

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
der Medizinischen Fakultät der Charite –
Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Einfluss der genetisch polymorphen Verstoffwechslung
durch CYP2D6 auf die antiemetische Wirksamkeit
der 5HT₃- Rezeptorantagonisten Tropisetron und Ondansetron**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr.med.dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charite –
Universitätsmedizin Berlin

von
Anja Papies
aus Berlin

Gutachter:

1.: Prof. Dr. med. I. Roots

2.: Prof. Dr. med. J. Brockmüller

3.: Prof. Dr. med. K. Possinger

Datum der Promotion: 22.02.2008

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1 Übelkeit und Erbrechen nach zytostatischer Therapie.....	6
1.2 Medikamentöse Therapie	9
1.2.1 Therapie des akuten Erbrechens	9
1.2.2 Therapie des verzögerten Erbrechens	10
1.2.3 Therapie bei antizipatorischem Erbrechen.....	10
1.3. Pharmakologische Eigenschaften der 5-HT ₃ -Rezeptorantagonisten Tropisetron und Ondansetron	10
1.4 Metabolisierung der 5-HT ₃ -Rezeptorantagonisten Tropisetron und Ondansetron – Bedeutung des CYP2D6 und seiner Polymorphismen	12
2. Zielsetzung	15
3. Material und Methoden	16
3.1 Patienten.....	16
3.1.1 Einschlusskriterien	16
3.1.1.1 Tumorentitäten	16
3.1.1.2 Zytostatische Therapie	17
3.1.1.3 Emetogene Potenz	17
3.1.1.4 Antiemetische Therapie.....	17
3.1.1.5 Dokumentation von Übelkeit und Erbrechen	18
3.1.2 Ausschlusskriterien	18
3.2 Geräte.....	19
3.3 DNS-Isolierung.....	20
3.3.1 Gewinnung des Blutes zur DNS-Isolierung	20
3.3.2 Chemikalien	20
3.3.3 Methodenbeschreibung.....	21
3.4 Genotypisierung von CYP2D6	22
3.4.1 Prinzipielles Vorgehen	22
3.4.2 Reaktionsbedingungen	24
3.5 Gelelektrophorese.....	29
3.6 Statistik	30

4. Ergebnisse	31
4.1 Ergebnisse der Genotypisierung.....	31
4.1.1 Häufigkeitsverteilung der detektierten CYP2D6-Allele	31
4.1.2 Häufigkeit der Genotypen und Geschlechtsverteilung	32
4.1.3 Verteilung der Genotypen in beiden Therapiegruppen.....	33
4.2 Ausmaß von Übelkeit und Erbrechen nach antiemetischer Therapie mit Tropisetron und Ondansetron	33
4.2.1 Übelkeit und Erbrechen in der gesamten Patientengruppe.....	33
4.2.2 Übelkeit und Erbrechen der gesamten Patientengruppe in Abhängigkeit vom Genotyp	34
4.2.2.1 Übelkeit.....	34
4.2.2.2 Erbrechen.....	35
4.3 Vergleich der antiemetischen Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron	36
4.3.1 Vergleich der Wirksamkeit in der Gesamtgruppe der Patienten.....	36
4.3.2 Antiemetische Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron differenziert nach Metabolisierertypen	37
4.3.2.1 Übelkeit	37
4.3.2.2 Erbrechen.....	39
4.4 Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron in Abhängigkeit von der Emetogenität des Chemotherapie-Regimes	41
4.4.1 Einfluß der Emetogenität der Chemotherapie auf Übelkeit und Erbrechen in der gesamten Patientengruppe.....	41
4.4.2 Übelkeit und Erbrechen in Abhängigkeit von Emetogenität der Zytostatika-Therapie und Metabolisierertyp	43
4.5 Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron in Abhängigkeit vom Geschlecht.....	46
4.6 Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron bei zusätzlicher Glukokortikoidtherapie	47
4.6.1 Einfluß auf Übelkeit und Erbrechen in der gesamten Patientengruppe	47
4.6.2 Übelkeit und Erbrechen in Abhängigkeit von Glukokortikoidgabe und Metabolisierertyp.....	48
4.7 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.....	49

5. Diskussion	50
5.1 Antiemetische Wirksamkeit der 5-HT ₃ -Rezeptorantagonisten	50
5.2 Ursachen des inkompletten antiemetischen Schutzes nach Tropisetron- bzw. Ondansetron-Behandlung.....	55
5.2.1 Emetogenität der Chemotherapie	55
5.2.2 Risikofaktorenkonstellation des Patientenkollektivs	56
5.2.3 Einfluß des CYP2D6-Polymorphismus auf die Variabilität der antiemetischen Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron	58
5.2.4 Einfluß des CYP2D6-Genotyps auf die antiemetische Wirksamkeit von Tropisetron und Ondansetron.....	62
6. Zusammenfassung	67
Literaturverzeichnis	69
Anhang	84
Tabellen 1-3	84
Verzeichnis der Tabellen.....	87
Verzeichnis der Abbildungen	89
Abkürzungsverzeichnis	90
Erklärung.....	92
Danksagung.....	93
Lebenslauf	94
Publikation	95

6. Zusammenfassung

Übelkeit und Erbrechen stellen für onkologische Patienten nach wie vor die belastendsten Nebenwirkungen der Krebs-Chemotherapie dar. Die antiemetische Therapie mit 5-HT₃-Rezeptorantagonisten hat die Zytostatika-induzierte Nausea und Emesis erheblich reduziert, jedoch nicht eliminiert.

In der vorliegenden Studie wurde bei insgesamt 270 Krebspatienten unter Chemotherapie der Zusammenhang zwischen der antiemetischen Wirksamkeit der 5-HT₃-Rezeptorantagonisten Tropisetron und Ondansetron und dem CYP2D6-Genotyp untersucht. Das Auftreten von Übelkeit und Erbrechen wurde mittels standardisierter Interviews zu zwei Zeitpunkten dokumentiert. Die Intensität der Übelkeit wurde anhand einer visuellen Analogskala von den Patienten vor und zweimal während der Chemotherapie beurteilt.

Ergebnisse:

1. Nach antiemetischer Behandlung mit Tropisetron und Ondansetron berichteten 35 % der Patienten dieser Studie über Übelkeit, bei 22 % der Patienten trat Erbrechen auf.
2. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Effektivität des durch 5HT₃-Rezeptorantagonisten erreichten antiemetischen Schutzes und dem CYP2D6-Genotyp nachgewiesen werden.
3. Homozygote Träger von Defektallelen (poor metabolizer), die kein funktionelles Protein exprimieren, waren nahezu komplett vor Übelkeit und besonders vor Erbrechen geschützt.
4. Die Träger von mehr als 2 funktionellen Allelen (ultraschnelle Metabolisierer) wiesen im Vergleich zu allen anderen Patienten sowohl nach 4 Stunden als auch nach 5-24 Stunden höhere Erbrechensraten sowie ein größeres Ausmaß an Übelkeit auf. Die antiemetische Behandlung mit Tropisetron bzw. Ondansetron war somit bei diesen Patienten nicht ausreichend effektiv.
5. Durch eine CYP2D6-Genotypisierung vor Therapiebeginn könnten diese Patienten erkannt und ihre antiemetische Behandlung durch Ausweichen auf andere, nicht über CYP2D6 metabolisierte Antiemetika verbessert werden.

6. Da die ultraschnellen Metabolisierer in der deutschen Bevölkerung mit einer Häufigkeit von ca. 2 % vorkommen, müssten 50 Patienten genotypisiert werden, um einen Patienten vor schwerer Zytostatika-induzierter Übelkeit und Erbrechen zu schützen.

Verzeichnis der Tabellen

- Tab. 1: Tumorarten aller Patienten
- Tab. 2: Emetogene Potenz der Zytostatikatherapie (nach Hesketh et al., 1997)
- Tab. 3: Anzahl der mit Tropisetron und Ondansetron behandelten Patienten und Dosierung der 5-HT₃-Rezeptorantagonisten
- Tab. 4: Übersicht über verwendete Geräte
- Tab. 5: Übersicht über die für die DNS-Isolierung verwendeten Chemikalien
- Tab. 6: Übersicht über die für die Genotypisierung verwendeten Chemikalien
- Tab. 7: PCR-RFLP-Tests für CYP2C6
- Tab. 8: Sequenzen und Positionen der für die CYP2D6-Genotypisierung verwendeten Oligonukleotidprimer, f: forward Primer, r: reverse Primer
- Tab. 9: Häufigkeit der CYP2D6-Allele
- Tab. 10: Häufigkeit und Geschlechtsverteilung der CYP2D6-Genotypen
- Tab. 11: Verteilung der Genotypen in beiden Therapiegruppen
- Tab. 12: Mittlere Übelkeit in % der VAS und mittlere Zahl der Erbrechenperioden 0 – 4 h und 5 – 24 h nach Beginn der Chemotherapie
- Tab. 13: Mittlere Übelkeit in % der VAS nach 0 – 4 h sowie nach 5 – 24 h, UM geprüft gegen gemeinsame Gruppe aus IM, EM und PM
- Tab. 14: Vergleich der mittleren Übelkeit in % der VAS nach Behandlung mit Tropisetron bzw. Ondansetron nach 0 – 4 h und nach 5 – 24 h
- Tab. 15: Vergleich der mittleren Erbrechenshäufigkeit nach Behandlung mit Tropisetron bzw. Ondansetron im Zeitraum 0 – 4 h und nach 5 – 24 h
- Tab. 16: Übelkeit und Erbrechen unter antiemetischer Therapie in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp (Übelkeit: % Mittelwert; Erbrechen: Anzahl der Episoden Mittelwert)
- Tab. 17: Vergleich von mittlerer Übelkeit in % der VAS und mittlerer Zahl der Erbrechenepisoden in den Emetogenitätsgruppen 1 (Level 1+2+3) und 2 (Level 4+5)
- Tab. 18: Mittlere Übelkeit in % der VAS nach 0 – 4 h sowie 5 – 24 h in Abhängigkeit von Metabolisierertyp und Emetogenität der Chemotherapie (1= Level 1+2+3) ; 2= Level 4+5)

- Tab. 19: Mittlere Zahl der Erbrechenepisoden nach 0 – 4 h und 5 – 24 h in Abhängigkeit von Metabolisierertyp und Emetogenität der Chemotherapie (1= Level 1+2+3; 2 = Level 4+5)
- Tab. 20: Mittlere Übelkeit in % der VAS nach 5 – 24 h in Abhängigkeit von Metabolisierertyp und Emetogenität der Chemotherapie, UM versus PM/ IM/ EM
- Tab. 21: Mittlere Erbrechenhäufigkeit nach 0 – 4 h und 5 – 24 h in Abhängigkeit von der Emetogenität der Chemotherapie, UM versus PM/ IM/ EM
- Tab. 22: Mittlere Übelkeit in % der VAS bei Frauen und Männern nach 0 – 4 h und 5 – 24 h
- Tab. 23: Mittlere Erbrechenhäufigkeit bei Frauen und Männern nach 0 – 4 h und 5 – 24 h
- Tab. 24: Mittlere Prozentwerte der Übelkeit sowie mittlere Zahl der Erbrechenepisoden aller Patienten in Abhängigkeit von zusätzlicher Glukokortikoidtherapie, dargestellt als Funktion des emetogenen Levels der Chemotherapie nach 5 – 24 h
- Tab. 25: Mittelwerte der Übelkeit in % der VAS nach 0 – 4 h und 5 – 24 h in Abhängigkeit vom Genotyp und der zusätzlichen Gabe von Glukokortikoiden
- Tab. 26: Mittelwerte der Erbrechenhäufigkeit nach 0 – 4 h und 5 – 24 h in Abhängigkeit vom Metabolisierertyp und der zusätzlichen Gabe von Glukokortikoiden
- Tab. 27: Frequenzen der Defektallele sowie der Genduplikationen im Vergleich mit den Ergebnissen von Sachse et al. (1997)
- Tab. 28: Häufigkeit der langsamen Metabolisierer, der häufigsten inaktiven Allele *4 und *5 sowie der für den ultraschnellen Metabolisierertyp UM verantwortlichen Genduplikationen in Populationen unterschiedlicher ethnischer Herkunft (modifiziert nach Sachse et al., 1997)

Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1: Flussdiagramm der CYP2D6-Genotypisierung
- Abb. 2: Prozentzahlen der mittleren Übelkeit der gesamten Patientengruppe differenziert nach Metabolisierertypen im Zeitraum 0 – 4 h (MW+SD)
- Abb. 3: Prozentzahlen der mittleren Übelkeit der gesamten Patientengruppe differenziert nach Metabolisierertypen im Zeitraum 5 – 24 h (MW+SD)
- Abb. 4: Mittlere Anzahl der Erbrechenepisoden der gesamten Patientengruppe differenziert nach Metabolisierertypen im Zeitraum 0 – 4 h (MW+SD)
- Abb. 5: Mittlere Anzahl der Erbrechenepisoden der gesamten Patientengruppe differenziert nach Metabolisierertypen im Zeitraum 5 – 24 h (MW+SD)
- Abb. 6: Mittlere Übelkeit in der mit Tropisetron behandelten Patientengruppe in % der VAS im Zeitraum 0 – 4 h (MW+SD)
- Abb. 7: Mittlere Übelkeit in der mit Ondansetron behandelten Patientengruppe in % der VAS im Zeitraum 0 – 4 h (MW+SD)
- Abb. 8: Mittlere Übelkeit in der mit Tropisetron behandelten Patientengruppe in Prozent der VAS im Zeitraum 5 – 24 h (MW+SD)
- Abb. 9: Mittlere Übelkeit in der mit Ondansetron behandelten Patientengruppe in Prozent der VAS im Zeitraum 5 – 24 h (MW+SD)
- Abb. 10: Mittlere Anzahl der Erbrechenepisoden bei den mit Tropisetron behandelten Patienten im Zeitraum 0 – 4 h (MW+SD)
- Abb. 11: Mittlere Anzahl der Erbrechenepisoden bei den mit Ondansetron behandelten Patienten im Zeitraum 0 – 4 h (MW+SD)
- Abb. 12: Mittlere Anzahl der Erbrechenepisoden bei den mit Tropisetron behandelten Patienten im Zeitraum 5 – 24 h (MW+SD)
- Abb. 13: Mittlere Anzahl der Erbrechenepisoden bei den mit Ondansetron behandelten Patienten im Zeitraum 5 – 24 h (MW+SD)
- Abb. 14: Prozentualer Anteil der Patienten mit Übelkeit in Abhängigkeit von der Emetogenität der Chemotherapie
- Abb. 15: Prozentualer Anteil der Patienten mit Erbrechen in Abhängigkeit von der Emetogenität der Chemotherapie

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
A_{260}	Absorption bei 260 nm
A_{280}	Absorption bei 280 nm
Abb.	Abbildung
A.bidest.	Aqua bidestillata
bp	Basenpaare
C	Cytosin
C_{max}	maximale Konzentration
CYP1A2	Cytochrom P450 1A2-Isoenzym
CYP2C19	Cytochrom P450 2C19-Isoenzym
CYP2D6	Cytochrom P450 2D6-Isoenzym
CYP2D7	Cytochrom P450 2D7-Isoenzym
CYP2D8	Cytochrom P450 2D8-Isoenzym
CYP2E1	Cytochrom P450 2E1-Isoenzym
CYP3A4	Cytochrom P450 3A4-Isoenzym
Del	Deletion
DNS	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxyribonukleotidphosphate
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EM	schneller Metabolisierer (extensive metabolizer)
et al.	und andere
G	Guanin
h	Stunde
5-HIES	5-Hydroxyindolessigsäure
5-HT	5-Hydroxytryptamin
5-HT ₁ -Rezeptoren	5-HT-Rezeptoren Typ 1
5-HT ₂ -Rezeptoren	5-HT-Rezeptoren TYP2
5-HT ₃ -Rezeptoren	5-HT-Rezeptoren Typ 3
5-HT ₄ -Rezeptoren	5-HT-Rezeptoren Typ 4
HWZ	Halbwertszeit
IM	intermediärer Metabolisierer
i.v.	intravenös
kb	Kilobasen

M	molar
mM	millimolar
μ M	mikromolar
mg	Milligramm
μ g	Mikrogramm
ml	Milliliter
μ l	Mikroliter
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
n.d.	nicht bestimmt
nm	Nanometer
n.s.	nicht signifikant
NK ₁ -Rezeptoren	Neurokinin-Rezeptoren Typ 1
NEB-Puffer	NewEnglandBiolabs-Puffer
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PM	langsamer Metabolisierer (poor metabolizer)
RFLP	Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
sign.	Signifikant
T	Thymin
Tab.	Tabelle
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
TE-Puffer	Tris-EDTA-Puffer
TRIS-Puffer	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
UM	ultraschneller Metabolisierer (ultrarapid metabolizer)
u.U.	unter Umständen
VAS	visuelle Analogskala
V/cm	Volt pro Zentimeter
ZNS	Zentralnervensystem
z.T.	zum Teil
z.Zt.	zur Zeit

Erklärung

Ich, Anja Papies, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Einfluß der genetisch polymorphen Verstoffwechslung durch CYP2D6 auf die antiemetische Wirksamkeit der 5-HT₃-Rezeptorantagonisten Tropisetron und Ondansetron“

selbst, ohne die unzulässige Hilfe Dritter, verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Anja Papies

Danksagung

Dem Direktor des Instituts für Klinische Pharmakologie der Medizinischen Fakultät der Charite Campus Mitte, Herrn Prof.Dr. I.Roots, danke ich für die Möglichkeit, die experimentellen Arbeiten in seinem Institut durchführen zu können.

Für die Überlassung des Themas sowie für Anregungen und Unterstützung bei der Auswertung der Studienergebnisse und bei der Erstellung der Arbeit möchte ich mich bei Herrn PD Dr.med.R.Kaiser bedanken.

Mein Dank gilt dem Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik II mit Schwerpunkt Onkologie und Hämatologie der Charite Campus Mitte, Herrn Prof.Dr.K.Possinger und seinen Mitarbeitern für Auswahl und zytostatische Therapie der an dieser Studie beteiligten Patienten.

Frau Dr.med.N.Rösler danke ich für die Erhebung der Patientendaten und die Bereitstellung der Blutproben.

Mein Dank gilt weiterhin den Mitarbeitern des Labors des Instituts für Klinische Pharmakologie für die Hilfe bei der Einarbeitung der molekularbiologischen Methoden.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau Dr.med.G.Laschinski bedanken für die kritische Durchsicht des Manuskripts und wertvolle Hinweise für die Gestaltung der Arbeit.

Nicht zuletzt danke ich allen an der Untersuchung beteiligten Patienten für ihre Bereitschaft zur Teilnahme an der Studie.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Publikation

Rolf Kaiser, Orhan Sezer, Anja Papias, Steffen Bauer, Claudia Schelenz, Pierre-Benoit Tremblay, Kurt Possinger, Ivar Roots, Jürgen Brockmüller

Patient-Tailored Antiemetic Treatment with 5-Hydroxytryptamine Type 3 Receptor Antagonists According to Cytochrome P 450 2D6 Genotypes

Journal of Clinical Oncology, Vol 20, Issue 12 (June), 2002: 2805 - 2811