

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

**DISSERTATION**

**Thema: Einfluss von CYP2D6-Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von  
Trimipramin**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Johanna Sasse

aus Ludwigshafen

Gutachter:      1. Prof. Dr. med. J.Kirchheiner  
                         2. Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. M. Bauer  
                         3. Priv.-Doz. Dr. med. T. Bschor

Datum der Promotion: 22.09.2006

FÜR MEINE ELTERN IN DANKBARKEIT

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>7</b>
<b>1.1</b>	<b>Trimipramin</b>	<b>7</b>
1.1.1	Bedeutung der Substanz	7
1.1.2	Wirkmechanismus	7
1.1.3	Indikation	8
1.1.4	Unerwünschte Wirkungen	8
1.1.5	Pharmakokinetik	9
<b>1.2</b>	<b>Cytochrom- P- 450-Enzyme</b>	<b>11</b>
1.2.1	Bedeutung	11
1.2.2	Einfluss auf Metabolismus von Antidepressiva	12
1.2.3	Genetische Polymorphismen von CYP2D6 und CYP2C19	12
<b>1.3</b>	<b>Ziel der vorliegenden Studie</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>16</b>
2.1.1	Pharmakogenetische Vorauswahl der Teilnehmer	16
2.1.2	Ein- und Ausschlusskriterien	16
<b>2.2</b>	<b>Formale und inhaltliche Voraussetzungen der Studie</b>	<b>17</b>
2.2.1	Datenschutz	17
2.2.2	Versicherung	18
2.2.3	Diätetische Maßnahmen	18
2.2.4	Ärztliche Betreuung	18
<b>2.3</b>	<b>Studienablauf</b>	<b>18</b>

<b>2.4</b>	<b>Genotypisierung .....</b>	<b>19</b>
<b>2.5</b>	<b>Analytik .....</b>	<b>20</b>
2.5.1	Bestimmung von Trimipramin und Desmethyltrimipramin im Plasma.....	20
2.5.2	Bestimmung der Urinkonzentration .....	21
<b>2.6</b>	<b>Pharmakokinetik von Trimipramin und Desmethyltrimipramin .....</b>	<b>22</b>
<b>2.7</b>	<b>Statistische Analyse .....</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1</b>	<b>Beschreibung pharmakokinetischer Parameter von Trimipramin in Abhängigkeit der CYP2D6 Polymorphismen .....</b>	<b>25</b>
3.1.1	Plasmakonzentrationszeitverläufe .....	25
3.1.2	Clearance .....	28
3.1.3	AUC nach multipler oraler Gabe .....	30
3.1.4	Eliminationshalbwertszeit .....	30
3.1.5	Bioverfügbarkeit.....	30
<b>3.2</b>	<b>Beschreibung pharmakokinetischer Parameter von Desmethyltrimipramin in Abhängigkeit der CYP2D6 Polymorphismen .....</b>	<b>32</b>
3.2.1	Plasmakonzentrationen und AUC .....	32
3.2.2	Eliminationshalbwertszeit .....	32
<b>3.3</b>	<b>Exkretion von Trimipramin und Desmethyltrimipramin.....</b>	<b>33</b>
<b>3.4</b>	<b>Verträglichkeit und klinische Daten von Trimipramin.....</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Diskussion pharmakokinetischer Ergebnisse von Trimipramin .....</b>	<b>37</b>
4.1.1	Auswirkungen der Trimipraminkonzentrationsunterschiede .....	37
4.1.2	Folgen variierender Bioverfügbarkeit und Clearance .....	37

4.1.3	Auswirkungen von Genduplikationen.....	38
<b>4.2</b>	<b>Klinischer Bezug der Trimipraminergebnisse .....</b>	<b>39</b>
4.2.1	Dosisanpassung abhängig vom Genotyp.....	39
4.2.2	Pharmakodynamische Konsequenzen anhand von Surrogatparametern.....	40
<b>4.3</b>	<b>Schlussfolgerung.....</b>	<b>40</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>44</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Trimipramin

### 1.1.1 *Bedeutung der Substanz*

Antidepressiva gehören derzeit zu den meist verordneten Psychopharmaka in Deutschland. Trimipramin (dimethylamino-3-methyl-2-propyl)dihydro-10,11-(5H)-dibenz(b,f)azepine) zählt strukturell zur Gruppe der trizyklischen Antidepressiva, ist seit über 30 Jahren zur antidepressiven Therapie zugelassen und wird international eingesetzt. Die pharmakologische Gruppe der trizyklischen Antidepressiva trägt ihren Namen aufgrund zweier Gemeinsamkeiten: einem stimmungsaufhellenden Effekt und der chemischen Grundstruktur mit der charakteristischen Anordnung von drei Ringen, dem „Trizyklus“. Die Indikation zur Behandlung mit einem Antidepressivum dieser Gruppe ist bei Patienten mit einer depressiven Episode gegeben (Lapierre, 1989). Kontrollierte klinische Studien konnten zeigen, dass die Effektivität von Trimipramin vergleichbar mit der folgender anderer Antidepressiva ist: Imipramin, Amitriptylin, Doxepin und Maprotilin (Settle und Ayd, 1980). Trimipramin gilt als wichtiger Vertreter unter den Antidepressiva mit sedierender Wirkung. Trotz Einführung neuerer Wirkstoffe gibt es in der antidepressiven Pharmakotherapie immer noch eine hohe Rate an Patienten mit unzureichender Response (ca. 30-40 %) (Thase, 2003) und häufig starke Nebenwirkungen, welche u.a. zum Therapieabbruch führen können.

### 1.1.2 *Wirkmechanismus*

Obwohl die Substanz Trimipramin schon viele Jahre therapeutisch genutzt wird, sind die Wirkmechanismen noch nicht vollständig geklärt (Berger und Gaspar, 1996). Trimipramin hemmt die Wiederaufnahme von Serotonin und Noradrenalin nur in einem geringen Ausmaß und führt nicht zu einer Down-Regulation der  $\beta$ -Adrenorezeptoren, weswegen es nur selten, und nur bei intravenöser Applikation, eine orthostatische Hypotension verursacht (Randrup und Braestrup, 1977; Hauser et al., 1985; Gaspar und Baumann, 1987). Es hat eine schwache antagonistische Wirkung auf die Dopamin-D2-Rezeptoren und wirkt schwach inhibitorisch auf die Monoaminoxidase (Waldmeier, 1982; Gross et al., 1991). Trimipramin wird als potenter H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonist beschrieben, was seine Effektivität in der Behandlung von Magen- und Duodenalulcera begründen könnte (Myren et al., 1984). Depressive Patienten zeigen häufig Veränderungen neuroendokriner Funktionen. In klinischen Studien konnte

gezeigt werden, dass erhöhte nächtliche Plasma-Kortisolspiegel durch die Gabe von Trimipramin gesenkt werden können. Die nächtliche Sekretion des Hormons Prolaktin konnte demgegenüber gesteigert werden (Linkowski et al., 1987; Steiger et al., 1993a).

### 1.1.3 *Indikation*

Eine Hauptindikation für den Einsatz des Medikaments Trimipramin stellt die Therapie eines depressiven Syndroms dar, bei welchem die Symptome Angst, Agitiertheit und Unruhe im Vordergrund stehen. Die Substanz wird auch bei depressiven Patienten mit Schlafstörungen eingesetzt, da sie schlafinduzierend wirkt. Im Gegensatz zu anderen Antidepressiva scheint Trimipramin die REM (Rapid Eye Movement)-Schlafphase, die Tiefschlafphase und die subjektive Schlafqualität zu erhöhen (Steiger et al., 1993b).

Aufgrund der sedativen und schlaffördernden Komponente wird Trimipramin nicht ausschließlich bei depressiven Patienten eingesetzt, sondern gerade in jüngerer Zeit bei Schlafstörungen anderer Genese und stellt hier eine Alternative zum Einsatz von Benzodiazepinen dar, da Trimipramin kein Abhängigkeitspotential besitzt.

### 1.1.4 *Unerwünschte Wirkungen*

Insgesamt werden bei Trimipramin aufgrund des geringen Einflusses auf das noradrenerge System weniger Nebenwirkungen beobachtet als bei anderen Trizyklika (Lapierre, 1989). Trimipramin besitzt sowohl sedative Eigenschaften, welche auf der Affinität zu Histamin H1- Rezeptoren beruhen, als auch anticholinerge Effekte. Auf diese Eigenschaften sind die am häufigsten beschriebenen unerwünschten Wirkungen, wie z. B. Schläfrigkeit, Mundtrockenheit, verschwommenes Sehen, Schwindel und Obstipation zurückzuführen. Die Inzidenz von kardiovaskulären Nebenwirkungen scheint geringer zu sein als bei anderen trizyklischen Antidepressiva (Richelson und Nelson, 1984; Petersen und Richelson, 1982; Cohn et al., 1993).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die pharmakologischen Eigenschaften von Trimipramin denen anderer trizyklischer Antidepressiva in vielen Punkten gleichen, jedoch einige biochemische Vorgänge unterschiedlich sind, wie das Fehlen der  $\beta$ -adrenergen Aktivität, die sedative Wirkung und der Einfluss auf die REM-Schlafphase. Aufgrund dieser Unterschiede wird Trimipramin als atypisches trizyklisches Antidepressivum bezeichnet.

### 1.1.5 *Pharmakokinetik*

Trimipramin wird als fettlösliche Substanz nach oraler Applikation fast vollständig aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert und hat eine hohe Plasmaeiweißbindung (94,9 %). Der höchste Plasmaspiegel nach oraler Einmalgabe wird nach zwei bis vier Stunden erreicht. Bevor Trimipramin seinen Wirkort im Gehirn erreicht, wird es mit großer interindividueller Variabilität in der Leber metabolisiert (First-pass-Effekt). Wichtigste Metabolisierungswege sind die N-Demethylierung und die Ringhydroxylierung. Die Elimination von Trimipramin erfolgt hauptsächlich in Form seiner Metaboliten glukuronidiert über die Niere; etwa 10 % der Substanz werden in unveränderter Form renal eliminiert. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt nach oraler Gabe 24 Stunden und nach intravenöser Gabe 23 Stunden, sie ist damit kürzer als bei den meisten anderen trizyklischen Antidepressiva (Abernethy et al., 1984). Von der Substanz Trimipramin sind folgende Metaboliten bekannt: Desmethyltrimipramin, Didesmethyltrimipramin, 2-Hydroxytrimipramin und 2-Hydroxydesmethyltrimipramin (Suckow und Cooper, 1984). Desmethyltrimipramin wird die hauptsächliche pharmakologische Aktivität zugeschrieben.

Trimipramin hat eine geringe therapeutische Breite. Die therapeutische Breite ist die Spanne zwischen der unteren Schwellenplasmakonzentration, die für eine therapeutische Wirkung überschritten werden muss, und der oberen Grenzkonzentration, ab der vermehrt unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Der obere therapeutische Plasmaspiegel wird für Trimipramin mit 0,24 mg/l und für seinen Hauptmetaboliten Desmethyltrimipramin mit 0,38 mg/l angegeben (Moffat et al., 1986). Es gibt bislang wenig Daten zur Frage, in welcher Plasmakonzentration Trimipramin die beste antidepressive Wirkung erzielt. Es konnte gezeigt werden, dass schon geringe Plasmaspiegel des Medikaments eine antidepressive Wirkung erzielen können (Bougerolle et al., 1988).

Das Erreichen eines steady-state des Medikaments ist abhängig von Dosis und Applikationsform. Frühere Studien nahmen an, dass eine lineare Kinetik zwischen der Dosis des Medikaments und dem Plasmaspiegel bestehen würde (Amsterdam et al., 1980). Neuere Ergebnisse konnten zeigen, dass die Beziehung zwischen Erreichen eines steady-state-Plasmaspiegels und der Dosis der „Muttersubstanz“ Trimipramin

linear ist, die des Metaboliten Desmethyltrimipramin jedoch scheint dosisunabhängig (der Anstieg des Plasmaspiegel erfolgt disproportional, Musa, 1989).

Unter Bioverfügbarkeit versteht man die Geschwindigkeit und das Ausmaß, mit denen der therapeutische Wirkstoffanteil einer Substanz aus seiner pharmazeutischen Form absorbiert und in den systemischen Kreislauf abgegeben wird. Für eine intravenös applizierte Dosis beträgt die Bioverfügbarkeit 100 Prozent. Wesentliche Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von Trimipramin, vergleicht man die orale lösliche Darreichungsform mit der Tablettengabe, bestehen nicht. Dennoch erscheint die Aufnahme aus der Tablettenform homogener (Bougerolle et al., 1989). Zur Bestimmung der absoluten Bioverfügbarkeit ist der intraindividuelle Vergleich einer i.v.-Gabe nötig, auf die sich die pharmakokinetischen Daten nach oraler Applikation beziehen können (Gugeler und Klotz, 2000). Daten zur absoluten Bioverfügbarkeit von Trimipramin können durch einen Vergleich zwischen intravenöser Applikation (100 %) und oraler Gabe (18%-63%) gegeben werden. Die stark variierende Bioverfügbarkeit nach oraler Gabe könnte durch den großen First-pass-Effekt der Substanz in der Leber erklärt werden (Abernethy et al., 1984). Es liegt nahe, dass der Metabolismus von Trimipramin einen wichtigen Faktor für interindividuelle Unterschiede in der Wirkung des Medikaments darstellt. Deshalb kann das Überwachen des Plasmaspiegels (Drug monitoring), besonders bei Patienten, bei denen eine empfohlene Dosierung keine antidepressive Wirkung erzielt, wertvolle Daten bezüglich möglicher Subgruppen von Patienten erbringen, die biochemisch unterschiedlich auf die Gabe von trizyklischen Antidepressiva ansprechen (Sjöqvist et al., 1980).

Trimipramin liegt als Razemat, d.h. als quimolares Enantiomergemisch vor. Es bestehen Unterschiede in der pharmakologischen Aktivität von (L) = rechtsdrehend- und (D) = linksdrehend-Enantiomeren der Substanz (Gross et al., 1991), wobei L-Trimipramin eine größere pharmakologische Aktivität zuzukommen scheint (Gross et al., 1991). Als Enantiomere bezeichnet man Moleküle, die sich wie Bild und Spiegelbild verhalten und nicht deckungsgleich sind. Das Eustomer ist das Enantiomer, welches die gewünschte pharmakologische Wirkung hervorruft; das Distomer ist das Enantiomer, welches für unerwünschte Nebenwirkungen verantwortlich ist. Erste Messungen der steady-state-Konzentration von Trimipramin und seinen Metaboliten unter Berücksichtigung der Enantiomere zeigten, dass eine Stereoselektivität bei der

Verstoffwechslung von Trimipramin gefunden wurde. (D)-Enantiomere wurden hauptsächlich über N-Demethylierung, (L)-Enantiomere hauptsächlich für die Hydroxylierung metabolisiert (Gross et al., 1991).

## 1.2 Cytochrom- P- 450-Enzyme

### 1.2.1 *Bedeutung*

Das Cytochrom-P(CYP)-450-Enzymsystem spielt eine wichtige Rolle bei der Biotransformation im menschlichen Organismus. Unter Biotransformation versteht man die Aktivierung und Deaktivierung von Fremdstoffen und endogenen Substanzen. Die Cytochrom-P450-Enzyme werden für den Metabolismus von ca. 50 % aller Medikamente verantwortlich gemacht und besitzen damit einen bedeutenden Einfluss auf Medikamentenwirkungen. Viele dieser Enzyme sind auch an der Synthese und am Abbau von endogenen Substraten, wie z. B. Hormonen beteiligt (Bertz und Granneman, 1997) Cytochrom-P-450-Enzyme bilden eine Vielzahl von Isoenzymen, deren Anzahl beim Menschen auf 60 bis 200 geschätzt wird (Gonzalez und Nebert, 1990). Die Zugehörigkeit eines Cytochrom-Enzyms zu einer bestimmten Cytochrom-Familie lässt sich an der speziell verwendete Nomenklatur ablesen. So steht z. B. beim CYP2D6 die Ziffer 2 für die Familie, das D für die Subfamilie und die 6 für das spezifische Enzym. CYP-P-450-Enzyme kommen ubiquitär im menschlichen Organismus vor, wobei jedoch der größte Anteil in der Leber lokalisiert ist. Substrate von Cytochrom-P-450-Enzymen weisen eine große chemische Vielfalt auf, gemeinsam ist ihnen eine gute Fettlöslichkeit. Sie katalysieren eine Vielzahl von chemischen Reaktionen, wie z. B. Hydroxylierungen, Demethylierungen und N-Oxidationen. Die katalytische Aktivität ist nicht konstant, sondern intra- und interindividuell sehr variabel. Medikamente können durch sogenannte Arzneimittelinteraktionen die Aktivität der Cytochrom-Enzyme inhibieren oder induzieren. Interindividuelle Unterschiede werden häufig auch durch genetische Polymorphismen einzelner Isoenzyme verursacht. Gene mit geringer Abweichung ihrer DNA-Sequenz werden als polymorph bezeichnet. Pharmakogenetisch relevant wird ein polymorphes Gen, wenn es in einer Frequenz >1 % in der Bevölkerung existiert und mindestens ein Polymorphismus die Aktivität des betroffenen Enzyms verändert. Hinsichtlich der Allelfrequenzen bestehen teilweise große Unterschiede zwischen verschiedenen Populationen. Genetische Polymorphismen können für Enzyme mit unterschiedlicher Aktivität kodieren, was eine reduzierte oder fehlende, aber auch eine verstärkte Verstoffwechslung von Arzneistoffen zur Folge haben kann. Während eine

verminderte Enzymleistung durch mangelnde Aktivierung von Vorstufen den Therapieerfolg in Frage stellen kann, birgt der verlangsamte Abbau eines Medikaments das Risiko von Nebenwirkungen.

### 1.2.2 *Einfluss auf Metabolismus von Antidepressiva*

Die Therapie mit Standarddosierungen von trizyklischen Antidepressiva führt zu Plasmakonzentrationen, die sich bei Patienten individuell 10 bis 30-fach unterscheiden (Preskorn, 1989). Diese Variabilität ist von klinischer Bedeutung, da trizyklische Antidepressiva eine relativ geringe therapeutische Breite besitzen und Intoxikationen zu befürchten sind (Preskorn und Simpson, 1982; Glassmann et al., 1988). Daraus ergibt sich die Annahme, dass therapeutisches Drug monitoring zur Sicherheit bei der Behandlung mit Antidepressiva beitragen kann (Orsulak, 1989).

Es ist bekannt, dass neben dem Alter, der Ernährung und Medikamentenwechselwirkungen auch genetische Faktoren interindividuelle Unterschiede in der Pharmakokinetik, der Wirkung und der unerwünschten Wirkungen von Antidepressiva hervorrufen (Hammer und Sjöqvist, 1967; Alexanderson et al.; 1969). Mittlerweile gibt es Studien, die sich mit genetischen Polymorphismen des Cytochrom-P-450-Enzyms und deren Auswirkungen auf Antidepressiva beschäftigen haben. Einige Isoenzyme des hepatischen Cytochroms P-450 spielen eine wichtige Rolle bei der oxidativen Metabolisierung von Antidepressiva. Der Einfluss der Leberenzyme CYP2D6, CYP1A2, CYP3A4 und CYP2C19 auf den Abbau der trizyklischen Antidepressiva Amitriptylin, Nortriptylin, Clomipramin und Imipramin wurde in mehreren Studien gezeigt (Mellström et al., 1986; Mellström et al., 1981; Madsen et al., 1997). Im Gegensatz zu anderen trizyklischen Antidepressiva gibt es wenig Daten über den Einfluss genetischer Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von Trimipramin. Liegt eine herabgesetzte Enzymaktivität aufgrund genetischer Polymorphismen vor und sind die davon betroffenen Enzyme für die Verstoffwechslung von Medikamenten verantwortlich, können klinische Konsequenzen für den Patienten entstehen, z. B. in Form von unerwünschten Nebenwirkungen (Bolaji et al., 1993).

### 1.2.3 *Genetische Polymorphismen von CYP2D6 und CYP2C19*

Abhängig von der jeweiligen Mutation kodieren die Allele für Enzyme mit erhöhter, normaler, erniedrigter oder gar keiner Aktivität, so dass die Anzahl funktioneller Allele mit der Metabolisierungsleistung korreliert. Die Aktivität der Isoenzyme CYP2D6 und

CYP2C19 erlaubt eine Klassifizierung in unterschiedliche Aktivitätsgruppierungen: Ultraschnellmetabolisierer = Ultrarapid Metabolizer (UM), Schnellmetabolisierer = Extensive Metabolizer (EM), Intermediärmetabolisierer = Intermediate Metabolizer (IM) oder Langsammetabolisierer = Poor Metabolizer (PM) für eines der beiden Enzyme. PMs besitzen kein aktives Allel für CYP2D6, IMs ein aktives Allel, EMs zwei aktive Allele und UMs drei oder mehr aktive Allele zur Metabolisierung einer Substanz. Mit der Bestimmung von nur fünf Allelen des CYP2D6 \*3, \*4, \*5, \*6 und Duplikation lassen sich ca. 95 % der Langsammetabolisierer erkennen, die Anzahl an Ultraschnellmetabolisierern kann aufgrund der Genduplikation vorhergesagt werden (Sachse et al., 1997).

Die Häufigkeit von Cytochrom-Polymorphismen wurde in unterschiedlichen Populationen untersucht und es wurde festgestellt, dass die Prävalenz einzelner Allele eine hohe Variabilität zwischen Bevölkerungsgruppen aufweist. Untersuchungen, die interethnische Unterschiede berücksichtigten, ergaben für eine kaukasische Population eine Häufigkeit für UMs von ca. 1-2 %, für EMs von ca. 50 %, für IMs von ca. 40 % und für PMs von 5-10 % für das CYP2D6 (Kalow und Bertilsson, 1994; Bertilsson, 1995). Für das CYP2C19 wird in Abhängigkeit von keinem, einem oder zwei aktiven Wildtyp-Allelen der Phänotyp eines Individuums entsprechend als Langsam-, Intermediär- oder Schnellmetabolisierer bezeichnet (Brockmöller, 2000). Auch die Prävalenz der Allele dieses Enzym weist eine hohe interethnische Variabilität auf. Bekannt ist, dass ca. 2-5 % der kaukasischen Bevölkerung PMs und ca. 20 % IMs sind. CYP2D6 fehlt demnach in 5 bis 10 % (Bolaji et al., 1993), CYP2C19 in 2-5 % der kaukasischen Bevölkerung von Europa und Nordamerika. Man geht davon aus, dass Langsammetabolisierer für CYP2D6 und CYP2C19 bei der Einnahme der gleichen Dosis eines Medikaments möglicherweise an mehr unerwünschten Nebenwirkungen leiden als Schnellmetabolisierer, da Akkumulationen der Substanz auftreten können. Die Bestimmung der genetischen Polymorphismen könnte dazu dienen, eine klinisch nutzbare Vorhersage über die Beschaffenheit des Medikamentenstoffwechsels eines Patienten geben (De Morais et al., 1994; Sachse et al., 1997). In einem großen Patientenkollektiv konnte gezeigt werden, dass PMs bei Patienten mit hohen Serumspiegeln von Antidepressiva, die mit einer Standarddosis behandelt wurden, überrepräsentiert waren und diese Patienten ein höheres Risiko für Nebenwirkungen

und Interaktionen mit Medikamenten aufwiesen, die über das Cytochrom-P-450-System abgebaut werden (Tacke et al., 1992; Eichelbaum, 1975; Mahgoub et al., 1977).

In einer Übersichtsarbeit über die Biotransformation von Antidepressiva bei bestimmten genetischen Polymorphismen wurden wenige Daten zu Trimipramin dargestellt (Kirchheiner et al, 2001). Im Rahmen einer klinischen Studie konnte die steady-state-Pharmakokinetik von zwei Patienten gemessen werden, die als CYP2D6 und CYP2C19 Langsammetabolisierer phänotypisiert worden waren (Eap et al., 2000). Der CYP2C19 PM hatte mehr als zweifach erhöhte steady-state-Plasmaspiegel, während der CYP2D6 PM keine messbare Konzentration des 2-Hydroxymetaboliten nachwies.

In einer klinischen Studie untersuchten Kirchheiner et al. (Kirchheiner, 2003) die Pharmakokinetik von Trimipramin nach einer oralen Einmalgabe von 75 mg bei 42 Probanden mit unterschiedlichen Genotypen des CYP2D6, CYP2C9 und CYP2C19 zu 13 Messzeitpunkten. Als Referenzgruppe wurden acht Probanden eingeschlossen, die EMs für alle drei Enzyme waren. Diese Gruppe wurde mit sieben IMs und sieben PMs verglichen, die Träger von einem oder zwei aktiven Allelen für CYP2D6 und CYP2C19 waren und mit vier Probanden des Genotyps CYP2C9 \*3/\*3. Die Ergebnisse zeigten, dass die Pharmakokinetik von Trimipramin und dessen Metaboliten Desmethyltrimipramin von dem CYP2D6-Genotyp beeinflusst wurde. Die mittlere orale Clearance von Trimipramin betrug 276 L/h in der Referenzgruppe und nur 36 L/h in der Gruppe der Langsammetabolisierer von CYP2D6 ( $p < 0.001$ ). Diese Unterschiede konnten durch den Effekt unterschiedlicher Genotypen auf beide pharmakokinetische Parametern, die systemischen Clearance und die Bioverfügbarkeit, welche in der Gruppe der Langsammetabolisierer dreimal so hoch war, erklärt werden. Die AUC (Area under curve) von Desmethyltrimipramin war 40-mal höher in der Gruppe der PMs von CYP2D6 verglichen mit der Referenzgruppe. Diese Arbeit zeigte, dass unterschiedliche Genotypen des Enzyms CYP2D6 entscheidend auf pharmakokinetische Parameter der Substanz Trimipramin Einfluss nehmen, deren Wirkung und unerwünschte Wirkungen maßgeblich von diesen Unterschieden abhängen.

### 1.3 Ziel der vorliegenden Studie

Untersucht wurde, welchen Einfluss das CYP2D6-Enzym auf Probanden unterschiedlichen Genotyps nach einmaliger oraler, multipler oraler und intravenöser-Gabe der Substanz Trimipramin hat.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Der vorliegenden Arbeit lag eine prospektive, offene klinische Studie an 15 Probanden zugrunde, die in Abhängigkeit ihres Genotyps unterteilt in drei Gruppen bezüglich pharmakokinetischer Unterschiede nach intravenöser und oraler Gabe der Substanz Trimipramin untersucht wurden.

#### 2.1.1 *Pharmakogenetische Vorauswahl der Teilnehmer*

Die Studie war prospektiv angelegt. Im Hinblick auf die durchzuführenden genetischen Untersuchungen wurde festgelegt, dass alle Studienteilnehmer kaukasischen Ursprungs sein mussten. Die Stichprobe umfasste freiwillige, gesunde, bereits genotypisierte Probanden beiderlei Geschlechts. Davon wurden 15 gesunde Probanden nach folgenden Kriterien ausgewählt: fünf Probanden waren Träger von zwei funktionell defizienten Allelen des CYP2D6, sogenannte Langsammetabolisierer (PMs), sieben Probanden besaßen zwei aktive Allele für das CYP2D6, sogenannte Schnellmetabolisierer (EMs) und drei Probanden besaßen Genduplikationen von CYP2D6 kombiniert mit einem Wildtyp-Allel, sogenannte Ultraschnellmetabolisierer (UMs).

#### 2.1.2 *Ein- und Ausschlusskriterien*

Eingeschlossen wurden Probanden, die zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses klinisch gesund waren. Zum Ausschluss von schwerwiegenden körperlichen Erkrankungen erfolgte eine Anamneseerhebung, eine eingehende körperliche Untersuchung, die Erstellung eines EKGs, sowie eine Bestimmung von Routineblutparametern. Im Rahmen der Laboruntersuchung wurde ein kleines Blutbild mit Bestimmung von Hb, Hämatokrit, Erythrozyten- und Leukozytenzahl durchgeführt, sowie die Serumkonzentrationen der Gerinnungsparameter, Elektrolyte, ALT, AST, gamma-GT, AP, Quick-Wert, Albumin, Gesamt-Bilirubin, Harnstoff und Kreatinin ermittelt. Zum Ausschluss einer Hepatitis A, B oder C wurden Anti-HAV, HbsAg, Anti-HBs, Anti-HBc und Anti-HCV bestimmt. Darüber hinaus wurde ein HIV-Test durchgeführt und bei den weiblichen Probanden das beta-HCG zum Ausschluss einer bestehenden Schwangerschaft gemessen.

Als Ausschlusskriterien galten akute und chronische schwerwiegende körperliche und seelische Erkrankungen zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses. Insbesondere Erkrankungen der Leber, der Magen-Darm-Traktes und der Nieren galten als Ausschlusskriterien, da Veränderungen dieser Organfunktionen großen Einfluss auf die Pharmakokinetik von Medikamenten haben können. Aufgrund einer erhöhten Gefahr für kardiale und zentralnervöse Nebenwirkungen durch die Gabe der Substanz Trimipramin wurden Probanden mit neurologischen, insbesondere epileptischen, sowie kardialen Erkrankungen in der Anamnese aus der Studie ausgeschlossen. Die eingeschlossenen Probanden durften während der Studiendurchführung keine anderen Medikamente außer der zu untersuchenden Substanz Trimipramin einnehmen. Auch die Einnahme hormoneller Kontrazeptiva war ein Ausschlusskriterium. Darüber hinaus durften Probanden zwei Monate vor Studienantritt weder an einer anderen Medikamentenstudie teilgenommen noch Blut gespendet haben. Bekannte Arzneimittelallergien führten ebenso zum Studienausschluss.

## 2.2 Formale und inhaltliche Voraussetzungen der Studie

Die Teilnehmer der Studie gaben nach ausführlicher Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zu der Untersuchung und waren in der Lage, die Studienbedingungen zu verstehen und den gestellten Studienanforderungen Folge zu leisten. Alle Probanden waren zum Einschlusszeitpunkt klinisch gesund. Die Studie wurde nach Kriterien der Good Clinical Practice unter der Beachtung der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Das positive Ethikvotum der Ethikkommission der Charité, Humboldt-Universität Berlin, lag vor.

### 2.2.1 *Datenschutz*

Alle Daten wurden bei Erhebung pseudonymisiert. Jeder Proband erhielt eine individuelle Codenummer. Die Zuordnung von Proband und Code war nur den an der Studie mitarbeitenden Ärzten möglich und wurde nicht an die Mitarbeiter des Labors (molekulargenetische Analysen) weitergegeben. Die Daten wurden in anonymisierter Form computergestützt gespeichert und verwaltet.

### 2.2.2 *Versicherung*

Gemäß den Vorschriften des Arzneimittelgesetzes waren die Probanden gegen die durch die verabreichte Testsubstanz potentiell eintretenden Schäden und die potentiellen Risiken der Blutentnahmen durch eine Probandenversicherung versichert.

### 2.2.3 *Diätetische Maßnahmen*

Die Probanden mussten Nichtraucher sein und durften während der Studie weder alkohol- noch koffeinhaltige Getränke konsumieren, um einen möglichen Einfluss auf die Cytochrom-Enzyme zu minimieren. Drei Tage vor der Medikamenteneinnahme und während der gesamten Studiendauer sollte kein Grapefruitsaft getrunken werden, da dieser Inhaltsstoffe enthält, welche die CYP-Enzyme hemmen können und so die Verstoffwechslung des Trimipramins beeinflussen können.

### 2.2.4 *Ärztliche Betreuung*

Während der gesamten Studiendauer erfolgten regelmäßige EKG-Kontrollen, um das eventuelle Auftreten von kardiovaskulären Nebenwirkungen rechtzeitig erkennen zu können, sowie eine engmaschige Kontrolle der Vitalparameter (Blutdruck- und Pulskontrolle). Zu jedem Messzeitpunkt wurde ärztlich geprüft, ob bei den Probanden Nebenwirkungen vorhanden waren. Die intravenöse Applikation von Trimipramin erfolgte aus Sicherheitsgründen im Liegen; die Probanden durften die Station am Abend erst verlassen, wenn sie sich durch die Verabreichung der Substanz nicht mehr beeinträchtigt fühlten und dies objektiv belegt werden konnte (Vitalzeichen- und EKG-Kontrolle).

## 2.3 Studienablauf

Die Studie bestand aus zwei voneinander unabhängigen Studienteilen:

### 2.3.1 *Studienteil I: i.v.-Gabe*

Die Probanden erhielten nüchtern (d.h. weder Nahrungsaufnahme noch die Einnahme gesüßter oder alkoholhaltiger Getränke innerhalb der letzten 12 Stunden waren erlaubt) 50 mg Trimipramin (Stangyl®, Aventis, Frankfurt/Main, Deutschland) intravenös unter teilstationären Bedingungen. Die Substanz Trimipramin war gelöst in 30,6 ml 5% Glucoselösung und wurde konstant per Infusomat über einen Zeitraum von exakt zwei Stunden infundiert. Diese Infusionsdauer wurde gewählt, um das Risiko von möglichen kardiovaskulären Nebenwirkungen (z. B. Blutdruckabfall) zu minimieren. Blutproben (ca.

9 ml venöses Blut zu jedem Messzeitpunkt) wurden vor Infusionsbeginn und nach Beendigung der Infusion zu genau definierten Messzeitpunkten abgenommen. Die neun Messzeitpunkte waren: Zeitpunkt 0 (vor Infusionsbeginn) und 0,5; 1; 4; 6; 22; 30; 46 und 70 Stunden nach Beendigung der Infusion. Urin wurde nach Infusionsbeginn insgesamt über einen Zeitraum von acht Stunden (unterteilt in zwei Sammelzeiträume von jeweils vier Stunden) gesammelt.

### 2.3.2 *Studienteil II: orale Gabe*

Nach einer Auswaschzeit von mindestens vier Tagen nahmen die Probanden über einen Zeitraum von insgesamt vier Tagen täglich um 8.00 Uhr morgens 50 mg Trimipramin (Stangyl®, Aventis, Frankfurt/Main, Germany) in Tablettenform ein. Nach Einnahme der fünften Dosis wurde ein Profil der oral erreichten Plasmakonzentration des Medikaments erstellt, indem nach einem festen Zeitplan zehn Blutentnahmen (je 9 ml venöses Blut) erfolgten. Die Messzeitpunkte waren: 0 (vor der Einnahme der fünften Dosis Trimipramin) und 1; 2; 3; 5; 8; 24; 32; 48 und 72 Stunden nach Einnahme der Medikation. Urin wurde nach der fünften oralen Applikation des Medikaments von den Probanden insgesamt ebenfalls über einen Zeitraum von acht Stunden (unterteilt in zwei Sammelzeiträume von jeweils vier Stunden) gesammelt. Erfassung von unerwünschten Arzneimittelwirkungen.

Aufgetretene unerwünschte Arzneimittelwirkungen wurden insgesamt viermal während der Kinetikmessungen erfragt. Gemeinsam mit dem Probanden wurde ein Fragebogen zur Beurteilung des Sedierungsgrades (Visual Analogue Scale, VAS), eventuell aufgetretener Kopfschmerzen, Schwindel, Übelkeit und Mundtrockenheit ausgefüllt. Um mögliche kardiale Begleiterscheinungen erfassen zu können, wurde jeweils vor der intravenösen Applikation der Substanz als auch direkt nach Verabreichung der Infusion und sechs Stunden später ein EKG abgeleitet, Blutdruck und Pulsfrequenz wurden im gleichen zeitlichen Abstand gemessen. Nach erfolgter oraler Applikation der Substanz Trimipramin wurden zum Abschluss der Untersuchungen nochmals ein EKG abgeleitet, sowie die Vitalparameter gemessen.

## 2.4 Genotypisierung

Zur Extraktion der DNA aus kernhaltigen Leukozyten wurde pro Proband eine 5 ml venöse EDTA-Blutprobe benötigt. Die Extraktion der DNA aus den Leukozyten erfolgte mittels Phenol-Chloroform-Verfahrens. Die DNA-Proben wurden in TE-Puffer (10 mM

Tris-Puffer/1 mM EDTA, pH 8) gelöst und bei 4 °C bis zur Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in sterilen Reaktionsgefäßen aufbewahrt.

Mithilfe der PCR-Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) -Methode erfolgte sowohl die Analyse der CYP2D6 Allele \*3,\* 4, \*5, \*6 und der Duplikationen, als auch die Bestimmung des CYP2C19 Allels \*2 sowie der CYP2C9 Allele \*2 und \*3 (De Morais et al., 1994; Sachse et al., 1997). Die Genotypisierung von CYP2C19 und CYP2C9 wurde durchgeführt, um Genotypen mit einer signifikanten Bedeutung für die Kinetik von Trimipramin auszuschließen, speziell CYP2C19 \*2/\*2 und CYP2C9 \*3/\*3.

## 2.5 Analytik

### 2.5.1 *Bestimmung von Trimipramin und Desmethyltrimipramin im Plasma*

Zur Bestimmung der Plasmamedikamentenkonzentrationen wurde die Methode der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (High Performance Liquid Chromatography = HPLC) angewandt. Das ihr zugrunde liegende Prinzip ist die Verteilungschromatographie. Hier verteilen sich Stoffe aufgrund unterschiedlicher Affinität zwischen zwei flüssigen Phasen, die sich nicht miteinander vermischen lassen. Die sogenannte stationäre Phase ist an einen festen Träger gebunden, an dem die sogenannte mobile Phase entlang fließt. Im Fall der Reversed Phase Liquid Chromatography (RPLC) besteht die stationäre Phase aus Kieselgelteilchen, an die hydrophobe Substanzen kovalent gebunden sind. Die mobile Phase besteht aus einer pufferhaltigen wässrigen Lösung, die mit einem hydrophilen, organischen Lösungsmittel gemischt ist. Die Trennung des Stoffgemischs kommt dadurch zustande, dass die verschiedenen in der mobilen Phase gelösten Komponenten abhängig von ihrer Affinität zur stationären Phase langsamer als das Lösungsmittel durch die Säule wandern und sich somit abhängig von ihren hydrophoben Eigenschaften auftrennen. Abschließend werden die einzelnen Stoffe mittels eines nach dem Prinzip der Absorptionsphotometrie messenden UV-Durchflussdetektors bestimmt.

Die Serumkonzentration des Razemats Trimipramin und seines Hauptmetaboliten Desmethyltrimipramin wurde mittels RPLC mit UV-Detektion bei einer Wellenlänge von 250 nm bestimmt. Beide Referenzsubstanzen, die als Razemat vorlagen, wurden von Rhone-Poulenc, Rhorer, Frankreich zur Verfügung gestellt. Konzentrationen zwischen 2,5 und 100 µg/L Trimipramin- und Desmethyltrimipramin-Maleat wurden zum

Kalibrieren verwendet. Gemischt wurden 1 ml Serumprobe mit 25 µl der internen Standardlösung (500 ng Imipramin in Methanollösung) und 500 µl einer 1-molaren Natriumkarbonatlösung. Diese Mischung wurde mit 5 ml einer Lösung aus N-Hexan und Acetonitril (98:2) versetzt und extrahiert. Nach Zentrifugation wurde der organische Überstand mithilfe von Stickstoff verdampft und der Rückstand für die weitere Analyse verwendet. Im nächsten Schritt wurden zuerst 4,5 ml des Extrakts in 100 µl der mobilen Phase gelöst, welche sich aus 5 mM Natriumphosphatpuffer (pH 6), Methanol und Acetonitril im Volumenverhältnis 22:32:46 zusammensetzte. Die Chromatographie von 50 µl-Proben erfolgte auf einer LiChrospher 100 CN™-Säule (Merck, Darmstadt, Deutschland) mit einer Durchflussrate von 1,5 ml/min bei Raumtemperatur.

Es wurden Kalibrierstandards für Trimipraminmaleat und Desmethyltrimipraminmaleat im Konzentrationsbereich von 2,5 µl bis 100 µl verwendet. Bei jeder Messreihe, die aus 22 Einzelmessungen bestand, wurden zwei Kontrollproben bestimmt, welche eine Konzentration von 10 µg/L oder 50 µg/L aufwiesen. Die Variationskoeffizienten lagen für 10 µg/L Trimipramin- und Desmethyltrimipramin bei 8,7 % und 9,2 % sowie für 50 µg/L-Proben bei 5,2 % und 10,5 %. Die Bestimmungsgrenze lag bei 1 µg/L, sowohl für Trimipramin als auch seinen Metaboliten.

Zusätzlich wurde die Variabilität sowohl innerhalb eines Tages als auch zwischen den einzelnen Tagen mittels ANOVA mit 14 konsekutiven Kalibrierungsproben evaluiert. Für die beiden verschiedenen Zusammensetzungen wurde der Variationskoeffizient der Variabilität innerhalb eines Tages auf 8 %, der Variationskoeffizient der Variabilität von Tag zu Tag auf 1 % geschätzt.

### 2.5.2 *Bestimmung der Urinkonzentration*

Durch die Messung der kumulativen Urinausscheidung eines Probanden sind Aussagen zur Bioverfügbarkeit der Substanz möglich (Gugeler und Klotz, 2000). Zur Quantifizierung der Substanzen wurde folgende Zusammensetzung des Gemisches (25 % Puffer, 32 % Methanol, 43 % Acetonitril) mit einer Flussrate von 0,8 ml/min verwendet: die intern festgelegte Standardsubstanz war Desmethylclomipramin. Die Ermittlung der Urinkonzentration erfolgte wie bei der Bestimmung von Trimipramin und Desmethyltrimipramin im Plasma beschrieben. (Kap. 2.5.1).

## 2.6 Pharmakokinetik von Trimipramin und Desmethyltrimipramin

Die pharmakokinetischen Daten für Trimipramin und Desmethyltrimipramin wurden mit einer deskriptiven, nichtparametrischen Methode unter Verwendung des Programms WinNonlin™ Version 2.0 analysiert. Die AUCs wurden mittels der linearen Trapezregel kalkuliert. Dazu wurde die Fläche unter der Konzentrationszeitkurve durch die verschiedenen Messpunkte in Trapeze unterteilt. Die Gesamtfläche errechnete sich durch Summation dieser Teilabschnitte. Vom letzten Messzeitpunkt wurde dann mit Hilfe der terminalen Eliminationshalbwertszeit auf den Zeitpunkt  $t$  unendlich extrapoliert und das so erhaltene Dreieck addiert (Gugeler und Klotz, 2000). Da die Daten nach oraler Applikation des Trimipramins als multiple Dosen-Daten verstanden werden können, wurden die AUCs nicht von 0 bis Unendlich, sondern von 0 bis zu 24 Stunden extrapoliert, was vergleichbar mit der AUC von 0 bis Unendlich nach einer einmaligen Gabe der Substanz ist. Abnahmen von Arzneimittelkonzentrationen im Körper lassen sich durch eine so genannte biologische Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) quantitativ beschreiben. Definitionsgemäß gibt sie die Zeit an, innerhalb derer die Konzentration bzw. Menge eines Arzneimittels auf die Hälfte abgefallen ist. Unabhängig von pharmakokinetischen Modellen berechnet sich die totale Clearance zu:

$$CL = D_{i.v.} / AUC = f \text{ (Bioverfügbarkeit)} * D_{p.o.} / AUC.$$

Bei oraler Gabe muss der Faktor  $f = f_a * f_{fp}$  bekannt sein, der angibt, welcher Teil absorbiert wurde ( $f_a$ ) und welche absorbierte Fraktion trotz eventuellem First-pass-Effekt systemisch verfügbar ist ( $f_{fp}$ ). Analog wie nach Einmalapplikation kann auch im steady-state die totale Clearance aus der AUC während eines Dosierungsintervall berechnet werden:

$$CL = f * D / AUC.$$

Die renale Clearance berechnet sich entsprechend aus der im gleichen Zeitraum unverändert im Urin ausgeschiedenen Menge ( $A_e$ ) = Exkretion und der korrespondierenden AUC:

$$CL_r = A_e / AUC.$$

Die Bioverfügbarkeit ( $f$ ) beinhaltet die Geschwindigkeit und das Ausmaß, mit denen der Wirkstoff am Wirkort vorliegt und in den systemischen Kreislauf abgegeben wird. Für

die intravenös applizierte Dosis beträgt die Bioverfügbarkeit definitionsgemäß 100 %. Zur Bestimmung der absoluten  $f$  ist immer im intraindividuellen Vergleich eine i.v.-Gabe notwendig, auf die sich die pharmakokinetischen Daten nach oraler Gabe beziehen. Einerseits werden aus dem Konzentrations-Zeit-Profil im Blut die Kenngrößen wie z. B. die AUC gewonnen, andererseits sind Aussagen zur Bioverfügbarkeit auch über die Messung der kumulativen Urinausscheidung möglich. Die absolute Bioverfügbarkeit berechnet sich als Quotient der „oralen“ Daten (Plasma, Urin) und der „intravenösen“ Daten:

$$f = D_{i.v.} \cdot AUC_{p.o.} / D_{p.o.} \cdot AUC_{i.v.}$$

## 2.7 Statistische Analyse

Die Abschätzung der benötigten Stichprobengröße erfolgte im Wissen um die Variabilität der Pharmakokinetik von Trimipramin (Musa, 1989). Für die Schätzung der benötigten Fallzahl für die drei zu vergleichenden Gruppen (PM, EM, UM) wurden folgende aus Pilotstudien gewonnene Annahmen zugrunde gelegt: geschätzte Mittelwerte der Clearance 14, 23 bzw. 28 l/h, gemeinsame Standardabweichung 6,5 l/h. Bei einer Power von 80 % und einem alpha-Fehler von 0,05 mussten pro Gruppe mindestens drei Probanden untersucht werden, um einen Unterschied zwischen den Gruppen zu entdecken (nQuery Advisor).

Für die statistische Analyse wurden je nach Beschaffenheit der Daten parametrische und nicht-parametrische Verfahren angewendet. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden parametrisch mittels univariater Varianzanalyse untersucht. Bei statistischer Signifikanz (zweiseitige Tests,  $p < 0.05$ ) wurden post-hoc-Tests für spezifische Gruppenunterschiede angewandt. Anschließend erfolgte eine Bonferroni-Korrektur für multiples Testen. In der nicht-parametrischen Analyse wurde der Jonckheere-Terpstra Trendtest angewandt. Die Analysen wurden mittels SPSS 11.0 und S-Plus 2000 (Math Soft Inc., USA) durchgeführt.

### 3 Ergebnisse

Die pharmakokinetischen Parameter von Trimipramin und seinem Hauptmetaboliten Desmethyltrimipramin wurden sowohl nach intravenöser Applikation, als auch nach fünf oralen Gaben der Muttersubstanz bei fünf Langsammetabolisierern (PMs), sieben Schnellmetabolisierern (EMs) und drei Ultraschnellmetabolisierern (UMs) bestimmt. Die untersuchte Gruppe bestand aus fünf männlichen und zehn weiblichen Probanden, das Durchschnittsalter betrug 38 Jahre, das mittlere Körpergewicht lag bei 67 kg. In **Tabelle 1** sind die individuellen pharmakokinetischen Parameter der Probanden unterteilt nach den drei unterschiedlichen Genotypen dargestellt.

**Tabelle 1:** Individuelle pharmakokinetische Parameter nach i.v.-Applikation und multipler oraler Gabe der Substanz Trimipramin in Abhängigkeit von unterschiedlichen Genotypen des CYP2D6

CYP2D6		Code	Alter	Gewicht	Bioverfügbarkeit	Verteilungsvolumen	Systemische Clearance	Orale Clearance (CL/F)	AUC	AUC 0-24
Aktivität	Genotyp		[Jahre]	[kg]	(F)	[L]	[L/h]	[L/h]	(µg/L*h)	(µg/L*h)
PM	*4/*4	9	58	73	0,55	97,09	7,7	14,05	6524	3,560
	*3/*3	5	22	52	0,70	193,21	18,3	26,11	2737	1,915
	*4/*4	6	27	70	0,67	117,38	17,4	25,92	2880	1,929
	*3/*5	3	64	68	0,21	205,93	8,0	38,74	6236	1,291
	*4/*4	2	57	71	1,30	387,70	55,1	42,23	908	1,184
EM	*1/*1	19	52	80	0,10	61,97	26,2	253,24	1908	197
	*1/*1	10	31	54	0,36	87,62	28,2	77,73	1772	643
	*1/*1	16	25	55	0,14	59,40	25,6	181,65	1955	275
	*1/*1	17	36	57	0,26	139,81	7,0	27,56	7096	1,814
	*1/*1	24	26	76	0,04	107,81	11,1	263,16	4507	190
	*1/*1	14	31	85	-	165,72	43,7	-	-	-
	*1/*1	18	47	60	0,13	167,30	19,0	148,81	2635	336
	*1/*1	11	22	60	0,06	60,49	12,7	215,52	3934	232
UM	*1/*2x2	1	26	60	0,06	60,49	12,7	215,52	3934	232
	*1/*2x2	13	40	63	0,18	121,10	43,7	238,29	1143	210
	*1/*2x2	11	22	80	0,03	137,37	21,7	835,09	2308	60
<b>Einseitiger ANOVA, F-test</b>			n.s.	n.s.	p = 0,009	n.s.	n.s.	p = 0,020	p = 0,679	p = 0,008

Legende: PM=Poor Metabolizer, EM=Extensive Metabolizer, UM=Ultrafast Metabolizer, n.s.=nicht signifikant. Erklärung für fehlende Werte: Proband Nr. 14 hatte die Studie nach i.v.-Gabe des Medikaments abgebrochen.

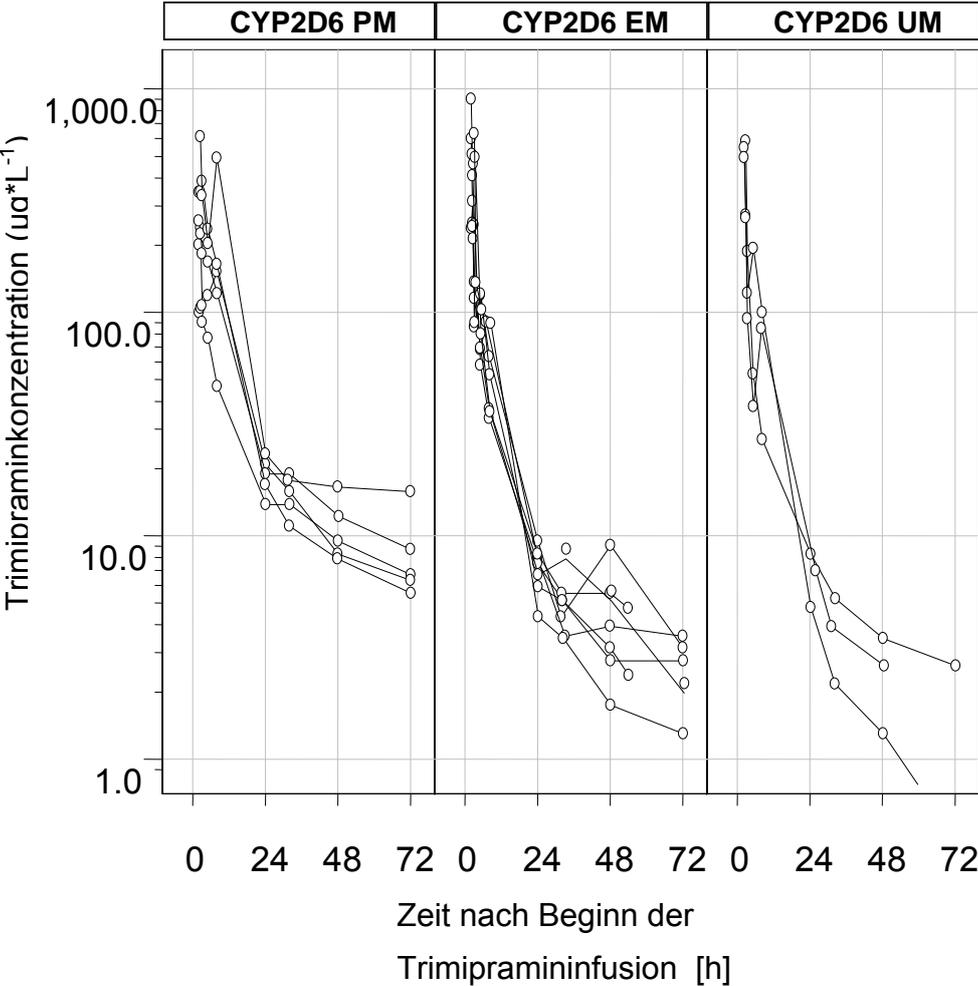
### 3.1 Beschreibung pharmakokinetischer Parameter von Trimipramin in Abhängigkeit der CYP2D6 Polymorphismen

#### 3.1.1 *Plasmakonzentrationszeitverläufe*

Beschrieben wurden Plasmakonzentrationszeitverläufe von Trimipramin in Abhängigkeit vom Genotyp. Der Konzentrationszeitverlauf von Trimipramin nach einmaliger intravenöser Gabe und mehrfacher oraler Gabe der Substanz konnte für jeden einzelnen Probanden gemessen und aufgezeichnet werden. Die Trimipraminkonzentration war abhängig vom CYP2D6 Genotyp; die drei verschiedenen Gruppen (PMs, EMs, UMs) unterschieden sich (unter Berücksichtigung von Körpergewicht und Alter) jedoch nicht signifikant voneinander.

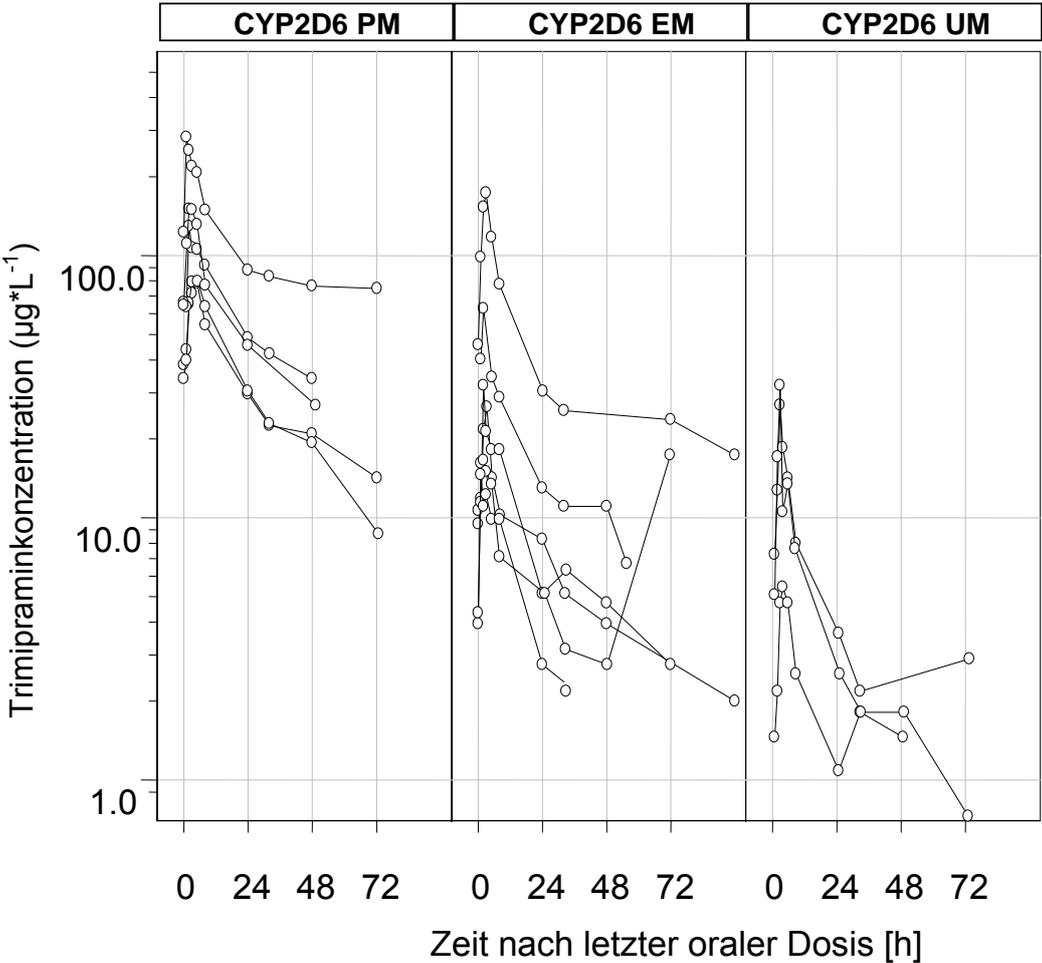
Ein signifikanter Unterschied der Talspiegelkonzentration von Trimipramin konnte 12 h nach der letzten oralen Dosis (50 mg) des Arzneimittels gemessen werden ( $p=0,005$ ). Die Mediane (Spannweiten) betragen 64,7 (33,9-122)  $\mu\text{g/L}$ ; 9,5 (3,9- 45,7)  $\mu\text{g/L}$  und 5,5 (1,6-7,9)  $\mu\text{g/L}$  in der Gruppe der Langsam-, Schnell-, und Ultraschnellmetabolisierer. Individuelle Plasmakonzentrationszeitverläufe von Trimipramin nach intravenöser und oraler Applikation der Substanz sind in Abhängigkeit vom Genotyp in **Abbildung 1 und 2** dargestellt.

**Abbildung 1:** Darstellung der gemessenen Plasmakonzentration im Zeitverlauf nach i.v.-Applikation von 50 mg Trimipramin über einen Applikationsdauer von zwei Stunden. Die drei dargestellten Gruppen repräsentieren Langsammetabolisierer (PMs), Schnellmetabolisierer (EMs) und Ultraschnellmetabolisierer (UMs) von CYP2D6.



o

**Abbildung 2:** Darstellung der gemessenen Plasmakonzentration nach der fünften oralen Dosis Trimipramin 50 mg. Die drei dargestellten Gruppen repräsentieren Langsammetabolisierer (PMs), Schnellmetabolisierer (EMs) und Ultraschnellmetabolisierer (UMs) von CYP2D6



### 3.1.2 Clearance

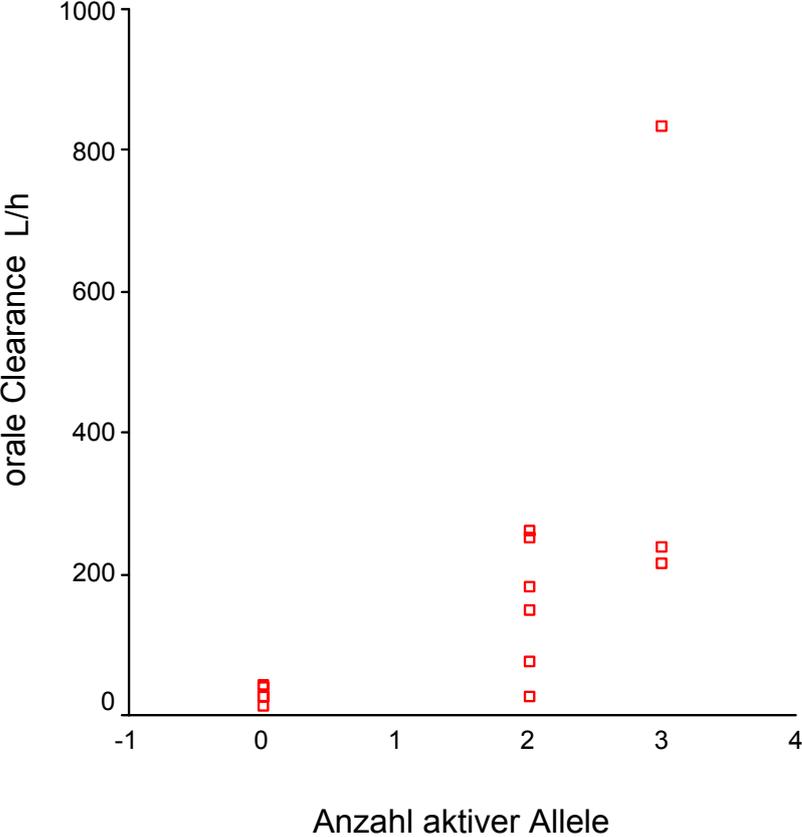
In der Gesamtpopulation betrug die systemische Clearance bei einem Konfidenzintervall von 95 % im Mittel 21,3 (7,7-55,1), 23,0 (7,0-43,7) und 26,0 (12,7-43,7) L/h bei Trägern von keinem, von zwei oder von drei aktiven Allelen des CYP2D6 . Die Unterschiede zwischen den drei Genotypen waren nicht signifikant ( $F=0,087$ ,  $p=0,917$ ).

Nach mehrfacher Gabe der Substanz Trimipramin lagen die Mittelwerte der totalen oralen Clearance bei 29,4 (14,05-42,23), 158,7 (27,6-263,2) und 429,6 (215,5-835,1) L/h bei Trägern von keinem, von zwei oder von drei aktiven Allelen des CYP2D6. Es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ( $p=0,020$ ). Auffällig war eine extrem niedrige Clearance mit 14 L/h in der Gruppe der Langsammetabolisierer und eine extrem hohe Clearance mit 835 L/h in der Gruppe der Ultraschnellmetabolisierer (s. Tabelle 1).

Post-hoc Tests ergaben, dass die Gruppe mit keinem aktiven Allel eine signifikant geringere Clearance aufwies als die Gruppe mit 3 aktiven Allelen ( $p=0,019$ ).

Der lineare Zusammenhang zwischen der Anzahl der aktiven Allele des CYP2D6 und der oralen Clearance wird in **Abbildung 3** graphisch dargestellt.

Abbildung 3: Orale Clearance von Trimipramin in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6 Allele.



### 3.1.3 *AUC nach multipler oraler Gabe*

In der Gesamtpopulation betrug die AUC bei einem Konfidenzintervall von 95 % im Mittel 1975,9 (1184-3560), 576,0 (190-1814) und 167,2 (60-232)  $\mu\text{g/L}\cdot\text{h}$  bei Trägern von keinem, von zwei oder von drei aktiven Allelen des CYP2D6. Die Unterschiede zwischen den drei Genotypen waren signifikant ( $F=7,767$ ,  $p=0,008$ ).

Post-hoc Tests ergaben eine signifikant höhere AUC in der Gruppe mit keinem aktiven Allel gegenüber der Gruppe mit zwei aktiven Allelen ( $p=0,024$ ) und der Gruppe mit drei aktiven Allelen ( $p=0,016$ ).

### 3.1.4 *Eliminationshalbwertszeit*

Die Mittelwerte der terminalen Eliminationshalbwertszeit von Trimipramin lagen bei 39,5 (27,5-105) h, 41,1 (18,9-57,9) h und 18,1 (14,8-30,7) h unterteilt nach Trägern von keinem, von zwei und von drei aktiven Allelen des CYP2D6.

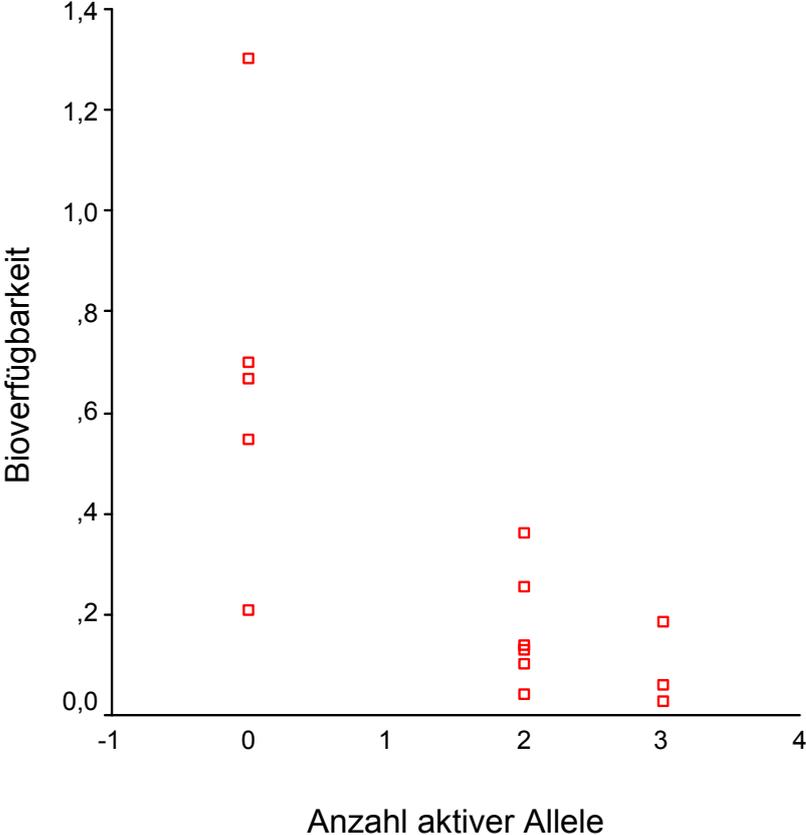
### 3.1.5 *Bioverfügbarkeit*

In der Gesamtpopulation wurde die systemische Bioverfügbarkeit bei einem Konfidenzintervall von 95 % im Mittel auf 0,66 (0,21-1,30), 0,17 (0,04-0,36) und 0,09 (0,03-0,18) bei Probanden, die Träger von keinem, von zwei oder von drei aktiven Genen des CYP2D6 waren, geschätzt ( $F=7,351$ ,  $p=0,009$ ).

Post-hoc-Tests ergaben eine signifikant höhere Bioverfügbarkeit in der Gruppe mit keinem aktiven Allel gegenüber der Gruppe mit zwei aktiven Allelen ( $p=0,020$ ) und der Gruppe mit drei aktiven Allelen ( $p=0,025$ ).

Der lineare Zusammenhang zwischen der Anzahl der aktiven Allele von CYP2D6 und der Bioverfügbarkeit bei den untersuchten Probanden ist in **Abbildung 4** dargestellt.

Abbildung 4: Bioverfügbarkeit von Trimipramin in Abhängigkeit von der Anzahl der aktiven CYP2D6 Allele.



Die drei unterschiedlichen Metabolisierergruppen unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich des Alters, des Gewichts und des Verteilungsvolumens voneinander.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Bioverfügbarkeit signifikant abhängig von den unterschiedlichen CYP2D6 Genotypen war. Bei den Probanden, die als PMs identifiziert wurden, also eine defiziente Enzymaktivität des CYP2D6 aufwiesen, lag die Bioverfügbarkeit signifikant höher als bei den untersuchten EMs und UMs.

Ein weiterer signifikanter Unterschied bestand bei den oralen Clearancewerten zwischen PMs und UMs.

### 3.2 Beschreibung pharmakokinetischer Parameter von Desmethyltrimipramin in Abhängigkeit der CYP2D6 Polymorphismen

#### 3.2.1 *Plasmakonzentrationen und AUC*

Die Plasmakonzentrationen des Hauptmetaboliten Desmethyltrimipramin nach intravenöser Applikation von Trimipramin konnten in den meisten Proben nicht quantifiziert werden. Nur in der Gruppe der Langsammetabolisierer für CYP2D6 konnte der Median (Spannweite) der AUC mit 0,70 (0,4-1,0) mg·h/L bestimmt werden. Nach oraler Gabe der Substanz Trimipramin wurden niedrige Mediane (Spannweiten) der AUC in der Gruppe der UMs und EMs mit 0,01 (0-0,01) mg h/L und 0,02 (0-0,20) mg h/L ermittelt. In der Gruppe der PMs zeigte sich ein erstaunlich hoher Median (Spannweite) der Desmethyltrimipramin-AUC mit 2464 (1769-3637) µg h/L innerhalb von 24 Stunden nach der letzten oralen Gabe der Substanz. Verglichen mit der Plasmakonzentration von Trimipramin 12 Stunden nach der letzten oralen Dosis des Medikaments betrug die Höhe der AUC des aktiven Metaboliten 67,8 (51,5-78,1) µg/L in der Gruppe der PMs, während sie bei UMs und Ems (bis auf eine Ausnahme) unterhalb der Nachweisbarkeitsgrenze lagen. Insgesamt lag der Median (Spannweite) der Desmethylkonzentrationstalspiegel bei 67,8 (52-78) µg/L, der Median (Spannweite) der höchsten Plasmaspiegel betrug 119,5 (85-165) µg/L.

#### 3.2.2 *Eliminationshalbwertszeit*

Die Eliminationshalbwertszeit des aktiven Metaboliten war mit einem Median (Spannweite) von 101 h (42,7-210,9) h bemerkenswert lang, was Anlass für die Überlegung gab, dass der „wahre“ durchschnittliche Plasmakonzentrationstalspiegel von Desmethyltrimipramin vermutlich wesentlich höher liegen würde als die

vorliegenden Messungen zeigten, da Trimipramin länger als 5 Wochen gegeben werden müsste, damit jeder einzelne Proband einen steady-state- Plasmaspiegel erzielen würde. Im Kontrast dazu stand, dass die terminale Eliminationshalbwertszeit des aktiven Metaboliten für Träger mit zwei und drei aktiven Allelen des CYP2D6 mit einem Median von 12,3 h beziehungsweise 13,2 h sehr kurz war.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der aktive Metabolit Desmethyltrimipramin auf Grund der schnellen Eliminationshalbwertszeit eine geringe Rolle in der Wirksamkeit bei Schnell- und Ultraschnellmetabolisierern des CYP2D6 spielt, jedoch könnte in der Gruppe der Langsammetabolisierer eine therapeutisch relevante Höhe des Plasmakonzentrationspiegels erreicht werden.

### 3.3 Exkretion von Trimipramin und Desmethyltrimipramin

Zur Bestimmung der Urinkonzentration wurde die erste Urinmenge nach Applikation der i.v.-Infusion gesammelt. Das Sammeln der zweiten Urinmenge erfolgte nach Applikation der letzten oralen Dosis (nach Erreichen einer steady-state-Konzentration). Die in **Tabelle 2** dargestellten Werte geben den Median und die Spannweite an. In Proportion zur intravenös verabreichten Menge Trimipramin war die im Urin messbare Menge der Substanz und seinem Metaboliten Desmethyltrimipramin mit rund 1 % quantitativ gering und nicht signifikant verschieden zwischen den drei Genotypen des CYP2D6. Nach der mehrfachen oralen Gabe des Trimipramins konnten jedoch bei Langsammetabolisierern höhere Mengen des Medikaments und seines Metaboliten im Urin nachgewiesen werden als bei Ultraschnellmetabolisierern. Diese Werte verhalten sich ähnlich den erhobenen Plasmakonzentrationswerten der AUCs. Die Unterschiede in der Urinexkretion von Desmethyltrimipramin abhängig vom Genotyp des CYP2D6 waren statistisch signifikant ( $p=0,003$ ).

**Tabelle 2:** Urinelimination von Trimipramin und Desmethyltrimipramin nach i.v.-Gabe und oraler Applikation der Muttersubstanz

	<b>PM</b>	<b>EM</b>	<b>UM</b>
<i>Intravenös*</i>			
Trimipramin Ae <sub>0-8 h</sub>	0,83	0,97	1,42
[% von Dosis]	(0,36 – 3.35)	(0,22 – 18,7)	(0,11 – 7,30)
Desmethyltrimipramin Ae <sub>0-8 h</sub>	0,18	0,11	0,08
[% von Dosis]	(0 – 0,93)	(0 – 0,38)	(0 – 0,36)
Trimipramin + Metabolit Ae <sub>0-8 h</sub>	0,83	0,97	1,78
[% von Dosis]	(0,54 – 4.29)	(0,35 – 19,1)	(0,11 – 7,38)
<i>Oral</i>			
Trimipramin Ae <sub>0-8 h</sub>	1,98	1,29	0,44
[% von Dosis]	(0,24 – 3,04)	(0,14 – 4,21)	(0,39 – 0,49)
Desmethyltrimipramin Ae <sub>0-8 h</sub>	3,18	0,60	0,20
[% von Dosis]	(1,46 – 14,37)	(0,06 – 1,34)	(0,17 – 0,39)
Trimipramin + Metabolit Ae <sub>0-8 h</sub>	5,08	2,03	0,66
[% von Dosis]	(1,69 – 17,4)	(0,19 – 5,55)	(0,65 – 0,79)

Legende: \*Eliminationsmenge der Substanz Trimipramin und ihres Metaboliten Desmethyltrimipramin im Urin der Probanden innerhalb der ersten acht Stunden, Ae = kumulativ im Urin unverändert ausgeschiedener Teil der Dosis des Medikaments, PM = Poor Metabolizer, EM = Extensive Metabolizer, UM = Ultrafast Metabolizer

### 3.4 Verträglichkeit und klinische Daten von Trimipramin

Weder nach intravenöser noch nach oraler Gabe der Substanz wurden bei den gesunden Probanden schwere unerwünschte Nebenwirkungen beobachtet (**Tabelle 3**). Alle Teilnehmer der Studie zeigten Sedierungseffekte nach oraler und i.v.-Gabe der Substanz, dennoch unterschieden sich die verschiedenen Genotypen von CYP2D6 in diesem Punkt nicht wesentlich voneinander. Nur zu einem Zeitpunkt, nämlich acht Stunden nach oraler Gabe der ersten Dosis Trimipramin konnte ein statistisch signifikanter Unterschied gezeigt werden, Langsammetabolisierer waren zu diesem Messzeitpunkt deutlich sedierter und damit beeinträchtigt als Schnell- und Ultraschnellmetabolisierer.

**Tabelle 3:** Effekte durch Trimipramin auf den systolischen Blutdruck und den Sedierungsgrad der Probanden

	<b>PM</b>	<b>EM</b>	<b>UM</b>
<i>Intravenös</i>			
Pulsdifferenz <sub>0-4 h</sub>	4,5 (0-14)	12 (2-18)	13,5 (7-20)
Blutdruckdifferenz <sub>0-4 h</sub> (mm Hg)*	0 ((-10)-10)	0 (0-10)	10 (0-20)
Sedierung vor Medikation (%)**	20 (10-20)	10 (10)	20 (10-20)
Sedierung direkt nach Infusion (%)**	20 (20-30)	30 (20-50)	30 (20-30)
Sedierung 8 h nach Infusion (%)	20 (10-20)	20 (20-30)	20 (20)
<i>Oral</i>			
Pulsdifferenz <sub>0-4 h</sub>	11 (5-17)	4 ((-10)-18)	4,5 ((-3)-12)
Blutdruckdifferenz <sub>0-4 h</sub> (mm Hg)	10 (0-10)	10 (0-20)	10 ((-10)-20)
Sedierung vor Medikation (%)	10 (10-20)	10 (10-20)	10 (10-20)
Sedierung 4 h nach Medikation (%)	20 (20-30)	20 (20-30)	20 (20)
Sedierung 8 h nach Medikation (%)***	20 (20)	20 (10-20)	10 (10-20)

Legende: Median (Spannweite), \*Unterschiede im systolischen Blutdruck und der Herzfrequenz gemessen vor und vier Stunden nach Trimipraminapplikation. Positive Werte indizieren einen Blutdruckabfall. \*\*Sedierungsgrad gemessen in Prozent anhand der VAS 4 h und 8 h nach Medikation \*\*\*p=0,045 (Jonckheere-Terpstra-Test). PM = Poor Metabolizer, EM = Extensive Metabolizer, UM = Ultrafast Metabolizer.

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion pharmakokinetischer Ergebnisse von Trimipramin

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Werte der systemischen Clearance numerisch voneinander unterschieden, die Werte der UMs lagen höher als die der PMs; ein statistisch signifikanter Unterschied bestand jedoch nicht.

Ein signifikanter Unterschied bestand bei den Werten der oralen Clearance von Trimipramin. Es resultierte im Mittel ein 15-facher Unterschied zwischen PMs und UMs mit extrem niedrigen bzw. hohen Plasmawerten.

Die Bioverfügbarkeit unterschied sich im Mittel um das 7-fache zwischen PMs und UMs und im Mittel um das 4-fache zwischen EMs und UMs. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren statistisch signifikant.

#### 4.1.1 *Auswirkungen der Trimipraminkonzentrationsunterschiede*

Die wiederholte Einnahme von Trimipramin resultierte in einer Akkumulation der Substanz. In der Gruppe der Langsammetabolisierer konnte eine steady-state-Konzentration nach fünftägiger Einnahme von Trimipramin bei einer durchschnittlichen Halbwertszeit von 40 Stunden nicht vollständig erreicht werden. Nachdem das Medikament fünfmal verabreicht wurde, unterschieden sich die Plasmaspiegel von Trimipramin zwischen den verschiedenen Genotypen (PMs, EMs und UMs) signifikant. Eine Hemmung des CYP2D6 durch Trimipramin konnte nicht gezeigt werden, da die Unterschiede der Plasmakonzentrationen nach fünftägiger Einnahme des Medikaments der Kinetik nach einer Einmaldosis ähnlich waren. Eine publizierte klinische Studie an 27 Patienten zeigte lediglich einen schwachen hemmenden Effekt von Trimipramin an CYP2D6 nach zweiwöchiger Behandlung (Eap et al., 2000).

#### 4.1.2 *Folgen variierender Bioverfügbarkeit und Clearance*

Den Ergebnissen ist zu entnehmen, dass die systemischen Clearance bei UMs von CYP2D6 numerisch höher lag als bei PMs. Die Bioverfügbarkeit variierte um den 7-fachen Wert zwischen den beiden zu vergleichenden Genotypen, was sich in einer 15-fachen Differenz der Werte der oralen Clearance ausdrückte.

In einer Vorläuferstudie zu CYP2D6 Polymorphismen, in der die Pharmakokinetik von Trimipramin mittels Einmaldosen überprüft wurde, konnte dem Isoenzym CYP2D6

während des First-pass-Metabolismus eine große Bedeutung zugeschrieben werden, da die totale orale Clearance höher als der hepatische Blutfluss war (Kirchheiner et al., 2003). Verglichen mit Schnellmetabolisierern wurde bei Langsammetabolisierern eine 2,8-fach höhere Bioverfügbarkeit des CYP2D6 nach einer Einmalgabe von Trimipramin gemessen. Im Durchschnitt wurde eine 2,3-fach höhere Bioverfügbarkeit bei PMs von CYP2D6 verglichen mit EMs erzielt.

Die vorliegende Studie ist eine der wenigen, die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit und Elimination der Substanz Trimipramin hinsichtlich der Effekte des CYP2D6 Polymorphismus untersuchte. Bei einer ähnlichen Wirksubstanz Nortriptylin sind Unterschiede in der Bioverfügbarkeit zwischen 17 und 71 % abhängig vom Phänotyp beschrieben worden (Kvist et al., 2001). Dieses Ergebnis überrascht im Vergleich zu unseren experimentellen Daten, aus denen hervorgeht, dass bei einigen UMs die Bioverfügbarkeit der Substanz deutlich geringer ist.

Es lässt sich schlussfolgern, dass die Polymorphismen des CYP2D6 eine hohe Variabilität in der Pharmakokinetik der Substanz Trimipramin verursachen und einen großen Einfluss nicht nur auf den first-pass Metabolismus, sondern auch auf die systemische Elimination des Medikaments haben.

#### *4.1.3 Auswirkungen von Genduplikationen*

Der Effekt von Genduplikationen des CYP2D6 bezüglich des Trimipraminmetabolismus wurde bisher nicht untersucht. Patienten mit einem derartigen Genotyp könnten ein Risiko haben, nicht ausreichend medikamentös therapiert zu werden, da sie mit einer Dosis von 50 oder 75 mg der Substanz unter Umständen nur subtherapeutische Konzentrationen im Blut erreichen. Die Prävalenz von Genduplikationen des CYP2D6 ist mit 1 % in Schweden (Dahl et al, 1995), 3 % in Deutschland (Sachse et al., 1997), 10 % in Italien (Scordo et al., 1999), 7-10 % in Spanien (Agundez et al., 1995; Bernal et al., 1999) und 9 % in der Türkei (Aynacioglu et al., 1999) in Europa unterschiedlich hoch. Es zeigt sich ein deutlicher Nord-Süd-Gradient der Häufigkeit innerhalb Europas. Die international höchste Prävalenz der Genduplikation wurde mit 29 % in Äthiopien gefunden (Akillu et al., 1996). Demnach gibt es abhängig vom Herkunftsland eine Beziehung zwischen der Anzahl von CYP2D6 Genen und der Rate der Verstoffwechslung von Antidepressiva, deren gewöhnliche Dosierung bei Trägern von Genduplikationen des CYP2D6 nicht zu therapeutischen Plasmakonzentrationen führen

(Dalen et al., 1998). Man kann davon ausgehen, dass der ultraschnelle Metabolismus von Antidepressiva ein wichtiger Faktor bei der Entstehung pseudorefraktärer Depressionen ist, besonders in Populationen mit einer hohen Prävalenz von Genduplikationen des CYP2D6 (Kawanishi und Bertillon, 2004).

## 4.2 Klinischer Bezug der Trimipraminergebnisse

### 4.2.1 *Dosisanpassung abhängig vom Genotyp*

Um den Effekten des CYP2D6 Polymorphismus in der Behandlung mit Trimipramin Rechnung zu tragen, könnte die Dosierung im Hinblick auf die unterschiedliche Clearance abhängig vom jeweiligen Genotyp individuell angepasst werden (Kirchheiner et al., 2001). Für Dosierungen bis 150 mg zeigt Trimipramin eine lineare Beziehung zwischen applizierter Dosis und gemessener Plasmakonzentration der Substanz, der Metabolit Desmethyltrimipramin zeigt jedoch innerhalb therapeutischer Dosierungen eine Abweichung von dieser Linearität (Musa, 1989). Eine fehlende CYP2D6 Aktivität könnte zu einer frühen Sättigung der enzymatischen Vorgänge führen, daraus wiederum könnte es zu einem nichtlinearen Anstieg der Plasmakonzentrationen auch bei kleineren Dosen kommen. Bezugnehmend auf die Unterschiede in der mittleren oralen Clearance nach mehrfacher Gabe von Trimipramin bei den unterschiedlichen Genotypen sollten PMs mit geringeren Dosen behandelt werden, da bei diesem Metabolisierertyp schon 20 % der durchschnittlich gegebenen Dosis die gleichen Plasmakonzentrationen hervorrufen können wie eine „normale“ Dosierung bei EMs. Auf der anderen Seite wurde bei UMs eine sehr hohe Trimipraminclearance beobachtet, was dazu führen könnte, dass diese Metabolisierergruppe medikamentös unter Umständen insuffizient behandelt wird, passt man die Höhe der Dosierung nicht entsprechend an. Notwendig wären bis zu 200 % einer durchschnittlichen Dosis des Medikaments, um in der Ultraschnellmetabolisierergruppe eine ähnliche Trimipraminkonzentration zu erreichen wie in der Schnellmetabolisierergruppe. Bedenkt man weiterhin, dass auch der aktive Metabolit Desmethyltrimipramin über das CYP2D6 metabolisiert wird, werden noch größere Unterschiede durch ein Zusammenspiel zwischen Muttersubstanz und aktiven Metaboliten sichtbar. Genotyp-basierte Dosierungsempfehlungen könnten zu Beginn einer medikamentösen Therapie und in der Aufdosierungsphase eines Medikaments wichtig und sinnvoll sein; nach ein oder zwei Wochen könnte für die exakte Einstellung des Medikamentenplasmaspiegels ein therapeutisches Drug-monitoring genutzt werden.

#### 4.2.2 *Pharmakodynamische Konsequenzen anhand von Surrogatparametern*

Obwohl pharmakokinetische Unterschiede, die auf unterschiedlichen Genotypen beruhen, durch die Anpassung der Dosierung eines Medikaments kompensiert werden können, sind die zu erwartenden pharmakodynamischen Konsequenzen bei den individuellen Patienten komplex. Die beschriebene pharmakokinetische Variabilität kann nur einen Teil des Ansprechens eines Medikaments und der unerwünschten Wirkungen erklären. In der vorliegenden Studie an gesunden Probanden konnte die antidepressive Wirksamkeit nicht geprüft werden, es wurden nur der Grad der für die Substanz typischen Sedierung analysiert. Da Trimipramin häufig bei Patienten eingesetzt wird, die an einer Schlafstörung leiden, könnte es von klinischer Relevanz sein, dass sich acht Stunden nach der ersten oralen Einnahme von Trimipramin ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich der Zunahme der Sedierung bei Langsammetabolisierern im Vergleich zu Schnell- und Ultraschnellmetabolisierern zeigte. Die Schwere der Sedierung könnte in der Gruppe der PMs dazu führen, dass bei diesen Patienten die Fähigkeit eingeschränkt wäre, am Morgen nach der Einnahme von Trimipramin aktiv am Straßenverkehr teilzunehmen oder bestimmte Geräte am Arbeitsplatz zu bedienen, was individuell Konsequenzen indizieren könnte. In einer von Eap et al. durchgeführten Studie an 27 Patienten wurden bei zwei Langsammetabolisierern für CYP2D6 nicht mehr Nebenwirkungen beobachtet als in der Gruppe der Schnellmetabolisierer (Eap et al., 2000). In der Literatur gibt es Beobachtungen unerwünschter Nebenwirkungen bei Patienten, die mit CYP2D6 hemmenden Medikamenten wie z. B. Paroxetin oder Fluvoxamin behandelt wurden (Leinonen et al., 1995; Seifritz et al., 1994).

#### 4.3 Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass bei gesunden Probanden große Unterschiede im first-pass-Metabolismus und der Elimination von Trimipramin vorliegen. Die vorliegenden Ergebnisse können für eine Abschätzung individueller Dosierungen von Trimipramin, abhängig vom Genotyp, genutzt werden. Damit könnten unerwünschte Nebenwirkungen, wie z. B. schwere Sedierung, reduziert werden, was zu einer Verbesserung der Lebensqualität führen und den Alltag des Patienten weniger einschränken würde. Somit könnten bestimmte Parameter zur Verträglichkeit, abhängig vom Genotyp, einen Endophänotypen bilden. Hypothetisch könnte sich Trimipramin als Phänotypisierungssubstanz für unterschiedliche Genotypen eignen. Dies müsste in

einer Folgestudie mit einer größeren Fallzahl pro Gruppe zu untersuchen. Welche Auswirkungen der Genotyp auf die antidepressive Wirkung von Trimipramin hat, konnte in dieser Studie an gesunden Probanden nicht überprüft werden. Dazu wären weitere Studien an Patienten, die an einer Depression erkrankt sind oder an einer Schlafstörung leiden, für nötig.

## 5 Zusammenfassung

Trizyklische Antidepressiva werden schon seit mehreren Jahrzehnten zur antidepressiven Therapie eingesetzt, Trimipramin aufgrund seiner sedierenden Wirkung auch bei Patienten mit Schlafstörungen anderer Genese.

Bekannt ist, dass eine Therapie mit Standarddosierungen von Trizyklika bei Patienten unterschiedlich starke Wirkungen und Nebenwirkungen hervorrufen kann und die Plasmakonzentrationen sich individuell 10- bis 30-fach unterscheiden können. Der Einfluss des Leberenzymes CYP2D6 auf den Abbau trizyklischer Antidepressiva wurde in Studien untersucht, über den Einfluss genetischer Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von Trimipramin sind wenige Daten bekannt.

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss des CYP2D6-Enzyms auf Probanden unterschiedlichen Genotyps (Langsam-, Schnell-, oder Untraschnellmetabolisierer) nach oraler Gabe und intravenöser Applikation der Substanz Trimipramin zu untersuchen.

Pharmakokinetische Parameter, wie z. B. die orale Clearance oder die Bioverfügbarkeit der Substanz Trimipramin unterschieden sich signifikant zwischen den verschiedenen Metabolisierergruppen, es traten somit große Unterschiede im first-pass Metabolismus und der Elimination von Trimipramin zwischen den einzelnen Probanden auf.

Die vorliegenden Ergebnisse können für eine Abschätzung von individuellen Dosierungen von Trimipramin in Abhängigkeit vom Genotyp genutzt werden, wodurch die Häufigkeit und Schwere von unerwünschten Wirkungen reduziert werden könnte.

Weitere Studien sind notwendig, um mögliche Auswirkungen genetischer Polymorphismen auf die antidepressive Wirkung von Trimipramin zu untersuchen.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area-under-curve
CYP	Cytochrom-P450-Enzym
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EM	Extensive Metabolizer; Schnellmetabolisierer
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
i.v.	intravenös
IM	Intermediate Metabolizer; Intermediärmetabolisierer
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PM	Poor Metabolizer; Langsammetabolisierer
REM	Rapid Eye Movement
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RPLC	Reversed Phase Liquid Chromatography
UM	Ultrarapid Metabolizer; Ultraschnellmetabolisierer
UV	Ultraviolett
VAS	Visual Analogue Scales

## 7 Literaturverzeichnis

- Abernethy DR, Greenblatt DJ, Shader RI. Trimipramine kinetics and absolute bioavailability: use of gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1984; 35: 348-353.
- Agundez JA, Ledesma MC, Ladero JM, Benitez J. Prevalence of CYP2D6 gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 265-9.
- Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodrigues F, Ingelmann-Sundberg M. Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 441-6.
- Alexanderson B, Evans DA, Sjöqvist F. Steady state plasma levels of nortriptyline in twins: influence of genetic factors and drug therapy. *Br Med J.* 1969; 4 (686): 765-8.
- Amsterdam J, Brunswick D, Mendels J. The clinical application of tricyclic antidepressant pharmacokinetics and plasma levels. *Am J Psychiatry* 1980; 137 (6): 653-62.
- Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schroder T, et al. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clin Pharmacol Ther.* 1999; 66: 185-92.
- Berger M, Gaspar M. Trimipramine: a challenge to current concepts of antidepressives. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1996;246: 235-239.
- Bernal ML, Sinues B, Johansson I, McLellan RA, Wennerholm A, Dahl ML, et al. Ten percent of North Spanish individual carry duplicated or triplicated CYP2D6 genes associated with ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Pharmacogenetics.* 1999; 9: 657-60.
- Bertilsson L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP)2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet.* 1995; 29: 192-209.
- Bertz RJ, Granneman GR. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinet.* 1997; 32 (3): 210-

58.

- Bolaji OO, Coutts RT, Baker GB. Metabolism of Trimipramine in vitro by human CYP2D6 Isoenzyme. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 1993; 82 (no 1): 112-120.
- Bougerolle AM, Chabard JL, Jbilou M, Bargnoux H, Petit J, Berger JA. Simultaneous determination of trimipramine and its demethylated metabolites in plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1988; 434: 232-238.
- Bougerolle AM, Chabard JL, Jbilou M, Dordain G, Eschalier A, Aumaitre O, Gaillot J, Piron JJ, Petit J, Berger JA. Chronopharmacokinetic and bioequivalence studies of two formulations of trimipramine after oral administration in man. *European J Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1989; 14, No.2: 139-144.
- Brockmüller J, Kirchheiner J, Meisel C, Roots I. Pharmacogenetic diagnostics of cytochromes P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment. *Pharmacogenomics* 2000; 1 (2): 125-51.
- Cohn JB, Wilcox CS, Goodman LI. Antidepressant efficacy and cardiac safety of trimipramine in patients with mild heart disease. *Clin Ther* 1993; 15 (1): 114-126.
- Dahl ML, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman Sundberg M, Sjoqvist F. Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 516-20.
- Dalén P, Dahl ML, Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L. 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3 and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther.* 1998; 63: 444-52.
- De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 1994; 269: 15419-15422.
- Eap CB, Bender S, Gastpar M, Fischer W, Haarmann C, Powell K, et al. Steady state plasma levels of the enantiomers of trimipramine and of its metabolites in CYP2D6-, CYP2C19-and CYP3A4/5-phenotyped patients. *Ther Drug Monit* 2000; 22 (2): 209-214.

- Eichelbaum M. Ein neuentdeckter Defekt im Arzneistoffwechsel des Menschen: Die fehlende N-Oxidation des Spartein. Band Habilitationsschrift. Bonn: Medizinische Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, 1975.
- Gaspar M, Baumann PA. Klinische und neurobiologische Untersuchungen mit Trimipramin. In: Angst J, Gaspar M, eds. Depression- Schlaf- Traum. Neuheim/CH: Panscientia Verlag, 1987: 30-37.
- Glassmann SH, Pardell R, Woodring S. Cardiovascular effects of standard tricyclic antidepressants. Clin Chem 1988; 34: 856-858.
- Gonzalez FJ, Nebert DW. Evolution of the P450 gene superfamily: animal-plant warfare, molecular drive and human genetic differences in drug oxidation. Trends Genet. 1990; 6 (6): 182-6.
- Gross G, Xin X, Gastpar M. Trimipramine: pharmacological reevaluation and comparison with clozapine. Neuropharmacology 1991; 30 (11): 1159-66.
- Gugeler N, Klotz U. Einführung in die Pharmakokinetik. 2. Auflage Eschborn: Govi-Verlag 2000.
- Hammer W, Sjöqvist F. Plasma levels of monomethylated tricyclic antidepressants during treatment with trimipramine-like compounds. Life Sci 1967; 6: 1895-1903.
- Hauser K, Olpe HR, Jones RS. Trimipramine, a tricyclic antidepressant exerting atypical actions on the central noradrenergic system. Eur J Pharmacol 1985; 111 (1): 23-30.
- Kalow W, Bertilsson L. Interethnic factors affecting drug response. Adv Drug Res. 1994; 25: 1-53.
- Kawanishi C, Lundgren S, Agren H, Bertilsson L. Increased incidence of CYP2D6 gene duplication in patients with persistent mood disorders: ultrarapid metabolism of antidepressants as a cause of nonresponse. A pilot study. Eur J Clin Pharmacol 2004; 59 (11): 803-7.
- Kirchheiner J, Brosen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I, Sjöqvist F, Spina E, Brockmüller J. CYP2D6 and CYP2C19 genotypebased dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. Acta Psychiatr Scand 2001; 104: 173-192.
- Kirchheiner J, Müller G, Meineke I, Wernecke K, Roots I, Brockmüller J. Effects of

- polymorphisms in CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 on trimipramine pharmacokinetics. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23: 459-466.
- Kvist EE, Al-Shurbaji A, Dahl ML, Nordin C, Alvan G, Stahle L. Quantitative pharmacogenetics of nortriptyline: a novel approach. *Clin Pharmacokinet* 2001;40: 869-77.
- Lapierre YD. A review of trimipramine. 30 years of clinical use. *Drugs* 1989; 38 Suppl 1: 17-24, 49-50.
- Leinonen E, Koponen HJ, Lepola U. Paroxetine increases serum trimipramine concentration. A report of two cases. *Human Psychopharmacology*. 1995; 10 (4): 345-347.
- Linkowski P, Mendlewicz J, Kerkhofs M, Leclercq R, Golstein J, Brasseur M, Copinschi G, van Cauter E. Twenty-four-hour profiles of adrenocorticotropin cortisol and growth hormone in major depressive illness: Effect of antidepressant treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 141-152.
- Madsen H, Rasmussen BB, Brosen K. Imipramine demethylation in vivo- Impact of CYP1A2, CYP2C19 and CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*. 1997; 61: 319-324.
- Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet* 1977; 2: 584-586.
- Mellström B, Bertilsson L, Säwe J, Schulz HU, Sjöqvist F. E- and Z-10-hydroxylation of nortriptyline: relationship of polymorphic debrisoquine hydroxylation. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 30: 189-193.
- Mellström B, Säwe J, Bertilsson L, Sjöqvist F. Amitriptyline metabolism: association with debrisoquin hydroxylation in nonsmokers. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 39: 369-371.
- Moffat AC, Jackson JV, Widdop B. Clarke's Isolation and Identification of Drugs. 2nd ed. London: Pharmaceutical Press, 1986.
- Musa MN. Nonlinear Kinetics of Trimipramine in Depressed Patients. *J Clin Pharmacol* 1989; 29: 746-747.
- Myren J, Lovland B, Larssen SE, Larsen S. A double-blind study of the effect of trimipramine in patients with the irritable bowel syndrome. *Scan J Gastroenterol* 1984; 19: 835-843.

- Orsulak PJ. Therapeutic monitoring of antidepressant drugs: guidelines updated. *Ther Drug Monit* 1989; 11: 497-507.
- Petersen RC, Richelson E. Anticholinergic activity of imipramine and some analogs at muscarinic receptors of cultured mouse neuroblastoma cells. *Psychopharmacology* 1982; 76 (1): 26-28.
- Preskorn SH, Simpson S. Tricyclic-antidepressant-induced delirium and plasma drug concentration. *Am J Psychiatry* 1982; 139: 822-823.
- Preskorn SH. Tricyclic antidepressants: the why and how of therapeutic drug monitoring. *J Clin Psychiatry* 1989; 50 (Suppl. 7): 34-37.
- Randrup A, Braestrup C. Uptake inhibition of biogenic amines by newer antidepressant drugs: relevance to the dopamine hypothesis of depression. *Psychopharmacology* 1977; 53 (3): 309-14.
- Richelson E, Nelson A. Antagonism by antidepressants of neurotransmitter receptors of normal human brain in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 230 (1): S.94-102.
- Sachse C, Brockmüller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P 450 2D6 variants in Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet.* 1997; 60: 284-295.
- Scordo MG, Spina E, Facciola G, Avenoso A, Johansson I, Dahl ML. Cytochrome P450 2D6 genotype and steady state plasma levels of risperidone and 9-hydroxyrisperidone. *Psychopharmacology Berl* 1999; 147: 300-5.
- Seifritz E, Holsboer Trachsler E, Hemmeter U, Eap CB, Baumann P. Increased trimipramine plasma levels during fluvoxamine comedication. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1994; 4 (1): 15-20.
- Settle EC, Ayd FJ. Trimipramine: twenty years of worldwide clinical experience.. *J Clin Psychiatry* 1980; 41: 266-274.
- Sjöqvist F, Bertilsson L, Asberg M. Tricyclic Antidepressants. *Therapeutic Drug Monitoring* 1980; 2: 85-93.
- Steiger A, Sonntag A, Guldner J, Rothe B, Holsboer F. Changes in clinical symptoms, sleep EEG and nocturnal hormone secretion during treatment with trimipramine or imipramine- a double blind comparison in patients with major depression. *Eur Psychopharmacol* 1993a; 3: 339-340.

- Steiger A, von Bardeleben U, Guldner J, Lauer C, Rothe B; Holsboer F. The sleep EEG and nocturnal hormonal secretion studies on changes during the course of depression and on effects of CNS-aktive drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1993b; 17 (1): 125-137.
- Suckow RF, Cooper TB. Determination of trimipramine and metabolites in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *J Pharm Sci* 1984; 73 (12): 1745-1748.
- Tacke U, Leinonen E, Lillsunde P, Seppälä T, Arvela P, Pelkonen O, Ylitalo P. Debrisoquine Hydroxylation Phenotypes of Patients with High Versus Low to Normal Serum Antidepressant Concentrations. *J Clin Psychopharmacology* 1992; 12 (no 4): 262-267.
- Thase ME. Achieving remission and managing relapse in depression. *J Clin Psychiatry* 2003; 64 (18): 3-7.
- Waldmeier PC. Effects of antidepressant drugs on dopamine uptake and metabolism. *J Pharm Pharmacol* 1982; 34 (6): 391-394.

## **Danksagung**

Allen, die mir bei der Erstellung der Dissertation geholfen haben, möchte ich sehr herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Julia Kirchheiner, nicht nur für die kontinuierliche und motivierende Betreuung, sondern auch dafür, dass Sie in mir die Begeisterung für wissenschaftliche Fragestellungen erweckte.

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Siegfried Kasper und Herrn Prof. Dr. Ralf Uebelhack, durch deren hervorragende Lehre mein Interesse für das Fach Psychiatrie wuchs.

Meinen Kolleginnen Frau Dr. Andrea Pfennig und Frau Christa Gutzmann sowie Herrn Prof. Dr. Dr. Michael Bauer gilt ein ganz besonderer Dank für deren Geduld, aufmunternde Worte und tatkräftige Unterstützung während der Entstehung der Arbeit.

Meinem Ehemann Herrn Dr. Jörg Sasse und meinen Kindern Valerie und Raphael danke ich dafür, dass Sie meiner Arbeit Sinn geben.

## **LEBENS LAUF**

Aus Datenschutzgründen wird der Lebenslauf nicht veröffentlicht.

## **Erklärung**

„Ich, Johanna Sasse, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Einfluss von CYP2D6-Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von Trimipramin“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift