

## 1. Einleitung

### 1.1. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Die spezifische pharmakodynamische Beeinflussung eines pathologischen Zustandes ohne gleichzeitige Wirkung auf andere Körpersysteme ist in der Regel nicht möglich. Daraus folgt, dass bei fast allen Medikamenten auch mit einer Wirkung gerechnet werden muss, die nicht der erwarteten Wirkweise entspricht. Man bezeichnet dies als unerwünschte Arzneimittelwirkung (UAW) oder auch als Nebenwirkung. Dabei kann eine Nebenwirkung auch durchaus erwünscht sein. Beispielsweise nutzt man die anticholinergen Nebenwirkungen der trizyklischen Antidepressiva bei der Behandlung bestimmter Formen des Reizdarm-Syndroms.

Nach der Definition von Edwards ist eine unerwünschte Arzneimittelwirkung eine scheinbar schädliche oder unangenehme Reaktion, die aus der Anwendung eines medizinischen Produktes herrührt, welche eine Gefahr für die zukünftige Anwendung vorhersagt und deshalb präventive- oder spezifische Behandlungsmaßnahmen, eine Veränderung der Dosierung oder ein Absetzen des Produktes erforderlich macht (Edwards, Aronson, 2000).

Die meisten unerwünschten Arzneimittelwirkungen sind leicht bis moderat, im Verlauf selbst limitierend und rasch reversibel nach Absetzen der Medikation. In einigen Fällen kommt es jedoch zu schwereren Zwischenfällen die zu einer stationären Aufnahme oder im schlimmsten Fall gar zum Tod führen. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 1998 ergab, dass die Inzidenz von Krankenhauseinweisungen mit tödlichem Ausgang zu 0,13% auf unerwünschte Arzneimittelwirkungen zurückzuführen ist (Lazarou et al., 1998) und konnte in einer prospektiven Studie bestätigt werden (Pirmohamed et al., 2004). Man rechnet damit, dass etwa 5% aller Krankenhauseinweisungen aufgrund von Nebenwirkungen erfolgen (Einarson, 1993). Nebenwirkungen stellen damit die häufigste Ursache stationärer Einweisungen dar. Die Identifizierung der Ursache für die vielfältigen Nebenwirkungen, denen wir im klinischen Alltag begegnen hat somit sowohl hinsichtlich von Aspekten der Qualitätssicherung als auch hinsichtlich ökonomischer Konsequenzen eine grundlegende Bedeutung.

Nach klinischen und ätiologischen Gesichtspunkten erfolgt eine Unterteilung von UAW's in 1.) Typ-A-Reaktionen, auch als „augmented-reactions“ bezeichnet und in 2.) Typ-B-Reaktionen, auch „bizarre“ oder „idiosynkratische Reaktionen“ genannt. Typ- A- Reaktionen sind in der Regel vorhersehbar und können als eine zu starke Ausprägung eines bekannten pharmakologischen Effektes der jeweiligen Substanz verstanden werden.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Dosis und toxischer Wirkung ist im Normalfall herstellbar. Durch eine Reduktion der Dosis kann daher häufig ein Rückgang der unerwünschten Symptomatik erreicht werden. Typische Beispiele sind eine Hypotension bei unangepasster antihypertensiver Therapie oder eine hämorrhagische Reaktion durch die Anwendung von Antikoagulanzen. Typ-A-Reaktionen sind häufiger als Typ B-Reaktionen und für 80% aller UAW's verantwortlich (Pirmohamed et al., 2002).

Typ-B-Reaktionen hingegen sind nicht vorhersehbar und werden als idiosynkratisch bezeichnet, was eine angeborene Überempfindlichkeit gegen bestimmte Stoffe oder Reize meint. Die Klinik idiosynkratischer Arzneimittelwirkungen ist vielfältig, so kann ein und dasselbe Medikament völlig unterschiedliche Reaktionen hervorrufen. Trotz einer großen Bandbreite möglicher Reaktionen gibt es jedoch auch Gemeinsamkeiten, die beim Auftreten idiosynkratischer Arzneimittelwirkungen beobachtet werden (Utrecht, 1992). Dazu gehören:

- 1.) Das Auftreten der UAW mit einer Verzögerung von mindestens einer Woche nach Exposition mit dem Wirkstoff; diese Latenz entfällt bei Re-exposition;
- 2.) das Fehlen eines offensichtlichen Zusammenhanges zwischen der Dosis des Arzneimittels und dem Risiko einer toxischen Wirkung - die Dosis-Toxizitäts-Kurve liegt im Vergleich zur Dosis-Wirkungs-Kurve im gleichen Bereich oder ist sogar nach links verschoben - und
- 3.) das Fehlen eines Tiermodells, welches die unerwünschte Arzneimittelwirkung erfasst. Dies bedeutet nicht, dass Tiere für diese Reaktionen unempfindlich sind. Es werden jedoch im Rahmen tierexperimenteller Untersuchungen hinsichtlich neuer Arzneimittel zum einen oft zu wenig Tiere getestet, zum anderen gehören die hierfür gezüchteten Tiere in der Regel zur gleichen Stammlinie. Dadurch werden Aussagen zur genetischen Variabilität eingeschränkt.

Idiosynkratische Arzneimittelwirkungen sind relativ selten (ca. 20% aller Nebenwirkungen), sind jedoch zumeist für lebensbedrohliche Komplikationen verantwortlich. Das am häufigsten betroffene Organ ist die Haut, es können aber auch alle anderen Organsysteme betroffen sein (Bigby et al., 2001). Typische Beispiele dieser Reaktionstypen sind die Halothan induzierte Hepatitis, die Heparin induzierte Thrombozytopenie oder die Arzneimittel induzierte Agranulozytose als Folge einer Behandlung zum Beispiel mit dem atypischen Antipsychotikum Clozapin oder dem Thrombozytenaggregationshemmer Ticlopidin. Die Arzneimittel induzierte Agranulozytose als unerwünschte Arzneimittelwirkung ist Gegenstand der vorliegenden Dissertation. Tabelle 1.1 gibt einen Überblick über die derzeitige Klassifikation von UAW's:

Reaktionstyp	Merkmale	Beispiele
A: Dosisabhängig (Augmented)	Zusammenhang mit der pharmakologischen Wirkung der Substanz -häufig -vorhersagbar -niedrige Mortalität	Toxische Effekte: Digoxin, Serotonin Syndrom bei SSRI's Nebenwirkungen: Anticholinerge Effekte bei Antidepressiva
B: Nicht-dosisabhängig (Bizarr)	Kein Zusammenhang mit der pharmakologischen Wirkung der Substanz -selten -nicht vorhersehbar -hohe Mortalität	Immunologische Reaktionen: Penicillin Hypersensitivität Idiosynkratische Reaktionen: Agranulozytose, akute Porphyrie
C: Dosis- und Zeitabhängig (chronisch)	Im Zusammenhang mit kumulativer Dosis -selten	HPA-Achse: Suppression durch Kortikoide.
D: Zeitabhängig (Verzögert)	Tritt mit Verzögerung nach Gebrauch der Substanz auf -selten -normalerweise dosisabhängig	Teratogenität Karzinogenese Tardive Dyskinesien
E: Entzug	Tritt bald nach Anwendungsende auf. -selten	Opiat-Entzugssyndrom
D: Unerwartetes Therapieversagen	Meist verursacht durch Interaktionen -häufig -dosisabhängig	Inadäquate Dosierung oraler Kontrazeptiva

Tabelle 1.1. Klassifikation unerwünschter Arzneimittelwirkungen (nach Edward, 2000)

Trotz vielfältigster Bemühungen in den letzten 25 Jahren konnte die Ätiologie Arzneimittel-induzierter Agranulozytosen mit Ausnahme einiger weniger Einzelsubstanzen nicht zufrieden stellend geklärt werden. Diese Tatsache führt dazu, dass klinisch überaus effektive Arzneimittel, wie zum Beispiel Clozapin oder Ticlopidin, wegen der Unvorhersehbarkeit des Auftretens einer Agranulozytose und der damit assoziierten hohen Letalität nur unter restriktiven Maßnahmen angewendet werden dürfen.

## 1.2. Die Arzneimittel-induzierte Agranulozytose

### 1.2.1. Definition:

Die Definition der Arzneimittel-induzierten Agranulozytose ist uneinheitlich. Aus historischer Sicht ist eine Agranulozytose charakterisiert durch eine Konzentration der neutrophilen Granulozyten unter 500/ $\mu$ l, schwerem Krankheitsgefühl und einer ausgeprägten Mucositis (Schultz W., 1922). Nach anderen Definitionen wird eine Neutrophilen-Konzentration von unter 100/ $\mu$ l gefordert. Nach der Definition von Bénichou und der "International Agranulocytosis and

Aplastic Anemia Study“ (IAAAS) im Jahr 1993, bezeichnet eine Agranulozytose einen plötzlichen Abfall der neutrophilen Granulozyten auf einen Wert von unter 500/ $\mu$ l gemessen im peripheren Blutbild. Die Agranulozytose tritt dabei entweder während einer bestehenden medikamentösen Behandlung auf oder innerhalb von 7 Tagen im Fall einer Re-exposition mit einem Arzneimittel. Des Weiteren finden sich einen Monat nach Absetzen der Therapie keine klinischen Zeichen mehr und es sind mehr als 1500/ $\mu$ l neutrophile Granulozyten im Blutbild nachweisbar.

Eine Agranulozytose bezeichnet also das vollständige oder fast vollständige Fehlen der neutrophilen Granulozyten und stellt damit die schwerste Ausprägung einer Neutropenie dar.

### **1.2.2. Epidemiologische Daten**

Die jährliche Inzidenz liegt bei etwa 5-7 Fällen/Million und ist damit sehr niedrig (van der Kleuw et al., 1999), die Fallmortalität liegt bei etwa 10% (Ibanez et al., 2005). Es ist allerdings bekannt, dass spezifische Arzneimittel wie zum Beispiel das atypische Antipsychotikum Clozapin, der Thrombozytenaggregationshemmer Ticlopidin und antithyreoidale Substanzen wie Thiamazol eine deutlich erhöhte Inzidenz von 0,5-2% hinsichtlich des Auftretens einer Agranulozytose aufweisen (Alvir et al., 1993; Hass et al., 1989). Generell sind jedoch fast alle Arzneimittel unterschiedlichster Substanzklassen mit dem Auftreten einer Agranulozytose assoziiert.

Die Inzidenz der Agranulozytose steigt mit zunehmendem Alter an. In einer Studie von Andrés et al. waren 67% aller Patienten mit einer Agranulozytose älter als 65 Jahre. Bei Frauen tritt die Agranulozytose zwei Mal so häufig auf wie bei Männern (Strom et al. 1992).

### **1.2.3. Klinik und Therapie**

Die Arzneimittel-induzierte Agranulozytose tritt gewöhnlich innerhalb eines Zeitraums von 1 bis 3 Monaten nach Exposition mit dem jeweiligen Arzneimittel auf. (Utrecht, 1992). Durch die stark verminderte Anzahl der neutrophilen Granulozyten sind die Patienten extrem anfällig für Infektionen durch Bakterien und Pilze. Diese werden meist verursacht durch grampositive Keime wie Staphylococcus, Streptococcus viridians, Enterococcus, aber auch durch gramnegative Keime wie E. coli, Klebsiella und Pseudomonas und Pilzen wie Candida albicans und Aspergillus flavus. Nach relativ kurzer Anamnese einer Grippe, Angina oder anderen akuten Entzündungszeichen, finden sich meist im Bereich der Mundhöhle, des Rachens, der Vulva oder

des Rektums schwere nekrotisierende Entzündungen. Auch Pyodermien und atypische Pneumonien können auftreten. (Bhatt, Saleem, 2004) Typisches Symptom ist ein plötzlich einsetzendes hohes Fieber mit Schüttelfrost, das auch nach antibiotischer Behandlung persistiert und so den Verlust der unspezifischen Immunität anzeigt. Weitere Symptome sind Tachykardie und Tachypnoe. Ein septischer und damit prognostisch ungünstiger Verlauf kündigt sich durch Blutdruckabfall und typische Schocksymptomatik an.

Der Verdacht auf das Vorliegen einer Agranulozytose wird bestätigt durch einen entsprechenden Befund im peripheren Blutbild. Zum Höhepunkt der Erkrankung finden sich im peripheren Blut fast keine neutrophilen Granulozyten mehr. Hierbei ist zum Beispiel im Falle einer Schädigung von Vorläuferzellen zu beachten, dass das periphere Blutbild Ausdruck einer pathologischen Funktion des Knochenmarks ist, die bereits einige Tage vorher eingesetzt hat. Der Befund des peripheren Blutbildes ist also ein *zeitlich verzögerter* Ausdruck des eigentlichen, im Knochenmark abgelaufenen pathologischen Prozesses. Bei der Untersuchung des Knochenmarks von Patienten mit einer Agranulozytose können, abhängig vom Stadium der Krankheit, unterschiedliche morphologische Bilder gefunden werden (Tabelle 1.2.).

<b>Stadium</b>	<b>Knochenmarkbefund</b>
Initial	Verminderung aller Zellen der granulozytären Reihe
Im "Reifeblock" (maturation arrest)	Normale oder erhöhte Zellzahl von weißen Vorläuferzellen bei gleichzeitigem Fehlen reifer Granulozyten
Regeneration	Normale oder erhöhte Population reifer granulozytärer Zellen

Tabelle 1.2: Knochenmarkbefunde

Therapeutisch ist ein sofortiges Absetzen aller bisher gegebenen, vital nicht indizierten, Medikamente obligat. Gleichzeitig muss zur Therapie oder Prophylaxe von Infektionen die Behandlung mit bakteriziden Antibiotikakombinationen mit möglichst breitem Indikationsspektrum eingeleitet werden. Meist kommt es mit Verzögerung von wenigen Tagen zu einer Erholung der Zellpopulation neutrophiler Granulozyten. Normale Werte werden innerhalb von drei Wochen erreicht. Oft beobachtet man eine kurze Rebound-Phase mit Leukozytose und Thrombozytose. (Heimpel, 2000)

Es wurde hypostasiert, dass die Gabe von Granulozyten-Kolonie stimulierendem Faktor (G-CSF) den Prozess der Granulozytenreifung beschleunigen soll. In einigen Studien (Sprickelman et al., 1994; Andrès et al., 2002) kam es unter Therapie mit G-CSF zu einer signifikant kürzeren Erholungszeit der neutrophilen Granulozyten und einer niedrigeren Mortalitätsrate. Eine randomisierte, prospektive Studie von Fukata und Mitarbeitern (1999) konnte allerdings keinen therapeutischen Nutzen belegen.

Optional können auch Katecholamine zur Behandlung des septischen Schocks als einer möglichen Folge der Agranulozytose eingesetzt werden. Auf den Verlauf der eigentlichen Agranulozytose haben sie allerdings keinen Einfluss.

Auch unter optimaler Therapie kann eine Agranulozytose einen tödlichen Ausgang nehmen.

### **1.3. Hypothesen zur Pathogenese idiosynkratischer Arzneimittelwirkungen**

Die Ätiologie der Arzneimittel induzierten Agranulozytose ist, abgesehen von wenigen Einzelsubstanzen, nicht bekannt. In den letzten Jahren wurden verschiedene Mechanismen diskutiert. Ein Charakteristikum der idiosynkratischen Arzneimittelnebenwirkungen, die fast immer zu beobachtende zeitliche Verzögerung zwischen Exposition mit der jeweiligen Substanz und dem Auftreten der Nebenwirkung lässt vermuten, dass das Immunsystem an ihrer Pathogenese maßgeblich beteiligt ist.

Im Folgenden werden die spezifischen Hypothesen zur Entstehung von idiosynkratischen Arzneimittelwirkungen, die toxische, die immunologische und die genetische dargestellt.

#### **1.3.1. Indirekte Toxizität durch reaktive Metaboliten**

Die wenigsten Hauptwirkstoffe von Pharmaka sind chemisch reaktiv. Allerdings ist es sehr wahrscheinlich, dass infolge der Metabolisierung aus vielen, womöglich aus allen Wirkstoffen, reaktive Metaboliten oder kurzlebige, reaktive Zwischenstufen gebildet werden können. In der Toxikologie ist dies die vorherrschende Hypothese mit der eine Vielzahl toxischer Wirkungen erklärt wird. Zwar konnte dies noch nicht in allen Fällen detailliert nachgewiesen werden, jedoch spricht eine Vielzahl von Ergebnissen der letzten 50 Jahre für diese Hypothese. (Utrecht , 1992; Park, 1998)

Viele strukturähnliche Pharmaka mit gleichen funktionellen Gruppen sind mit demselben Spektrum idiosynkratischer Reaktionen assoziiert. So ist zum Beispiel das Vorhandensein einer primären Arylamingruppe mit einer relativ hohen Inzidenz Medikamenten-induzierter Agranulozytosen vergesellschaftet (Utrecht, 1992).

Dabei bestimmt die chemische Reaktivität Ausprägung und Art der toxischen Wirkung. Je nachdem ob es sich um einen elektrophilen oder neutrophilen Metaboliten handelt, können Rückschlüsse auf die Bindungsaffinität zu bestimmten Gruppen von Enzymen oder Aminosäuren gezogen werden. Die meisten Metaboliten haben aufgrund ihrer Reaktivität nur eine kurze Halbwertszeit. Es ist daher unwahrscheinlich, dass sie, in Abhängigkeit ihrer

Reaktionsfähigkeit, hohe Konzentrationen abseits ihres Bildungsortes erreichen. Bei hochreaktiven Metaboliten beschränkt sich die toxische Reaktion wahrscheinlich auf den jeweiligen Bildungsort.

Da fast alle Entgiftungsprozesse im Wesentlichen in der Leber ablaufen, führte dies zu der Annahme, dass die Leber in der Mehrzahl idiosynkratischer Arzneimittelnebenwirkungen betroffen sein müsste. Diese Hypothese stellte sich als falsch heraus, denn es zeigte sich, dass die Leber auch über eine Vielzahl von Enzymsystemen verfügt um reaktive Metaboliten wieder zu inaktivieren. Neben der Leber besitzen auch andere Organe Enzymsysteme, die in der Lage sind pharmakologische Wirkstoffe zu metabolisieren und es zeigte sich, dass auch Leukozyten in der Lage sind reaktive Metabolite zu produzieren.

Die Hauptaufgabe der Leukozyten besteht in der Abwehr von schädigenden Einflüssen, etwa durch Fremdorganismen oder –stoffe auf den Organismus. Insbesondere die neutrophilen Granulozyten sind auf die Phagozytose infektiöser Stoffe oder anderer Partikel spezialisiert. Nach der Phagozytose erfolgt die intrazelluläre Abtötung der jeweiligen Mikroorganismen, wofür den neutrophilen Granulozyten verschiedene antimikrobielle Agenzien zur Verfügung stehen. Eine entscheidende Rolle spielt hierbei die Myeloperoxidase. Diese liegt in Granula gespeichert in der Zelle vor. Zusammen mit Hydrogenperoxid bildet sie das Enzym “Compound I“. Dies ist ein starkes Oxidans, welches Chlorid-Ionen zu Hypochlorsäure oxidiert. Das Hydrogenperoxid wird von einem zweiten bedeutenden Oxidasesystem, der NADPH-Oxidase, generiert; diese wandelt Sauerstoff zu Superoxid um, welches spontan oder katalysiert von der Superoxid-Dismutase zur Hypochlorsäure reagiert. Die NADPH-Oxidase ist in inaktivem Zustand an der extrazellulären Seite der Zellmembran lokalisiert. Kommt es zur Aktivierung des neutrophilen Granulozyten, zum Beispiel durch Kontakt mit einem Mikroorganismus, erfolgt die Freisetzung der Myeloperoxidase. Gleichzeitig wird die NADPH-Oxidase aktiviert. Dieser Prozess wird aufgrund seines hohen Sauerstoffverbrauchs als “oxidative burst“ bezeichnet. Alle bei diesem Vorgang entstehenden Substanzen sind unterschiedlich reaktiv. Die quantitativ größte Bedeutung scheint der Hypochlorsäure zuzukommen; sie ist auch gleichzeitig das stärkste entstehende Oxidans. Alle diese Stoffe können mit pharmakologischen Wirkstoffen reagieren und reaktive Metaboliten oder reaktive Zwischenstufen bilden.

Es ist zwar nicht anzunehmen, dass der Stoffwechsel dieser Enzymsysteme einen quantitativ bedeutenden Beitrag beim Abbau der Substanzen leistet, aber es ist möglich, dass die Bildung reaktiver Metaboliten einen Einfluss auf die Toxizität bestimmter Arzneimittel hat (Utrecht, 1992).

### 1.3.2. Immunologische Mechanismen

Das *klassische Konzept* des Immunsystems, erstbeschrieben von der Arbeitsgruppe um Burnet im Jahr 1959, besagt, dass das Immunsystem zwischen “Selbst“ und “Fremd“ (Self-Nonself-Modell) unterscheiden kann. Dieses Modell geht davon aus, dass Lymphozyten Kopien eines Oberflächenrezeptors tragen, die für einen Fremdkörper oder –stoff spezifisch sind. Bei Kontakt von spezifischem Lymphozyt und dazu passendem fremden Agens wird über eine Signalkette eine entsprechende Immunantwort ausgelöst. Lymphozyten, die mit Oberflächenrezeptoren ausgestattet sind, welche gegen den eigenen Körper gerichtet sind, werden in den ersten Lebensjahren im Thymus eliminiert. Dieses Konzept wird durch zahlreiche Beobachtungen gestützt und erklärt zum Beispiel die Abstoßungsreaktion bei der Transplantation fremden Gewebes. Jedoch ist dieses Konzept nicht in der Lage, die gesamte Komplexität des Immunsystems zu erklären.

Die *Hapten Hypothese* basiert auf den Arbeiten von Landsteiner und Jakobs zu Beginn des 20. Jahrhunderts. Sie verbindet die Annahme einer Beteiligung sowohl reaktiver Metaboliten als auch des Immunsystems im Zusammenhang mit der Ätiologie idiosynkratischer Arzneimittelnebenwirkungen. Das Pharmakon, aber auch dessen reaktive Metaboliten, sind in der Lage als so genanntes Hapten zu fungieren. Als Hapten bezeichnet man kleine Moleküle mit einer Molekülmasse unter 1000 Dalton. Sie sind per se nicht fähig eine Immunreaktion auszulösen. Kommt es jedoch zu einer Bindung an ein Makromolekül, zum Beispiel ein Protein, so kann dieser Komplex vom Immunsystem erkannt werden und zu einer immunologischen Reaktion führen. Hierbei spielt die Konzentration des jeweiligen Metaboliten (beziehungsweise Haptens) und damit die Anzahl kovalenter Bindungen zu einem Makromolekül eine bedeutende Rolle. Es wird vermutet, dass bei steigender Hapten-Dichte die Antikörper zunehmend das entsprechende Epitop des Metaboliten beziehungsweise des Pharmakons auf dem immunogenen Komplex erkennen. (Pohl et al. 1988, Park, Kitteringham, 1990) Das bedeutet, dass die Modifikation eines Proteins durch einen reaktiven Metaboliten zu einem “fremden“ Protein führt, welches, wie in einigen Fällen nachgewiesen, zu einer immunvermittelten UAW führt. (Griem, et al. 1998). Weiterhin war aber nicht klar, über welchen Mechanismus eine Antigen-präsentierende Zelle in der Lage sein soll “Selbst“ von “Fremd“ zu unterscheiden.

Janeway führte 1992 das “*Infectious-Nonself-Model*“ ein. Danach erkennt das Abwehrsystem über spezifische Rezeptoren auf Zellen des angeborenen Immunsystems (z.B. Makrophagen) bestimmte molekulare Strukturen, die nur auf Pathogenen vorkommen. Über diese Rezeptoren erfolgt die Kontrolle über die Aussendung co-stimulatorischer Signale im Rahmen der



Immunantwort. Diese Rezeptoren scheinen auch eine Rolle bei der Erkennung endogener Gefahrensignale, wie zum Beispiel durch Hitzeschock-Proteine, zu spielen (Beg, 2002).

Ein weiterer Impuls für die Hypothesengenerierung immunologischer Mechanismen kam von Matzinger, die die so genannte *“Danger-Hypothese“* einführte. (Matzinger, 1994) Die Danger-Hypothese besagt, dass der Organismus zwischen harmlos und gefährlich unterscheidet. Der fundamentale Unterschied der *“Danger-Hypothese“* zum Self-Nonselself-Modell ist die Vorstellung, dass der Hauptstimulus für die Initiierung der Immunantwort von endogenen und nicht von exogenen Stimuli herrührt, die Kontrolle von dem geschädigten Gewebe erfolgt und nicht von den Zellen des Immunsystems. Matzinger proklamiert, dass Zellen, die einem Schaden oder Stressfaktoren ausgesetzt oder abgestorben sind, Gefahrensignale aussenden. Diese Gefahrensignale induzieren wiederum die Produktion sogenannter co-stimulatorischer Signale. Alarmsignale können alle Substanzen darstellen, die von belasteten oder geschädigten Zellen produziert oder modifiziert werden. Es wird vermutet, dass Zytokine wie zum Beispiel Tumornekrose-Faktor-alpha und Interleukin-1-beta solche Alarmsignale darstellen. Zellschäden führten aber auch ohne die Synthese entsprechender Proteine zu einer Stimulation von T-Zellen. Das bedeutet, dass Alarmsignale induzierbar sind, intrazellulär vorliegen und sekretiert werden oder sogar einen Teil der extrazellulären Matrix darstellen. (Matzinger, 2002).

Die *“Danger-Hypothese“* und die Hypothese der Bedeutung reaktiver Metaboliten (siehe 1.3.1.) für die Entstehung idiosynkratischer Arzneimittelwirkungen lassen sich an dieser Stelle verbinden. Reaktive Metaboliten sind in der Lage biologisch sensible Zellbestandteile, wie zum Beispiel DNS (Desoxyribonukleinsäure), zu schädigen oder zu belasten. Dies könnte einem Alarmsignal im Sinne der *“Danger-Hypothese“* entsprechen und nachfolgend zu einer Generierung co-stimulatorischer Signale führen. Verschiedene Substanzen, die eine idiosynkratische Lebertoxizität verursachen, wie Isoniazid und Halothan, sind assoziiert mit einer transienten Erhöhung der Lebertransaminasen. (Byrd, 1979) Womöglich stellt dies ein Alarmsignal dar und damit einen Zusammenhang zwischen direkter Zytotoxizität und dem Risiko, dass eine Substanz eine signifikante Inzidenz idiosynkratischer Arzneimittelnebenwirkungen verursacht knüpfen (Utrecht et al., 2003).

### **1.3.3. Genetisch determinierte Prädisposition**

Neben der Generierung reaktiver Metaboliten und der Rolle des Immunsystems hat auch der Genotyp des Patienten einen entscheidenden Einfluss für die individuelle Empfindlichkeit beim Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen. Mutationen oder Polymorphismen in den

Substanz metabolisierenden Enzymen oder dem Immunsystem können die individuelle Pharmakokinetik und -dynamik für eine Substanz und damit die Empfindlichkeit drastisch verändern. Die Rolle vererbbarer genetischer Varianten war bereits in den späten 50er und frühen 60er Jahren bekannt als die Bedeutung einer Defizienz bei den Enzymen Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und Butyrylcholinesterase im Zusammenhang mit dem Auftreten von Nebenwirkungen belegt wurde. In jüngster Vergangenheit hat die Rolle der genetischen Prädisposition mit der ersten Veröffentlichung des menschlichen Genoms und weiterer Meilensteine neue Bedeutung erlangt. Begriffe wie "Pharmakogenetik" und "Toxikogenetik" wurden in die wissenschaftliche Debatte zur Erklärung pathophysiologischer Prozesse bei der Entstehung von Krankheiten und dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen aufgenommen.

Die *Pharmakogenetik* beziehungsweise Toxikogenetik beschäftigt sich mit der Fragestellung inwiefern genetische Polymorphismen die Wirkungsweise von Medikamenten bei verschiedenen Individuen beeinflussen können (siehe Tabelle 1.3.). Sowohl pharmakodynamische als auch pharmakokinetische Stoffwechselprozesse können durch genetische Unterschiede beeinflusst werden. In Bezug auf unerwünschte Arzneimittelnebenwirkungen wurde das Hauptaugenmerk zunächst auf die Pharmakokinetik, also die Absorption, Distribution, Metabolisierung und Ausscheidung einer Substanz, gelenkt. Inzwischen ist klar, dass auch pharmakodynamische Faktoren einen entscheidenden Einfluss haben. So können interindividuelle Unterschiede in der Konstitution von Rezeptoren, Ionenkanälen, Enzymen und auch des Immunsystems zum Auftreten von Nebenwirkungen prädisponieren (Evans, Relling, 1999).

<b>Gen</b>	<b>Medikation</b>	<b>Polymorphismus assoziierter Medikamenten-Effekt</b>
CYP2C9	Tolbutamid, Warfarin, Phenytoin	Antikoagulative Effekt von Warfarin
CYP2D6	Beta-Blocker, Codein, Antidepressiva, Anti-psychotika	Tardive Dyskinesien (Antipsychotika), Dosissteigerung (Antidepressiva/Imipramin), narkotische Nebenwirkungen, Abhängigkeit (Codein)
HERG	Cisaprid	Induzierte Torsades de Pointes
KvLQT1	Terfenadin, Meflaquine	Induziertes langes QT-Syndrom
HKCNE2	Clarithromycin	Induzierte Arrhythmien

Tabelle 1.3.: Beispiele klinisch relevanter Polymorphismen die Medikamentenwirkung und –effekt beeinflussen (Cytochrom P(CYP), Ether-a-go-go-related-gene (HERG), KvLQT1/ HKCNE2 bezeichnen Gene eines spannungsabhängigen Kalium-Kanals)

Bei der Erforschung genetisch prädisponierender Faktoren *immunologisch bedingter* UAW's wurde in erster Linie auf den MHC (major histocompatibility complex) fokussiert. Ein Teil des MHC ist das "Human leucocyte antigen-System (HLA). Die HLA-Gene werden in zwei

Gruppen unterteilt: Klasse II-Gene (HLA -DP, -DO, -DZ, -DX, -DQ und -DR) und Klasse I-Gene (HLA -B, -C, -A). Diese Gene sind wesentlich an der Autoimmunität beteiligt (Shackelford et al., 1982). Durch Phäno- und Genotypisierung des HLA-Komplexes (human leukocyte antigen) konnten verschiedene HLA-Typen mit dem Auftreten von bestimmten UAW in Verbindung gebracht werden (siehe Tabelle 1.4.).

<b>Medikament</b>	<b>Unerwünschte Arzneimittelwirkung</b>	<b>HLA-Assoziation</b>
Carbamazepin	Schwere hypersensitive Reaktionen	DR3, DQ2
Dipyron	Agranulozytose	A24, B7, DQ1
Gold	Proteinurie, Thrombozytopenie	DR3
Hydralazin	Systemischer Lupus erythematoses	DR4
Sulfonamide	Epidermolysis acuta toxica	A29, B12, DR7
Oxicam	Epidermolysis acuta toxica	A2, B12

Tabelle 1.4.: Zusammenhang zwischen HLA-System und UAW's.

#### **1.3.4. Die genetische Prädisposition Arzneimittel-induzierter Agranulozytosen am Beispiel von Clozapin, Ticlopidin und Carbimazol/Methimazol**

Bezüglich der Clozapin induzierten Agranulozytose konnte in einigen Studien eine Assoziation mit bestimmten HLA-Typen festgestellt werden. So beobachteten Lieberman und Mitarbeiter 1990 einen Zusammenhang zwischen einer aschkenasisch-ethnischen Herkunft (Aschkenasim-Juden) und der Entwicklung einer Agranulozytose unter Clozapin-Medikation. Im Gegensatz zu einer Inzidenz von 0,6 - 2% in bisherigen Studien zur Clozapin-induzierten Agranulozytose zeigte sich unter den Patienten mit aschkenasisch-jüdischer Abstammung eine Inzidenz von 20% (6/30). Daraufhin wurde von sechs Agranulozytose-Patienten eine HLA-Typisierung vorgenommen. Der Haplotyp HLA-B38, DR4, DQw3 wurde bei 5 von 6 Patienten gefunden. Da dieser Haplotyp häufig in dieser Population gefunden wird, wurden die Ergebnisse mit einer Kontrollgruppe, die ebenfalls aschkenasisch-jüdischer Abstammung waren, verglichen. Hier wurde nur bei 2 von 17 Patienten der gleiche Haplotyp gefunden. Zwei Jahre später veröffentlichte dieselbe Arbeitsgruppe weitere Fälle von Agranulozytosen, zwei weitere bei Aschkenasim-Juden und vier bei Personen nicht jüdischer Abstammung. Erneut zeigte sich bei den jüdischen Agranulozytose-Patienten die beschriebene HLA-Konstellation. Die anderen vier Patienten zeigten diese Merkmale nicht, waren jedoch alle Träger des HLA-DR2, DQw1. Aufgrund der Tatsache, dass es keine hundertprozentige Assoziation zwischen bestimmten HLA-Typen und dem Auftreten einer Clozapin-Agranulozytose gab, postulierten Lieberman und Mitarbeiter (1990), dass das Genprodukt, das für die Auslösung einer Clozapin-induzierten Agranulozytose verantwortlich ist, in der HLA-B/DR/DQ-Region liegt. Bei jüdischen Patienten

sei dieses mit dem HLA-B38, DR4, DQw3 gekoppelt und bei Patienten mit anderem ethnischen Hintergrund könne dieses Genprodukt mit anderen Allelen in der gleichen Region (HLA-DR2, Dqw1) gekoppelt sein (Yunis et al., 1992).

Eine weitere Studie zur Frage der HLA-Assoziation bei Clozapin- Agranulozytosen wurde 1998 von Valevski und Mitarbeitern veröffentlicht. Diese untersuchten eine Gruppe von 61 jüdisch-israelischen Schizophrenen, die mit Clozapin therapiert wurden und von denen elf eine Agranulozytose entwickelt haben. Auch in dieser Untersuchung wurde eine signifikante Häufung des Haplotyps HLA-B38 bei Agranulozytosepatienten mit jüdischem Hintergrund gefunden. Aus diesen Ergebnissen leiteten die Autoren ab, dass HLA-B38 ein Marker für eine möglicherweise auftretende Clozapin- Agranulozytose sein könnte.

1992 veröffentlichten Claas und Mitarbeiter eine Studie mit 103 Patienten, die eine Agranulozytose oder eine Granulozytopenie unter Clozapin entwickelt hatten. Die Autoren führten eine HLA -A, -B und -C und eine HLA -DR, -DQ Typisierung durch. Sie stellten bei den untersuchten Patienten keine signifikante Assoziation von bestimmten HLA-Subtypen und dem Auftreten einer Clozapin-Agranulozytose fest und konnten die Ergebnisse von Lieberman und Mitarbeitern nicht bestätigen.

Unsere Arbeitsgruppe konnte bei einer Genotypisierung der gleichen Abschnitte bei einem kaukasischen, nicht-jüdischen Kollektiv von 31 Patienten mit einer Agranulozytose im Vergleich zu einer Kontrollgruppe eine signifikante Assoziation mit den Abschnitten HLA-Cw\*7 ( $p < 0.002$ ), -DQB\*0502 ( $p < 0.004$ ), -DRB1\*0101 ( $p < 0.003$ ) und -DRB3\*0202 ( $p < 0.002$ ) und dem Auftreten einer Agranulozytose zeigen (Dettling et al., 2001).

Zudem konnte unsere Arbeitsgruppe in einer weiteren Untersuchung Auffälligkeiten bezüglich der Verteilung bestimmter Polymorphismen auf dem Myeloperoxidase-Gen (MPO G-463A,  $p < 0.04$ ) zeigen (Mosyagin et al., 2004).

Ostrousky und Mitarbeiter (2003) untersuchten in diesem Zusammenhang einen weiteren genetischen Polymorphismus: Sie fanden eine Assoziation des NQO2 Gens mit der Clozapin induzierten Agranulozytose. Es wurde vermutet, dass das NQO2-Gen-Produkt eine wichtige Rolle in der Entgiftung von potentiell schädlichen Substanzen und dem Schutz der Zellen gegen Arzneimittel induzierten oxidativen und elektrophilen Stress spielt. Das NQO2-Gen wird unter anderem in Granulozyten und Leukozyten exprimiert. Bei einem jüdischen Patientenkollektiv konnte die Forschungsgruppe zeigen, dass die Konzentrationen von NQO2 mRNA im Kollektiv der Patienten mit einer Agranulozytose signifikant erniedrigt waren. Sie vermuten, dass die Entgiftung bei diesen Patienten nicht ausreichend effektiv ist, damit reaktive Metaboliten des Clozapin in den Granulozyten akkumulieren und dann zur Zellapoptose führen.

Auch für die Ticlopidin-induzierte Agranulozytose konnte eine Assoziation mit genetischen Polymorphismen gezeigt werden. Unsere Arbeitsgruppe wies in einer Voruntersuchung eine Häufung eines Polymorphismus auf dem Myeloperoxidase-Gen (MPO G-463A,  $p < 0,07$ ) und dem NADPH-Oxidase-Gen (CYBA c-242T,  $p < 0,12$  und CYBA A-640G,  $p < 0,37$ ) nach (Mosyagin et al. 2004).

Tamai et al. untersuchten Polymorphismen der HLA-Klasse-II-Gene bei Patienten mit einem Morbus Basedow, die unter der Therapie mit Thiamazol eine Agranulozytose entwickelten und verglichen diese mit einem Kontrollkollektiv. Dabei konnten sie einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem Vorliegen des DRB1\*08032-Allels und dem Auftreten einer Agranulozytose zeigen. Sie vermuten daher, dass dieses Allel einen prädisponierenden Faktor für das Auftreten einer Agranulozytose darstellt

#### **1.4. Die Rolle des Fc- $\gamma$ -Rezeptors**

Das Wissen um die Funktion der Fc- $\gamma$ -Rezeptoren hat in den letzten Jahren beträchtlich zugenommen. Die Fc- $\gamma$ -Rezeptoren stellen ein wichtiges Bindeglied im Zusammenspiel zwischen der humoralen und zellulären Immunantwort dar. Es konnte bereits ein Zusammenhang bestimmter Polymorphismen der Fc- $\gamma$ -Rezeptoren mit Autoimmunerkrankungen (Karassa et al., 2004), der Sensibilität und Prognose von Infektionskrankheiten (Yuan et al., 2003) und der biologischen Antwort auf bestimmte Medikamente (Carlsson et al., 1998) gefunden werden.

##### **1.4.1.1. Funktion und strukturelle Diversität der Fc- $\gamma$ -Rezeptoren**

Die Fc- $\gamma$ -Rezeptoren werden als Oberflächenrezeptoren auf Zellen der hämatopoetischen Zelllinie exprimiert. Sie reagieren mit bestimmten Molekülen, den sogenannten Fc-Fragmenten, welche sich auf allen Antikörpern befinden. Antikörper bestehen aus jeweils zwei identischen kleineren Leicht- und größeren Schwereketten, welche über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Durch selektive Spaltung mittels proteolytischer Enzyme wird der Antikörper geteilt in ein Antigen bindendes Fragment (Fab) und ein Fragment ohne Affinität zu Antigenen, das sogenannte Fc-Fragment (fragment crystallizable). Fc-Rezeptoren interagieren mit dem Fc-Fragment des Antikörpers. Spezifische Zellreaktionen werden auf diesem Weg ausgelöst oder beeinflusst. Fc-Rezeptoren sind für einen bestimmten Isotyp eines Fc-Fragments spezifisch. Antikörper bezeichnet man auch als Immunglobulin G (IgG).

Die Bindung des IgG an den Fc- $\gamma$ -Rezeptor kann eine große Bandbreite biologischer Antworten bewirken; es kann zum Beispiel zu einer zytotoxischen Reaktion, zu einer Endozytose, zu einer Phagozytose, einer Freisetzung inflammatorischer Mediatoren und verstärkter Antigenpräsentation kommen; die Immunantwort kann jedoch auch gehemmt werden, indem die Rezeptoren den Schwellenwert für zellaktivierende oder –inhibierende Signale modulieren. Der Fc-RII<sub>B</sub> als Rezeptor mit inhibierender Funktion kann zum Beispiel die Schwelle zur Aktivierung eines Phagozyten erhöhen und damit eine entsprechende Immunantwort blockieren. Fc- $\gamma$ -Rezeptoren sind also essentiell für die körpereigene Abwehr und Immunregulation.

Die verschiedenen Isoformen sind zum Teil als stimulierendes und inhibierendes Paar auf der Zelloberfläche vertreten. (Salmon, Pricop, 2001). Die strukturelle Heterogenität der Fc- $\gamma$ -Rezeptor-Isoformen führt zu unterschiedlichen Bindungsaffinitäten zu den verschiedenen Unterklassen des humanen Immunglobulin G und zu Unterschieden in der Signaltransduktion und Zelltyp-spezifischen Verteilung (siehe Tabelle 1.5.).

<b>Isoform des Fc-<math>\gamma</math>-Rezeptors</b>	<b>Akzessorische Zellen mit entsprechendem Rezeptor</b>
Fc- $\gamma$ -RI (CD64)	Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile, dendritische Zellen
Fc- $\gamma$ -RII <sub>A</sub> (CD32)	Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile, Thrombozyten
Fc- $\gamma$ -RII <sub>B2</sub> (CD32)	Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile
Fc- $\gamma$ -RII <sub>B1</sub> (CD32)	B-Zellen, Mastzellen
Fc- $\gamma$ -RIII(CD16)	Natürliche Killer-Zellen, Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile, Mastzellen

Tabelle 1.5.: Unterschiedliche Fc- $\gamma$ -Rezeptoren und deren Verteilung

Fc- $\gamma$ -Rezeptoren werden durch acht Gene auf dem langen Arm des Chromosoms 1 enkodiert. Sie enkodieren drei verschiedene Klassen von Fc- $\gamma$ -Rezeptoren. Drei Fc- $\gamma$ -RI Gene generieren vier Transskripte (Ia, Ib1, Ib2, Ic), wobei Fc- $\gamma$ -Ia der einzige humane Rezeptor ist, der eine hohe Affinität für monomeres IgG hat. Drei Fc- $\gamma$ -RII Gene generieren sechs (IIa1, IIa2, IIB1, IIB2, IIB3 und IIC) und Fc- $\gamma$ -RIII zwei (IIIa, IIIb) Transskripte. Letztere sind Rezeptoren mit einer niedrigen Affinität für monomeres IgG und reagieren bevorzugt mit multivalentem IgG.

Innerhalb der jeweiligen Klasse konnten unterschiedliche biologische Rollen identifiziert werden. Fc- $\gamma$ -RI, Fc- $\gamma$ -RIIa, Fc- $\gamma$ -RIIc und Fc- $\gamma$ -RIIIa sind stimulierende Rezeptoren, wohingegen Fc- $\gamma$ -RIIb inhibitorische Funktionen hat.

Stimulatorische Fc- $\gamma$ -Rezeptoren findet man auf Thrombozyten, neutrophilen Granulozyten, und damit den Zielzellen der Arzneimittel induzierten Agranulozytose, auf Monozyten, Makrophagen und auf den Natural Killer Cells. Die biologische Antwort scheint bei diesen Rezeptoren mehr von den Zellen abhängig zu sein, die den Rezeptor exprimieren als von dem

Rezeptor selbst. Eine Aktivierung bewirkt die Initiierung der Phagozytose, vermittelt die Antikörper abhängige Zytotoxizität und die Freisetzung inflammatorischer Mediatoren wie Zytokine, reaktive Oxidantien und Proteasen (Karasse et al., 2004).

Der inhibitorische Fc- $\gamma$ -RIIb findet sich auf den B-Lymphozyten und den Myeloid-Zellen. Co-aggregiert mit einem stimulierenden Rezeptor kann dieser die zellulären Signale auslöschen. Wahrscheinlich determiniert die Verteilung stimulatorischer und inhibitorischer Rezeptoren die mögliche Zellaktivierung nach Interaktion einer Zelle mit Immunkomplexen (Salmon, Pricop, 2001).

#### **1.4.1.2. Polymorphismen der Fc- $\gamma$ -Rezeptoren und deren klinische Relevanz**

Drei dieser aufgeführten Fc- $\gamma$ -Rezeptor Subklassen zeigen funktionell relevante Polymorphismen, die die Empfindlichkeit für infektiöse Erkrankungen und deren Prognose, das Risiko einer Transplantatabstoßung und die biologische Reaktion auf therapeutische Agenzien beeinflussen (Torkildsen et al., 2005).

Eine Punktmutation (G507A) wurde beim Fc- $\gamma$ -RIIa Rezeptor beschrieben. Diese führt zu einem Austausch Arginin(R) gegen Histidin (H) in Position 131, einer extrazellulären Domäne, welche die Ligandenbindung stark beeinflusst. Die Allele zeigen eine co-dominante Ausprägung. H 131 ist das Allel mit einer hohen Bindungsaffinität, R 131 hat schwache Bindungsaffinitäten. H/H 131 ist der einzige Fc-Rezeptor, der effektiv mit IgG2 interagiert. Die Frequenz des R 131-Allels liegt in der europäischen und afrikanischen Population bei etwa 50% (Lehrnbecher et al., 1999, Karassa et al., 2002). Bezüglich der klinischen Relevanz dieses Polymorphismus konnte gefunden werden, dass die Frequenz von R/R 131 bei Patienten mit thrombotischen Ereignissen, wie zum Beispiel der Heparin induzierten Thrombozytopenie, signifikant erhöht ist. Es wird vermutet, dass eine reduzierte Clearance von Immunkomplexen bei Patienten mit diesem Allotyp eine verlängerte Aktivierung der Thrombozyten bedingt und damit das Risiko für thrombotische Komplikationen ansteigt (Carlsson et al. 1998).

Der Fc- $\gamma$ -RIIIa Rezeptor zeigt eine Substitution von Thymin durch Guanin, was in der Aminosäurekette zu einem Ersatz von Valin (V) durch Phenylalanin (F) in Position 158 führt. Diese Allele werden ebenfalls co-dominant exprimiert. Der V/V-Typ zeigt eine stärkere Bindung an IgG1 und IgG3 (Salmon, Pricop, 2001). Das schwach bindende F158-Allel ist bei einer gesunden Population asiatischer Abstammung stärker vertreten als in einer Population mit europäischer oder afrikanischer Abstammung (ca. 68% vs. 58%). (Karassa et al., 2003,

Lehrnbecher et al., 1999). Der V/V 158 Genotyp ist mit einer erhöhten Aktivität der Natural Killer Cells assoziiert.

Der Fc- $\gamma$ -RIIIb Rezeptor zeigt einen Polymorphismus eines auf den neutrophilen Granulozyten exprimierten Antigens (NA). Neutrophile, die Zielzellen der Agranulozytose, haben einige spezifische Antigene: NA1, NA2, NB1, NB2, NC1, ND1 und NE1. Unter diesen werden lediglich NA1 und NA2 konstitutiv exprimiert. Sie unterscheiden sich durch fünf Nukleotide, was zu einer Substitution von vier Aminosäuren führt. Die beiden Allele führen zu quantitativ unterschiedlicher Priming- und Phagozytosekapazität. Neutrophile von NA1-homozygoten Spendern haben eine stärker ausgeprägte Fc- $\gamma$ -Rezeptor vermittelte Phagozytose-Antwort im Vergleich zu Zellen eines NA2 Spenders. Die Frequenz des NA2 Allels liegt bei etwa 64% in der afrikanischen und europäischen Bevölkerung (Lehrnbecher et al., 1999).

Auch der Fc- $\gamma$ -RIIa wird auf neutrophilen Granulozyten exprimiert, jedoch ist dessen Affinität zu genannten Dimeren im Vergleich zum Fc- $\gamma$ -RIIIb geringer. Es wurde hypostasiert, dass ein kombinierter Fc- $\gamma$ -RIIa (RR131) und Fc- $\gamma$ -RIIIb (NA22) Genotyp einen Risikofaktor für Autoimmunerkrankungen darstellt, die Kombination der Genotypen Fc- $\gamma$ -RIIa (HH131) und Fc- $\gamma$ -RIIIb (NA11) scheint hingegen einen protektiven Einfluss zu haben, zumindest im Hinblick auf die autoimmune infantile Neutropenie, eine hämatologische Erkrankung mit benigner Verlaufsform (Taniuchi et al. 2001).

### **1.5. Epidemiologische Vorbefunde hinsichtlich Arzneimittel-induzierter Agranulozytosen**

Eine Übersicht zu den Inzidenzangaben unterschiedlicher Arzneimittelgruppen, die in der Dissertation untersucht wurden, gibt Tabelle 1.6.



<b>Substanz</b>	<b>Stübner S et al. 2004</b> (Inzidenzzahlen für eine schwere Neutropenie)	<b>Van der Klauw et al. 1999</b> Inzidenzangaben in %	<b>Ibanez et al., 2005</b> Inzidenzangaben in Fälle pro 1 Millionen pro Jahr	<b>Agranulozytosefälle nach Angaben der AKDÄ, Stand 2000, Prozentualer Anteil an den Gesamtfällen (687)</b>
<b>Psychopharmaka</b>	-	-	-	-
Clozapin	0,18%	-	-	7,3%
Olanzapin	0,05%	-	-	1,3%
Carbamazepin	0,14%	0,15%-	0,09	3,6%
Perazin	0,09%	-	-	1,7%
Eunerpan	-	-	-	-
Zuclopenthixol	-	-	-	-
Prothipendyl	-	-	-	-
Orap	-	-	-	-
Chlorprothixen	0,02%	-	-	-
Doxepin	0,04%	-	-	-
<b>Thrombozytenaggregationshemmer (Ticlopidin)</b>	-	-	0,39	11,2%
<b>Thyreostatika</b>	-	2,26%	0,25	-
Carbimazol	-	0,53%	-	2,2%
Thiamazol	-	-	-	4,2%
<b>Sulfonamide/Trimethoprim (Cotrimoxazol)</b>	-	0,41%	0,19	2,5%
<b>Arylamine</b>	-	-	-	-
Diclofenac	-	-	0,14	2,6%
Dapson	-	-	-	-
Sulfasalazin	-	-	-	3,1%

Tabelle 1.6.: Übersicht: Statistische Daten zur Agranulozytose unter Behandlung mit den untersuchten Pharmaka aus Voruntersuchungen.

## 1.5.1. Psychopharmaka

### 1.5.1.1. Clozapin

Clozapin gehört zur Gruppe der atypischen trizyklischen Neuroleptika und ist ein Dibenzodiazepin-Derivat. Es ist ein mittelpotentes Neuroleptikum mit initial dämpfender Wirkung bei weitestgehend fehlenden extrapyramidalen Nebenwirkungen. Clozapin wird vorwiegend bei der Langzeittherapie schizophrener Psychosen verwendet, insbesondere bei Auftreten von nicht tolerierbaren EPMS oder Spätdyskinesien unter der Therapie mit typischen Neuroleptika. Außerdem hat es sich bei der Behandlung therapieresistenter Psychosen gegenüber den typischen Neuroleptika als überlegen erwiesen. Aufgrund des relativ hohen Agranulozytoserisikos von 1-2% ist die Verwendung von Clozapin jedoch eingeschränkt; die Anwendung ist strengen Kontrolluntersuchungen vorbehalten. So muss vor Behandlungsbeginn

ein unauffälliges Differentialblutbild vorliegen mit einer Leukozytenzahl von über 3500/ $\mu$ l. Zudem müssen in den ersten 18 Behandlungswochen zunächst wöchentliche, danach monatliche Kontrollen der Leukozytenzahlen gewährleistet sein. Die Therapie erfolgt einschleichend mit einer Testdosis von 12,5 mg/d und Aufdosierung um maximal 25 mg/d. Die Erhaltungsdosis liegt zwischen 100 - 400mg. (Benkert, Hippus, 2002). 1991 untersuchten Fischer und Mason die Metabolisierung von Clozapin durch aktivierte neutrophile Granulozyten. Dabei fanden sie Hinweise auf die Bildung eines reaktiven Metaboliten der mit den aktivierten Neutrophilen eine kovalente Bindung einging und so ein Glutathion-Konjugat formte. Direkte freie Radikale konnten nicht beobachtet werden, jedoch geht man von der Bildung von Glutathion-Radikalen aus. Bei der Reaktion von Clozapin mit Hypochlorsäure entsteht vermutlich ein relativ stabiles Nitrenium-Ion.

In einer von Copolov und Mitarbeitern (1998) durchgeführten Untersuchung an 4061 mit Clozapin behandelten Patienten zeigte sich bei 37 (0,9% der exponierten Patienten) eine Agranulozytose. Von diesen waren 16 weiblich (43%) bei nur einem Anteil von 34% Frauen im Gesamtkollektiv. Das mittlere Alter lag insgesamt bei 46 Jahren (Männer 41 Jahre, Frauen 51 Jahre). In einer Untersuchung von Alvir et al. 1993 wurden insgesamt 11.555 Patienten untersucht von denen 7032 männlichen (62%) und 4350 weiblichen Geschlechts (38%) waren. 73 Patienten entwickelten eine Agranulozytose. Von diesen waren 42 (58,3%) weiblich und 31 (41,7%) männlich. Frauen hatten in dieser Studie alterskorrigiert ein 1,6faches Risiko eine Agranulozytose zu entwickeln.

Auch in einem von unserer Forschungsgruppe zuvor untersuchten Patientenkollektiv mit einer Arzneimittel-induzierten Agranulozytose war der Anteil der Frauen höher, 61,5% der 65 untersuchten Patienten waren weiblich, 38,5% waren männlich. Das Durchschnittsalter lag bei 50 Jahren (Männer 45 Jahre, Frauen 53,5 Jahre), bei einer Altersspanne von 19 bis 84 Jahren. Die Agranulozytose trat durchschnittlich nach einer Dauer von 198 Tagen auf, der Median lag jedoch bei 67 Tagen. (Weise, 2000)

## **1.5.2. Non-Psychopharmaka**

### **1.5.2.1. Ticlopidin**

Ticlopidin wird als Hemmstoff der Plättchenaggregation bei der Prophylaxe von Cerebralgefäß-Thrombosen nach cerebraler Ischämie therapeutisch eingesetzt. Auf noch unbekannte Weise hemmt es die ADP-vermittelte Plättchenaktivierung. Die maximale Aggregationshemmung wird

dabei erst nach 5-6 Tagen bei einer oralen Dosis von 2 x 250mg/d erreicht. Die Hemmung ist irreversibel und dauert etwa 10 Tage an. Die Blutungszeit wird auf das zwei- bis dreifache verlängert. Liu und Utrecht untersuchten 2000 die Metabolisierung von Ticlopidin durch aktivierte neutrophile Granulozyten. Sie konnten nachweisen, dass Ticlopidin unter experimentellen Bedingungen einer beträchtlichen Oxidation durch das MPO- System unterliegt. Dabei entstehen Dehydro-ticlopidin und 2-Chloroticlopidin. Es wird vermutet, dass bei dieser Reaktion außerdem ein reaktiver Intermediärmetabolit entsteht, bei dem es sich wahrscheinlich um Thiophene-S-chlorid handelt.

Bereits im Verlauf von Phase-III-Studien konnte ein gehäuftes Auftreten von Neutropenien und anderen Blutbildveränderungen unter der Therapie mit Ticlopidin beobachtet werden. Deshalb ist die Anwendung von Ticlopidin aufgrund einer Agranulozytoseinzidenz von 1-2% (Hass et al. 1989) limitiert und nur bei Patienten indiziert, bei denen eine Unverträglichkeit für Acetylsalicylsäure vorliegt. Klinische Basisdaten waren trotz einer Medline-Recherche kaum zu finden. In einer Untersuchung von Paradiso-Hardy (2000), waren von 15 Patienten mit einer Agranulozytose 9 weiblichen und 6 männlichen Geschlechts. Das mittlere Alter lag bei 63 Jahren (Paradiso-Hardy et al., 2000).

#### **1.5.2.2. Thiamazol/Methimazol und Carbimazol)**

Thiamazol, Methimazol und Carbimazol gehören zu den sogenannten schwefelhaltigen Thyreostatika. Es handelt sich um Synthesblocker der Schilddrüsenhormone. Sie hemmen die Peroxidase, wodurch sowohl die Übertragung von Jod auf das Thyreoglobulin, als auch die Verknüpfung der Jodtyrosine zu T3 und T4 behindert wird. Die schwefelhaltigen Thyreostatika sind bei Hyperthyreosen, Thyreotoxikosen und zu Operationsvorbereitung indiziert. Durch die relativ lange Halbwertszeit von T4 (1 Woche), setzt die Wirkung erst entsprechend langsam ein. Initial verabreicht man in der Regel 3x 100mg/d, die Erhaltungsdosis liegt bei 25-50mg/d. Die Agranulozytose ist mit einer Inzidenz von 0,1%-0,3% (Tamai, 1996) eine relativ häufige Nebenwirkung einer thyreostatischen Therapie.

Bei der Erforschung der Ätiologie der Thyreostatika-induzierten Agranulozytose konnten in verschiedenen Studien Antikörper gegen reife neutrophile Granulozyten nachgewiesen werden. (Utrecht, 1992).

In einer Untersuchung von Tajiri und Noguchi waren nur 6 der 109 untersuchten Agranulozytosefälle männlich. Das Alter der Patienten lag zwischen 8 und 72 Jahren, bei einem Durchschnittsalter von 40,2 Jahren. Die Agranulozytose trat in diesem Kollektiv in einem

Zeitraum von 4 bis 720 Tagen auf, nach Exklusion der Ausreißer trat die Agranulozytose durchschnittlich nach 42,1 Tagen auf, bei 92,5% der Fälle entwickelte sich diese innerhalb von 90 Tagen nach Erstexposition. In einer Untersuchung von Andrés und Mitarbeitern (2001) verhält sich das Geschlechterverhältnis ähnlich zu der vorangegangenen Studie: Auf einen Mann kamen 19 Frauen. Das Alter variierte zwischen 37 und 87 Jahren bei einem Median von 62 Jahren. Die durchschnittliche Einnahmedauer bis zum Auftreten der Agranulozytose betrug in dieser Untersuchung 37 Tage.

## **1.6. Überlegungen und Hypothesen**

Aufgrund der beschriebenen Hypothesen zu Arzneimittel induzierten Agranulozytosen, den klinischen Verläufen von Agranulozytosen induziert durch das atypische Antipsychotikum Clozapin, den Thrombozytenaggregationshemmer Ticlopidin und die Thyreostatika Methimazol und Carbimazol, gingen wir bei Beginn der Untersuchung von ähnlichen Ätiopathogenesen dieser schweren Arzneimittelnebenwirkung aus. Die, wie oben beschrieben, dürftige klinische Datenlage erschwert eine solide wissenschaftliche Klärung der Ätiologie Arzneimittel induzierter Agranulozytosen. Beispielhaft für eine genetisch interessante Zielstruktur im Kontext wurden die vorbeschriebenen Polymorphismen der Fc- $\gamma$ -Rezeptoren untersucht.

Hypothese 1.: Die erhobenen klinischen Verlaufsdaten von Patienten mit Psychopharmaka, Ticlopidin und Thyreostatika induzierten Agranulozytosen sind vergleichbar mit jeweiligen Befunden aus Voruntersuchungen, zeigen aber medikamentenabhängig hinsichtlich klinischer Variablen, wie zum Beispiel Alter und Geschlecht, Unterschiede.

Hypothese 2: Spezifische genetische Varianten des Fc- $\gamma$ -Rezeptors modulieren das intra- und interindividuelle Risiko für das Auftreten einer Arzneimittel induzierten Agranulozytose mit möglichem immunogenetischen Hintergrund.