

4. Diskussion

4.1. Einfluss des CYP2C9-Genotyps auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon in vivo

In den letzten 10 Jahren hat die Anzahl der mit Vitamin K-Antagonisten behandelten Patienten nicht nur aufgrund der zunehmenden Alterung der Allgemeinbevölkerung extrem zugenommen, so dass allein in den USA tgl. 700 000 Patienten mit Warfarin therapiert werden.

Orale Antikoagulanzen wie Acenocoumarol, Warfarin und Phenprocoumon sind weltweit Mittel der ersten Wahl zur Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen sowie bei der antikoagulativen Therapie. Die Vitamin K-Antagonisten wirken am Vitamin K-Epoxidreduktase-Komplex 1.

Sie haben eine geringe therapeutische Breite und die individuelle Anpassung der Dosierungen, die sich häufig schwierig gestaltet, gehört zum klinischen Alltag.

Die Cumarinderivate besitzen eine Plasmaeiweißbindung von etwa 90%.

Unterschiede zeigen sich unter anderem in der Halbwertszeit. Acenocoumarol weist mit ca. 8 Stunden die kleinste Halbwertszeit der drei Antikoagulanzen auf. Bei Warfarin beträgt die Halbwertszeit ca. 35-45 Stunden, bei Phenprocoumon ca. 5-9 Tagen.

In der Literatur werden immer wieder Zwischenfälle, meist Blutungskomplikationen, beschrieben, die selbst unter genauen laborchemischen Kontrollen (z.B. INR-Kontrollen) nicht verhindert werden können.

Studien scheinen zu belegen, dass Blutungskomplikationen unter Phenprocoumontherapie weniger häufig auftreten, als sie unter Warfarin- oder Acenocoumaroltherapie beschrieben werden.

Aufgrund der engen therapeutischen Breite der Cumarinderivate ist es wichtig, die Balance zwischen Prävention und Blutungsrisiken genau zu halten (Cannegieter et al, 1995).

Neben Faktoren wie dem Geschlecht, dem Alter, ethnischer Herkunft und nutritiven Gewohnheiten, ist seit mehreren Jahren ein Zusammenhang zwischen dem genetischen Polymorphismus des P450 (CYP) 2C9 und der Instabilität unter Cumarintherapie bekannt. Folglich wird dem CYP2C9 ein Einfluss auf die Antikoagulation und somit auf die Dosierung der Cumarinderivate zuteil (Daly et al, 2006; Hermida et al, 2002; Tassies

et al, 2002; Zarza et al 2002; Verstuyft et al, 2001; Thijssen et al, 2001 and 2000). 2005 wurden erstmalig Polymorphismen im VKORC1-Gen für die pharmakologische Antwort unter Cumarintherapie verantwortlich gemacht (Bodin et al, 2005; D' Andrea et al, 2005; Rieder et al, 2005). Jedoch ist bis dato unklar, ob das VKORC1-Gen auch für Blutungskomplikationen verantwortlich gemacht werden kann.

Wie bereits in 1.3.1.1. erwähnt, scheint CYP2C9 für die Hydroxylierung des aktiven S-Enantiomers des Warfarin verantwortlich zu sein (Daly et al, 2006; Miners et al, 2000; Aithal et al, 1999; Sullivan-Klose et al, 1996). Im Falle von Acenocoumarol zeigt sich eine Beeinflussung beider Enantiomere durch CYP2C9, jedoch stärker für S-Acenocoumarol, wo erneut CYP2C9 für die Hydroxylierung verantwortlich ist (Thijssen et al, 2003; s. 4.1.b.).

Die bereits erwähnten Autoren stimmen darin überein, dass die CYP2C9*3-Variante mit einer verminderten Metabolisierung von Xenobiotika einhergeht. Es wird vermutet, dass aufgrund des Aminosäureaustauschs Ile₃₅₉Leu, der innerhalb der Substraterkennungsfrequenz 5 des CYP2C9-Proteins liegt (Gotoh et al, 1992), die Substratspezifität und enzymatische Aktivität des CYP2C9*3 erheblich vermindert ist.

Bei der antikoagulativen Therapie mit Warfarin und Acenocoumarol scheinen die CYP2C9*3-Varianten mit einem erhöhten Risiko für Blutungen zu Therapiebeginn (Daly et al, 2006; Aithal et al, 1999) sowie für Blutungskomplikationen während der gesamten Therapiedauer (Taube et al, 2000) einherzugehen. Ferner scheint die Zeit bis zum Erhalt einer stabilen Dosis durch genetische Polymorphismen des CYP2C9-Enzyms verlängert zu sein (Higashi et al, 2002).

Unter der antikoagulativen Therapie mit Phenprocoumon sind bisher noch keine aussagekräftigen Ergebnisse hinsichtlich der Blutungskomplikationen gemacht worden. Ein klinischer Einfluss durch CYP2C9 ist noch nicht ausreichend geklärt.

Warfarin:

Das seit 1944 synthetisierte und seit den 50er Jahren klinisch verwendete Cumarinderivat Warfarin ist bereits in zahlreichen in vitro und in vivo Studien untersucht worden (Higashi et al, 2002; Scordo et al, 2002; Tabrizi et al, 2002; Loebstein et al, 2001; Margaglione et al, 2000; Taube et al, 2000; Aithal et al, 1999; Ogg et al, 1999; Steward et al, 1997; Furuaya et al, 1995).

Die Warfarinstudien deuten auf einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorkommen eines oder mehrerer CYP2C9-Allelvarianten und der Benötigung einer niedrigeren Medikamentendosierung hin.

Bereits 1992 wurde von Rettie et al ein Zusammenhang zwischen dem therapeutisch aktiven S-Warfarin und dem CYP2C9-Enzym beschrieben. Rettie fand heraus, dass das CYP2C9 für die Metabolisierung von S-Warfarin zu den inaktiven Formen 6'- und 7'-Hydroxywarfarin verantwortlich ist und die Allelvarianten CYP2C9*2 und *3 mit einer reduzierten Metabolisierung von S-Warfarin einhergehen (Rettie et al, 1992).

Stewart et al beschrieben 1997 eine um das 8fache erhöhte S-/R-Warfarinratio im Plasma bei homozygoten CYP2C9*3/*3-Trägern, so dass die niedrigste Warfarindosierung bei Trägern des CYP2C9*3-Allels (PM) meist charakteristisch zu sein scheint. Sie identifizierten eine Person, die den Warfarintherapiebeginn schlecht tolerierte und eine deutlich verminderte Clearance von Warfarin aufwies (Stewart et al, 1997).

Takahashi et al berichteten 1999 von einer Clearance von 0.336 l/h bei S- und 0.144 l/h bei R-Warfarin (Takahashi et al, 1999). 1998 beschrieben sie eine Reduktion der oralen Clearance von S-Warfarin um 90% bei homozygoten, bzw. um 65% bei heterozygoten CYP2C9*3-Trägern. Ferner wies Takahashi bei einem homozygoten CYP2C9*3-Träger eine um 90% verminderte Clearance bei Warfarin und eine um 66% reduzierte mittlere Clearance von S-Warfarin bei CYP2C9*1/*3-Trägern im Vergleich zum Wildtyp nach. Demnach zeigte sich eine Übereinstimmung der in vivo-Ergebnisse zu den zuvor veröffentlichten in vitro Ergebnissen (Takahashi et al, 1998).

Scordo et al beschrieben 2002 bei CYP2C9*1/*3-Trägern eine mittlere Clearance des Warfarins von 50%, bei homozygoten CYP2C9*3/*3-Trägern sogar nur von 10% im Vergleich zum Wildtyp (Scordo et al, 2002).

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass hetero- bzw. homozygote Träger des CYP2C9*3-Allels eine reduzierte bzw. minimale Aktivität des CYP2C9-Enzyms aufweisen und dadurch die Elimination bestimmter Substanzen erheblich eingeschränkt ist.

Obwohl Studien belegten, dass weder hetero- noch homozygote CYP2C9*2-Träger eine Beeinflussung einiger CYP2C9 Substrate haben (Kirchheiner et al, 2002; Yasar et al, 2001), zeigte sich bei S-Warfarin eine reduzierte Clearance bei heterozygoten und homozygoten CYP2C9*2-Trägern. Verglichen mit dem Wildtyp ergab sich eine erhöhte S-/R-Warfarinratio in CYP2C9*2/*2-Trägern (Scordo et al, 2002).

Lindh et al beschrieben in einer 2005 durchgeführten Studie, dass bei CYP2C9*2- und *3-Trägern innerhalb der ersten 2 Wochen unter Warfarintherapie das Risiko einer verstärkten Antikoagulation signifikant zunahm (Lindh et al, 2005). Ferner zeigte sich bei *2-Trägern nach nur 4 Behandlungstagen mit Warfarin ein erhöhter INR-Wert. Lindh et al empfehlen daher die prätherapeutische Genotypisierung, um so UAW zu reduzieren. 2004 schilderten Peyvandi et al, dass die benötigte Warfarindosis mit Zunahme an *2- und *3-Allelen signifikant abnimmt (Peyvandi et al, 2004).

Daly et al beschrieben 2006, dass CYP2C9 das Hauptenzym für die Oxidierung von S-Warfarin und auch von S-Acenocoumarol ist, so dass bei PM besonders im Anfangstadium der antikoagulativen Therapie eine reduzierte Dosis verabreicht werden muss (Daly et al, 2006).

Wie u.a. 2002 von Scordo und 1998 von Takahashi beschrieben, sind im Gegensatz zum S-Warfarin, für die Hydroxylierung von R-Warfarin hauptsächlich die Cytochrome CYP1A2, CYP3A4 und CYP2C19 verantwortlich (Scordo et al, 2002; Takahashi et al, 1998; Kaminsky et al, 1997; Yamazaki et al, 1997; Wienkers et al, 1996).

Blutungskomplikationen sind unter Warfarintherapie häufig beschrieben worden. So kommt es allein in den USA in 7,6-16,5% der Fälle zu leichteren, in 1,3-4,2% zu schwersten Blutungskomplikationen unter Warfarintherapie (Taube et al, 2000; Aithal et al, 1999).

Hinsichtlich der Nebenwirkungen, im Sinne von hämorrhagischen Komplikationen, zeigte der Vergleich von Phenprocoumon und Warfarin in Bevölkerungsstudien keine Unterschiede, so z.B. in einer 1997 durchgeführten Kohortenstudie, die die Blutungskomplikationen unter Warfarin- und Phenprocoumontherapie verglich (Steffensen et al, 1997).

Im Bezug auf die exakte Dosierung und Einstellung des INR-Wertes belegte eine von Hillmann et al durchgeführte Studie, dass im Alter die Dosierung von Warfarin reduziert werden muss (Hillmann et al, 2004) und auch scheint es eine ethnische Beeinflussung der Dosierung zu geben.

2005 veröffentlichten Lindh et al eine Studie, die belegte, dass bei CYP2C9*2- und *3-Trägern die INR 4 Tage nach Therapiebeginn mit Warfarin signifikant stieg und es bei benannten Genotypen innerhalb der ersten zwei Therapiewochen zu deutlicher Überantikoagulation kommen kann (Lindh et al, 2005).

Acenocoumarol:

Zu dem in vielen europäischen Ländern sowie in Lateinamerika verwendeten Acenocoumarol, ein 4'-Nitroanalog des Warfarins, weist die Literatur auch immer zahlreichere Studien auf. In der Acenocoumaroltherapie scheint das CYP2C9 eine weitaus geringere Rolle zu spielen, als in der Warfarintherapie.

In vitro Studien zeigen, dass CYP2C9 als das Enzym anzusehen ist, welches die 6'- und 7'-Hydroxylierung von S-Acenocoumarol katalysiert (Thijssen et al, 2000).

Takahashi et al beschrieben 1998 pharmakokinetische Ähnlichkeiten von Acenocoumarol und Warfarin, da sowohl bei heterozygoten als auch bei homozygoten CYP2C9*3-Trägern eine verminderte Clearance von Acenocoumarol zu erkennen war.

Sie berichteten, dass das CYP2C9*3-Enzym für die 6'- und 7'-Hydroxylierung von S-Acenocoumarol, jedoch nur moderat für die 7'-Hydroxylierung vom aktiven R-Acenocoumarol verantwortlich sei, welches nach jüngeren Erkenntnissen zufolge von CYP1A2, CYP3A4 und CYP2C19 metabolisiert zu werden scheint (Thijssen et al, 2000; He et al, 1999; Takahashi et al, 1998).

2003 wurde eine Clearance von R-Acenocoumarol von 1.56 l/h sowie von 19.8 l/h bei S-Acenocoumarol beschrieben (Thijssen et al, 2003).

Aufgrund von Veröffentlichungen über hämorrhagische Komplikationen unter antikoagulativer Therapie mit Warfarin wurde vorgeschlagen, Patienten der Allelvarianten CYP2C9*2 und *3 anstelle mit Warfarin mit Acenocoumarol zu therapieren, da es unter der Therapie mit Acenocoumarol zu deutlich weniger unerwünschten Nebenwirkungen im Sinne von Blutungen zu kommen scheint (Manucci et al, 1999). Hermida et al unterstrichen 2002 diese These. Sie beschrieben zwar einen Zusammenhang zwischen CYP2C9*2 und einer reduzierten Metabolisierung von Acenocoumarol, jedoch sei die Sensibilität und somit die Möglichkeit der Blutungskomplikationen bei CYP2C9*2-Trägern unter Acenocoumaroltherapie sehr viel geringer, als unter Warfarintherapie. Sie empfahlen daher sowohl bei *2-, als auch bei *3-Trägern anstelle einer Warfarintherapie eine Therapie mit Acenocoumarol einzuleiten (Hermida et al, 2002). Ferner belegten Hermida et al, dass auch beim Acenocoumarol im Alter die Dosierung reduziert werden muss.

Eine von Schalekamp veröffentlichte Studie zeigt einen Zusammenhang zwischen Polymorphismen des CYP2C9 sowie VKORC1 und UAW. Bei Patienten, die bei beiden Enzymen Polymorphismen aufwiesen, zeigten sich schwerere UAW im Sinne von Blutungen, als bei lediglich dem Vorkommen eines Polymorphismus. Ferner beschrieb

Schalekamp, dass CYP2C9 hauptsächlich für die Zeit bis zur Stabilisierung der Antikoagulation verantwortlich ist (Schalekamp et al, 2006).

Phenprocoumon:

Im Gegensatz zu Acenocoumarol und Warfarin, ist über die enzymatische Hydroxylierung von Phenprocoumon in vivo bisher noch wenig bekannt.

Aufgrund unterschiedlicher Pharmakokinetiken von Warfarin und Phenprocoumon und bisher nicht geklärter Erkenntnis, ob dieselben P450-Isoenzyme, die für die Metabolisierung von Warfarin verantwortlich sind, sich auch für die Metabolisierung von Phenprocoumon zu verantworten haben, kann man die Medikamenteninteraktionen des Warfarins nicht mit denen des Phenprocoumons gleichsetzen.

Als Beispiel dafür ist zu nennen, dass das urikosurische Sulfinpyrazon bei kombinierter Therapie mit Warfarin dessen Elimination und Wirkung massiv beeinflusst, hingegen die Kinetik bei gleichzeitiger Phenprocoumoneinnahme nicht beeinträchtigt wird (Heimark et al, 1987; Toon et al, 1986).

In vitro Studien, die mit humanen Lebermikrosomen und rekombinanten Enzymen durchgeführt wurden, weisen lediglich auf eine Beteiligung des CYP2C9 in der Hydroxylierung von R- und S-Phenprocoumon hin (Ufer et al, 2004; He et al, 1999; Masche et al, 1999) (s. u.).

In einer neuen von Daly veröffentlichten Studie wurde verdeutlicht, dass dem CYP2C9-Enzym eine Rolle im Phenprocoumonstoffwechsel zukommt, so dass Daly et al empfehlen, bei PM die Anfangsdosis an Phenprocoumon zu reduzieren (Daly et al, 2006).

Wie auch bei Warfarin, besitzt das S-Enantiomer des Phenprocoumon einen stärkeren antikoagulativen Effekt als das R-Enantiomer.

Eine von He et al durchgeführte in vitro Studie hat bereits 1999 gezeigt, dass die offene, anionische Ringform des S-Phenprocoumons die Hauptstruktur ist, die mit der aktiven Seite des CYP2C9 interagiert. Ferner berichteten He et al, dass beide Enantiomere des Phenprocoumons wenigstens partiell über CYP2C9 zu 4'-, 6'-, 7'- und 8'-Hydroxymetaboliten verstoffwechselt werden (He et al, 1999).

Jedoch zeigte sich in erwähnter in vitro Studie auch, dass sowohl das R-, als auch das S-Enantiomer des Phenprocoumons weitaus weniger (5fach weniger) vom CYP2C9-Enzym metabolisiert wird, als die Enantiomere des Warfarins (He et al, 1999).

He et al beschrieben aufgrund einer niedrigen Aktivität von CYP2C9 in der Biotransformation von Phenprocoumon sowie einer zusätzlich quantitativ signifikanten renalen

Ausscheidung von Phenprocoumon über 4'-OH-Phenprocoumon, dem CYP2C9-Enzym nur einen unwesentlichen Einfluss auf die Veränderung der totalen Clearance von S-Phenprocoumon zu.

Ufer et al benannten 2004 in einer in vitro Studie erstmalig die für die Hydroxylierung von Phenprocoumon verantwortlichen Hauptenzyme. So gilt neben CYP2C9, CYP3A4 als das Hauptenzym für die Hydroxylierung von Phenprocoumon. Ferner scheint CYP2C8 an der 4'-Hydroxylierung von S-Phenprocoumon in vitro beteiligt zu sein (Ufer et al, 2004). Da im Gegensatz zu Warfarin und Acenocoumarol, Phenprocoumon geringer durch CYP2C9 verstoffwechselt zu werden scheint, sah Ufer bei CYP2C9-Polymorphismen daher in Phenprocoumon eine Therapiealternative zu Warfarin und Acenocoumarol (Ufer et al, 2004).

Ufer verdeutlichte 2005, dass im Gegensatz zu Warfarin und Acenocoumarol, die fast ausschließlich via Metabolisierung ausgeschieden werden, Phenprocoumon unverändert über CYP2C9 und CYP3A4 biliär und mit dem Urin ausgeschieden wird (Ufer et al, 2005).

Kammerer et al bestätigten 2005, dass CYP2C9 für die Hydroxylierung von (S)-6'- und (S)-7'-Hydroxyphenprocoumon sowie gering auch für die Hydroxylierung von 4'-OH-Phenprocoumon verantwortlich ist. Ferner beschrieben sie zwei neue Metabolite (2'-Hydroxyphenprocoumon sowie ein hydroxyliertes Seitenkettenderivat) im Plasma und in Lebermikrosomen (Kammerer et al, 2005).

In vitro Studien zeigten sowohl in humanen Lebermikrosomen, als auch in Lebermikrosomen von Ratten 4'-OH-Phenprocoumon als den Hauptmetaboliten beider Phenprocoumonenantiomere (He et al, 1999 und Wheeler et al, 1981).

Aufgrund der bis dato nicht konform gehenden Ergebnisse der in vivo Studien an Phenprocoumonpatienten soll anhand der vorliegenden Studie festgestellt werden, inwieweit das Cytochrom P450 CYP2C9 für die Pharmakokinetik von Phenprocoumon eine Rolle spielt.

Wie unlängst in vielen Studien belegt, sind die Pharmakokinetik sowie die Wirksamkeit und Nebenwirkungen von Warfarin und Acenocoumarol von den unterschiedlichen Genotypen des CYP2C9-Enzyms abhängig (Ufer et al, 2005; Takahashi et al, 2003 und 1998; Bloch et al, 2002; Redman et al, 2001; Taube et al, 2000).

In dieser klinischen Studie, der bis dato einzigen pharmakokinetischen Studie, zeigte sich jedoch auf die Pharmakokinetik von R- und S-Phenprocoumon kein signifikanter Einfluss des CYP2C9-Polymorphismus, wie nachfolgend verdeutlicht werden soll.

Übereinstimmend mit zuvor durchgeführten in vivo Studien bezüglich der Clearance und AUC von Phenprocoumon, wurde in dieser Studie eine erniedrigte orale Clearance von Phenprocoumon von ungefähr 0.05l/h herausgefunden (Tabelle 17, Abbildung 4), die signifikant kleiner, als die des Warfarins ist. Es zeigten sich dabei keine bedeutenden enantiomerspezifischen Unterschiede, wobei eine höhere AUC und demnach eine niedrigere Clearance für S-Phenprocoumon angedeutet wurde (Abb. 4, Tab. 17). 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 höhere AUC für S-, als für R-Phenprocoumon auf.

In der vorliegenden Studie konnte demnach ein Trend zu einer höheren AUC bei CYP2C9 $*2/*2$ -, $*2/*3$ - und $*3/*3$ -Allelträgern im Vergleich zum Wildtyp belegt werden. Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, nimmt tendenziell mit steigender Anzahl an CYP2C9 $*3$ -Allelen die AUC von S-, jedoch nicht für R-Phenprocoumon zu. Somit scheint die Anwesenheit eines $*2$ - oder $*3$ -Allels auf eine verminderte Ausscheidung von S-Phenprocoumons hinzuweisen (Abb. 4, Abb. 5).

Wie aus Tabelle 17 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. 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 erneut, dass mit steigender Anzahl an CYP $*3$ -Allelen die AUC von S-, nicht aber von R-Phenprocoumon steigt.

Anhand der Abbildung 4 ist beim heterozygoten CYP2C9 $*1/*3$ -Genotyp ein Ausreißer mit einer höheren AUC für S- und R-Phenprocoumon zu verzeichnen. Da sich die Probanden des CYP2C9 $*1/*3$ -Genotyps in ihren weiteren Genotypen nicht unterscheiden (Wildtyp bei CYP2C8, CYP2C19 und CYP2D6), lässt sich daraus nicht erklären, warum es zu der erhöhten AUC kommt.

Zu diskutieren ist, ob es sich um einen Fehler handelt, oder ob die Ursache dieser erhöhten AUC ggf. in der mangelnden Compliance des Probanden zu suchen ist (z.B. Nichteinhalten der Nikotin- und Alkoholkarenz).

Dennoch stellt sich hier die Frage, ob neben dem CYP2C9 noch andere Faktoren an der Pharmakokinetik von Phenprocoumon beteiligt sind, wie z.B. weitere Cytochrome wie CYP2C19, CYP1A2 oder CYP3A4, wie von Ufer et al bereits in vitro beschrieben (Ufer et al, 2004). Auch scheinen Enzymveränderungen, z.B. Abnormalitäten der Vitamin K-Epoxidreduktase, als weitere Beeinflussung in Frage zu kommen (Daly et al, 2003). Hierzu bedarf es weiterer klärender Studien.

In dieser Studie schien trotz statistisch gesehen fehlender signifikanter Einflüsse des CYP2C9 auf die pharmakokinetischen Parameter (Halbwertszeit, AUC und Clearance) von R- und S-Phenprocoumon, die AUC des S-Phenprocoumons mit zunehmender Anzahl an CYP2C9*2- und *3-Allelen zu steigen. Diese Aussage kann, wie bereits oben erwähnt, anhand der vorliegenden Daten jedoch nicht für das R-Enantiomer getroffen werden.

Verglichen mit dem CYP2C9*1/*1-Wildtyp nahm die AUC zu und umgekehrt die Clearance mit einem Median von 82% bei CYP2C9*1/*3-Trägern sowie mit 63% bei homozygoten CYP2C9*3/*3-Trägern ab (Tab. 17).

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den von Scordo gewonnenen Ergebnissen zu Warfarin, so zeigt sich bei Warfarin eine durchschnittliche Clearance von 50% bei CYP2C9*1/*3-Träger, bei homozygoten CYP2C9*3/*3-Trägern sogar von nur 10%, verglichen mit dem Wildtyp (Scordo et al, 2002).

Da sich in dieser Studie im Plasma eine leichte Zunahme der S-/R-Phenprocoumonratio in homozygoten CYP2C9*2/*2- und *3/*3- Trägern verglichen zum Wildtyp zeigte (1.1 (0.9-1.2) beim Wildtyp, 1.3 (1.1-1.3) bei CYP2C9*2/*2 und 1.6 (1.2-1.7) bei CYP2C9*3/*3-Trägern), scheint eine Übereinstimmung zu den Ergebnissen von Scordo et al zu bestehen (Scordo et al, 2002). Diese Aussage scheint in der vorliegenden Studie den Effekt des Aminosäureaustauschs für die Pharmakokinetik von Phenprocoumon zu belegen (Abb. 4-5, Tab. 17).

Die S-/R-Ratio der totalen Clearance von Phenprocoumon rangierte zwischen 0.5-1.0 und stimmte mit den aus einer freiwilligen Probandenstudie erhaltenen Ergebnissen der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) beider Enantiomere nach einmaliger oraler Gabe von 15 mg racemischem Warfarin (Rentsch et al, 2000) überein.

In dieser Studie deuten die Phenprocoumonmetabolitkonzentrationen im Plasma und Urin darauf hin, dass beide Aminosäuresubstitutionen des CYP2C9 die Enzymaktivität der Hydroxylierung in 4'-, 6'- und 7'-Phenprocoumon erniedrigten.

Sowohl die Plasma-Konzentrations-Zeit-Kurven (AUC), als auch die Ausscheidung von 6'-OH- und 7'-OH-Phenprocoumon im Urin betragen bei homozygoten CYP2C9*3-Trägern nur zwischen 30% und 50% im Vergleich zu den Ergebnissen des Wildtyps (Tab. 18). 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. $3.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) (Tab. 18). Dieser Zusammenhang scheint mit den Ergebnissen von Rettie konform zu gehen (Rettie et al, 1992).

Statistisch wichtig scheint CYP2C9*3 für die Metabolitausscheidung von 6'- und 7'-OH-Phenprocoumon sowie CYP2C9*2 für 6'-OH-Phenprocoumon zu sein, da bei steigender *2- und *3-Allelanzahl deutliche Abnahmen der Metabolitausscheidung von 6'-OH- und 7'-OH-Phenprocoumon im Urin zu verzeichnen sind (Tab. 18, Abb. 7).

Anhand Abbildung 6 und 7 werden Beispiele für die Beziehung zwischen Genotyp und Phänotyp der Individuen ersichtlich, da verglichen mit dem Wildtyp bzw. heterozygoten CYP2C9*2-Trägern, die AUC der homozygoten CYP2C9*2-Allelträger statistisch gesehen signifikant kleiner ist.

Da die hydroxylierten Metabolite teilweise nicht stereoselektiv gemessen wurden, konnte bezüglich der Ergebnisse keine Enantiomerpräferenz dargestellt werden (Abb. 6). Infolgedessen kann anhand dieser Studie nicht sicher belegt werden, dass die Enantiomerpräferenz der CYP2C9-abhängigen S-Phenprocoumonclearance von einer, zwei oder allen drei Hydroxylierungsseiten abhängig war.

Jedoch scheinen erhaltene in vitro Daten zu belegen, dass das CYP2C9-Enzym vorzugsweise alle drei Seiten des S-Phenprocoumons metabolisiert (Ufer et al, 2004).

Wie bereits in der Literatur berichtet (Ufer et al, 2004; Heimark et al, 1987 und Toon et al, 1985), konnte auch in dieser Studie 7'-Hydroxyphenprocoumon als der Hauptmetabolit identifiziert werden (Tab. 18). Lediglich ein homozygoter Proband (CYP2C9*3/*3) wies 4'-Hydroxyphenprocoumon als Hauptmetabolit auf.

Übereinstimmend mit den in vitro Ergebnissen von Ufer et al zeigte sich 6'-Hydroxyphenprocoumon als der unwesentlichste Metabolit (Ufer et al, 2004).

Die 4'-, 6'- und 7'-OH-Metabolite wiesen sowohl im Plasma, als auch im Urin sehr viel niedrigere Konzentrationen als das eigentliche Phenprocoumon auf.

Diese Erfahrung zeigte sich bereits zuvor bei Patienten, die in einer Langzeittherapie mit Phenprocoumon therapiert wurden (de Vries et al, 1994; Edelbroek et al, 1990) sowie in einer mit radiomarkiertem R- und S-Phenprocoumon durchgeführten Studie.

Es zeigte sich, dass 60% des equimolaren Gemisches als 4'-, 6'- oder 7'-OH- Metabolite sowie 40% unverändert über die Nieren ausgeschieden wurden (Toon et al, 1985), so dass die Ergebnisse dieser Studie mit denen von de Vries, Edelbroek und Toon konform zu sein scheinen.

Wenn man bedenkt, dass ungefähr 50% der Phenprocoumonclearance als Primärmetabolit 4'-OH-Phenprocoumon glukuronisiert über die Nieren eliminiert werden, würde demnach eine dreifache Reduktion der Metabolitclearance durch CYP2C9 nur in einer Senkung der Clearance von 100% auf 65% resultieren.

Diese von Toon et al 1985 gezogenen Erkenntnisse gehen mit den Ergebnissen dieser Studie konform (Tab. 18, Abb. 7) (Toon et al, 1985).

Abgesehen von der Glukuronidierung und der renalen und biliären Ausscheidung, scheinen metabolische Wege über CYP3A4 den Effekt von CYP2C9-Polymorphismen auf die Clearance von Phenprocoumon zu verringern, wie von Ufer beschrieben (Ufer et al, 2004 und 2005).

In dieser Studie konnte ferner gezeigt werden, dass sowohl im Plasma, als auch im Urin die AUC der einzelnen OH-Metabolite bei homozygoten *2- und *3-Trägern statistisch gesehen kleiner, als die beim Wildtyp waren (Tab.18).

Auch die Plasma-AUC des Hauptmetabolits 7'-OH-Phenprocoumon zeigte eine Abnahme der AUC mit steigender Anzahl an *2- und *3-Allelen, wie aus Abbildung 6 und Tabelle 18 ersichtlich. Geht man davon aus, dass CYP2C9 für die Hydroxylierung von Phenprocoumon verantwortlich ist (Ufer et al 2004; He et al, 1999), gehen die Ergebnisse aus Abbildung 6 und Tabelle 18 mit der veröffentlichten Literatur konform. Die Abnahme der AUC mit Zunahme an CYP2C9*2- und CYP2C9*3-Allelen ist somit durch eine langsamere Verstoffwechslung zum 7-Hydroxyphenprocoumon durch CYP2C9 zu erklären.

Wie in bereits früher durchgeführten in vivo Studien zeigt sich in dieser Studie eine Halbwertszeit von 156 (69) Stunden für R- und 172 (69) Stunden für S-Phenprocoumon (Tab. 17). Verglichen mit den Halbwertszeiten von Warfarin (30-80 h) oder Acenocoumarol (ca.10 h, bzw. 6-10 h für R- und <2 h für S-Acenocoumarol), ist die

Halbwertszeit, wie bereits in der Literatur vorbeschrieben, somit bei Phenprocoumon deutlich verlängert, wobei sich auch hier eine grössere Halbwertszeit für das S-Enantiomer zeigt (Thijssen et al, 1988).

Betrachtet man die lange Halbwertszeit von Phenprocoumon, so kann diese von Vorteil sein, wenn Phenprocoumon über eine längere Zeitspanne als Antikoagulanzen gegeben wird, da während der Langzeitbehandlung mit weniger Abweichungen in der Antikoagulation gerechnet werden müsste. Jedoch birgt eine längere Halbwertszeit auch Gefahren, wie z.B. die Gefahr toxischer Nebenwirkungen im Falle einer Überdosierung (Thijssen et al, 2003) sowie die Notwendigkeit einer exakten Dosierung zu Therapiebeginn.

Der Vergleich von Phenprocoumon und Warfarin zeigte hinsichtlich der Nebenwirkungen, im Sinne von hämorrhagischen Komplikationen, in Bevölkerungsstudien keine Unterschiede. Eine 1997 durchgeführte Kohortenstudie verglich die Blutungskomplikationen unter Warfarin- und Phenprocoumontherapie (Steffensen et al, 1997). Es ergaben sich nach den Ergebnissen dieser Kohortenstudie keine deutlichen Unterschiede unter den erwähnten Therapien mit Warfarin oder Phenprocoumon. Jedoch könnte man entgegen der Meinung einiger Studien vermuten, dass der CYP2C9-Polymorphismuseinfluss im Bezug auf die Blutungskomplikationen von Warfarin geringer sei, als bisher beschrieben, bzw. dass andere Faktoren für die zunehmenden Blutungskomplikationen unter Phenprocoumontherapie mitverantwortlich sind. Zu diesen Beeinflussungsfaktoren könnten eine Vitamin K-reichhaltige Ernährung, das Alter des Individuums (Loebstein et al, 2001; Lubetsky et al, 1999; Wells et al, 1994; O'Malley et al, 1977), Medikamenteninteraktionen, unterschiedliche Dosierungsschemata sowie Unterschiede in der Qualität des Patientenmonitorings und der Patientenschulung sein. Aber auch genetische Faktoren, wie z.B. Polymorphismen in der 4'-OH-Glukuronidase sollten in die Überlegungen miteinbezogen werden.

Bis dato gibt es drei in vivo Studien, die den Einfluss des CYP2C9-Polymorphismus auf die Pharmakodynamik von Phenprocoumon behandelt haben (Schalekamp et al, 2004; Visser et al, 2004; Hummers-Pradier et al, 2003).

Visser et al verglichen 2004 in einer an 204 Patienten durchgeführten klinischen Studie die Risiken einer Überdosierung unter Acenocoumarol- und Phenprocoumontherapie bei CYP2C9*2- und *3-Allelträgern.

Es zeigte sich eine genotypabhängige Dosierung bei CYP2C9*2- und *3-Allelträgern für Acenocoumarol, nicht jedoch für Phenprocoumon. So beschrieben Visser et al im Bezug auf Dosierung oder Blutungsrisiken bei CYP2C9*2- und *3-Allelträgern unter Phenprocoumontherapie keine Unterschiede verglichen mit Trägern des Wildtyps (CYP2C9*1/*1).

In der 2004 von Schalenkamp et al veröffentlichten Studie wurde von den insgesamt 284 Patienten, die mindestens ein CYP2C9*2- oder *3-Allel aufwiesen, ein erhöhtes Risiko einer Überdosierung mit Phenprocoumon beschrieben (Schalenkamp et al, 2004).

2003 veröffentlichten Hummers-Pradier et al eine Patientenstudie, die belegte, dass CYP2C9*3-, nicht jedoch CYP2C9*2-Träger, unter Phenprocoumontherapie einem erhöhten Blutungsrisiko ausgesetzt seien. Jedoch zeigten sich anhand des CYP2C9-Genotyps keine Unterschiede im Bezug auf die Dosierung (Hummers-Pradier et al, 2003). Die Studie von Hummers-Pradier et al, in der 179 mit Phenprocoumon behandelte Patienten untersucht wurden, zeigte ein dreifach erhöhtes Blutungsrisiko bei Trägern des CYP2C9*3-Allels. Sie empfahl weitere Studien, die der Frage nach Vorteilen einer prätherapeutischen Genotypisierung sowie eines exakteren Patientenmonitoring untersuchen nachgehen sollten. Bei den CYP2C9*3-Allelträgern der genannten Studie handelte es sich um 14 Patienten mit der Allelvariante CYP2C9*1/*3 sowie um einen Patienten der Allelvariante CYP2C9*2/*3 (Hummers-Pradier et al, 2003).

Obwohl die vorliegende Studie keine pharmakodynamische Aussage treffen kann und die Studie von Hummers-Pradier keine pharmakokinetischen Angaben im Sinne von Clearance bzw. AUC von Phenprocoumon machte, können die Ergebnisse von Hummers-Pradier mit diesen Studienergebnissen kompatibel sein. Sie scheinen jedoch im Vergleich zu den erhaltenen Daten dieser Studie etwas unerwartet, da dem CYP2C9-Genotyp nur eine moderate Bedeutung im Hinblick auf die Kinetik der S-Phenprocoumonclearance zukommt (Tab. 17, Abb. 4). Die Erklärung dieser Unterschiede könnte epidemiologisch zu erklären sein, da die von Hummers-Pradier einbezogenen Patienten älter als die Probanden dieser Studie waren und bei älteren Individuen oft mit einer eingeschränkten Nierenfunktion zu rechnen ist. So könnten sich die Unterschiede durch Beeinträchtigungen anderer Eliminationswege ergeben haben.

Um diese Spekulation zu bestätigen, sollten jedoch weitere klinischen Studien zur Klärung folgen, da sich in der Literatur zeigte (s. o.), dass sowohl bei Warfarin, als auch bei Acenocoumarol im Alter die Dosierung reduziert werden muss (Hillmann et al, 2004;

Hermida et al, 2002). Ferner muss in Betracht gezogen werden, dass Frauen sensitiver auf Warfarin zu reagieren scheinen.

Es ist erneut daraufhin zu weisen, dass die vorliegende Studie lediglich Ergebnisse zur Pharmakokinetik liefert und keine Aussagen zur Pharmakodynamik machen kann.

Es sollte ferner bedacht werden, dass die vorliegende Studie, in der die Probanden zur Vermeidung von INR-Wertänderungen Konaktion erhielten, wie auch die oben erwähnte Studie von Schalekamp et al, nicht der Erhebung von Blutungskomplikationen unter Phenprocoumontherapie diene, sondern die Effekte unterschiedlicher CYP2C9- Polymorphismen auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon untersucht werden sollten. Ebenso muss daraufhin gewiesen werden, dass die Probanden dieser Studie im Gegensatz zu den z.B. von Schalekamp oder Hummers-Pradier erwähnten Patienten, lediglich eine Einmaldosis und keine Dauergabe an Phenprocoumon erhielten. So darf die Frage der evtl. Kumulation bei Dauergabe von Phenprocoumon nicht außer Acht gelassen werden.

Ein weiterer wichtiger Fakt ist, dass die ethnische Zugehörigkeit nicht zu vernachlässigen ist. Die meisten Phenprocoumonstudien, wie auch diese, die den Einfluss des Cytochrom P450 auf die Pharmakokinetik oder -dynamik von Antikoagulantia untersuchten, wurden mit kaukasischen Probanden/Patienten durchgeführt. Da bei Warfarin jedoch eine Beeinflussung der oralen Clearance durch ethnische Faktoren bekannt ist, sollte auch hier auf weitere Studien mit ethnisch unterschiedlichen Probanden hingewiesen werden.

Ein weiterer zu diskutierender Punkt der vorliegenden Studie ist die geringe Probandenanzahl an hetero- und homozygoten CYP2C9*3-Trägern.

So erfolgte die Erhebung der vorliegenden Ergebnisse lediglich anhand von drei homozygoten Probanden sowie anhand von vier Probanden der Allelvarianz CYP*2/*3. Um eine pharmakodynamische und somit klinische Relevanz zu sehen, muss man Studienergebnisse mit einer höheren Probandenzahl nutzen, so dass eine umfassendere Studie mit hetero- und homozygoten CYP2C9*2- und *3-Trägern überlegt werden sollte.

Kardiovaskuläre Erkrankungen, zu deren vielfältiger Behandlung bis dato Cumarinderivate weltweit eingesetzt werden, kommen überdurchschnittlich häufig in Kombination mit Diabetes mellitus oder Adipositas vor. Zur Abklärung der Beeinflussung von Nebenkrankungen bzw. kodominanten Medikationen auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon, sollten auch hierzu weitere Studien durchgeführt werden, da die vorliegende Studie anhand von gesunden Probanden erfolgte.

Abschliessend ist zu verdeutlichen, dass anhand der vorliegenden pharmakokinetischen Studie gezeigt werden konnte, dass das CYP2C9-Enzym einen Einfluss auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon hat und somit, wie bei S-Warfarin und S-Acenocoumarol für die Hydroxylierung von S-Phenprocoumon verantwortlich zu sein scheint. Dennoch konnte statistisch gesehen kein signifikanter Einfluss von CYP2C9 auf die Pharmakokinetik von Phenprocoumon gezeigt werden. Demnach ist Phenprocoumon das Cumarinderivat unter den Vitamin K-Antagonisten, welches am wenigsten durch CYP2C9 beeinflusst wird.

4.2. Vorteile einer routinemäßigen Genotypisierung vor Phenprocoumontherapie

Für die Behandlung unerwünschter Arzneimittelnebenwirkungen werden jährlich beträchtliche Summen ausgegeben.

Der Tod durch unerwünschte Arzneimittelwirkungen steht mittlerweile an 6. Stelle der Todesursachen.

Die Gründe für das Auftreten von UAW sind vielfältig, jedoch wird vermutet, dass ein nicht unerheblicher Teil durch die Polymorphismen des CYP450-Systems mit verursacht wird.

Im Falle von Antikoagulanzen bestätigt der aktuelle Wissenstand über die Pharmakokinetik von Medikamentenmetabolismen immer mehr die Erkenntnis, dass die notwendigen individuellen Dosierungen von genetischen Faktoren abhängig ist.

Die prätherapeutische Genotypisierung könnte somit ein erster Schritt zur individuell gestalteten medikamentösen Therapie und zur Vermeidungen von UAW sein und dazu beitragen, dass verträglicher und kostengünstiger umgegangen werden kann.

Eine routinemäßige Genotypisierung wurde bereits für die Pharmakotherapie einiger CYP2C9-Substrate mit enger therapeutischer Breite, wie z.B. für Warfarin und Phenytoin postuliert (Van der Weide et al, 2001; Aithal et al, 1999; Kidd et al, 1999; Mamiya et al, 1998; Steward et al, 1997; Furuya et al, 1995).

Die FDA überlegt bereits ein „Relabeling“ (eine Erneuerung der Fachinformation bezüglich der Genotypisierung vor Therapiebeginn) von Warfarin mit CYP2C9 und VKORC1-Testung.

Jedoch hat die Genotypisierung von P450-Enzymen bisher keinen Stellenwert in der klinischen Praxis gefunden, wofür es viele Gründe gibt. Vor allem ist einer der Gründe, dass bis dato ausreichende Daten im Hinblick auf genotypabhängigen Dosisanpassung von CYP2C9-Substraten, fehlen.

Zur Bestimmung des Genotyps steht heute die kostengünstige und einfach durchzuführende Genotypisierung im Vordergrund (Wedlund, 2000). Es reicht lediglich eine Blutentnahme von ca. 9 ml aus, die aufgrund der lebenslang konstanten Größe nur einmalig durchgeführt werden muss. Ferner wird der Genotyp und die Typisierung nicht von Medikamenten beeinflusst.

In den letzten Jahren wurden zunehmend schnell durchführbare, relativ preisgünstige und allgemein verfügbare PCR-RFLP-Tests zur Bestimmung von CYP450-Enzymen entwickelt (Aynacioglu et al, 1999; Sullivan- Klose et al, 1996; Wang et al, 1995).

Für einen im Routinelabor bestimmten CYP2C9-Genotyp belaufen sich derzeit die Kosten auf ca. € 25.

Geht man von vergleichsweise ähnlichen Daten von Patienten der USA und Deutschland aus, die zur Zeit eine antikoagulative Therapie mit Vitamin K-Antagonisten erhalten, so ergibt sich in der deutschen Bevölkerung eine Patientenanzahl von ca. 200 000, ca. 0,25%. Gemäß des prozentualen Vorkommens von ca. 1% CYP2C9*3/*3-Trägern in der deutschen Bevölkerung, befinden sich somit 2000 Langsammetabolisierer, die von einer Genotypisierung des CYP2C9s profitieren könnten. Würden alle Patienten, die kurz- oder langfristig eine Therapie mit Phenprocoumon erhalten sollen, eine prätherapeutische Genotypisierung erhalten, würden sich die jährlichen Kosten für die Genotypisierung auf ca. Mio. 5 € belaufen.

Davon ausgehend, dass die Pharmakokinetik die Pharmakodynamik bestimmt, besteht anhand der vorliegenden Studie keine Notwendigkeit zur prätherapeutischen Genotypisierung.

Es sollten jedoch große klinische Studien zur Abklärung dieser Frage mit dementsprechend großer Probandenzahl erfolgen.