

3. Ergebnisse

3.1. Studiendurchführung

Für die Studie wurden 28 (24 männliche, 4 weibliche) kaukasische, gesunde Probanden ausgesucht, die nach ihrem Genotyp des Enzyms CYP2C9 in 6 Gruppen (CYP2C9*1/*1, CYP2C9*1/*2, CYP2C9*1/*3, CYP2C9*2/*2, CYP2C9*2/*3 und CYP2C9*3/*3) eingeteilt wurden.

Die Gruppen unterschieden sich beim Alter und Körpergewicht im Mittelwert nicht signifikant voneinander. Das durchschnittliche Alter der Probanden betrug 41 (15) Jahre, das durchschnittliche Körpergewicht 75 (10) kg.

Die einmalige orale Gabe von 12 mg Phenprocoumon sowie 10 mg Vitamin K (Konakion®) wurden von den Probanden durchweg ohne schwere Nebenwirkungen vertragen.

Als Nebenwirkungen gaben vier Probanden Müdigkeit sowie drei Probanden Kopfschmerzen während des Studientages an.

Bei einem Probanden wurden an Tag 2 Petechien sowie bei einem weiteren Probanden ein Hämatom an der Verweilkanüleneinstichstelle beobachtet. Ein weiterer Proband klagte nach einer Messerschnittverletzung an der Hand über eine langsamer als üblich verheilende Wunde, die sich innerhalb der ersten Woche nach Einnahme der Studienmedikation ereignet hatte.

Die Studie wurde von keinem der Probanden unter- bzw. abgebrochen. Kein Proband wurde aufgrund Nichteinhaltens der Studienordnung aus der Studie ausgeschlossen.

3.2. Pharmakokinetik von S- und R-Phenprocoumon im Plasma

In Tabelle 17 sind die Ergebnisse für die Parameter AUC, C_{\max} und $t_{1/2}$ von R- und S-Phenprocoumon für Probanden unterschiedlichen CYP2C9-Genotyps dargestellt.

Die Testung der angegebenen pharmakokinetischen Parameter erfolgte durch den nicht-parametrischen Kruskal-Wallis Test (Tab. 17, Abb. 4).

Die C_{\max} -Werte der Konzentrationswerte der Probanden gaben die jeweils höchst gemessenen Werte an.

Die mittlere maximale Konzentration beschreibt indirekt die Resorption einer Substanz.

Gruppe*	n	CYP2C9 Genotyp	R-Phenprocoumon			S-Phenprocoumon			S-/ R-Verhältnis der AUCs
			AUC _{0-∞} [μmol · L ⁻¹ · h]	C _{max} [μmol · L ⁻¹]	t _{1/2} [h]	AUC _{0-∞} [μmol · L ⁻¹ · h]	C _{max} [μmol · L ⁻¹]	t _{1/2} [h]	
CYP2C9	7	*1/*1	329	2.0	129	375	2.1	139	1.1
Schnell- metabolisierer			253-641	1.6-2.7	95-194	266-581	1.8-3.1	119-181	0.9-1.2
	4	*1/*2	422	2.2	137	441	2.3	146	1.1
			351-444	1.9-2.9	105-169	375-695	2.0-3.0	106-204	1.0-1.1
	3	*2/*2	394	2.5	168	489	2.8	187	1.3
			386-625	1.6-2.7	115-218	444-791	1.9-3.0	139-261	1.1-1.3
Intermediär - metabolisierer	5	*1/*3	342	2.3	108	448	2.4	143	1.2
			269-1198	1.5-2.7	97-375	329-1412	1.7-2.8	124-408	1.2-1.4
	4	*2/*3	728	2.4	230	655	2.4	178	1.0
			293-1006	1.6-3.3	113-297	348-1024	1.7-3.3	105-301	0.6-1.6
Langsam- metabolisierer	3	*3/*3	421	2.1	125	593	2.0	191	1.6
			351-444	1.9-2.5	111-146	521-716	2.0-2.6	171-238	1.2-1.7

n= Fallzahl; AUC= Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve [μmol · L⁻¹ · h]; C_{max}= maximale Konzentration [μmol · L⁻¹];

t_{1/2} = Halbwertszeit [h]

Die Resultate sind als Ergebnisse mit hervorgehobenen Mittelwerten angegeben. Die drei CYP2C9-Gruppen repräsentieren die drei Hauptgruppen, wie sie a priori unter der Vermutung ihrer pharmakokinetischen Unterschiede eingeteilt wurden.

Tab. 17: Darstellung pharmakokinetischer Parameter (Ergebnisse und Mittelwert) von R- und S-Phenprocoumon versus CYP2C9-Genotyp

Wie aus Tabelle 17 ersichtlich zeigt S-Phenprocoumon ihre mittlere max. Plasmakonzentration (c_{\max}) bei 2.3 (0.5) $\mu\text{mol/l}$ nach einer Zeit von 6.9 (9.2) Stunden.

Die mittlere Halbwertszeit für S-Phenprocoumon beträgt 172 (69) Stunden.

Demgegenüber zeigt R-Phenprocoumon nach einer Zeit von 7.1 (7.3) Stunden eine maximale Plasmakonzentration von 2.2 (0.4) $\mu\text{mol/l}$.

Bei R-Phenprocoumon beträgt die Eliminationshalbwertszeit 156 (69) Stunden.

Die Messung beider Phenprocoumonenantiomere erfolgte nichtparametrisch mittels einfaktorieller Varianzanalyse (ANOVA, F-Test), die keine Signifikanz zeigte (Tab. 17, Abb. 4).

Wie aus Tabelle 17 weiter erkennbar, zeigt sich in CYP2C9-Allelträgern des Wildtyps (CYP2C9*1/*1) eine 30% kleinere Plasma-AUC, entsprechend einer höheren Clearance, von S-Phenprocoumon, als bei homozygoten CYP2C9*3-Allelträgern.

Verglichen mit dem Wildtyp nahm die totale Clearance mit einem Median von 82% bei CYP2C9*1/*3-Trägern sowie mit einem Median von 63% bei CYP2C9*3/*3-Trägern ab.

Im Gegensatz dazu konnten in der Pharmakokinetik von R-Phenprocoumon diese Unterschiede zwischen dem Wildtyp und den homozygoten CYP2C9*3-Allelträgern nicht beobachtet werden (Tab. 17, Abb. 4).

Es zeigt sich somit, dass mit steigender Anzahl an CYP*3-Allelen die AUC von S-, nicht aber von R-Phenprocoumon steigt und demnach die Clearance von S-, nicht aber von R-Phenprocoumon sinkt.

Anhand der Halbwertszeit ($t_{1/2}$) ist in Tabelle 17 ferner zu erkennen, dass mit steigender Anzahl an *2- und *3-Allelen, 35 Stunden nach Medikamenteneinnahme eine Zunahme der S-Phenprocoumonkonzentration zu verzeichnen ist. Auch hier zeigen die Ergebnisse von S-Phenprocoumon keine Übereinstimmung mit dem R-Enantiomer.

Setzt man die Konzentrationen von S- zu R-Phenprocoumon ins Verhältnis, so zeigt sich bei steigender Anzahl an CYP2C9*3-Allelen ($p=0.001$) ein Anstieg des Konzentrationsverhältnisses im Plasma (Tab. 17, Abb. 4).

Bei Trägern des Wildtyps beträgt das Konzentrationsverhältnis von S- und R-Phenprocoumon 1.1 (0.9-1.2) im Plasma. Bei Trägern eines CYP2C9*3-Allels (CYP2C9*1/*3) liegt die Konzentration bei 1.2 (1.2-1.4), bei homozygoten CYP2C9*3/*3-Trägern sogar bei 1.6 (1.2-1.7).

Tabelle 17 verdeutlicht zudem, dass sich hinsichtlich der oralen Clearance keine signifikanten enantiomerspezifischen Unterschiede zeigen. So weist R-Phenprocoumon un-

abhängig vom CYP2C9-Genotyp eine mittlere orale Clearance von 0.052 (0.018) l/h, S-Phenprocoumon von 0.046 (0.015) l/h auf.

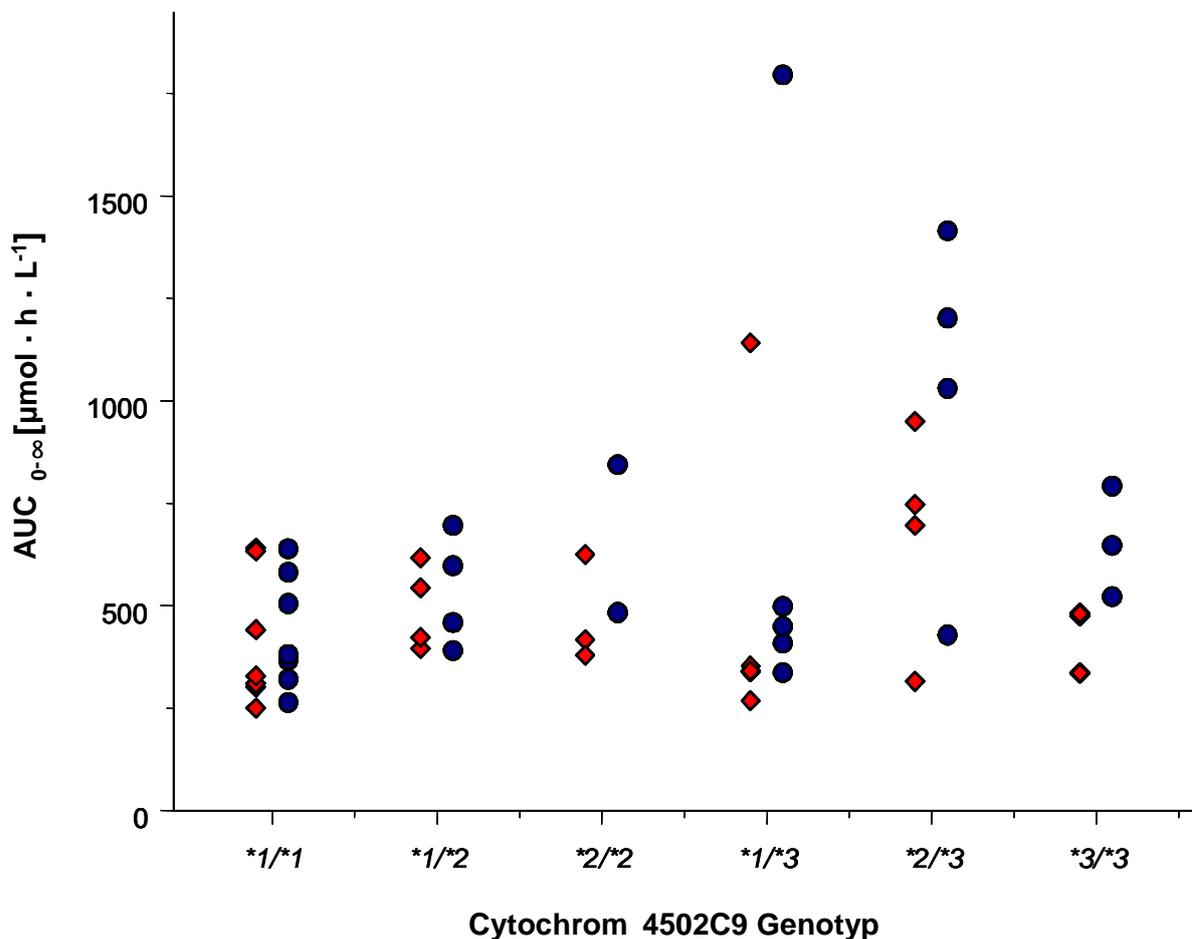


Abb. 4: Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC)

Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) von S-Phenprocoumon (blaue Kreise) und R-Phenprocoumon (rote Rhomben) in Abhängigkeit vom Genotyp P450 CYP2C9.

Die Ergebnisse wurden mit der linearen Trapezregel durch Extrapolierung gegen Unendlich berechnet.

Wie aus der Abbildung 4 ersichtlich, ergeben sich keine widersprüchlichen Ergebnisse der AUC von R- und S-Phenprocoumon zu den bisher veranschaulichten Daten aus Tabelle 17.

Es zeigt sich ein Trend zu einer höheren AUC bei CYP2C9*2/*2-, *2/*3- und *3/*3-Allelträgern im Vergleich zum Wildtyp. Tendenziell scheint die Anwesenheit eines *2- oder *3-Allels somit auf eine verminderte Ausscheidung von S-Phenprocoumons hinzuweisen.

Bezogen auf die AUC ist anhand der Abbildung 4 auffallend, dass enantiomerspezifische Unterschiede für R- und S-Phenprocoumon bestehen. Es zeigt sich, dass bei dem Wildtyp *1/*1 eine fast identische Korrelation zwischen dem S- und dem R-Enantiomer

besteht, während mit Zunahme an *2- und *3-Allelen die AUC von S-Phenprocoumon grösser, als die von R-Phenprocoumon ist.

So weisen bis auf den Wildtyp alle Allelvarianten des CYP2C9-Enzyms eine niedrigere AUC und demnach eine höhere Clearance für R-, als für S-Phenprocoumon auf.

Bei der heterozygoten *1/*3-Allelvariante fällt auf, dass bei einem der insgesamt fünf Probanden eine deutlich größere AUC sowohl für S-, als auch für R-Phenprocoumon zu verzeichnen ist. Die AUC dieses Ausreißers ist in diesem Fall größer, als die AUC der Langsammetabolisierer.

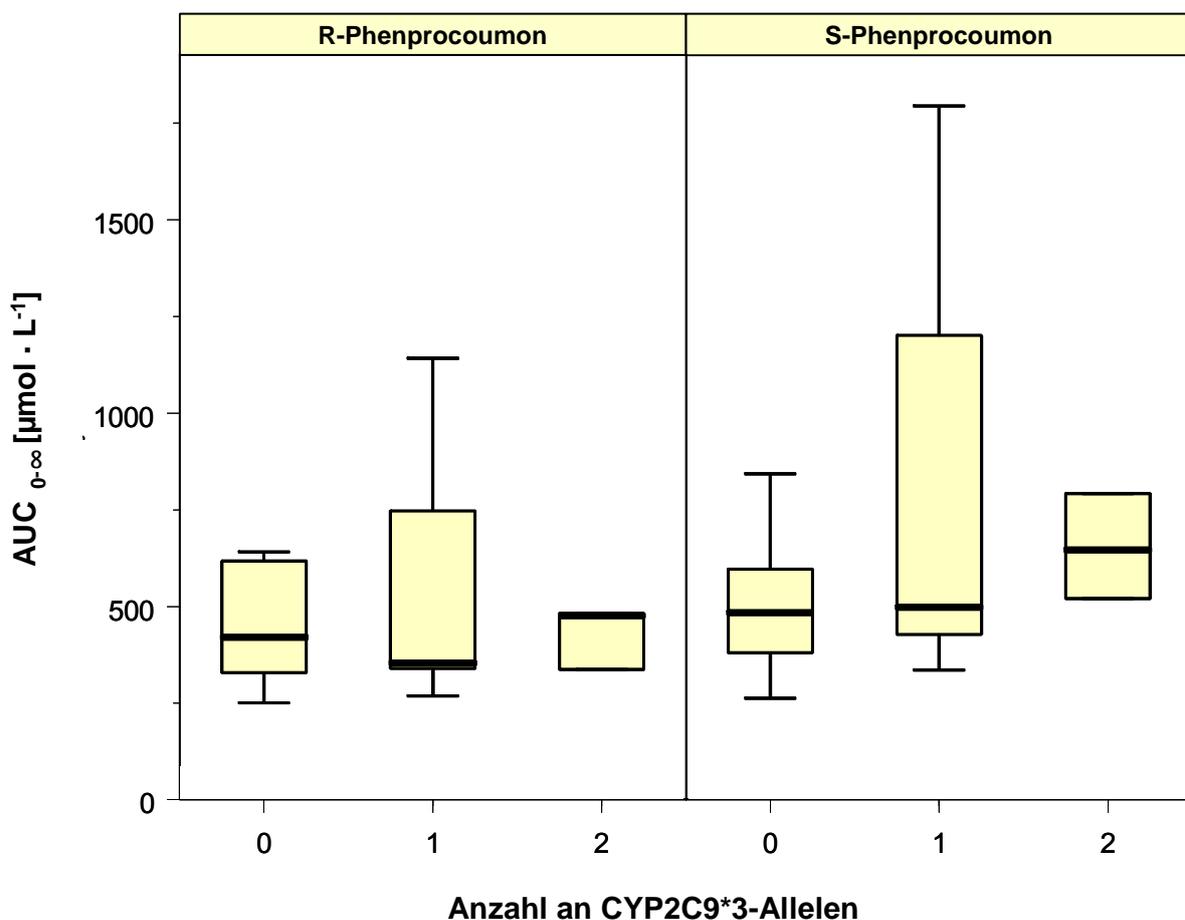


Abb. 5: Plasma- (Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve) AUC von R- und S-Phenprocoumon
Plasma-AUC von R- und S-Phenprocoumon bei CYP2C9-Trägern mit keinem, einem oder zwei *3-Allelen.

Die Felder in dieser Abbildung stellen das erste und dritte Viertel der Phenprocoumon-enantiomerkonzentrationen dar.

Die hervorgehobene Linie gibt den Median an. Die Balken zeigen die Spannweite der Ergebnisse (\pm Standardabweichung).

Abbildung 5 verdeutlicht die Unterschiede in den AUC's von R- und S-Phenprocoumon zwischen Trägern von keinem (n=14), einem (n=9) und zwei (n=3) CYP2C9*3-Allelen.

Die Felder zeigen den Bereich zwischen der 25. und 75. Percentile. Die innerhalb des Kastens gezogene Linie stellt den Median dar.

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, nimmt tendenziell mit steigender Anzahl an CYP2C9*3-Allelen die AUC von S-, jedoch nicht für R-Phenprocoumon zu.

Obwohl wie bereits angedeutet (z.B. Tab. 17) die Anzahl an CYP2C9*3-Allelen einen Einfluss auf die AUC von S-Phenprocoumon zu haben scheint, zeigt Abbildung 5 jedoch keine wesentlichen Unterschiede. Somit hat die Anzahl an CYP2C9*3-Allelen statistisch gesehen keinen signifikanten Einfluss auf die AUC von S-Phenprocoumon (Jonckheere-Terpstra Trend Test).

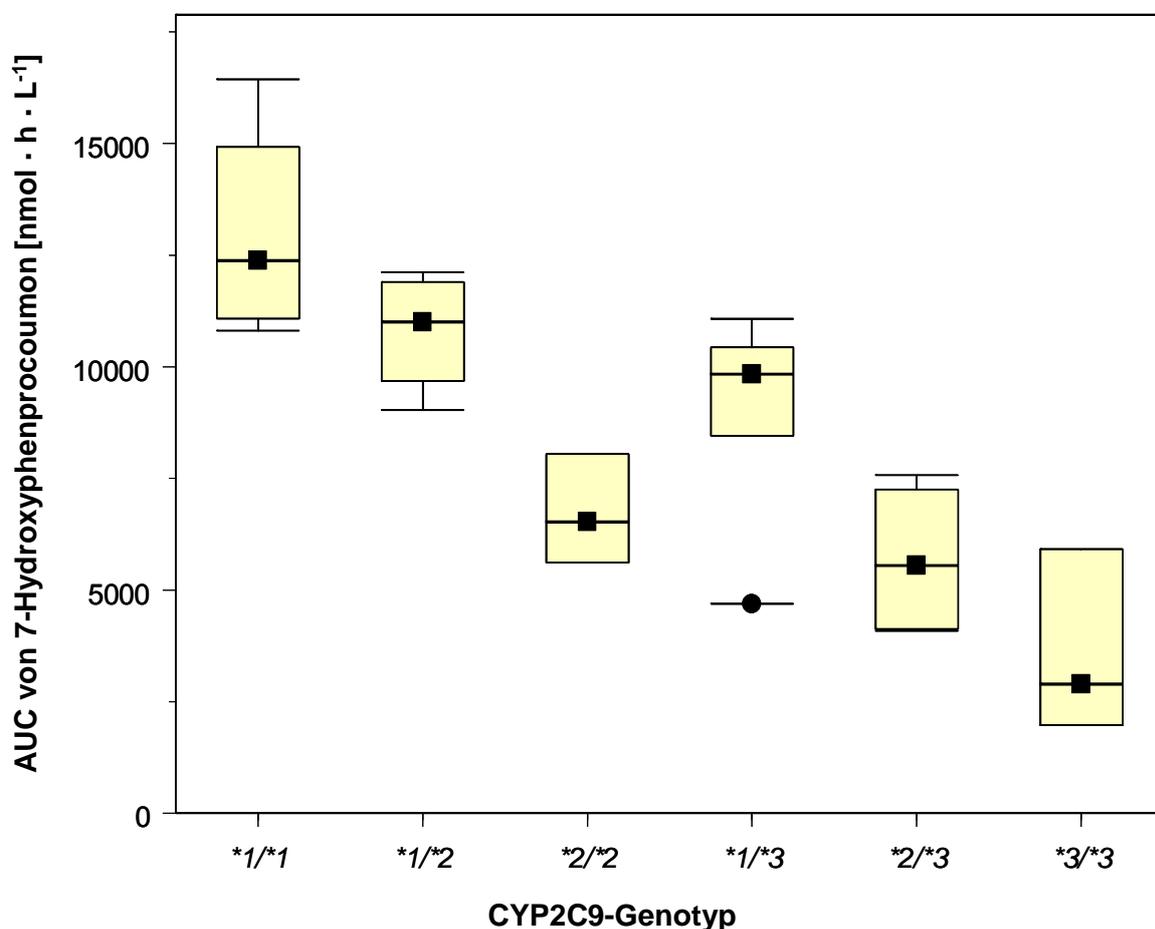


Abb. 6: Plasma- (Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve) AUCs von 7'-OH-Phenprocoumon

Die Felder in dieser Abbildung stellen das erste und dritte Viertel der 7'-OH-Phenprocoumonkonzentrationen dar.

Die hervorgehobene Linie gibt den Median an.

Die Balken zeigen die Spannweite der Ergebnisse.

Wie unten in Tabelle 18 dargestellt, stellte sich 7'-OH-Phenprocoumon im Plasma als der wichtigste Metabolit dar, so dass in Abbildung 6 genauer auf 7'-OH-Phenprocoumon eingegangen wird.

Abbildung 6 zeigt die Plasma-AUC von (R,S) 7'-OH-Phenprocoumon in Abhängigkeit vom CYP2C9-Genotyp.

Da die hydroxylierten Metabolite nicht stereoselektiv gemessen wurden, kann anhand der Abbildung keine Enantiomerpräferenz dargestellt werden.

Der bereits zuvor beschriebene Ausreißer des CYP2C9*1/*3-Allels wurde extra markiert und zeigt stark abweichende Werte, wie in der Abbildung ersichtlich.

Es ist zu erkennen, dass die Plasma-AUC von 7'-Hydroxyphenprocoumon mit steigender Anzahl an *2- und *3-Allelen signifikant abnimmt.

Während die AUC der homozygoten CYP2C9*2-Allelträger kleiner als die der CYP2C9*1/*3-Allelträger ist, zeigt sich bei CYP2C9*2/*3-Trägern eine weitere Reduktion der AUC von (R,S) 7'-OH-Phenprocoumon. Diese statistische Signifikanz bestätigt erneut die oben erwähnte These, dass bei CYP2C9*2-Allelträger die Phenprocoumonhydroxylaseaktivität reduziert zu sein scheint (Tab. 17, Abb. 4).

Die kleinste AUC weisen die homozygoten CP2C9*3-Allelträger auf.

3.3. Pharmakokinetik von 7'-OH-, 6'-OH- und 4'-OH-Phenprocoumonmetabolite im Plasma und im Urin

CYP2C9 Genotyp- Gruppen	(R,S) 7'-OH-Phenprocoumon		(R,S) 6'-OH-Phenprocoumon		(R,S) 4'-OH-Phenprocoumon	
	Plasma-AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]	Ausscheidung der Metabolite im Urin 7'- OHP·100/P*	Plasma-AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]	Ausscheidung der Metabolite im Urin 6'-OHP·100/P*	Plasma-AUC [$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]	Ausscheidung der Metabolite im Urin 4'-OHP·100/P*
Referenzgruppe 1/*1	12.4 (10.8–16.4)	22.5 (7.0–44.1)	2.0 (1.4–2.5)	6.5 (4.6–9.3)	3.2 (2.9–3.6)	5.0 (1.3–6.0)
Allel*2						
*1/*2	11.0 (9.0–12.1)	17.1 (4.0–22.4)	1.8 (1.2–2.0)	5.1 (4.5–8.4)	2.9 (1.9–3.2)	5.3 (2.9–6.0)
*2/*2	6.5 (5. –8.0)	9.1 (8.8–10.7)	1.0 (0.94–1.2)	1.9 (0.6–2.3)	3.3 (2.4–3.9)	3.5 (1.8–3.8)
<i>Signifikanz**</i>	p = 0.008	n.s.	p = 0.012	p=0.012	n.s.	n.s.
Allel*3						
*1/*3	9.8 (4.7–11.1)	7.3 (4.6–17.8)	1.3 (0.98–2.1)	1.0 (0.5–3.3)	3.1 (1.9–3.2)	2.0 (1.2–5.9)
*3/*3	2.9 (2.0–5.9)	3.8 (n=1)	0.79 (0.75–1.0)	1.4 (1.3–1.5)	2.4 (1.8–2.7)	2.0 (1.8–2.2)
<i>Signifikanz**</i>	p=0.002	p=0.035	p=0.002	p=0.027	p=0.046	n.s.
*2/*3	5.6 (4.1–7.6)	8 (1–14)	1.0 (0.9–1.1)	2.2 (1.2–3.1)	2.4 (2.1–2.9)	2.3 (1.2–3.2)
gesamt	8.5 (2.0–16.4)	10.3 (1.0–44.1)	1.2 (0.75–2.5)	2.9 (0.5–9.3)	2.9 (1.8–3.9)	3.0 (1.2–6)

AUC= Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve [$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]

* 7'-OHP·100/P, 6'-OHP·100/P und 4'-OHP·100/P Konzentration der Metabolite mit 100 multipliziert, geteilt durch die Ausgangskonzentration von (R,S)-Phenprocoumon im Urin, die im 12-Stundensammelurin nach Medikamenteneinnahme gemessen wurde.

** Die hetero- und homozygoten *2- und *3-Allelträgergruppen wurden mit Hilfe des nichtparametrischen Jonckheere-Terpstra Trend Test mit der Referenzgruppe der CYP2C9*1/*1-Allelträger verglichen.

Es wurde von einer enantiomerspezifischen Unterteilung der Metabolitkonzentrationen von 4'-, 6'- und 7'-Hydroxyphenprocoumon abgesehen.

Tab. 18: Darstellung pharmakokinetischer Parameter (Ergebnisse und Mittelwerte) von 7'-OH-, 6'- OH-, und 4'-OH-Phenprocoumonmetaboliten im Plasma und Urin versus CYP2C9-Genotyp

Im Plasma wurde (R,S) 7'-OH-Phenprocoumon als der quantitativ wichtigste Metabolit identifiziert (Tab. 18).

Es zeigt sich eine prozentuale Verteilung von 24% für 4'-OH-, 11% für 6'-OH- und 65% für 7'-OH-Phenprocoumon.

Wie aus Tabelle 18 weiter erkennbar, zeigt sich eine Abhängigkeit der Hydroxyphenprocoumonmetabolite vom CYP2C9-Genotyp.

Vergleicht man die Plasma-AUC homozygoter CYP2C9*3-Allelträger mit der des Wildtyps, so beträgt die AUC von 7'-OH-Phenprocoumon ein Drittel ($2.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ bzw. $12.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), bei 6'-OH-Phenprocoumon 40% ($0.79 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ bzw. $2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) und bei 4'-OH lediglich 75% ($2.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ bzw. $3.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

Verglichen mit heterozygoten bzw. Wildtypträgern, weisen die homozygoten CYP2C9*2-Allelträger eine statistisch gesehen deutlich kleinere AUC für 6'-OH-Phenprocoumon ($p= 0.012$) und 7'-OH-Phenprocoumon ($p= 0.008$) auf, was erneut die oben behauptete These zu bestätigen scheint, dass bei CYP2C9*2-Allelträgern die Phenprocoumonhydroxylaseaktivität reduziert ist (Abb. 4).

Auch im Urin wurde (R,S) 7'-OH-Phenprocoumon als der quantitativ wichtigste Metabolit identifiziert (Tab. 18), was sich im 12 Stundensammelurin mit einer proportionalen Verteilung der Metabolitkonzentrationen von 20% für 4'-Hydroxy-, 61% für 6'-Hydroxy- und 18% für 7'-Hydroxyphenprocoumon, zeigt.

Statistisch wichtig scheint CYP2C9*3 für die Metabolitausscheidung von 6'- und 7'-OH-Phenprocoumon sowie CYP2C9*2 für die Metabolitausscheidung von 6'-OH-Phenprocoumon zu sein (Tab. 18, Abb. 7).

Zwei der homozygoten *3-Allelträger zeigten sogar für alle drei Metabolite Ergebnisse, die unterhalb der Quantifizierung der Urinmetabolitausscheidung lagen.

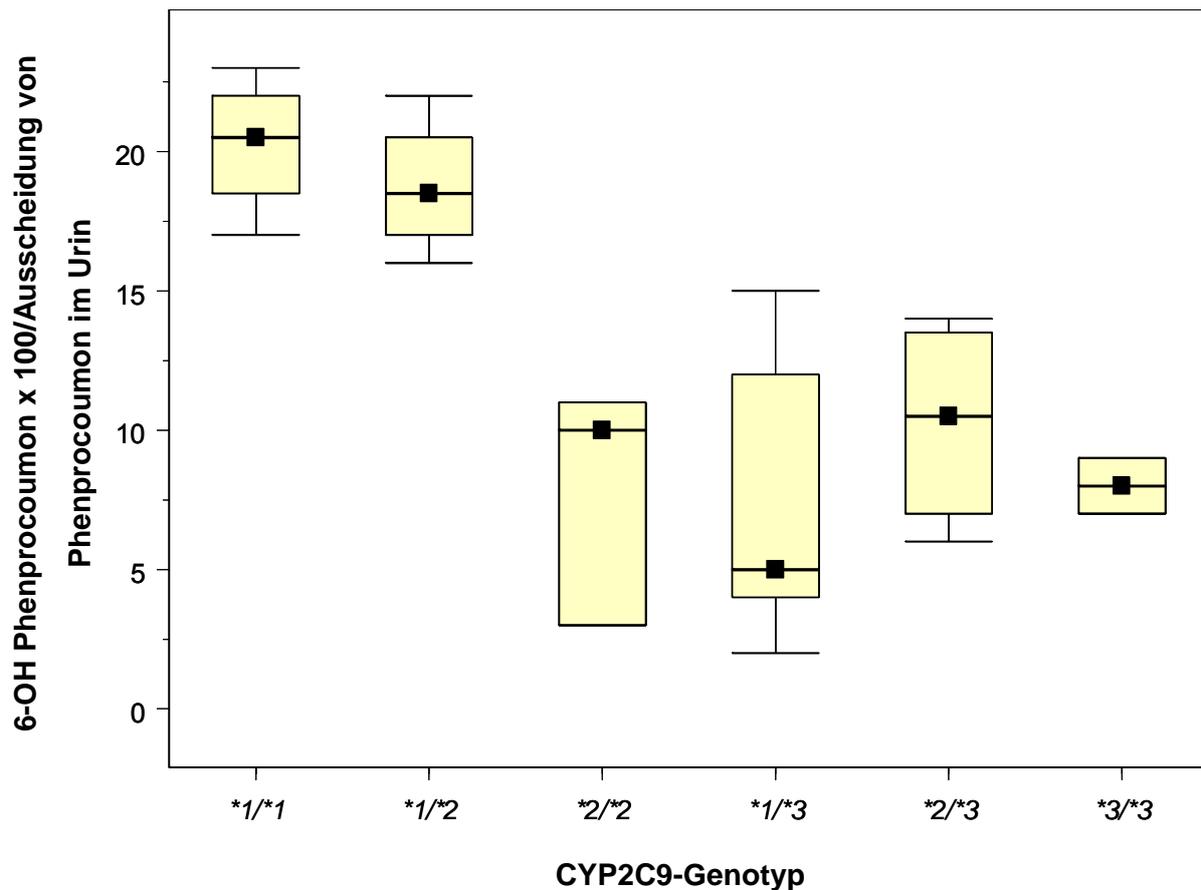


Abb. 7: Ausscheidung von 6'-OH-Phenprocoumon im Urin und dessen Abhängigkeit vom CYP2C9-Genotyp

Die Felder in dieser Abbildung stellen das erste und dritte Viertel (25. und 75. Percentile) der 6'-OH-Phenprocoumonkonzentrationen im Urin dar.

Die hervorgehobene Linie gibt den Median an.

Die strichartigen Ausläufer zeigen die Spannweite der Ergebnisse.

Wie bereits in Tabelle 18 verdeutlicht, sind bei steigender CYP2C9*2- und CYP2C9*3-Allelzahl deutliche Abnahmen der Metabolitausscheidung von 6'-OH-Phenprocoumon im Urin zu verzeichnen (Tab. 18 und Abb. 7).

Die Ausscheidung von 6'-OH-Phenprocoumon scheint jedoch stärker durch CYP2C9*2, als durch CYP2C9*3 beeinflusst zu werden (Abb. 7).

Abbildung 6 und 7 zeigen, dass die CYP2C9-gebildeten Metabolite bei den LM (*2/*2, *2/*3 und *3/*3) vermindert sind (Abb. 6 und 7).

Um einen Einfluss von CYP2D6 auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon zu untersuchen, wurde die Probandenstudie um zwei Probanden erweitert, die sowohl bei CYP2C8, CYP2C9 und 2C19 Träger des Wildtyp waren und bei CYP2D6 die Allelvariante *4/*4 aufwiesen. Die pharmakokinetischen Parameter dieser Probanden

zeigten keine Unterschiede zu Trägern des CYP2D6-Wildtyps, so dass graphisch nicht näher auf CYP2D6 eingegangen wird.

Obwohl eine Korrelation des CYP2C8*3- und CYP2C9*3-Allels gewünscht wurde, kam es in unserer Studie nur zu einer 86% Übereinstimmung, die jedoch mit den 2002 von Yasar et al beschriebenen 85% gut harmonierten (Yasar et al, 2002).

Bei unseren hetero- (n=8) und homozygoten (n=3) CYP2C9*2-Allelträgern wiesen 12 von 14 Probanden (86%) die gleiche Anzahl an CYP2C8*3- und CYP2C9*3-Allelen auf. Lediglich die zwei nicht übereinstimmenden Probanden wichen mit jeweils einem (anstatt von zwei) oder keinem (anstatt von einem) CYP2C8*3-Allel ab.

Abschließend sei erneut zu erwähnen, dass zur Unterdrückung der Wirkung von Phenprocoumon, den Probanden bei Testsubstanzeinnahme gleichzeitig 10 mg Phytomenadion verabreicht wurden (s. 2.1.), so dass der Quick-Wert unerheblich für die vorliegende Studie ist und nicht näher darauf eingegangen wird.