei längerfristiger Einnahme von nicht-steroidalen Antiphlogistika sowie zur Prophylaxe von Blutungskomplikationen durch peptische Ulcera in der Intensivmedizin eingesetzt.

Pantoprazol wird meist oral verabreicht, für Intensivpatienten stehen allerdings auch intravenöse Zubereitungen zur Verfügung [3].

1.1.2 Wirkungsmechanismus

Protonenpumpeninhibitoren sind Pro-Drugs, also inaktive Vorstufen, die erst in das wirksame Prinzip umgewandelt werden müssen. Da sie im Magen rasch inaktiviert werden würden, werden die Protonenpumpenhemmer als perorale Arzneiformen mit magensaftresistenten Überzügen hergestellt [3].

Die Wirkstoffe werden im Dünndarm resorbiert, gelangen über die Blutbahn in die Belegzellen des Magens und diffundieren durch diese in die Canaliculi. Dort werden sie zum wirksamen Sulfenamid protoniert und reichern sich als schwache, nicht mehr membrangängige Basen an. Als solche binden sie über eine Disulfidbrücke kovalent an ein Cystein der $H^+-K^+-ATPase$, der Protonenpumpe, die die Protonen für die Magensäuresekretion bereitstellt. Man spricht dabei von einem nicht-kompetitiven, irreversiblen Antagonismus, wodurch die Wirkdauer erheblich länger als die Plasmahalbwertszeit ist, da die Protonenpumpen erst neu synthetisiert werden müssen. Durch den direkten Angriff an der Protonenpumpe blockieren Protonenpumpenhemmer die Magensäuresekretion unabhängig von Stimuli wie Gastrin oder Histamin, was einen Vorteil zu den H_2 -Rezeptor-Antagonisten darstellt [3].

1.1.3 Metabolismus

Pantoprazol wird hauptsächlich in der Leber über CYP2C19 und zu einem geringen Anteil über CYP3A4 metabolisiert. Mittels CYP2C19 wird Pantoprazol demethyliert zu 5'-Hydroxypantoprazol und anschließend in einem Phase-2-

Metabolismus mithilfe von Sulfotransferasen sulfatiert. Über CYP3A4 wird Pantoprazol direkt zum Sulfon bzw. Sulfid metabolisiert. (Abb. 2) Diese Metaboliten sind inaktiv und werden größtenteils über die Niere ausgeschieden [5]. Daher kann Pantoprazol ohne Dosisanpassung auch bei Hämodialysepatienten mit Niereninsuffizienz im Endstadium angewandt werden [4].

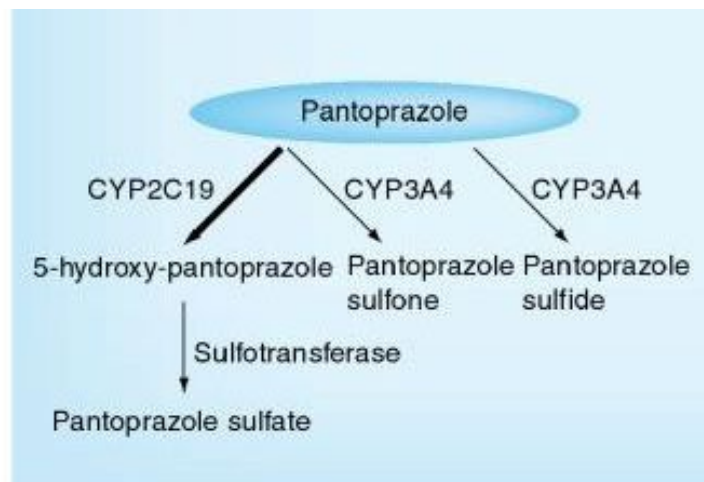


Abbildung 2: Metabolismus von Pantoprazol [5]

1.1.4 Unerwünschte Wirkungen und Interaktionen

Die kurzfristigen Nebenwirkungen von Pantoprazol gelten im Allgemeinen als unkritisch. Es kann beim Einsatz von Protonenpumpeninhibitoren zu zentralnervösen Nebenwirkungen wie Schwindel und Kopfschmerzen, gastrointestinalen Störungen wie Diarrhoe oder Übelkeit sowie zu Erhöhung der Leberenzyme und Hautveränderungen kommen. Bei parenteraler Gabe wurde ferner von schweren Seh- und Hörstörungen berichtet [6].

Zu den Langzeitriskien bei chronischer Protonenpumpenhemmer-Einnahme zählen ein erhöhtes Infektionsrisiko (v.a. nosokomiale Pneumonien und gastrointestinale Infektionen, z.B. mit *Clostridium difficile*), Magnesium- und Eisenmangel sowie eingeschränkte Calciumresorption und resultierenden Schenkelhals- und Wirbelkörperfrakturen [3].

Pantoprazol wird vorwiegend über CYP2C19 und geringfügig über CYP3A4 metabolisiert. Gleichzeitig ist der Wirkstoff auch ein CYP2C19-Inhibitor. Es gibt daher Interaktionspotential mit allen Arzneistoffen, die ebenfalls über CYP2C19 metabolisiert werden (z.B. Warfarin, Phenytoin, Diazepam). Vorsicht gilt bei der gleichzeitigen Einnahme von Protonenpumpenhemmern und Clopidogrel, einem Thrombozytenaggregationshemmer, der von CYP2C19 in die Wirkform umgewandelt wird. In einer Meta-Analyse wurde die gleichzeitige Gabe von Protonenpumpeninhibitoren mit Clopidogrel mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Nebenwirkungen wie Myokardinfarkt assoziiert, es konnte jedoch kein erhöhtes Mortalitätsrisiko festgestellt werden. [7] Die Interaktion von Pantoprazol mit CYP2C19 ist im Gegensatz zum besser untersuchten Omeprazol bei der Kombination von Clopidogrel nicht klinisch relevant [8].

Pantoprazol vermindert darüber hinaus die Resorption von Vitamin B12, was zu Mangelerscheinungen wie perniziöser Anämie führen kann, und erhöht die Bioverfügbarkeit von Digoxin, woraus bei der geringen therapeutischen Breite Vergiftungserscheinungen resultieren können. [6] Kontraindiziert ist Pantoprazol bei einer Therapie mit den HIV-Therapeutika Atazanavir oder Nelfinavir, da durch den erhöhten pH-Wert im Magen die Resorption eingeschränkt und die Wirksamkeit nicht mehr gegeben ist [3].

1.1.5 Verwendung in der Intensivmedizin

Peptische Ulcera treten bei 75-100% von Intensivpatienten innerhalb von 24 Stunden auf [9]. Die häufigste Komplikation des Stressulkus sind gastrointestinale Blutungen, die bei maschinell beatmeten Patienten zu einer Erhöhung der Mortalität um 20-30% und zu einem verlängerten Aufenthalt auf der Intensivstation führen [10].

Intravenöse Gabe von Pantoprazol verringert die Produktion von Magensäure und hebt den pH-Wert an, wobei ein pH-Wert von über 4 das Risiko von Blutungen signifikant verringert. Bei einer Pilotstudie wurde der pH-Wert durch die intravenöse Verabreichung von Pantoprazol über 89% der Zeit über 4 gehalten [11]. Daher wird Pantoprazol standardmäßig bei Intensivpatienten mit erhöhtem Risiko für

Stressulcera verwendet; dazu zählen maschinell beatmete Patienten, Patienten mit schweren Verbrennungen oder Kopfverletzungen sowie Patienten mit Koagulopathien [9].

1.2 Cytochrom-P₄₅₀-Enzyme

1.2.1 Allgemeines

Cytochrom-P₄₅₀-Enzyme, kurz CYPs, sind Hämoproteine, die im Menschen vor allem im endoplasmatischen Retikulum der Leber vorkommen [3]. Sie sind als Monooxygenasen verantwortlich für etwa 70-80% der Biotransformation von Arzneistoffen [12]. Das Enzym bindet zunächst den Wirkstoff, anschließend wird das dreiwertige Häm-Eisen von der NADPH-Cytochrom-P₄₅₀-Oxidoreduktase reduziert. Der Komplex aus nunmehr zweiwertigem Eisen und dem Arzneistoff bindet Sauerstoff, der nach Übertragung eines zweiten Elektrons als aktivierter Sauerstoff (und Wasser als Reaktionsprodukt) vorliegt. Der aktivierte Sauerstoff wird auf den Arzneistoff übertragen, der somit oxidiert wird. Im Zuge dieser Reaktion wird das Häm-Eisen wieder zum dreiwertigen Eisen oxidiert und das Enzym steht für einen neuen Reaktionszyklus zur Verfügung [3].

Die CYPs werden gemäß ihrer Aminosäuresequenzhomologie in Familien, Subfamilien und Isoenzyme eingeteilt; Enzyme mit über 40% Sequenzhomologie gehören einer Familie, mit über 55% Sequenzhomologie einer Subfamilie an.

Siebenundfünfzig Gene für CYP-Isoenzyme wurden im Menschen gefunden, wobei hauptsächlich Vertreter aus den Familien 1, 2 und 3 für den Metabolismus von Xenobiotika von Bedeutung sind. CYP3A4 macht etwa 60% der Masse der CYP-Enzyme in der Leber aus und ist damit das wichtigste Isoenzym für den Arzneistoffmetabolismus [13]. Weitere wichtige Enzyme für die Biotransformation von Pharmaka sind CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 und CYP2D6. Tabelle 1 veranschaulicht, dass die CYP-Enzyme eine geringe Substratspezifität aufweisen und dass häufig mehr als ein Enzym an der Verstoffwechselung einer Substanz beteiligt ist.

Die große interindividuelle Spannbreite der Aktivität von CYP-Enzymen wurde sowohl in vitro als auch in vivo in einer Studie von Zhang et al. veranschaulicht. Die Variabilität der metabolischen Aktivität pro Gramm Leber reichte von 210-fach in CYP2A6 bis zu immerhin 23-fach in CYP2E1 [14]. Um diese Unterschiede zu erklären, wurden genetische Polymorphismen und Induktions- sowie Inhibitionsmechanismen untersucht.

Tabelle 1: Wichtige arzneistoffmetabolisierende CYP-Enzyme und ausgewählte Substrate [6]

CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
Amitriptylin	Amitriptylin	Amitriptylin	Alprenolol	Alprazolam
Clomipramin	Celecoxib	Citalopram	Amitriptylin	Alfentanil
Clozapin	Diclofenac	Chloramphe-	Aripiprazol	Amlodipin
Coffein	Fluoxetin	nicol	Carvedilol	Astemizol
Estradiol	Fluvastatin	Clomipramin	Chlorpromazin	Atorvastatin
Fluvoxamin	Glibenclamid	Clopidogrel	Clomipramin	Buspiron
Haloperidol	Glimepirid	Cyclophosph-	Codein	Clarithro-
Imipramin	Ibuprofen	amid	Desipramin	mycin
Naproxen	Irbesartan	Diazepam	Dextrometorphan	Chinidin
Olanzapin	Losartan	Imipramin	Duloxetin	Ciclosporin
Ondanset-	Meloxicam	Indometacin	Flecainid	Coffein
ron	Naproxen	Lansoprazol	Fluoxetin	Dextrome-
Propranolol	Phenpro-	Moclobemid	Fluvoxamin	torphan
Ropivacain	coumon	Nelfinavir	Haloperidol	Diazepam
Tizanidin	Piroxicam	Omeprazol	Imipramin	Diltiazem
Theophyllin	Phenytoin	Pantoprazol	Metoprolol	Docetaxel
Verapamil	Tamoxifen	Phenobarbital	Nebivolol	Domperidon
Zolmitriptan	Voriconazol	Phenytoin	Nortriptylin	Eplerenon
	Warfarin	Primidon	Ondansetron	Erythromycin
		Progesteron	Paroxetin	Estradiol
		Proguanil	Perphenazin	Felodipin
		Propranolol	Propafenon	Fentanyl

Tabelle 1: Fortsetzung

		Rabeprazol Voriconazol Warfarin	Risperidon Tamoxifen Thioridazin Timolol Tramadolol	Haloperidol Imatinib Indinavir Irinotecan Lercanidipin Lidocain Lovastatin Methadon Midazolam Nelfinavir Nifedipin Nisoldipin Nitrendipin Ondansetron Paclitaxel Progesteron Propranolol Ritonavir Rivaroxaban Sequinavir Sildenafil Simvastatin Sirolimus Tacrolimus Tamoxifen Terfenadin Testosteron Triazolam Verapamil Vincristin Zolpidem
--	--	---------------------------------------	---	--

1.2.2 Pharmakogenetik

Ein genetischer Polymorphismus bezeichnet eine Genvariation, die in der Population mit einer Häufigkeit von über einem Prozent auftritt. Tritt ein Allel bei weniger als einem Prozent der Bevölkerung auf, so spricht man von einer seltenen genetischen Variante. Wenn eine solche Veränderung im Phänotyp Einfluss auf die Pharmakokinetik oder Pharmakodynamik eines Arzneistoffes nimmt, so spricht man von pharmakogenetischen Einflüssen [3].

Die CYP-Enzyme sind stark von der Genetik abhängig, mit 85 bekannten Isoformen von CYP 21A2 und 44 bekannten Isoformen von CYP2D6. [15] Klinisch relevante Polymorphismen liegen bei CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 und CYP3A5 vor.

Man unterscheidet low-activity- bzw. loss-of-function-Polymorphismen, bei denen – meist durch fehlerhaftes Splicing und veränderte Genexpression – Enzyme mit herabgesetzter oder nicht vorhandener katalytischer Aktivität resultieren und gain-of-function-Polymorphismen, die zu einer erhöhten Aktivität des Enzyms führen – sei es durch Genamplifikation, veränderte Promoter oder Varianten des Enzyms mit erhöhter Effektivität. Im Phänotyp äußern sich diese genetischen Veränderungen als Poor Metabolizer (PM), Intermediate Metabolizer (IM), Extensive Metabolizer (EM), Rapid Metabolizer (RM) und Ultra-rapid Metabolizer (UM) [12].

Durch die folgenden Beispiele soll die klinische Relevanz der genetischen Polymorphismen veranschaulicht werden:

CYP2A6*4A bis CYP2A6*4H sind Nullallele, das Enzym wird also nicht exprimiert. Diese Gendefekte kommen in etwa 1-4% der kaukasischen Bevölkerung vor, während CYP2A6*2, ein Polymorphismus, der ein Enzym ohne katalytische Aktivität hervorbringt, mit 4-10% auftritt [12]. CYP2A6 ist hauptverantwortlich für die Umwandlung von Tegafur in den aktiven Metaboliten 5-Fluorouracil [16] und spielt ebenso eine wichtige Rolle bei der Metabolisierung von dem HIV-Therapeutikum Efavirenz, besonders dann, wenn gleichzeitig ein CYP2B6-Polymorphismus vorliegt [12]. Bei einer Studie an über 200 postmenopausalen Frauen mit Brustkrebs wurde festgestellt, dass die Plasmakonzentration von Letrozol ebenfalls abhängig vom CYP2A6-Genotyp ist [17].

CYP2B6 ist hauptverantwortlich für den Metabolismus von Efavirenz, Bupropion, Methadon, Cyclophosphamid, Ketamin und Artemisinin. CYP2B6*6 entsteht durch

fehlerhaftes Splicing und führt substratabhängig zu verminderter oder erhöhter Biotransformation. Diese Genvariation wird in 14-27% der Kaukasier und in bis zu 50% der Afrikaner bzw. Afro-Amerikaner gefunden. Die verminderte Expression des Enzyms führt zu verminderter Clearance von Efavirenz, Nevirapin und Methadon [12].

Bei der Therapie mit dem Antikoagulans Warfarin ist eine genotypische Bestimmung von CYP2C9 von großem Vorteil: CYP2C9*3 weist eine stark verminderte katalytische Aktivität im Vergleich zum Wildtyp auf und hat im Falle eines Case Reports zum Tod durch eine Subduralblutung (INR >9) geführt [18]. Zwei Studien haben überdies eine bessere Therapieeinstellung durch Genotypisierung erreicht [19, 20]. Auch der Plasmaspiegel des Sulfonylharnstoffs Tolbutamid ist stark von der Aktivität von CYP2C9 abhängig. In einer Studie mit Typ 2 Diabetikern wurde eine um 25% verringerte Tolbutamid-Clearance in homozygoten CYP2C9*2-Trägern und eine um 84% verminderte Tolbutamid-Clearance in homozygoten CYP2C9*3-Trägern festgestellt. Das CYP2C9*2-Allel kommt in 23% der kaukasischen Bevölkerung vor, 13% tragen ein CYP2C9*3-Allel [21].

CYP2C19-Polymorphismen tragen wesentlich zur interindividuellen Variabilität der Pharmakokinetik von Protonenpumpenhemmern, Voriconazol und Clopidogrel bei. CYP2C19*2 und CYP2C19*3 sind Nullallele und führen zu herabgesetztem Arzneistoffmetabolismus, während CYP2C19*17 in einer erhöhten Expression von CYP2C19 resultiert. [12] Die Ergebnisse einer Studie, die eine signifikant erhöhte AUC von Voriconazol in Poor Metabolizer beschreibt [22], wurden in einer Review durch weitere Studien bestätigt [23]. CYP2C19 spielt die zentrale Rolle beim Metabolismus von Protonenpumpeninhibitoren; Rapid Metabolizer und Ultra-rapid Metabolizer haben daher ein erhöhtes Risiko, subtherapeutische Konzentrationen zu erreichen. Diese Hypothese wurde durch mehrere Studien bestätigt [24, 25, 26].

Besonders wichtig ist ein funktionierendes Enzym bei der Biotransformation von Clopidogrel, das durch CYP2C19 erst in die aktive Wirkform umgewandelt wird. In einer groß angelegten Metaanalyse wurde unter Einbeziehung von 21 Studien und 23 035 Probanden der Einfluss von CYP2C19*2 und CYP2C19*3 auf die Nebenwirkungsrate von Patienten unter Clopidogreltherapie untersucht. Dabei wurde herausgefunden, dass Poor Metabolizer durch verminderte Thrombozytenaggre-

gation ein signifikant erhöhtes Risiko für Stentthrombosen, Myokardinfarkt und Schlaganfall haben [27].

15-25% aller Arzneistoffe aus den verschiedensten Gruppen werden primär durch CYP2D6 metabolisiert [12]. Codein beispielsweise wird von CYP2D6 in Morphin und weiter zu Morphin-6-Glucuronid umgewandelt. Kirchheiner et al. haben in einer Studie die Plasmaspiegel für Morphin und Morphin-6-Glucuronid nach Codeingabe abhängig vom Genotyp untersucht. Poor Metabolizer haben im Durchschnitt eine maximale Plasmakonzentration von Morphin von 0,05 µg/l, Extensive Metabolizer 2,1 µg/l und Ultra-rapid Metabolizer 2,6 µg/l. Die Unterschiede wurden deutlicher bei der Bestimmung von Morphin-6-Glucuronid: 0,8 µg/l bei Poor Metabolizer, 9,6 µg/l bei Extensive Metabolizer und 13 µg/l bei Ultra-rapid Metabolizer. Außerdem berichteten alle Ultra-rapid Metabolizer, aber nur 5 von 12 Patienten mit normalem Metabolismus von Nebenwirkungen [28]. Besondere Vorsicht ist bei stillenden Müttern geboten; sind diese Ultra-rapid Metabolizer, so können toxische Dosen von Morphin mit der Muttermilch auf das Kind übertragen werden, was in der Vergangenheit zu Todesfällen geführt hat [29]. Das Prodrug Tamoxifen wird zur Therapie von Brustkrebs eingesetzt, die Biotransformation zum aktiven Metaboliten Endoxifen erfolgt durch CYP2D6. In einer Studie mit 101 Brustkrebspatienten mit einer Therapiedauer von mindestens 3 Jahren wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen Her2-neu-positiven Patienten mit Rezidiv und CYP2D6-Genotyp gesehen: Von 31 Patienten mit Rezidiv waren 24 Poor Metabolizer, während nur 7 Extensive Metabolizer waren. In den weiteren Subgruppen war der Unterschied zwischen Poor Metabolizer und Extensive Metabolizer zwar nicht signifikant, doch ein Trend von erhöhten Rezidivraten bei Poor Metabolizer war deutlich [30]. Auch der Einfluss der Aktivität von CYP2D6 auf die Pharmakokinetik von Antidepressiva und Antipsychotika sollte berücksichtigt werden [31]. CYP2D6-Polymorphismen kommen häufig in der kaukasischen Bevölkerung vor, mit etwa 15-25% Allelfrequenz von CYP2D6*4, einem Nullallel, und bis zu 10% Vorkommen von CYP2D6*Nxn, einer Genamplifikation, die zu der erhöhten Toxizität von Opioiden führt [12].

Der CYP3A5-Genotyp ist vor allem bei der Therapie mit dem Immunsuppressivum Tacrolimus ausschlaggebend. Träger des defekten Allels CYP3A5*3 kommen mit einer Häufigkeit von 88-97% in der kaukasischen Population vor [12] und haben ein signifikant geringeres Risiko einer Organabstoßung nach Nierentransplantation

als der Wildtyp. Bei einer Studie von Quteineh et al. wurde die Tacrolimus-Gabe an 136 Patienten untersucht. Man startete mit einer Gabe von 0,15 mg/kg/Tag und adaptierte diese für jeden Patienten, sodass Zielplasmaspiegel von Tacrolimus zwischen 10 und 15 ng/ml in den ersten Monaten, später gefolgt von 5 bis 10 ng/ml resultierten. Um die Zielplasmaspiegel zu erreichen, benötigten die Patienten mit CYP3A5-Wildtypgen eine höhere Dosis im Vergleich zu jenen mit defekten Allelen (0.26 ± 0.03 versus 0.16 ± 0.01 mg/kg/Tag). Achtunddreißig Prozent der Extensive Metabolizer, jedoch nur 12% der Poor Metabolizer haben eine akute Abstoßungsreaktion nach einem Jahr erlitten [32].

Neben genetischen Unterschieden können auch Alter, Geschlecht und verschiedene Krankheiten die Expression von CYP-Enzymen beeinflussen [12].

1.2.3 Induktion

Von Induktion spricht man, wenn gewisse Substrate die Aktivität von Enzymen erhöhen. Oft sind Induktoren auch Substrate ebendieser Enzyme, um die Aktivität der Enzyme an den Bedarf anzupassen. Der zugrundeliegende Mechanismus der Enzyminduktion ist meist eine veränderte Genexpression, die mithilfe verschiedener Transkriptionsfaktoren zustandekommt. Die bedeutendsten Transkriptionsfaktoren für die Regulation der CYP-Enzymexpression sind der Arylhydrocarbon-Rezeptor (AhR), der konstitutive Androstan-Rezeptor (CAR) und der Pregnan-X-Rezeptor (PXR). Die beiden letzteren gehören zur Superfamilie der nukleären Rezeptoren. Der Aufbau dieser Rezeptoren, bestehend aus einer ligandenbindenden, einer DNA-bindenden und einer Transaktivierungsdomäne, ist gleich. Durch Bindung eines endogenen Liganden oder Xenobiotikums an die ligandenbindende Domäne erfährt der Rezeptor eine Konformationsänderung, die zu Veränderungen biophysikalischer Eigenschaften führt. Die DNA-bindende Domäne erkennt spezifische Nukleotidsequenzen in den Promotorregionen des Zielgens und die Transaktivierungsdomäne – typischerweise bestehend aus Activation Function 1 (AF-1) und 2 (AF-2) – ist verantwortlich für die Rekrutierung von Coregulatoren und die tatsächliche Änderung der Transkription [33].

Der Arylhydrocarbon-Rezeptor liegt im Cytosol als Komplex mit Hsp90 vor. Durch Ligandenbindung wandert der Komplex in den Zellkern, wo Hsp90 abgespalten wird und der Arylhydrocarbon-Rezeptor ein Heterodimer mit ARNT bildet. Dieses bindet an gewisse DNA-Sequenzen der Promotorregion und führt damit zu einer Regulation der Genexpression. Besonders die Enzymexpression von CYP1A1 und CYP1A2 wird durch Liganden des Arylhydrocarbon-Rezeptors reguliert [33]. Liganden des Arylhydrocarbon-Rezeptors sind aromatische Kohlenwasserstoffe, wie sie zum Beispiel in Zigaretten vorkommen. Raucher haben daher signifikant höhere CYP1A2-Spiegel, da ein erhöhter Bedarf zur Entgiftung besteht [12].

Der konstitutive Androstan-Rezeptor liegt – wie schon der Name sagt – konstitutiv aktiv vor. Das bedeutet, dass der Rezeptor eigentlich keinen Liganden benötigt, um eine Dimerisierung mit dem 9-cis-Retinolsäurerezeptor (RXR) herbeizuführen, ein Induktor beschleunigt diesen Prozess allerdings. Das Heterodimer des konstitutiven Androstan-Rezeptors und des 9-cis-Retinolsäurerezeptors bindet wiederum an die DNA und bewirkt analog zum Arylhydrocarbon-Rezeptor eine veränderte Transkription von Genen. Im Vordergrund stehen die Subfamilien CYP2B, CYP2C und CYP3A, jedoch auch Phase-2-Enzyme wie Glucuronosyltransferasen, Sulfotransferasen und Glutathion-S-Transferasen. Phenobarbital ist ein indirekter Aktivator des konstitutiven Androstan-Rezeptors, was bedeutet, dass er nicht an die ligandenbindende Domäne bindet, die Dimerisierung mit dem 9-cis-Retinolsäurerezeptor jedoch trotzdem beschleunigt. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind jedoch noch nicht ausreichend untersucht. Neben Phenobarbital gehören auch Nevirapin, Efavirenz, Carbamazepin [33] und Clotrimazol [34] zu den Enzyminduktoren, die als Aktivatoren des konstitutiven Androstan-Rezeptors fungieren.

Der Pregnan-X-Rezeptor bindet analog zum konstitutiven Androstan-Rezeptor ein Heterodimer mit dem 9-cis-Retinolsäurerezeptor und führt damit in erster Linie zur Induktion von CYP2B6 und CYP3A4. Zu den Pregnan-X-Rezeptor-Liganden unter den Arzneistoffen gehören Nifedipin, Lovastatin [32], Dexamethason, Phenobarbital, Rifampicin sowie das in Johanniskraut enthaltene Hyperforin [34]. Letzteres zeigt, dass nicht nur Arzneimittel zu gravierenden Interaktionen führen können, sondern auch Lebensmittel bzw. Nahrungsergänzungsmittel wie Johanniskraut.

Tabelle 2: Klinisch relevante CYP-Induktoren [35]

	Starke Induktion	Moderate Induktion	Schwache Induktion
CYP1A2		Phenytoin, Rifampicin, Ritonavir, Rauchen, Teri- flunomid	
CYP2B6	Carbamazepin	Efavirenz, Rifampicin, Ritonavir	Nevirapin
CYP2C8		Rifampicin	
CYP2C9		Aprepitant, Carbamazepin, Enzalutamid, Rifampicin, Ritonavir	
CYP2C19	Rifampicin, Ritonavir	Efavirenz, Enzalutamid, Phenytoin	
CYP3A	Carbamazepin, Enzalutamid, Mitotan, Phenytoin, Rifampicin, Johanniskraut	Bosentan, Efavirenz, Etravirin, Modafinil	Armodafinil, Rufinamid

1.2.4 Inhibition

Im Gegensatz zur Induktion, bei der erst neue Enzyme synthetisiert werden müssen, ist die Inhibition ein kurzfristiger Prozess. Man unterscheidet prinzipiell zwischen drei Mechanismen: Zunächst gibt es die kompetitive Inhibition, bei der zwei oder mehr Substrate um ein Enzym konkurrieren. Diese Art der Inhibition ist bei CYP2D6 von Bedeutung, da es viele Arzneistoffe metabolisiert, jedoch nur zu einem vernachlässigbaren Anteil in der Leber vorkommt. Darüber hinaus unterscheidet man eine irreversible Enzymhemmung, wobei der Inhibitor, der kein Substrat des Enzyms ist, kovalent an das Enzym bindet und einen Suizidinhibitor, der jenes Enzym irreversibel hemmt, dessen Substrat er ist. [6] Klinisch relevante CYP-Inhibitoren sind in Tabelle 3 angeführt. Wie auch bei der Induktion sind nicht

nur Arzneimittel vertreten, sondern auch Nahrungsmittel wie Grapefruitsaft und eine isolierte Substanz aus dem schwarzen Pfeffer.

Tabelle 3: Klinisch relevante CYP-Inhibitoren [35]

	Starke Inhibition	Moderate Inhibition	Schwache Inhibition
CYP1A2	Ciprofloxacin, Enoxazin, Fluvoxamin, Zafirlukast	Mexiletin, orale Kontrazeptiva	Aciclovir, Allopurinol, Cimetidin, Peginterferon alpha-2a, Piperin, Zileuton
CYP2B6			Clopidogrel, Tenofovir, Ticlopidin, Voriconazol
CYP2C8	Clopidogrel, Gemfibrozil	Deferasirox, Teriflunomid	Telithromycin, Trimethoprim
CYP2C9		Amiodaron, Felbamate, Fluconazol, Miconazol, Piperin	Diosmin, Disulfiram, Fluvastatin, Fluvoxamin, Voriconazol
CYP2C19	Fluconazol, Fluoxetine, Fluvoxamin, Ticlopidin		Omeprazol, Voriconazol
CYP2D6	Bupropion, Fluoxetin, Paroxetin, Chinidin, Terbinafin	Cimetidin, Duloxetin, Fluvoxamin	Amiodaron, Celecoxib, Cimetidin, Clobazam, Escitalopram, Labetalol, Ritonavir, Sertralin, Venlafaxin
CYP3A	Clarithromycin, Diltiazem, Grapefruitsaft, Itraconazol, Ketconazol, Ritonavir und zahlreiche Antiviralia, Voriconazol	Aprepitant, Cimetidin, Ciprofloxacin, Clotrimazol, Ciclosporin, Erythromycin, Fluconazol, Fluvoxamin, Imatinib, Verapamil	Chloroxazon, Cilostazol, Fosaprepitant, Lomitapid, Ranitidin, Ranolazin, Tacrolimus, Ticagrelor

Neben den genetischen Polymorphismen, Enzyminduktion und –inhibition gibt es auch epigenetische Regulationsmechanismen. Ein neuer Ansatz, um die interindividuelle Variabilität arzneistoffmetabolisierender Enzyme zu charakterisieren, ist die Mikro-RNA (miRNA). miRNAs sind nicht-kodierende, aus etwa 22 Nukleotiden bestehende RNAs, die durch Bindung an die 3′-untranslatierte Region (3′-UTR) der mRNA diese an der Translation hemmen oder sie abbauen. In den letzten Jahren wurde der post-transkriptionelle Einfluss der miRNAs auf die Expression der CYP-Enzyme zunehmend interessanter [36]. CYP2E1 ist am Abbau von Alkohol beteiligt und wird daher durch regelmäßigen Alkoholkonsum induziert. Bei Untersuchungen wurde festgestellt, dass zwar die Proteinkonzentrationen von CYP2E1 bei der Induktion erhöht waren, jedoch nicht die mRNA-Level [37]. Mohri et al. nahmen dies zum Anlass, um den Einfluss der miRNA-378 auf die Expression von CYP2E1 zu untersuchen. Dazu wurden HEK293-Zellen, die CYP2E1 – mit oder ohne 3′-UTR – exprimieren, hergestellt. In ihrer Studie wurde festgestellt, dass bei Überexpression von miRNA-378 die Proteinlevel von CYP2E1 signifikant abnehmen, allerdings nur, wenn die 3′-UTR vorhanden ist. Außerdem waren die mRNA-Level bei Überexpression erniedrigt, allerdings hat man keine signifikante mRNA-Degradation sehen können, was zu dem Schluss führt, dass die Verminderung der CYP-Expression über eine Hemmung der Translation vermittelt wird [38]. Ähnliche Ergebnisse wurden für miRNA-27b [39] und miRNA-148a [40] im Zusammenhang mit der CYP3A4-Expression und für miRNA-27b im Zusammenhang mit der CYP1B1-Expression [41] festgestellt, wobei miRNA-27b den Vitamin-D-Rezeptor und miRNA-148a den Pregnan-X-Rezeptor - inhibiert, welche die Expression von CYP3A4 steuern [39, 40].

Rieger et al. haben den Einfluss von miRNA-130b auf arzneistoffmetabolisierende Enzyme studiert und sind zu dem Ergebnis gekommen, dass Überexpression von miRNA-130b zu signifikanter Downregulation von CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 und CYP3A4 führt. Die angegebenen Enzyme haben nach 96 Stunden nur noch 60-70% ihrer ursprünglichen Aktivität aufgewiesen, die Expression von CYP2D6 und CYP2E1 war sogar so niedrig, dass sie nicht mehr gemessen werden konnte [42].

1.2.5 CYP-Expression bei verschiedenen intensivmedizinischen Krankheitsbildern

Durch individuelle Veränderungen multipler Parameter bei Intensivpatienten zeichnet sich die Enzymaktivität durch eine noch höhere interindividuelle Variabilität aus als bei gesunden Probanden. Die CYP-Aktivität einzelner Isoenzyme bei häufigen Erkrankungen im intensivmedizinischen Bereich wurde im Tiermodell oder bei kleinen klinischen Studien untersucht [43].

Infektionen und damit einhergehende Entzündungsvorgänge sind auf der Intensivstation weit verbreitete Krankheitsbilder. Durch die akute Krankheit der Patienten und die dadurch herabgesetzte Immunabwehr sowie durch invasive Maßnahmen (Legen venöser Zugänge, Dialyse, extrakorporale Membranoxygenierung, mechanische Ventilation etc.) und das häufig hohe Alter im Zusammenhang mit verminderten Organfunktionen wird das Infektionsrisiko stark erhöht. Vor allem Cytokine dürften eine zentrale Rolle bei der Downregulation einzelner CYP-Enzyme spielen, wobei in einer Studie an Hepatozyten festgestellt wurde, dass nicht jedes Isoenzym durch dasselbe Cytokin in seiner Aktivität verringert wird. Die mRNA-Expression von CYP2C8 und CYP3A4 wurde durch alle untersuchten Cytokine (IL-6, Tumornekrosefaktor (TNF), Interferon (INF), Transforming growth factor (TGF), IL-1) sowie Lipopolysaccharide (LPS) signifikant verringert, jene von CYP2C9 und CYP2C19 wurde allerdings nur von IL-6 und TGF und jene von CYP2B6 nur durch IL-6 und INF signifikant verringert. Die CYP2C18-mRNA-Expression wurde durch kein Cytokin signifikant vermindert [44]. Haack et al. haben vier Fälle beschrieben, bei denen die Clozapinspiegel durch Cytokinproduktion und darauffolgende Verminderung der CYP1A2-Aktivität bis in toxische Bereiche gestiegen sind [45].

Bereits bei Gabe von geringen Dosen von LPS wurde eine Verringerung der Clearance von Antipyrin, Hexobarbital und Theophyllin um 22-35% in gesunden Freiwilligen festgestellt [46]. Die Biotransformation von Voriconazol konnte in einer Studie mit den CRP-Spiegeln der Patienten korreliert werden: Je höher die CRP-Spiegel, desto geringer war die Metabolisierungsrate und die Voriconazol-N-oxid-Spiegel und desto höher waren die Voriconazol-Plasmakonzentrationen [47]. Diese Studien veranschaulichen nicht nur,

dass der hepatische Arzneistoffmetabolismus durch Entzündungsreaktionen herabgesetzt wird, sondern auch, dass das Ausmaß der Downregulation der CYP-Enzyme davon abhängt, wie schwer die Entzündung ist.

Sepsis hat eine hohe Inzidenz bei Intensivpatienten und septischer Schock ist die häufigste Todesursache auf Intensivstationen. Bei der Sepsis unterscheidet man eine frühe hyperdynamische Phase mit erhöhter Herzauswurfleistung mit einer Umverteilung des Blutes aus der Peripherie zugunsten der lebenswichtigen Organe und eine spätere hypodynamische Phase mit verminderter Herzauswurfleistung, resultierend in Organminderdurchblutung und im weiteren Sinne Multiorganversagen und Tod [48]. Die hepatische Clearance – vor allem von high-extraction drugs, also Arzneistoffen, die einen exzessiven First-pass-Effekt aufweisen – ist über den Blutfluss definiert [43]. Durch die verminderte Leberdurchblutung wird klar, dass die Biotransformation von high-extraction drugs wie Propranolol oder Lidocain vermindert ist. Außerdem werden auch bei Sepsis Cytokine freigesetzt, die wie schon erwähnt einen Einfluss auf die Regulation einzelner Isoenzyme haben [49]. In einer Studie über den Midazolammetabolismus von Shelly et al. waren zwei Patienten mit septischem Schock inkludiert, bei denen man zunächst eine stark verminderte Clearance von Midazolam feststellen konnte, welche sich mit einer Besserung des Gesundheitszustandes jedoch erhöhte [50].

Die Aktivität der CYP-Enzyme weicht bekannterweise besonders in jungen und alten Patienten von der Norm ab. Bebia et al. haben bei einer Studie an 161 gesunden Probanden beispielsweise herausgefunden, dass CYP2C19 mit zunehmendem Alter an Aktivität einbüßt [51]. Auch die verminderte Proteinbindung, die durch die verminderte Lebersyntheseleistung resultiert, und der abnehmende hepatische Blutfluss im Alter sollten als mögliche Gründe für eine eingeschränkte hepatische Biotransformation von Arzneimitteln im Alter berücksichtigt werden [52].

Hypoxie, wie sie bei Asthmaanfällen, Herzinfarkt oder Schock auftreten kann, führte bei der Untersuchung normoxischer bzw. hypoxischer He-

paRG-Zellen zu verminderten CYP3A4-Proteinspiegeln [53]. In einer anderen Studie wurde eine leichte Verminderung von CYP2D6 und CYP3A4 festgestellt, allerdings ohne klinische Relevanz [54].

Die menschlichen Enzyme arbeiten bei einer Temperatur von 37° optimal, bei Temperaturveränderungen ändert sich also auch die CYP-Aktivität. Bei Fieber wäre zu erwarten, dass sich die Aktivität erhöht, da die meisten chemischen Reaktionen bei erhöhter Temperatur schneller ablaufen. Jedoch wurde das Gegenteil bewiesen, was vermutlich darauf zurückzuführen ist, dass bei Fieber Cytokine ausgeschüttet werden, die wie erwähnt die Enzymexpression verringern [55, 56]. Bei Hypothermie ist die Clearance von Esmolol durch CYP2D6 wie zu erwarten signifikant vermindert [57]. Therapeutische Hypothermie, welche nach einem Herzstillstand angewendet werden kann, führt durch eine verminderte hepatische Clearance ebenfalls zu erhöhten Plasmaspiegeln von Fentanyl, Vecuronium und Phenytoin, drei häufig gebrauchten Medikamenten auf der Intensivstation [58].

2 Zielsetzung

Genetische Polymorphismen von CYP2C19 können in verminderter Ansprechbarkeit der Thrombozyten auf die Therapie mit Clopidogrel und damit in verminderter pharmakologischer Wirksamkeit und erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen resultieren. Dieses Problem wird auch als residuale Thrombozytenaktivität (High „on Treatment“ Platelet Reactivity, kurz HTPR) bezeichnet [59]. Jedoch wird nicht nur die Pharmakokinetik von Clopidogrel durch CYP2C19 beeinflusst, sondern auch jene von Pantoprazol.

Ziel dieser Studie war es, die Prävalenz von HTPR in Intensivpatienten sowie die Pharmakokinetik von Clopidogrel zu untersuchen. Um die CYP2C19-Aktivität zu bestimmen, wurde zusätzlich die Pharmakokinetik von Pantoprazol untersucht. Ziel der Studie war es, neue Daten über den hepatischen Metabolismus von Intensivpatienten zu erhalten, um die Therapie dieses empfindlichen Patientenkollektives effizienter und sicherer zu gestalten.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wird ausschließlich der Metabolismus von Pantoprazol behandelt.

3 Experimenteller Teil

3.1 Material

3.1.1 Applizierte Arzneiform

Pantoprazol Nycomed 40 mg Durchstichflasche

Zulassungsinhaber: Takeda Pharma AG

3.1.2 Chemikalien

- Omeprazol, Sigma-Aldrich
- Pantoprazol Natrium, Sigma-Aldrich
- Wasser für LC-MS-Analyse, Chromasolv, Honeywell
- Methanol für LC-MS-Analyse, LiChrosolv, Merck
- Ammoniumacetat für LC-MS-Analyse, Honeywell Fluka
- LightCycler FastStart DNA Master Hybridisation Probes Kit, Roche Diagnostics
- Light Mix Kit, TibMolbiol
- LightSNiP CYP2C19*17 rs12248560 assay, TibMolbiol
- Light Cycler 2.0, Roche Diagnostics

3.1.3 Geräte

- LC/MS-MS-Anlage Symbiosis Spark
Pumpe: SPH1240
Autosampler: ALIAS
Säulenofen: Mistral
Säule: Kinetex Reversed Phase C18 Säule (Partikelgröße 2.6 µm, 50 mm x 3 mm), Phenomenex
MS: AB Sciex QTRAP 5500, AB Sciex

- Vortexer
IKA MS2 Minishaker

- Zentrifugen
Hettich Mikro 220 R
Hettich Rotina 380 R

- Mikropipette
Gilson pipetman P1000
Gilson pipetman P100
Gilson pipetman P10

- Waage
Mettler Toledo XPE26PC

- Software
Kinetica 2000, Version 3.0, InnaPhase Corporation
Microsoft Excel 2010

3.2 Methoden

3.2.1 Studiendesign

Die Studie wurde als prospektive, longitudinale Studie von Juli bis September 2016 auf drei Intensivstationen des AKH Wien durchgeführt, um die Pharmakokinetik von Pantoprazol in Intensivpatienten zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurden die Plasmaspiegel zu 9 Zeitpunkten nach Bolusinfusion von 40 mg Pantoprazol mittels Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie (LC/MS-MS) gemessen.

3.2.2 Untersuchtes Patientenkollektiv

Die Pharmakokinetik von Pantoprazol wurde in 16 Patienten, die Juli und September 2016 einer der drei involvierten Intensivstationen des AKH Wien zugewiesen wurden, untersucht. Eingeschlossen wurden Personen im Alter von mindestens 18 Jahren, die schon vor der Studie Pantoprazol erhalten haben. Ausschlusskriterien waren Allergie bzw. Hypersensibilität gegenüber Pantoprazol und inflammatorische Reaktionen, welche an den Patienten routinemäßig mittels Parameter der Akute-Phase-Reaktion bewertet wurden.

Inkludiert waren 10 Männer und 6 Frauen im Alter zwischen 34 und 76 Jahren. Genauere Daten der Patienten folgen im Ergebnisteil.

Tabelle 4: Demographische und klinische Daten der Patienten, angegeben sind Mediane und Quartile (in Klammer)

Parameter	
Geschlecht m(w)	10 (6)
Alter (Jahre)	65 (47-73,5)
Body mass index (kg/m ²)	24,6 (23,1-27,8)
Hämoglobin [g/dl]	9,2 (8,7-9,8)
Thrombozyten [10 ⁹ /l]	184 (88-538)
Leukozyten [10 ⁹ /l]	12,7 (10,2-14,5)
C-reaktives Protein [mg/dl]	12,1 (9,1-17,7)
Simplified Acute Pphysiology III Score	65 (49-80)
Sequential Organ Failure Assessment Score	10 (5-13)
Mechanische Ventilation n (%)	14 (88%)
Mortalität auf der Intensivstation n (%)	7 (44%)

Tabelle 4: Fortsetzung

Diagnose	
- <i>Kardiopulmonale Reanimation</i>	7
- <i>Herzerkrankungen</i>	1
- <i>Respiratorische Krankheiten</i>	6
- <i>Sonstige (Schlaganfall, Sepsis, Rhabdomyolyse, Gefäßerkrankungen, Epilepsie)</i>	2
Genotyp	
- <i>Poor Metabolizer</i>	1
- <i>Intermediate Metabolizer</i>	0
- <i>Extensive Metabolizer</i>	6
- <i>Rapid Metabolizer</i>	9
- <i>Ultra-rapid Metabolizer</i>	0

3.2.3 Ablauf der Studie

Vor Beginn der Studie

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Wien abgesegnet und in öffentlich zugänglichen Datenbanken registriert (EudraCT-Nummer 2012-002226-76, www.clinicaltrials.gov: NCT02285751). Die Einverständniserklärung wurde von jenen Patienten, die dazu imstande waren, vor Einschluss in die Studie unterschrieben.

Studientag

Am Studientag wurde den Patienten 40 mg Pantoprazol intravenös als Bolusinfusion verabreicht. Anschließend wurde zu folgenden Zeitpunkten Blut für die Plasmakonzentrationsbestimmung von Pantoprazol abgenommen: 0, 15, 30, und 45

Minuten sowie 1, 2, 4, 6 und 24 Stunden. Die Blutabnahme erfolgte über bereits vorhandene venöse oder arterielle Zugänge.

Das Blut wurde anschließend bei 2000g und 4°C für 10 Minuten zentrifugiert. Ein Aliquot von 500 Mikroliter Plasma wurde bis zur weiteren Analyse bei -80°C gelagert.

Bestimmung der Plasmakonzentration von Pantoprazol

Die Plasmaspiegel von Pantoprazol wurden mittels Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie bestimmt. Dazu wurden 50 µl Plasma mit 200 µl internem Standard (500 ng/ml Omeprazol in Methanol) versetzt, mit einem Vortexer gemischt und anschließend bei 2400g zentrifugiert. 1 µl des Überstands wurde in den Chromatographeninjiziert. Zur Auftrennung wurde eine Kinetex Reversed Phase C18 Säule benutzt. Als Elutionsmittel wurde eine Wasser-Methanol-Mischung (40/60 Volumenprozent, beide Komponenten mit 1‰ von 5ml Ammoniumacetat) mit einer Durchflussrate von 0,3 ml pro Minute verwendet. Am Übergang zwischen der Flüssigchromatographie zum Massenspektrometer wurde Elektronensprayionisation verwendet, um positiv geladene Ionen zu erzeugen. Die Fragmentierung von Pantoprazol (m/z 384,0 zu m/z 200,0) und von Omeprazol (m/z 346,1 zu m/z 198,1) wurde im Multiple Reaction-Monitoring Modus überwacht. Eine Eichkurve (50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000 ng/ml) für Pantoprazol im Plasma wurde erstellt.

Genotypisierung

Anschließend wurden die Patienten mithilfe des Light Cycler 2.0 genotypisiert. Die Studie war also nicht gepowert und die Anzahl der jeweiligen Genotypen ist zufällig. Gene, die im Patientenkollektiv zu finden sind, sind CYP2C19*1/1, welches für das Wildtyp-Gen kodiert, CYP2C19*1/17, welches im Phänotyp als Rapid Metabolizer in Erscheinung tritt und CYP2C19*2/2, welches sich als Poor Metabolizer äußert.

Zu diesem Zweck wurde die DNA zunächst extrahiert und aufgereinigt, im nächsten Schritt wurde sie mittels Echtzeit-Polymerasekettenreaktion (qPCR) vermehrt und eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Die qPCR wurde mittels LightCyc-

ler FastStart DNA Master Hybridisation Probes Kit, die Schmelzkurvenanalyse für CYP2C19*2 und CYP2C19*3 mit einem Light Mix Kit, jene von CYP2C19*17 mit dem LightSNiP CYP2C19*17 rs12248560 Assay auf einem Light Cycller 2.0 nach Anleitung des Herstellers durchgeführt.

4 Ergebnisse

Die Plasmaspiegel von Pantoprazol wurden wie unter Punkt 3.2.3 beschrieben mittels LC/MS-MS ermittelt (siehe Tabelle 5). Patient 136 starb während der Studie, weswegen der 24-Stunden-Wert nicht bestimmt werden konnte.

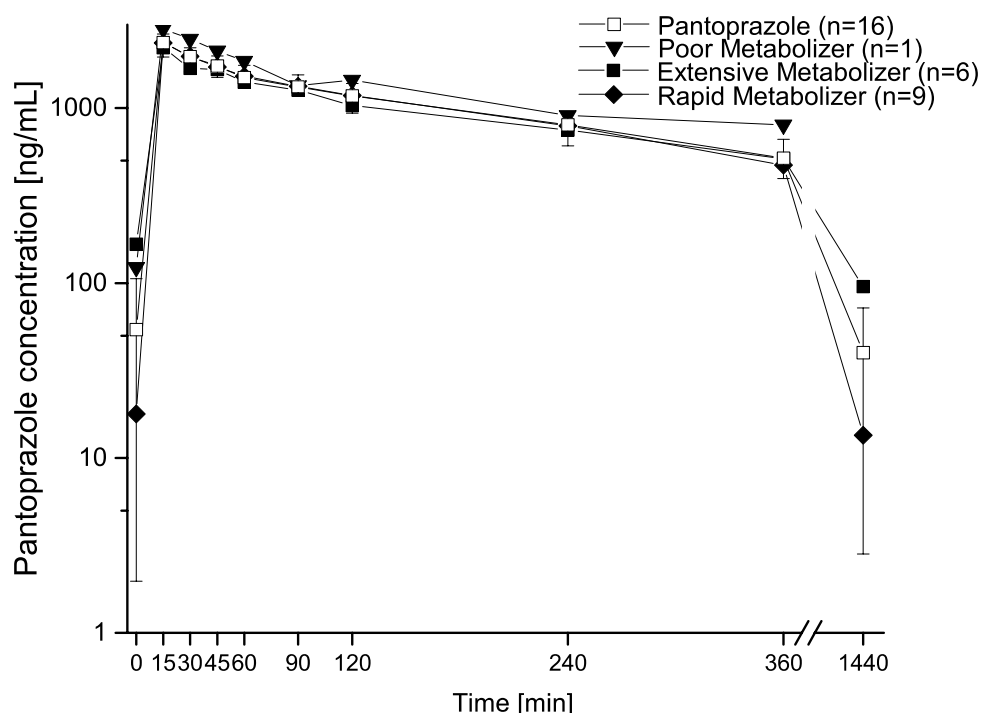


Abbildung 3: Konzentration von Pantoprazol im Plasma abhängig vom Phänotyp [eigene, unpublizierte Daten]

Dieses Diagramm zeigt bereits einen wesentlichen Unterschied in der Halbwertszeit zwischen Rapid Metabolizer und Extensive Metabolizer. Der Poor Metabolizer zeigt einen Trend zu höheren Plasmaspiegeln und damit verminderter Enzymaktivität, jedoch fehlt für eine valide Aussage der 24h-Wert.

Um die Ergebnisse besser interpretieren zu können, wurden pharmakokinetische Parameter wie maximale Plasmakonzentration ($C_{\max}$), Zeitpunkt der $C_{\max}$ ($T_{\max}$), Halbwertszeit ($T_{1/2}$) sowie die Fläche unter der Kurve (AUC) mittels der Software Kinetica 2000 berechnet (siehe Tabelle 6).

Tabelle 5: Pantoprazolkonzentration im Plasma in ng/ml [eigene, unpublizierte Daten]

Zeitpunkt Patient	0h	15min	30min	45min	1h	1,5h	2h	4h	6h	24h
128	514	2583	2585	2408	2249	2071	1938	1741	1430	386
129	65	2362	2045	1812	16556	1491	1316	846	561	50
130	<50	1780	1506	1388	1310	1207	962	813	573	2185
131	605	2861	2384	2339	2190	1945	1748	570	1113	350
132	<50	2720	1831	1841	1445	1269	912	1230	302	0
133	<50	2510	1978	1779	1610	1331	1204	646	449	0
134	258	1839	1546	1485	1373	1268	1156	930	621	119
135	<50	3299	2484	2134	2020	1862	1507	1031	704	<50
136	123	2845	2477	2124	1853	1348	1449	908	804	
137	<50	2508	1985	1769	1599	1605	1168	658	386	1522
138	69	1617	1225	1075	1049	894	802	548	406	<50
139	75	1219	1013	908	881	728	735	486	370	72
140	<50	2074	1683	1512	1379	1111	912	515	347	0
141	<50	2106	1963	1682	1464	1307	1269	932	602	58
142	<50	2388	2010	1720	1423	1244	1045	673	426	<50
143	89	2111	1771	1662	1520	1376	1181	790	472	<50

Tabelle 6: Pharmakokinetische Daten der einzelnen Patienten [eigene, unpublierte Daten]

Patient	C_{max} [ng/ml]	T_{max} [min]	AUC (0-inf) [ng*h/ml]	T_{1/2} [min]
128	2853	15	1534370	526
129	2362	15	406197	195
130	4506	30	379469	265
131	2861	15	428672	104
132	2720	15	1216230	667
133	11978	30	511388	235
134	1839	15	705760	422
135	3299	15	722969	232
136	2845	15	438121	445
137	2508	15	442432	394
138	1617	15	428919	320
139	1219	15	420084	444
140	2074	15	323030	172
141	2106	15	650042	307
142	2388	15	471840	214
143	2111	15	466557	147

Danach wurden der Median der pharmakokinetischen Parameter für den jeweiligen Genotyp berechnet (siehe Tabelle 8). Durch diese Unterteilung sieht man eine deutlich höhere Halbwertszeit und AUC bei Rapid Metabolizer. Da nur ein Poor Metabolizer in der Studie inkludiert war und für diesen kein 24h -Wert verfügbar ist, lässt sich kaum eine Aussage über diese Patientengruppe treffen.

Tabelle 7: CYP2C19: Genotyp und Phänotyp der einzelnen Patienten

Patient	Genotyp	Zu erwartender Phänotyp
128	1/1	Extensive Metabolizer
129	1/17	Rapid Metabolizer
130	1/17	Rapid Metabolizer
131	1/1	Extensive Metabolizer
132	1/1	Extensive Metabolizer
133	1/17	Rapid Metabolizer
134	1/1	Extensive Metabolizer
135	1/17	Rapid Metabolizer
136	2/2	Poor Metabolizer
137	1/17	Rapid Metabolizer
138	1/1	Extensive Metabolizer
139	1/1	Extensive Metabolizer
140	1/17	Rapid Metabolizer
141	1/17	Rapid Metabolizer
142	1/17	Rapid Metabolizer
143	1/17	Rapid Metabolizer

Tabelle 8: Pharmakokinetik von Pantoprazol [eigene, unpublizierte Daten]

Genotyp Parameter	Alle Patienten (n=16)	Extensive Metabolizer (1.1) (n=6)	Poor Metabolizer (2.2) (n=1)	Rapid Metabolizer (1.17) (n=9)
C_{max} [ng/ml]	2448	2280	2845	2388
T_{max} [min]	15	15	15	15
T_{1/2} [min]	286	433	445	229
AUC_{0-∞} [ng*h/ml]	7575	9456	7302	7776

Aufgrund der geringen Probandenzahl konnten in dieser Studie keine eindeutigen Korrelationen zwischen der Halbwertszeit und etwaigen Laborparametern festgestellt werden.

Um trotzdem näher auf die Messwerte eingehen zu können, wurden die Patienten in 4 Gruppen nach deren Halbwertszeit stratifiziert und einzelne Parameter näher beobachtet, um zu versuchen, Rückschlüsse auf die CYP2C19-Aktivität zu ziehen.

Tabelle 9: Unterteilung der Probanden in vier Subgruppen

Gruppe 1		Gruppe 2	
Patienten-ID	T _{1/2} [min]	Patienten-ID	T _{1/2} [min]
131	104	142	214
143	147	135	232
140	172	133	235
129	195	130	265
Gruppe 3		Gruppe 4	
Patienten-ID	T _{1/2} [min]	Patienten-ID	T _{1/2} [min]
141	307	139	444
138	320	136	445
137	394	128	526
134	422	132	667

Für die weitere Subgruppenanalyse wurden die Mediane der Halbwertszeit für jede Gruppe neu berechnet.

Median Gruppe 1: 160 Minuten

Median Gruppe 2: 234 Minuten

Median Gruppe 3: 357 Minuten

Median Gruppe 4: 486 Minuten

Die Halbwertszeiten zwischen den Subgruppen unterscheiden sich jeweils um etwa 100 Minuten. Was sofort auffällt, ist, dass in den Gruppen 1 und 2 bis auf eine

Person alle Patienten Rapid Metabolizer sind. Der Poor Metabolizer befindet sich wie zu erwarten in Gruppe 4.

Dies zeigt wiederum, dass die Genetik eine zentrale Rolle bei der Metabolisierung von Arzneistoffen spielt.

Zur weiteren Beurteilung, weshalb die Patienten in den jeweiligen Subgruppen zu finden sind, wurden Laborwerte wie CRP als Parameter für Entzündungen, Cholinesterase als Parameter für die Lebersynthese und der SAPS3 Score zur Veranschaulichung der Schwere der Erkrankung herangezogen.

Patient 128 (Gruppe 4)

Geschlecht: männlich

Größe: 180 cm

BMI: 27,8

CRP: 9,94 mg/dl

Laktat: 4,3 mmol/l

T_{1/2}: 526 Minuten

Alter: 72 Jahre

Gewicht: 90 kg

Genotyp: Extensive Metabolizer

Cholinesterase: 4,15 kU/l

SAPS3 Score: 90

Patient 129 (Gruppe 1)

Geschlecht: männlich

Größe: 180 cm

BMI: 27,8

CRP: 13,29 mg/dl

Laktat: 1,0 mmol/l

T_{1/2}: 195 Minuten

Alter: 75 Jahre

Gewicht: 90 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 3,80 kU/l

SAPS3 Score: 102

Patient 130 (Gruppe 2)

Geschlecht: weiblich

Größe: 171 cm

BMI: 35,9

CRP: 8,43 mg/dl

Laktat: 5,0 mmol/l

T_{1/2}: 265 Minuten

Alter: 34 Jahre

Gewicht: 105 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 5,82 kU/l

SAPS3 Score: 72

Patient 131 (Gruppe 1)

Geschlecht: männlich

Größe: 177 cm

BMI: 24,6

CRP: 10,33 mg/dl

Laktat: 0,9 mmol/l

T_{1/2}: 104 Minuten

Alter: 75 Jahre

Gewicht: 77 kg

Genotyp: Extensive Metabolizer

Cholinesterase: 3,27 kU/l

SAPS3 Score: 65

Patient 132 (Gruppe 4)

Geschlecht: weiblich

Größe: 165 cm

BMI: 20,6

CRP: 9,76 mg/dl

Laktat: 1,4 mmol/l

T_{1/2}: 667 Minuten

Alter: 72 Jahre

Gewicht: 56 kg

Genotyp: Extensive Metabolizer

Cholinesterase: 4,30 kU/l

SAPS3 Score: 49

Patient 133 (Gruppe 2)

Geschlecht: männlich

Größe: 180 cm

BMI: 24,7

CRP: 25,61 mg/dl

Laktat: 2,5 mmol/l

T_{1/2}: 235 Minuten

Alter: 42 Jahre

Gewicht: 80 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 3,00 kU/l

SAPS3 Score: 71

Patient 134 (Gruppe 3)

Geschlecht: männlich

Größe: 190 cm

BMI: 24,9

CRP: 30,84 mg/dl

Laktat: 1,0 mmol/l

T_{1/2}: 422 Minuten

Alter: 61 Jahre

Gewicht: 90 kg

Genotyp: Extensive Metabolizer

Cholinesterase: 2,85 kU/l

SAPS3 Score: 77

Patient 135 (Gruppe 2)

Geschlecht: weiblich

Größe: 165 cm

BMI: 22,0

CRP: 19,08 mg/dl

Laktat: 1,0 mmol/l

T_{1/2}: 232 Minuten

Alter: 69 Jahre

Gewicht: 60 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 2,75 kU/l

SAPS3 Score: 85

Patient 136 (Gruppe 4)

Geschlecht: weiblich

Größe: 159 cm

BMI: 21,8

CRP: 7,2 mg/dl

Laktat: 0,8 mmol/l

T_{1/2}: 445 Minuten

Alter: 69 Jahre

Gewicht: 55 kg

Genotyp: Poor Metabolizer

Cholinesterase: 2,24 kU/l

SAPS3 Score: 73

Patient 137 (Gruppe 3)

Geschlecht: männlich

Größe: 175 cm

BMI: 24,5

CRP: 9,18 mg/dl

Laktat: 1,0 mmol/l

T_{1/2}: 394 Minuten

Alter: 47 Jahre

Gewicht: 75 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 2,64 kU/l

SAPS3 Score: 36

Patient 138 (Gruppe 3)

Geschlecht: männlich

Größe: 175 cm

BMI: 35,9

CRP: 25,01 mg/dl

Laktat: 1,4 mmol/l

T_{1/2}: 320 Minuten

Alter: 54 Jahre

Gewicht: 110 kg

Genotyp: Extensive Metabolizer

Cholinesterase: 2,17 kU/l

SAPS3 Score: 74

Patient 139 (Gruppe 4)

Geschlecht: männlich

Größe: 175 cm

BMI: 26,1

CRP: 19,89 mg/dl

Laktat: 2,2 mmol/l

T_{1/2}: 444 Minuten

Alter: 76 Jahre

Gewicht: 80 kg

Genotyp: Extensive Metabolizer

Cholinesterase: <1 kU/l

SAPS3 Score: 80

Patient 140 (Gruppe 1)

Geschlecht: weiblich

Größe: 172 cm

BMI: 24,3

CRP: 21,78 mg/dl

Laktat: 2,2 mmol/l

T_{1/2}: 172 Minuten

Alter: 76 Jahre

Gewicht: 72 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 5,16 kU/l

SAPS3 Score: 52

Patient 141 (Gruppe 3)

Geschlecht: weiblich

Größe: 170 cm

BMI: 24,2

CRP: 2,51 mg/dl

Laktat: 1,2 mmol/l

T_{1/2}: 307 Minuten

Alter: 47 Jahre

Gewicht: 70 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 4,46 kU/l

SAPS3 Score: 57

Patient 142 (Gruppe 2)

Geschlecht: männlich

Größe: 180 cm

BMI: 23,1

CRP: 5,19 mg/dl

Laktat: 1,5 mmol/l

T_{1/2}: 214 Minuten

Alter: 50 Jahre

Gewicht: 75 kg

Genotyp: Rapid Metabolizer

Cholinesterase: 3,94 kU/l

SAPS3 Score: 66

Patient 143 (Gruppe 1)

Geschlecht: männlich

Alter: 45 Jahre

Größe: 180 cm

Gewicht: 70 kg

BMI: 21,6

Genotyp: Rapid Metabolizer

CRP: 10,55 mg/dl

Cholinesterase: 1,93 kU/l

Laktat: 1,4 mmol/l

SAPS3 Score: 63

T_{1/2}: 147 Minuten

Der mediane CRP-Wert von Gruppe 1 liegt bei 11,29 mg/dl und jener von Gruppe 2 bei 13,76 mg/dl, die Werte sind also niedriger als die Mediane der Gruppen 3 und 4 mit einer stärker erhöhten Halbwertszeit (17,10 und 14,92 mg/dl). Dieser beobachtete Trend unterstützt die Aussage, dass die CYP-Enzyme bei Inflammation downreguliert werden.

In den ersten beiden Gruppen sind außerdem die Cholinesterasespiegel mit 3,54 kU/l und 3,47 kU/l höher als in den Gruppen 3 und 4 (2,75 kU/l und 3,20 kU/l); Normalwerte bei Männern liegen zwischen 5,32 bis 12,92 kU/l, bei Frauen zwischen 3,65-12,92 kU/l. Cholinesterase ist insofern ein interessanter Lebersyntheseparameter, weil diese im Gegensatz zu Albumin oder Gerinnungsfaktoren, die zwar allgemein ebenso die Lebersynthese widerspiegeln, nicht durch therapeutische Maßnahmen verfälscht werden kann. Bei der Einteilung in Quartilen nimmt die Halbwertszeit mit sinkenden Cholinesterasespiegeln zu; eine Differenz von fast 100 Minuten liegt zwischen der 1. und der 4. Quartile.

Tabelle 10: Stratifizierung in Quartilen nach Cholinesterasewerten

1. Quartile			2. Quartile		
<i>Patient</i>	<i>ChE [kU/l]</i>	<i>T_{1/2} [min]</i>	<i>Patient</i>	<i>ChE [kU/l]</i>	<i>T_{1/2} [min]</i>
130 (RM)	5,82	265	128 (EM)	4,15	526
140 (RM)	5,16	172	142 (RM)	3,94	214
141 (RM)	4,46	307	129 (RM)	3,80	195
132 (RM)	4,30	667	131 (EM)	3,27	104
Mediane Halbwertszeit: 286 Min.			Mediane Halbwertszeit: 205 Min.		

Tabelle 10: Fortsetzung

3. Quartile			4. Quartile		
<i>Patient</i>	<i>ChE [kU/l]</i>	<i>T_{1/2} [min]</i>	<i>Patient</i>	<i>ChE [kU/l]</i>	<i>T_{1/2} [min]</i>
133 (RM)	3,00	235	136 (PM)	2,24	445
134 (EM)	2,85	422	138 (EM)	2,17	320
135 (RM)	2,75	232	143 (RM)	1,93	147
137 (RM)	2,64	394	139 (EM)	< 1	444
Mediane Halbwertszeit: 315 Min.			Mediane Halbwertszeit: 382 Min.		

Der SAPS3-Score ist ebenfalls in Gruppe 1 am niedrigsten, in den restlichen Gruppen schwankt er. Der SAPS3-Score ist ein Punktesystem, um die Schwere der Erkrankung von Patienten abzuschätzen und eine Vorhersage der Mortalität zu treffen (je geringer der Wert, desto geringer die Mortalität).

Bei genauerer Betrachtung von Patient 137, dem Rapid Metabolizer mit der längsten Halbwertszeit aus Gruppe 3, fällt auf, dass die Cholinesterase stark vermindert ist. In Zusammenhang mit der eingeschränkten Leberdurchblutung durch den akuten Myokardinfarkt, welcher der Aufnahmegrund auf die Intensivstation war, könnte dies den stark beeinträchtigten hepatischen Metabolismus erklären. Für die meisten anderen Patienten ist – bis auf die Inflammation – kein eindeutiger Grund ersichtlich, weswegen die tatsächlichen Werte von den aufgrund des Genotyps beziehungsweise der Laborparameter zu erwartenden Werten abweichen.

5 Diskussion

Pantoprazol ist ein Protonenpumpeninhibitor, der routinemäßig zur Blutungsprophylaxe bei mechanisch beatmeten Intensivpatienten eingesetzt wird [9].

Zunächst sollte man sich die Frage nach der Sinnhaftigkeit einer solchen Anwendung stellen. Genau das hat eine Arbeitsgruppe aus Australien getan, die eine placebo-kontrollierte, prospektive, randomisierte, doppelblinde Studie in Parallelgruppen mit insgesamt 214 Intensivpatienten durchgeführt hat. Es konnten bei keinem Patienten klinisch relevante gastrointestinale Blutungen festgestellt werden. Zwei Patienten litten nach Verabreichung von Pantoprazol an einer Pneumonie, in der Placebogruppe betraf es einen Patienten. Oberflächliche Blutungen traten bei 6 Patienten in der Placebo- und 3 Patienten in der Verumgruppe auf. Selva-vanderan et al. konnten demnach weder signifikanten Nutzen noch Schaden durch die prophylaktische Gabe von Pantoprazol erkennen, ebenso wie zwei zuvor publizierte Studien [60]. Dieser Umstand bedarf einer Evaluierung durch weitere klinische Studien.

In dieser Studie wurde eine Untersuchung der Pharmakokinetik von Pantoprazol an 16 Intensivpatienten durchgeführt. Es wurde eine deutlich geringere Halbwertszeit und AUC in Rapid Metabolizer als in Extensive Metabolizer festgestellt. Eine eindeutige Korrelation zwischen CRP oder anderen Laborparametern der Patienten und der Plasmakonzentration von Pantoprazol war aufgrund der geringen Probandenzahl nicht möglich. Der Zusammenhang zwischen Entzündungen und verminderter Enzymaktivität konnte jedoch schon durch zahlreiche andere Studien bewiesen werden [44, 45, 46]. Besonders eindrucksvoll ist die Untersuchung des Voriconazolmetabolismus bei schweren Entzündungserscheinungen. Dabei wurden 489 Talspiegel von Voriconazol in 34 Patienten bestimmt und zur Analyse herangezogen. Das Ergebnis sieht man auf Abbildung 4, welche einen klaren Trend von erniedrigter Enzymaktivität bei erhöhten CRP-Werten zeigt – sogar unabhängig vom Genotyp [47].

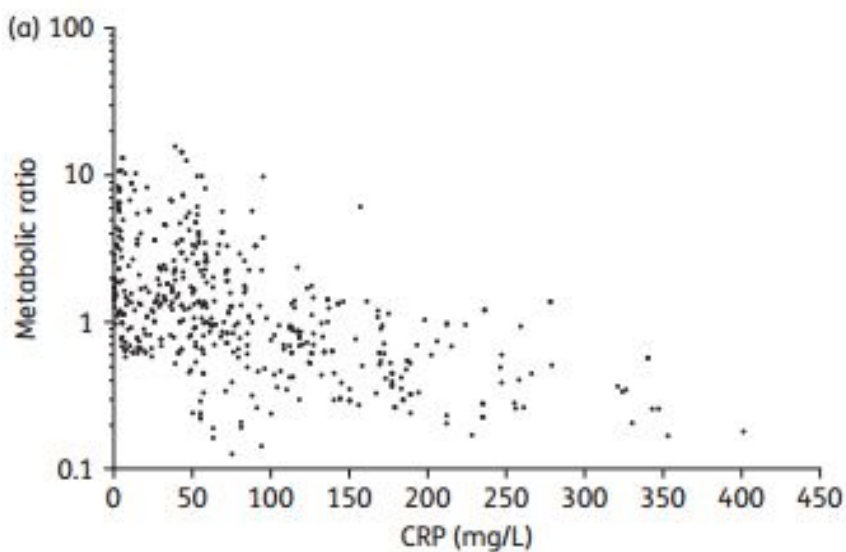


Abbildung 4: Metabolismus von Voriconazol abhängig von CRP [47]

Der Beitrag der in dieser Diplomarbeit behandelten Studie ist vor allem das Aufzeigen des stark eingeschränkten hepatischen Metabolismus in Intensivpatienten. Vergleicht man eine Untersuchung an gesunden Probanden und dieser Studie, so fällt eine etwa fünffach erhöhte Halbwertszeit von Pantoprazol auf (siehe Tabellen 11 und 12) [26]. Ähnliches wurde bei der Untersuchung von Midazolam in mechanisch beatmeten Intensivpatienten beobachtet, bei denen sich die Halbwertszeit von 1,5 bis 5 Stunden auf bis zu 20 Stunden verlängert [61].

Die Studie veranschaulicht außerdem, dass vor allem auf Intensivstationen eine hohe Variabilität des Arzneistoffmetabolismus gegeben ist. Aufgrund des erhöhten Alters, der Organschäden und der Polypharmazie, die man bei Intensivpatienten häufig beobachten kann, gehören diese Menschen zu einem besonders empfindlichen Patientenkollektiv. Dies zeigt sich beispielsweise in einer Untersuchung aus Südamerika, bei der eine Prävalenz von potentiellen Interaktionen zwischen Arzneimitteln, aber auch zwischen Arzneimitteln und Nahrungsbestandteilen auf der Intensivstation, von 70% festgestellt wurde [62].

Tabelle 11: Pharmakokinetische Parameter in gesunden Probanden nach oraler Einzeldosis von 40 mg Pantoprazol [26]

Genotyp Parameter	Extensive Metabolizer (1.1) (n=6)	Poor Metabolizer (2.2) (n=2)	Rapid Metabolizer (1.17) (n=6)
C_{max} [ng/ml]	1610	1910	1300
T_{1/2} [min]	76,2	436,3	60,6
AUC_{0-∞} [ng*h/ml]	3000	15180	2130

Tabelle 12: Pharmakokinetische Parameter von Intensivpatienten nach einmaliger Bolusinfusion von 40 mg Pantoprazol [eigene, unpublizierte Daten]

Genotyp Parameter	Extensive Metabolizer (1.1) (n=6)	Poor Metabolizer (2.2) (n=1)	Rapid Metabolizer (1.17) (n=9)
C_{max} [ng/ml]	2280	2845	2388
T_{1/2} [min]	433	445	229
AUC_{0-∞} [ng*h/ml]	9456	7302	7776

Wie bereits im allgemeinen Teil erwähnt, sind die Nebenwirkungen und Interaktionen von Pantoprazol größtenteils unkritisch. Allerdings gibt es eine Vielzahl an Arzneimitteln, deren Metabolismus stark von der Aktivität der jeweiligen CYP-Enzyme abhängt, und die eine geringe therapeutische Breite haben oder schwer-

wiegende Nebenwirkungen hervorrufen können. Klinisch relevante Beispiele sind beispielsweise Tacrolimus oder Ciclosporin, zwei Immunsuppressiva, die nach Organtransplantationen eingesetzt und hauptsächlich über CYP3A4 abgebaut werden. Bei diesen Medikamenten ist vor allem eine Enzyminduktion problematisch, da das Risiko einer Organabstoßung durch die geringeren Plasmaspiegel stark erhöht wird. Eine geringere CYP3A4-Aktivität, welche zum Beispiel durch eine Infektion und dadurch bedingte Entzündungsreaktion hervorgerufen werden könnte, kann allerdings die Nephro-, Hepato- und Kardiotoxizität verstärken, wodurch das transplantierte Organ geschädigt werden kann [3].

Voriconazol, ein Antimykotikum, das bei systemischen Pilzinfektionen mit Aspergillus- oder Candida-Arten angewendet wird, wird hauptsächlich über CYP2C19 und CYP2C9 metabolisiert. Nebenwirkungen reichen von Sehstörungen über neurologische Störungen bis hin zu Leberschädigungen und lebensgefährlichen QT-Verlängerungen sowie Herzrhythmusstörungen. Die Gabe von Voriconazol folgt häufig auf eine Immunsuppressiva-Therapie, weswegen die Patienten anfällig für Infektionen sind; außerdem führen systemische Aspergillus-Infektionen häufig zu Pneumonien. Es ist daher wesentlich, die Spiegel von Voriconazol zu bestimmen und besondere Gegebenheiten wie Infektionen und Komedikation zu berücksichtigen, da andernfalls schwerwiegende Nebenwirkungen zu erwarten sind [63].

Ein Arzneistoff mit geringer therapeutischer Breite, der vorwiegend über CYP1A2 verstoffwechselt wird, ist Theophyllin. Die Plasmaspiegel sollten bei 8-15 mg/l liegen [64], bei 8-20 mg/l können allerdings schon leichte Nebenwirkungen wie Übelkeit und Zittern auftreten. Bei 20-25 mg/l kann es vermehrt zu Unruhe und Erregbarkeit kommen und Plasmaspiegel über 35 mg/l können in Hypokaliämie und Herzrhythmusstörungen resultieren [65]. Eine konstante Plasmakonzentration im angegebenen Bereich ist für die Sicherheit des Patienten also von großer Wichtigkeit und die Spiegel müssen engmaschig kontrolliert werden. Gerade dann, wenn es zu Cytokinproduktion im Zuge einer Entzündung kommt, kann sich die Aktivität von CYP1A2 drastisch verringern, wie in einer bereits erwähnten Studie am Beispiel von Clozapin gezeigt wurde [45].

Eine veränderte Pharmakokinetik spielt also besonders bei Verabreichung von Pharmaka mit geringer therapeutischer Breite oder kritischen Nebenwirkungen eine wesentliche Rolle und betreffende Parameter wie Genotyp, Lebersyntheseleistung und Entzündungswerte müssen daher berücksichtigt werden. Regelmäßi-

ge Spiegelbestimmungen solcher Pharmaka sollten daher durchgeführt werden, um die Effektivität und Sicherheit der Arzneimittel zu erhöhen, speziell in empfindlichen Patientenkollektiven wie Intensivpatienten.

6 Zusammenfassung

Pantoprazol wird in der Intensivmedizin häufig zur Prophylaxe von gastrointestinalen Blutungen, besonders bei bestehenden Risikofaktoren wie mechanischer Ventilation oder Koagulopathien, verwendet. Um die Pharmakokinetik in Intensivpatienten zu untersuchen, wurden die Plasmaspiegel von Pantoprazol nach einmaliger Bolusinfusion in 16 Patienten gemessen.

Die vermutlich wichtigste Aussage dieser Studie besteht in der fast fünffach erhöhten Halbwertszeit von Pantoprazol in Intensivpatienten verglichen zu der Halbwertszeit in gesunden Freiwilligen; diese Tatsache weist auf einen stark eingeschränkten hepatischen Metabolismus in Intensivpatienten hin.

Die CYP2C19-Genotypisierung der Probanden und entsprechende Einteilung in Subgruppen zeigte außerdem eine deutlich erniedrigte Halbwertszeit und erhöhte AUC in Rapid Metabolizer verglichen mit Extensive Metabolizer. Korrelationen der Halbwertszeit mit anderen Laborparametern wie CRP, Laktat oder Cholinesterase konnten aufgrund der geringen Anzahl inkludierter Patienten nicht eindeutig bestätigt werden, jedoch wurde die Downregulation der CYP-Enzyme bei Entzündungsreaktionen durch andere Studien hinreichend bewiesen. Bei der Stratifizierung in Quartilen nach sinkenden Cholinesterasewerten konnte immerhin eine Differenz von fast 100 Minuten in der medianen Halbwertszeit zwischen der 1. und der 4. Quartile festgestellt werden.

Diese Studie zeigt zusammen mit den bereits publizierten Daten zu Voriconazol, dass der Metabolismus durch CYP2C19 in Intensivpatienten stark eingeschränkt ist. Daher sind Arzneimittel, die über CYP2C19 metabolisiert werden, in solchen Patienten mit Vorsicht anzuwenden.

7 Abstract

Pantoprazole is frequently used in the ICU as prophylaxis of gastrointestinal bleeding, especially in patients with mechanical ventilation or coagulopathies. However, because of its tolerability it may also be used as a probe drug for cytochrome metabolism. To investigate the pharmacokinetics in critically ill patients, plasma concentrations were quantified in 16 patients after single bolus infusion of 40 mg pantoprazole.

The probably most important finding of this study is a five-fold increase of the half-life of pantoprazole in critically ill patients compared to reference populations. This fact points out the severely limited hepatic metabolism in ICU patients and impaired CYP2C19 dependent metabolism in inflammation.

The classification of the patients according to their CYP2C19 genotype showed a clearly lower elimination half-life in rapid metabolizers compared to extensive metabolizers. Due to the small number of patients included, no distinct correlations of elimination half-life with laboratory parameters such as CRP, lactate oder cholinesterase could be found. However, there is sufficient evidence of the downregulation of CYP-enzymes due to inflammatory reactions based on other clinical trials.

A stratification in quartiles according to decreasing cholinesterase plasma concentrations showed a difference of nearly 100 minutes in median half-life between the first and the fourth quartile.

In conclusion, together with the previously published data on voriconazole, this trial demonstrates that CYP2C19 dependent metabolism is severely compromised in ICU patients. Caution is required when using CYP2C19 dependent drugs in such patients.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktur von Pantoprazol [1]	1
Abbildung 2: Metabolismus von Pantoprazol [5].....	3
Abbildung 3: Konzentration von Pantoprazol im Plasma abhängig vom Phänotyp [eigene, unpublizierte Daten].....	26
Abbildung 4: Metabolismus von Voriconazol abhängig von CRP [47]	38

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wichtige arzneistoffmetabolisierende CYP-Enzyme und ausgewählte Substrate [6]	6
Tabelle 2: Klinisch relevante CYP-Induktoren [35]	13
Tabelle 3: Klinisch relevante CYP-Inhibitoren [35]	14
Tabelle 4: Demographische und klinische Daten der Patienten, angegeben sind Mediane und Quartile (in Klammer)	22
Tabelle 5: Pantoprazolkonzentration im Plasma in ng/ml [eigene, unpublizierte Daten]	27
Tabelle 6: Pharmakokinetische Daten der einzelnen Patienten [eigene, unpublizierte Daten]	28
Tabelle 7: CYP2C19: Genotyp und Phänotyp der einzelnen Patienten	29
Tabelle 8: Pharmakokinetik von Pantoprazol [eigene, unpublizierte Daten]	29
Tabelle 9: Unterteilung der Probanden in vier Subgruppen	30
Tabelle 10: Stratifizierung in Quartilen nach Cholinesterasewerten	35
Tabelle 11: Pharmakokinetische Parameter in gesunden Probanden nach oraler Einzeldosis von 40 mg Pantoprazol [26]	39
Tabelle 12: Pharmakokinetische Parameter von Intensivpatienten nach ein- maliger Bolusinfusion von 40 mg Pantoprazol [eigene, unpublizierte Daten]	39

10 Quellenverzeichnis

- [1] <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00213> (Zugriff: 23.12.2016)
- [2] Arzneispezialitätenregister – Pantoloc 40 mg Filmtabletten Fachinformation (Stand September 2016)
- [3] Aktories K., Förstermann U., Hofmann F. et al. (2013) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 11. Auflage, Elsevier GmbH/Urban & Fischer Verlag, S. 47-49, S. 55-61, S. 360-361, S. 532-535
- [4] Kliem V., Bahlmann J., Hartmann M. (1998) Pharmacokinetics of pantoprazole in patients with end-stage renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 13, 1189–1193
- [5] Hagymási K., Müllner K., Herszényi L. et al. (2011) Update on the Pharmacogenomics of Proton Pump Inhibitors. *Pharmacogenomics*, 12(6), 873-888
- [6] Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer H. K. (2012) Arzneimittelwirkungen. 10. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, S. 25, S. 30, S. 596
- [7] Siller-Matula J. M., Jilma B., Schrör K. et al. (2010) Effect of proton pump inhibitors on clinical outcome in patients treated with clopidogrel: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 8(12), 2624-2641
- [8] Angiolillo D. J., Gibson C. M., Cheng S. et al. (2011) Differential Effects of Omeprazole and Pantoprazole on the Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Clopidogrel in Healthy Subjects: Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Comparison Studies. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 89(1), 65-74
- [9] Brett S. (2004) Science review: The use of proton pump inhibitors for gastric acid suppression in critical illness. *Critical Care*, 9, 45-50

- [10] Cook D. J., Griffith L.E., Walter S.D. et al. (2001) The attributable mortality and length of intensive care unit stay of clinically important gastrointestinal bleeding in critically ill patients. *Critical Care*, 5(6), 368-375
- [11] van Rensburg C. J., Cheer S. (2012) Pantoprazole for the Treatment of Peptic Ulcer Bleeding and Prevention of Rebleeding. *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology*. 5, 51-60
- [12] Zanger U. M., Schwab M. (2013) Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities and impact of genetic variation. *Pharmacology & Therapeutics*, 138, 103-141
- [13] Danielson P. B. (2002) The Cytochrome P450 Superfamily: Biochemistry, Evolution and Drug Metabolism in Humans. *Current Drug Metabolism*, 3, 561-597
- [14] Zhang H., Gao N. Tian X. et al. (2015) Content and activity of human liver microsomal protein and prediction of individual hepatic clearance in vivo. *Scientific Reports*, 5, 17671-17683
- [15] de Montellano O. (2005) Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry. 3. Auflage, Springer Verlag US, S. 531
- [16] Yamamiya I., Yoshisue K., Ishii Y., Yamada H. et al. (1996) Enantioselectivity in the cytochrome P450-dependent conversion of tegafur to 5-fluorouracil in human liver microsomes. *Pharmacology Research & Perspectives*, 1(1), e00009
- [17] Desta Z., Kreutz Y., Nguyen A. T. et al. (2011) Plasma Letrozole Concentrations in Postmenopausal Women With Breast Cancer Are Associated With CYP2A6 Genetic Variants, Body Mass Index, and Age. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 90(5), 693-700
- [18] Karnik N. D., Sridharan K., Tiwari D. et al. (2014) CYP2C9*3 polymorphism presenting as lethal subdural hematoma with low-dose warfarin. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(5), 549–550

- [19] Pirmohamed M., Burnside G., Eriksson N. et al. (2013) A Randomized Trial of Genotype-Guided Dosing of Warfarin. *New England Journal of Medicine*, 369, 2294-2303
- [20] Anderson J. L., Horne B. D., Stevens S. M. et al. (2007) Randomized Trial of Genotype-Guided Versus Standard Warfarin Dosing in Patients Initiating Oral Anticoagulation. *Circulation*, 116(22), 2563-2570
- [21] Becker M. L., Visser L., Trienekens P. H. et al. (2008) Cytochrome P450 2C9 *2 and *3 Polymorphisms and the Dose and Effect of Sulfonylurea in Type II Diabetes Mellitus. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(2), 288-292
- [22] Scholz I., Oberwittler H., Riedel K.-D. et al. (2009) Pharmacokinetics, metabolism and bioavailability of the triazole antifungal agent voriconazole in relation to CYP2C19 genotype. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 68(6), 906-915
- [23] Obeng A. O., Egelund E. F., Alsultan A. et al. (2014) CYP2C19 Polymorphisms and Therapeutic Drug Monitoring of Voriconazole: Are We Ready for Clinical Implementation of Pharmacogenomics?. *Pharmacotherapy*, 34(7), 703-718
- [24] Baldwin R. M., Ohlsson S., Pedersen R. S. et al. (2008): Increased omeprazole metabolism in carriers of the CYP2C19*17 allele; a pharmacokinetic study in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 65(5), 767-774
- [25] Deshpande N., V. S., V. V. R. K. et al. (2016) Rapid and ultra-rapid metabolizers with CYP2C19*17 polymorphism do not respond to standard therapy with proton pump inhibitors. *Meta Gene*, 9, 159-164
- [26] Gawrońska-Szklarz B., Adamiak-Giera U., Wyska E. et al. (2012) CYP2C19 polymorphism affects single-dose pharmacokinetics of oral pantoprazole in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 68, 1267-1274

- [27] Liu M., Chen J., Changzhi L. et al. (2013) Cytochrome CYP2C19 polymorphism and risk of adverse clinical event in clopidogrel-treated patients: a meta-analysis based on 23,035 subjects. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 106(10), 517-27
- [28] Kirchheiner J., Schmidt H., Tzvetkov M. et al. (2007) Pharmacokinetics of codeine and its metabolite morphine in ultra-rapid metabolizers due to CYP2D6 duplication. *The Pharmacogenomics Journal*, 7, 257-265
- [29] Madadi P., Koren G., Cairns J. et al. (2007) Safety of codeine during breast-feeding. *Canadian Family Physician*, 53(1), 33-35
- [30] Yazdi M. F., Rafeian S., Gholi-Nataj M. et al. (2015) CYP2D6 Genotype and Risk of Recurrence in Tamoxifen Treated Breast Cancer Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(15), 6783-6787
- [31] Kirchheiner J., Nickchen K., Bauer M. et al. (2004) Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Molecular Psychiatry*, 9, 442-473
- [32] Quteineh L., Verstuyft C., Furlan V. et al. (2008) Influence of CYP3A5 Genetic Polymorphism on Tacrolimus Daily Dose Requirements and Acute Rejection in Renal Graft Recipients. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 103(6), 546-552
- [33] Omiecinski C. J., Vandel Heuvel J. P., Perdew G. H. et al. (2011) Xenobiotic Metabolism, Disposition, and Regulation by Receptors: From Biochemical Phenomenon to Predictors of Major Toxicities. *Toxicological Sciences*, 120, 49-75
- [34] Willson T. M., Kliewer S. A. (2002) Pxr, car and drug metabolism. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1, 259-266

[35]

<http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DevelopmentResources/DrugInteractionsLabeling/ucm093664.htm> (Zugriff: 03.01.2017)

[36] Ingelman-Sundberg M., Gomez A. (2010) The past, present and future of pharmacoepigenomics. *Pharmacogenomics*, 11(5): 625-627

[37] Song B.-J., Gelboin H. V., Park S.-S. et al. (1986) Complementary DNA and Protein Sequences of Ethanol-inducible Rat and Human Cytochrome P-450s. *The Journal of Biological Chemistry*, 261(35), 16689-16697

[38] Mohri T., Nakajima M., Fukami T. et al. (2010) Human CYP2E1 is regulated by miR-378. *Biochemical Pharmacology*, 79(7), 1045-1052

[39] Pan Y.-Z., Gao W., Yu A.-M. (2009) MicroRNAs Regulate CYP3A4 Expression via Direct and Indirect Targeting. *Drug Metabolism and Disposition*, 37(10), 2112-2117

[40] Takagi S., Nakajima M., Mohri T. et al. (2008) Post-transcriptional Regulation of Human Pregnane X Receptor by Micro-RNA Affects the Expression of Cytochrome P450 3A4. *Journal of Biological Chemistry*, 283(15), 9674-9680

[41] Tschuchiya Y., Nakajima M., Takagi S. et al. (2006) MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1. *Cancer Research*, 66(18), 9090-9098

[42] Rieger J. K., Reutter S., Hofmann U. et al. (2015) Inflammation-Associated MicroRNA-130b Down-Regulates Cytochrome P450 Activities and Directly Targets CYP2C9. *Drug Metabolism and Disposition*, 43(6), 884-888

[43] McKindley D. S., Hanes S. and Boucher B. A. (1998) Hepatic Drug Metabolism in Critical Illness. *Pharmacotherapy*, 18(4), 759-778

[44] Aitken A. E., Morgan E. T. (2007) Gene-Specific Effects of Inflammatory Cytokines on Cytochrome P4502C, 2B6 and 3A4 mRNA Levels in Human Hepatocytes. *Drug Metabolism and Disposition*, 35(9), 1687-1693

- [45] Haack M.-J., Bak M.L.F.J., Beurskens R. et al. (2003) Toxic rise of clozapine plasma concentrations in relation to inflammation. *European Neuropsychopharmacology*, 13, 381-385
- [46] Shedlofsky S. I., Israel B. C., McClain C. J. et al. (1994) Endotoxin administration to humans inhibits hepatic cytochrome P450-mediated drug metabolism. *Journal of Clinical Investigation*, 94(6), 2209-2214
- [47] Veringa A., ter Avest M., Span L. F. R. et al. (2017) Voriconazole metabolism is influenced by severe inflammation: a prospective study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 261-267
- [48] De Paepe P., Belpaire F. M., Buylaert W. A. (2002) Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations When Treating Patients with Sepsis and Septic Shock. *Clinical Pharmacokinetics*, 41(14), 1135-1151
- [49] Jacob A., Zhou M., Wu R. et al. (2009) The role of hepatic cytochrome P-450 in sepsis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2(3), 203-211
- [50] Shelly M. P., Mendel L., Park G. R. (1987) Failure of critically ill patients to metabolise midazolam. *Anaesthesia*, 42, 619-626
- [51] Bebia Z., Buch S. C., Wilson J. W. et al. (2004) Bioequivalence revisited: Influence of age and sex on CYP enzymes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 76(6), 618-627
- [52] Walker R., Edwards C.R.W. (2011) *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 5. Auflage, Churchill Livingstone
- [53] Legendre C., Hori T., Loyer P. et al. (2009) Drug-metabolising enzymes are down-regulated by hypoxia in differentiated human hepatoma HepaRG cells: HIF-1 α involvement in CYP3A4 repression. *European Journal of Cancer*, 45(16), 2882-2892

- [54] Jürgens G., Christensen H. R., Brøsen K. et al. (2002) Acute hypoxia and cytochrome P450-mediated hepatic drug metabolism in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 71(4), 214-220
- [55] Trenholme G. M., Williams R. L., Rieckmann K. H. et al. (1976) Quinine disposition during malaria and induced fever. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 19(4), 459-467
- [56] Elin R. J., Vesell E. S., Wolff S. M. (1975) Effects of etiocholanolone-induced fever on plasma antipyrine half-lives and metabolic clearance. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 17(4), 447-457
- [57] Jacobs J. R., Croughwell N. D., Goodman D. K. et al. (1993) Effect of Hypothermia and Sampling Site on Blood Esmolol Concentrations. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 33(4), 360-365
- [58] Tortorici M. A., Kochanek P. M., Poloyac S. M. (2007) Effects of hypothermia on drug disposition, metabolism and response: A focus of hypothermia-mediated alterations on the cytochrome P450 enzyme system. *Critical Care Medicine*, 35(9), 2196-2204
- [59] Spiliopoulos S., Pastromas G. (2015) Current status of high on-treatment platelet reactivity in patients with coronary or peripheral arterial disease: Mechanisms, evaluation and clinical implications. *World Journal of Cardiology*, 7(12), 912-921
- [60] Selvanderan S. P., Summers M. J., Finnis M. E. et al. (2016) Pantoprazole or Placebo for Stress Ulcer Prophylaxis (POP-UP): Randomized Double-Blind Exploratory Study. *Critical Care Medicine*, 44(10), 1842-1850
- [61] Beigmohammadi M. T., Hanifeh M., Rouini M. R. et al. (2013) Pharmacokinetics Alterations of Midazolam Infusion versus Bolus Administration in Mechanically Ventilated Critically Ill Patients. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 483-488

- [62] Reis A. M. M., De Bortoli Cassiani S. H. (2011) Prevalence of potential drug interactions in patients in an intensive care unit of a university hospital in Brazil. *Clinics (Sao Paulo)*, 66(1), 9-15
- [63] Eiden C., Peyrière H., Cociglio M. et al. (2007) Adverse Effects of Voriconazole: Analysis of the French Pharmacovigilance Database. *Annals of Pharmacotherapy*, 41(5), 755-763
- [64] Ammon H. P. T. (2010) Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch. 10. Auflage, Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, S. 1668
- [65] Lemmer B., Brune K. (2004) Pharmakotherapie – Klinische Pharmakologie. 12. Auflage, Springer-Verlag, S. 352