

Aus dem  
Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie  
des Zentrums für Experimentelle Medizin  
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Direktor: Prof. Dr. T. Eschenhagen

**Einfluss von Polymorphismen im *CYP2D6*-Gen auf  
die klinischen Effekte einer Therapie mit  
Metoprolol:  
Eine prospektive longitudinale Doppelblindstudie.**

D i s s e r t a t i o n  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von  
Lisa-Maria Michels  
aus Münster

Hamburg 2008

Als Dissertation angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Hamburg am: *10.02.2009*

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: *Prof Dr. Th. Eschenhagen*  
Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: *Prof Dr. Th. Meinertz*  
Prüfungsausschuss, 3. Gutachter/in: *Prof Dr. H. Ehrhardt*

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1	Medizinische Bedeutung von CYP2D6 .....	1
1.2	CYP2D6-Polymorphismus .....	2
1.2.1	CYP2D6-Allele .....	2
1.3	Metoprolol .....	4
1.4	Konzentrations-Wirkungszusammenhänge.....	6
1.5	Fragestellung und Ziele der Arbeit .....	7
<b>2</b>	<b>Patienten und Methoden.....</b>	<b>8</b>
2.1	Patienten.....	8
2.2	Studienablauf .....	10
2.3	CYP2D6-Genotypisierung.....	11
2.3.1	DNA-Extraktion .....	11
2.3.2	Messung der DNA-Konzentration .....	12
2.3.3	Nachweis der Allele *3, *4 und *6 durch Sondendegradations-PCR.....	12
2.3.4	Long-range-PCR zum Nachweis des *5-Allels.....	14
2.3.5	PCR-RFLP .....	16
2.4	Reagenzien, Puffer und Geräte .....	20
2.4.1	Reagenzien.....	20
2.4.2	Hilfsmittel und Geräte .....	21
2.4.3	Puffer und Gele.....	22
2.5	Statistik .....	23
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>24</b>
3.1	Patienteneinschluss .....	24
3.2	Patientencharakteristika.....	24
3.3	Behandlungsindikation .....	25
3.4	Klinische Grundcharakteristika.....	26

---

3.5	Metoprolol-Therapie .....	26
3.6	Pharmakokinetische Ergebnisse .....	27
3.6.1	Plasmakonzentrationen von Metoprolol .....	27
3.6.2	Plasmakonzentrationen von $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol .....	28
3.7	Klinische Effekte der Metoprolol-Gabe .....	29
3.7.1	Effekte auf die Herzfrequenz im EKG .....	29
3.7.2	Effekte auf den Puls .....	31
3.7.3	Effekte auf den arteriellen systolischen Blutdruck .....	33
3.7.4	Effekte auf den diastolischen Blutdruck .....	35
3.7.5	Arterieller Mitteldruck .....	37
3.7.6	Effekte auf die PQ-Zeit .....	37
3.7.7	Effekte auf die QRS-Dauer .....	39
3.7.8	Effekte auf das unkorrigierte und das korrigierte QT-Intervall .....	40
3.7.9	Unerwünschte Arzneimittelwirkungen .....	44
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>45</b>
4.1	Veränderung der Herzfrequenz unter der Metoprololtherapie .....	46
4.2	EKG-Parameter .....	53
4.3	Effekte auf den Blutdruck bei PM und Non-PM .....	53
4.4	Unerwünschte Arzneimittelwirkungen unter der Metoprololtherapie .....	56
4.5	Limitationen .....	58
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>Veröffentlichungen aus der aktuellen Arbeit .....</b>	<b>66</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>67</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>68</b>
<b>10</b>	<b>Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>69</b>

## **1 Einleitung**

### **1.1 Medizinische Bedeutung von CYP2D6**

Im Folgenden werden zunächst die Bedeutung von CYP2D6 als Fremdstoff-metabolisierendes Enzym sowie wesentliche Substrate und Inhibitoren dargestellt. CYP2D6 ist eine der zahlreichen Isoformen der hepatischen Cytochrom P450 Monoxygenasen (CYP). Beim Menschen werden mittlerweile 18 verschiedene Genfamilien (erkennbar an der Ziffer, z.B. *CYP1* oder *CYP2*) und 43 Untergruppen (erkennbar an den Buchstaben nach der Zahl, z.B. *CYP2C* oder *CYP2D*) unterschieden (Nelson 2006). Neben ihrer Rolle als fremdstoffmetabolisierende Enzyme kommt einigen der CYP-Enzyme eine wesentliche Bedeutung in der Synthese körpereigener Stoffe - beispielsweise der Steroidhormone - zu. CYP2D6 spielt eine wichtige Rolle bei Phase-1-Reaktionen von Arzneistoffen. Oxidation, Reduktion oder Hydrolyse sind typische Reaktionen, die durch CYP2D6 katalysiert werden. Die Aktivität von CYP2D6 ist interindividuell sehr unterschiedlich.

Etwa 25% der gegenwärtig verordneten Arzneistoffe werden teilweise oder überwiegend durch CYP2D6 biotransformiert. Darunter sind häufig verordnete Medikamente aus den Gruppen der Antidepressiva, Neuroleptika, Antiarrhythmika und Betablocker (Wilkinson 2001; Gonzalez & Tukey 2006). Zu typischen Substraten des CYP2D6 Enzyms gehören beispielsweise Amitriptylin, Haloperidol sowie die Betablocker Timolol und Metoprolol.

CYP2D6 kann Arzneistoffe inaktivieren oder aktivieren. Eine aktivierende Rolle übernimmt CYP2D6 beispielsweise für das trizyklische Antidepressivum Amitriptylin. Amitriptylin wird durch CYP2D6 zu den ebenfalls aktiven Metaboliten Nortriptylin und 10-OH-Nortriptylin umgewandelt (Nordin & Bertilsson 1995). Codein erreicht seine analgetische Wirkung erst, wenn es von CYP2D6 teilweise zu Morphin transformiert wurde (Sindrup & Brosen 1995; Poulsen et al. 1996). Der Betablocker Metoprolol, der in dieser Studie untersucht wurde, wird durch das CYP2D6 Isoenzym inaktiviert, d.h. zu wenig aktiven Metaboliten abgebaut (Lennard et al. 1986). Arzneistoffe können nicht nur als Substrate, sondern auch als Hemmstoffe eines CYP fungieren. Inhibitoren von CYP2D6 sind beispielsweise der selektive Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer Paroxetin und das Antiarrhythmikum Chinidin. Das Ausmaß der Hemmung durch diese

Inhibitoren kann so stark sein, dass ein sogenannter *poor-metabolizer* (PM-Phänotyp) resultiert, was als PM-Phänokopie bezeichnet wird (Alfaro et al. 2000).

## **1.2 CYP2D6-Polymorphismus**

Nach Verabreichung der Arzneistoffe Debrisoquin (Antihypertensivum) bzw. Spartein (Wehen-förderndes Medikament, Antiarrhythmikum) bemerkten Ärzte in den 70er Jahren des vergangenen Jahrhunderts bei einigen Patienten unerwartet starke Nebenwirkungen (unerwünschte Arzneimittelwirkungen, UAW). Spartein führte zu Doppelbildern, Kopfschmerzen, Schwindel und bei Schwangeren zu schweren Uteruskontraktionen mit Kindstod (Mahgoub et al. 1977; Eichelbaum et al. 1979; Meyer & Zanger 1997). Debrisoquin verursachte starke orthostatische Hypotonie. Untersuchungen bei Patienten und ihren Verwandten zeigten, dass der Abbau beider Medikamente einer monogenetischen Kontrolle unterliegt und die Verminderung des Metabolismus rezessiv vererbt wird. Nach einmaliger Gabe von Debrisoquin oder Spartein wurden die Grundsubstanzen und ihre Metabolite (4-Hydroxydebrisoquin bzw. 2- und 5- Dehydrospartein) im Urin gemessen. Die *metabolic ratio* (MR), das Konzentrationsverhältnis von Grundsubstanz zu seinem Metaboliten, zeigte eine multimodale Häufigkeitsverteilung. Die Individuen wurden anhand ihrer MR zunächst in zwei Gruppen, nach weiteren Erkenntnissen in vier Gruppen aufgeteilt: *Extensive metabolizer* (EM) erreichen eine niedrige MR bei hoher metabolischer Aktivität. *Ultrarapid metabolizer* (UM) zeichnen sich durch ihre sehr starke enzymatische Aktivität und durch eine sehr niedrige MR aus. Im Gegensatz dazu besitzen die *Intermediate metabolizer* (IM) eine sehr geringe enzymatische Aktivität und MR. *Poor metabolizer* (PM) erreichen einen hohen metabolischen Quotienten, was auf dem Fehlen der metabolischen Aktivität beruht. Wenn der Metabolit ausschließlich unter der Einwirkung von CYP2D6 entsteht, sind bei PM in der Regel keine messbaren Konzentrationen der Metabolite nachweisbar (Sachse et al. 1997; Griese et al. 1998; Sachse et al. 1998).

### **1.2.1 CYP2D6-Allele**

Das kodierende Gen liegt auf dem langen Arm von Chromosom 22. Mittlerweile sind von diesem Gen mehr als 70 verschiedene Allele beschrieben worden (Sachse et al. 1997; Griese et al. 1998; Sachse et al. 1998; Zanger et al. 2001; Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee 2007). Aufgrund von Mutationen (Deletion, Insertion oder Austausch einzelner Nukleotide) in diesem Gen konnten

Veränderungen bezüglich der Expression und Funktion des CYP2D6 Enzyms beobachtet werden. Man unterscheidet zum einen die normal funktionellen Allele (*CYP2D6* \*1, \*2), von solchen Allelen, die mit keiner Enzymaktivität verbunden sind. Zu diesen sog. Null-Allelen gehören *CYP2D6* \*3, \*4, \*5, \*6 und \*7. Weiterhin existieren Allele von *CYP2D6*, die zwar funktionsfähig sind, aber mit einer reduzierten Aktivität verbunden sind (*CYP2D6* \*9, \*10, \*41). Durch Amplifikationen können normal aktive Allele (*CYP2D6* \*1, \*2) zu einer gesteigerten katalytischen Aktivität des CYP2D6 führen (*CYP2D6* Nx \*1 oder \*2). Je nach ihrem Phänotyp werden Individuen in die Gruppen UM, EM, IM und PM eingeteilt. Individuen, deren Genotyp ausschließlich nicht funktionelle Allele enthält, z.B. \*4/\*4, fehlt jegliche CYP2D6-Aktivität. Sie sind phänotypisch PM. Individuen, die zwei normal aktive Allele, wie z.B. \*1/\*1, besitzen, gehören in der Regel zu den EM. Bei ihnen liegt im Gegensatz zu PM eine normale Metabolisierungsaktivität vor. Die Reduktion der enzymatischen Aktivität bei IM kann nach bisherigem Kenntnisstand v.a. durch zwei genetische Konstellationen erklärt werden: IM sind entweder heterozygot für ein Null-Allel (z.B. \*3, \*4, \*5), und ihr zweites Allel ist mit einer reduzierten Aktivität verbunden (\*9,\*10,\*41), z.B. Genotyp (\*4/\*41). Dabei spielt für Kaukasier v.a. das \*41-Allel eine Rolle (Raimundo et al. 2000; Rau et al. 2002; Rau et al. 2006; Toscano et al. 2006). Auch das Vorliegen von zwei reduziert aktiven Allelen kann zu einem IM-Phänotyp führen (z.B. \*41/\*41). Die Aktivität des CYP2D6 Enzyms der IM liegt zwar unter der Metabolisierungsrate der EM, aber noch über der Enzymleistung der PM. Individuen, bei denen eine erhöhte katalytische Aktivität des CYP2D6 Enzyms vorliegt, werden als UM bezeichnet. Eine mögliche Ursache stellt, wie bereits dargestellt, die Amplifikation der Allele \*1 oder \*2 dar, wenn sie in Kombination mit einem weiteren funktionellen Allel vorliegen (z.B. \*2x2/\*1). Allerdings existieren – je nach der Definition des UM-Status – mehr UM als durch die Amplifikation funktioneller Allele erklärt werden kann. Je niedriger der Metabolische Quotient ist, desto größer ist der Anteil von Menschen mit einer Genamplifikation. Im Gegensatz zur Grenze zwischen EM, IM und PM existiert in der Häufigkeitsverteilung zwischen EM und UM kein Tal (Antimode), so dass die Definition der UM unscharf ist.

Der durch genetische Einflüsse verminderte Abbau und die daraus entstehenden höheren Konzentrationen dieser beiden Arzneistoffe verursachten die beobachteten unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) unter den oben genannten Medikamenten. Die Erkenntnisse über das Vorhandensein und die Auswirkungen des

CYP2D6-Genpolymorphismus erklären heute einen Großteil der interindividuellen Unterschiede im Arzneistoffmetabolismus CYP2D6-abhängiger Substrate.

### **1.3 Metoprolol**

Betablocker sind kompetitive Antagonisten von Noradrenalin und Adrenalin an den  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren. Es gibt auch Arzneistoffe, die sowohl  $\alpha$ - als auch  $\beta$ -Rezeptoren blockieren, wenn auch in unterschiedlich starkem Ausmaß.

Diese Arzneigruppe findet eine breite Anwendung als Antihypertensiva, Antianginosa und Antiarrhythmika. Betablocker unterscheiden sich in rezeptorspezifischen Eigenschaften, z.B.  $\beta_1$ -Präferenz und in ihrer Lipophilie. Lipophile Betablocker (Metoprolol, Propranolol) werden nahezu vollständig intestinal absorbiert, haben meist einen hohen first-pass-Effekt, eine hohe Plasmaeiweißbindung und häufig eine ausgeprägte Metabolisierungsrate in der Leber. Hydrophile Substanzen hingegen (z.B. Atenolol und Acetbutulol) erreichen nur eine unvollständige intestinale Absorption, eine geringe Plasmaeiweißbindung und werden in der Regel renal eliminiert.

Metoprolol ist einer der am häufigsten verordneten Arzneistoffe dieser Gruppe und zählt zu den lipophilen  $\beta_1$ -selektiven Betablockern. Nach dem Arneiverordnungsreport 2006 wurden 722,3 Millionen definierte Metoprolol-Tagesdosen als Monosubstanz und 82,3 Millionen definierte Tagesdosen in Kombinationspräparaten verordnet (Anlauf 2007; Lemmer 2007). Nach oraler Einnahme wird Metoprolol zu ca. 95% intestinal absorbiert und unterliegt einem ausgeprägten first-pass Effekt (Lennard et al. 1986). Die Metabolisierung erfolgt wesentlich - aber nicht ausschließlich - durch CYP2D6. Die Hydroxylierung von Metoprolol zu  $\alpha$ -Hydroxymetoprolol wird ausschließlich von CYP2D6 katalysiert. Die Bildung des Hauptmetaboliten, des unwirksamen Phenylethylsäurederivats H117.04, erfolgt CYP2D6-unabhängig. Im Durchschnitt erreicht Metoprolol eine Wirkdauer von ca. 8-15 h, allerdings ist die Wirkdauer bei PM länger (Lennard et al. 1982; McGourty et al. 1985; Deroubaix et al. 1996).

Durch die  $\beta_1$ -Selektivität des Metoprolols kommt es am Herzen zu negativ inotropen, chronotropen und dromotropen Wirkungen. Im Fettgewebe wird die Lipolyse gehemmt und in der Niere wird die Reninfreisetzung vermindert. Betablocker haben einen hohen Stellenwert in der Therapie der arteriellen Hypertonie und der Koronaren Herzkrankheit. Metoprolol hat ebenfalls eine Zulassung zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz und ist hier ebenso wie die  $\beta$ -Blocker Bisoprolol und Carvedilol Prognose-verbessernd wirksam. Des Weiteren werden  $\beta$ -Blocker zur



Migräneprophylaxe, bei supraventrikulären Herzrhythmusstörungen und bei essentiellen Tremor (nicht-selektive Betablocker) verordnet. Ferner werden sie bei Tachykardien und Tachyarrhythmien unterschiedlicher Genese (z.B. begleitend bei Hyperthyreose) eingesetzt.

Die häufigsten Nebenwirkungen von Metoprolol sind Kopfschmerzen, Schwindel und Müdigkeit. Durch die  $\beta_1$ -blockierende Wirkung kann es zur Bradykardie und zur AV-Blockierung kommen. Die negativ inotrope Wirkung kann zu einem Blutdruckabfall und der Dekompensation einer Herzinsuffizienz führen. Weiterhin können Bronchospasmen und periphere Durchblutungsstörungen als UAW auftreten. In einigen Fällen kann es zu gastrointestinalen Störungen, sexuellen Funktionsstörungen und Alpträumen kommen. Betablocker können eine Psoriasis auslösen oder einen Schub - bei bereits bestehender Krankheit - induzieren.

Nach längerer Einnahme von Betablockern kann es bei abruptem Absetzen des Medikaments zu Schweißausbrüchen, Blutdruckanstieg, Unruhe und Tachyarrhythmien, Auslösung von Angina pectoris und Myokardinfarkten kommen. Diese u.U. lebensbedrohlichen Absetzeffekte werden als Rebound-Phänomen bezeichnet. Ursache dieses Krankheitsbildes dürfte u.a. eine erhöhte Empfindlichkeit für adrenerge Stimuli sein, da unter einer Betablockertherapie die Anzahl der  $\beta$ -Rezeptoren zunimmt (sog. Up-Regulation).

Plasmakonzentrationen von Metoprolol bei CYP2D6 Poor-metabolizern

Metoprolol wird wie viele andere Medikamente durch CYP2D6 inaktiviert. Untersuchungen ergaben, dass nach einmaliger Gabe von Metoprolol PM eine 3- bis 10-fach höhere Metoprolol-Plasmakonzentration erreichten als EM (Freestone et al. 1982; Lennard et al. 1982; Deroubaix et al. 1996; Rau et al. 2002). Auch nach 13 Monaten Dauertherapie unter Metoprolol lag der Plasmaspiegel von PM 4,1-fach höher als die Plasmakonzentration von EM. Somit hat der *CYP2D6*-Genotyp einen wesentlichen Einfluss auf die Höhe der Metoprololkonzentrationen im Plasma (Rau et al. 2002).

Nach einmaliger Gabe lag die Eliminationshalbwertszeit bei PM bei 7,5 h und bei EM bei nur 2,8 h. Der CYP2D6-abhängig gebildete Metabolit, das  $\alpha$ -Hydroxymetoprolol, war bei PM allenfalls in geringem Umfang, in der Regel aber nicht nachweisbar (Lennard et al. 1982).

#### **1.4 Konzentrations-Wirkungszusammenhänge**

Die Wirkung von Betablockern auf die Herzfrequenz ist abhängig von ihrer Plasmakonzentration (Bengtsson et al. 1975; Lucker et al. 1990). In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass nach einmaliger Gabe von Metoprolol bei PM die Plasmakonzentrationen erhöht waren und auch eine stärkere und länger andauernde Herzfrequenzsenkung nachweisbar war. Daher kann man vermuten, dass PM unter Metoprololtherapie ein höheres Risiko für das Auftreten von konzentrationsabhängigen Nebenwirkungen haben, als EM.

Dieser Vermutung entgegen stehen Ergebnisse einer Studie, die 1984 veröffentlicht wurde (Clark et al. 1984). In dieser Studie wurde bei 37 Patienten, die unter einer Metoprololtherapie UAW hatten, und von 37 Kontroll-Patienten eine CYP2D6-Phänotypisierung durchgeführt. In beiden Studiengruppen gab es jeweils 4 PM und kein Überwiegen der PM-Anzahl in der Fallgruppe, wie man erwartet hätte. Einerseits schlossen die Autoren einen Zusammenhang zwischen PM-Phänotyp und dem Einsetzen von UAW nicht aus, aber sie stellten in Frage, ob durch eine prätherapeutische CYP2D6-Genotypisierung das Risiko für Nebenwirkungen unter einer Metoprololgabe besser zu kalkulieren sei. Allerdings wurden die Patienten mit UAW nahezu 2 Jahre mit dem Betablocker Metoprolol behandelt. Der Schwerpunkt dieser Studie lag nicht auf den, unmittelbar nach Therapiebeginn, auftretenden UAW. Auch wurden immunologische, vermutlich nicht unbedingt von der Plasmakonzentration abhängige UAW, in der Studie als Einschlusskriterium akzeptiert. In einer von der eigenen Arbeitsgruppe durchgeführten retrospektiven Untersuchung zeigte sich eine statistisch signifikante Zunahme von PM-Genotypen bei Patienten, die aufgrund einer UAW eine Beendigung der Therapie mit Metoprolol vornehmen mussten (Wuttke et al. 2002). Dabei wurden PM grenzwertig signifikant häufiger aufgrund bradykarder Herzrhythmusstörungen eingeschlossen als Non-PM. Für die Frequenzsenkenden Wirkungen von Betablockern besteht nach bisheriger Kenntnis ein engerer Zusammenhang zwischen Konzentration und Wirkung als beispielsweise für die Verminderung des systolischen Blutdrucks.

Es kann jedoch sein, dass der CYP2D6-Genpolymorphismus erst eine relevante Auswirkung auf die Therapiesicherheit unter Metoprolol bei Patienten hat, wenn z.B. aufgrund einer kardialen Erkrankung ein größeres Risiko für das Auftreten von UAW besteht. Da Betablocker eine relativ große therapeutische Breite besitzen und nur wenige Studien bisher die Bedeutung des CYP2D6-Genpolymorphismus bzgl. der

Therapiesicherheit von Metoprolol untersucht haben, ist nicht endgültig geklärt, wie stark das Risiko von PM für das Auftreten von UAW gegenüber EM gesteigert ist.

### **1.5 Fragestellung und Ziele der Arbeit**

Die vorliegende Arbeit überprüfte in einem prospektiven Ansatz, ob PM in einem Patientenkollektiv mit kardiovaskulärer Indikation zur Therapie mit Metoprolol klinisch stärker auf Metoprolol reagieren als EM. Des Weiteren wurde überprüft, ob PM häufiger UAW aufweisen als Non-PM. Eingeschlossen wurden Patienten mit einer kardiovaskulären Indikation zur Einleitung einer Therapie mit Metoprolol. Die klinischen Reaktionen der Patienten auf die Therapieeinleitung mit Metoprolol wurden mit standardisierten Fragebögen dokumentiert. Dabei wurden sowohl Parameter der klinischen Untersuchungen (Herzfrequenz, EKG-Parameter, sowie systolischer und diastolischer Blutdruck), als auch subjektive Symptome der Patienten erfasst. Bei jedem Patienten wurde der *CYP2D6*-Genotyp durch Allel-Differenzierung, Long-range-PCR und PCR-RFLP analysiert. Die Metoprololplasmaspiegel der Patienten wurden ebenfalls bestimmt.

## 2 Patienten und Methoden

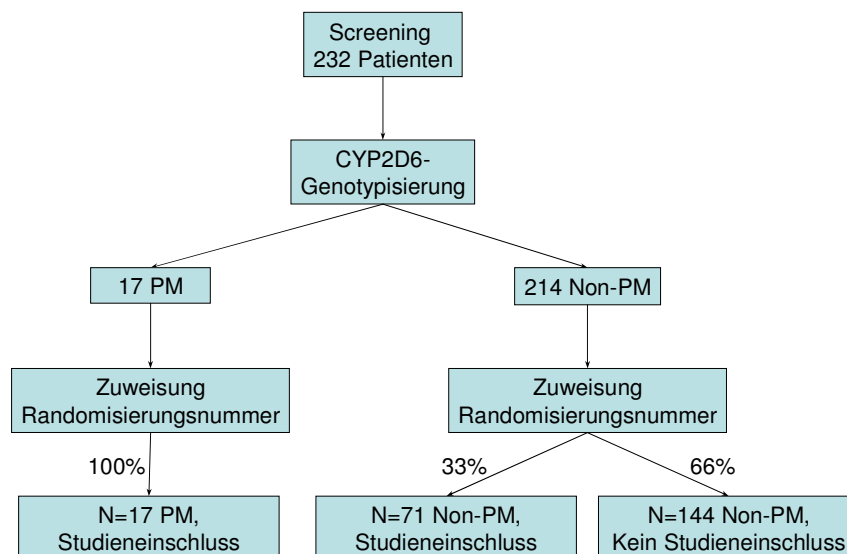
Die Studie wurde der Ethik-Kommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen/Nürnberg zur Begutachtung vorgelegt und ihrer Durchführung ohne Auflagen zugestimmt.

### 2.1 Patienten

Zehn niedergelassene Ärzte aus Deutschland wurden durch Informationsbriefe gebeten, Patienten einzuschließen, bei denen eine Betablocker-Therapie aufgrund einer kardiovaskulären Erkrankung indiziert war.

Die Einschätzung der klinischen Reaktionen der Patienten auf die Einleitung der Metoprololtherapie und die Beurteilung auftretender UAW wurden anhand standardisierter Erfassungsbögen von den jeweiligen Ärzten vorgenommen. Die erhobenen Daten wurden erneut durch Untersucher des Lehrstuhls für klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität Hamburg-Eppendorf (Dr. Henrike Wuttke, Dr. Thomas Rau) auf Vollständigkeit und Plausibilität geprüft.

Es wurden insgesamt 232 Blutproben zur CYP2D6-Genotypisierung eingesandt (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Flow-Chart der Patienten in der vorliegenden Untersuchung. Von den 232 gescreenten Patienten, bei denen mindestens ein Einschlusskriterium und kein Ausschlusskriterium vorlag, waren 17 PM und 214 Non-PM. Alle PM und ein Drittel der Non-PM wurden in die Studie eingeschlossen.

Es wurde jeweils ein Screening Fragebogen, der für die Studie relevante Ein- und Ausschlusskriterien beinhaltet, ausgefüllt.

Folgende Patientendaten wurden mit diesem Fragebogen erhoben:

Die Patienten sollten folgende **Einschlusskriterien** erfüllen:

- Vorliegen mindestens einer kardiovaskulären Erkrankung, bei der eine Metoprololtherapie indiziert ist (z.B. arterieller Hypertonus, Herzinsuffizienz, Koronare Herzerkrankung, absolute Arrhythmie)
- Fehlen relevanter Begleiterkrankungen (z.B. maligner Erkrankungen)
- Stabiler klinischer Gesundheitszustand (wie z.B. kein Lungenödem oder andere Zeichen einer kardialen Dekompensation)
- schriftliche Einverständniserklärung

**Ausschlusskriterien:**

- Begleiterkrankungen, wie z.B. Asthma bronchiale, COPD, dekompensierte Herzinsuffizienz, periphere arterielle Verschlusskrankheit, akute Endo-/ Myokarditis
- Vorliegen einer Schwangerschaft
- Herzinfarkt in den vergangenen letzten 2 Wochen
- Vorliegen höhergradiger AV-Blockierungen

Der Schwerpunkt der Studie lag auf den Betablocker-spezifischen klinischen Reaktionen (Verminderung der Herzfrequenz, Blutdrucksenkung und Veränderungen von EKG-Parametern) sowie subjektiven UAW, wie z.B. Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindel.

Von allen gescreenten Patienten wurden zunächst zwei Monovetten mit EDTA-Blut, Patienteninitialen, Geburtsdatum und Entnahmedatum in die Pharmakologie zur CYP2D6-Genotypisierung eingeschickt. Alle Patienten wurden durch die Genotypisierung in zwei Gruppen aufgeteilt: PM und Non-PM. Wesentlich für die statistische Aussagekraft der Studie waren die eingeschlossenen PM, die durch das gewählte Vorgehen vollständig eingeschlossen wurden. Von den Non-PM wurden 1/3 randomisiert in die Studie eingeschlossen. Dieses Verfahren wurde gewählt, um den administrativen Aufwand der Studie zu vermindern. Nach der CYP2D6-Genotypisierung wurde den Ärzten lediglich mitgeteilt, welche Patienten in die Studie

einzuschließen sind. Eine Übermittlung der Genotypinformation wurde nicht vorgenommen, um die Verblindung der behandelnden Ärzte und Patienten gegenüber dem *CYP2D6*-Genotyp aufrecht zu erhalten.

## **2.2 Studienablauf**

Die eingeschlossenen Patienten durchliefen ein 90-tägiges Studienprotokoll. In diesem Zeitraum wurden fünf klinische Untersuchungen M1-M5 durchgeführt. An festgelegten Terminen wurden die einzelnen Untersuchungen von den behandelnden Ärzten vorgenommen.

Am Untersuchungszeitpunkt M1 (1-3 Tage vor Metoprololtherapie) wurde eine erneute Überprüfung auf Erfüllung der Ein- und Ausschlusskriterien überprüft und eine klinische Anamnese durch den behandelnden Arzt durchgeführt. Neben der klinischen Untersuchung beinhalteten alle Untersuchungszeitpunkte (M1-M5) eine ausführliche Anamnese, die besonderen Schwerpunkt auf die Art und den Schweregrad der kardiovaskulären Erkrankung, die klinischen Symptome und die Begleiterkrankungen legte. Weiterhin wurden zu allen Untersuchungszeitpunkten eine körperliche Untersuchung durchgeführt und der systolische und diastolische Blutdruck gemessen. Zu allen Untersuchungszeitpunkten (M1 bis M5) wurden den Patienten Blut zur Bestimmung der Metoprolol-Plasmakonzentration entnommen und die wesentlichen Parameter der Medikation (Zeitpunkt der Einnahme, Dosis) dokumentiert. Die Untersuchung der Metoprolol-Plasmakonzentration am Zeitpunkt M1 sollte sicherstellen, dass die Patienten zu diesem Zeitpunkt den Beta-Blocker noch nicht erhalten hatten. Weiterhin wurde zu den Untersuchungszeitpunkten M1, M2, M4 und M5 ein EKG abgeleitet.

Zu den Untersuchungszeitpunkten M1 und M2 (3 Tage nach Therapiebeginn) wurde den Patienten zusätzlich ein 24h Langzeit-EKG angelegt. Das erste Langzeit-EKG wurde am Tag M1 registriert, zu dem die Patienten noch kein Metoprolol eingenommen hatten.

Die Speicherkarte des Langzeit-EKGs und die Ruhe-EKG's wurden mit dem Untersuchungs-Prüfheft in die Abteilung Pharmakologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf geschickt und erneut analysiert. Die Durchschriften der Prüfprotokolle verblieben beim Untersucher.

Schwerwiegende UAW unter der Metoprololtherapie wurden auf einem separaten Prüfungsbogen von dem Arzt dokumentiert, wie z.B. Synkope, schrittmacherpflichtige

Bradykardie, Lungenödem, Myokardinfarkt, Tod. Falls das Auftreten der UAW zum Abbruch der Therapie oder zur Dosisreduktion von Metoprolol führte, wurde die Therapieänderung von dem zuständigen Arzt im Untersuchungsprotokoll dokumentiert. Durch die umfangreichen Untersuchungen, die die Patienten während des 90-tägigen Therapieprogramms durchliefen, sollten die wesentlichen kardiovaskulären Effekte, der physische und psychische Zustand der Patienten und das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen dokumentiert werden.

### **2.3 CYP2D6-Genotypisierung**

Nach DNA-Extraktion aus Vollblut wurde der *CYP2D6*-Genotyp durch Allel-Differenzierung mit fluoreszierenden Sonden, Long-range-PCR und PCR-RFLP analysiert. Mit der Allel-Differenzierungsmethode wurden die Null-Allele \*3,\*4 und \*6 mit der Long-range-PCR, das Null-Allel \* 5 und mit der PCR-RFLP die Null-Allele \*7,\*8,\*12,\*14 und die funktionellen Allele \*2,\*10,\*41 nachgewiesen. Die Bestimmung der untersuchten Null-Allele ermöglicht die Detektion von mehr als 99% der PM in der bundesdeutschen Bevölkerung.

#### **2.3.1 DNA-Extraktion**

Nach den Blutentnahmen wurden die EDTA-Proben eingeschickt und die DNA wurde mittels des QIAamp DNA Blood Midi Kits nach Anleitung des Herstellers extrahiert:

In einem Zentrifugenröhrchen wurden 2 ml EDTA-Vollblut, 200 µl Quiagen Protease Stammlösung und 2,4 ml Lysis-Puffer gemischt. Nach 10 min Inkubation im 70 °C Wasserbad wurde die Lösung mit 2 ml Ethanol gemischt. 3,3 ml der zubereiteten Lösung wurden auf eine QIAamp Midi Säule in ein zweites 15 ml Zentrifugenröhrchen pipettiert und 3 min bei 3000 rpm und 18 °C zentrifugiert. Nach Verwerfen des Zentrifugats wurde mit der restlichen Lösung analog verfahren, und das Zentrifugat wurde wieder verworfen. 2 ml des Puffers AW1 wurde auf eine Säule pipettiert, und das Röhrchen 1 min bei 4000 rpm und 18 °C zentrifugiert.

Ohne Verwerfen des Zentrifugats wurden erneut 2 ml des Puffers AW2 auf die Säule pipettiert und das Röhrchen 15 min lang bei 4000 rpm und 18 °C zentrifugiert. Die Säule wurde nun für 10 min bei 70 °C in einen Trockenschrank gestellt, um überschüssiges Ethanol zu entfernen. Danach wurde das Röhrchen in ein neues 15 ml Zentrifugenröhrchen platziert. Die Elution der DNA wurde durch Zugabe von 300 µl

aqua ad iniectionabilia, nachfolgender Inkubation von 5 min bei Raumtemperatur und abschließender Zentrifugation von 5 min bei 4000 rpm erreicht.

Die extrahierte DNA wurde nun zum weiteren Gebrauch bei -20 °C gelagert.

### 2.3.2 Messung der DNA-Konzentration

10 µl der DNA wurden mit 90 µl aqua ad iniectionabilia verdünnt (1:10), in eine Quarzglasküvette gefüllt und die Absorption der Lösung bei 260 nm und 280 nm im Spektrophotometer gemessen. Aus der Absorption bei 260 nm wurde die DNA-Konzentration berechnet. Zur Schätzung der DNA-Reinheit wurde die Ratio der Absorption ( $A_{260}/A_{280}$ ) gebraucht, die bei reiner DNA zwischen 1,8 und 2,0 liegen sollte.

### 2.3.3 Nachweis der Allele \*3, \*4 und \*6 durch Sondendegradations-PCR

Mit fluoreszenzmarkierten Sonden (TaqMan Pre-Developed Assay Reagents for Allelic Discrimination) auf einem ABI PRISM 7700 Sequence Detection System wurden die Null-Allele (\*3, \*4, \*6) nachgewiesen. Folgende Mutationen konnten hiermit erfasst werden:

- 2549A>del: diagnostisch für das *CYP2D6*\*3
- 1846G>A: diagnostisch für das *CYP2D6*\*4
- 1707T>del: diagnostisch für das *CYP2D6*\*6

Für den Nachweis der Null-Allele werden zwei verschiedene Sonden eingesetzt. Die erste Sonde enthält den Reporter Farbstoff VIC und beinhaltet die Wildtyp-Sequenz (Allel 1), die zweite Sonde enthält die Mutation (Allel 2) und den Reporter Farbstoff FAM (6-Carboxy-Fluorescein). Die Reporter-Farbstoffe (VIC bzw. FAM) bleiben mit dem Quencher so lange in einem Molekül, bis die Sonden durch die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-Polymerase in Mononukleotide gespalten werden. Die passende Sonde hybridisiert an einer komplementären Sequenz zwischen dem forward und dem reverse Primer während der PCR. Die Polymerase schneidet mit ihrer 5'-3'-Exonuklease-Aktivität die an die Zielsequenz hybridisierte Sonde, während die unvollständig hybridisierte Sonde von der Polymerase nicht geschnitten wird. Nach jedem PCR-Zyklus steigt die Fluoreszenz des Reporters entsprechend der Akkumulation des PCR-Produkts, da die Sondenhydrolyse zu einer Trennung des Reporter Farbstoffs (VIC bzw. FAM) vom Quencher-Farbstoff führt. Aus dem Fluoreszenzsignal am Ende der PCR lässt sich damit die Sequenz der untersuchten



Proben ableiten (Tabelle 1). Die Messung der Flupreszenzsignale nach Ablauf der PCR und ihre Analyse wurden mit dem ABI PRISM 7700 Sequence Detection Systems und mit der ABI PRISM 7700 Sequence Detection System Software Version 1.7 durchgeführt.

Fluoreszenzsignal	Genotyp
Ausschließlich Zunahme der VIC-Fluoreszenz	Homozygot Allel 1 (Wildtyp/Wildtyp)
Ausschließlich Zunahme der FAM-Fluoreszenz	Homozygot Allel 2 (Mutation/Mutation)
Zunahme von VIC- und FAM-Fluoreszenz	Heterozygotie

**Tabelle 1** Zusammenhang zwischen Fluoreszenzsignal und Genotyp

Der beschriebene Reaktionsansatz (Tabelle 2) versteht sich als Ansatz für eine Probe. Für eine entsprechend höhere Probenzahl  $n$  wurde ein  $n$ -facher Ansatz berechnet. Die Reaktionen wurden gemäß den Anleitungen des Herstellers durchgeführt. Der TaqMan Universal PCR-Master Mix enthält v.a. AmpliTaq Gold Polymerase, AmpErase UNG und dNTPs sowie den Reaktionspuffer. Der Allelic-Discrimination-Mix die Primer (forward/reverse) und Sonden (Allel1/Allel2).

Reaktionsansatz für die Allel-Detektion durch Sondendegradation	
Aqua ad iniectabilia	5,0
TaqMan Universal PCR Master Mix (2 x)	12,5
AllelicDiscrimination Mix (10 x)	2,5
Summe:	20,0
Proben-DNA (ca. 20 ng/ $\mu$ l) oder Kontroll-DNA oder AAI (NTC)	5,0
Endvolumen:	25,0

**Tabelle 2:** Reaktionsansatz zum Nachweis der Allele \*3, \*4 und \*6 durch Sondendegradation. Volumenangaben in  $\mu$ l.

Die Allel 1 Kontrolle ist jeweils homozygot für den Wildtyp (z.B. Allel \*4: 1846 G/G), die Allel 2 Kontrolle ist homozygot für die Mutation (z.B. Allel \*4: 1846 A/A). Beide Kontrollen wurden bei jedem PCR-Lauf zusammen mit einer NTC (no template control, Kontrolle ohne DNA, sog. „Wasser-Kontrolle“) mitgeführt.

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
50 °C	2 min	1
95 °C	10 min	
92 °C	15 sek	35
60 °C	1 min	
4 °C	∞	1

**Tabelle 3** Reaktionsbedingungen zum Nachweis der Allele \*3, \*4 und \*6 durch Sondendegradation.

Die Fluoreszenzsignalmessung nach Ende der PCR und ihre Auswertungen wurden mit Hilfe des ABI PRISM 7700 Sequence Detection System Software 1.7 durchgeführt.

### 2.3.4 Long-range-PCR zum Nachweis des \*5-Allels

Mit einer in der Literatur beschriebenen Methode (Steen et al. 1995) wurde die Deletion des *CYP2D6*-Gens (Allel *CYP2D6*\*5) nachgewiesen. Im positiven Falle wurde ein 3,5 Kilobasenpaar großes Produkt amplifiziert und eine positiv getestete DNA als Positiv-Kontrolle eingesetzt. Um falsch-negative Resultate zu vermeiden (Sachse et al. 1997), wurde ein interner Standard benutzt, da nur im Falle einer Deletion ein Amplifikat nachweisbar war. Bei Patienten, die keine Deletion aufwiesen, wurde durch Hinzufügen des Primers P18F ein 4,2kb großes PCR-Produkt generiert. Mit der Long-range-Technologie und einer hochspezifischen Polymerase (GeneAmp XL PCR Kit) konnten Amplifikate dieser Größe erreicht werden. Primersequenzen und Primerpositionen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Primer	Sequenz	Position
2D6-3F	ACC GGG CAC CTG TAC TCC TCA#	7020-7040*
2D6-3R	GCA TGA GCT AAG GCA CCC AGA C#	7755-7734**
P18F	CGT CTA GTG GGG AGA CAA AC##	3533-3552**

**Tabelle 4::** Positionen und Sequenzen der eingesetzten Primer. Die Abkürzungen F und R geben die Richtung der Primer an (forward oder reverse). Die Nummerierung der Primerpositionen erfolgte nach \*X58467 (GenBank, *CYP2D7AP*) und \*\*M33388 (GenBank, *CYP2D6*, Nukleotid 1620 ist A des Startcodons der Translation und entspricht Nukleotid 1 in der Tabelle). Primer nach # (Steen et al. 1995) bzw. ## (Sachse 1999).

Diese Methode wurde nicht angewendet, wenn Proben heterozygot für ein anderes Allel waren, da Proben, die z.B. bei der Allel-Differenzierung heterozygot für das Allel *CYP2D6*\*4 imponieren, keine Deletion des kompletten *CYP2D6*-Gens aufweisen können. In der Allel-Differenzierung werden Proben als homozygot für Allel \*4

dargestellt, wenn sie ein Allel \*4 und zusätzlich eine \*5-Allel aufweisen. Die Probe erscheint als homozygot, da bei der Allel-Differenzierung nur ein Gen amplifiziert wird und das andere *CYP2D6*-Gen komplett deletiert ist. Um einen Genotyp bei der Allel-Differenzierung als heterozygot einzustufen, müssen mindestens zwei *CYP2D6*-Gene vorhanden sein. Daher können Proben, die bei der Allel-Differenzierung als heterozygot für Allel \*4 getestet wurden, keine Deletion des kompletten *CYP2D6*-Gens aufweisen.

Der beschriebene Reaktionsansatz (Tabelle 5) versteht sich als Ansatz für eine Probe. Für eine entsprechend höhere Probenzahl n wurde ein n-facher Ansatz berechnet.

Reagenzien (Konzentrationen)	
Aqua ad iniectabilia	23,35
Puffer (3,3 x)	15,15
Mg (OAc) <sub>2</sub> (25 mM)	2,0
dNTP-Mix (jeweils 2,5 mM)	4,0
Primer-Mix: 2 x forward und 1 x reverse (jeweils 20 µM)	3,0
AmpliTaq (5 U/µl)	0,5
Summe	48,0
DNA	2,0
Endvolumen	50,0

**Tabelle 5:** Reaktionsansatz für die Long-Range PCR zum Nachweis des \*5-Allels. Volumenangaben in µl.

Für die PCR wurden insgesamt ca.100 ng genomische DNA eingesetzt. Wenn eine Probe eine DNA Konzentration unter 50 ng/µl aufwies, wurde das eingesetzte Volumen an gelöster DNA erhöht und das Volumen an aqua ad iniectabilia entsprechend reduziert.

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
94 °C	1 Min	1
94 °C	15 Sek	38
65 °C	1 Min	
68 °C	6 Min	
72 °C	12 Min	1
4 °C	∞	1

**Tabelle 6:** Reaktionsbedingungen für die Long-Range-PCR.

Nach der PCR wurden 20 µl der Probe mit einem Probenauftragspuffer vermischt (Endkonzentration des Puffers 1 x) und nachdem es elektrophoretisch auf einem 1%igen Agarosegel getrennt wurde, unter UV-Beleuchtung photographisch dokumentiert (Gel Doc 2000 Gel Documentation System). Durch Vergleich mit einem 1 kb-Längenstandard wurden die jeweiligen Größen der PCR-Produkte ermittelt.

### 2.3.5 PCR-RFLP

Mit einer 2-Stufen-PCR wurden die vier Null-Allele (*CYP2D6* \*7,\*8,\*12,\*14) und das Allel mit reduzierter Aktivität (*CYP2D6* \*10) nachgewiesen. Dieses Verfahren wurde von (Sachse et al. 1997) veröffentlicht und wie folgt verändert:

Zuerst wurde die gesamte genomische Sequenz des *CYP2D6*-Gens durch zwei PCR`s amplifiziert. Die Primer wurden so ausgewählt, dass die Pseudogene des *CYP2D6* nicht amplifiziert wurden. Die Pseudogene sind zum *CYP2D6*-Gen hoch homolog und sollten daher keinesfalls amplifiziert werden, da dies zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann. Unter anderem können Mutationen des *CYP2D6*-Gens, die zu einem Mangel des *CYP2D6* führen, auch in Pseudogenen vorkommen. Der reverse Primer des PCR 1 ist spezifisch für das *CYP2D6*, hingegen bindet der forward Primer im *CYP2D6*-Gen und in den Pseudogenen. Durch die Kombination beider Primer kann die Sequenz des *CYP2D6*-Gens spezifisch amplifiziert werden. Beide Primer der PCR 2 sind spezifisch für das *CYP2D6*-Gen.

Die verdünnten Produkte der PCR 1 und PCR 2 wurden als Edukte in drei weiteren PCR`s eingesetzt (nested PCR-Technik, PCR Nr.3, 4, 5) (Sachse et al. 1997) und die Produkte anschließend mit drei Restriktionsendonukleasen geschnitten. Der forward Primer der PCR1 und PCR3 sind identisch, aber der reverse Primer wurde um vier

Basen verlängert. Die Sequenzen und Positionen der verwendeten Primer sind in Tabelle 7 aufgelistet. Tabelle 8 fasst die Größe der PCR-Produkte zusammen. Tabelle 9 gibt einen Überblick über die Restriktionsendonukleasen, die Restriktionsmuster und die dadurch nachweisbaren Mutationen und Allele.

PCR	Primer	Sequenz	Position
1	BR6.1F	AGT GTC CTG CCT GGT CCT CTG T	-82 bis -61
	BR6.3R	CGA AAT CTC TGA CGT GGA TAG GA	2258 bis 2236
2	BR6.5F	GGA CTC TGT ACC TCC TAT CCA CGT C	2224 bis 2248
	BR6.6R	CCT CAA CGT ACC CCT GTC TCA AAT <sup>#</sup>	4408 bis 4385
3	BR6.1F	AGT GTC CTG CCT GGT CCT CTG T	-82 bis -61
	Bs1-R	CCT GTG GTT TCA CCC ACC ATC <sup>#</sup>	264 bis 244
4	2D6-1F	CCT GGG CAA GAA GTC GCT GGA CCA G <sup>#</sup>	1682 bis 1706
	2D6-1R	GAG ACT CCT CGG TCT CTG G <sup>#</sup>	2034 bis 2016
5	2D6-5F	CCC GTT CTG TCC CGA GTA TG <sup>#</sup>	2771 bis 2790
	2D6-5R	GGG CTC ACG CTG CAC ATC AGG A <sup>#</sup>	2957 bis 2936

**Tabelle 7:** Sequenzen und Positionen der im Rahmen der PCR-RFLP-Diagnostik verwendeten Primer. F- forward primer; R- reverse Primer; Die Nummerierung der Primerpositionen erfolgte nach M33388 (Kimura et al. 1989). Das Nukleotid 1620 ist A des Startcodons der Translation und entspricht Nukleotid 1 in der Tabelle. #Modifiziert nach (Sachse et al. 1997)

PCR-Nr.	Primer	Edukt	Größe des PCR-Produkts (bp)
1	BR6.1F BR6.3R	genomische DNA	2340
2	BR6.5F BR6.6R	genomische DNA	2185
3	BR6.1F Bs1-R	PCR-Produkt der PCR 1	346
4	2D6-1F 2D6-1R	PCR-Produkt der PCR 1	353
5	2D6-5F 2D6-5R	PCR-Produkt der PCR 2	187

**Tabelle 8:** Amplifikatgrößen der beiden Vor-PCRs und der drei geschachtelten (nested) PCRs.

PCR-Nr.	SNP	Restriktions-Enzym	Fragmente (bp)		Allele
			Wt	Mut	
3	100C>T	HphI	274,72	174,100,72	*4, *10, *14
3	124G>A	MspI	154, 142, 50	192, 154	*12
4	1758G>T	MspI	278, 75	353	*8
4	1758G>A	MspI	278, 75	353	*14
5	2935A>C	FokI	124, 37, 26	124, 63	*7

**Tabelle 9:** Restriktionsmuster und detektierbare Mutationen und Allele.

### Reaktionsansatz

Die folgenden Mengenangaben (Tabelle 10) beziehen sich auf die Zubereitung für eine Probe. Für eine höhere Probenzahl n wurde ein n-facher Ansatz verwendet.

Reagenzien (Konzentrationen)	PCR-Nr.1	PCR-Nr.2
Aqua ad iniectionabilia	15,5	14,5
Puffer (10 x)	4,0	2,5
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2,0	1,95
dNTP-Mix (jeweils 2,5 mM)	4,0	2,5
Primer-Mix1 bzw. 2 (jeweils 20µM)	2,0	1,25
Glycerin (50%)	10	–
AmpliTaQ Gold (5 U/)	0,5	0,3
Summe	38,0	23,0
DNA	2,0	2,0
Endvolumen	40,0	25,0

**Tabelle 10:** Reaktionsansatz für die beiden von genomischer DNA ausgehenden Vor-PCRs. Volumenangaben in µl.

In die PCRs 1 und 2 wurden ca.100 ng DNA eingesetzt. Wenn in einer Probe die DNA-Konzentration <50 ng/µl betrug, wurde das eingesetzte Volumen der gelösten DNA erhöht und das Volumen von aqua ad iniectionabilia entsprechend vermindert.

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
95 °C	10 min	1
95 °C	30 sek	35
57 °C	30 sek	
72 °C	3 min	
72 °C	10 min	1
4 °C	∞	1

**Tabelle 11:** Reaktionsbedingungen für die Vor-PCRs 1 und 2

Nach Ablauf der PCR wurden jeweils 15 µl des Produktes der PCR 1 und 3 µl des Produktes der PCR 2 auf einem 1%igen Agarosegel analysiert. Die Größe der PCR Produkte wurde durch den Vergleich mit einem 1 kb-Längenstandard ermittelt.

Positive Produkte wurden im Verhältnis 1:10 für die nachfolgenden nested PCRs mit aqua ad iniectabilia verdünnt. Die Zusammensetzung der Reaktionsansätze und die Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 12 und Tabelle 13 angegeben.

Reaktionsansätze für die PCRs 3,4 und 5	
Aqua ad iniectabilia	15,75
Puffer (10 x)	3,0
MgCl (25 mM)	2,5
dNTP-Mix (jeweils 2,5 mM)	0,5
Glycerin (50%)	5,0
AmpliTaQ (5 U/µl)	0,25
Summe	27,0
Primer-Mix (jeweils 20 µM): 3 , 4 bzw. 5	2,0
PCR-Produkt:1 (PCR3, 4) oder 2 (PCR 5)	1,0
Endvolumen	30,0

**Tabelle 12:** Reaktionsansatz für die nested PCRs 3 , 4 , 5. Volumenangaben in µl.

Temperatur	Zeit	Anzahl d. Zyklen
95 °C	10 min	1
95 °C	30 sek	35
57 °C	30 sek	
72 °C	1 min	
72 °C	7 min	1
4 °C	∞	1

**Tabelle 13:** Reaktionsbedingungen für die nested PCRs (3, 4, 5).

Mit den genannten Restriktionsendonukleasen (Tabelle 9, Seite 18) wurden die positiven nested PCR Produkte (jeweils 7 µl) inkubiert (pro Ansatz: HphI 5 U, MspI 6 U, FokI 1,7 U). Danach wurden die Proben mit Probenauftragspuffer vermisch (Endkonzentration des Puffers 1 x) und auf einem 3%igen Agarosegel elektrophoretisch getrennt.

Unter UV-Beleuchtung wurden die Ergebnisse photographisch dokumentiert (Gel Doc 2000 Gel Documentation System). Die Größe der PCR-Produkte wurde durch Vergleich mit einem 100 bp-Längenstandard bestimmt.

## **2.4 Reagenzien, Puffer und Geräte**

### **2.4.1 Reagenzien**

Agarose: Small DNA Agarose, Biozym Diagnostik GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland und Peq GOLD Universal-Agarose, PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland

AmpliQ Gold DNA Polymerase: Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland

*Aqua ad iniectabilia* (AAI): Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland

Bromphenolblau: Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Desoxyribonukleotid-5'-triphosphate (dNTPs): Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland

DNA-Längenstandard: 100 bp und 1 kb; New England Biolabs GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland und PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland

Essigsäure: Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland



---

Ethanol: Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland

Ethidiumbromid: Sigma, Deisenhofen, Deutschland

Ethylendiamintetraessigsäure-di-Natriumsalz Dihydrat ( $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , Titriplex III):  
Merck, Darmstadt, Deutschland

Glycerin: Merck, Darmstadt, Deutschland

Oligonukleotide (Primer): MWG-Biotech AG, Ebersberg, Deutschland und TIB  
MOLBIOL, Berlin, Deutschland

PCR-Kits: GeneAmp XL PCR Kit und TaqMan Pre-Developed Assay Reagents for  
Allelic Discrimination, Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland

QIAmp DNA Blood Midi Kit: QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland

Restriktionsendonukleasen: New England Biolabs GmbH, Frankfurt am Main,  
Deutschland

Tris Base: AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

Xylencyanol: Sigma, Deisenhofen, Deutschland

#### **2.4.2 Hilfsmittel und Geräte**

Elektrophorese-Kammern und Zubehör: Sub-Cell GT und Mini-Sub-Cell GT, Bio-Rad  
Laboratories GmbH, München, Deutschland

Elektrophorese-Spannungsgeräte: Power Pac 300 Power Supply, Bio-Rad  
Laboratories GmbH, München, Deutschland

Gel Doc 2000 Gel Documentation System: Bio-Rad Laboratories GmbH, München,  
Deutschland

MicroAmp Optical Tubes und Caps: Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland

PCR Softstrips 0,2 ml: Biozym Diagnostik GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland

Pipetten: Eppendorf, Hamburg, Deutschland

Quarzglasküvetten: Hellma GmbH & Co. KG, Müllheim, Deutschland

Spektrophotometer: SmartSpec 3000, Bio-Rad Laboratories GmbH, München,  
Deutschland

Thermocycler: DNA Thermal Cycler und ABI Prism 7700 Sequence Detection System, Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland und RoboCycler Gradient 96, Stratagene, Amsterdam, Niederlande

Trockenschrank: Ehret GmbH & Co. KG, Emmendingen, Deutschland

USF Reinstwassersystem: PURELAB Plus, USF Deutschland GmbH, Ransbach-Baumbach, Deutschland

Vortex-Genie 2: Scientific Industries, Bohemia, New York, USA

Wasserbad: Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach, Deutschland

Zentrifugen: Centrifuge 5415 D und 5810 R, Eppendorf, Hamburg, Deutschland

15-ml Zentrifugenröhrchen: Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland

### **2.4.3 Puffer und Gele**

TRIS-ACETAT-EDTA-PUFFER (TAE)

242 g Tris Base, 37,2 g Na<sub>2</sub>EDTA x 2 H<sub>2</sub>O und 57,1 ml konzentrierte Essigsäure in 1 L aqua bidest gelöst, pH 8,5 (Endkonzentration 50 x), zum Gebrauch 1:50 mit aqua bidest verdünnt (Endkonzentration 1 x).

ETHIDIUMBROMID-STAMMLÖSUNG

10 mg (1 Tablette) in 1 ml aqua ad iniectabilia gelöst, zum Gebrauch 1:10 mit aqua ad iniectabilia verdünnt (Endkonzentration 1 mg/ml)

AGAROSEGELE

1%-IGES GEL

1 g Agarose (Peq GOLD Universal-Agarose) in 100 ml 1 xTAE durch Aufkochen in der Mikrowelle gelöst, Zugabe von 10 µl Ethidiumbromidlösung je 100 ml.

3%-IGES SMALL-DNA GEL

3 g Agarose (Small-DNA-Agarose) werden langsam unter heftigem Rühren in 100 ml 1 xTAE resuspendiert. Nachfolgend wird die Agarose durch mehrmaliges Aufkochen in der Mikrowelle gelöst, Zugabe von 10 µl Ethidiumbromidlösung je 100 ml.

PROBENAUFTRAGSPUFFER

50 mg Bromphenolblau, 25 mg Xylencyanol und 37,8 g (30%) Glycerin in 100 ml aqua bidest gelöst und steril filtriert (Endkonzentration 6 x).

---

## **2.5 Statistik**

Alle erhobenen Daten wurden anhand standardisierter Fragebögen erhoben und in eine selbst erstellte Datenbank (Filemaker v. 5.0, Filemaker Inc) eingegeben. Die statistischen Berechnungen wurden mithilfe der Programme StatView (v.5.0, SAS-Institute) und GraphPad-Prism (v. 4.00, GraphPad Software Inc). Die desriptive Statistik normal verteilter Messgrößen erfolgte durch t-Test oder ANOVA. Die Analyse von nicht-normal verteilten Variablen erfolgte durch nicht-parametrische Statistikverfahren (Mann-Whithney, Wilcoxon sign rank Test). Häufigkeitsunterschiede kategorischer Variablen wurden mithilfe von Kontingenztests ( $\chi^2$ -Tests oder Fischer's exakter Test) analysiert. Die Abschätzung von Vertrauensintervallen kategorischer Variablen erfolgte mithilfe der Funktionen von SISA (simple statistics online, URL: <http://home.clara.net/sisa/index.htm>).

Die graphische Darstellung erfolgte v.a. durch „Box-and-Whisker-Plots“, die die zehnte, fünfundzwanzigste, fünfzigste, fünfundsiebzigste und neunzigste Perzentile der Messwertverteilung darstellen.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Patienteneinschluss**

Im Rahmen der Studie wurden 232 Patienten mit einer Indikation zur Metoprolol-Therapie gescreent. Alle PM wurden in die Untersuchung einbezogen, während von den Non-PM lediglich 1/3 der gescreenten Patienten eingeschlossen wurden, um den Aufwand der Studie zu minimieren, ohne wesentlich an statistischer Kraft zu verlieren. Letztendlich wurden 17 PM und 71 Non-PM in die Studie eingeschlossen. Dies entspricht 7,3% bzw. 30,6% der gescreenten Patienten. Von den Non-PM wurden also 33,0% durch Randomisierung in die Studie eingeschlossen. Eine Übersicht über die ein- und ausgeschlossenen Patienten zeigt Abbildung 1 (Seite 8). Alle Patienten durchliefen die Untersuchungen M1 (1-3 Tage vor Therapiebeginn) bis M4 (14 Tage nach Therapiebeginn). Bei 9 Patienten wurde der fünfte Untersuchungszeitpunkt M5 nicht erreicht, so dass 79 der 88 Patienten alle 5 Untersuchungstermine wie vorgesehen durchliefen. Ein Patient verstarb an progredienter Herzinsuffizienz und ein weiterer Patient durch ein Pankreas-Karzinom, das bei Studieneinschluss noch unbekannt war. Aus unbekanntem Gründen erschienen 5 Patienten nicht zur Untersuchung M5. Aufgrund von UAW unter der Metoprololtherapie wurden zwei Patienten von ihrem Arzt auf Bisoprolol umgestellt.

#### **3.2 Patientencharakteristika**

Im Mittel waren die eingeschlossenen Patienten 58,1 Jahre alt und häufiger männlich (n=49; 56%). Männliche Patienten waren in der Gruppe der PM häufiger als in der Gruppe der Non-PM. Allerdings erreichte der Häufigkeitsunterschied nicht das Signifikanzniveau. Weitere Details zu den biometrischen Grundcharakteristika der Patienten können der Tabelle 14 entnommen werden.

	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
<b>Biometrische Daten</b>				
Alter (Jahre)	58,1±15,8	57,9±16,0	59,2 ±15,4	0,75
Größe (cm)	172±9	172±9,3	175±9	0,21
Gewicht (kg)	87,2±18,5	87,4±19,7	89±12,2	0,34
Geschlecht männlich n(%)	49 (56)	36 (51)	13 (77)	0,06
<b>Laborwerte</b>				
Serumkreatinin (mg/dl)	0,97±0,19	0,96±0,19	1,04±0,15	0,89
Natrium (mmol/l)	140,3±3,4	140,3±3,5	140,3±2,7	0,99
Kalium (mmol/l)	4,54±0,73	4,57±0,65	4,42±1,03	0,47
<b>Blutdruck</b>				
Systolisch (mm Hg)	143±20	144±20	140±19	0,52
Diastolisch (mm Hg)	87±13	86±14	90±9	0,35
Pulsfrequenz (1/min)	75±11	75±11	76±11	0,56
<b>EKG-Parameter</b>				
PQ (ms)	166±28	166±28	166±28	0,99
QRS (ms)	100 (21)	100 (22)	100 (17,5)	0,93 <sup>MW</sup>
QT (ms)	394 (36)	392 (27)	410 (36)	0,13 <sup>MW</sup>
QTc RAS (ms)*	421±27	419±26	427± 30	0,24
RR-Intervall (s)	0,83±0,13	0,83±0,12	0,84±0,17	0,71

**Tabelle 14:** Charakteristika der Patienten bei Studieneinschluss.

Angegeben sind Mittelwert±Standardabweichung, Median (IQR) bzw. Anzahl (%).

\*QTc RAS: Korrigierte QT-Zeit (R-rate, A-age, S-sex nach (Pfeufer et al. 2005)).

p-Werte: Fisher's-Exakt-Test für kategoriale Variablen; t-Test für normal verteilte oder Mann-Whitney-Test (<sup>MW</sup>) für nicht-normal verteilte Variablen.

### 3.3 Behandlungsindikation

Die weitaus überwiegende Indikation zur Therapie mit Metoprolol stellte arterielle Hypertonie dar, die bei 95% der Patienten vorlag. Die Indikationen chronische Herzinsuffizienz, Koronare Herzerkrankung und Tachyarrhythmia absoluta stellten bei 15%, 17% bzw. 18% der Patienten eine Indikation zur Therapie mit Metoprolol dar. Statistisch signifikante Unterschiede in der Häufigkeit von Behandlungsindikationen zwischen PM und Non-PM bestanden nicht. Die Details zu den Behandlungsindikationen sind in Tabelle 15 angegeben.

Indikation	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
Arterieller Hypertonus	84 (95)	67 (94)	17 (100)	0,99
Herzinsuffizienz	15 (17,0)	14 (19,7)	1 (5,9)	0,28
NYHA Stadium 1	2 (13,3)	2 (14,3)	0 (0)	0,25 <sup>MW</sup>
NYHA Stadium 2	7 (46,7)	7 (50)	0 (0)	
NYHA Stadium 3	6 (40)	5 (35,7)	1 (100)	
Koronare Herzerkrankung	17 (19,5)	12 (17)	5 (29)	0,31
Tachyarrhythmia absoluta	18 (20)	14 (19)	4 (23)	0,74
intermittierend	8 (44)	6 (43)	2 (50)	0,99
permanent	10 (55)	8 (57)	2 (50)	

**Tabelle 15:** Indikationen zur Metoprolol-Therapie, Mehrfachnennungen sind möglich.  
p-Werte: Fisher-Test für kategoriale Variablen oder Mann-Whitney-Test (MW).

### 3.4 Klinische Grundcharakteristika

Unterschiede zwischen PM und Non-PM in den Ausgangsvariablen Blutdruck, Pulsfrequenz, systolischer und diastolischer Blutdruck sowie den analysierten Zeitparametern im EKG bestanden nicht. Diese klinischen Grundcharakteristika können ebenfalls der Tabelle 14 entnommen werden.

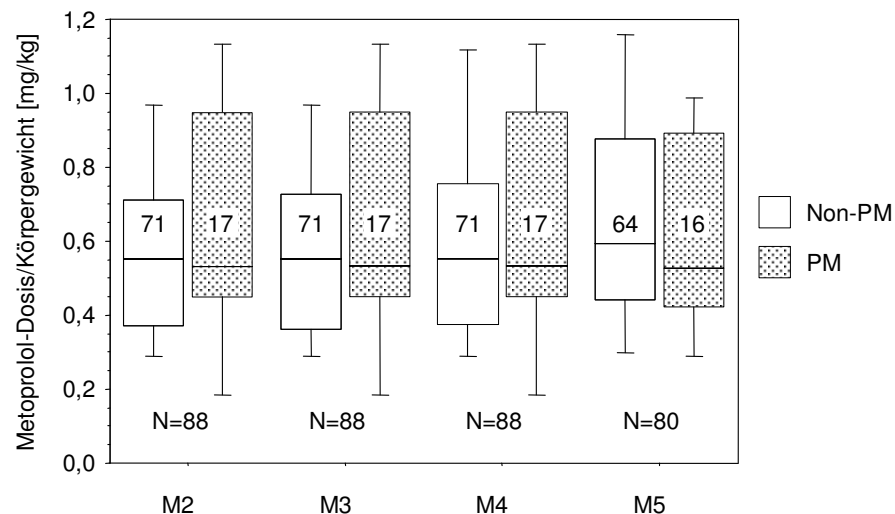
### 3.5 Metoprolol-Therapie

Die Behandlung wurde mit Metoprolol-Zok<sup>®</sup>, in der Regel mit einer Tagesdosis von 47,5 mg/d begonnen. Im Rahmen der Studie war ausschließlich die Verwendung einer Zubereitung mit einer Freisetzungskinetik nullter Ordnung zugelassen (Metoprolol ZOK<sup>®</sup>). Im Mittel ergab sich am Anfang der Therapie eine gewichtsbezogene Dosis von 0,59 mg/kg Körpergewicht. Diese Dosierung wurde von den behandelnden Ärzten im Verlauf der Therapie kaum gesteigert (vergleiche Abbildung 2 und Tabelle 16). Bei einigen Patienten, die noch die Untersuchung M5 (3 Monate nach Therapiebeginn) erreichten, wurde eine Steigerung der Metoprololdosis beobachtet. Diese Dosissteigerung wurde ausschließlich bei Non-PM nach der Untersuchung M4 vorgenommen. In dieser Subgruppe betrug die Dosissteigerung 0,08 mg/kg KG

(Tabelle 16). Bei PM wurde im Studienzeitraum keine Erhöhung der Dosis vorgenommen.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	0,59±0,28	0,58±0,27	0,64±0,33	0,41
M3	0,59±0,28	0,58±0,33	0,64±0,33	0,46
M4	0,61±0,30	0,60±0,29	0,62±0,29	0,61
M5	0,67±0,32	0,68±0,32	0,62±0,29	0,48

**Tabelle 16:** Mittelwert ± Standardabweichung der Metoprololdosis pro kg Körpergewicht [mg/kg] zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.  
ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,78 (Genotyp); p=0,55 (Zeit); Interaktion p=0,055).



**Abbildung 2:** Gewichtsbezogene Dosierung von Metoprolol zu den Untersuchungszeitpunkten M2 bis M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen bestand ein signifikanter Dosierungsunterschied zwischen PM und Non-PM. Die *Box-and-Whisker-Plots* zeigen von oben nach unten: die 90te, 75te, 50te, 25te und 10te Perzentile der Körpergewichtsnormalisierten Metoprololdosis.

### 3.6 Pharmakokinetische Ergebnisse

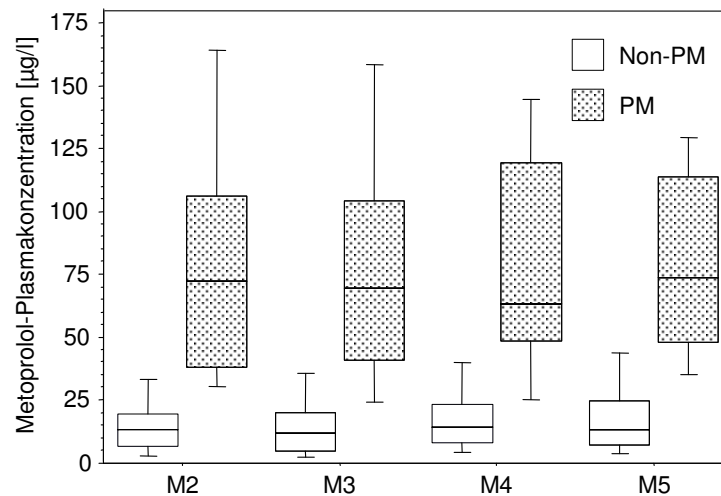
#### 3.6.1 Plasmakonzentrationen von Metoprolol

Die mittleren Plasmakonzentrationen von Metoprolol, die zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten in der Regel nach der morgendlichen Einnahme gemessen wurden, können der Tabelle 17 entnommen werden. Bei der Erstuntersuchung M1 (1-3

Tage vor Beginn der Metoprolol-Therapie) wurde ebenfalls die Metoprolol-Plasmakonzentration bestimmt, um sicher zu stellen, dass keiner der Patienten bereits eine Therapie mit Metoprolol begonnen hatte. Bei den eingeschlossenen Patienten konnten am Untersuchungszeitpunkt M1 kein Metoprolol nachgewiesen werden. Unter laufender Metoprololtherapie waren die Metoprolol-Plasmakonzentrationen der PM um ein Vielfaches höher als die der Non-PM (Tabelle 17 und Abbildung 3).

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	16,0 (25,6)	13,3 (13,0)	72,3 (68,2)	< 0,0001
M3	15,6 (29,13)	12,0 (15,2)	69,4 (63,4)	< 0,0001
M4	19,2 (24,5)	14,5 (15,3)	63,4 (70,8)	< 0,0001
M5	17,9 (35,0)	13,1 (18,0)	73,9 (65,6)	< 0,0001

**Tabelle 17:** Median und (IQR) der Metoprolol-Plasmakonzentrationen [ $\mu\text{g/l}$ ] zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. p- Werte: Mann-Whitney-Test (MW).



**Abbildung 3:** Metoprolol-Plasmakonzentration [ $\mu\text{g/l}$ ] zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. Zu allen Zeitpunkten bestand ein hochsignifikanter Konzentrationsunterschied zwischen PM und Non-PM.

### 3.6.2 Plasmakonzentrationen von $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol

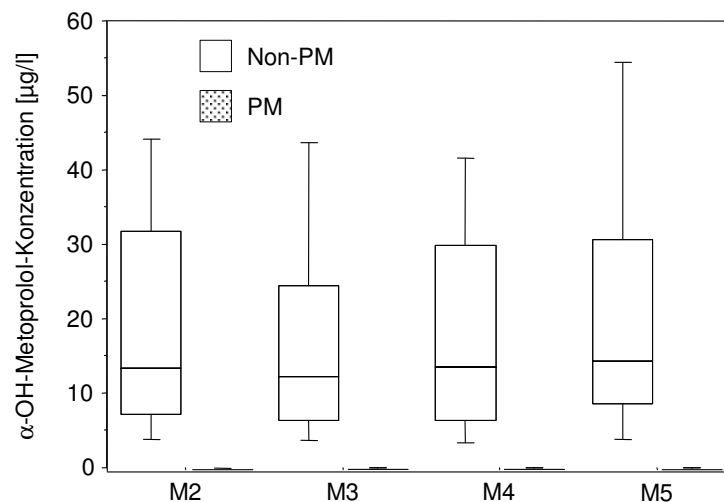
Die Hydroxylierung von Metoprolol zu  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol wird ausschließlich durch CYP2D6 katalysiert. Zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 wurden die  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol-Konzentrationen [ $\mu\text{g/l}$ ] aller eingeschlossenen Patienten bestimmt. Tabelle 18 zeigt die mittlere  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol-Konzentration zu den Untersuchungen M0-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.



Bei den Non-PM wurde eine geringgradige, nichtsignifikante Erhöhung der  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprololkonzentration zum Untersuchungszeitpunkt M5 beobachtet, die vermutlich auf die Dosissteigerung des Metoprolols nach dem Zeitpunkt M4 zurückzuführen ist (Tabelle 16, Seite 27). Erwartungsgemäß konnte  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol im Plasma der PM zu keinem Untersuchungszeitpunkt nachgewiesen werden.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	0	0	0	
M2	10 (18,3)	13,4 (24,6)	0 (0)	< 0,0001
M3	8,9 (16,5)	12,2 (18,1)	0 (0)	< 0,0001
M4	10,3 (18,1)	13,45 (23,4)	0 (0)	< 0,0001
M5	10,7 (21,9)	14,3 (22,2)	0 (0)	< 0,0001

**Tabelle 18:** Median und (Interquartilen-Abstand; *IQR= interquartile range*) der  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol-Konzentration [ $\mu\text{g/l}$ ] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. Zu keinem Zeitpunkt konnte bei den CYP2D6-PM  $\alpha$ -OH Metoprolol oberhalb der Nachweisgrenze gefunden werden.



**Abbildung 4** Graphische Darstellung der  $\alpha$ -Hydroxy-Metoprolol-Konzentration [ $\mu\text{g/l}$ ] zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

### 3.7 Klinische Effekte der Metoprolol-Gabe

#### 3.7.1 Effekte auf die Herzfrequenz im EKG

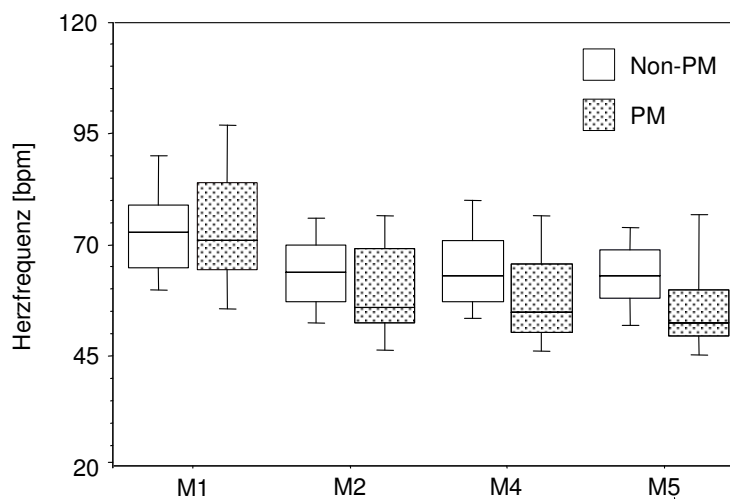
Bei beiden Patientengruppen (Non-PM und PM) wurde bei der ersten Untersuchung M1 im Mittel eine Herzfrequenz von ca. 74 bpm festgestellt. Die Höhe der Herzfrequenzen wurde bei den Untersuchungen einerseits dem EKG, andererseits der

manuellen Pulsmessung entnommen. Bereits am Untersuchungszeitpunkt M2 (3-5 Tage nach Metoprolol-Einnahme) konnte in beiden Patientengruppen eine Frequenzreduktion beobachtet werden. Im Mittel über den gesamten Untersuchungszeitraum zeigte sich eine Minderung der Frequenz um 10 bpm bei Non-PM und um 14 bpm bei PM. Bei der Abschlussuntersuchung M5 konnte im Mittel eine Frequenzminderung um 15 bpm bei PM ermittelt werden. Dagegen war eine weniger starke Senkung der Frequenz bei Non-PM zu erkennen. In dieser Untergruppe zeigte sich nur eine Reduktion der Frequenz um im Mittel 9 bpm.

Diese Ergebnisse sind in Tabelle 19 sowie der Abbildung 5 dargestellt. Die Frequenzsenkungen als Differenzwerte zur Ausgangsfrequenz sind in Tabelle 20 und Abbildung 6 gezeigt.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	74±12	74±11	74±15	0,99
M2	64±10	64±10	60±11	0,10
M4	64±11	65±11	59±12	0,039
M5	62±10	63±9	57±12	0,026

**Tabelle 19:** Mittelwert und Standardabweichung der Herzfrequenz [bpm] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.  
p-Werte: t-Test.



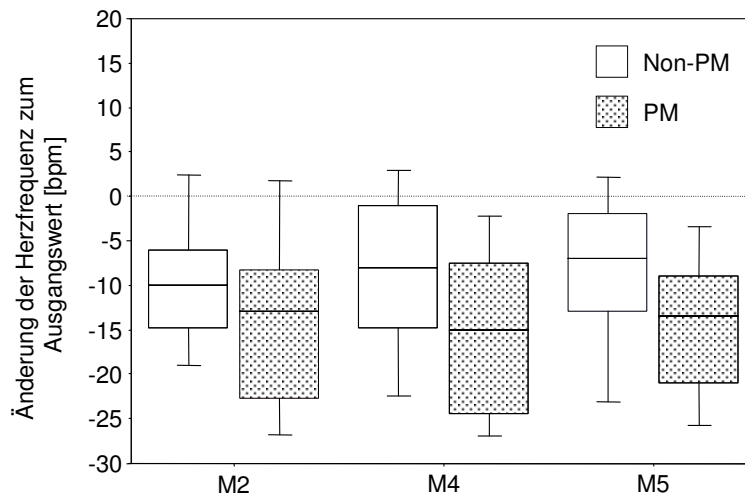
**Abbildung 5:** Herzfrequenz zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	-10±9	-9±9	-14±10	0,072
M4	-10±10	-9±10	-15±9	0,021
M5	-10±10	-9±10	-15±8	0,030

**Tabelle 20:** Differenz der Herzfrequenz zum Ausgangswert (Mittelwert±Standardabweichung) an den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

p-Werte: t-Test.

ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,031 (Genotyp); p=0,81 (Zeit); Interaktion p=0,51).



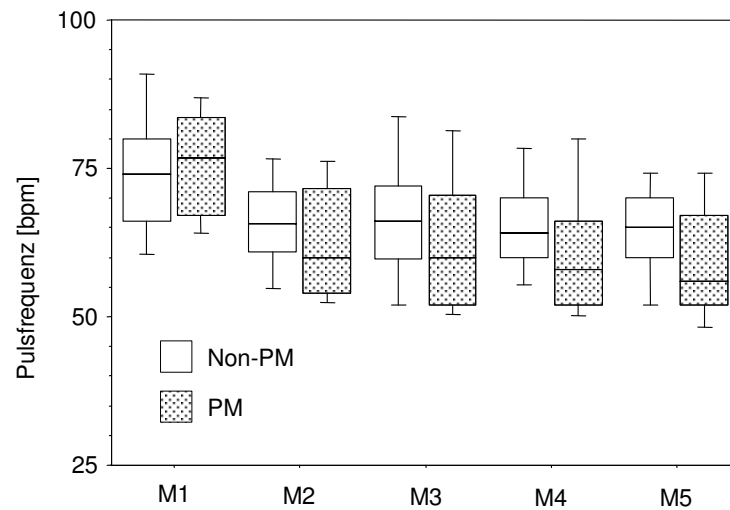
**Abbildung 6:** Änderung der Herzfrequenz (HF) zum Ausgangswert in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

### 3.7.2 Effekte auf den Puls

In beiden Patientengruppen wurde vor Therapiebeginn keine wesentliche Differenz der Pulsfrequenzen gemessen. Die Pulsfrequenz lag in beiden Gruppen (Non-PM, PM) im Mittel bei ~75-76 bpm. Am Ende der Studie (M5) konnte eine stärkere Senkung der Pulsfrequenz der PM beobachtet werden, nämlich im Mittel um 16 bpm. Dagegen wurde bei Non-PM eine Frequenzminderung am Untersuchungsende von nur 7 bpm dokumentiert (Tabelle 21, Abbildung 7). Zur Veranschaulichung der Ergebnisse sind in Tabelle 22 und Abbildung 8 die Differenzen der Pulsfrequenz zum Ausgangswert dargestellt.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	75±11	75±11	76±11	0,56
M2	65±9	66±9	62±10	0,090
M3	65±10	66±10	62±11	0,18
M4	65±10	66±10	61±11	0,060
M5	64±9	65±8	59±9	0,012

**Tabelle 21:** Pulsfrequenz in bpm (Mittelwert±Standardabweichung) zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.



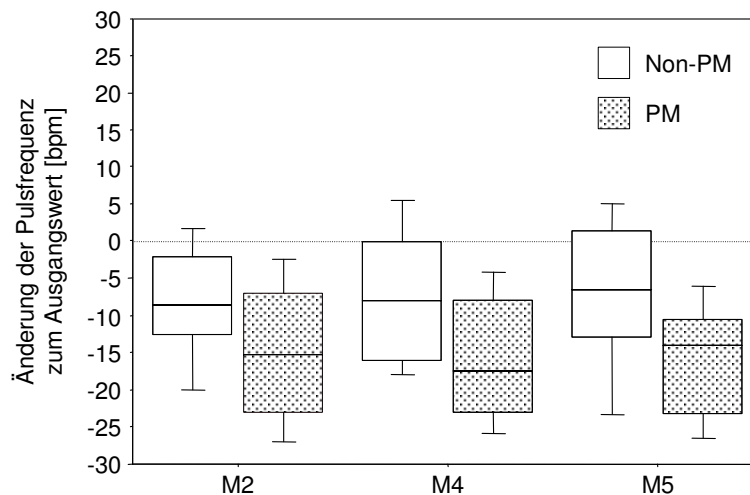
**Abbildung 7:** Boxplots der Pulsfrequenz [bpm] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	-9±10	-8±10	-14±10	0,024
M3	-9±10	-8±10	-13±8	0,076
M4	-10±10	-8±10	-16±9	0,0069
M5	-9±11	-7±11	-16±8	0,0077

**Tabelle 22:** Differenz der Pulsfrequenz zum Ausgangswert±Standardabweichung zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,027 (Genotyp); p=0,46 (Zeit); Interaktion p=0,40).

Zusammengefasst zeigten die beiden unabhängigen Untersuchungen zur Herzfrequenz (im EKG und klinischer Untersuchung) übereinstimmend einen hochsignifikanten Effekt des CYP2D6-Genotyps auf die Verminderung der Herzfrequenz durch Metoprolol.



**Abbildung 8:** Änderung der Pulsfrequenz [bpm] als Differenz zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

### 3.7.3 Effekte auf den arteriellen systolischen Blutdruck

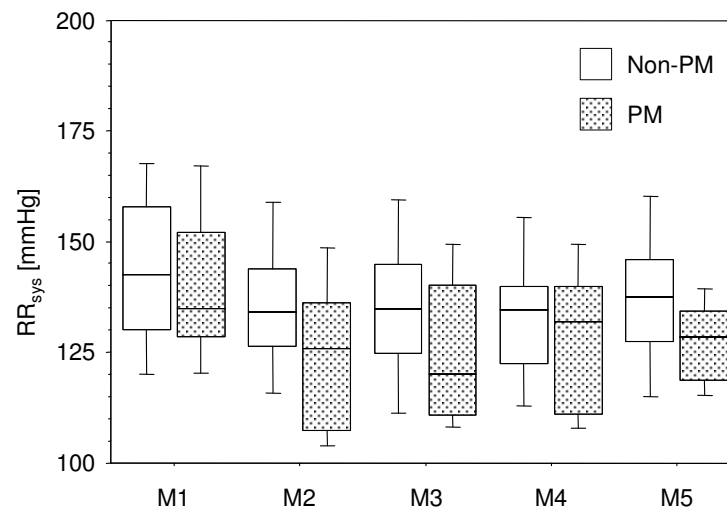
Der systolische Blutdruck der PM lag in der Untersuchung M1 im Mittel um 4 mm Hg (~140 mm Hg) unterhalb des Ausgangswertes der Non-PM (~144 mm Hg). Nach Beginn der Metoprololtherapie war der mittlere systolische Blutdruck in der Untersuchung M2 bei PM im Mittel um 16 mm Hg gesunken, bei Non-PM dagegen nur um 8 mm Hg (Tabelle 23). Der durchschnittliche systolische Blutdruck der Patienten

veränderte sich während der folgenden Untersuchungen nicht mehr wesentlich. Im Mittel konnte bei der Abschlussuntersuchung M5 eine Senkung des systolischen Blutdrucks bei PM um ~12 mm Hg dokumentiert werden, bei Non-PM jedoch nur eine Reduktion um ~7 mm Hg. Abbildung 9 zeigt den Verlauf des mittleren systolischen Blutdrucks von Untersuchung M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Tabelle 24 und Abbildung 10 fassen die Differenz des systolischen Blutdrucks zum Ausgangswert an M2-M5 zusammen.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	143±20	144±20	140±19	0,52
M2	133±19	136±19	123±18	0,011
M3	139±56	142±62	124±16	0,24
M4	133±20	133±20	129±19	0,43
M5	135±16	137±16	128±10	0,034

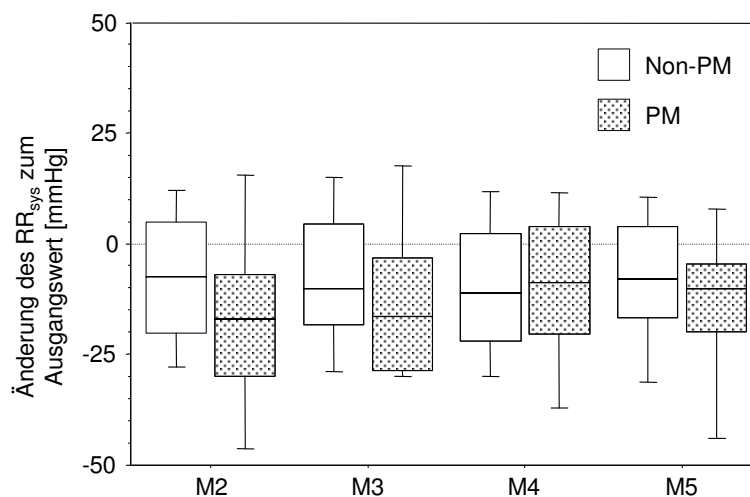
**Tabelle 23:** Systolischer Blutdruck (Mittelwert±Standardabweichung) in mm Hg zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. p-Werte: t-Test.



**Abbildung 9:** Systolischer Blutdruck zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	-9±19	-8±18	-16±22	0,11
M3	-4±17	-2±16	-15±22	0,42
M4	-10±17	-10±16	-9±18	0,86
M5	-8±16	-8±15	-11±20	0,46

**Tabelle 24:** Differenz des systolischen Blutdrucks±Standardabweichung in mm Hg zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.  
ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,36 (Genotyp); p=0,46 (Zeit); Interaktion p=0,14).



**Abbildung 10:** Änderung des systolischen Blutdrucks (RRs) zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Zusammengefasst zeigten sich bei Betrachtung der Mittel des systolischen Blutdrucks zwar zum Teil signifikant niedrigere Werte bei PM als bei Non-PM. Dieser Effekt kann jedoch nicht ohne weiteres auf eine signifikant stärkere individuelle Blutdrucksenkung zurückgeführt werden, wie sich nach der Analyse der Differenzen zum Ausgangswert zeigte (Abbildung 10).

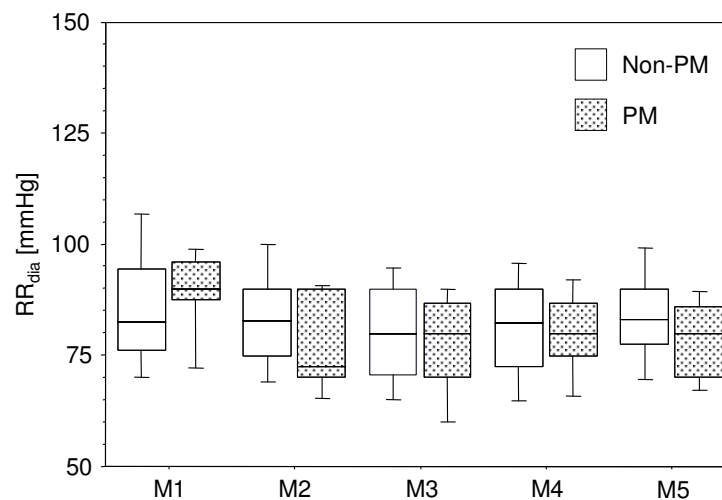
### 3.7.4 Effekte auf den diastolischen Blutdruck

Der Ausgangswert des diastolischen Blutdrucks ( $RR_{dia}$ ) der PM lag im Mittel bei 90 mm Hg (Tabelle 25). Der durchschnittliche diastolische Blutdruck der Non-PM lag in dieser Untersuchung unterhalb des Ausgangswertes der PM, nämlich im Mittel bei 86 mm Hg. Der mittlere diastolische Blutdruck der Non-PM sank im Laufe der Therapie um ~2 mm Hg, der der PM um ~10 mm Hg.

Tabelle 26 und Abbildung 12 geben eine Übersicht über die Differenz des diastolischen Blutdrucks zum Ausgangswert.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	87±13	86±14	90±9	0,35
M2	83±13	84±13	78±11	0,077
M3	80±12	81±12	78±12	0,32
M4	81±12	82±13	80±10	0,56
M5	83±11	84±11	78±9	0,067

**Tabelle 25:** Diastolischer Blutdruck (Mittelwert±Standardabweichung) in mm Hg zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.



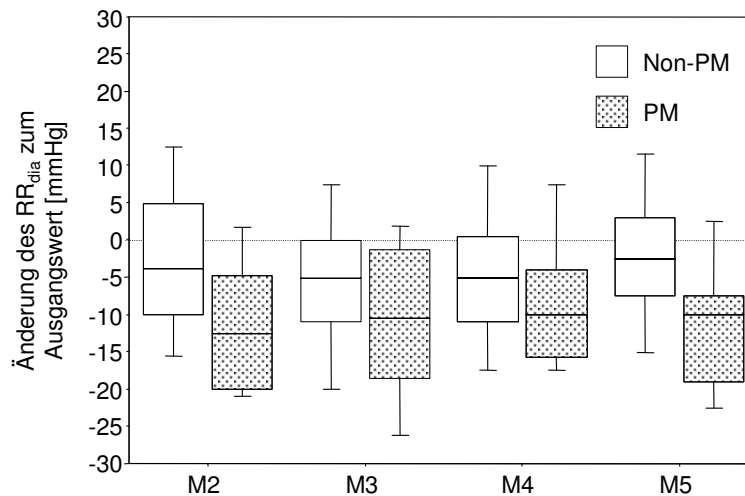
**Abbildung 11:** Diastolischer Blutdruck [mm Hg] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	-4±11	-2±11	-11±9	0,0026
M3	-6±10	-5±10	-11±11	0,048
M4	-5±11	-5±11	-9±9	0,17
M5	-4±11	-2±11	-10±12	0,0095

**Tabelle 26:** Differenz des diastolischen Blutdrucks (Mittelwert±Standardabweichung) zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,0066 (Genotyp); p=0,33 (Zeit); Interaktion p=0,20).



Zusammengefasst zeigte sich hinsichtlich des Blutdrucks eine signifikant stärkere Verminderung des diastolischen Blutdrucks, nicht aber des systolischen Blutdrucks bei PM im Vergleich zu Non-PM.



**Abbildung 12:** Änderung des diastolischen Blutdrucks zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

### 3.7.5 Arterieller Mitteldruck

Aufgrund des starken Beitrags des diastolischen Blutdrucks zum arteriellen Mitteldruck war auch die Senkung des arteriellen Mitteldrucks bei PM stärker ausgeprägt als bei Non-PM (Tabelle 27).

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	-5,7	-4,0	-13,0	0,008
M3	-7,5	-6,4	-12,2	0,069
M4	-6,9	-6,5	-8,9	0,44
M5	-5,2	-3,9	-10,6	0,04

**Tabelle 27:** Änderung des arteriellen Mitteldrucks zum Ausgangswert in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,032 (Genotyp); p=0,33 (Zeit); Interaktion p=0,11).

### 3.7.6 Effekte auf die PQ-Zeit

Tabelle 28 fasst die Dauer der mittleren PQ-Zeiten zu den Untersuchungszeitpunkten M1 bis M5 zusammen. Beide Patientengruppen begannen die Metoprololtherapie im Mittel mit der gleichen PQ-Zeit von 167 ms. Im Verlauf wurden unabhängig vom CYP2D6-Genotyp keine wesentlichen Effekte auf die PQ-Zeit beobachtet.

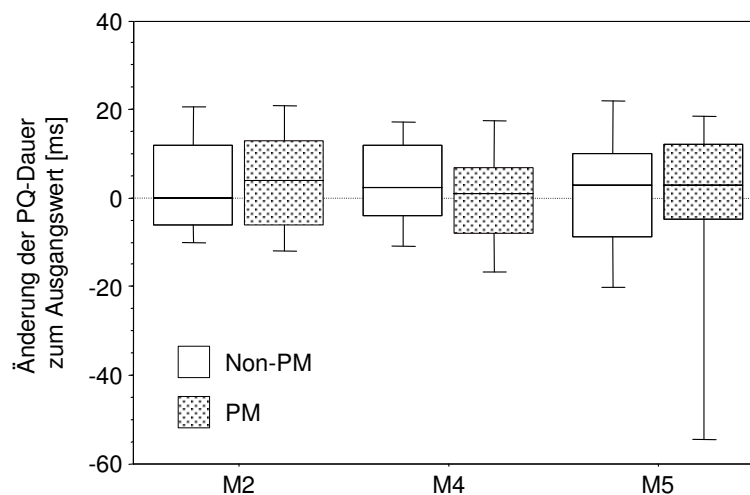
Tabelle 29 und Abbildung 13 zeigen eine Übersicht über die Differenz der PQ-Zeit zum Ausgangswert. Auch in dieser Analyse zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen PM und Non-PM.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	167±28	167±29	167±29	0,99
M2	169±30	169±32	169±23	0,99
M4	171±33	170±30	175±42	0,59
M5	169±35	167±29	175±53	0,47

**Tabelle 28:** Angegeben ist Mittelwert±Standardabweichung der PQ-Zeit [ms] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	2±16	2±16	3±18	0,93
M4	2±15	3±15	-1±16	0,46
M5	1±19	2±17	-3±26	0,38

**Tabelle 29:** Differenz der PQ-Zeit zum Ausgangswert±Standardabweichung zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,39 (Genotyp); p=0,69 (Zeit); Interaktion p=0,69).



**Abbildung 13:** Änderung der PQ-Zeit [ms] zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

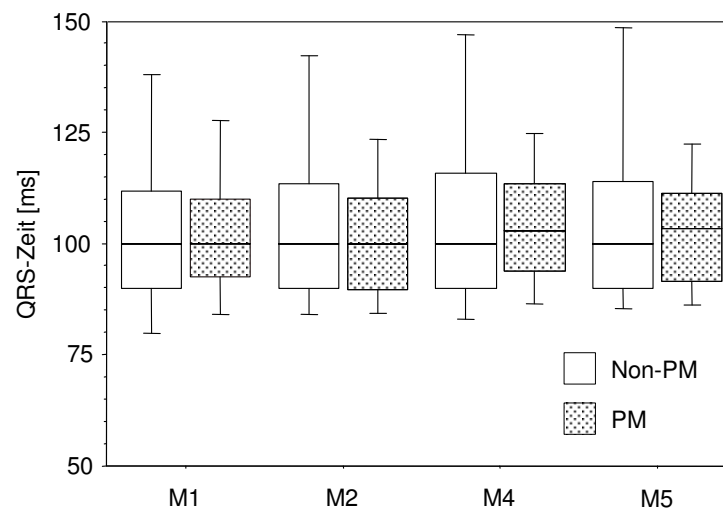
### 3.7.7 Effekte auf die QRS-Dauer

In Tabelle 30 sind die Mittelwerte der QRS-Zeiten aus den Untersuchungen M1-M5 aufgelistet und nach *CYP2D6*-Genotyp getrennt.

Bei der Erstuntersuchung M1 wurde für Non-PM und PM die gleiche durchschnittliche QRS-Zeit von 100 ms ermittelt. Auch dieser EKG-Parameter veränderte sich in der Gesamtgruppe unter der Therapie nicht wesentlich. Effekte des *CYP2D6*-Genotyps auf die Dauer des QRS-Komplexes konnten ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Tabelle 31 und Abbildung 15 stellen eine Übersicht über die Differenz der QRS-Dauer zum Ausgangswert dar.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	100 (21)	100 (22)	100 (17,5)	0,93
M2	100 (23)	100 (23,5)	100 (20,5)	0,96
M4	100 (26)	100 (26)	103 (19,5)	0,64
M5	101 (23)	100 (24)	103 (20)	0,77

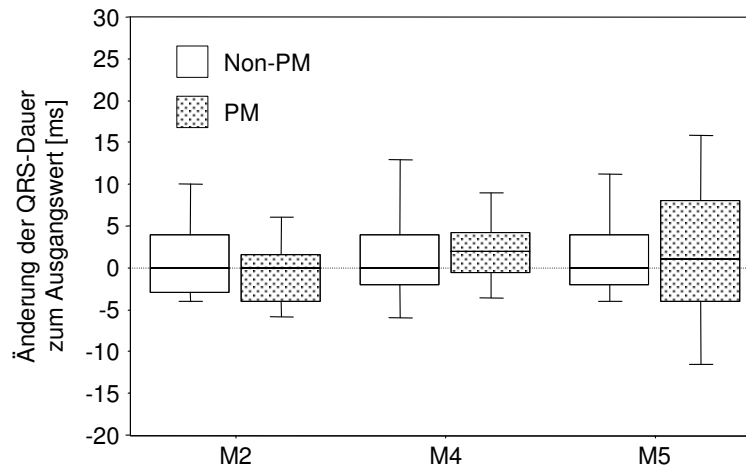
**Tabelle 30:** Angegeben ist Median (IQR) der QRS-Dauer [ms] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom *CYP2D6*-Genotyp.



**Abbildung 14:** QRS-Dauer [ms] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom *CYP2D6*-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	1±11	1±12	-0,3±5	0,60
M4	3±15	4±15	2±4	0,72
M5	4±14	4±15	2±10	0,64

**Tabelle 31:** Differenz der QRS-Dauer zum Ausgangswert±Standardabweichung zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.



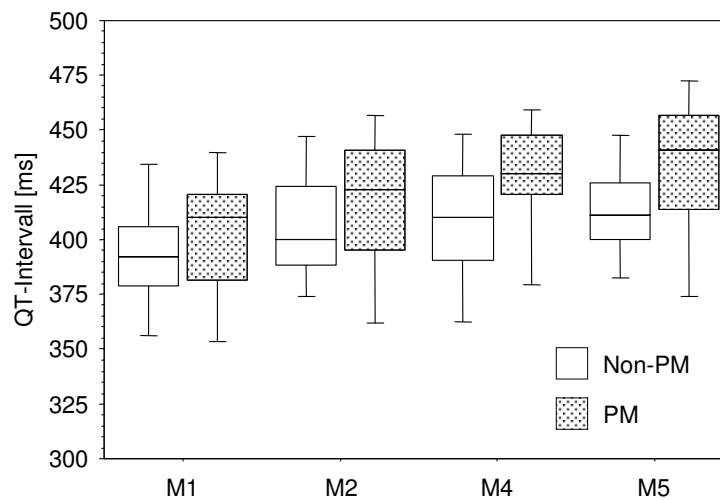
**Abbildung 15:** Änderung der QRS-Dauer [ms] zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

### 3.7.8 Effekte auf das unkorrigierte und das korrigierte QT-Intervall

Tabelle 32 und Abbildung 16 zeigen die ermittelten QT-Intervalle in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. Die QT-Intervalle der PM lagen zu Beginn der Untersuchung schon im Mittel bei 410 ms, dagegen betrugen die QT-Intervalle der Non-PM Patienten 392 ms in der Untersuchung M1. Insgesamt konnte eine Verlängerung der QT-Intervalle von 31 ms für die PM und 19 ms der Non-PM ermittelt werden. Zur Veranschaulichung der signifikanten Verlängerung der QT-Intervalle bei PM sind in Tabelle 33 und Abbildung 17 die Differenz der QT-Intervalle zum Ausgangswert in Abhängigkeit vom Genotyp berechnet und graphisch dargestellt worden.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M1	394 (36)	392 (27)	410 (36)	0,13
M2	404 (41)	400 (35,75)	423 (45,5)	0,96
M4	411 (39)	410 (38,5)	430 (27)	0,0089
M5	415 (34)	411 (26)	441 (42,5)	0,014

**Tabelle 32:** Median (IQR) der QT-Intervalle [ms] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

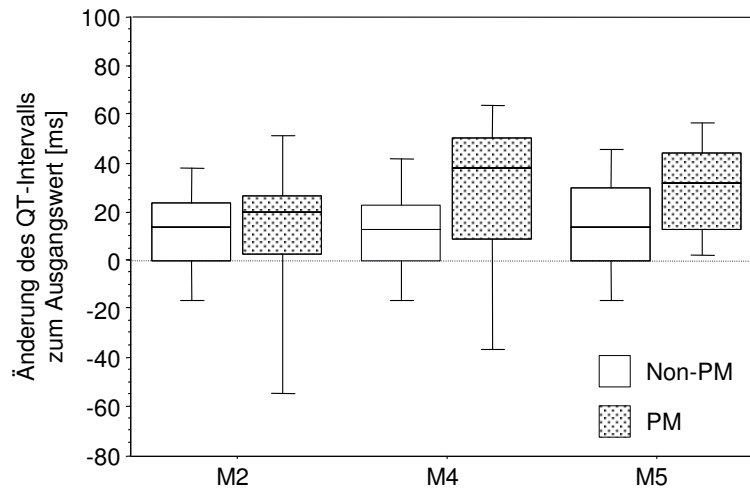


**Abbildung 16:** QT-Intervalle [ms] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Gesamtgruppe	Non-PM	PM	p-Wert
M2	13±28	13±26	11±34	0,74
M4	16±27	14±24	24±38	0,15
M5	19±26	16±26	30±24	0,048

**Tabelle 33:** Differenz des QT-Intervalls zum Ausgangswert±Standardabweichung zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

ANOVA für wiederholte Messungen: P=0,05 (Genotyp); p=0,035 (Zeit); Interaktion p=0,16).



**Abbildung 17:** Graphische Darstellung der Änderung der QT-Intervalle [ms] zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Die im EKG gemessenen QT-Intervalle [ms] der Patienten sind unter anderem abhängig von Herzfrequenz, Alter und Geschlecht. Um die verschiedenen QT-Intervalle im Verlauf sinnvoll vergleichen zu können, wurde eine Korrektur der QT-Intervalle anhand der QTc RAS-Formel (Pfeufer et al. 2005) berechnet. Die Korrektur erfolgte anhand der folgenden Formel:

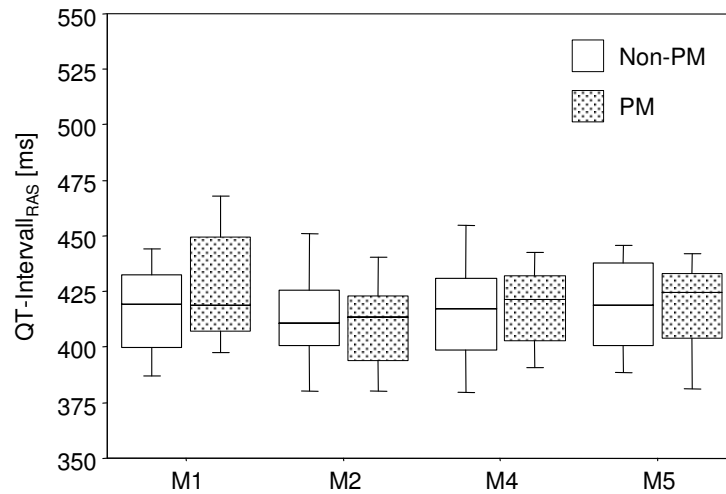
$$\text{Für Männer: } QTc \text{ RAS} = QT - [0,152 \times (RR - 1000 \text{ ms})] - [0,318 \text{ ms/Jahr} \times (\text{Alter} - 60)]$$

$$\text{Für Frauen: } QTc \text{ RAS} = QT - [0,154 \times (RR - 1000 \text{ ms})] - [0,207 \text{ ms/Jahr} \times (\text{Alter} - 60 \text{ Jahre})] - 4,58 \text{ ms}$$

Tabelle 34 zeigt die korrigierten QT-Intervalle zu den Untersuchungen M1 bis M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp. Die Differenz des QTc RAS-Intervalls zum Ausgangswert zeigen die Tabelle 35 und Abbildung 19.

Untersuchungszeitpunkt	Non-PM	PM	p-Wert
M1	419±26	428±30	0,24
M2	414±28	410±25	0,57
M4	415±30	420±21	0,57
M5	417±25	419±23	0,85

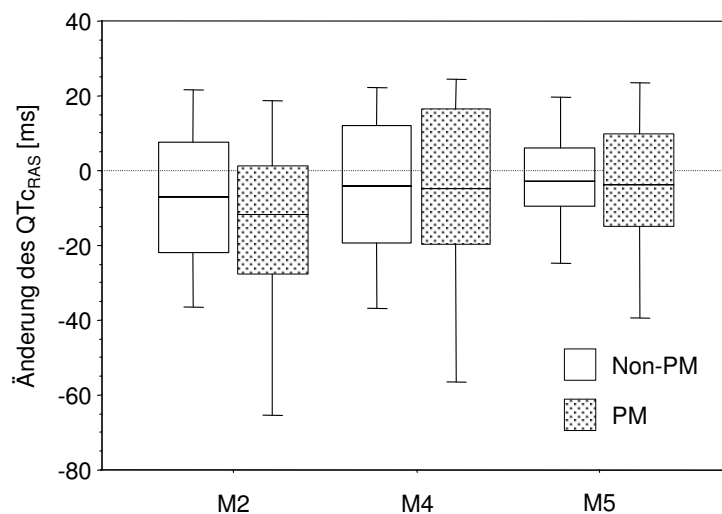
**Tabelle 34:** Dargestellt ist Mittelwert±Standardabweichung des QTc-RAS-Intervalls [ms] zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.



**Abbildung 18:** Korrektur der QT-Intervalle [ms] nach der QTc RAS-Formel zu den Untersuchungszeitpunkten M1-M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

Untersuchungszeitpunkt	Non-PM	PM	p-Wert
M2	-5,5±27,6	-18,2±32,0	0,10
M4	-4,0±27,3	-8,2±28,8	0,58
M5	-2,5±23,6	-4,6±21,5	0,74

**Tabelle 35:** Differenz des QTc RAS-Intervalls [ms] zum Ausgangswert±Standardabweichung zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4 und M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.



**Abbildung 19:** Differenz des QTc RAS-Intervalls [ms] zum Ausgangswert zu den Untersuchungszeitpunkten M2, M4, M5 in Abhängigkeit vom CYP2D6-Genotyp.

### 3.7.9 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Die beobachteten unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei PM und Non-PM fasst die Tabelle 36 zusammen.

Unerwünschte Arzneimittelwirkung	Non-PM (n=71)	PM (n=17)
Schwindel	5 (7%)	1 (6%)
Depression/Antriebslosigkeit	2 (3%)	1 (6%)
Übelkeit	2 (3%)	0 (0%)
Urtikaria	2 (3%)	0 (0%)
Kopfschmerzen	1 (1%)	1 (6%)
Dyspnoe	1 (1%)	1 (6%)
Diarrhoe	0 (0%)	1 (6%)
Gewichtszunahme	0 (0%)	1 (6%)
Impotenz	1 (1%)	0 (0%)
Schlaflosigkeit	1 (1%)	0 (0%)

**Tabelle 36:** Häufigkeit unerwünschter Arzneimittelwirkungen bei CYP2D6 Non-PM und PM, Mehrfachnennungen sind möglich.

Insgesamt klagten 4 PM (24%) und 10 Non-PM (14%) über mindestens eine UAW. Das relative Risiko von PM gegenüber Non-PM für das Auftreten zumindest einer UAW beträgt dementsprechend 1,7 (95% CI: 0.60 bis 4.69; p=0.55).



## **4 Diskussion**

Die Studie untersuchte prospektiv die Zusammenhänge zwischen dem *CYP2D6*-Genotyp und den Metoprolol-Plasmakonzentrationen einerseits und den klinischen Auswirkungen auf Herz-Kreislauf Parameter andererseits. Im Mittel waren die Patienten 58 Jahre alt und 56% aller Patienten männlich. Zu Beginn dieser Studie wurden die Patienten nach ihrem *CYP2D6* Genotyp in Poor-metabolizer (17 Patienten) und Non-poor-metabolizer (71 Patienten) klassifiziert. Nach der Basisuntersuchung vor Therapiebeginn (M1) wurden zu den Untersuchungszeitpunkten M2-M5 die klinischen Effekte und Metoprolol- Plasmakonzentrationen der Patienten bestimmt.

Häufigste Indikation für die Therapie mit Metoprolol war das Vorliegen eines arteriellen Hypertonus, der bei 95% der Patienten eine Indikation zur Behandlung darstellte. Bei 19,5% und 17% der Patienten lag eine Koronare Herzerkrankung bzw. eine Herzinsuffizienz als Indikation vor. Die Studie untersuchte u.a. die Änderung der Herzfrequenz und die Änderung des systolischen und diastolischen Blutdrucks in Abhängigkeit vom *CYP2D6*-Genotyp zum Ausgangswert. Darüber hinaus wurden die EKG-Parameter der Patienten zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten analysiert.

Im Median nahmen sowohl *CYP2D6*-PM als auch *CYP2D6*-Non-PM eine Metoprololdosis von 47,5 mg/Tag entsprechend einer gewichtsbezogenen Dosis von ca. 0,6 mg/kg KG ein. Während des Studienverlaufs wurden keine signifikanten Unterschiede in der gewichtsnormalisierten Dosierung von Metoprolol zwischen Non-PM und PM beobachtet. Wie erwartet, wiesen *CYP2D6*-PM vielfach höhere Konzentrationen von Metoprolol im Plasma auf als *CYP2D6*-Non-PM. Im Mittel betrug die Metoprololkonzentration bei PM  $82,5 \pm 47,4$  µg/l und bei Non-PM von  $17,7 \pm 15,1$  µg/l (p-Wert: <0,0001). Bei PM war also die Metoprololkonzentration im Mittel 4,6-fach so hoch wie bei Non-PM. Diese Werte änderten sich bis zum Ende der Studie kaum, da der Effekt des *CYP2D6*-Genotyps über die Zeit konstant blieb und auch keine wesentlichen Änderungen der Dosis vorgenommen wurden.

Die  $\alpha$ -OH-Metoprololkonzentration der Non-PM lag bei der Untersuchung M2 im Mittel bei 13,4 µg/l und änderte sich bis zur Untersuchung M5 kaum. Im Plasma von PM konnte im Gegensatz zu Non-PM erwartungsgemäß kein  $\alpha$ -OH-Metoprolol nachgewiesen werden (p-Wert: <0,0001).

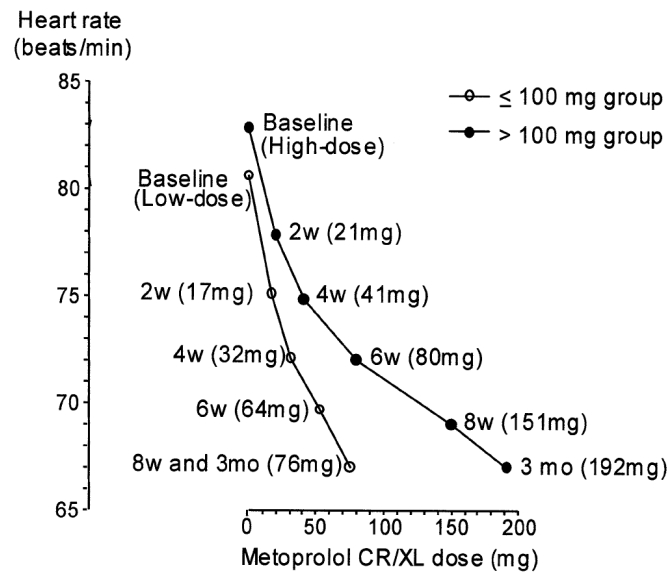
Diese Untersuchungsbefunde deckten sich gut mit den Ergebnissen einer vorangegangenen Studie der Arbeitsgruppe, die zeigte, dass unter einer Langzeitmedikation (mediane Therapiedauer von 12,6 Monaten) die Metoprolol-Plasmakonzentration der *CYP2D6*-PM um das 4,1-fache höher lag, als bei Non-PM (Rau et al. 2002). Auch in einigen anderen Studien waren nach Einmalgabe sowie nach Kurzzeittherapie mit Metoprolol vielfach höhere Plasmakonzentrationen der PM im Vergleich zu Non-PM nachweisbar (Freestone et al. 1982; Lennard et al. 1982; Lennard et al. 1986; Deroubaix et al. 1996).

Schwerpunkt dieser Arbeit war es zu überprüfen, ob sich die klinischen Effekte der Metoprololtherapie aufgrund der stark divergierenden Metoprolol-Konzentrationen zwischen PM und Non-PM unterscheiden.

#### **4.1 Veränderung der Herzfrequenz unter der Metoprololtherapie**

Bereits nach der Ersteinnahme von Metoprolol und auch im weiteren Studienverlauf konnte im EKG eine signifikant stärkere Herzfrequenzsenkung bei PM im Gegensatz zu Non-PM beobachtet werden. Die ANOVA-Analyse für gepaarte Messwerte ergab einen p-Wert von 0,031 für den Unterschied zwischen PM und Non-PM. Dieses Ergebnis stimmt gut mit dem ebenfalls signifikanten Unterschied zwischen PM und Non-PM in der Verminderung der Pulsfrequenz überein ( $p=0,023$ ). Die unterschiedlichen Metoprolol-Plasmakonzentrationen von Non-PM und PM schlugen sich also in einer unterschiedlichen Herzfrequenzsenkung der Patienten nieder.

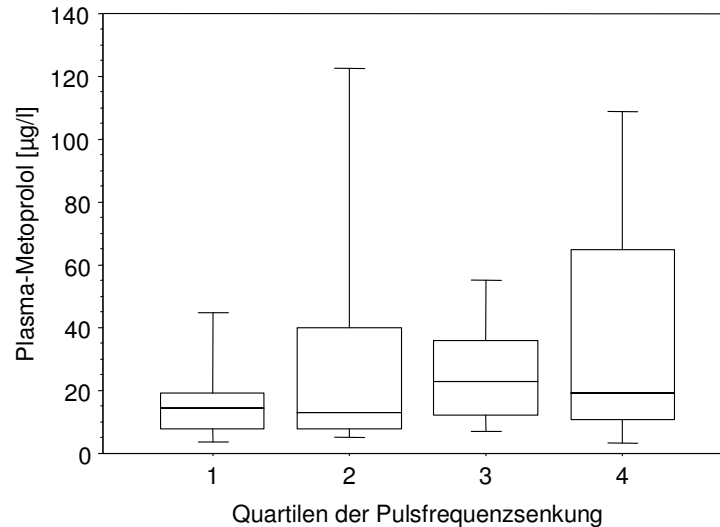
Die Befunde ähneln Beobachtungen im Rahmen der MERIT-HF Studie (MERIT-HFStudy-Group 1999; Wikstrand et al. 2002). Es wurde beobachtet, dass eine Subgruppe der Patienten mit Herzinsuffizienz im Rahmen der Therapie eine maximale Dosierung von lediglich 100 mg oder weniger erhalten hatte, obwohl eine Titration bis zu einer Tagesdosis von 200 mg vorgesehen war. Eine Post-Hoc Analyse ergab, dass die Patienten, bei denen keine Dosissteigerung über 100 mg/d hinaus vorgenommen worden war, eine signifikant stärkere Reduktion der Herzfrequenz aufwiesen als die Patienten, die bis in den Dosisbereich von mehr als 100 mg Tagesdosis aufdosiert worden waren. Der Grund für das Ausbleiben der Titration in den höheren Dosisbereich ist also in einer stärkeren Frequenzsenkung der Subgruppe mit niedriger Dosierung zu suchen. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 20 dargestellt.



**Abbildung 20:** Dargestellt ist die Metoprolol-Dosierung versus Änderung der Herzfrequenz in der MERIT-HF Studie nach (Wikstrand et al. 2002). Die Patienten wurden nach der maximal erreichten Metoprolol-Dosis in eine Hochdosisgruppe (>100 mg/d) und eine Niedrigdosisgruppe (≤ 100 mg/d) geteilt. Beide Gruppen erreichten trotz der deutlich unterschiedlichen Dosierung die gleiche Endfrequenz.

Werden die Daten interpoliert, so ergibt sich bei einer mittleren Dosierung von 47,5 mg, wie sie zum Zeitpunkt M4 in unserer Untersuchung vorlag, eine Frequenzsenkung von 0,21 bpm/mg in der Niedrigdosis-Gruppe und 0,18 bpm/mg in der Hochdosis-Gruppe. Damit unterscheidet sich das Ausmaß der Frequenzsenkung im vergleichbaren Dosierungsbereich von den in der vorliegenden Studie beobachteten Frequenzsenkungen, die bei PM im Mittel 0,37 bpm/mg und bei Non-PM im Mittel 0,20 bpm/mg betrug. Die mittlere Frequenzsenkung in der Gruppe der PM ging also über die in der Niedrigdosis-Gruppe beobachtete mittlere Frequenzsenkung hinaus. Es liegt nahe zu vermuten, dass zumindest ein Teil der Unterschiede zwischen der Niedrigdosis- und der Hochdosis-Gruppe auf Unterschiede der Metoprolol-Plasmakonzentration zurückgeführt werden könnten. Die in der Studie berichteten Plasmakonzentrationen (ermittelt 3 Monate nach Therapiebeginn) stützen diese Annahme nicht unmittelbar, da die medianen Metoprolol-Plasmakonzentrationen in der Niedrigdosis-Gruppe 95 nmol/l und 247 nmol/l in der Hochdosis-Gruppe betragen. Allerdings stehen diese Ergebnisse nur in einem scheinbaren Widerspruch zu den hier erhobenen Daten: Gruppiert man alle Patienten nach dem Ausmaß der Frequenzsenkung und analysiert die Metoprolol-Plasmakonzentrationen, so ergibt sich kein eindeutiger Zusammenhang (Abbildung 21). In anderen Worten: Zwar steigt mit ansteigender Metoprolol-Konzentration das Ausmaß der Frequenzsenkung an (siehe

unten, Abbildung 24), aber es gibt zahlreiche Patienten mit einer deutlichen Frequenzsenkung auch bei geringen Metoprolol-Konzentrationen, so dass bei Patienten mit deutlicher Frequenzsenkung nicht zwingend eine hohe Metoprolol-Konzentration im Plasma beobachtet wird.



**Abbildung 21:** Box-Plots der individuell gemittelten Metoprolol-Konzentrationen in Abhängigkeit von dem Ausmaß der Änderung der Pulsfrequenz. Die durchschnittliche Änderung der Pulsfrequenz wurde in Quartilen zusammengefasst.

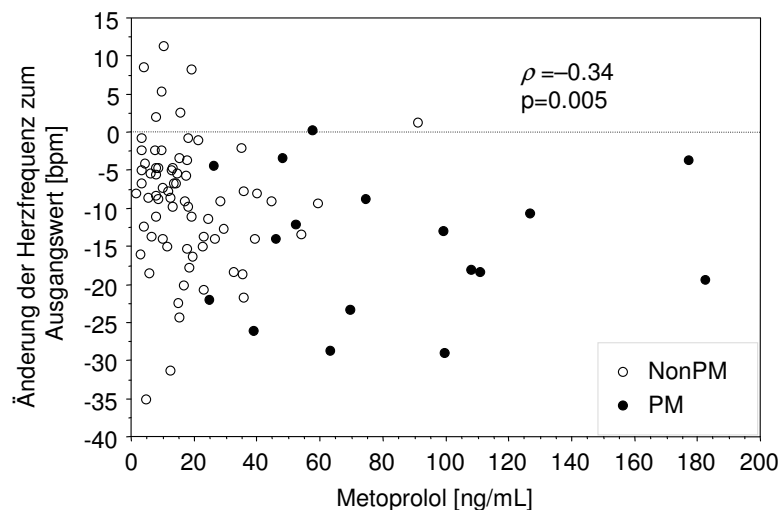
Es müssen also noch weitere wesentliche klinische oder genetische Einflussgrößen existieren, die zu der unterschiedlichen Frequenzsenkung in den beiden Titrationsgruppen der MERIT-HF Studie (MERIT-HFStudy-Group 1999) und der Variabilität der Frequenzsenkung in der vorliegenden Untersuchung beigetragen haben.

Auffallend in dieser Hinsicht war in der MERIT-HF-Gruppe (MERIT-HFStudy-Group 1999) die unterschiedliche Ausgangsfrequenz der Patienten (Abbildung 20). In der Niedrigdosis-Gruppe der MERIT-HF-Studie (MERIT-HFStudy-Group 1999) waren hochsignifikant mehr Patienten mit einer höhergradigen Herzinsuffizienz vorhanden ( $p < 0,001$ ). Diese Patienten hatten eine um 2,5 bpm niedrigere Ausgangsfrequenz, als die Patienten der Hochdosis-Gruppe. Mit fortschreitender Herzinsuffizienz kommt es zu einer zunehmenden neurohumoralen Aktivierung. Demnach wäre eine höhere Ruheherzfrequenz in der Patientengruppe zu erwarten, in der mehr Patienten mit einer fortgeschrittenen Herzinsuffizienz vorliegen.

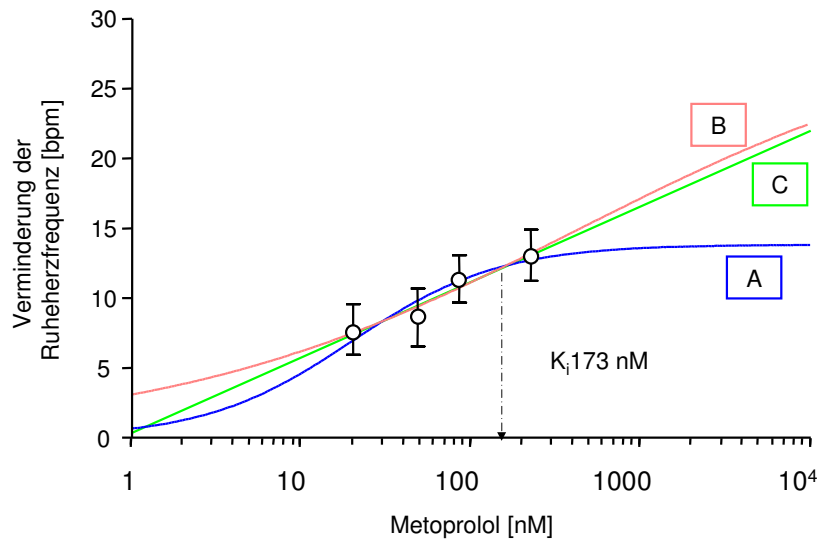
Hinsichtlich der erheblichen Variabilität im individuellen Ansprechen auf Beta-Blocker sind Einflüsse der adrenergen Signaltransduktion denkbar. Daher wurden in

nachfolgenden Untersuchungen an dem hier dargestellten Patientenkollektiv mehrere Polymorphismen in Genen analysiert, deren Genprodukte Bestandteile der adrenergen Signaltransduktion sind. Es wurden Polymorphismen im adrenergen  $\beta$ 1-Rezeptor (*ADRB1*), dem stimulatorischen G-Protein  $G_{\alpha_s}$  (*GNAS*) und dem präsynaptischen inhibitorischen adrenergen  $\alpha$ 2C-Rezeptor untersucht. Keiner der bislang untersuchten Polymorphismen konnte nennenswerte Anteile der interindividuellen Variabilität im Ausmaß der Verminderung der Herzfrequenz oder des Blutdrucks erklären.

Die Herzfrequenzreduktion unter Betablockern gilt als klarer von der Plasmakonzentration abhängig als die Reduktion des Blutdrucks. Allerdings ist auch dieser Effekt einer deutlichen interindividuellen Variabilität unterworfen und bislang ist die Frequenzsenkung nur unzureichend mathematisch modellierbar. In unserem Kollektiv ergibt sich eine stark streuende Punktwolke (Abbildung 22), die nur unzureichend von einer klassischen (sigmoidalen) Konzentrations-Wirkungsbeziehung beschrieben wird. Erst bei einer Gruppierung der Patienten zu Konzentrationsgruppen wird ein Konzentrations-Wirkungszusammenhang deutlicher. Ob der Zusammenhang besser durch ein log-lineares oder ein konventionelles  $E_{\max}$ -Modell beschrieben wird, lässt sich aufgrund der erheblichen Datenstreuung nicht sicher entscheiden.

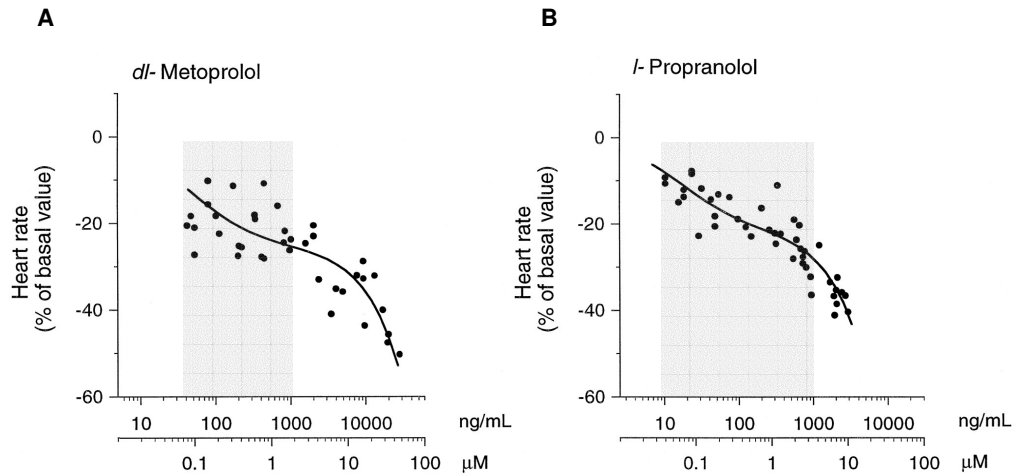


**Abbildung 22:** Zusammenhang zwischen der individuell gemittelten Herzfrequenzänderung und der individuellen mittleren Plasmakonzentration von Metoprolol. Es zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Frequenzminderung und der Metoprolol-Konzentration in der nicht-parametrischen Regressionsuntersuchung. Der Zusammenhang ist jedoch interindividuell deutlich verschieden, so dass er mathematisch schlecht modellierbar ist. Bei einer klassischen Konzentrationswirkungsbeziehung wäre in dieser Darstellung eine abfallende hyperbolische Funktion zu erwarten.



**Abbildung 23:** Trägt man den Median der Quartilen der Metoprolol-Konzentrationen gegen die Frequenzsenkung auf, so ergibt sich ein klarerer Zusammenhang zwischen der Plasma-Konzentration und Wirkung. Dem Modell A liegt eine konventionelle Konzentrations-Wirkungsbeziehung (Basaleffekt=0; Hill-Koeffizient 1) zugrunde. Das Modell B wurde unter der Annahme eines von 1 abweichenden Hill-Koeffizienten errechnet (Hill-Koeffizient: 0,35). Das Modell C stellt eine Log-Lineare Regression der Frequenzsenkung auf den  $\text{Log}_{10}$  der Metoprolol-Plasmakonzentration dar. Die Bestimmtheitsmaße ( $r^2$ ) der Modelle betragen A=0,88; B=0,94 und C=0,93. Der experimentell *in vitro* bestimmte  $K_i$ -Wert für Metoprolol wurde einer Arbeit der Gruppe von Kaumann entnommen (Joseph et al. 2004).

Analoge Befunde wurden auch in Tiermodellen zur Verminderung der Belastungstachykardie erhoben (Bryne et al. 1998). Im klinisch relevanten Konzentrationsbereich von Metoprolol im Plasma wird erstaunlicherweise auch hier eine Punktwolke beobachtet, die durch ein konventionelles Konzentrations-Wirkungsmodell nur sehr schlecht beschrieben wird (Abbildung 24). Demgegenüber umspielen die Punkte nach Gabe von Propranolol deutlich besser die Modellkurve einer sigmoidalen Konzentrations-Wirkungsbeziehung.



**Abbildung 24** Beziehung zwischen der Metoprolol-Plasmakonzentration (A)- bzw. der Propranolol-Plasmakonzentration (B) und der prozentualen Verminderung der belastungsinduzierten Herzfrequenz bei Ratten. Die Herzfrequenz-Werte wurden auf die basale Herzfrequenz bezogen. Im konventionellen Konzentrationsbereich (grau unterlegt) ergibt sich für Metoprolol eine Punktwolke, die nur schlecht durch eine sigmoidale Konzentrationswirkungsbeziehung beschrieben wird. Demgegenüber ist das Frequenzverhalten unter der Gabe von Propranolol klarer durch eine klassische Konzentrations-Wirkungskurve zu beschreiben. Modifiziert nach Brynne et al. 1998.

Die Frage, ob der ausgeprägte Effekt des *CYP2D6*-Polymorphismus auf die Pharmakokinetik und die Pharmakodynamik von Metoprolol klinisch relevant beeinflusst, wurde wiederholt untersucht. Die Ergebnisse sind widersprüchlich.

In einer vorangegangenen Untersuchung der Arbeitsgruppe wurde festgestellt, dass Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen unter Metoprolol häufiger PM waren als dies nach der Genotypverteilung der deutschen Bevölkerung zu erwarten wäre (Wuttke et al. 2002). Dabei waren symptomatische Bradykardien die häufigste unerwünschte Arzneimittelwirkung, die zu einem Studieneinschluss der Patienten führte. Diese UAW lag bei 78% der PM (7/9 Patienten) und bei 33% der Non-PM (5/15 Patienten) vor. Tendenziell wurde diese UAW also bei PM häufiger beobachtet (Fisher  $p=0.089$ ). Allerdings handelte es sich bei dieser Untersuchung um einen retrospektiven Ansatz mit den typischen inhärenten Problemen dieses Studiendesigns (Wuttke et al. 2002). In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich bei einigen Patienten in allen drei EKG-Analysen, die unter der Behandlung mit Metoprolol abgeleitet wurden (M2, M4 und M5), eine Herzfrequenz von weniger als 60 bpm. Bei PM wurde dies bei 59% der Patienten ( $n=10/17$ ) beobachtet. Demgegenüber wurde dieses Ausmaß der Herzfrequenzreduktion in der Gruppe der Non-PM nur bei 9% der Patienten beobachtet ( $n=6/71$ ). Somit war das Risiko, in allen drei EKG-Untersuchungen eine

Herzfrequenz von  $\leq 60$  bpm zu erlangen, bei PM 7-fach erhöht (95% CI: 2.9- bis 16.5-fach). Analoges gilt für die in der klinischen Untersuchung erhobene Pulsfrequenz.

Zwei weitere prospektive Arbeiten untersuchten ebenfalls den Zusammenhang zwischen klinischen Effekten von Metoprolol, dem *CYP2D6*-Genotyp und dem Auftreten von UAW. Beide Arbeiten kommen zu negativen Schlüssen hinsichtlich der klinischen Bedeutung von *CYP2D6* auf die Herzfrequenz der Patienten. Allerdings haben beide Untersuchungen lediglich 4 PM bei einer Gesamtgruppe von 121 Patienten (Fux et al. 2005) bzw. einer Gesamtgruppengröße von 50 Patienten (Zineh et al. 2004) eingeschlossen. Die Untersuchung von Fux erlaubte jede Applikationsform und Dosierung von Metoprolol, und der zeitliche Abstand zwischen Einnahme und Untersuchung war nicht standardisiert. Vor dem Hintergrund der erheblichen Variabilität der individuellen klinischen Effekte einer Behandlung mit Betablockern könnten eine unzureichende statistische Kraft der beiden Untersuchungen sowie die nicht ausreichende Standardisierung zur Variabilität der Ergebnisse beigetragen haben. Die Untersuchung der Gruppe von Johnson untersuchte darüber im Wesentlichen kategorische Variablen (Zineh et al. 2004). Die Häufigkeit von UAW in dieser Studie war mit 46% ausgesprochen hoch. Außerdem ist diese Studiengröße sicherlich nicht ausreichend, um nach Häufigkeitsunterschieden im Auftreten von dichotomen Merkmalen zu suchen.

In Übereinstimmung mit unseren Befunden zeigt eine andere Untersuchung an Patienten mit arteriellem Hypertonus eine Abhängigkeit der Frequenzminderung im Belastungs-EKG von der Metoprolol-Plasmakonzentration (Beitelshees et al. 2006). Allerdings wurde über den *CYP2D6*-Genotyp der Patienten in dieser Untersuchung nicht berichtet. Vor dem Hintergrund des deutlichen Einflusses des *CYP2D6*-Genotyps auf die Metoprolol-Konzentration ist jedoch ein Effekt des *CYP2D6*-Genotyps auf die Minderung der belastungsinduzierten Herzfrequenzzunahme sehr wahrscheinlich. Die Untersuchung verwendete unretardiertes Metoprolol-Tartrat, das in einer anfänglichen Dosierung von 2 x 100 mg/d eingesetzt wurde. Die Titration der Dosierung war auf 2 x 200 mg/d angesetzt. Im Mittel wurde eine Dosis von 120 mg/d erreicht.

Darüber hinaus liegt eine Untersuchung an *CYP2D6*-genotypisierten gesunden Probanden vor (Kirchheiner et al. 2004). Diese Untersuchung dokumentierte sowohl die Pharmakokinetik als auch die pharmakodynamischen Effekte nach Einmalgabe von 100 mg unretardiertem Metoprolol. In der Untersuchung wurden 12 UM, 13 EM und 4 PM untersucht. Dabei zeigte sich als Hauptbefund 6 h nach Metoprololeinnahme eine



stärke Frequenzreduktion im Belastungs-EKG bei PM als bei EM und UM. In der Ruheuntersuchung konnte ebenfalls ein entsprechender Effekt dokumentiert werden. Danach betrug die Frequenzsenkung zwei Stunden nach Metoprololgabe bei PM-Probanden in Ruhe 17 bpm (SD 15 bpm, n=4), bei EM 14 bpm (SD 12 bpm; n=13) und bei UM 12 bpm (SD 8 bpm; n=12). Der p-Wert wurde mit 0.03 angegeben. Zwischen UM und EM konnte in dieser Untersuchung kein Unterschied nachgewiesen werden. Die Veränderungen des Blutdrucks zum Ausgangswert unterschieden sich nicht in Abhängigkeit vom *CYP2D6*-Genotyp.

Im Unterschied zu den vorgenannten Untersuchungen an Patienten ist die hier vorliegende Studie eine Längsschnitt-Untersuchung mit einer Standardisierung sowohl der verwendeten Metoprolol-Formulierung als auch der Erfassungszeitpunkte, die sich über einen Zeitraum von 3 Monaten erstreckten. Durch das longitudinale Studiendesign sowie durch die große Anzahl von Patienten mit einem PM-Genotyp erreicht die vorliegende Untersuchung im Vergleich zu den anderen Untersuchungen zusätzliche statistische Kraft. Dies ist vor dem Hintergrund der erheblichen interindividuellen Variabilität der Betablocker-Effekte wesentlich, um Unterschiede zwischen den Genotypgruppen zu detektieren.

#### **4.2 EKG-Parameter**

Neben der Herzfrequenz wurden in der vorliegenden Untersuchung auch die Zeit-Parameter im Ruhe-EKG untersucht. Bei PM wurde eine signifikant stärkere Zunahme des unkorrigierten QT-Intervalls beobachtet ( $p=0,05$ ). Dieser Befund untermauert die Beobachtung eines stärkeren Effekts der Metoprolol-Therapie auf die Herzfrequenz bei PM. Der Unterschied in dem QT-Intervall zwischen PM und Non-PM war nach Normalisierung der QT-Intervalle nach der Bazett-Formel oder der RAS-Korrektur (Pfeufer et al. 2005) nicht mehr nachweisbar. Dementsprechend dürfte die unterschiedliche Verlängerung des QT-Intervalls bei PM und Non-PM im Wesentlichen auf die unterschiedlich ausgeprägte Verminderung der Herzfrequenz in Abhängigkeit vom *CYP2D6*-Genotyp zurückzuführen sein.

#### **4.3 Effekte auf den Blutdruck bei PM und Non-PM**

Der systolische und diastolische Blutdruck der Patienten wurde in allen Untersuchungen M1 (vor Metoprololeinnahme) bis M5 mit einer Blutdruckmanschette nach der Riva-Rocci Methode gemessen. Wie bereits bei den Effekten auf die

Herzfrequenz zeigten PM eine deutlich stärkere Senkung des diastolischen Blutdrucks als Non-PM. Auch bei dieser Analyse konnte bereits bei der Untersuchung M2 ein signifikanter Unterschied zwischen PM und Non-PM ermittelt werden. Die Änderung des diastolischen Blutdrucks zum Ausgangswert lag bei PM bereits bei  $-11 \pm 9$  mm Hg, bei Non-PM bei  $-2 \pm 11$  mm Hg ( $p$ -Wert: 0,0026). Dieser Unterschied blieb über den gesamten Studienzeitraum erhalten. Im individuellen Mittel über den Untersuchungszeitraum betrug die Senkung des diastolischen Blutdrucks bei PM  $-10,3 \pm 8,6$  mm Hg und bei Non-PM  $-3,6 \pm 9,2$  mm Hg. Somit wird der diastolische Blutdruck bei PM durchschnittlich um 6,7 mm Hg (95% CI: 11,9 bis 2,5 mm Hg) stärker gesenkt als bei Non-PM.

Dagegen erreichten die Unterschiede des systolischen Blutdrucks zwischen PM und Non-PM während des gesamten Studienverlaufs nicht das Signifikanzniveau. Bei PM war allerdings wiederum eine stärkere Änderung des systolischen Blutdrucks zum Ausgangswert zu beobachten, als bei Non-PM. Im Mittel betrug die Senkung über den Untersuchungszeitraum bei PM  $12,8 \pm 18,0$  mm Hg und bei Non-PM  $8,5 \pm 13,6$  mm Hg ( $p = 0,37$ ). Der systolische Blutdruck änderte sich bei PM unter der Therapie um  $-4,7$  mm Hg stärker als bei Non-PM (95% CI:  $-13,7$  bis  $5,0$  mm Hg).

Die bereits dargestellte Studie aus Tübingen und Stuttgart (Fux et al. 2005) untersuchte ebenfalls den Effekt auf den Blutdruck. Wie bereits für die Änderung der Herzfrequenz wurde auch für die Änderung des Blutdrucks kein Einfluss des *CYP2D6*-Genotyps festgestellt. Allerdings wurden in dieser Untersuchung – wie bereits weiter oben beschrieben – nur 4 PM in die Untersuchung eingeschlossen.

Zusammenfassend erreichten PM und Non-PM in der vorliegenden Untersuchung ein unterschiedliches Ausmaß der Blutdrucksenkung. Im Mittel betrug die systolische/diastolische Senkung zum Ausgangswert bei PM  $12,8/10,3$  mm Hg und bei Non-PM  $8,5/3,6$  mm Hg.

Wenn man diesen Unterschied in der Blutdrucksenkung in beiden Gruppen klinisch einzuordnen versucht, so stellen epidemiologische Untersuchungen übereinstimmend fest, dass ein Unterschied im diastolischen Blutdruck von 6 mm Hg mit einer Verminderung der Schlaganfallhäufigkeit von 37% und einer Verminderung der Koronaren Herzerkrankung von 32% assoziiert ist (MacMahon et al. 1989). Interventionsstudien zeigen bei einer Senkung von 6 mm Hg eine Verminderung der Schlaganfallhäufigkeit in einer sehr ähnlichen Größenordnung, wie sie in den

epidemiologischen Untersuchungen beobachtet worden sind. Demgegenüber scheinen die Effekte auf die Verminderung des KHK-Risikos durch eine antihypertensive Therapie geringer ausgeprägt zu sein (9-23%). Einschränkend muss hinzugefügt werden, dass die diesen Schätzungen zugrunde liegenden Interventionsstudien überwiegend mit Diuretika durchgeführt worden sind.

Die Situation für  $\beta$ -Blocker ist schwerer einzuschätzen, da die meisten Untersuchungen mit Atenolol durchgeführt worden sind, das in der ASCOT-BPLA-Studie einer Therapie mit Amlodipin unterlegen war und u.a. daher in die Kritik geraten ist (Dahlof et al. 2005; Poulter et al. 2005). Allerdings war das Ausmaß der Drucksenkung in beiden Studienarmen ungleich, so dass die Frage offen bleibt, ob die unterschiedliche Drucksenkung oder das Antihypertensivum für die Unterschiede in den klinischen Endpunkten der Studienarme verantwortlich war. Hinzu kommt, dass sich das hydrophile Atenolol in den klinischen Effekten von lipophilen  $\beta$ -Blockern, wie z.B. Metoprolol, zu unterscheiden scheint. So ist die Gabe von Metoprolol, nicht aber die Gabe von Atenolol, mit einer Verminderung des peripheren Widerstands verbunden. Dieser Unterschied wird v.a. auf die unterschiedliche ZNS-Gängigkeit beider  $\beta_1$ -präferentiell wirkenden Betablocker zurückgeführt (Aursnes et al. 2007).

Die von uns beobachteten Unterschiede in der Blutdrucksenkung zwischen PM und Non-PM sind anhaltend und in ihrem Ausmaß wahrscheinlich auch von prognostischer Bedeutung.

In einer weitergehenden Analyse des Kollektivs wurde nach dem Einfluss eines IM-Status auf die Kinetik und Pharmakodynamik von Metoprolol gesucht. Es fanden sich bei den acht durch Genotypisierung identifizierten IM Senkungen der Herzfrequenz und des diastolischen Blutdrucks, die zwischen der Senkung von EM und PM lagen. Eine Analyse der Effekte auf das Vorliegen eines Trends ergab, dass die Effekte von EM über IM nach PM zunehmen ( $p \leq 0.015$ ). Die Metoprololkonzentrationen im Plasma lagen ebenfalls zwischen denen von PM und EM.

#### **4.4 Unerwünschte Arzneimittelwirkungen unter der Metoprololtherapie**

Betablocker werden zu den Medikamenten mit einem relativ deutlichen Nebenwirkungsprofil gerechnet, was aber einer näheren Überprüfung nicht standhält. In der vorliegenden Untersuchung wurden die Patienten aktiv über das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen befragt.

Bei 6/71 Non-PM (9%) und 10/17 PM (59%) wurde bei einer mittleren Metoprolol-Dosis von 47,5 mg in allen unter der Behandlung abgeleiteten EKGs eine asymptotische Bradykardie (<60 bpm) festgestellt. Eine symptomatische Bradykardie wurde von den behandelnden Ärzten nicht berichtet. Bei 7 Non-PM (10%) und 2 PM (12%) traten Schwindel und Müdigkeit während der Studie auf. Bei 3 Non-PM führte diese Symptomatik zum Abbruch der Metoprololtherapie, von denen zwei auf Bisoprolol umgestellt wurden. Zwei Non-PM starben im Verlauf der Studie (ein Patient an Herzinsuffizienz nach Tag 14; ein Patient an einem Pankreas-Karzinom nach Tag 14). Eine asymptotische Hypotonie wurde bei zwei Non-PM und bei einem PM festgestellt. Bei zwei Non-PM wurden eine Verschlechterung einer bekannten Neurodermitis und das Auftreten von Juckreiz und Mundtrockenheit beobachtet. Insgesamt klagten 4 PM (24%) und 10 Non-PM (14%) über mindestens eine UAW. Somit war das relative Risiko von PM und Non-PM mindestens eine UAW zu erleiden nicht signifikant verschieden voneinander. Unsere Untersuchung hat aber aufgrund der Gruppengröße nicht ausreichende statistische Kraft, um definitive Aussagen zu Unterschieden in der Häufigkeit von unerwünschten Arzneimittelwirkungen zu treffen.

Unter der Therapie mit Betablockern kann eine Herzinsuffizienz auch demaskiert werden oder sich eine bereits bestehende Herzinsuffizienz verschlechtern (Hoffman 2001). An dieser Studie nahmen 14 Non-PM und 1 PM mit einer Herzinsuffizienz teil. Aufgrund ihrer kardialen Schädigung, also unabhängig vom *CYP2D6*-Genotyp, könnten diese 15 Patienten ein gesteigertes Risiko für das Auftreten von UAW haben. Neun Patienten hatten gemäß der Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) eine leichte Herzinsuffizienz (NYHA I-II). Sechs Patienten waren in einem fortgeschrittenen Stadium (NYHA III). Bei Non-PM war die häufigste Ursache dieser Erkrankung die ischämische Herzerkrankung. Die Ursache der Herzinsuffizienz des PM wurde nicht berichtet. Symptomatische Dekompensationen wurden in der vorliegenden Untersuchung weder bei PM noch bei Non-PM beobachtet. Aufgrund der geringen Zahl von eingeschlossenen Patienten mit einer Herzinsuffizienz, kann zu

Unterschieden in der Häufigkeit der kardialen Dekompensation zwischen PM und Non-PM keine Aussage getroffen werden.

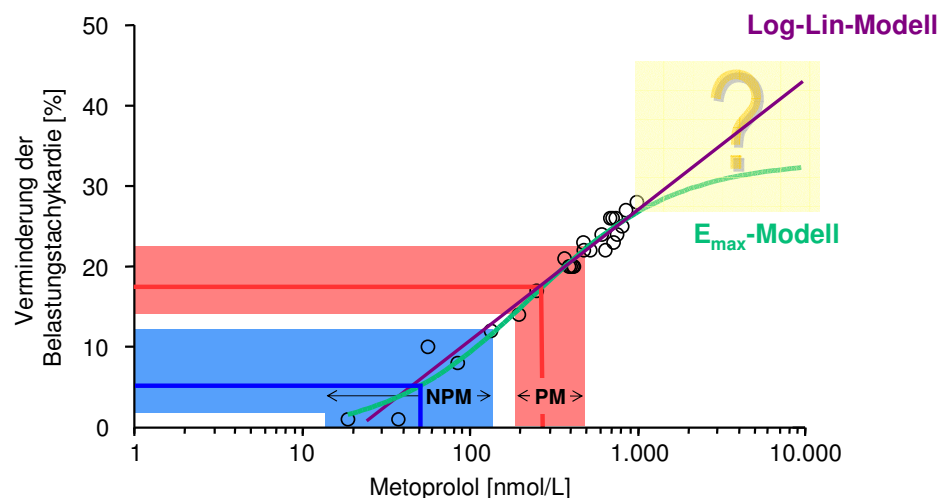
In den letzten Jahren hat sich eine Betablockertherapie bei der chronischen kompensierten Herzinsuffizienz als wirksam und sicher erwiesen, wenn die Therapie niedrig dosiert begonnen wird und die Dosis langsam gesteigert wurde. Eine Studie zur Verträglichkeit von Metoprolol bei Patienten der MERIT-HF Studie ergab, dass die Patienten nur ein geringes absolutes Risiko aufwiesen, UAW oder eine Verschlechterung der Herzinsuffizienz zu erleiden, wenn die Therapie mit Metoprolol in niedriger Dosierung begonnen und langsam gesteigert wurde (Gottlieb et al. 2002).

In einer retrospektiven Untersuchung wurden 4 PM, 10 IM und 37 EM auf das Auftreten einer Dekompensation oder die Notwendigkeit einer Dosisanpassung anderer Herzinsuffizienzmedikamente untersucht (Terra et al. 2005). Weder der *CYP2D6*-Genotyp noch die untersuchten Beta-Rezeptorpolymorphismen (Ser49Gly; Arg389Gly) waren mit dem Auftreten einer Dekompensation verknüpft. Allerdings wurde bei Gly389-Carriern signifikant häufiger eine Anpassung der übrigen Herzinsuffizienzmedikamente vorgenommen. Auffallend an der Untersuchung ist der relativ geringe Unterschied in den berichteten Metoprolol-Plasmakonzentrationen von PM und Non-PM, der lediglich einen Faktor von 3,3 erreichte. Auch schränkt die geringe Anzahl der eingeschlossenen PM (n=4) die Aussagekraft der Untersuchung zur Bedeutung von *CYP2D6* für die Effekte einer Metoprolol-Therapie wesentlich ein.

In der vorliegenden Studie gab es keinen signifikanten Unterschied in der Metoprololdosis zwischen Non-PM und PM (Median 47,5 mg/Tag). Die gewichtsbezogene Dosis von ca. 0,6 mg/kg KG veränderte sich in den Untersuchungen M2-M5 nur wenig. Ebenfalls gab es keinen signifikanten Unterschied bei der Art und Schwere der kardialen Vorerkrankungen. Auch die PM oder Non-PM, die mit niedrigeren Metoprololdosen behandelt wurden, als die UAW auftraten, waren nicht schwerer kardial erkrankt als die PM oder Non-PM, die mit einer höheren Metoprololdosis behandelt wurden. Bemerkenswert ist, dass eine geringe Dosissteigerung bei den Non-PM im Laufe der Studie vorgenommen wurde. Diese Steigerung wurde bei PM nicht beobachtet. Diese Dosissteigerung wurde in Unkenntnis des *CYP2D6*-Genotyps vorgenommen, da die behandelnden Ärzte und die Patienten verblindet waren.

#### 4.5 Limitationen

Die vorliegende Untersuchung ist in ihrer Aussagekraft durch die relativ niedrige Metoprolol-Dosis limitiert und es ist schwer möglich, die klinischen Effekte über den beobachteten Konzentrationsbereich hinaus zu extrapolieren. Legt man die Daten einer Untersuchung zum Zusammenhang zwischen Pharmakokinetik- und Dynamik zugrunde (Lucker et al. 1990), so wären bei den von uns beobachteten mittleren Plasmakonzentrationen von 66 nM (17,7 ng/ml) bei Non-PM eine Senkung der belastungsabhängigen Herzfrequenz um 6,5% und bei 309 nM (82,5 ng/ml) bei PM eine Senkung um ca.18% zu erwarten. Die von uns beobachteten relativen Senkungen der Ruhfrequenzen betrug 9,9% bei Non-PM und 18,6% bei PM, was in guter Näherung mit den Ergebnissen des Pharmakokinetik-PD-Modells übereinstimmt (Abbildung 25).

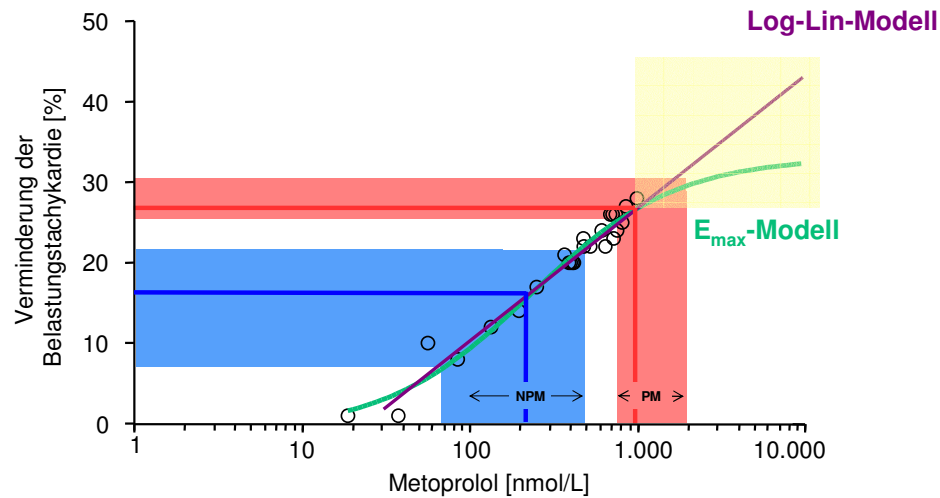


**Abbildung 25:** Beobachteter Plasmakonzentrationsbereich (10te bis 90te Perzentile) in der vorliegenden Untersuchung bei Non-PM (blau unterlegt) und PM (rot unterlegt). Die Mediane sind jeweils als blaue bzw. rote Linie dargestellt. Die erwartete prozentuale Verminderung der belastungsabhängigen Herzfrequenz kann an der Y-Achse abgelesen werden.

Für das Modell wurden die Daten von Lückner et al. zugrunde gelegt (1990). Zwischen den Modellen kann aufgrund des Fehlens von Beobachtungen im Bereich der höheren Konzentrationen (gelb unterlegt) derzeit nicht unterschieden werden.

Nimmt man nun eine individuelle lineare Pharmakokinetik für Metoprolol an, so ergäben sich bei einer täglichen Dosierung von 200 mg retardiertem Metoprolol-tartrat Konzentrationen von  $321 \pm 167$  ng/ml ( $1200 \pm 626$  nM) bei PM und  $72 \pm 55$  ng/ml ( $269 \pm 204$  nM) bei Non-PM. Unter Verwendung des Pharmakokinetik-PD-Modells ergibt sich nun für die 200 mg-Dosierung für PM eine mittlere Senkung der

belastungsinduzierten Herzfrequenz um 27,5% bei PM und um 17,2% in der Non-PM Gruppe (Abbildung 26).



**Abbildung 26:** Simulation der Metoprolol-Plasmakonzentration bei einer Tagesdosis von 200 mg Metoprolol CR/XL unter der Annahme einer individuellen linearen Pharmakokinetik. Erwarteter Plasmakonzentrationsbereich (10te bis 90te Perzentile) bei Non-PM (blau unterlegt) und PM (rot unterlegt). Die Mediane sind wiederum als blaue bzw. rote Linie dargestellt. Die erwartete prozentuale Verminderung der belastungsabhängigen Herzfrequenz kann an der Y-Achse abgelesen werden. Für das Modell wurden wiederum die Daten von Lücker et al. (1990) zugrunde gelegt. Sollte die Annahme einer linearen Dosis-Wirkungsbeziehung zutreffen, so dürften etwa die Hälfte der PM Plasmakonzentrationen erreichen, die bislang in PK-PD-Modellen nicht untersucht worden sind.

Nach dieser Simulation ist auch bei der gegenwärtig üblichen Tages-Höchstdosis von 200 mg Metoprolol ZOK nicht nur mit Unterschieden in der Pharmakokinetik, sondern auch mit einer stärkeren belastungsabhängigen Herzfrequenzsenkung bei PM zu rechnen. Beachtenswert ist, dass in dieser Simulation ein Teil der PM bei der Tagesdosis von 200 mg den Konzentrationsbereich verlassen dürfte, der bislang in PK-PD Studien abgebildet wurde. Hinzukommt, dass bei höheren Betablocker-Konzentrationen im Plasma unspezifische Effekte auf die kardiale Erregungs-Bildung und -Leitung hinzutreten können. Diese wären dann wiederum bei PM stärker betont.

Um diesen Effekten nachzugehen, wurden auch toxikologische Informationen betrachtet, die über akzidentelle oder absichtliche Überdosierungen von Metoprolol vorliegen. In einer Übersicht des Giftinformationszentrums Freiburg/Göttingen (Hermanns-Clausen et al. 2005) wurden über 70 Patienten mit Metoprololüberdosierungen in Abhängigkeit von der eingenommenen Dosis (0,5 g-18,0 g) berichtet. Die Patienten wurden in drei Schweregrade der Vergiftung eingestuft (symptomlos, leicht, mittelschwer bis schwer). Bei schweren Vergiftungserscheinungen

traten Bradykardie <40/min, Schock, Lungenödem, Myokardinfarkt, akutes Nierenversagen mit Anurie, schwere Rhabdomyolyse (CK 1500-10000 U/l) und/oder tiefes Koma auf.

Von 23 Patienten nach Einnahme von bis zu 1,8 g Metoprolol (Median 1,0 g) erkrankte 1 Patient schwer. Von 25 Vergiftungen mit 3,5-18,0 g Metoprolol wurden 10 als schwer und 6 als mittelschwer eingestuft. Komplikationen wie dialysepflichtiges akutes Nierenversagen, Myokardinfarkt, Linksherzversagen mit/ohne Lungenödem und/oder Koma wurden bereits ab 3,5 g beobachtet. Allerdings liegen bedauerlicherweise keine Informationen zu den Plasmakonzentrationen oder zum *CYP2D6*-Genotyp vor.

In einer Kasuistik wurde über rezidivierende symptomatische Bradykardien durch heimliche Beta-Blocker-Einnahme im Rahmen eines Münchhausen-Syndroms berichtet (Steinwender et al. 2005). Eine 39 jährige Ärztin hatte wiederholt heimlich hohe Dosen von Betablockern eingenommen, um ein symptomatisches Sick-Sinus-Syndrom zu imitieren. Die Patientin litt unter Abgeschlagenheit, Schwindel und multiplen Synkopen. Das EKG zeigte eine Bradykardie mit einer Herzfrequenz von 31/min. Auch für diese Kasuistik liegen weder die Dosierung noch die Plasmakonzentrationen vor.

#### Praktische Schlussfolgerungen

In Übereinstimmung mit zahlreichen anderen Untersuchungen konnte die vorliegende Arbeit eine erhebliche interindividuelle Variabilität der Plasmakonzentrationen und der klinischen Effekte einer Therapie mit Metoprolol beobachten. Die Unterschiede in den Plasmakonzentrationen konnten zu einem erheblichen Teil durch den *CYP2D6*-Genotyp erklärt werden. Die pharmakokinetischen Unterschiede zwischen PM und Non-PM sind mit gleichgerichteten Frequenz- und Blutdrucksenkungen verknüpft. Diese Unterschiede besitzen eine Größenordnung, die in der Therapie des Hypertonus und wahrscheinlich auch der KHK und Herzinsuffizienz prognostische Bedeutung haben. Ein großer Teil der Variabilität der klinischen Effekte der Therapie mit Metoprolol bleibt jedoch in ihrer Ursache ungeklärt.

Vor diesem Hintergrund erscheint es ratsam, eine Therapie mit Metoprolol bei Unkenntnis des Genotyps einschleichend zu beginnen. Dieses erscheint insbesondere bei Patienten mit Risiken für das Auftreten einer Bradykardie und einer kardialen Dekompensation empfehlenswert. Auch bei Patienten mit arteriellem Hypertonus sollte die Therapie anhand der beobachteten klinischen Effekte, vor allem die Wirkung auf



die Herzfrequenz, gesteuert werden und eine adäquate Dosissteigerung vorgenommen werden, um die therapeutischen Ziele zu erreichen.

## **5 Zusammenfassung**

Hintergrund und Fragestellung: Der Beta1-präferentielle Betablocker Metoprolol wird wesentlich über das Cytochrom CYP2D6 verstoffwechselt. Etwa 7-8% aller Kaukasier besitzen keine CYP2D6-Aktivität, da sie zwei nicht-funktionelle *CYP2D6*-Allele besitzen (Poor Metabolizer, PM). Die Plasmakonzentrationen bei PM sind bei gleicher Metoprolol-Dosierung im Mittel 4- bis 5-mal so hoch wie die Konzentrationen bei Non-PM. Daher stellt sich die Frage, ob diese genetisch determinierten Konzentrationsunterschiede mit Unterschieden in den Metoprolol-Effekten bei PM und Non-PM verknüpft sind.

Patienten und Methoden: In dieser prospektiven Untersuchung wurden 232 Betablocker-naive Patienten mit einer kardiovaskulären Indikation zur Metoprolol-Behandlung genotypisiert. Ein Drittel der Non-PM (n=71) und alle PM (17/232=7.3%) wurden in die Studie eingeschlossen. Nach Erhebung des Basisstatus der Patienten wurden die Patienten auf Metoprolol eingestellt und 4, 5, 14 und 90 Tage nach Therapiebeginn untersucht. Die Untersuchungen umfassten Puls- und Blutdruckmessungen, die Ableitung von 12-Kanal-EKGs und die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von Metoprolol.

Ergebnisse: Die wesentliche Behandlungsindikation der Patienten war arterieller Hypertonus, die bei 95% vorlag. Zwischen PM und Non-PM bestanden keine Unterschiede in den Therapie-Indikationen oder den Befunden der Basisuntersuchung. Die Metoprolol-Plasmakonzentration bei PM war im Mittel 4,7-fach höher als bei Non-PM, obwohl die auf das Körpergewicht normalisierte Dosierung in beiden Gruppen gleich war (ca. 0,6 mg/kg). Diese Unterschiede in der Plasmakonzentration waren mit signifikanten und anhaltenden Unterschieden im klinischen Ansprechen verbunden: Sowohl die Verminderung der Herzfrequenz, als auch die Verlängerung des unkorrigierten QT-Intervalls und die Senkung des diastolischen Blutdrucks waren bei PM signifikant stärker ausgeprägt. Bei PM nahm der diastolische Blutdruck über den gesamten 90-tägigen Behandlungszeitraum im Mittel um 6,7 mm Hg und die Herzfrequenz um 5,9 bpm stärker ab als bei Non-PM.

Schlussfolgerungen: Der CYP2D6-Genotyp ist eine wesentliche Determinante des klinischen Ansprechens auf den Betablocker Metoprolol.

## **6 Literaturverzeichnis**

- Alfaro, C. L., Y. W. Lam, et al. (2000). CYP2D6 inhibition by fluoxetine, paroxetine, sertraline, and venlafaxine in a crossover study: intraindividual variability and plasma concentration correlations. *J Clin Pharmacol* 40: 58-66.
- Anlauf, M. (2007). Antihypertonika in: *Arzneiverordnungsreport 2006*. D. Paffrath, Springer:pp: 408-424.
- Aursnes, I., J. B. Osnes, et al. (2007). Does atenolol differ from other beta-adrenergic blockers? *BMC Clin Pharmacol* 7: 4.
- Beitelshees, A. L., I. Zineh, et al. (2006). Influence of phenotype and pharmacokinetics on beta-blocker drug target pharmacogenetics. *Pharmacogenomics J* 6: 174-8.
- Bengtsson, C., G. Johnsson, et al. (1975). Plasma levels and effects of metoprolol on blood pressure and heart rate in hypertensive patients after an acute dose and between two doses during long-term treatment. *Clin Pharmacol Ther* 17: 400-8.
- Brynne, L., M. O. Karlsson, et al. (1998). Concentration-effect relationship of l-propranolol and metoprolol in spontaneous hypertensive rats after exercise-induced tachycardia. *J Pharmacol Exp Ther* 286: 1152-8.
- Clark, D. W., A. K. Morgan, et al. (1984). Adverse effects from metoprolol are not generally associated with oxidation status. *Br J Clin Pharmacol* 18: 965-7.
- Dahlof, B., P. S. Sever, et al. (2005). Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 366: 895-906.
- Deroubaix, X., R. L. Lins, et al. (1996). Comparative bioavailability of a metoprolol controlled release formulation and a bisoprolol normal release tablet after single oral dose administration in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther* 34: 61-70.
- Eichelbaum, M., N. Spannbrucker, et al. (1979). Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *Eur J Clin Pharmacol* 16: 183-7.
- Freestone, S., J. H. Silas, et al. (1982). Comparison of two long-acting preparations of metoprolol with conventional metoprolol and atenolol in healthy men during chronic dosing. *Br J Clin Pharmacol* 14: 713-8.
- Fux, R., K. Morike, et al. (2005). Impact of CYP2D6 genotype on adverse effects during treatment with metoprolol: a prospective clinical study. *Clin Pharmacol Ther* 78: 378-87.
- Gonzalez, F. J. and R. H. Tukey (2006). *Drug Metabolism in: Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics*. K. L. Parker, McGraw-Hill:pp: 71-91.
- Gottlieb, S. S., M. L. Fisher, et al. (2002). Tolerability of beta-blocker initiation and titration in the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Circulation* 105: 1182-8.
- Griese, E. U., U. M. Zanger, et al. (1998). Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* 8: 15-26.
- Hermanns-Clausen, M., A. Sydow, et al. (2005). Klinische Symptomatik von Metoprololüberdosierungen in Abhängigkeit von der eingenommenen Dosis. *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 42: 47-52.
- Hoffman, B. B. (2001). Catecholamines, Sympathomimetic Drugs, and Adrenergic Receptor Antagonists in: *Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics*. A. Goodman-Gilman, McGraw-Hill:pp: 3-29.

- Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee (2007). *CYP2D6* Allele Nomenclature, Ingelman-Sundberg, M. Daly, A. K. Nebert, D. W. **2007**.
- Joseph, S. S., J. A. Lynham, et al. (2004). Markedly reduced effects of (-)-isoprenaline but not of (-)-CGP12177 and unchanged affinity of beta-blockers at Gly389-beta1-adrenoceptors compared to Arg389-beta1-adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 142: 51-6.
- Kimura, S., M. Umeno, et al. (1989). The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 45: 889-904.
- Kirchheiner, J., C. Heesch, et al. (2004). Impact of the ultrarapid metabolizer genotype of cytochrome P450 2D6 on metoprolol pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 76: 302-12.
- Lemmer, B. (2007). Betarezeptorenblocker in: *Arzneiverordnungsreport 2006*. D. Paffrath, Springer: pp: 499-512.
- Lennard, M. S., J. H. Silas, et al. (1982). Oxidation phenotype--a major determinant of metoprolol metabolism and response. *N Engl J Med* 307: 1558-60.
- Lennard, M. S., G. T. Tucker, et al. (1986). Debrisoquine polymorphism and the metabolism and action of metoprolol, timolol, propranolol and atenolol. *Xenobiotica* 16: 435-47.
- Lucker, P., G. Moore, et al. (1990). Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of metoprolol CR/ZOK once daily with conventional tablets once daily and in divided doses. *J Clin Pharmacol* 30: S17-27.
- MacMahon, S., J. A. Cutler, et al. (1989). Antihypertensive drug treatment. Potential, expected, and observed effects on stroke and on coronary heart disease. *Hypertension* 13: 145-50.
- Mahgoub, A., J. R. Idle, et al. (1977). Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet* 2: 584-6.
- McGourty, J. C., J. H. Silas, et al. (1985). Metoprolol metabolism and debrisoquine oxidation polymorphism--population and family studies. *Br J Clin Pharmacol* 20: 555-66.
- MERIT-HF Study-Group (1999). Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *Lancet* 353: 2001-7.
- Meyer, U. A. and U. M. Zanger (1997). Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37: 269-96.
- Nelson, D. R. (2006). Cytochrome P450 nomenclature, 2004. *Methods Mol Biol* 320: 1-10.
- Nordin, C. and L. Bertilsson (1995). Active hydroxymetabolites of antidepressants. Emphasis on E-10-hydroxy-nortriptyline. *Clin Pharmacokinet* 28: 26-40.
- Pfeufer, A., S. Jalilzadeh, et al. (2005). Common variants in myocardial ion channel genes modify the QT interval in the general population: results from the KORA study. *Circ Res* 96: 693-701.
- Poulsen, L., K. Broesen, et al. (1996). Codeine and morphine in extensive and poor metabolizers of sparteine: pharmacokinetics, analgesic effect and side effects. *Eur J Clin Pharmacol* 51: 289-95.
- Poulter, N. R., H. Wedel, et al. (2005). Role of blood pressure and other variables in the differential cardiovascular event rates noted in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA). *Lancet* 366: 907-13.
- Raimundo, S., J. Fischer, et al. (2000). Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metabolizer' phenotype for drug oxidation by CYP2D6. *Pharmacogenetics* 10: 577-81.

- Rau, T., S. Diepenbruck, et al. (2006). The 2988G>A polymorphism affects splicing of a CYP2D6 minigene. *Clin Pharmacol Ther* 80: 555-8; author reply 558-60.
- Rau, T., R. Heide, et al. (2002). Effect of the CYP2D6 genotype on metoprolol metabolism persists during long-term treatment. *Pharmacogenetics* 12: 465-72.
- Sachse, C. (1999). Erbliche Polymorphismen von Cytochrom P450-2D6 : Identifizierung, Populationshäufigkeit und Bedeutung für Arzneimittelwirkungen.
- Sachse, C., J. Brockmoller, et al. (1997). Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 60: 284-95.
- Sachse, C., J. Brockmoller, et al. (1998). Correctness of prediction of the CYP2D6 phenotype confirmed by genotyping 47 intermediate and poor metabolizers of debrisoquine. *Pharmacogenetics* 8: 181-5.
- Sindrup, S. H. and K. Broesen (1995). The pharmacogenetics of codeine hypoalgesia. *Pharmacogenetics* 5: 335-46.
- Steen, V. M., O. A. Andreassen, et al. (1995). Detection of the poor metabolizer-associated CYP2D6(D) gene deletion allele by long-PCR technology. *Pharmacogenetics* 5: 215-23.
- Steinwender, C., R. Hofmann, et al. (2005). Recurrent symptomatic bradycardia due to secret ingestion of beta-blockers--a rare manifestation of cardiac Munchausen syndrome. *Wien Klin Wochenschr* 117: 647-50.
- Terra, S. G., D. F. Pauly, et al. (2005). beta-Adrenergic receptor polymorphisms and responses during titration of metoprolol controlled release/extended release in heart failure. *Clin Pharmacol Ther* 77: 127-37.
- Toscano, C., K. Klein, et al. (2006). Impaired expression of CYP2D6 in intermediate metabolizers carrying the \*41 allele caused by the intronic SNP 2988G>A: evidence for modulation of splicing events. *Pharmacogenet Genomics* 16: 755-66.
- Wikstrand, J., A. Hjalmarson, et al. (2002). Dose of metoprolol CR/XL and clinical outcomes in patients with heart failure: analysis of the experience in metoprolol CR/XL randomized intervention trial in chronic heart failure (MERIT-HF). *J Am Coll Cardiol* 40: 491-8.
- Wilkinson, G. R. (2001). Pharmacokinetics in: Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. A. Goodman-Gilman, McGraw-Hill:pp: 3-29.
- Wuttke, H., T. Rau, et al. (2002). Increased frequency of cytochrome P450 2D6 poor metabolizers among patients with metoprolol-associated adverse effects. *Clin Pharmacol Ther* 72: 429-37.
- Zanger, U. M., J. Fischer, et al. (2001). Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. *Pharmacogenetics* 11: 573-85.
- Zineh, I., A. L. Beitelshes, et al. (2004). Pharmacokinetics and CYP2D6 genotypes do not predict metoprolol adverse events or efficacy in hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 76: 536-44.

## **7 Veröffentlichungen aus der aktuellen Arbeit**

Wuttke H, Rau T, **Michels L**, Bergmann K, Kreft M and Eschenhagen T (2005) Increased heart rate response to metoprolol in CYP2D6 poor metabolizers. Circulation 112: U412-U412 (abstract)

Rau T, Wuttke H, **Michels LM**, Werner U, Bergmann K, Kreft M, Fromm MF, and Eschenhagen T (2008) Impact of the CYP2D6-genotype on the clinical effects of metoprolol – a prospective longitudinal study. Clin Pharmacol Ther (in press)

## **8 Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Thomas Eschenhagen für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, für die stets freundliche und geduldige Unterstützung, so wie den Rückhalt in allen Phasen dieser Arbeit.

Mein herzlichster Dank gilt meinem Lehrer Dr. Thomas Rau für die ausgezeichnete wissenschaftliche Betreuung, für die motivierenden und unterstützenden Worte in allen Hoch- und Tiefphasen. Dank Dir wurde diese lange Zeit der Zusammenarbeit, zu einer der schönsten Zeit in meiner Ausbildung.

Ich danke Dr. Henrike Wuttke für den gelungenen Anfang dieser Arbeit und die sehr nette Einarbeitungsphase.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern, die in diesen Jahren immer Geduld mit mir hatten und jederzeit an meiner Seite standen..

## **9 Lebenslauf**

### PERSÖNLICHE ANGABEN

Name	Lisa-Maria Michels
Geburtsdatum	4. Oktober 1979
Geburtsort	Münster
Eltern	Karin und Kurt-Josef Michels

### SCHULBILDUNG

1986 – 1990	Pleisterschule Münster
1990 – 1996	Bischöfliches Mädchengymnasium Münster
1996 – 1999	Internat Stiftung Louisenlund Schleswig-Holstein

### HOCHSCHULSTUDIUM

2000 – 2007	Studium der Humanmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
2002	Ärztliche Vorprüfung
2003	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2005	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
23.04.2007	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
30.05.2007	Erteilung der Approbation

### BERUFSTÄTIGKEIT

Seit 2007	Assistenzärztin für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Regio-Klinikum Pinneberg
-----------	--

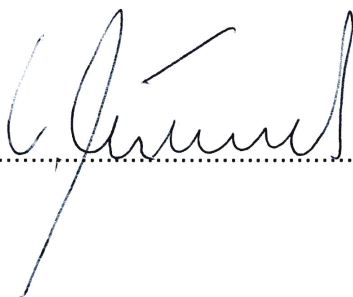


## 10 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: .....

A handwritten signature in black ink, written over a dotted line. The signature is cursive and appears to be 'C. G. ...'.

.....  
.....  
.....  
.....  
.....