

Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie  
der Technischen Universität München des Klinikums rechts der Isar  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier)

**Polymorphismen des Cytochrom P 450 2D6 und  
ihr Einfluss auf den Erfolg der Psychopharmakotherapie.**

Eine einjährige Querschnittsstudie im stationären Patientengut der psychiatrischen Klinik

Julia Bachofer

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität  
München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin  
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. W. Steimer
2. Univ.-Prof. Dr. J. Förstl

Die Dissertation wurde am 03.01.2006 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 29.03.2006 angenommen.

## Inhaltsverzeichnis

1. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	4
2. Einleitung .....	6
2.1. Pharmakogenetik und Psychopharmakotherapie .....	6
2.2. Das Cytochrom P4502D6 (CYP2D6) .....	7
2.3. CYP2D6 und unerwünschte Arzneimittelwirkungen (ADE).....	11
2.4. CYP2D6 und Ansprechen auf die Psychopharmakotherapie.....	12
2.5. Zielsetzung der Arbeit .....	13
3. Material und Methoden.....	14
3.1. Chemikalien- und Geräteliste.....	14
3.1.1. Geräte.....	14
3.1.2. Polymerasen und Puffer.....	14
3.1.3. Sonstiges .....	14
3.2. Allgemeines .....	15
3.2.1. PCR.....	15
3.2.2. Analyse der PCR-Produkte .....	17
3.3. CYP2D6-Genotypisierung .....	19
3.3.1. Bereits etablierte Methoden .....	19
3.3.2. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6*35-Allels .....	22
3.3.3. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6*41/*2- Polymorphismus .....	23
3.3.4. Real-Time PCR zur Unterscheidung zwischen Homozygotie oder Heterozygotie des CYP2D6*2 und CYP2D6*41-Allels .....	25
3.3.5. PCR zur Unterscheidung zwischen CYP2D6*1XN, *2XN und *4XN.....	26
3.4. Studie .....	28
3.4.1. Studiendesign .....	28
3.4.2. Studienaufbau und erhobene Variablen.....	29
3.4.3. Auswertung der Daten .....	32
4. Ergebnisse .....	33
4.1. CYP2D6-Genotypisierung.....	33
4.1.1. Bereits etablierte Methoden .....	33
4.1.2. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6*35-Allels .....	34
4.1.3. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6*41/*2- Polymorphismus .....	35
4.1.4. Real-Time PCR zur Unterscheidung zwischen Homozygotie oder Heterozygotie des CYP2D6*2 und CYP2D6*41-Allels .....	36

4.1.5. PCR zur Unterscheidung zwischen CYP2D6*1XN, *2XN und *4XN.....	37
4.2. Studie .....	38
4.2.1. Studienpopulation .....	38
4.2.2. Psychiatrische Vorgeschichte .....	42
4.2.3. Aufenthaltsdauer.....	43
4.2.4. Medikamentöse Therapie.....	45
4.2.5. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen .....	51
4.2.6. Ansprechen auf die Therapie .....	56
5. Diskussion.....	60
5.1. Genotypisierung.....	60
5.2. Klinische Studie .....	62
5.2.1. Psychiatrischen Vorgeschichte .....	62
5.2.2. Aufenthaltsdauer.....	62
5.2.3. Medikamentöse Therapie.....	63
5.2.4. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen .....	64
5.2.5. Ansprechen auf die Therapie .....	65
5.2.6. Diskussion der Fehlermöglichkeiten.....	67
5.2.7. Gesamtbeurteilung der Studienergebnisse .....	68
6. Zusammenfassung.....	70
7. Literaturverzeichnis .....	74
8. Anhang.....	86
8.1. Paranoid-Depressivitäts-Skala (PD-S) .....	86
8.2. Begleitsymptomliste .....	88
8.3. Patiententabelle .....	89
9. Danksagung .....	96
10. Lebenslauf.....	97
11. Veröffentlichungen.....	98
12. Auszeichnungen.....	100

## 1. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

A	Adenosin
ADE	adverse drug event (unerwünschte Arzneimittelwirkung)
Aqua dest.	destilliertes Wasser
bp	Base pairs
BSA	Bovine Serum Albumine
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
CGI	Clinical Global Impression
CYP2D6	Cytochrom P450 2D6
CYP2D7	Cytochrom P450 2D7
CYP2D8	Cytochrom P450 2D8
d.h.	das heißt
d	Tag
DNA	Deoxy-Ribonucleic-Acid
dNTP	Desoxy-Ribonucleosid-Tri-Phosphat
DOTES	Dosage Record and Treatment Emergent Symptom Scale
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
EM	Extensive Metabolizer
evtl.	eventuell
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer
g	Gramm
G	Guanosin
GDG	Gendosis-Gruppe
ICD-10	International Code of Diseases, Version 10
IM	Intermediate Metabolizer
kb	Kilobasen
kg	Kilogramm
kg KG	Kilogramm Körpergewicht
LC	LightCycler™
min	Minuten
mg	Milligramm
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mmol/l	Milli-Mol/Liter
mM	Milli-Molar

MR	Metabolic Ratio
nm	Nanometer
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase Ketten Reaktion)
PD-S	Paranoid-Depressivitäts-Skala
PM	Poor Metabolizer
RFLP	Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus
s	Sekunden
SSRI	Selektive Serotonin-Reuptake-Inhibitoren
T	Thymin
TBE	Triboessigsäure
UM	Ultraextensive Metabolizer
UV	Ultra Violett
V	Volt
ZNS	Zentrales Nervensystem

## **2. Einleitung**

### **2.1. Pharmakogenetik und Psychopharmakotherapie**

Psychopharmaka sind heute aus der Therapie psychiatrischer Erkrankungen nicht mehr wegzudenken und stellen neben der Psycho- und Soziotherapie die Basis der psychiatrischen Behandlung dar. Eine Vielzahl von klassischen und neu entwickelten Substanzen stehen für eine sachgerechte Psychopharmakotherapie zur Verfügung, und Psychopharmaka gehören mit zu den am meisten verordneten Arzneimitteln.

Trotz großer Fortschritte auf dem Gebiet der Pharmakologie stellen mangelnde Wirksamkeit und/oder unerwünschte Arzneimittelwirkungen (adverse drug events – ADE) nach wie vor ein ungelöstes Problem der Psychopharmakotherapie dar. So zeigen 30 bis 40 Prozent der Patienten keine klinische Besserung auf die Behandlung mit Antipsychotika und 60 bis 70 Prozent derer, die auf die Therapie ansprechen, leiden unter mehr oder weniger ausgeprägten Nebenwirkungen (Taylor 1995; Doris et al. 1999; Kerwin et al. 2000).

Eine wichtige Determinante für inter-individuelle Unterschiede in der Arzneimittelwirkung und dem Auftreten von Nebenwirkungen ist die Geschwindigkeit, mit der Substanzen durch arzneimittelmetabolisierende Enzyme abgebaut werden. Unterschiedliche Stoffwechselkapazitäten dieser Enzyme bedingen nach der Gabe der gleichen Dosis einer Substanz eine oft erhebliche Variabilität der entsprechenden Plasmakonzentrationen. Neben Einflüssen wie Alter, Geschlecht und Begleiterkrankungen sowie Komedikation sind es insbesondere auch genetische Faktoren, die diese Abweichungen in den Enzymaktivitäten verursachen (Kalow et al. 1998; Poolsup et al. 2000; Ingelman-Sundberg et al. 2001). Das Forschungsgebiet der Pharmakogenetik beschäftigt sich mit der Frage, inwieweit genetische Polymorphismen und seltene genetische Varianten für inter-individuelle Unterschiede von Arzneimittelwirkungen beziehungsweise -nebenwirkungen verantwortlich sind. Dabei bezieht sich der Terminus „genetischer Polymorphismus“ auf ein monogen vererbtes Merkmal, welches in der Bevölkerung in mindestens zwei Phänotypen, die auf mindestens zwei Genotypen zurückzuführen sind, auftritt, wobei jeder der Phänotypen mit einer Häufigkeit von mindestens ein Prozent vorkommt. Bei einer Allelfrequenz von weniger als einem Prozent spricht man von „seltenen genetischen Varianten“ (Buselmaier et al. 1999).

Pharmakogenetische Phänomene können sowohl die Pharmakokinetik als auch die Pharmakodynamik eines Arzneimittels beeinflussen. Genetisch bedingten Variationen der Pharmakokinetik, die in der Regel darauf zurückzuführen sind, dass aufgrund von Mutationen bestimmte arzneistoffabbauende Enzyme in ihren katalytischen Eigenschaften

verändert werden, sind in den letzten Jahren eingehend dokumentiert und charakterisiert worden.

## **2.2. Das Cytochrom P4502D6 (CYP2D6)**

Biotransformationsreaktionen im menschlichen Organismus dienen in der Regel dazu, Substanzen mit lipophilen Eigenschaften chemisch so zu verändern, dass sie in wasserlöslicher Form über den Urin oder die Gallenflüssigkeit ausgeschieden werden können. Hierbei spielen Enzyme des Cytochrom-P450-Systems eine entscheidende Rolle. Bei diesen Enzymen handelt es sich um Hämoproteine, die in der Membran des endoplasmatischen Retikulums verankert sind. Cytochrom-P450-Enzyme kommen hauptsächlich in der Leber, zu geringen Anteilen aber auch in der Darmmukosa, der Niere, der Lunge und in anderen Geweben vor (Gonzales 1992; Nebert 1997). Sie katalysieren oxidative Reaktionen im Phase-I-Metabolismus einer Vielzahl endogener und exogener Substanzen wie z.B. Steroide, Fettsäuren und Prostaglandine, Medikamente, Pflanzengifte und Karzinogene (Heim et al. 1992). Die verschiedenen Cytochrom-P450-Enzyme werden anhand von Homologien ihrer Aminosäuresequenz in Familien, Subfamilien und Isoenzyme eingeteilt (Nelson et al. 1993).

Für alle Cytochrom-P450-Enzyme gilt, dass ihre hepatische Expression individuell sehr variabel ist. Ursächlich hierfür sind neben pathologischen Zuständen und Umwelteinflüssen vor allem Polymorphismen in den kodierenden Gensequenzen oder deren Promotorregionen (Gonzalez et al. 1994; Ingelman-Sundberg et al. 1999).

Bisher am besten untersucht ist der Polymorphismus des Cytochrom P450 2D6 (CYP2D6). Er wird auch als Spartein-Debrisoquin-Polymorphismus bezeichnet – nach den beiden Arzneimitteln, die in den 1970ern zu seiner Entdeckung führten (Mahgoub et al. 1977; Eichelbaum et al. 1979).

Das CYP2D6-Enzym ist verantwortlich für den Metabolismus von über 100 verschiedenen Arzneimitteln (Bertilsson et al. 2002). Viele dieser Substanzen finden Anwendung in der Psychiatrie, unter anderem ältere tricyclische Antidepressiva, einige der neueren selektiven Serotonin-Reuptake-Inhibitoren (SSRI) sowie einige klassische und atypische Neuroleptika. Eine Auswahl der gebräuchlichsten Präparate ist Tabelle 1 zu entnehmen. Auch endogene Substanzen wie Tryptamin und Tyramin werden durch das CYP2D6-Enzym verstoffwechselt (Hiroi et al. 1998).

Tabelle 1: Antidepressiva und Neuroleptika, die über das CYP2D6-Enzym abgebaut werden

<b>Antidepressiva</b>	<b>Referenz</b>
Amitriptylin	(Mellstrom et al. 1983)
Clomipramin	(Balant-Gorgia et al. 1996)
Desipramin	(Musa et al. 1994)
Doxepin	(Haritos et al. 2000)
Fluoxetin	(Hamelin et al. 1996)
Fluvoxamin	(Carrillo et al. 1996)
Imipramin	(Brosen et al. 1986b)
Maprotilin	(Firkusny et al. 1994; Brachtendorf et al. 2002)
Mianserin	(Dahl et al. 1994)
Mirtazapin	(Stormer et al. 2000b)
Paroxetin	(Sindrup et al. 1992)
Trimipramin	(Eap et al. 2000)
Venlafaxin	(Otton et al. 1996)
<b>Neuroleptika</b>	<b>Referenz</b>
Chlorpromazin	(Yoshii et al. 2000)
Haloperidol	(Tyndale et al. 1991; Fang et al. 1997)
Perazin	(Stormer et al. 2000a)
Perphenazin	(Dahl-Puustinen et al. 1989)
Risperidon	(Huang et al. 1993)
Thioridazin	(Yoshii et al. 2000)

Das CYP2D6-Gen ist auf dem langen Arm des Chromosoms 22 lokalisiert (Eichelbaum et al. 1987; Gough et al. 1993) und besteht aus neun Exons und acht Introns. Zusammen mit zwei flankierenden Pseudogenen (CYP2D8P und CYP2D7P) umfasst der CYP2D6-Genlocus etwa 45 kb (Kimura et al. 1989; Heim et al. 1992). Bis jetzt sind über 70 verschiedene Allele dieses Gens beschrieben worden (Ingelman-Sundberg et al.), welche nach dem internationalen Nomenklatorsystem mit arabischen Zahlen gekennzeichnet werden (Daly et al. 1996).

Wenigstens 15 der bisher bekannten Mutationen sind dafür verantwortlich, dass das CYP2D6-Enzym nicht gebildet wird (Meyer et al. 1997). Diese sog. „Nullallele“ führen zu Fehlern im Splicing (z.B. bei CYP2D6\*4 und \*11), zu Frame-shift-Mutationen (z.B.



CYP2D6\*3, \*6, \*13 und \*15), zur Deletion des gesamten Gens (CYP2D6\*5), Stopp-Kodon-Mutationen (CYP2D6\*8) oder Missense-Mutationen (CYP2D6\*7).

Bei anderen Allelen wie dem CYP2D6\*9, charakterisiert durch eine Deletion, oder dem CYP2D6\*10, \*17 oder \*41, charakterisiert durch Substitutionen, kommt es durch die resultierenden spezifischen Veränderungen in der Aminosäureabfolge des Genprodukts zu einer Einschränkung der katalytischen Aktivität des CYP2D6-Enzyms (Masimirembwa et al. 1996; Sachse et al. 1997; Griese et al. 1998; Raimundo et al. 2000; Raimundo et al. 2004).

Das Genprodukt des CYP2D6\*2-Allel entspricht in seiner Metabolisierungskapazität weitgehend dem vom Wildtyp-Allel CYP2D6\*1 kodierten Enzym (Zanger et al. 2001).

Der Genotyp eines Individuums erlaubt also Rückschlüsse auf die Stoffwechselleistung des resultierenden Phänotyps, wobei der Phänotyp prinzipiell auch direkt über die Applikation eines enzyspezifischen Testarzneimittels und die Charakterisierung der sogenannten metabolischen Ratio (metabolic ratio, MR) im Urin oder im Blut bestimmt werden kann. Die MR ist definiert als Quotient der Konzentration der unveränderten Substanz und des enzyspezifischen Metaboliten. Dabei bezeichnet man Individuen mit defizientem Metabolismus für bestimmte Arzneimittel phänotypisch als Poor Metabolizer (PM) im Vergleich zu Extensive Metabolizer (EM) mit normaler Stoffwechselkapazität. Innerhalb der EM kann man noch einmal zwei Untergruppen abgrenzen: die Ultra Rapid Metabolizer (UM) mit stark erhöhtem Metabolismus und die Intermediate Metabolizer (IM) mit mehr oder weniger stark beeinträchtigter Stoffwechselleistung. Für das CYP2D6-Enzym werden Debrisoquin, Spartein, Dextromethorphan oder Propafenon als Testsubstanzen verwendet (Linder et al. 1997).

Die Phänotypisierung ist aber mit einer Reihe von Nachteilen behaftet, die einen routinemäßigen Einsatz verhindern. So beinhaltet die Applikation einer Testsubstanz immer das Risiko von Nebenwirkungen, die Testdurchführung ist langwierig, teuer und erfordert eine gute Patientencompliance. Darüber hinaus kann die Begleitmedikation das Ergebnis verfälschen, so dass eine zeitaufwendige Auswasch-Periode für alle interagierenden Arzneimittel nötig wird und dadurch der Therapiebeginn verzögert werden kann bzw. eine bereits begonnene medikamentöse Therapie unterbrochen werden muss. Im Gegensatz dazu stellt die Genotypisierung eine wenig eingreifende, sichere und reproduzierbare Methode dar, die mit Hilfe einer kleinen Blut- oder Gewebeprobe rasch die gewünschte Information liefert.

Aus diesem Grunde wurden in den letzten Jahren zahlreiche Untersuchungen zur Phänotyp-Genotyp-Korrelation für CYP2D6 mit dem Ziel durchgeführt, mittels alleiniger Genotypisierung eine Vorhersage des CYP2D6-Phänotyps zu ermöglichen und so auf die

Verabreichung eines Testarzneistoffes verzichten zu können (Dahl et al. 2000; McElroy et al. 2000).

Für Poor Metabolizer in einer kaukasischen Bevölkerung ist heute der Rückschluss vom Geno- auf den Phänotyp mit einer Genauigkeit von über 99% möglich (Dahl et al. 1992; Chen et al. 1996; Stuvén et al. 1996; Sachse et al. 1997; Griese et al. 1998; Gaedigk et al. 1999). Ein PM-Phänotyp resultiert immer dann, wenn ein Individuum homozygot für ein Nullallel ist oder zwei verschiedene Nullallele besitzt (so genannte Compound Heterozygotes). Circa fünf bis zehn Prozent der kaukasischen Bevölkerung exprimieren das CYP2D6-Enzym nicht (Sachse et al. 1997).

Zwei bis drei Prozent der Bevölkerung zeigen einen UM-Phänotyp (Johansson et al. 1993; Sachse et al. 1997). Dies lässt sich in zehn bis 30 Prozent der Fälle durch eine Duplikation oder Multiplikation des gesamten CYP2D6-Gens erklären (Johansson et al. 1993; Dahl et al. 1995; Lovlie et al. 1996; Sachse et al. 1997). Die genetische und/oder biochemische Basis des UM-Phänotyps ohne Gen-Amplifikation ist noch weitgehend unklar, jedoch wurde kürzlich die mögliche Beteiligung des CYP2D6\*35-Allels postuliert (Lovlie et al. 2001). Allerdings ist die endgültige Bedeutung dieses Allels für den UM-Phänotyp noch nicht abschließend geklärt (Allorge et al. 2001; Lovlie et al. 2001).

Während ein EM-Phänotyp durch das Vorhandensein von zwei funktionellen CYP2D6\*1 oder \*2-Allelen charakterisiert ist, ist der IM-Phänotyp assoziiert mit variablen Kombinationen von funktionellen Allelen, Nullallelen und solchen Allelen, die mit einer verminderten Enzymaktivität einhergehen, nämlich CYP2D6\*9, \*10, \*17 und \*41 (Broly et al. 1993; Yokota et al. 1993; Masimirembwa et al. 1996; Raimundo et al. 2000). Durch Genotypisierung dieser Allele gelingt eine Vorhersage des IM-Phänotyps in 75% der Fälle (Raimundo et al. 2000; Raimundo et al. 2004).

Nach wie vor ist die Genotypisierung als Alternative zur Phänotypisierung aber mit zwei großen Problemen behaftet. Zum einen wird eine routinemäßige Genotypisierung in der klinischen Praxis deshalb abgelehnt, weil nach der derzeitigen Datenlage nur ein kleines Patientenkollektiv mit extremen Geno- bzw. Phänotyp-Varianten (also PM und UM) von der Kenntnis des individuellen Genstatus profitieren könnte und daher eine prätherapeutische Genotypisierung nicht kosten-effektiv erscheint (Wedlund et al. 2001; Steimer et al. 2002c). Zum anderen ist eine eindeutige Zuordnung vom Genotyp auf einen resultierenden Phänotyp noch nicht in allen Fällen möglich ist. Allerdings wird die in den letzten Jahren praktizierte Methode der Übertragung eines mit Hilfe der Phänotypisierung evaluierten Nomenklatorsystems von PM, IM, EM und UM auf durch Genotypisierung gewonnenen Ergebnisse heute zwiespältig beurteilt (Steimer et al. 2005b).

Neuerdings konnte nämlich in einigen Studien ein CYP2D6-Gen-Dosis-Effekt auf die Pharmakokinetik CYP2D6-abhängiger Medikamente (Dalen et al. 1998; Kvist et al. 2001;

Murphy et al. 2001; Shimoda et al. 2002; Steimer et al. 2004; Steimer et al. 2005b) und auf das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen (Steimer et al. 2005b) etabliert werden. Steimer et al. postulieren daher das Konzept einer semiquantitativen Gendosis als bevorzugtes Instrument, um klinische Daten mit dem CYP2D6-Genotyp zu korrelieren (Steimer et al. 2004; Steimer et al. 2005b). Eine semiquantitative Gendosis in diesem Sinne wird aus der Anzahl und Aktivität der vorhandenen CYP2D6-Allele berechnet (Steimer et al. 2005b).

### **2.3. CYP2D6 und unerwünschte Arzneimittelwirkungen (ADE)**

Zahlreiche Fallbeschreibungen in der Literatur haben das Interesse auf die Beziehung zwischen CYP2D6 und dem Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen (ADE) nach der Applikation CYP2D6-abhängiger Medikamente gerichtet (Bertilsson et al. 1981; Swanson et al. 1997; Sallee et al. 2000; Kohnke et al. 2002). So zeigte z.B. eine ältere Patientin, die eine niedrige Tagesdosis Nortriptylin erhalten hatte, ungewöhnlich ausgeprägte Nebenwirkungen wie Müdigkeit, Schwindel und Verwirrtheit. Die Nortriptylin-Plasmaspiegel lagen weit über dem therapeutischen Bereich und eine retrospektiv durchgeführte CYP2D6-Phänotypisierung ergab einen PM-Phänotyp (Bertilsson et al. 1981). In einem anderen Fall verstarb ein neun Jahre altes Kind mit einem CYP2D6-PM-Genotyp nach der Einnahme von Fluoxetin an toxischen Fluoxetin- und Norfluoxetin-Konzentrationen (Sallee et al. 2000).

Ferner haben etliche klinische Studien den Zusammenhang zwischen dem CYP2D6-Genotyp und dem Auftreten von ADE untersucht. De Leon et al. konnten in einer Pilotstudie zeigen, dass Patienten mit einem PM-Genotyp vermehrt zu ADE tendieren (de Leon et al. 1998). Eine andere Studie untersuchte das Auftreten von extrapyramidalen Nebenwirkungen bei psychiatrischen Patienten und fand hier eine höhere Inzidenz bei Individuen mit einem PM-Genotyp (Vandel et al. 1999). Auch die Untersuchung von Chen et al. zeigte eine signifikant höhere Prävalenz von Patienten mit dem PM-Genotyp in einer Patientengruppe, die nach der Gabe von CYP2D6-abhängigen Antidepressiva unter ADE gelitten hatten, im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne ADE (Chen et al. 1996). Daneben haben noch weitere Studien größtenteils einen Trend zum vermehrten Auftreten von ADE bei Individuen mit dem CYP2D6-PM-Genotyp herausarbeiten können (Spina et al. 1992; Arthur et al. 1995; Pollock et al. 1995; Chou et al. 2000; Rau et al. 2004b). Ob auch Patienten mit einem IM-Phäno- bzw. Genotyp vermehrt unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen leiden, wenn sie mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten behandelt werden, wird derzeit kontrovers diskutiert. Obwohl einige Studien eine Korrelation zwischen dem IM-Genotyp und dem Auftreten von ADE aufzeigen konnten (Chen et al. 1996; Kapitany et al. 1998; Chou et al. 2000; Steimer et al. 2005b), können

die Ergebnisse anderer Untersuchungen dieses Konzept nicht stützen (Schillevoort et al. 2002; Wuttke et al. 2002; Rau et al. 2004b). Allerdings zeigten Steimer et al. einen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Auftretens von ADE zwischen Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von 2 und Patienten mit einer Gendosis von 1 (Steimer et al. 2005b).

#### **2.4. CYP2D6 und Ansprechen auf die Psychopharmakotherapie**

Verschiedene Autoren haben in den letzten Jahren einen möglichen Zusammenhang zwischen dem CYP2D6-Phäno- bzw. Genotyp und dem Ansprechen auf die Psychopharmakotherapie untersucht (Pollock et al. 1995; Lane et al. 1997; Mihara et al. 1997a; Aitchison et al. 1999; Brockmoller et al. 2002; Rau et al. 2004b; Steimer et al. 2005b). Dabei zeigte sich in der überwiegenden Anzahl dieser Studien keine Korrelation zwischen CYP2D6 und therapeutischem Erfolg (Baumann et al. 1986; Pollock et al. 1995; Lane et al. 1997; Aitchison et al. 1999; De Vries et al. 2002; Steimer et al. 2005b). Allerdings geben einige Einzelfallbeschreibungen und klinisch kontrollierte Studien einen Hinweis darauf, dass der UM-Phäno- bzw. -Genotyp mit einem schlechterem Ansprechen auf die Therapie vergesellschaftet sein könnte (Bertilsson et al. 1993; Baumann et al. 1998; Brockmoller et al. 2002; Rau et al. 2004b). Rau et al. fanden in ihrer Untersuchung eine signifikant höhere Prävalenz von Patienten mit einem UM-Genotyp in einer Gruppe Therapieversager verglichen mit der Normalbevölkerung (Rau et al. 2004b). Darüber hinaus konnten Mihara et al. in ihrer Studie eine signifikante Beziehung zwischen dem CYP2D6-Genotyp, dem S-Mianserin-Plasmaspiegel und dem Ansprechen auf die Therapie herstellen. Hier zeigten Patienten mit einem heterozygoten CYP2D6-Wildtyp/CYP2D6\*10-Genotyp deutlich höhere S-Mianserin-Plasmaspiegel und eine höhere Rate von Respondern als Patienten mit einem homozygoten CYP2D6-Wildtyp-Status (Mihara et al. 1997a). Auch Ulrich et al. demonstrierten eine signifikante Korrelation zwischen den Plasmaspiegeln von Haloperidol und dem therapeutischen Ansprechen (Ulrich et al. 1998a). De Oliveira et al. zeigten in einer Meta-Analyse von über 50 Studien, dass Haloperidol-Plasmaspiegel oberhalb des therapeutischen Fensters zu einem schlechterem Ansprechen auf die Therapie führen (de Oliveira et al. 1995). In einer anderen Untersuchung ergab sich, dass Patienten, die mit Risperidon in einer niedrigeren täglichen Dosis behandelt wurden, besser auf die Therapie ansprachen als Patienten, die eine höhere Dosis erhalten hatten (Lane et al. 2000).

Es darf davon ausgegangen werden, dass der Einfluss des CYP2D6-Phäno- bzw. Genotyp auf das Therapieansprechen insbesondere dann von Bedeutung ist, wenn für ein bestimmtes Medikament, das über das CYP2D6-Enzym verstoffwechselt wird, eine

Beziehung zwischen therapeutischen Plasmaspiegeln und klinischem Ansprechen existiert (Scordo et al. 2002).

## **2.5. Zielsetzung der Arbeit**

Einige retrospektive Studien haben aufgezeigt, dass die CYP2D6-Genotypisierung ein mögliches Instrument sein kann, um die Psychopharmakotherapie kosten-effektiv und patienten-orientiert zu individualisieren (Chen et al. 1996; de Leon et al. 1998; Chou et al. 2000).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ebenfalls mit dem Einfluss des Cytochrom P4502D6 auf den Therapieverlauf, Wirkungen und Nebenwirkungen einer verabreichten Psychopharmakotherapie.

Zunächst werden im experimentellen Teil der Arbeit neue Analysemethoden entwickelt, um die wichtigsten der bisher beschriebenen Polymorphismen des CYP2D6-Gens in einer kaukasischen Bevölkerung in Kombination mit bereits etablierten Methoden erfassen zu können.

Im zweiten Teil der Arbeit werden dann die Ergebnisse einer prospektiven Studie vorgestellt, deren Ziel es war, die Beziehung zwischen dem CYP2D6-Genotyp und dem Verlauf einer psychiatrischen Therapie zu beurteilen.

Hierzu wurden die Zusammenhänge zwischen semiquantitativer Gendosis und der angewandten Psychopharmakotherapie, den aufgetretenen Nebenwirkungen und dem Ansprechen auf die Therapie untersucht. Ein besonderes Augenmerk richtete sich dabei auf die Frage, ob neben den Patienten mit extremen Genotyp-Varianten, d.h. Individuen mit einer Gendosis von 0 (entsprechend einem PM-Genotyp) oder einer Gendosis von mehr als 2,5 (entsprechend einem UM-Genotyp), auch Individuen mit einer semiquantitativen Gendosis von 0,5 oder 1 (entsprechend dem IM-Genotyp) von ihrem Genotyp hinsichtlich des Therapieverlaufs beeinflusst werden.

Sollte der Genotyp tatsächlich auch bei Patienten mit dem IM-Genotyp ein valider Prädiktor für den Therapieverlauf sein, so könnte die Psychopharmakotherapie durch einfache und dann auch kosten-effektive Genotypisierung vor Therapiebeginn optimiert werden und zeitraubende suboptimale Therapieversuche ebenso vermieden werden wie belastende Überdosierungen. Dadurch würden Qualität und Effizienz dieser Therapie entscheidend verbessert, Behandlungszeiten verkürzt und somit auch Kosten gesenkt.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Chemikalien- und Geräteliste

##### 3.1.1. Geräte

Centrifuge 5415C (Zentrifuge)	Eppendorf, Hamburg
Circomix (Vortexer)	Braun, Melsungen
GeneAmp PCR Systems 9700	PE Applied Biosystems, Weiterstadt
LightCycler™	Roche, Mannheim
LightCycler™ Carousel Centrifuge	Roche, Mannheim
Mini Gel Migration Through, Mupid 2	Cosmo Bio Co, LTD, Offenbach
Photoprint PP-IP-008SD	Ltf-Labortechnik, Wasserburg
SL-Pette® Autoclavable (Pipetten)	Süd-Laborbedarf GmbH, Gauting
Thermostat 5310 (Thermoblock)	Eppendorf, Hamburg
1702 MP 8 (Waage)	Sartorius AG, Göttingen

##### 3.1.2. Polymerasen und Puffer

LC-DNA Master Hybridization Probes	Roche, Mannheim
LC-FastStart DNA Master Hybridization Probes	Roche, Mannheim
‘Sawady’ Long Range PCR System-Enzym 1,67 U/μl	Peqlab, Erlangen
‘Sawady’ Long Range PCR System-10x Reaktionspuffer	Peqlab, Erlangen
MasterAmp 2xPCR Premix D	Epicentre Technologies, Oldendorf
Taq DNA Polymerase 5 U/μl	Q-Biogene, Grünberg

##### 3.1.3. Sonstiges

alle Primer und Hybridisierungssonden	TIB MolBiol, Berlin
Aqua Spüllösung DeltaSelect	DeltaSelect, Pfullingen
Auftragspuffer	Roche, Mannheim
Bovine Serum Albumin	Roche, Mannheim
Desoxy-Ribonucleosid-Tri-Phosphate (dNTP)	Eurogentec, Köln
Eppendorf-Cups	Eppendorf, Hamburg
Ethidiumbromid (1%ige Lösung)	Merck, Darmstadt
1 Kb Plus DNA Ladder, 50 bp Ladder	Invitrogen, Karlsruhe

LightCycler™ Capillaries	Roche, Mannheim
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	Roche, Mannheim
Mineral Oil	Sigma-Aldrich, Taufkirchen
NEBuffer 4	New England Biolabs, Schwalbach
Nukleotide (5 mM)	Roche, Mannheim
PeqGold Universal Agarose	Peqlab, Erlangen
Restriktionsenzyme (Nla III, Sma I, Ban II, Hph I)	New England Biolabs, Schwalbach
10xTBE Buffer	Invitrogen, Karlsruhe
Thermo Tube™ PCR-Tubes 0,2	Peqlab, Erlangen
Wizard® Genomic DNA Purifikation Kit	Promega, Mannheim

### 3.2. Allgemeines

#### 3.2.1. PCR

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (polymerase chain reaction, PCR) ist eine Methode zur spezifischen exponentiellen Amplifikation eines bis zu mehreren Tausend Basenpaaren (base pairs, bp) langen DNA-Abschnittes (Template), der durch zwei Primer markiert wird. Die PCR-Primer sind künstlich synthetisierte Oligonukleotide, die meist zwischen 15 und 25 bp lang sind und die die komplementäre Basensequenz zu den beiden Enden der Zielsequenz aufweisen. Die exponentielle Vervielfältigung der DNA geschieht dann mittels einer hitzestabilen taq-Polymerase aus Bakterium *Thermus aquaticus* in drei Reaktionsschritten mit verschiedenen Temperaturen und unter definierten Reaktionsbedingungen. Im ersten Schritt wird die DNA bei etwa 94°C zu Einzelsträngen denaturiert. Anschließend binden die Primer bei Temperaturen zwischen 45 und 55 °C an die entsprechende Zielsequenz (Annealing). Ausgehend von den Primern synthetisiert die taq-Polymerase unter Verwendung der im Reaktionsansatz enthaltenen Desoxyribonukleosid-Triphosphate bei ca. 72 °C neue, zum vorliegenden Einzelstrang komplementäre DNA-Stränge (Extension). Durch Wiederholung dieser drei Reaktionsschritte (20-40x) wird der DNA-Abschnitt, der zwischen den beiden Primern liegt, milliardenfach amplifiziert. Die konventionelle PCR wurde im Gerät GeneAmp PCR Systems 9700 der Firma PE Applied Biosystems, Weiterstadt, durchgeführt.

Die LightCycler™-Technologie folgt dem Prinzip der konventionellen PCR und bietet dabei den Vorteil, dass die Dauer der Temperaturprogramme deutlich verkürzt und der Verlauf

der PCR anhand von Fluoreszenzsignalen direkt am angeschlossenen Computer verfolgt werden kann.

Hybridisierungssonden ermöglichen außerdem die sofortige Detektion von Mutationen der zu untersuchenden DNA nach dem FRET-Prinzip (Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer). Hierzu werden dem Standard-PCR-Ansatz zusätzlich zwei sequenzspezifische Oligonukleotide (Hybridisierungssonden) zugefügt, welche in räumlicher Nähe zueinander zwischen den beiden Primern an die Ziel-DNA binden. Diese Hybridisierungssonden sind mit zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert (hier: Fluorescein am 3'-Ende und LC-Red 640 am 5'-Ende). Mit einer 470 nm-Leuchtdiode des LightCyclers™ wird das Fluorescein angeregt und überträgt, wenn beide Hybridisierungssonden an die DNA gebunden sind, Energie auf das benachbarte Red-Fluorophor, welcher daraufhin eine rote Fluoreszenz bei 640 nm emittiert. Die Detektion der Mutationen nach diesem Prinzip erfolgt im Anschluss an die PCR in der sog. Schmelzkurvenanalyse. Dabei wird die Temperatur in der Reaktionskammer nach der letzten Anlagerung der Primer schrittweise erhöht. Je nach Bindungsaffinität der Sonden lösen sich diese nun bei einer gewissen Temperatur von der DNA ab, und das FRET-Signal verschwindet. Bildet man mathematisch die erste Ableitung des FRET-Wertes gegen die Temperatur, dann erhält man ein Maximum bei der stärksten Abnahme des FRET-Signals pro Temperaturdifferenz, dem Schmelzpunkt. Setzt man im Bereich der gesuchten Mutation eine Wildtyp-Hybridisierungssonde ein (Basensequenz komplementär zum Wildtyp-Allel), dann löst sich diese bei Vorhandensein einer Punktmutation bei niedrigerer Temperatur von der DNA ab als bei Vorliegen einer Wildtyp-Sequenz. Die Schmelzkurvenanalyse zeigt also je nach Genotyp der zu untersuchenden Probe zwei Schmelzpunkte, einen bei niedrigerer Temperatur für die Mutation und einen bei höherer Temperatur für den Wildtyp.

Das Verfahren der Real-Time PCR auf dem LightCycler™ der Firma Roche, Mannheim, ermöglicht so eine größtmögliche Verkürzung der Reaktions- und Arbeitszeit und eine direkte Darstellung des PCR-Produktes ohne weitere Arbeitsschritte. Dadurch wird auch die Gefahr einer Kontamination der DNA minimiert.

#### **3.2.1.1. Allgemeine Durchführung der PCR**

Alle Komponenten der Stock-Lösungen der unten aufgeführten PCR-Reaktionen wurden jeweils in ein steriles Eppendorf-Gefäß pipettiert, vermischt und zentrifugiert. Anschließend wurde ein Aliquot der Lösung in ein 200 µl-Tube (für die konventionelle PCR) bzw. in eine LightCycler™-Kapillare (für die Real-Time PCR) überführt und DNA dazugegeben. Die Reaktionslösung für die konventionelle PCR wurde abschließend mit einem Tropfen Mineralöl überschichtet, die Reaktionslösung in der LightCycler™-Kapillare



musste noch einmal zentrifugiert werden. Für alle PCR-Reaktionen wurde gleichzeitig eine Leerkontrolle mitgeführt, um eine unspezifische Amplifikation von kontaminierender DNA auszuschließen.

Beide Ansätze wurden dann ohne Verzögerung in das jeweilige Gerät (GeneAmp PCR Systems 9700 oder Roche LightCycler™) eingebracht und die Amplifikationsreaktion gemäß den angegebenen Programmen gestartet.

### **3.2.2. Analyse der PCR-Produkte**

Für die weitere Analyse der amplifizierten PCR-Produkte standen mehrere Methoden zur Verfügung.

#### **3.2.2.1. Gelelektrophorese**

Die Wanderung elektrisch geladener Teilchen im Gleichstromfeld wird als Elektrophorese bezeichnet. Dabei hängt die Wanderungsgeschwindigkeit dieser Teilchen im Agarosegel von ihrer Größe ab: kleinere Moleküle laufen schneller, größere langsamer. Kleine DNA-Fragmente bis 10 000 bp lassen sich leicht im Agarosegel elektrophoretisch auftrennen, weil Nukleinsäuren unter spezifischen Pufferbedingungen eine negative Ladung aufweisen und von der Kathode zur Anode laufen. Da alle spezifisch amplifizierten Produkte einer PCR-Reaktion die gleiche Länge haben und somit im Gel gleich schnell wandern, erscheinen sie nach Färbung mit Ethidiumbromid als definierte Bande unter UV-Licht. Durch die gleichzeitige Elektrophorese von DNA-Fragmenten bekannter Länge (sog. Längenmarker) kann auf die Größe des zu untersuchenden PCR-Produktes geschlossen werden.

##### **3.2.2.1.1. Herstellung des Gels**

Zur Herstellung eines Agarosegels mit einer definierten Agarosekonzentration wurde eine entsprechende Menge Agarose (PeqGold Universal Agarose) in einen sterilen Erlenmeyerkolben eingewogen (0,21 g für ein 0,7%iges Gel, 0,6 g für ein 2%iges Gel und 0,75 g für ein 2,5%iges Gel) und mit 30ml 1xTBE-Puffer aufgegossen. Die Mischung wurde in der Mikrowelle drei Mal aufgekocht, anschließend unter dem Abzug mit 3 µl 1%igem Ethidiumbromid versehen und auf einen Gelträger aufgebracht. Dann wurde ein Rasterkamm in das noch flüssige Gel gesteckt. Nach ca. 10 Minuten konnte das nun feste Gel mit einer Mischung aus 10 ml 1xTBE-Puffer und 1 µl 1%iger Ethidiumbromidlösung überschichtet werden. Das fertige Agarosegel wurde dann für mindestens 30 Minuten im Kühlschrank gekühlt.

### 3.2.2.1.2. Auftragen der PCR-Produkte und Durchführung der Elektrophorese

Jeweils 5 µl PCR-Produkt wurde mit 1 µl Auftragspuffer vermischt und 5 µl dieser Proben-Puffer-Mischung in je eine Tasche des vorbereiteten Gels pipettiert. Zum Abschätzen der Fragmentgröße wurde eine Bahn des Gels mit einem Längenmarker beschickt (1 Kb Plus DNA Ladder oder 50 bp Ladder). Das Gel wurde dann in die Elektrophoresekammer (Mini Gel Migration Through, Mupid 2 der Firma Cosmo Bio Co, Offenbach) eingelegt, und zwar so, dass die aufgetragenen Proben kathodenseitig zu liegen kamen.

Die Laufzeiten der Elektrophoresen betragen jeweils 30 Minuten bei 100 Volt. Dabei wanderten die Fragmente je nach Größe unterschiedlich weit in Richtung Anode.

Die Fragmente wurde nach Anregung durch UV-Licht photographiert und ein Bild auf Thermopapier ausgedruckt (Photoprint PP-IP-008SD der Firma Ltf-Labortechnik, Wasserburg).

### 3.2.2.2. RFLP-Analyse

Spezifische Mutationen können durch den Einsatz von DNA-schneidenden Enzymen, den sogenannten Restriktionsendonukleasen oder –enzymen, detektiert werden. Jedes Restriktionsenzym hat eine charakteristische, häufig pallindromisch organisierte und aus 4 oder 6 bp bestehende Erkennungssequenz, die sogenannte Restriktionsstelle, an der es die DNA schneidet. Die unterschiedliche Länge der DNA-Fragmente nach Restriktionsenzym-Verdau wird in der RFLP (Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus)–Analyse für den Mutationsnachweis genutzt.

Die verwendeten Restriktionsenzyme, die von der Firma New England Biolabs, Schwalbach, bezogen wurden, und ihre spezifischen Restriktionsstellen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Verwendete Restriktionsenzyme und Restriktionsstellen

Enzym	Restriktionsstelle
Ban II	5'...GPuGCPy/C...3'
Hph I	5'...GGTGA(N) <sub>8</sub> /...3'
Nla III	5'...CATG/...3'
Sma I	5'...CCC/GGG...3'

#### 3.2.2.2.1. Durchführung der RFLP-Analyse

Alle Komponenten der Stock-Lösungen (Tabelle 3) wurden in ein steriles Eppendorf-Gefäß pipettiert, anschließend gemischt und zentrifugiert. Jeweils 10 µl der Stock-Lösung (15 µl bei Nla III) wurden in ein neues Eppendorf-Gefäß überführt und je 10 µl PCR-

Produkt hinzugefügt (5 µl bei Nla III). Der Ansatz wurde mit einem Tropfen Mineralöl überschichtet und entsprechend den Vorschriften für das betreffende Enzym im Thermoblock (Thermostat 5310) inkubiert (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Stocklösungen und Reaktionsbedingungen

	Enzym	H <sub>2</sub> O	Neb4	BSA	Reaktionsbedingungen
<b>Ban II</b>	2 µl	6 µl	2 µl	-	37 °C, über Nacht
<b>Hph I</b>	2 µl	6 µl	2 µl	-	37 °C, über Nacht
<b>Nla III</b>	1,5 µl	11,3 µl	2 µl	0,2 µl	37 °C, 2 Stunden
<b>Sma I</b>	0,5 µl	7,5 µl	2 µl	-	25 °C, über Nacht

Die entstandenen Fragmente wurden wie die nativen PCR-Produkte mittels Gelelektrophorese zur Darstellung gebracht, dabei wurde für alle Reaktionen ein 0,7%iges Agarosegel verwendet.

### 3.3. CYP2D6-Genotypisierung

Die Extraktion der DNA erfolgte aus Leukozyten des peripheren Blutes in EDTA-Blut mit Hilfe des „Wizard® Genomic DNA Purification Kit“ der Firma Promega, Mannheim entsprechend den Vorschriften des Herstellers. Zusätzlich benötigt wurden sterile Eppendorf-Cups, reines Isopropanol und 70%iges reines Ethanol.

#### 3.3.1. Bereits etablierte Methoden

Die bereits etablierten Methoden zum Nachweis des CYP2D6\*3-, \*4-, \*5-, \*6-, \*7-, \*8-, \*9-, \*10- und \*17-Allels sowie der Genduplikation wurden am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München entwickelt oder nach bereits publizierten Methoden adaptiert.

##### 3.3.1.1. Präamplifikation

Die Präamplifikation des gesamten CYP2D6-Gen erfolgte als Adaptation einer Methode von Stüven et al. für die Anwendung auf dem LightCycler™ (Stüven et al. 1996; Muller et al. 2003). Tabelle 4 zeigt die Sequenz der verwendeten Primer CYP2D6-F und CYP2D6-R und das benutzte Temperaturprogramm.

##### 3.3.1.2. Detektion der CYP2D6\*3-, \*4-, \*6-, \*7- und \*8-Allele

Das Produkt der Präamplifikation wurde mit Wasser verdünnt und in eine beschriebene Multiplex-PCR (Stüven et al. 1996) auf dem GeneAmp PCR Systems 9700 eingesetzt.

Die verwendeten Primer (MF, A1, A2, B1, B2, E3, E4, T1, T2, G1 und G2 für die Multiplex-PCR) und das Temperaturprogramm können Tabelle 4 entnommen werden.

#### **3.3.1.3. Detektion der Gen-Duplikation und –Deletion (CYP2D6\*5-Allel)**

Sowohl die Gen-Duplikation als auch die Gen-Deletion wurden mit Hilfe von Hybridisierungssonden auf dem LightCycler der Firma Roche, Mannheim, analysiert (Muller et al. 2003). Primer und Hybridisierungssonden (Del-F, Del-R, Dup-F, Dup-R, Rep 1 und Rep 2) der Reaktion sind in Tabelle 4 aufgeführt.

#### **3.3.1.4. Detektion des CYP2D6\*10-Allels**

Zur Detektion des \*10-Allels wurde das Produkt der Präamplifikation in eine bereits beschriebene PCR eingesetzt (Ji et al. 2002b). Die verwendeten Primer zeigt Tabelle 4.

#### **3.3.1.5. Detektion des CYP2D6\*9- und \*17-Allels**

Das Produkt der Präamplifikation wurde zur Detektion des \*9- und \*17-Allels in eine beschriebene Real-Time-PCR auf dem LightCycler<sup>TM</sup> eingesetzt (Steimer et al. 2005a). Primer und Hybridisierungssonden (CYP9F, CYP9R, CYP9sens, CYP9an für das CYP2D6\*9-Allel, CYP17F, CYP17R, CYP17sens und CYP17an für das CYP2D6\*17-Allel) sind ebenfalls Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4: Primer und Reaktionsbedingungen

	Primer	PCR-Bedingungen (Roche LightCycler™)
<b>Präamplifikation</b>	<b>C2D6-F</b> 5'-GGT AAG GGC CTG GAG CAG GAA-3' <b>C2D6-R</b> 5'-GCC TCA ACG TAC CCC TGT CTC-3'	2 min bei 95 °C; 35 Zyklen à 10 s bei 95 °C, 10 s bei 68 °C, 180 s bei 68 °C; Schmelzkurve von 50 bis 80 °C
<b>Multiplex-PCR</b>	<b>MF</b> 5'-GTG GGG CTA ATG CCT T-3' <b>A1</b> 5'-GGG TCC CAG GTC ATC CT-3' <b>A2</b> 5'-GGG TCC CAG GTC ATC CG-3' <b>B1</b> 5'-CGA AAG GGG CGT CC-3' <b>B2</b> 5'-CGA AAG GGG CGT CT-3' <b>E3</b> 5'-GCT GCA CAT CCG GAT-3' <b>E4</b> 5'-GCT GCA CAT CCG GAG-3' <b>T1</b> 5'-CTC CTC GGT CAC CCA-3' <b>T2</b> 5'-CTC CTC GGT CAC CCC-3' <b>G1</b> 5'-TCT GCC CAT CAC CCA CC-3' <b>G2</b> 5'-TCT GCC CAT CAC CCA CA-3'	2 min bei 94 °C; 15 Zyklen à 20 s bei 94 °C, 30 s bei 75 - 57 °C, 150 s bei 72 °C; 8 min bei 72 °C (Gerät: PE 9700)
<b>Deletion</b>	<b>Del-F</b> 5'-ACC GGG CAC CTG TAC TCC TCA-3' <b>Del-R</b> 5'-GCA TGA GCT AAG GCA CCC AGA C-3' <b>Rep 1</b> 5'-TGC TGC CTC CCA CTC TGC AGT GCT C-3'fluorescein <b>Rep 2</b> 5'-LCRed640-ATG GCT GCT CAG TTG GAC CCA CGC T-3'phosphate	2 min bei 95 °C; 35 Zyklen à 10 s bei 95 °C, 10 s bei 68 °C, 180 s bei 68 °C; Schmelzkurve von 50 bis 80 °C
<b>Duplikation</b>	<b>Dup-F</b> 5'-CCC TCA GCC TCG TCA CCT CAC-3' <b>Dup-R</b> 5'-CAC GTG CAG GGC ACC TAG AT-3' <b>Rep 1</b> 5'-TGC TGC CTC CCA CTC TGC AGT GCT C-3'fluorescein <b>Rep 2</b> 5'-LCRed640-ATG GCT GCT CAG TTG GAC CCA CGC T-3'phosphate	wie Deletion
<b>CYP2D6*10</b>	<b>L10mut</b> 5'-GGG GGC CTG GTG A-3' <b>L10wt</b> 5'-GGG GGC CTG GTG G-3'	5 min bei 94 °C; 35 Zyklen à 30 s bei 94 °C, 20 s bei 57 °C, 20 s bei 72 °C; 3 min bei 72 °C (Gerät: PE 9700)
<b>CYP2D6*9</b>	<b>CYP9F</b> 5'-CTC CTA TCC ACG TCA GAG AT-3' <b>CYP9R</b> 5'-GAG AGC ATA CTC GGG ACA G-3' <b>CYP9sens</b> 5'-AGA GAT GGA GAA GGT GAG A-3'fluorescein <b>CYP9an</b> 5'-LCRed640-TGG CTG CCA CGG TGG GG-3'phosphate	3 min bei 95 °C, 35 Zyklen à 5 s bei 95 °C, 13 s bei 50 °C, 45 s bei 72 °C, Schmelzkurve von 32 bis 75 °C
<b>CYP2D6*17</b>	<b>CYP17F</b> 5'-GGT GGT CGT GCT CAA T-3' <b>CYP17R</b> 5'-GGT CCC ACG GAA ATC T-3' <b>CYP17sens</b> 5'-LCRed640-GCC CAT CAC CCA GAT CCT-3'phosphate <b>CYP17an</b> 5'-CCG ACC GCC CGC CT-3'fluorescein	wie CYP2D6*9

### 3.3.2. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6\*35-Allels

Zum Nachweis des \*35-Allels wurde eine PCR auf dem LightCycler™ der Firma Roche, Mannheim, etabliert. Das Produkt der Präamplifikation (siehe 3.3.1.1) wurde im Verhältnis 1:10 mit Wasser (steriles Aqua dest.) verdünnt und in die Reaktion eingesetzt. Die verwendeten Primer und Sonden (Cyp31F, Cyp31R, Wildtyp\*35 und Anchor\*35) können Tabelle 5 entnommen werden.

Tabelle 5: Primer und Hybridisierungssonden der \*35-PCR

Cyp31F	5'-TCA ACA CAG CAG GTT CA-3'
Cyp31R	5'-ACG GCA CTC AGG ACT AAC TC-3'
Wildtype *35	5'-GTG AGG CAG GTA TGG GGC TAG AAG CAC TG- 3'fluorescein
Anchor *35	5'-LC Red640-GCC CCT GGC CGT GAT AGT G-3'phosphate

In einem Gesamtvolumen von 20 µl wurden nachfolgende Reagenzien eingesetzt (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Zusammensetzung der Reaktionslösung der \*35-PCR

Reagens	Volumen
H <sub>2</sub> O	13,8 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	0,4 µl
Primer 31F	0,6 µl
Primer 31R	0,6 µl
Sonde Cyp31M	0,8 µl
Sonde Cyp31Anchor	0,8 µl
LC-DNA Master Hybridization Probes	2 µl
DNA (Verdünnung der Präamplifikation)	1 µl

Die MgCl<sub>2</sub>-Endkonzentration des Reaktionsgemisches betrug 1,5 mmol/l.

Das folgende Temperaturprogramm wurde benutzt: einer Denaturierungsphase von 10 Sekunden bei 95 °C folgte die Amplifikation mit 26 Zyklen, bestehend aus je 10 Sekunden bei 95 °C, 10 Sekunden bei 58 °C und 30 Sekunden bei 72 °C. Die Schmelzkurve begann bei einer Temperatur von 51 °C und endete bei 75 °C, die Rampengeschwindigkeit betrug 0,1 °C pro Sekunde.

Es entstand ein Fragment mit einer Größe von 689 bp, welches zusätzlich zur Real-Time PCR mittels Agarosegelelektrophorese auf 2%igem Agarosegel zur Darstellung gebracht wurde.

Zur Validierung der Methode wurden 60 DNA-Proben parallel mittels Verdau durch das Restriktionsenzym Nla III analysiert (Lovlie et al. 2001; Steimer et al. 2002a; Muller et al. 2003).

### 3.3.3. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6\*41/\*2-Polymorphismus

Auch zur Differenzierung zwischen dem \*41-(\*2C-) und \*2-(\*2G-)Allels wurde eine Real-Time PCR entwickelt. Mit Hilfe von Primern, die spezifisch an das \*2-Allel binden, konnte ein Fragment bestehend aus 408 bp amplifiziert werden (Johansson et al. 1993). Die Sequenzen von Primern und Sonden (UpF14, 10 B, C2D6-1584C und Anchor-1584) können Tabelle 7 entnommen werden.

Tabelle 7: Primer und Hybridisierungssonden der \*2-PCR

Up F 14	5'-GCC TGG ACA ACT TGG AAG AAC C-3'
10 B	5'-GTG GTG GGG CAT CCT CAG G-3'
C2D6-1584C	5'-LCRed640-TTG TAG AGA CCG GGT TCT T-3'phosphate
Anchor-1584	5'-GCA CCC AAT CCC AGC TAA TTT TGT ATT-3'fluorescein
F-Sma	5'-CTG GAC AAC TTG GAA GAC <sub>C</sub> CC <sup>m</sup> -3'
R-Sma	5'-ATG TTG GCC AGG CTA GTC TT-3'

Das Gesamtvolumen der Reaktion betrug 20 µl. Es wurde mit folgendem Ansatz gearbeitet, der eine MgCl<sub>2</sub>-Endkonzentration von 0,8 mmol/l aufwies (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Zusammensetzung der Reaktionslösung der \*2-PCR

Reagens	Volumen
H <sub>2</sub> O	12,86 µl
Puffer	2 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	0,64 µl
DTNP (5mM)	0,4 µl
Primer 10B	0,4 µl
Primer UpF14	0,9 µl
Sonde C2D6-1584C	0,4 µl
Sonde Anchor -1584	0,4 µl
Albumin	0,5 µl
Polymerase	0,5 µl
DNA	1 µl

Das Enzym „Sawady Long Range PCR-System“ der Firma Peqlab, Erlangen, wurde zusammen mit dem empfohlenen Puffer verwendet.

Das Reaktionsgemisch wurde in das folgende Temperaturprogramm auf dem LightCycler™ eingesetzt: Die Denaturierungszeit betrug 210 Sekunden bei 95 °C, dann folgte die Amplifikation mit 32 Zyklen aus je 10 Sekunden bei 95 °C, 10 Sekunden bei 64 °C und 85 Sekunden bei 68 °C. Die Schmelzkurve begann bei 40 °C und endete bei 70 °C mit einer Rampengeschwindigkeit von 0,1 °C pro Sekunde.

Das entstandene DNA-Fragment wurde mittels Gelelektrophorese (2%iges Agarosegel) zur Darstellung gebracht.

Zur Überprüfung der gewonnenen Ergebnisse wurde das Produkt der oben beschriebenen \*2-spezifischen PCR in eine neue PCR mit den Primern F-sma und R-sma eingesetzt (sog. „nested PCR“). Die Sequenzen dieser Primer sind ebenfalls in Tabelle 7 aufgeführt. Durch die beiden mutagenen Primer wurde eine Schnittstelle für Restriktionsenzyme in das Produkt eingeführt. Für diese Reaktion wurde das Produkt der oben beschriebenen \*2-spezifischen Reaktion 1:50 mit sterilem Wasser verdünnt und in die nested PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz kann Tabelle 9 entnommen werden.



Tabelle 9: Zusammensetzung der Reaktionslösung der \*2-nested PCR

	Volumen
H <sub>2</sub> O	42,5 µl
Puffer	5 µl
dNTP (5mM)	0,2 µl
Primer F-sma	1 µl
Primer R-sma	1 µl
Polymerase	0,3 µl
DNA (1:50-Verdünnung der Präamplifikation)	1 µl

Puffer und Taq DNA Polymerase der Firma Q-Biogene, Grünberg, wurden verwendet.

Die PCR verlief auf dem Gerät GeneAmp PCR Systems 9700 mit dem folgenden Temperaturprogramm: Nach einer Denaturierungszeit von 180 Sekunden bei 94 °C folgte die Amplifikation mit 20 Zyklen aus je 20 Sekunden bei 94 °C, 15 Sekunden bei 60 °C und 120 Sekunden bei 68 °C.

Das entstandene 151 bp große Produkt wurde mittels des Restriktionsenzym Sma I verdaut (Raimundo et al. 2000; Muller et al. 2003).

### 3.3.4. Real-Time PCR zur Unterscheidung zwischen Homozygotie oder Heterozygotie des CYP2D6\*2 und CYP2D6\*41-Allels

In der unter 3.3.3 beschriebenen PCR zur Analyse des CYP2D6\*2- und \*41-Allels konnte bei Vorliegen nur eines Peaks und Ausschluss einer anderen Mutation nicht unterschieden werden zwischen einem homozygoten Genstatus oder einer Heterozygotie CYP2D6\*1/\*2 bzw. \*1/\*41. Zur Analyse dieser Proben wurde ebenfalls eine Real-Time PCR auf dem LightCycler etabliert. Auch hier wurde das Produkt der Präamplifikation mit Wasser verdünnt und in die Reaktion eingesetzt. Primer und Sonden der Reaktion (\*2/1-F, \*2/1-R, \*2/1-Anch und \*2/1-Mut) sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Primer und Hybridisierungssonden der \*1/\*2 \*41-PCR

*2/1-F	5'-CAC CAT GGT GTC TTT GCT TTC-3'
*2/1-R	5'-CAG CCT CAA CGT ACC CCT-3'
*2/1-Anch	5'-CCA TTC TAG CGG GGC ACA GCA CAA A-3'fluorescein
*2/1-Mut	5'-LC Red640-CTC ATA GGG GGA TCG GCT CAC-3'phosphate

Folgende Reagenzien wurden in einem Gesamtvolumen von 20 µl verwendet (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Zusammensetzung der Reaktionslösung der \*1/\*2\_\*41-PCR

	Volumen
H <sub>2</sub> O	13,8 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2 µl
Primer *2/1-F	0,4 µl
Primer *2/1-R	0,4 µl
Sonde *2/1-Mut	0,4 µl
Sonde *2/1-Anch	0,4 µl
LC-FastStart DNA Master Hybridization Probes	2 µl
DNA (Verdünnung der Präamplifikation)	1 µl

Das Reaktionsgemisch wies eine MgCl<sub>2</sub>-Endkonzentration von 3,5 mmol/l auf.

Ein Temperaturprogramm wie folgt wurde angewandt: nach einer Denaturierungsphase von 10 Minuten bei 95 °C schloss sich die Amplifikation, bestehend aus 26 Zyklen mit je 20 Sekunden bei 95 °C, 30 Sekunden bei 58 °C und 30 Sekunden bei 72 °C, an. Die Schmelzkurve begann bei einer Temperatur von 35 °C und endete bei 75 °C, die Rampengeschwindigkeit betrug 0,1 °C pro Sekunde.

Das entstehende Produkt hatte eine Größe von 260 bp und wurde zusätzlich zur Real-Time PCR mittels Agarosegelelektrophorese sichtbar gemacht (2,5%iges Agarosegel).

Zur Bestätigung der Ergebnisse wurden 60 DNA-Proben parallel mittels Verdau durch das Restriktionsenzym Ban II analysiert.

### 3.3.5. PCR zur Unterscheidung zwischen CYP2D6\*1XN, \*2XN und \*4XN

Bei Individuen mit dem Nachweis der Duplikation kann mit oben beschriebener Methode (siehe 3.3.1.3) nicht differenziert werden zwischen der Duplikation eines funktionellen Allels (\*1 oder \*2 bzw. \*41) (Johansson et al. 1993; Dahl et al. 1995) oder eines nicht-funktionellen Allels (\*4) (Masimirembwa et al. 1993; Lovlie et al. 1996). Darum wurde eine beschriebene PCR (Sachse et al. 1997) zur Diskrimination zwischen den duplizierten Allelen adaptiert und bei allen Proben mit positivem Duplikationsnachweis durchgeführt. Die verwendeten Primer (12Lx2F, 12Lx2R, 12AP921R, 12BP11-4F und 12BP124R) können Tabelle 12 entnommen werden.

Tabelle 12: Primer der Reaktion

12Lx2F	5'-GCC ACC ATG GTG TCT TTG CTT TC-3'
12Lx2R	5'-ACC GGA TTC CAG CTG GGA AAT G-3'
12AP92-1R	5'-CTC AGC CTC AAC GTA CCC CT-3'
12BP11-4F	5'-TCA ACA CAG CAG GTT CA-3'
12BP124R	5'-CTG TGG TTT CAC CCA CC-3'

Einer ersten PCR (Reaktion 12) mit den Primern P2x2f und P2x2r folgten zwei „nested PCR“ (Reaktionen 12A und 12B) mit den Primern 12Lx2F und 12AP921R (Reaktion 12A) bzw. 12BP11-4F und 12BP124R (Reaktion 12B).

Für die erste PCR (Reaktion 12) wurde mit folgendem Ansatz in einem Gesamtvolumen von 37,5 µl gearbeitet (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: Zusammensetzung der Reaktionslösung der Reaktion 12

	Volumen
H <sub>2</sub> O	24,25 µl
Puffer	3,75 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2 µl
dNTP (5mM)	2 µl
Primer 12Lx2F	0,5 µl
Primer 12Lx2R	0,5 µl
Polymerase	2 µl
DNA	2,5 µl

Es wurde die Taq DNA Polymerase der Firma Q-Biogene zusammen mit dem empfohlenen Puffer verwendet.

Das Temperaturprotokoll verlief wie folgt auf dem Gerät GeneAmp PCR Systems 9700: Die Denaturierungszeit betrug 180 Sekunden bei 94 °C, dann folgte die Amplifikation mit 34 Zyklen aus je 20 Sekunden bei 94 °C, 30 Sekunden bei 62 °C und 10 Minuten bei 68 °C. Die Schlußelongation betrug 30 Minuten bei 68 °C.

Für die Reaktionen 12A und 12B wurden die nachstehenden Ansätze (siehe Tabelle 14) verwendet, außerdem ein einheitliches Temperaturprogramm mit einer Denaturierungszeit von 120s bei 94 °C, gefolgte von der Amplifikation, bestehend aus 15 Zyklen mit je 20 Sekunden bei 94 °C, je 30 Sekunden bei abfallender Temperatur beginnend im ersten Cycle mit 75 °C und endend im letzten Cycle mit 57 °C und anschließend je 150 Sekunden bei 72 °C. Die Schlußelongation betrug 8 Minuten bei 72 °C.

Tabelle 14: Zusammensetzung der Reaktionslösung der Reaktion 12A bzw. 12B

	Volumen
H <sub>2</sub> O	10,05 µl
Primer 12Lx2F (12A) bzw. 12BP11-4F (12B)	0,8 µl
Primer 12AP921R (12A) bzw. 12BP124R (12B)	0,4 µl
MasterAmp 2xPCR Premix D	12,5 µl
Taq DNA Polymerase	2 µl
DNA	1 µl

Die Reaktionsprodukte aller drei Ansätze wurden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt und sichtbar gemacht (0,7%iges Gel für Reaktion 12; 2,5%iges Gel für die Reaktionen 12A und 12B). In der Reaktion 12 entstand ein Produkt mit einer Größe von 10 000 bp. Das Produkt der Reaktion 12A umfasste 264 bp und wurde mit dem Restriktionsenzym Ban II verdaut, das Produkt der Reaktion 12B mit 433 bp durch das Restriktionsenzym Hph I.

### 3.4. Studie

#### 3.4.1. Studiendesign

Es handelte sich um eine prospektive, stationäre und in Bezug auf den CYP2D6-Genstatus doppelt-blind angelegte Studie, die an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München durchgeführt wurde. Verantwortlicher Projektleiter war Herr PD Dr. W. Steimer, Oberarzt des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie. Außerdem wurde die Studie von Herrn PD Dr. W. Kissling und Herrn PD Dr. S. Leucht, beides Oberärzte der Klinik für Psychiatrie, und Herrn Dr. S. Heres, Assistenzarzt der Klinik für Psychiatrie, supervidiert. Die Bewilligung zur Durchführung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Fakultät für Medizin der Technischen Universität.

##### 3.4.1.1. Einschlusskriterien

In die Studie wurden Patienten beiderlei Geschlechts eingeschlossen, die zwischen dem 01. Mai 2002 und 01. Mai 2003 in die Klinik für Psychiatrie aufgenommen wurden und folgende Einschlusskriterien erfüllten: die Patienten mussten mindestens 18 Jahre alt und einwilligungsfähig sein, außerdem musste eine Grunderkrankung bestehen, die eine

Behandlung mit Antidepressiva oder Neuroleptika erforderlich machte (also depressive Störungen, Erkrankungen aus dem schizophrenen Formenkreis, Zwangsstörungen und Angststörungen).

Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war die schriftliche Einwilligung des Patienten, die nach einer ausführlichen Aufklärung über Nutzen und Risiken der Studie erfolgte und jederzeit widerrufen werden konnte.

#### **3.4.1.2. Ausschlusskriterien**

Ausschlusskriterien waren andere Erkrankungen als die oben aufgeführten, insbesondere Demenzen und Drogen- oder Alkoholabhängigkeit.

#### **3.4.2. Studienaufbau und erhobene Variablen**

Nach Einwilligung der Patienten zur Aufnahme in die Studie wurden in einem ausführlichen Gespräch folgende Daten erhoben: neben demographischen Daten wurde die medizinische Anamnese und speziell die psychiatrische Vorgeschichte und Vorgeschichte der aktuellen Erkrankung erfasst.

Zur Beurteilung des klinischen Zustandes der Patienten diente die Paranoid-Depressivitätsskala von von Zerssen (PD-S) (Collegium Internationale Psychiatriae Scolarum 1996).

Im Rahmen der routinemäßigen Blutabnahmen wurde den Patienten zusätzlich ETDA-Blut zur Bestimmung des CYP2D6-Genotyps abgenommen.

Die Therapie erfolgte dann entsprechend dem jeweiligen Krankheitsbild und gemäß dem aktuellen Stand medizinischer Kenntnis.

Vier Wochen nach der Aufnahme folgte ein erneuter Patientenkontakt wiederum mit Erhebung des klinischen Zustandes mittels PD-S. Des Weiteren wurden eventuell aufgetretene unerwünschte Arzneimittelwirkungen mit Hilfe einer abgewandelten Version der DOTES (Dosage Record and Treatment Emergent Symptom Scale) (Collegium Internationale Psychiatriae Scolarum 1996) festgehalten. Nach Entlassung der Patienten wurde die Aufenthaltsdauer sowie die während der stationären Behandlung angewandte medikamentöse Therapie und Begleitmedikation mit generischem Namen, Dosierung, Verabreichungsform, Beginn und Ende der Einnahme erfasst.

##### **3.4.2.1. Bildung der Gendosisgruppen**

Entsprechend dem Ergebnis der Genotypisierung wurde für jeden Patienten unter Berücksichtigung der neuesten Erkenntnisse in der Literatur eine semiquantitative Gendosis ermittelt, wobei Anzahl und Aktivität der nachgewiesenen Allele berücksichtigt

wurden. Anschließend wurden die Patienten in Gendosis-Gruppen zusammengefasst (siehe Tabelle 15), um eine statistischen Auswertung zu ermöglichen. Die Gendosis-Gruppen 0, 1, 2 und 3 entsprechen in etwa der bisher in der Literatur verwendeten Nomenklatur des PM-, IM-, EM- und UM-Genotyps.

Tabelle 15: CYP2D6-Genotypen, semiquantitative Gendosis und Zuordnung zu Gendosis-Gruppen

<b>CYP2D6-Genotyp</b>	<b>Anzahl aktiver Allele</b>	<b>Aktivität der Allele<sup>a</sup></b>	<b>Semiquantitative Gendosis</b>	<b>Gendosis-Gruppe</b>
*1XN/*1	≥3	+/+	≥3	3
*1XN/*2	≥3	+/+	≥3	3
*2XN/*1	≥3	+/+	≥3	3
*2XN/*2	≥3	+/+	≥3	3
*1XN/*9	≥3	+/(+)	≥2,5	3
*2XN, *2/*41, *17	≥3	+/(+)	≥2	?
*1XN/*3	≥2	+/-	≥2	?
*1XN/*4	≥2	+/-	≥2	?
*1/*1	2	+/+	2	2
*1/*2	2	+/+	2	2
*2/*2	2	+/+	2	2
*41XN/*41	≥3	(+)/(+)	≥1,5	?
*1/*9	2	+/(+)	1,5	2
*1/*10	2	+/(+)	1,5	2
*1/*41	2	+/(+)	1,5	2
*2/*9	2	+/(+)	1,5	2
*2/*41	2	+/(+)	1,5	2
*1/*3	1	+/-	1	1
*1/*4	1	+/-	1	1
*1/*5	1	+/-	1	1
*1/*6	1	+/-	1	1
*2/*3	1	+/-	1	1
*2/*4	1	+/-	1	1
*2/*5	1	+/-	1	1
*41/*41	2	(+)/(+)	1	1

CYP2D6-Genotyp	Anzahl aktiver Allele	Aktivität der Allele <sup>a</sup>	Semiquantitative Gendosis	Gendosis-Gruppe
*41/*10	2	(+)/(+)	1	1
*9/*10	2	(+)/(+)	1	1
*41/*4	1	(+)/-	0,5	1
*41/*6	1	(+)/-	0,5	1
*9/*6	1	(+)/-	0,5	1
*10/*3	1	(+)/-	0,5	1
*3/*4	0	-/-	0	0
*3/*5	0	-/-	0	0
*4/*4	0	-/-	0	0
*4/*5	0	-/-	0	0

<sup>a</sup>

- + normale Enzymaktivität
- (+) eingeschränkte Enzymaktivität
- keine Enzymaktivität

### 3.4.2.2. Klinisches Zustandsbild

Die Erfassung des Krankheitsverlaufs und des therapeutischen Effekts erfolgte mittels der Paranoid-Depressivitäts-Skala (PD-S) (Collegium Internationale Psychiatriae Scolarum 1996).

Die PD-S ist eine Selbstbeurteilungsskala. Sie enthält eine P-Skala mit 16 Items zur Messung paranoider Tendenzen sowie eine D-Skala mit ebenfalls 16 Items zur Feststellung ängstlich-depressiver Verstimmung. Außerdem erfassen 8 Kontrollitems die Krankheitsverleugnung und 3 Items prüfen die Testmotivation. Die Antwortskalierung der Items ist vierfach abgestuft (‘trifft gar nicht zu’ bis ‘trifft ausgesprochen zu’; vgl. Anhang).

### 3.4.2.3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

In Anlehnung an die DOTES (Dosage Record and Treatment Emergent Symptom Scale) (Collegium Internationale Psychiatriae Scolarum 1996) wurde eine Begleitsymptomliste erstellt. Diese gliederte sich in die Beurteilungskategorien a) Verhalten, b) Neurologische Symptome, c) Vegetative Symptome, d) Kardiovaskuläre Symptome und e) andere Symptome, welche die verschiedenen Begleitsymptome als Items enthielten (vgl. Anhang). Außerdem diente eine globale Beurteilung der Einschätzung, inwieweit der Patient durch die Begleitsymptome beeinträchtigt war (1=gar nicht bis 5=nicht beurteilbar). Eine aufgetretene unerwünschte Arzneimittelwirkung wurde als solche gewertet, wenn der behandelnde Arzt eine mindestens mäßige Beeinträchtigung konstatierte.

### **3.4.3. Auswertung der Daten**

Für qualitative Merkmale wurden Kreuztabellen erstellt, die mit dem Chi-Quadrat Test bezüglich ihrer Signifikanz untersucht wurden.

Quantitative Variablen wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov Tests auf Normalverteilung getestet. Da eine Normalverteilung in keinem Falle nachgewiesen werden konnte, wurden weiterhin nicht-parametrische Tests zur Analyse genutzt. Im Falle der Untersuchung mehrerer unabhängiger Variablen wurde der Kruskal-Wallis Test durchgeführt, für die Analyse zweier unabhängiger Variablen der Mann-Whitney U Test.

Als Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde ein Wert von 0,05 festgelegt.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels des Programms SPSS Version 11.5 für Windows (SPSS Inc., Chicago, Ill.)



## **4. Ergebnisse**

### **4.1. CYP2D6-Genotypisierung**

Eine Genotypisierung wurde mit 152 Proben von Patienten der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie im Rahmen der Studie durchgeführt. Die Angabe der Position von Mutationen innerhalb der DNA erfolgt jeweils gemäß der CYP2D6-Gensequenz (GenBank Accession No. M33388).

#### **4.1.1. Bereits etablierte Methoden**

##### **4.1.1.1. Präamplifikation**

Diese PCR amplifiziert das gesamte CYP2D6-Gen. Ziel ist die Herstellung eines Amplifikats, das als Ausgangsmaterial für nachfolgende Reaktionen verwendet werden kann und so eine hohe Spezifität der anschließenden PCR ermöglicht. Durch die Präamplifikations-PCR entstand bei allen verwendeten Proben ein Produkt mit einer Länge von 4666 bp. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Stüven et al (Stüven et al. 1996) überein.

##### **4.1.1.2. Detektion der CYP2D6\*3-, \*4-, \*6-, \*7- und \*8-Allele**

Das Allel CYP2D6\*3 zeichnet sich aus durch das Fehlen der Base Adenin an der Stelle 2549. Durch diese Rasterschubmutation kommt es zu einer Veränderung des Leserasters des Gens, genau wie bei dem CYP2D6\*6-Allel, bei dem die Base Thymin an der Stelle 1707 deletiert ist. Die Allele CYP2D6\*4, \*7 und \*8 sind charakterisiert durch Punktmutationen. Bei CYP2D6\*4 ist die Base Guanin an der Stelle 1846 durch die Base Adenin ersetzt, bei CYP2D6\*7 die Base Adenin durch Cytosin an der Stelle 2935 und bei CYP2D6\*8 findet sich die Base Thymin anstelle von Guanin an der Stelle 1758. In jedem Fall münden diese Mutationen in ein nicht-funktionelles Genprodukt. Die Analyse der fünf genannten Allele erfolgte mit Hilfe einer bereits etablierten Methode, der sogenannten Multiplex-PCR. Die entstandenen Fragmente wurden mittels Agarosegelelektrophorese unter UV-Licht sichtbar gemacht. Für das \*3-Allel entstand ein Produkt aus 1010 bp, für \*4 aus 304, für \*6 aus 166, für \*7 aus 1394 und für \*8 aus 219 bp.

Die Genotypisierung ergab in der Studienpopulation ein Allelfrequenz von 0,036 (11/304) für CYP2D6\*3, 0,161 (49/304) für CYP2D6\*4 und 0,013 (4/304) für CYP2D6\*6. Weder das CYP2D6\*7- noch das \*8-Allel konnten in der untersuchten Stichprobe nachgewiesen werden.

#### **4.1.1.3. Detektion der Gen-Duplikation und –Deletion (CYP2D6\*5-Allel)**

Sowohl Gen-Duplikation als auch Gen-Deletion konnten in der Real-Time PCR mittels eines Fluoreszenzmaximums bei 71,5 °C in der Schmelzkurve identifiziert werden.

Die Gen-Deletion war bei 8 von 304 untersuchten Allelen nachweisbar (Allelfrequenz 0,026), die Gen-Duplikation bei 10 von 304 Allelen (Allelfrequenz 0,033).

#### **4.1.1.4. Detektion des CYP2D6\*10-Allels**

Das \*10-Allel zeichnet sich dadurch aus, dass an der Stelle 100 die Base Cytosin durch Thymin ersetzt ist. Die Analyse des \*10-Allels erfolgte mit Hilfe einer bereits beschriebenen PCR, die dabei entstandenen Fragmente wurden mittels Agarosegelelektrophorese unter UV-Licht sichtbar gemacht. Für das \*10-Allel entstand ein Produkt von 137 bp.

Das CYP2D6\*10-Allel zeigte in der Studienpopulation eine Allelfrequenz von 0,030 (9/304).

#### **4.1.1.5. Detektion des CYP2D6\*9- und \*17-Allels**

Das \*9-Allel ist gekennzeichnet durch eine Deletion dreier Basenpaare im Exon 5. In der Real-Time PCR zeigte sich ein Fluoreszenzmaximum des Wildtyp-Allels bei 54 °C, des Mutations-Allels bei 39 °C. Das CYP2D6\*9-Allel fand sich in der untersuchten Population bei 8 von 304 Allelen (Allelfrequenz 0,026).

Das \*17-Allel besitzt an der Position 1023 die Base Thymin statt Cytosin. Das Maximum der Fluoreszenz zeigte sich in der Real-Time PCR bei 66 °C für das Wildtyp-Allel und bei 59 °C für das Mutations-Allel. Die Allelfrequenz betrug 0,003 (1/304).

#### **4.1.2. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6\*35-Allels**

Das \*35-Allel ist charakterisiert durch den Austausch der Base Guanin durch Adenin an der Stelle 31. Die phänotypische Konsequenz des CYP2D6\*35-Allels ist noch nicht endgültig geklärt, möglicherweise besteht eine Beziehung zum UM-Phänotyp (Allorge et al. 2001; Lovlie et al. 2001).

Das Wildtyp-Allel (31G) erreichte das Maximum der Fluoreszenz in der Schmelzkurve der Real-Time PCR bei 64 °C, das Mutations-Allel (31A) bei 59 °C (siehe Abbildung 1).

Zur Bestätigung der Methode wurden 60 Proben parallel mittels Restriktionsverdau durch das Enzym Nla III analysiert. Das Wildtyp-Allel (31G) wurde in drei Fragmente aus je 20, 98 und 315 bp verdaut, das \*35-Allel (31A) in vier Fragmente mit 20, 98, 112 und 203 bp. Es fand sich eine vollständige Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Schmelzkurvenanalyse und dem Restriktionsenzymverdau bei allen untersuchten Proben (Steimer et al. 2002b).

Die Allelfrequenz des CYP2D6\*35-Allels betrug in der Studienpopulation 0,053 (16/304).

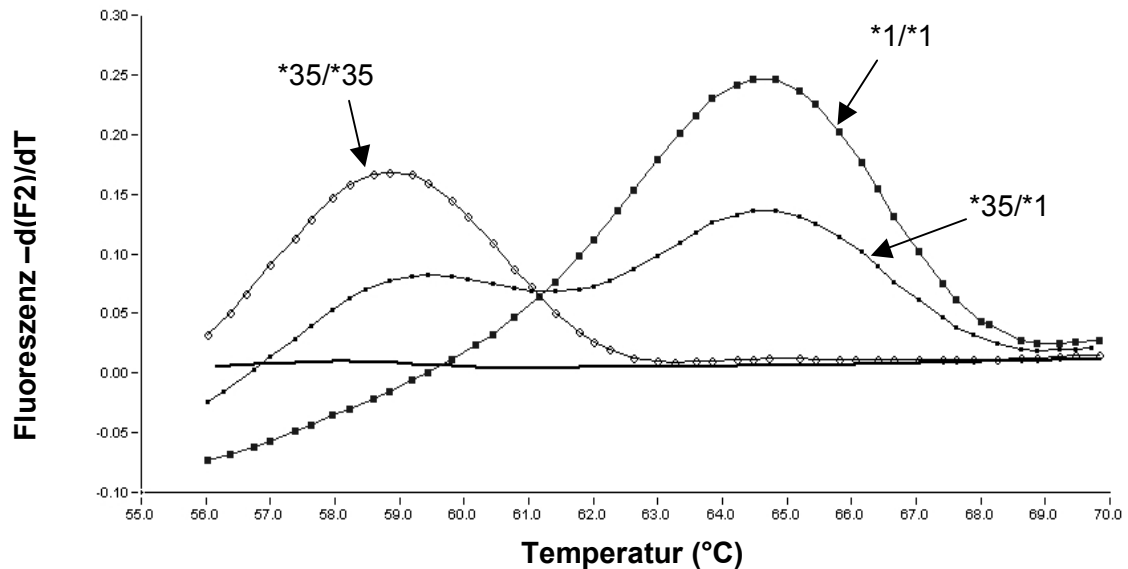


Abbildung 1: Schmelzkurve der Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6\*35-Allels mit je einer Probe für jeden Genotyp und einer Leerkontrolle

#### 4.1.3. Entwicklung einer Real-Time PCR zur Detektion des CYP2D6\*41/\*2-Polymorphismus

Der \*41/\*2-Polymorphismus liegt in der Promotorregion der \*2-Allels an der Stelle -1584. Bei einem \*41-Allel ist hier die Base Guanin durch Cytosin ersetzt.

Das Maximum der Fluoreszenz der Schmelzkurvenanalyse lag für das \*41-Allel bei 56 °C, für das \*2-Allel bei 49 °C (siehe Abbildung 2). Bei \*2-negativen Individuen konnte keine Fluoreszenz detektiert werden.

Die Bestätigung der Ergebnisse erfolgte anschließend ebenfalls durch Restriktionsverdau. Das in der 'nested-PCR' entstandene 151 bp große Fragment wurde mittels Sma I verdaut. Das \*2-Allel wurde dabei in 2 Fragmente aus je 131 und 20 bp geschnitten, das \*41-Allel blieb unverdaut. Bei 60 untersuchten Proben fand sich eine vollständige Übereinstimmung der Ergebnisse.

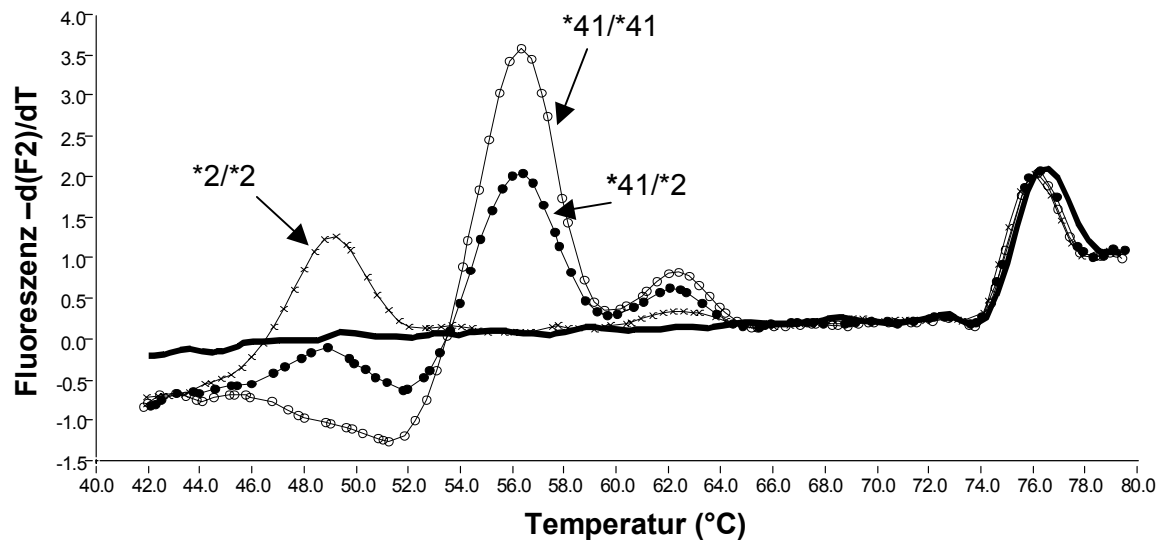


Abbildung 2: Schmelzkurve der Real-Time PCR zur Unterscheidung zwischen CYP2D6\*2 und CYP2D6\*41 mit je einer Probe für jeden Genotyp und einer Leerkontrolle

#### 4.1.4. Real-Time PCR zur Unterscheidung zwischen Homozygotie oder Heterozygotie des CYP2D6\*2 und CYP2D6\*41-Allels

Alle Proben, die in der PCR zur Unterscheidung zwischen dem CYP2D6\*2 und \*41-Allel nur einen Peak aufwiesen und bei denen das Vorhandensein eines anderen Allels mittels der oben beschriebenen Analyseverfahren ausgeschlossen worden war, wurden in der hier beschriebenen Real-Time PCR analysiert. Da sowohl das CYP2D6\*2- als auch das CYP2D6\*41-Allel im Gegensatz zu CYP2D6\*1 die Base Cytosin statt Guanin an der Stelle 1661 aufweisen, konnte mittels dieser PCR entschieden werden, ob das entsprechende Allel in homozygoter oder heterozygoter Form vorlag.

Das \*1-Allel (1661G) erreicht in der Schmelzkurvenanalyse der Real-Time PCR das Maximum der Fluoreszenz bei 58 °C, das \*2 oder \*41-Allel (1661C) bei 48 °C.

Auch hier wurde zur Bestätigung der erhaltenen Ergebnisse ein Restriktionsenzymverdau mittels Ban II angeschlossen. Während das \*2- und das \*41-Allel nicht in Restriktionsfragmente geschnitten wurde, erhielt man bei \*1-Allelen zwei Fragmente aus je 229 und 31 bp. Das kleinere, 31 bp große Fragment kann in der Gelelektrophorese auf einem 2,5%igen Agarosegel nicht differenziert werden (siehe Abbildung 3). Auch hier fand sich eine völlige Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen beider Methoden.

Das CYP2D6\*1-Allel kam in der untersuchten Stichprobe mit einer Allelfrequenz von 0,457 (139/304) vor, das CYP2D6\*2-Allel mit einer Frequenz von 0,145 (44/304) und das CYP2D6\*41-Allel mit einer Frequenz von 0,105 (32/304).

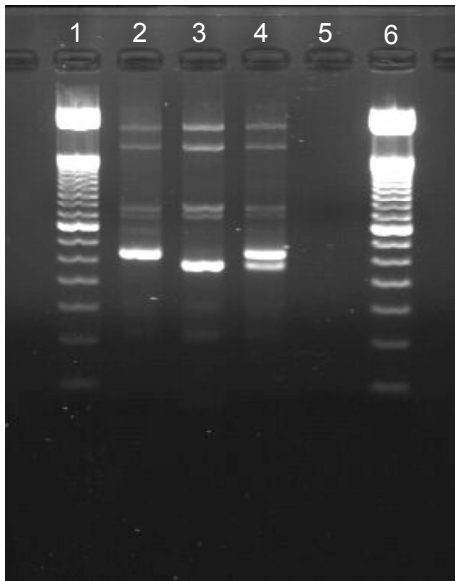


Abbildung 3: Agarosegelelektrophorese (2,5%iges Agarosegel) des BanII-Restriktionsenzymverdaus der \*1/\*2\_41-PCR

1+6	50 Basenpaare DNA-Längenmarker
2	*2/*2
3	*1/*1
4	*1/*2
5	Leerkontrolle

#### 4.1.5. PCR zur Unterscheidung zwischen CYP2D6\*1XN, \*2XN und \*4XN

Das Vorliegen einer Genduplikation wurde mittels Real-Time PCR nachgewiesen. Ob die Duplikation ein CYP2D6\*1-, \*2/\*41- oder \*4-Allel betraf, konnte anhand der Kombination der Restriktionsverdau der Reaktionen 12A (Ban II) und 12B (Hph I) identifiziert werden. Für das \*1-Allel entstanden aus der Reaktion 12A zwei Fragmente mit je 231 und 33 bp, aus der Reaktion 12B ebenfalls zwei Fragmente mit 362 und 71 bp. Das \*2/\*41-Allel wurde durch Ban II nicht verdaut, im Verdau der Reaktion 12B entstanden wie bei \*1-Allelen zwei Fragmente mit je 362 und 71 bp. Für das \*4-Allel blieb das Produkt der Reaktion 12A ebenfalls unverdaut, aus dem Produkt der Reaktion 12B entstanden allerdings drei Fragmente mit je 262, 100 und 71 bp.

Die Genotypisierung der Studienpopulation ergab eine Allelfrequenz von 0,020 (6/304) für die Duplikation des CYP2D6\*1-Allels und eine Frequenz von 0,013 (4/304) für eine Vervielfachung des CYP2D6\*2/\*41-Allels. Eine Duplikation des CYP2D6\*4-Allels kam in der Stichprobe nicht vor. Diese PCR erlaubt allerdings nicht die Unterscheidung zwischen einer Duplikation des \*2- oder des \*41-Allels.

## **4.2. Studie**

### **4.2.1. Studienpopulation**

Zwischen Mai 2002 und Mai 2003 wurden 251 Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten, in die Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie aufgenommen. 39 dieser Patienten wurden weniger als eine Woche lang stationär behandelt und deshalb nicht in die Studie eingeschlossen, 12 Patienten verweigerten die Teilnahme und 33 Patienten konnten aus verschiedenen anderen Gründen nicht in die Studie aufgenommen werden.

167 Patienten gaben ihre Einwilligung zur Teilnahme an der Studie und wurden dem Aufnahmescreening unterzogen. Allerdings zogen 2 Studienteilnehmer ihre Einverständniserklärung wieder zurück und bei 10 Probanden konnte kein EDTA-Blut zur Genotypisierung entnommen werden. Bei 5 Patienten konnte eine Gendosis aufgrund der Ergebnisse der Genotypisierung nicht genau bestimmt werden, aus diesem Grund wurden diese Patienten nicht in die statistische Auswertung einbezogen. 3 Patienten wurden während der Zeitdauer der Patientenrekrutierung erneut stationär aufgenommen und deshalb ein zweites Mal in die Studie eingeschlossen. Somit konnten die Daten von 150 Fällen statistisch ausgewertet werden.

#### **4.2.1.1. Demographische Daten und Krankheitsmerkmale**

150 Fälle konnten in die statistische Studienauswertung einbezogen werden, darunter 62 Männer (41,33%) und 88 Frauen (58,67%). Das Durchschnittsalter betrug  $43,23 \pm 15,17$  Jahre (18-78 Jahre), das Körpergewicht  $73,74 \pm 14,23$  kg (40-120 kg) und die Körpergröße  $171,66 \pm 14,23$  cm (155-195 cm). 62 Patienten (41,33%), darunter 27 Männer und 35 Frauen, waren Raucher.

70 Patienten (46,67%) litten unter einer affektiven Störung (ICD-10: F3), bei 70 Patienten (46,67%) wurde eine Störung aus dem schizophrenen Formenkreis diagnostiziert (ICD-10: F2) und 49 Patienten (32,67%) litten unter neurotischen, Belastungs- oder somatoformen (ICD-10: F4) oder Persönlichkeits- und Verhaltensstörungen (ICD-10: F6). Bei 39 Patienten (26,00%) wurden 2 oder mehr Diagnosen gestellt. Eine Übersicht über die unterschiedlichen Diagnosen in der Studienpopulation ist Tabelle 16 zu entnehmen.

Tabelle 16: Übersicht über die ICD-10 Diagnosen in der Studienpopulation

Diagnosen	n
Schizophrenie (F20.0-F20.9)	53
schizotype Störung (F21)	2
anhaltende wahnhafte Störung (F22)	1
akute polymorphe psychotische Störung mit Symptomen einer Schizophrenie (F23.1)	1
schizoaffektive Störungen (F25.0-F25.8)	14
Manie mit psychotischen Symptomen (F30.2)	2
bipolare affektive Störung (F31.0-F31.9)	18
depressive Episode (F32.0-F32.9)	28
rezidivierende depressive Episode (F33.0-F33.9)	25
sonstige affektive Störungen (F38.8)	1
phobische Störungen (F40.0-F40.9)	5
sonstige Angststörungen (F41.0-F41.9)	6
Zwangsstörungen (F42.0-F42.9)	6
Reaktionen auf schwere Belastungen und Anpassungsstörungen (F43.0-F43.9)	9
somatoforme Störungen (F45.0-F45.9)	2
Persönlichkeitsstörungen (F60.0-F60.9)	14
sonstige emotionale Störungen im Kindesalter (F93.8)	1

#### 4.2.1.2. Gendosis-Gruppen

147 Patienten wurden mit Hilfe der oben dargestellten Methodik genotypisiert und entsprechend ihrer semiquantitativen Gendosis nach Anzahl und Aktivität der Cyp2D6-Allele in Gendosis-Gruppen eingeteilt. Dabei wurde das CYP2D6\*35-Allel aufgrund seiner bislang noch unklaren Relevanz in der Auswertung nicht berücksichtigt. 3 Patienten wurden während der Zeitdauer der Patientenrekrutierung erneut stationär aufgenommen und darum ein zweites Mal in die Studie eingeschlossen. Diese 3 Patienten wiesen die Genotypen \*1/\*1, \*1/\*4 bzw. \*1/\*6 auf.

Die Bildung von Gendosis-Gruppen aus Patienten mit verschiedenen Gendosen in Anlehnung an die bisher benutzte Einteilung in PM-, IM-, EM- und UM-Genotypen ermöglichte durch die Entstehung ausreichend großer Gruppen die statistische Auswertung.

5 Patienten (3,33%) wurden aufgrund des Vorhandenseins von mindestens 2,5 aktiven Allelen der Gendosis-Gruppe 3 (semiquantitative Gendosis  $\geq 2,5$ ) zugerechnet. 78 Fälle

(52,00%) gehörten der Gendosis-Gruppe 2 (semiquantitative Gendosis 2 und 1,5) und 57 Fälle (38,00%) der Gendosis-Gruppe 1 (semiquantitative Gendosis 1 und 0,5) an. 10 Patienten (6,67%) besaßen keine CYP2D6-Aktivität und wurden somit der Gendosis-Gruppe 0 (semiquantitative Gendosis 0) zugeteilt.

Die Allel- und Genotypfrequenzen können Tabelle 17 und 18 entnommen werden.

Tabelle 17: Allelfrequenzen in der Studienpopulation und zugeordnete semiquantitative Gendosis

<b>CYP2D6 Allele</b>	<b>n Patienten</b>	<b>Semiquantitative Gendosis</b>
*1	137 (45,67%)	1
*2	41 (13,67%)	1
*3	10 (3,33%)	0
*4	48 (16,00%)	0
*5	8 (2,67%)	0
*6	5 (1,67%)	0
*7	0 (0%)	0
*8	0 (0%)	0
*9	8 (2,67%)	0,5
*10	9 (3,00%)	0,5
*17	0 (0%)	0,5
*41	29 (9,67%)	0,5
*1XN	3 (1,00%)	2
*2XN	2 (0,67%)	2
*4XN	0 (0%)	0



Tabelle 18: Genotypen der Studienpopulation und Zuordnung zu den Gendosisgruppen

Gendosis-Gruppe	n Patienten	CYP2D6-Genotyp	n Patienten (%)	Semiquantitative Gendosis
3	5 (3,33%)	*1XN/*1	1 (0,67%)	≥3
		*1XN/*2	1 (0,67%)	≥3
		*2XN/*1	1 (0,67%)	≥3
		*2XN/*2	1 (0,67%)	≥3
		*1XN/*9	1 (0,67%)	≥2,5
2	78 (52,00%)	*1/*1	34 (22,67%)	2
		*1/*2	19 (12,67%)	2
		*2/*2	4 (2,67%)	2
		*1/*9	4 (2,67%)	1,5
		*1/*10	5 (3,33%)	1,5
		*1/*41	9 (6,00%)	1,5
		*2/*9	1 (0,67%)	1,5
		*2/*41	2 (1,33%)	1,5
1	57 (38,00%)	*1/*3	2 (1,33%)	1
		*1/*4	20 (13,33%)	1
		*1/*5	5 (3,33%)	1
		*1/*6	3 (2,00%)	1
		*2/*3	2 (1,33%)	1
		*2/*4	6 (4,00%)	1
		*2/*5	1 (0,67%)	1
		*41/*41	4 (2,67%)	1
		*41/*10	1 (0,67%)	1
		*9/*10	1 (0,67%)	1
		*41/*4	8 (5,33%)	0,5
		*41/*6	1 (0,67%)	0,5
		*9/*6	1 (0,67%)	0,5
		*10/*3	2 (1,33%)	0,5
		0	10 (6,67%)	*3/*3
*3/*4	1 (0,67%)			0
*3/*5	1 (0,67%)			0
*4/*4	6 (4,00%)			0
*4/*5	1 (0,67%)			0

#### 4.2.2. Psychiatrische Vorgeschichte

Bei 57 Patienten war die derzeitige Episode die Erstmanifestation einer psychiatrischen Erkrankung bzw. es handelte sich um den ersten stationären Aufenthalt.

Die übrigen Patienten wiesen im Durchschnitt  $2,62 \pm 2,35$  vorhergehende stationäre Aufenthalte auf, die durchschnittliche Episodendauer betrug  $2,37 \pm 1,97$  Monate und die Gesamtdauer der vorangegangenen Episoden belief sich auf  $4,65 \pm 4,01$  Monate.

Bei 11 Patienten konnte Alkoholmissbrauch oder –abhängigkeit in der Vorgeschichte ermittelt werden, bei weiteren 11 Patienten bestand in der Vergangenheit eine Tabletten- oder Drogenabhängigkeit.

Die durchschnittliche Dauer der jetzigen Episode vor stationärer Aufnahme lag Patientenangaben zufolge bei  $4,32 \pm 8,46$  Monaten.

##### 4.2.2.1. Psychiatrische Vorgeschichte und CYP2D6-Gendosis-Gruppe

Hinsichtlich der Anzahl vorhergegangener stationärer Aufenthalte, der durchschnittlichen Aufenthaltsdauer und der Gesamtdauer aller vorhergegangenen stationären Behandlungen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gendosis-Gruppen etabliert werden. Die Anzahl vorausgegangener Episoden betrug zwischen  $1,20 \pm 1,14$  bei GDG 0 und  $1,79 \pm 2,60$  bei GDG 2 ( $p=0,942$ ; Kruskal-Wallis Test), die durchschnittliche Episodendauer schwankte zwischen  $1,21 \pm 1,54$  Monaten bei GDG 1 und  $3,00 \pm 4,24$  Monaten bei GDG 3 ( $p=0,809$ ; Kruskal-Wallis Test). Die Gesamtdauer aller vorangegangenen Episoden ergab Werte zwischen  $2,62 \pm 4,04$  bei GDG 1 und  $6,00 \pm 8,49$  bei GDG 3 ( $p=0,801$ ; Kruskal-Wallis Test) (siehe Tabelle 19).

Tabelle 19: Vorgeschichte: Dauer in Monaten (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) und Signifikanzniveau p

Gendosis-Gruppe	Anzahl Episoden	Durchschnittliche Episodendauer	Summe Episodendauer
0 (n=10)	$1,20 \pm 1,14$	$1,37 \pm 1,63$	$2,90 \pm 3,64$
1 (n=57)	$1,47 \pm 1,92$	$1,21 \pm 1,54$	$2,62 \pm 4,04$
2 (n=78)	$1,79 \pm 2,60$	$1,55 \pm 2,05$	$2,84 \pm 3,48$
3 (n=5)	$1,60 \pm 1,67$	$3,00 \pm 4,24$	$6,00 \pm 8,49$
Signifikanzen im Kruskal-Wallis Test	$p=0,942$	$p=0,809$	$p=0,801$

### 4.2.3. Aufenthaltsdauer

Die mittlere stationäre Aufenthaltsdauer aller Studienpatienten während der aktuellen Krankheitsperiode betrug  $55,29 \pm 33,89$  Tage. Zwischen den Gendosis-Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der mittleren Aufenthaltsdauer, die zwischen  $53,59 \pm 30,34$  Tagen bei GDG 2 und  $60,80 \pm 34,81$  Tagen bei GDG 0 lag ( $p=0,901$ ; Kruskal-Wallis Test).

Dieses Bild änderte sich allerdings, wenn die Gruppen zusätzlich noch in zwei Subgruppen unterteilt wurden. Die eine Subgruppe enthielt die Patienten, die während ihrer stationären Behandlung ein Medikament erhalten hatten, das primär über das CYP2D6-Enzym eliminiert wird. Der anderen Subgruppe wurden diejenigen Patienten zugeordnet, die kein solches Präparat erhalten hatten. Daten bezüglich des Verlaufes der medikamentösen Therapie waren für insgesamt 143 Patienten verfügbar. Dieser Ansatz ließ erkennen, dass Patienten, die CYP2D6-abhängige Medikamente eingenommen hatten, im Durchschnitt länger hospitalisiert blieben ( $58,53 \pm 36,18$  Tage) als Patienten, die keine CYP2D6-abhängigen Medikamente erhalten hatten ( $46,53 \pm 25,62$  Tage). Der beobachtete Unterschied verfehlte allerdings ein statistisch signifikantes Niveau ( $p=0,085$ ; Mann-Whitney U Test).

Innerhalb der Medikamentensubgruppen zeigten sich aber keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gendosis-Gruppen hinsichtlich der Dauer des stationären Aufenthaltes ( $p=0,651$  bei Patienten ohne CYP2D6-Substrate und  $p=0,791$  bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten; Kruskal-Wallis Test) (siehe Tabelle 20 und Abbildung 4).

Tabelle 20: Aufenthaltsdauer in Tagen (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

Gendosis-Gruppe	gesamt	ohne CYP2D6-abh. Medikamente	mit CYP2D6-abh. Medikamenten
alle	55,29 $\pm$ 33,89	46,53 $\pm$ 25,62	58,53 $\pm$ 36,18
0	60,80 $\pm$ 34,81 (n=10)	51,20 $\pm$ 28,01 (n=5)	70,40 $\pm$ 41,37 (n=5)
1	56,19 $\pm$ 38,55 (n=57)	47,56 $\pm$ 29,67 (n=9)	58,07 $\pm$ 40,63 (n=45)
2	53,59 $\pm$ 30,34 (n=78)	43,79 $\pm$ 24,53 (n=19)	57,80 $\pm$ 32,13 (n=55)
3	60,40 $\pm$ 36,82 (n=5)	(66,00) (n=1)	59,00 $\pm$ 42,36 (n=4)
Signifikanzen im Kruskal-Wallis Test	p=0,901	p=0,651	p=0,791

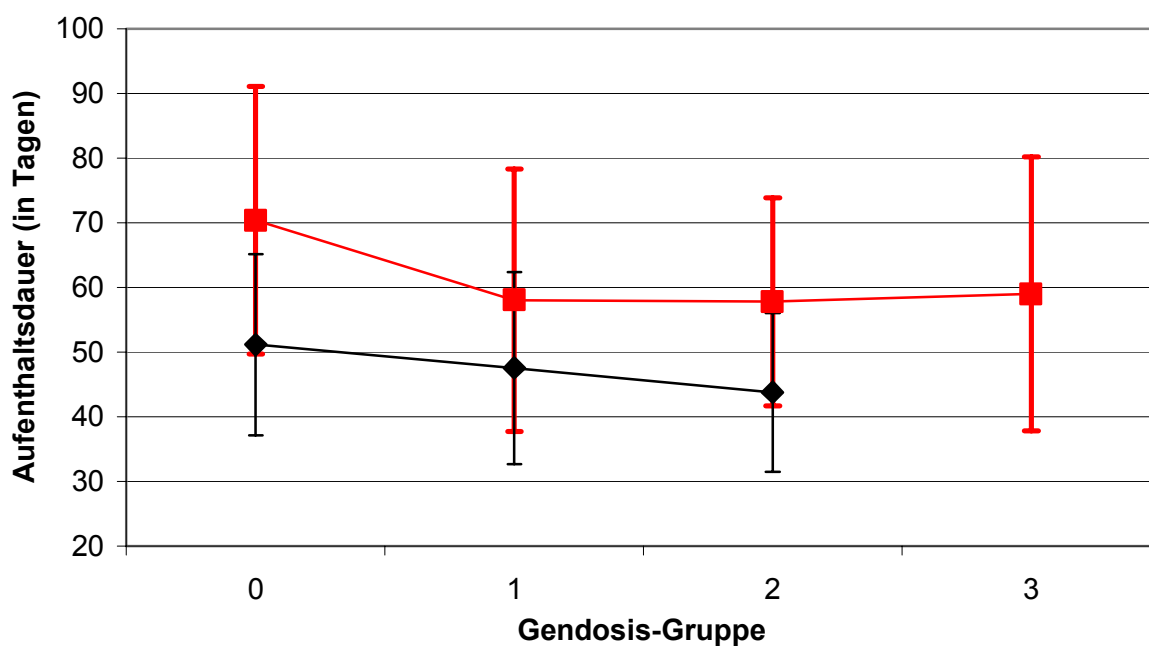


Abbildung 4: mittlere Aufenthaltsdauer innerhalb der Gendosis-Gruppen, eingeteilt nach Medikamenteneinnahme

- Patienten mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten
- ◆ Patienten ohne CYP2D6-abhängige Medikamente

#### **4.2.4. Medikamentöse Therapie**

Bei 7 Patienten (davon 4 Individuen aus GDG 2 und 3 aus GDG 1) konnte der Verlauf der medikamentösen Therapie nicht dokumentiert werden, so dass in die Auswertung bezüglich der medikamentösen Therapie nur Daten von 143 Patienten eingehen.

113 Patienten (74,83%) erhielten Neuroleptika, Antidepressiva wurden an 95 Patienten (66,43%) verabreicht und ebenfalls 95 Patienten (63,33%) erhielten Anxiolytika.

Olanzapin (n=59, 41,26%), Risperidon (n=33, 23,08%) und Amisulprid (n=17, 11,89%) waren die am häufigsten verabreichten Neuroleptika, die bevorzugten Antidepressiva waren Mirtazapin (n=49, 34,27%), Citalopram (n=30, 20,98%) und Paroxetin (n=14, 9,79%). Als Mood-Stabilizer wurden neben Lithium (n=18, 12,59%) auch Carbamazepin (n=11, 7,69%), Valproinsäure (n=6, 4,20%) und Lamotrigin (n=4, 2,80%) verabreicht. Zur Anxiolyse wurde vorwiegend Lorazepam (n=75, 52,45%) und Lormetazepam (n=17, 11,89%) eingesetzt (siehe Abbildung 5).

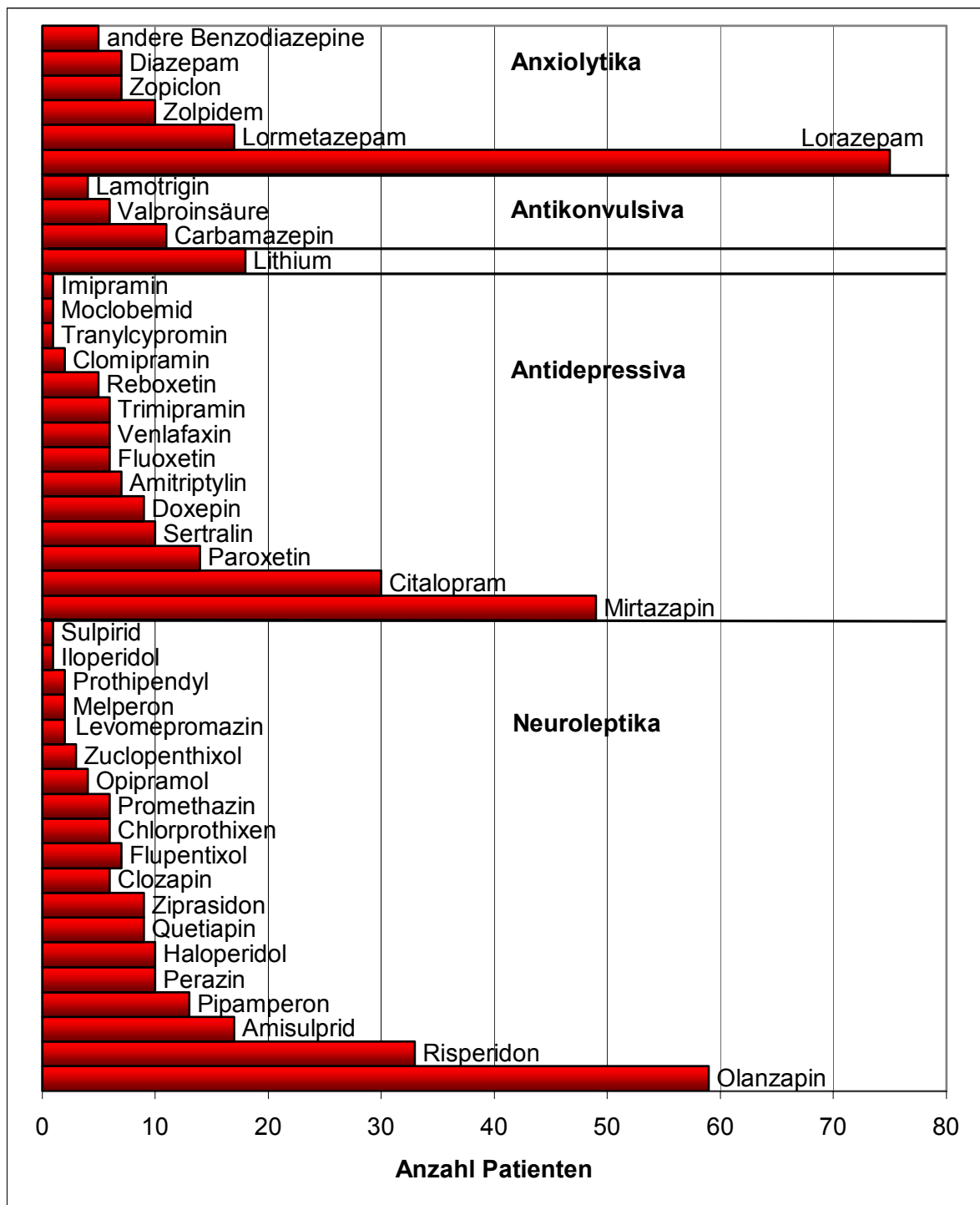


Abbildung 5: verabreichte psychotrope Medikamente, eingeteilt nach Indikationsgruppen

#### 4.2.4.1. CYP2D6-abhängige Medikamente und Gendosis-Gruppe

109 der 143 Patienten (76,22%), für die der Verlauf der medikamentösen Therapie dokumentiert werden konnte, erhielten während ihres stationären Aufenthaltes bis zur Entlassung Medikamente, die hauptsächlich über das CYP2D6-Isoenzym verstoffwechselt werden. Die am häufigsten verschriebenen CYP2D6-Substrate waren Mirtazapin (n=49, 34,27%), Risperidon (n=33, 22,08%) und Haloperidol (n=10, 6,99%). Abbildung 6 zeigt alle verabreichten CYP2D6-abhängigen Medikamente.

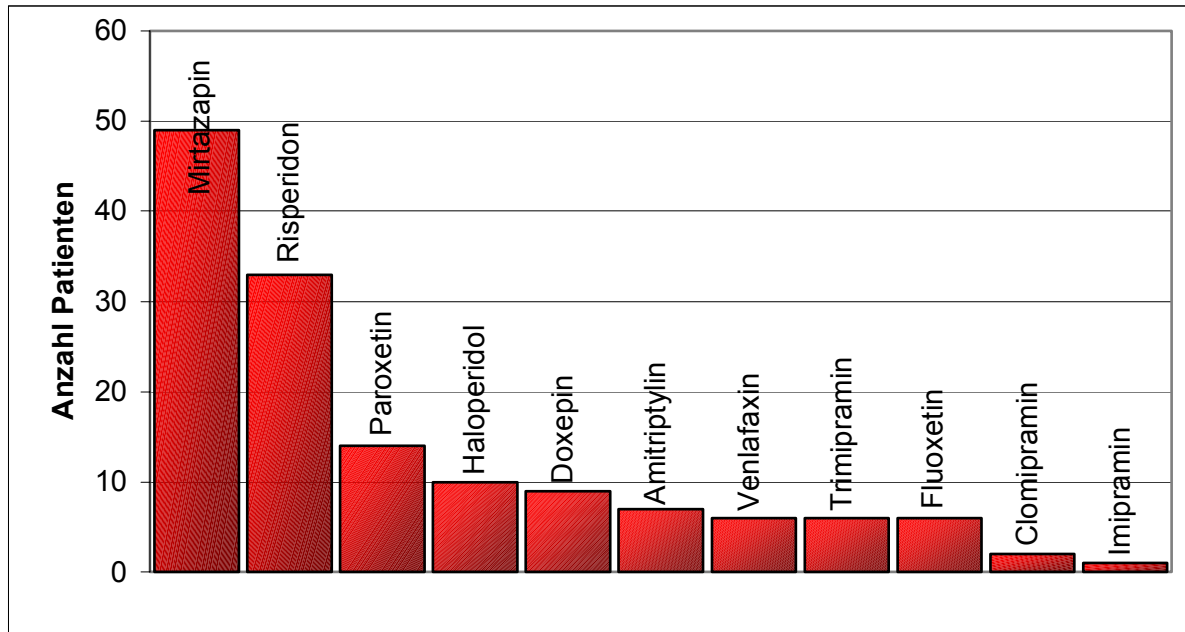


Abbildung 6: Übersicht über alle in der Studienpopulation verabreichte CYP2D6-abhängige Medikamente

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen CYP2D6-Gendosis-Gruppen hinsichtlich der Häufigkeit der Verschreibung von CYP2D6-abhängigen Medikamenten: 5 von 10 Patienten (50,00%) der GDG 0, 45 von 54 Individuen (83,33%) der GDG 1, 55 von 74 Patienten (74,32%) der GDG 2 und 4 von 5 Probanden (80,00%) der GDG 3 hatten im Verlauf des stationären Aufenthaltes CYP2D6-dependente Medikamente eingenommen ( $p=0,139$ ; Chi-Quadrat Test). Innerhalb der ersten vier Wochen der Behandlung hatten insgesamt 99 Patienten, nämlich 4 von 10 Individuen (40,00%) der GDG 0, 42 von 54 (77,78%) der GDG 1, 49 von 74 Patienten (66,22%) der GDG 2 und 4 von 5 (80,00%) der GDG 3, CYP2D6-abhängige Medikamente erhalten ( $p=0,092$ ; Chi-Quadrat Test).

1 von 10 Patienten (10%) in GDG 0, 11 von 54 (20,37%) in GDG 1, 14 von 74 (18,92%) Individuen in GDG 2 und 3 von 5 (60%) in GDG 3 hatten im Verlauf der stationären Behandlung 2 oder mehr Medikamente erhalten, die primär über das CYP2D6-Enzym

abgebaut werden ( $p=0,209$ ; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 21). Beim Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander zeigte sich im Chi-Quadrat Test trotz sehr niedriger Patientenzahl ein signifikantes Ergebnis dahingehend, dass die Patienten der GDG 3 verglichen mit den Angehörigen der anderen Gendosis-Gruppen häufiger zwei oder mehr verschiedene CYP2D6-abhängige Medikamente während ihres Krankenhausaufenthaltes erhalten hatten (siehe Tabelle 22).

Tabelle 21: Anzahl der verschriebenen CYP2D6-abhängigen Medikamente in den Gendosis-Gruppen

		Gendosisgruppe			
		0	1	2	3
		n=10	n=54	n=74	n=5
Anzahl der verschriebenen C2D6-abh. Medikamente	0	5	9	19	1
	1	4	34	41	1
	2	1	10	12	3
	3	0	1	2	0
Wahrscheinlichkeit für $\geq 2$ verschiedene C2D6-abhängige Medikamente		10%	20,37%	18,92%	<b>60%</b>

Tabelle 22: Signifikanzen im Chi<sup>2</sup>-Test für den Vergleich „kein oder ein Cyp2D6-abhängiges Medikament“ - „zwei oder mehr Cyp2D6-abhängige Medikamente“ zwischen je zwei Gendosis-Gruppen:

GDG	0	1	2	3
0	-	0,440	0,489	<b>0,039</b>
1	0,440	-	0,838	<b>0,046</b>
2	0,489	0,838	-	<b>0,031</b>
3	<b>0,039</b>	<b>0,046</b>	<b>0,031</b>	-

#### 4.2.4.2. Medikamentenumstellungen und CYP2D6-Gendosis-Gruppe

Als Medikamentenumstellung wurde die Alternation eines Präparates innerhalb derselben Indikationsgruppe definiert, also ein Wechsel von einem Neuroleptikum zu einem anderen Neuroleptikum oder von einem Antidepressivum zu einem anderen. Dabei wurden nur die Patienten in die Auswertung einbezogen, die während des stationären Aufenthaltes CYP2D6-abhängige Medikamente erhalten hatten (n=109).

Bei der Analyse der Daten zeigte sich, dass die Wahrscheinlichkeit für zwei oder mehr Umstellungen der medikamentösen Therapie bei den 5 Patienten der GDG 0 erhöht war.



Betroffen waren nämlich 2 der 5 Patienten (40%) ohne CYP2D6-Aktivität verglichen mit nur 7 von 104 Probanden (6,73%) mit mindestens residualer CYP2D6-Enzymaktivität (p=0,041; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 23).

Tabelle 23: Medikamentenumstellungen innerhalb der Gendosis-Gruppen

		Gendosisgruppe			
		0	1	2	3
		n=5	n=45	n=55	n=4
Anzahl der Medikamentenumstellungen	0	2	32	30	2
	1	1	10	21	2
	2	2	3	3	0
	3	0	0	1	0
Wahrscheinlichkeit für $\geq 2$ Umstellungen der medikamentösen Therapie		<b>40%</b>	6,67%	7,27%	0%

Außerdem wurde untersucht, ob eine eventuelle Medikamentenumstellung auch eine Änderung des metabolischen Pfades verursachte. Das bedeutet, es wurde geprüft, ob ein Wechsel von einem CYP2D6-abhängigen Medikament zu einer Substanz erfolgte, die über sonstige Enzymsysteme abgebaut wurde, ob eine Umstellung von einem nicht-CYP2D6-abhängigen Präparat zu einem CYP2D6-abhängigen Medikament stattfand oder ob durch die Medikamentenumstellung keine Änderung des Abbauweges resultierte. Auch Dosisänderungen der CYP2D6-abhängigen Medikamente wurden hinsichtlich ihrer Bedeutung innerhalb der Gendosis-Gruppen untersucht.

Bei beiden Ansätzen fanden sich keinerlei Unterschiede zwischen den Gendosis-Gruppen. Die Signifikanzen des Chi-Quadrat Tests für die erwähnten Analysen lagen alle weit oberhalb des Signifikanzniveaus  $\alpha$  von 0,05 (siehe Tabelle 24).

Tabelle 24: Signifikanzen zwischen den Gendosis-Gruppen im Chi-Quadrat Test für die Medikamentenumstellungen

	ohne Änderung des metab. Pfades	zu CYP2D6-abh. Medikamenten hin	von CYP2D6-abh. Medikamenten weg	zu höherer Dosis CYP2D6-abh. Medikamente	zu niedrigerer Dosis CYP2D6-abh. Medikamente
Signifikanzniveau im Chi <sup>2</sup> -Test	p=0,556	p=0,926	p=0,474	p=0,714	p=0,396

#### 4.2.4.3. Relative mittlere Dosis und CYP2D6-Gendosis-Gruppe

In einem weiteren Schritt wurde für jedes Psychopharmakon, das in erster Linie über das CYP2D6-Enzym eliminiert wird, die mittlere applizierte Dosis sowie die mittlere applizierte Dosis/kg KG berechnet und in Bezug darauf die relative mittlere Dosis bzw. die relative mittlere Dosis/kg KG pro Patient. Dieses Verfahren soll anhand eines einfachen Beispiels näher erläutert werden: insgesamt zwei Patienten hatten während ihres stationären Aufenthaltes Clomipramin erhalten, Patient x in einer Dosis von 2,04 mg/kg KG, Patient y in einer Dosis von 2,15 mg/kg KG. Daraus ergibt sich, dass die mittlere applizierte Dosis von Clomipramin  $(2,04 + 2,15)/2 = 2,095$  mg/kg KG betrug. In Bezug auf diese mittlere Dosis erhielt Patient x eine relative mittlere Dosis/kg KG von  $(2,04 / 2,095) = 0,97$ , Patient y eine relative mittlere Dosis/kg KG von  $(2,15 / 2,095) = 1,03$ . In analoger Weise wurde für sämtliche CYP2D6-abhängigen Wirkstoffe eine relative mittlere Dosis/kg KG ermittelt. So konnten die Dosierungen aller Patienten unabhängig von dem tatsächlich erhaltenen Medikament miteinander verglichen werden.

Diese Berechnung konnte bei 103 der insgesamt 109 Patienten durchgeführt werden, die während ihres stationären Aufenthaltes CYP2D6-abhängige Psychopharmaka erhalten hatten.

Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der relativen mittleren Dosis/kg KG zwischen den Gendosis-Gruppen (GDG 3:  $0,84 \pm 0,04$ ; GDG 2:  $1,02 \pm 0,39$ ; GDG 1:  $1,05 \pm 0,34$ ; GDG 0:  $0,98 \pm 0,11$ ;  $p=0,645$ ; Kruskal-Wallis Test) (siehe Abbildung 7). Allerdings zeigte sich ein Trend zu einer niedrigeren relativen mittleren Dosis/kg KG bei Patienten der GDG 3, der gegenüber den Patienten der GDG 0 ein statistisch signifikantes Niveau erreichte ( $p=0,050$ ; Whitney-Mann U Test).

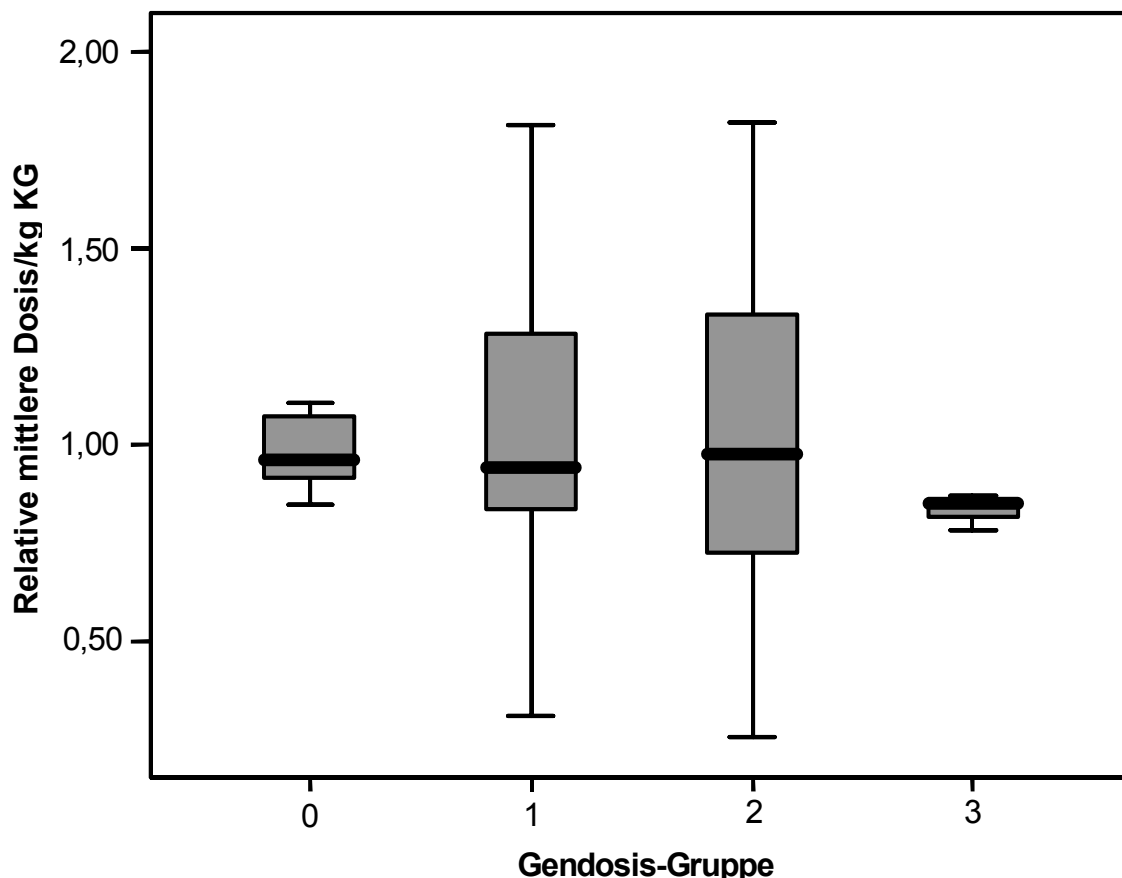


Abbildung 7: Relative mittlere Dosis/kg KG und Gendosis-Gruppe

#### 4.2.5. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Das Auftreten unerwünschte Arzneimittelwirkungen, ihre Beziehungen zur CYP2D6-Gendosis, zur Verschreibung CYP2D6-abhängiger Medikamente und zur relativen mittleren Dosis/kg KG wurde vier Wochen nach Beginn des stationären Aufenthaltes evaluiert.

Zu diesem Zeitpunkt hatten 99 Patienten bereits Medikamente erhalten, die primär über das CYP2D6-Enzym metabolisiert werden.

##### 4.2.5.1. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen und Gendosis-Gruppe

Das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen wurde in Abhängigkeit von der Verschreibung CYP2D6-dependenter Medikamente zwischen den Gendosis-Gruppen verglichen.

Bei Patienten, die ausschließlich CYP2D6-unabhängige Medikamente erhalten hatten, konnten keine Unterschiede hinsichtlich des Auftretens von Nebenwirkungen zwischen den Gendosis-Gruppen beobachtet werden. Der einzige Patient in GDG3 zeigte keine Nebenwirkungen (0,00%), wohingegen 9 von 25 Patienten (36,00%) der GDG 2, 2 von 12

(16,67%) der GDG 1 und 1 von 6 (16,67%) der GDG 0 unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen litten ( $p=0,502$ ; Chi-Quadrat Test).

Hingegen fand sich bei Patienten mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten eine Zunahme des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen insbesondere bei Angehörigen der GDG 0. Während nur 1 von 4 Patienten (25,00%) der GDG 3, 10 von 49 Patienten (20,41%) der GDG 2 und 16 von 42 Probanden (38,10%) der GDG 1 unter Nebenwirkungen gelitten hatten, zeigten 4 von 4 Patienten (100,00%) der GDG 0 unerwünschte Arzneimittelwirkungen (siehe Tabelle 25 und Abbildung 8). Die beobachteten Unterschiede im Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen waren statistisch signifikant. Das Signifikanzniveau zwischen allen Gendosis-Gruppen lag bei  $p=0,006$  im Chi-Quadrat Test, ein Vergleich zwischen den einzelnen Gendosis-Gruppen zeigte signifikante Unterschiede im Chi-Quadrat Test zwischen Angehörigen der GDG 0 und allen anderen Patienten. Der Unterschied zwischen Patienten der GDG 1 und der GDG 2 ergab zumindest eine Tendenz ( $p=0,063$ ; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 26). Ebenso fand sich ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen innerhalb der GDG 0 zwischen denjenigen Patienten, die CYP2D6-abhängige Medikamente erhalten hatten und denjenigen ohne solche Medikamente ( $p=0,016$ ; Chi-Quadrat Test). Innerhalb der anderen GDG ergaben sich keine signifikanten Unterschiede im Chi-Quadrat Test ( $p=0,165$  für GDG1,  $p=0,146$  für GDG 2 und  $p=0,576$  für GDG 3).

Tabelle 25: Anzahl der Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen, eingeteilt nach Gendosis-Gruppe und applizierter Medikation

	Pat. ohne CYP2D6-abh. Medikamente (n=44)	Pat. mit CYP2D6-abh. Medikamenten (n=99)
Gendosis-Gruppe	Pat. mit ADE/Gruppe	Pat. mit ADE/Gruppe
<b>0</b>	1/6 (16,67%)	4/4 (100,00%)
<b>1</b>	2/12 (16,67%)	16/42 (38,10%)
<b>2</b>	9/25 (36,00%)	10/49 (20,41%)
<b>3</b>	(0/1 (0,00%))	1/4 (25,00%)
Signifikanzen im Chi <sup>2</sup> -Test	$p=0,502$	<b><math>p=0,006</math></b>

Tabelle 26: Signifikanzen im Chi-Quadrat Test für den Vergleich der Anzahl von Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen pro Gendosis-Gruppe zwischen je zwei Gendosis-Gruppen (für alle Patienten mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten, n=99)

GDG	0	1	2	3
0	-	<b>0,017</b>	<b>0,001</b>	<b>0,028</b>
1	<b>0,017</b>	-	0,063	0,604
2	<b>0,001</b>	0,063	-	0,828
3	<b>0,028</b>	0,604	0,828	-

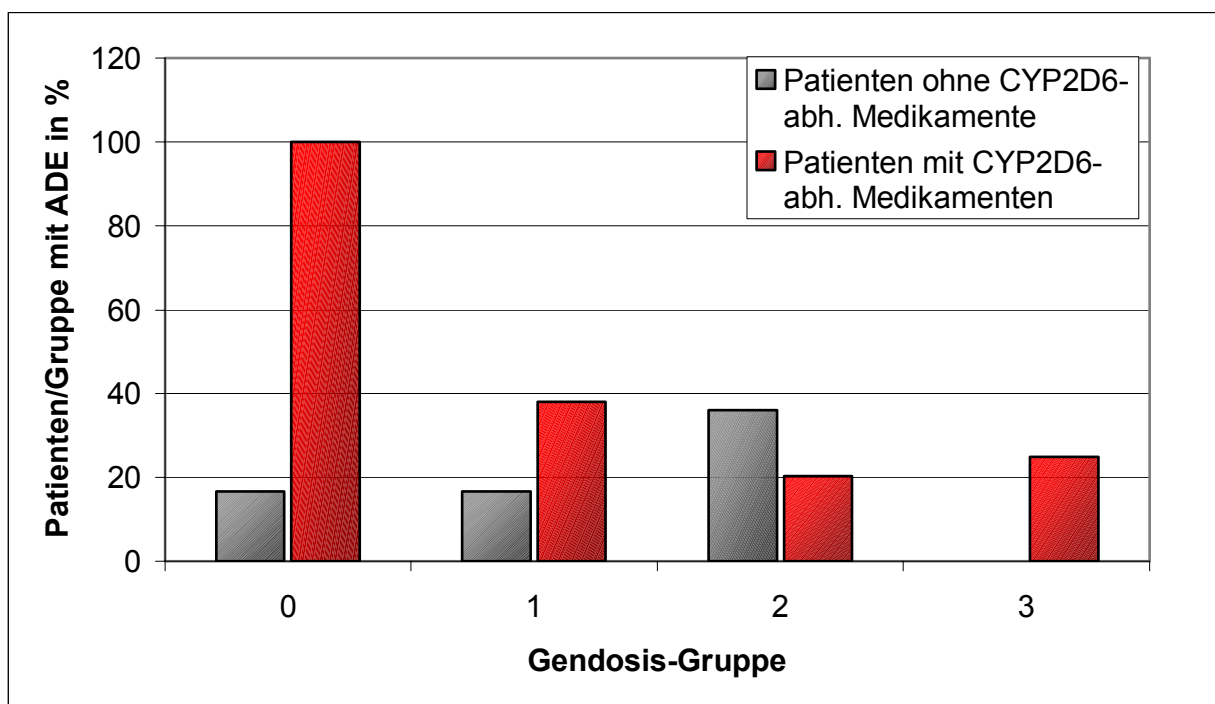


Abbildung 8: Anzahl der Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen pro Gendosis-Gruppe, eingeteilt nach medikamentöser Therapie

#### 4.2.5.2. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen und relative mittlere Dosis

Des Weiteren wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Höhe der applizierten Dosis CYP2D6-abhängiger Medikamente und dem Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen bestand.

Die Analyse wurde wegen der sonst zu geringen Fallzahlen auf die Patienten der Gendosis-Gruppen 1 und 2 beschränkt, wobei relevante Daten für insgesamt 86 Fälle zur Verfügung standen. Beide Gendosis-Gruppen wurden in zwei Untergruppen unterteilt. Die eine Subgruppe bestand aus Patienten, die eine relative mittlere Dosis von 1,00 oder mehr erhalten hatten, die andere aus Patienten mit einer applizierten Dosis von weniger als 1,00 relativ zur mittleren Dosis.

Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den beiden Subgruppen der GDG 2 hinsichtlich der Anzahl von Patienten mit unerwünschten Medikamentenwirkungen: bei 3 von 19 Individuen (15,79%) in der Subgruppe mit höherer relativer mittlerer Dosis und bei 6 von 25 Patienten (24,00%) in der Gruppe mit niedrigerer relativer mittlerer Dosis fanden sich unerwünschte Arzneimittelwirkungen ( $p=0,504$ ; Chi-Quadrat Test). Im Gegensatz dazu waren in der GDG 1 deutlich häufiger Nebenwirkungen zu beobachten, wenn den Patienten eine höhere relative mittlere Dosis verabreicht wurde. Bei Patienten der GDG 1 mit einer relativen mittleren Dosis von 1,00 oder mehr zeigten sich unerwünschte Arzneimittelwirkungen bei 10 von 17 Patienten (58,82%), im Gegensatz dazu fanden sich Nebenwirkungen nur bei 6 von 25 Probanden (24,00%) der GDG 1, die eine relative mittlere Dosis von weniger als 1,00 erhalten hatten ( $p=0,023$ ; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 27).

Auch der Unterschied zwischen Patienten der GDG 1 und GDG 2 mit einer relativen mittleren Dosis von 1,00 oder mehr war statistisch signifikant ( $p=0,001$ ; Chi-Quadrat Test), während kein statistischer Unterschied zwischen den Patienten der beiden Gendosis-Gruppen mit einer relativen mittleren Dosis unter 1,00 etabliert werden konnte ( $p=0,100$ , Chi-Quadrat Test).

Tabelle 27: Zusammenhang zwischen relativer mittlerer Dosis und Anzahl von Patienten pro Gendosis-Gruppe mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen, Signifikanzen im Chi-Quadrat Test

Gendosis-Gruppe	Relative mittlere Dosis	Patienten mit ADE/Gruppe	Signifikanzen im Chi <sup>2</sup> -Test
1 (n=42)	<1,00	6/25 (24,00%)	<b>p=0,023</b>
	>=1,00	10/17 (58,82%)	
2 (n=44)	<1,00	6/25 (24,00%)	p=0,504
	>=1,00	3/19 (15,79%)	

#### 4.2.5.3. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen und relative mittlere Dosis/kg KG

In Ergänzung zu dem unter Punkt 4.2.5.2. beschriebenen Verfahren wurde der Zusammenhang zwischen dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen und der Höhe der applizierten relativen mittleren Dosis in Bezug auf das Körpergewicht als relative mittlere Dosis/kg KG untersucht.

Auch hierzu wurden die 86 Fälle der Gendosis-Gruppen 1 und 2 in zwei Subgruppen unterteilt. Die eine Untergruppe bestand aus Patienten, die eine relative mittlere Dosis/kg KG von 1,00 oder mehr erhalten hatten, die andere Subgruppe aus Patienten mit einer relativen mittleren Dosis/kg KG von weniger als 1,00.

Hierbei ergab sich ein ganz ähnliches Bild wie bei der Analyse der relativen mittleren Dosis ohne Bezug auf das Körpergewicht.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den beiden Subgruppen der GDG 2 hinsichtlich der Anzahl von Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen: 6 von 22 Patienten (27,23%) mit einer relativen mittleren Dosis/kg KG von weniger als 1,00 und 3 von 22 Patienten (13,64%) mit einer höheren relativen mittleren Dosis/kg KG litten unter Nebenwirkungen der applizierten Medikamente ( $p=0,262$ ; Chi-Quadrat Test). Auf der anderen Seite fanden sich in der GDG 1 deutlich häufiger unerwünschte Arzneimittelwirkungen, wenn eine höhere relative mittlere Dosis/kg KG verabreicht worden war. Hier zeigten sich Nebenwirkungen bei 10 von 18 Patienten (55,56%) mit einer relativen mittleren Dosis/kg KG von 1,00 oder mehr. Im Gegensatz dazu litten nur 6 von 24 Patienten (25,00%) mit einer niedrigeren relativen mittleren Dosis/kg KG unter unerwünschte Arzneimittelwirkungen ( $p=0,044$ ; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 28 und Abbildung 9).

Der Unterschied zwischen Patienten der GDG 1 und 2 mit einer relativen mittleren Dosis/kg KG von weniger als 1,00 war statistisch nicht signifikant ( $p=0,861$ ; Chi-Quadrat Test), während zwischen den Patienten der beiden Gendosis-Gruppen mit einer hohen relativen mittleren Dosis/kg KG ein signifikanter Unterschied etabliert werden konnte ( $p=0,005$ ; Chi-Quadrat Test).

Tabelle 28: Zusammenhang zwischen relativer mittlerer Dosis/kg KG und Anzahl von Patienten pro Gendosis-Gruppe mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen, Signifikanzen im Chi-Quadrat Test

Gendosis-Gruppe	Relative mittlere Dosis/kg KG	Patienten mit ADE/Gruppe	Signifikanzen im Chi <sup>2</sup> -Test
1 (n=42)	<1,00	6/24 (25,00%)	<b>p=0,044</b>
	>=1,00	10/18 (55,56%)	
2 (n=44)	<1,00	6/22 (27,23%)	p=0,262
	>=1,00	3/22 (13,64%)	

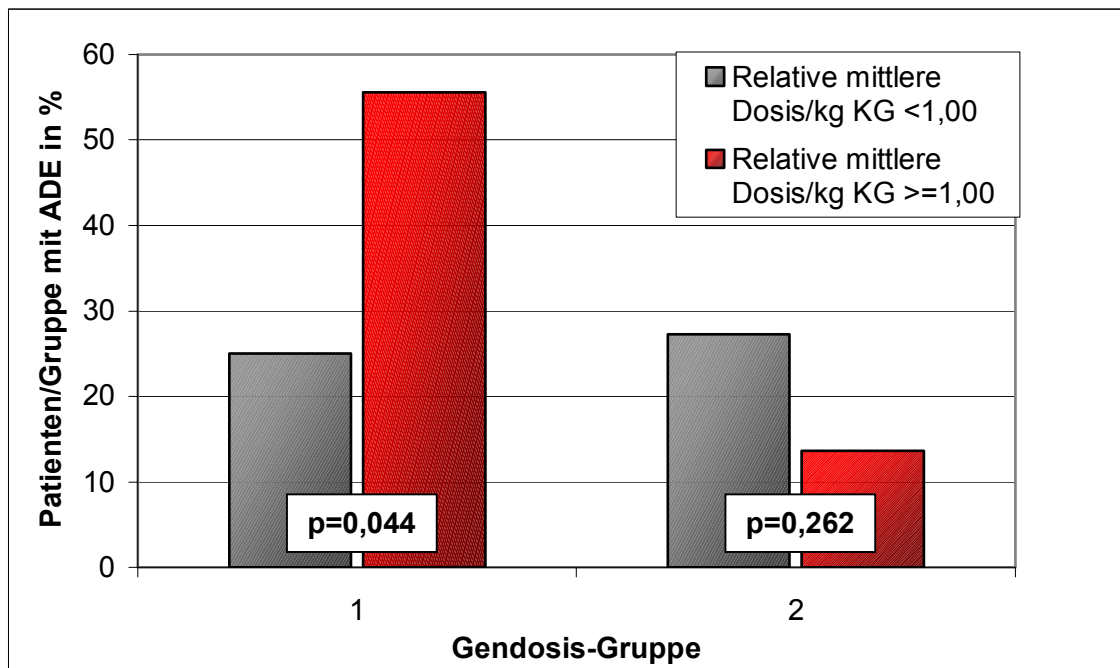


Abbildung 9: Relative mittlere Dosis/kg KG und Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen/Gruppe in den Gendosis-Gruppen 1 und 2

#### 4.2.6. Ansprechen auf die Therapie

Das klinische Zustandsbild der Patienten wurde bei Aufnahme und nach vierwöchiger Behandlung mittels der Paranoid-Depressivitäts-Skala von von Zerssen (Collegium Internationale Psychiatriae Scolarum 1996) beurteilt. Patienten mit einer affektiven Störung zeigten zu Behandlungsbeginn einen mittleren Punktwert der D-Skala von  $20,46 \pm 9,53$  Punkten, nach vierwöchiger Behandlung fiel der Mittelwert auf  $14,59 \pm 11,38$  Punkte. Es fand sich eine durchschnittliche prozentuale Besserung um  $28,69 \pm 47,72\%$ . Die P-Skala betrug bei Patienten mit einer Erkrankung aus dem schizophrenen Formenkreis bei Aufnahme  $8,18 \pm 6,32$  Punkte und nach vier Wochen  $5,80 \pm 6,01$  Punkte, die durchschnittliche prozentuale Besserung  $29,10 \pm 62,60\%$ . Für beide Gruppen lag die Signifikanz im T-Test für verbundene Stichproben bei  $p=0,001$ .

Die Patienten wurden nach der erzielten Punktwertbesserung zwischen Tag 1 und Tag 28 in Non-Responder oder Responder eingeteilt. Dabei wurde als „cut-off“ die 75. Perzentile der prozentualen Besserung in der P-Skala für Patienten mit schizophreniformen Erkrankungen bzw. in der D-Skala für Patienten mit affektiven Krankheitsbildern gewählt. Dieser „cut-off“ wurde in Anlehnung an eine Arbeit von Brockmöller et al. klassifiziert, in der ebenfalls die 75. Perzentile einer Punktwertbesserung (hier: EPS score) zur Unterscheidung zweier Populationen herangezogen wird (Brockmoller et al. 2002).

In diese Auswertung konnten 112 Patienten einbezogen werden, von denen nach obiger Einteilung 28 (25,00%) als Responder klassifiziert wurden.



#### 4.2.6.1. Response und Applikation CYP2D6-abhängiger Medikamente

Um die Beziehung zwischen den CYP2D6-Gendosis-Gruppen und dem Ansprechen auf die Therapie zu analysieren, wurden Responder und Non-Responder in Subgruppen eingeteilt nach der Gendosis-Gruppe und hinsichtlich der Verschreibung CYP2D6-abhängiger oder –unabhängiger Medikamente. Dabei beschränkte sich die Analyse aufgrund unzureichender Fallzahlen in den anderen Gendosis-Gruppen auf Patienten der Gendosis-Gruppen 1 und 2, wobei relevante Daten für 98 Fälle verfügbar waren.

Während sich bei Patienten, die keine CYP2D6-abhängigen Medikamente erhalten hatten, die Anzahl der Responder in den beiden Gendosis-Gruppen nicht signifikant voneinander unterschied (GDG 1: 3 von 8 Patienten (37,50%), GDG 2: 5 von 21 Patienten (23,81%);  $p=0,461$ ; Chi-Quadrat Test), fand sich in der Subgruppe von Patienten mit CYP2D6-abhängigen Arzneimitteln ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gendosis-Gruppen: in GDG 2 hatten 13 von 34 Patienten (38,24%) auf die Therapie angesprochen, demgegenüber zeigten in GDG 1 nur 5 von 35 Individuen (14,29%) eine klinische Besserung ( $p=0,024$ ; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 29 und Abbildung 10).

Tabelle 29: Responder pro Gendosis-Gruppe, eingeteilt nach medikamentöser Therapie

	Pat. ohne CYP2D6-abh. Medikamente	Pat. mit CYP2D6-abh. Medikamenten	
Gendosisgruppe	Pat mit Ansprechen/ Gruppe	Pat mit Ansprechen/ Gruppe	Signifikanzen im Chi <sup>2</sup> -Test
1	3/8 (37,50%)	5/35 (14,29%)	$p=0,135$
2	5/21 (23,81%)	13/34 (38,24%)	$p=0,800$
Signifikanzen im Chi <sup>2</sup> -Test	$p=0,461$	<b><math>p=0,024</math></b>	

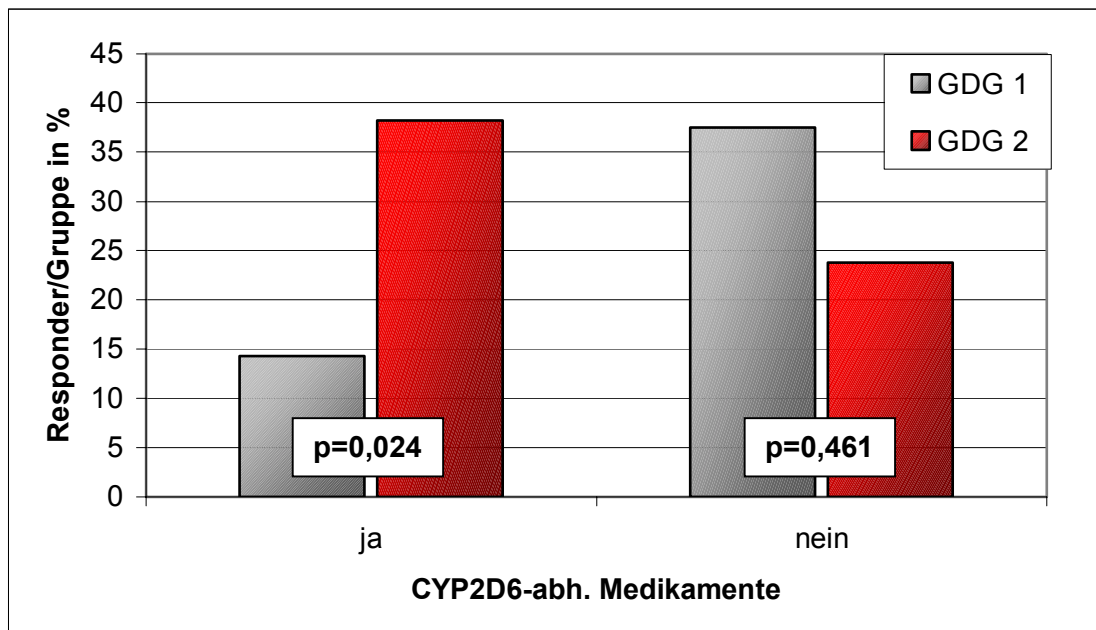


Abbildung 10: Anzahl von Respondern pro Gendosis-Gruppe, eingeteilt nach medikamentöser Therapie

#### 4.2.6.2. Response und relative mittlere Dosis/kg KG

Des Weiteren wurde untersucht, ob eine Beziehung zwischen dem Ansprechen auf die Therapie und der Höhe der applizierten relativen mittleren Dosis/kg KG CYP2D6-abhängiger Medikamente bestand. Hierzu wurden die Patienten der Gendosis-Gruppen 1 und 2 in zwei Subgruppen eingeteilt. Die eine Untergruppe bestand aus Patienten, die eine relative mittlere Dosis/kg KG von 1,00 oder mehr erhalten hatten, die andere aus Patienten mit einer applizierten Dosis von weniger als 1,00 relativ zur mittleren Dosis/kg KG. In diese Auswertung konnten 35 Patienten der Gendosis-Gruppe 1 und 31 Patienten der Gendosis-Gruppe 2 einbezogen werden, für die alle relevanten Daten zur Verfügung standen.

Es zeigte sich, dass bei einer höheren relativen mittleren Dosis/kg KG in der GDG 1 signifikant weniger Probanden auf die Therapie angesprochen hatten als in der GDG 2 (GDG 1: 1 von 15 Patienten (6,76%), GDG 2: 7 von 16 Patienten (43,75%);  $p=0,037$ ; Chi-Quadrat Test). Bei den Patienten mit einer relativen mittleren Dosis/kg KG von unter 1,00 zeigte sich kein solcher Unterschied zwischen den Gendosis-Gruppen (GDG 1: 4 von 20 Patienten (20,00%), GDG 2: 4 von 15 Patienten (26,67%);  $p=0,700$ ; Chi-Quadrat Test) (siehe Tabelle 30 und Abbildung 11).

Tabelle 30: Zusammenhang zwischen relativer mittlerer Dosis/kg KG und Responder pro Gendosis-Gruppe, Signifikanzen im Chi-Quadrat Test

Relative mittlere Dosis/kg KG	Gendosis-Gruppe	Responder/Gruppe	Signifikanzen im Chi <sup>2</sup> -Test
<1,00	1	4/20 (20,00%)	p=0,700
	2	4/15 (26,67%)	
≥1,00	1	1/15 (6,67%)	<b>p=0,037</b>
	2	7/16 (43,75%)	

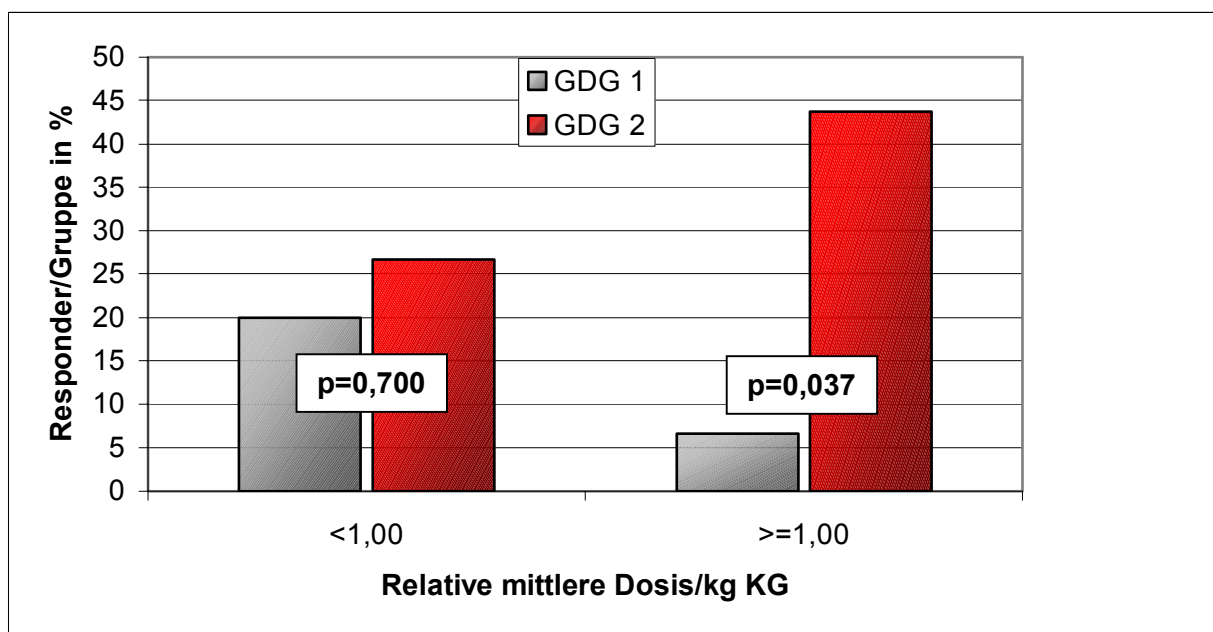


Abbildung 11: Relative mittlere Dosis/kg KG und Responder/Gruppe in den Gendosis-Gruppen 1 und 2

## 5. Diskussion

### 5.1. Genotypisierung

Das CYP2D6-Enzym ist verantwortlich für den Metabolismus einer Vielzahl verschiedener Arzneimittel, darunter insbesondere auch zahlreiche Antidepressiva und Neuroleptika. Die genetischen Polymorphismen des CYP2D6-Gens führen zu großen Unterschieden in der enzymatischen Aktivität des entsprechenden Genprodukts. Diese inter-individuellen Abweichungen der Stoffwechsellkapazität können den Therapieverlauf sowie Arzneimittelwirkungen und –nebenwirkungen beeinflussen. Eine Vorhersage der metabolischen Kapazität vor Therapiebeginn könnte daher zu einer Optimierung und Individualisierung der Pharmako- und insbesondere der Psychopharmakotherapie beitragen.

In der Vergangenheit wurde die Phänotypisierung als Goldstandard zur Beurteilung der Pharmakokinetik eines Individuums angesehen. Allerdings ist die Phänotypisierung mit einer Reihe von Nachteilen behaftet, die einen routinemäßigen Einsatz in der Praxis verhindern (Steimer et al. 2002c). Eine Alternative zur Phänotypisierung stellt die Genotypisierung dar. Voraussetzung für ihren Einsatz in der pharmakogenetischen Diagnostik ist, dass sie schnell, kosten-effektiv und sicher die gewünschte Information liefern kann.

Die hier vorgestellte Methodik zur Analyse der CYP2D6\*2-, \*41- und \*35-Allele erlaubt in Kombination mit bereits beschriebenen Analysemethoden (Stuven et al. 1996; Ji et al. 2002a; Stamer et al. 2002; Muller et al. 2003; Steimer et al. 2005a) eine umfassende Untersuchung der wichtigsten der bisher bekannten CYP2D6-Polymorphismen in einer kaukasischen Bevölkerung. Dabei ermöglicht die Real-Time PCR eine größtmögliche Verkürzung der Arbeitszeit verglichen mit konventionellen PCR-Methoden, da zum einen die Dauer der Temperaturprogramme deutlich verkürzt ist, zum anderen zusätzliche Arbeitsschritte zur Darstellung des PCR-Produkts unnötig werden. So kann eine Analyse des CYP2D6-Gens im Rahmen einer routinemäßigen Genotypisierung innerhalb eines Arbeitstages vorgenommen werden (Muller et al. 2003). Die Zuverlässigkeit der entwickelten Methoden wurde durch Referenzmethoden getestet, die weitere PCR-Reaktionen, RFLP-Analyse und Gelelektrophorese umfassten. Zusätzlich wurde eine bereits beschriebene Methodik adaptiert (Sachse et al. 1997), die bei Vorliegen einer Gen-Duplikationen die Identifikation des vervielfältigten Allels (CYP2D6\*1, \*2 oder \*4) erlaubt.

Durch die Kombination der bereits beschriebenen und der neu etablierten Analysemethoden war es möglich, die Teilnehmer der Studie auf die wichtigsten CYP2D6-Allele hin zu untersuchen und nach der individuellen semiquantitativen Gendosis in Gendosis-Gruppen einzuteilen, wobei die Empfehlungen der jüngsten Literatur berücksichtigt wurden. Die Notwendigkeit der Bildung von Gendosis-Gruppen ergab sich aus der zu geringen Anzahl der Patienten pro Gendosis, wodurch Vergleiche von Patienten einzelner Gendosen statistisch nicht verwertbar waren.

Verschiedene Studien zur Genotypisierung haben ergeben, dass sich die Prävalenzen der Polymorphismen des CYP2D6-Gens in einer psychiatrischen Population nicht von denen in der Allgemeinbevölkerung unterscheiden (Daniels et al. 1995; Chen et al. 1996; Hamelin et al. 1999). Allerdings zeigte sich in einer Voruntersuchung bei 75 psychiatrischen Patienten ein vermehrtes Auftreten von UM-Metabolisierern im Vergleich zur Normalbevölkerung (Steimer et al. 2000), eine andere Untersuchung fand deutlich weniger Patienten mit einem PM-Genotyp als dies aufgrund der Verteilung dieses Genotyps in der Gesamtbevölkerung zu erwarten gewesen wäre (Brockmoller et al. 2002).

Die in der hier vorgestellten Studienpopulation mittels Genotypisierung ermittelten Allel-Frequenzen entsprachen den in der Normalbevölkerung angetroffenen Werten (Steiner et al. 1988; Sachse et al. 1997; Scordo et al. 2004) und bestätigten damit die Ergebnisse vorheriger Untersuchungen.

Die abweichenden Befunde in den oben genannten Studien lassen sich im ersten Fall durch den geringen Stichprobenumfang erklären. Im letzteren Fall beschränkte sich die Studie auf Patienten, die mit Haloperidol behandelt wurden. Die Autoren schlossen, dass die divergenten Prävalenzen dadurch zustande kamen, dass PM-Metabolisierer auch mit geringeren Dosierungen, wie sie im ambulanten Bereich verabreicht werden, schon ausreichend hohe Serumspiegel entwickeln und so besser auf die Therapie ansprechen, was eine stationäre Behandlung überflüssig machen könnte.

## **5.2. Klinische Studie**

Das Ziel dieser klinischen Studie war es, den Einfluss des individuellen CYP2D6-Genstatus auf den Verlauf der medikamentösen Therapie, die klinische Wirksamkeit und die auftretenden Nebenwirkungen während einer stationären psychiatrischen Behandlung zu untersuchen. Es sollte geklärt werden, ob durch eine Genotypisierung diese Variablen hinreichend gut vorhergesagt und so von vorneherein eine geeignete Medikation gewählt werden könnte, um Therapieversagen oder das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen zu verhindern.

### **5.2.1. Psychiatrischen Vorgeschichte**

Bezüglich der vorangegangenen stationären Aufenthalte unterschieden sich die Patienten der verschiedenen CYP2D6-Genosis-Gruppen unserer Studie nicht voneinander, wobei aufgrund der Heterogenität der Studienpopulation im Hinblick auf Alter und Diagnosen signifikante Unterschiede auch nicht zu erwarten waren.

### **5.2.2. Aufenthaltsdauer**

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde aufgezeigt, dass Patienten, die CYP2D6-abhängige Medikamente erhalten hatten, eine deutlich längere stationäre Aufenthaltsdauer aufwiesen als Patienten ohne CYP2D6-dependente Medikation (Chou et al. 2000). Dieses Phänomen konnte durch die Ergebnisse unserer Untersuchung bestätigt werden: alle Patienten, die mit Substanzen behandelt worden waren, welche primär über das CYP2D6-Enzym abgebaut werden, waren in dem beobachteten Zeitraum länger in stationärer Behandlung als Patienten ohne die Applikation solcher Präparate. Der beobachtete Unterschied erreichte beinahe ein statistisch signifikantes Niveau. Die Tatsache, dass alle Patienten mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten unabhängig von der Genosis-Gruppe länger hospitalisiert waren, lässt darauf schließen, dass die Therapie mit solchen Substanzen langwieriger ist als die medikamentöse Therapie mit Präparaten, die über andere Stoffwechselwege abgebaut werden. Ein möglicher Grund dafür könnte die breite Substratspezifität des CYP2D6-Enzyms sein. Eine Vielzahl häufig verabreichter psychoaktiver Arzneimittel oder kardiovaskulärer Begleitmedikamente wird über das CYP2D6-Enzym verstoffwechselt, so dass nicht selten Interaktionen wie Sättigung oder Inhibition des Abbauweges resultieren (Brosen et al. 1986a; Brosen et al. 1988; Brosen et al. 1989; Brosen 1996; Owen et al. 1998; Prior et al. 1999; Ereshefsky et al. 2000). Diese Arzneimittelinteraktionen können den Therapieverlauf beeinflussen und verzögern.

### **5.2.3. Medikamentöse Therapie**

Der überwiegende Anteil der Studienpatienten erhielt während des stationären Aufenthaltes mindestens ein Medikament, das vorwiegend über das CYP2D6-Enzym eliminiert wird. Die Hälfte aller Patienten in der GDG 0 nahmen CYP2D6-abhängige Medikamente ein. Außerdem wurden 31,33% aller verabreichten Antidepressiva und Neuroleptika primär über den CYP2D6-Stoffwechselweg abgebaut. Diese Zahlen entsprechen den Befunden in anderen Studien (Chou et al. 2000; Tamminga et al. 2003).

Interessanterweise zeigte sich, dass bei Patienten der GDG 3 die Anzahl der verschriebenen CYP2D6-abhängigen Medikamente signifikant höher war als bei Patienten der anderen Gendosis-Gruppen. Dies könnte in Kombination mit der geringeren Anzahl von Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen in dieser Gruppe als Hinweis darauf gewertet werden, dass sich die Psychopharmakotherapie mit CYP2D6-abhängigen Substanzen bei Patienten der GDG 3 klinisch relativ komplikationslos gestaltet und deshalb diese Medikamente problemlos und damit bevorzugt appliziert werden. Auch Tamminga et al. fanden in ihrer Studie keine ungünstigen Auswirkungen des UM-Genotyp auf den Verlauf der medikamentösen Therapie (Tamminga et al. 2003). Möglicherweise hängt dies damit zusammen, dass für etliche CYP2D6-abhängige Psychopharmaka über das CYP2D6-Enzym pharmakologisch aktive Metaboliten gebildet werden, so dass hier auch ein ultra-schneller Metabolismus zu normaler pharmakologischer Aktivität der applizierten Substanz führt.

Patienten der GDG 0 mit CYP2D6-abhängigen Medikamenten zeigten ein erhöhtes Risiko für Medikamentenumstellungen verglichen mit den anderen Gendosis-Gruppen. Dies könnte mit der höheren Rate an unerwünschten Arzneimittelwirkungen in der GDG 0 zusammenhängen, die möglicherweise eine Änderung der medikamentösen Therapie erforderlich machte. Medikamentenumstellungen führen zu einer Verlängerung der stationären Aufenthaltsdauer und somit auch zu höheren Behandlungskosten.

Allerdings gab es keine Unterschiede zwischen den Gendosis-Gruppen, was die Auswirkungen von Substanzwechseln auf den beschrittenen metabolischen Pfad der verabreichten Substanzen betraf. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die behandelnden Psychiater verblindet gegenüber dem Genotyp ihrer Patienten waren und daher Medikamentenumstellungen unter Berücksichtigung der metabolischen Kapazität auch nicht erwartet werden konnten.

Die Analyse der verabreichten relativen mittleren Dosen/kg KG aller CYP2D6-abhängigen Medikamente ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gendosis-Gruppen.

Überraschenderweise fand sich jedoch eine Tendenz zu einer geringeren relativen mittleren Dosis/kg KG bei Patienten der GDG 3 verglichen mit der relativen mittleren Dosis/kg KG bei Patienten der GDG 0, welche sich wiederum nicht statistisch signifikant von der der GDG 1 oder 2 unterschied. Eigentlich würde man nach den allgemeinen Dosisempfehlungen bei UM-Metabolisierern eine höhere Dosierung erwarten, bei PM-Metabolisierern nur ca. 50% der Standarddosis (Bertilsson et al. 1993; Kirchheiner et al. 2001). Der unerwartete Befund einer sich in etwa entsprechenden relativen mittleren Dosis/kg KG bei Patienten aller Gendosisgruppen lässt sich im Falle der GDG 0 wiederum mit der Verblindung der behandelnden Psychiater gegenüber dem Genstatus der Patienten und mit einem fehlenden Therapeutischen Drug Monitoring (TDM) für eine Vielzahl der verabreichten Substanzen erklären. Die Symptome, die durch überhöhte Serumkonzentrationen der eingenommenen Präparate hervorgerufen werden, können in manchen Fällen den Symptomen der zu behandelnden Grunderkrankung entsprechen. Der Arzt kann diese Symptome ohne Kenntnis der Serumspiegel oder des Genstatus leicht als ein Nichtansprechen auf die Therapie missinterpretieren und wird dann wie oben beschrieben eher eine Änderung der medikamentösen Therapie anstreben, als die Dosis auf ein niedrigeres Niveau zu titrieren. Im Falle der GDG 3 kann die im Vergleich tendenziell eher niedrigere relative mittlere Dosis/kg KG erneut als Hinweis darauf gewertet werden, dass, wie schon oben erwähnt, durch die Bildung pharmakologisch aktiver Metaboliten der Therapieverlauf für eine Vielzahl der applizierten Substanzen nur wenig beeinträchtigt wird.

#### **5.2.4. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen**

In zahlreichen Fallbeschreibungen und einer Reihe von meist retrospektiven Studien ist schon auf den Zusammenhang zwischen komplett fehlender CYP2D6-Aktivität bzw. zu hohen Serumspiegeln der applizierten Substanzen und dem Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen hingewiesen worden (Bertilsson et al. 1981; Spina et al. 1992; Arthur et al. 1995; Pollock et al. 1995; Chen et al. 1996; Spina et al. 1997; Swanson et al. 1997; de Leon et al. 1998; Kapitany et al. 1998; Vandell et al. 1999; Chou et al. 2000; Sallee et al. 2000; Kohnke et al. 2002; Schillevoort et al. 2002; Wuttke et al. 2002; Rau et al. 2004a). Dabei zeigte sich in einigen Studien auch eine Beziehung zwischen Nebenwirkungen der applizierten Medikamente und dem IM-Genotyp bzw. einer Gendosis von 1 (Kapitany et al. 1998; Chou et al. 2000; Steimer et al. 2005b), obwohl andere Untersuchungen diese Ergebnisse nicht stützen konnten (Schillevoort et al. 2002; Wuttke et al. 2002; Rau et al. 2004b).

Auch in der hier vorliegenden Untersuchung konnte ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen CYP2D6-abhängiger Medikamente und



dem PM-Genotyp beobachtet werden: in der GDG 0 zeigte sich eine signifikant höhere Anzahl von Patienten mit beeinträchtigenden Nebenwirkungen als in den anderen Gendosis-Gruppen. Darüber hinaus fanden sich auch in der GDG 1 im Vergleich mit der GDG 2 mehr Patienten mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen, wobei dieser Unterschied aber statistisch nicht signifikant war

Äußerst bemerkenswert war die Tatsache, dass sich die Patienten der GDG 1 und 2 insbesondere dann hinsichtlich des Auftretens unerwünschter Wirkungen voneinander unterschieden, wenn eine höhere relative mittlere Dosis/kg KG der verschriebenen CYP2D6-abhängigen Präparate verabreicht wurde. Patienten der GDG 1 mit einer überdurchschnittlichen Dosis/kg KG litten signifikant häufiger unter Nebenwirkungen als Angehörige der GDG 2 mit einer entsprechend hohen relativen mittleren Dosis/kg KG, während kein solcher Unterschied zwischen den beiden Gendosis-Gruppen bei einer unterdurchschnittlichen Dosis/kg KG gefunden wurde.

Dieser Befund legt nahe, dass nicht nur „poor metabolizer“ ohne CYP2D6-Aktivität von einer Genotypisierung vor Therapiebeginn profitieren würden. Auch bei Patienten der Gendosis-Gruppen 1 und 2 könnte die Kenntnis des individuellen Genstatus Grundlage einer Therapieentscheidung sein. So könnte bei Nichtansprechen auf die medikamentöse Therapie bei Individuen der GDG 2 eine Erhöhung der applizierten Dosis durchaus erfolgversprechend sein. Bei Patienten der GDG 1 hingegen sollte aufgrund des zu erwartenden Anstiegs der unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei höheren Dosierungen statt einer Dosissteigerung besser eine Umstellung auf ein alternatives Präparat erfolgen.

#### **5.2.5. Ansprechen auf die Therapie**

Das Verhältnis zwischen CYP2D6 und klinischer Wirksamkeit der medikamentösen Therapie ist bisher nur in wenigen Studien untersucht worden (Baumann et al. 1986; Pollock et al. 1995; Lane et al. 1997; Mihara et al. 1997a; Aitchison et al. 1999; Brockmoller et al. 2002; De Vries et al. 2002; Rau et al. 2004b; Steimer et al. 2005b). Einige Einzelfallberichte und klinische Studien deuten darauf hin, dass Patienten mit einem UM-Phäno- bzw. Genotyp ein erhöhtes Risiko für ein Therapieversagen aufweisen (Bertilsson et al. 1993; Baumann et al. 1998; Brockmoller et al. 2002; Rau et al. 2004b). Allerdings konnte nur in wenigen Untersuchungen eine statistisch signifikante Beziehung zwischen Genotyp und Ansprechen auf die Therapie etabliert werden: in einer Studie fand sich ein höherer Anteil von UM-Metabolisierern in der Gruppe der Therapieversager (Rau et al. 2004b), in einer anderen Studie zeigte sich eine signifikant positive Beziehung

zwischen dem Ansprechen auf die Therapie, erhöhten S-Mianserin-Plasmaspiegeln und dem IM-Genotyp (Mihara et al. 1997b).

Von einer dritten Arbeitsgruppe wurde die These aufgestellt, dass sowohl zu hohe Haloperidol- als auch Amitriptylin/Nortriptylin-Serumspiegel, wie sie ja bei Individuen mit einem PM-Phänotyp resultieren können, neben vermehrten Nebenwirkungen eine ausbleibende klinische Wirkung mit sich bringen könnten (Ulrich et al. 1998b; Ulrich et al. 2001). In einer Meta-Analyse wiesen auch de Oliveira et al. darauf hin, dass eine Obergrenze der therapeutischen Haloperidol-Serumspiegel existiert und dass eine Überschreitung dieser Grenze zu einem schlechteren klinischen Ansprechen führen kann (de Oliveira et al. 1995). Darüber hinaus zeigte sich in einer anderen Untersuchung ein besseres therapeutischen Ansprechen in einer Patientengruppe, die eine niedrigere Risperidon-Tagesdosis erhalten hatte, verglichen mit einer Kontrollgruppe mit einer höheren Tagesdosis (Lane et al. 2000).

In der vorliegenden Studie ergab sich, dass in der GDG 1 signifikant weniger Patienten auf die Therapie angesprochen hatten als in der GDG 2. Insbesondere zeigte sich auch eine signifikant geringere Anzahl von Respondern in der GDG 1 verglichen mit GDG 2, wenn eine hohe relative mittlere Dosis/kg KG appliziert worden war, während bei einer niedrigeren mittleren Dosis/kg KG ein solcher Unterschied zwischen den Gendosisgruppen nicht etabliert werden konnte. Es fand sich also ein Zusammenhang zwischen Therapieversagen und einer semiquantitativen Gendosis von 0,5 oder 1, entsprechend einem IM-Genotyp nach herkömmlicher Nomenklatur, mit dementsprechend zu erwartenden höheren Serumspiegeln CYP2D6-abhängiger Medikamente.

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den oben erwähnten Untersuchungen zu Risperidon und Haloperidol (de Oliveira et al. 1995; Lane et al. 2000). Risperidon und Haloperidol waren auch die am zweit- und dritthäufigst verordneten CYP2D6-abhängigen Medikamente in unserer Studienpopulation.

Allerdings muss bei der Beurteilung dieser Ergebnisse unbedingt die Tatsache Beachtung finden, dass in der hier präsentierten Studie die klinische Wirksamkeit mittels eines Patienten-Selbstbeurteilungsbogens erfasst wurde. Es könnte durchaus sein, dass Patienten der GDG 1 eine eventuelle klinische Zustandsbesserung subjektiv schlechter beurteilten, da diese Patienten, wie oben dargestellt, unter vermehrten, belastenden Nebenwirkungen der Therapie zu leiden hatten, insbesondere dann, wenn sie mit überdurchschnittlichen Dosen behandelt worden waren. Darüber hinaus muss berücksichtigt werden, dass in die Studie Patienten unabhängig von der applizierten

Medikation eingeschlossen wurden, so dass eine erhebliche Heterogenität hinsichtlich pharmakologischer Eigenschaften der Studienmedikation resultierte.

Außerdem darf auch die Tatsache nicht ignoriert werden, dass neben pharmakokinetischen Faktoren noch verschiedene andere Variablen, die in der vorliegenden Studie nicht erfasst wurden, einen Einfluss auf Erfolg oder Misserfolg der medikamentösen Therapie ausüben. Dazu zählen unter anderem Non-Compliance der Patienten (Bebbington 1995), pharmakodynamische Varianten (Arranz et al. 1995) und psychosoziale Größen (Lieberman et al. 1996; vanOs et al. 1996).

Insgesamt müssen also die Ergebnisse, die die hier vorgestellte Studie hinsichtlich des therapeutischen Ansprechens erbracht hat, kritisch betrachtet werden. In jedem Falle stellen sie aber einen weiteren wichtigen Hinweis darauf dar, dass das Ansprechen auf die medikamentöse Therapie auch vom Genotyp beeinflusst werden kann, wobei eine semiquantitative Gendosis von 0,5 oder 1 mit einem schlechteren Ansprechen assoziiert ist.

#### **5.2.6. Diskussion der Fehlermöglichkeiten**

Eine Beschränkung der vorliegenden Studie ist die Tatsache, dass die Patienten nur aufgrund der Ergebnisse der Genotypisierung den verschiedenen Gendosis-Gruppen zugeordnet wurden; eine zusätzliche Phänotypbestimmung mittels einer Testsubstanz fand nicht statt. Ein sicherer Rückschluss vom Genotyp auf den resultierenden Phänotyp ist nicht in allen Fällen möglich, und es ist, wenn auch für die große Mehrzahl der Patienten unwahrscheinlich, nicht auszuschließen, dass weitere, bisher noch unbekannte Allelvarianten des CYP2D6-Gens existieren, die einen Einfluss auf die Aktivität des exprimierten Enzyms ausüben. Daher spiegelt die Einordnung der Patienten in Gendosis-Gruppen nicht notwendigerweise exakt das phänotypische Profil der Studienpopulation wider.

Die Phänotypisierung mittels einer Testsubstanz ist im Rahmen klinischer Studien allerdings kaum durchführbar. Bei den Teilnehmern der Studie handelte es sich ausschließlich um stationäre Patienten mit teils erheblichem Leidensdruck, eine Wash-out Periode von mehreren Tagen, die eine zwingende Voraussetzung für die Bestimmung des Phänotyps darstellt, wäre ethisch nicht vertretbar gewesen. Insofern fehlen als bestätigendes Bindeglied zwischen Genotyp und klinischem Outcome wünschenswerte pharmakokinetischen Daten.

Ein weiterer limitierender Faktor besteht in der äußerst heterogenen Zusammensetzung der Studienpopulation sowohl hinsichtlich demographischer und Krankheitsmerkmale als auch in Bezug auf die angewandte medikamentöse Therapie. Insbesondere die nicht

unerheblichen Unterschiede in pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften der applizierten Substanzen schränken die Aussagekraft der Studienergebnisse ein.

Auch die relativ geringe Fallzahl stellt einen begrenzenden Faktor der Studie dar. Zwar konnten einige statistisch signifikante Ergebnisse gefunden werden, trotzdem wäre eine höhere Fallzahl wünschenswert, um weitere Unterschiede statistisch signifikant erkennen zu können (de Leon et al. 1998). Darüber hinaus standen auch leider nicht für jeden Patienten alle relevanten Daten zur Verfügung, so dass nicht alle Patienten in den verschiedenen Auswertungen berücksichtigt werden konnten.

### **5.2.7. Gesamtbeurteilung der Studienergebnisse**

Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse weisen darauf hin, dass der CYP2D6-Genstatus eine wichtige Determinante für den Verlauf einer stationären psychiatrischen Behandlung darstellt.

Bei Patienten mit einer Gendosis von 0, d.h. bei Patienten ohne CYP2D6-Aktivität (Poor Metabolizer), gestaltete sich die Therapie insofern kompliziert, als häufiger Umstellungen der medikamentösen Therapie vorgenommen wurden und diese Patienten eindeutig häufiger unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen litten als Patienten mit funktionellen CYP2D6-Genen. Darüber hinaus fanden sich deutliche Hinweise, dass auch bei Patienten mit eingeschränkt-funktionellen CYP2D6-Allelen, also mit einer Gendosis von 0,5 oder 1, der Therapieverlauf durch die individuelle Gendosis beeinflusst wird: diese Patienten litten verglichen mit Patienten der Gendosis 1,5 oder 2 signifikant häufiger unter Nebenwirkungen der Therapie, wenn höhere Dosen CYP2D6-abhängiger Medikamente verabreicht wurden. Außerdem zeigte sich in dieser Patientengruppe auch ein schlechteres Ansprechen auf die Therapie im Vergleich zu den Patienten mit einer Gendosis von 1,5 oder 2, insbesondere bei der Applikation einer hohen relativen mittleren Dosis/kg KG.

Bisher wurde bei fast allen Untersuchungen davon ausgegangen, dass nur die Extremfälle einer Population, d.h. PM- und UM-Genotypen (8-10%), von einer prätherapeutischen Genotypisierung profitieren könnten.

Die hier vorgelegte Studie demonstriert jedoch, dass auch bei Individuen mit einem EM- oder IM-Genotyp der Therapieverlauf durch Kenntnis des Genstatus optimiert werden könnte: bei Patienten mit einer Gendosis von 0,5 oder 1 sollten Dosissteigerungen bei Nichtansprechen auf die Therapie vermieden werden, da hier die Gefahr des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen zunimmt und auch die Rate an Non-Respondern bei hohen relativen mittleren Dosierungen/kg KG erhöht ist. Statt dessen wäre der

Wechsel zu einem Alternativpräparat anzuraten, um unnötige Belastungen und zusätzliche Kosten durch Nebenwirkungen zu vermeiden. Bei Patienten mit einer Gendosis von 1,5 oder 2 hingegen könnten Dosissteigerungen bei Non-Response durchaus erfolgversprechend sein.

Die Ergebnisse dieser Studie sind insofern von besonderer Bedeutung, als in einem realen klinischen Setting in einer hinsichtlich klinischer Merkmale und pharmakologischer Profile sehr heterogenen Population statistisch signifikante Aussagen zum Einfluss des CYP2D6-Genstatus auf den Therapieverlauf getroffen werden konnten.

Unter der Voraussetzung, dass nicht nur die extremen Genotyp-Varianten, sondern Patienten aller Genotypen von der prätherapeutischen Kenntnis ihres individuellen Genstatus profitieren könnten, wird es künftig sehr viel leichter sein, die Kosten-Nutzen-Effizienz eines prätherapeutischen pharmakogenetischen Screenings aufzuzeigen und die routinemäßige Genotypisierung in die allgemeine klinische Praxis einzuführen.

## 6. Zusammenfassung

In der Behandlung psychiatrischer Erkrankungen nehmen Psychopharmaka seit Jahrzehnten einen hohen Stellenwert ein. Trotz langjähriger Erfahrungen mit verschiedenen Substanzen und stetiger Fortschritte in der Psychopharmakologie ist aber eine zuverlässige Voraussage des individuellen Therapieerfolges noch nicht möglich und der Therapieverlauf wird häufig durch mangelnde Wirksamkeit sowie das Auftreten unerwünschte Arzneimittelwirkungen kompliziert.

Das Enzym CYP2D6 ist am Abbau einer Vielzahl verschiedener Antidepressiva und Neuroleptika beteiligt. Das kodierende Gen auf Chromosom 22 ist überaus polymorph mit über 70 bisher bekannten Allelen. Dieser Polymorphismus des CYP2D6-Gens führt zu einer großen Bandbreite an enzymatischer Aktivität, vom völligen Fehlen bis zur stark erhöhten Stoffwechselkapazität. Durch Phänotypisierung mit geeigneten Testsubstanzen können Patienten in Poor Metabolizer (PM), Intermediate Metabolizer (IM), Extensive Metabolizer (EM) und Ultraextensive Metabolizer (UM) eingeteilt werden. Um die Ergebnisse einer Genotypisierung mit diesen phänotypischen Eigenschaften zu korrelieren, wurde kürzlich das Konzept der semiquantitativen Gendosis eingeführt. Nullallele erhalten hierbei die Gendosis „0“ (z.B. CYP2D6\*3, \*4 und \*6), Allele, die zu einem Genprodukt mit eingeschränkter enzymatischer Aktivität führen, den Wert „0,5“ (z.B. CYP2D6\*9, \*10, \*17 und \*41), das Wildtyp-Allel (CYP2D6\*1) und das CYP2D6\*2-Allel werden mit dem Wert „1“ belegt und multiplizierte Allele (CYP2D6\*1XN und \*2XN) mit dem Wert „>=2“.

Zahlreiche anekdotische Einzelfallbeschreibungen und retrospektive Studien haben in den vergangenen Jahren Hinweise darauf erbracht, dass genetisch bedingte inter-individuelle Unterschiede in der Pharmakokinetik applizierter CYP2D6-abhängiger Arzneimittel den Verlauf einer Psychopharmakotherapie, das Auftreten von Arzneimittelwirkungen und –nebenwirkungen beeinflussen können. Aus diesem Grunde wurde postuliert, dass die prätherapeutische Kenntnis der metabolischen Kapazität eines Patienten den Weg zu einer individuell optimierten medikamentösen Therapie mit CYP2D6-Substraten ebnen könnte.

Eine Vorhersage der zu erwartenden Pharmakokinetik ist grundsätzlich mittels Phäno- oder Genotypisierung möglich. Während die Phänotypisierung mit einer Reihe von Nachteilen behaftet ist, die einen routinemäßigen Einsatz in der Klinik verhindern, hat sich die Genotypisierung in den letzten Jahren prinzipiell methodisch als valide und praktikable Alternative erwiesen.

Im experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit wurden neue PCR-Methoden entwickelt, die in Kombination mit bereits beschriebenen Verfahren eine umfassende Analyse der wichtigsten der bisher bekannten Polymorphismen des CYP2D6-Gens in einer kaukasischen Bevölkerung erlauben. Zur Evaluation der entwickelten Methoden wurden über 150 Proben analysiert und die Ergebnisse durch weitere PCR-Reaktionen, RFLP-Analyse und Gelelektrophorese validiert. Durch den Einsatz der LightCycler™-Technologie wurde die Gesamtarbeitszeit für die Genotypisierung deutlich reduziert, so dass eine routinemäßigen Anwendung in der klinischen Praxis möglich wird.

In der durchgeführten doppelblinden Studie mit 150 Patienten wurde der Einfluss der CYP2D6-Gendosis auf den Verlauf der medikamentösen Therapie, das Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen und das Ansprechen auf die Therapie während einer stationären psychiatrischen Behandlung untersucht.

Bei der Aufnahme in die Studie wurden die Patienten zu demographischen und anamnestischen Daten befragt und eine Genotypisierung der Allele CYP2D6\*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*7, \*8, \*9, \*10, \*17 und \*41 sowie \*1XN, \*2XN und \*4XN durchgeführt. Weitere patientenbezogenen Daten, insbesondere Informationen bezüglich der Dauer des stationären Aufenthaltes und der angewandten medikamentösen Therapie, wurden der Patientenakte entnommen. Der Schweregrad der Erkrankung wurde bei Aufnahme und nach 4 Wochen mit Hilfe der Paranoid-Depressivitäts-Skala (PD-S) erfasst. Ebenfalls nach 4 Wochen erfolgte die Beurteilung der aufgetretenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen durch den betreuenden Psychiater mittels einer Begleitsymptomliste, die in Anlehnung an die DOTES (Dosage Record and Treatment Emergent Symptom Scale) entwickelt worden war.

Dabei konnte aufgezeigt werden, dass zum Teil signifikante Beziehungen zwischen der CYP2D6-Gendosis und dem Therapieverlauf bestanden.

Alle Patienten, die CYP2D6-abhängige Medikamente erhalten hatten, waren deutlich länger hospitalisiert als Patienten ohne CYP2D6-dependente Substanzen.

Bei Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von  $\geq 2,5$  wurden häufiger 2 oder mehr CYP2D6-abhängige Medikamente verordnet als in den anderen Gendosis-Gruppen. Demgegenüber waren bei Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von 0 signifikant häufiger 2 oder mehr Umstellungen der medikamentösen Therapie zu beobachten. Die applizierte relative mittlere Dosis/kg KG unterschied sich nicht innerhalb der verschiedenen Gendosis-Gruppen.

In der Gruppe der Poor Metabolizer war die Anzahl von Patienten, die unter unerwünschten Arzneimittelwirkungen litten, signifikant gegenüber den anderen Gendosis-Gruppen erhöht. Besonders interessant war die Beobachtung, dass sich auch die Patienten der Gendosisgruppen 1 und 2 (entsprechend Intermediate und Extensive Metabolizer nach herkömmlicher Nomenklatur) dann signifikant hinsichtlich des Auftretens von Nebenwirkungen voneinander unterschieden, wenn eine überdurchschnittlich hohe Dosis der CYP2D6-abhängigen Substanzen appliziert worden war.

Bezüglich der klinischen Wirksamkeit der angewendeten Therapie konnte festgestellt werden, dass bei Probanden mit einer semiquantitativen Gendosis von 0,5 oder 1 die Anzahl von Respondern insgesamt niedriger war als bei Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von 1,5 oder 2. Außerdem zeigte sich auch eine signifikant geringere Anzahl von Respondern in der Gruppe der Intermediate Metabolizer verglichen mit Extensive Metabolizern, wenn eine hohe relative mittlere Dosis/kg KG appliziert worden war, während keine Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen bei einer niedrigen relativen mittleren Dosis/kg KG etabliert werden konnten.

Zusammenfassend kann als Ergebnis dieser Studie festgehalten werden, dass der Verlauf der stationären psychiatrischen Behandlung hinsichtlich der angewandten medikamentösen Therapie, des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen und des Ansprechens auf die Therapie nicht nur, wie allgemein anerkannt, bei extremen Genotyp-Varianten, also der Gruppe der PM-Genotypen, vom Genstatus beeinflusst wird. Auch bei der großen Gruppe der Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von 0,5 und 1 bzw. 1,5 und 2 könnte eine prätherapeutische Genotypisierung zur Optimierung der medikamentösen Therapie beitragen. Insbesondere sollten bei Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von 0,5 oder 1 (Intermediate Metabolizer) Dosissteigerungen bei Nichtansprechen auf die Therapie vermieden werden, da hier die Gefahr des Auftretens unerwünschter Arzneimittelwirkungen zunimmt. Bei Patienten mit einer semiquantitativen Gendosis von 1,5 oder 2 (Extensive Metabolizer) hingegen könnten Dosissteigerungen bei Non-Response durchaus erfolgversprechend sein. Dieses Ergebnis ist insofern von besonderer Bedeutung, als in einer realen klinischen Situation in einer heterogen therapierten Population statistisch signifikante Aussagen zum Einfluss des CYP2D6-Genstatus auf den Therapieverlauf getroffen werden konnten.

Möglicherweise könnte durch das Resultat dieser Untersuchung das Kosten-Nutzen-Verhältnis eines routinemäßigen pharmakogenetischen Screenings vor Therapiebeginn entscheidend verbessert werden und die CYP2D6-Genotypisierung könnte sich so in



Zukunft als wichtiges Instrument erweisen, um Qualität und Effizienz der Psychopharmakotherapie zu verbessern und die medikamentöse Therapie individuell zu optimieren.

## 7. Literaturverzeichnis

Aitchison J., Munro J., Wright P., Smith S., Markoff A., Sachse C., Sham P., Murry R., Collier D., Kerwin R.

**Failure to respond to treatment with typical antipsychotics is not associated with CYP2D6 ultrarapid hydroxylation.**

Br J Clin Pharmacol (1999) 48 (3): 388-394.

Allorge D., Harlow J., Boulet O., Hayhurst G. P., Chowdry J., Roth E., Crewe K., Lo-Guidice J. M., Lhermitte M., Broly F., Tucker G. T., Ellis S. W.

**In-vitro analysis of the contribution of CYP2D6.35 to ultra-rapid metabolism.**

Pharmacogenetics (2001) 11 (8): 739-741.

Arranz M., Collier D., Sodhi M., Ball D., Roberts S., Price J., Sham P., Kerwin R.

**Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene.**

Lancet (1995) 346 (8970): 281-282.

Arthur H., Dahl M., Siwers B., Sjöqvist F.

**Polymorphic drug metabolism in schizophrenic patients with tardive dyskinesia.**

J Clin Psychopharmacol (1995) 15 (3): 211-216.

Balant-Gorgia A., Balant L., Genet C., Dayer P., Aeschlimann J., Garrone G.

**Importance of oxidative polymorphism and levomepromazine treatment on the steady-state blood concentration of clomipramine and its major metabolites.**

Eur J Clin Pharmacol (1996) 31: 449-455.

Baumann P., Broly F., Kosel M., Eap C. B.

**Ultrarapid metabolism of clomipramine in a therapy-resistant depressive patient, as confirmed by CYP2 D6 genotyping.**

Pharmacopsychiatry (1998) 31 (2): 72.

Baumann P., Jonzier-Perey M., Koeb L., Kupfer A., Tinguely D., Schopf J.

**Amitriptyline pharmacokinetics and clinical response: II. Metabolic polymorphism assessed by hydroxylation of debrisoquine and mephenytoin.**

Int Clin Psychopharmacol (1986) 1 (2): 102-112.

Bebbington P.

**The content and context of compliance.**

Int Clin Psychopharmacol (1995) 9 (Suppl 5): 41-50.

Bertilsson L., Dahl M., Sjöqvist F., Aberg-Wistedt A., Humble M., Johansson I., Lundqvist E., Ingelman-Sundberg M.

**Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine: letter.**

Lancet (1993) 341 (8836): 63.

Bertilsson L., Dahl M. L., Dalen P., Al-Shurbaji A.

**Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs.**

Br J Clin Pharmacol (2002) 53 (2): 111-122.

Bertilsson L., Mellstrom B., Sjokvist F., Martenson B., Asberg M.

**Slow hydroxylation of nortriptyline and concomitant poor debrisoquine hydroxylation: clinical implications.**

Lancet (1981) 1 (8219): 560-561.

Brachtendorf L., Jetter A., Beckurts K. T., Hoscher A. H., Fuhr U.

**Cytochrome P450 enzymes contributing to demethylation of maprotiline in man.**

Pharmacol Toxicol (2002) 90 (3): 144-149.

Brockmoller J., Kirchheiner J., Schmider J., Walter S., Sachse C., Muller-Oerlinghausen B., Roots I.

**The impact of the CYP2D6 polymorphism on haloperidol pharmacokinetics and on the outcome of haloperidol treatment.**

Clin Pharmacol Ther (2002) 72 (4): 438-452.

Broly F., Meyer U. A.

**Debrisoquine oxidation polymorphism: phenotypic consequences of a 3-base-pair deletion in exon 5 of the CYP2D6 gene.**

Pharmacogenetics (1993) 3 (3): 123-130.

Brosen K.

**Are pharmacokinetic drug interactions with the SSRIs an issue?**

Int Clin Psychopharmacol (1996) 11 Suppl 1: 23-27.

Brosen K., Gram L.

**First-pass metabolism of imipramine and despiramine: impact of the sparteine oxidation phenotype.**

Clin Pharmacol Ther (1988) 43 (4): 400-406.

Brosen K., Gram L., Klysner R., Bech P.

**Steady-state levels of imipramine and its metabolites: significance of dose-dependent kinetics.**

Eur J Clin Pharmacol (1986a) 30 (1): 43-49.

Brosen K., Gram L. F.

**Clinical significance of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism.**

Eur J Clin Pharmacol (1989) 36 (6): 537-547.

Brosen K., Klysner R., Gram L., Otton S., Bech P., Bertilsson L.

**Steady-state concentration of imipramine and its metabolites in relation to the sparteine/debrisoquine polymorphism.**

Eur J Clin Pharmacol (1986b) 30: 679-684.

Buselmaier W., Tariverdian G.

**Humangenetik.**

Berlin, Heidelberg (1999), Springer-Verlag.

Carrillo J., Dahl M., Svensson J., Alm C., Rodriguez I., Bertilsson L.

**Disposition of fluvoxamine in humans is determined by the polymorphic CYP2D6 and also by the CYP1A2 activity.**

Clin Pharmacol Ther (1996) 60 (2): 183-190.

Chen S., Chou W. H., Blouin R. A., Mao Z., Humphries L. L., Meek Q. C., Neill J. R., Martin W. L., Hays L. R., Wedlund P. J.

**The cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) enzyme polymorphism: screening costs and influence on clinical outcomes in psychiatry.**

Clin Pharmacol Ther (1996) 60 (5): 522-534.

Chou W. H., Yan F. X., de Leon J., Barnhill J., Rogers T., Cronin M., Pho M., Xiao V., Ryder T. B., Liu W. W., Teiling C., Wedlund P. J.

**Extension of a pilot study: impact from the cytochrome P450 2D6 polymorphism on outcome and costs associated with severe mental illness.**

J Clin Psychopharmacol (2000) 20 (2): 246-251.

Collegium Internationale Psychiatriae Scolarum.

**Internationale Skalen für Psychiatrie.**

Göttingen (1996), Münch.

Dahl M., Tybring G., Elwin C., Alm C., Andreasson K., Gyllenpalm M., Bertilsson L.

**Stereoselective disposition of mianserin is related to debrisoquine hydroxylation polymorphism.**

Clin Pharmacol Ther (1994) 56 (2): 176-183.

Dahl M. L., Johansson I., Bertilsson L., Ingelman-Sundberg M., Sjoqvist F.

**Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis.**

J Pharmacol Exp Ther (1995) 274 (1): 516-520.

Dahl M. L., Johansson I., Palmertz M. P., Ingelman-Sundberg M., Sjoqvist F.

**Analysis of the CYP2D6 gene in relation to debrisoquin and desipramine hydroxylation in a Swedish population.**

Clin Pharmacol Ther (1992) 51 (1): 12-17.

Dahl M. L., Sjoqvist F.

**Pharmacogenetic methods as a complement to therapeutic monitoring of antidepressants and neuroleptics.**

Ther Drug Monit (2000) 22 (1): 114-117.

Dahl-Puustinen M., Liden A., Alm C., Bertilsson L.

**Disposition of perphenazine is related to the polymorphic debrisoquine hydroxylation in man.**

Clin Pharmacol Ther (1989) 46 (1): 78-81.

Dalen P., Dahl M. L., Ruiz M. L., Nordin J., Bertilsson L.

**10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes.**

Clin Pharmacol Ther (1998) 63 (4): 444-452.

Daly A. K., Brockmoller J., Broly F., Eichelbaum M., Evans W. E., Gonzalez F. J., Huang J. D., Idle J. R., Ingelman-Sundberg M., Ishizaki T., Jacqz-Aigrain E., Meyer U. A., Nebert D. W., Steen V. M., Wolf C. R., Zanger U. M.

**Nomenclature for human CYP2D6 alleles.**

Pharmacogenetics (1996) 6 (3): 193-201.

Daniels J., Williams J., Asherson P., McGuffin P., Owen M.  
**No association between schizophrenia and the polymorphisms within the genes for debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6) and the dopamine transporter (DAT).**  
Am J Med Genet (1995) 60 (1): 85-87.

de Leon J., Barnhill J., Rogers T., Boyle J., Chou W. H., Wedlund P. J.  
**Pilot study of the cytochrome P450-2D6 genotype in a psychiatric state hospital.**  
Am J Psychiatry (1998) 155 (9): 1278-1280.

de Oliveira I. R., Dardennes R. M., Amorim E. S., Diquet B., de Sena E. P., Moreira E. C., de Castro-e-Silva E. J., Payan C., Fermanian J., Marcilio C.  
**Is there a relationship between antipsychotic blood levels and their clinical efficacy? An analysis of studies design and methodology.**  
Fundam Clin Pharmacol (1995) 9 (5): 488-502.

De Vries E. M., Pot H. J., Conemans J. M. H., Uges D. R. A.  
**The clinical relevance of routine genotyping of CYP2D6/2C19 null alleles of psychiatric patients.**  
British Journal of Clinical Pharmacology (2002) 53 (5): 550P-551P.

Doris A., Ebmeier K., Shajahan P.  
**Depressive illness.**  
Lancet (1999) 354 (9187): 1369-1375.

Eap C., Bender S., Gastpar M., Fischer W., Haarmann C., Powell K., Jonzier-Perey M., Cochard N., Baumann P.  
**Steady state plasma levels of the enantiomers of trimipramine and of its metabolites in CYP2D6-, CYP2C19- and CYP3A4/5-genotyped patients.**  
Ther Drug Monit (2000) 22 (2): 209-214.

Eichelbaum M., Baur M., Dengler H., Osikowska-Evers B., Tieves G., Zekom C., Rittner C.  
**Chromosomal assignment of human cytochrome P450 (debrisoquine/sparteine type) to chromosome 22.**  
Br J Clin Pharmacol (1987) 23 (4): 455-458.

Eichelbaum M., Spannbrucker N., Steincke B., Dengler H. J.  
**Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect.**  
Eur J Clin Pharmacol (1979) 16 (3): 183-187.

Ereshefsky L., Dugan D.  
**Review of the pharmacokinetics, pharmacogenetics, and drug interaction potential of antidepressants: focus on venlafaxine.**  
Depress Anxiety (2000) 12 Suppl 1: 30-44.

Fang J., Baker G., Silverstone P., Coutts R.  
**Involvement of CYP3A4 and CYP2D6 in the metabolism of haloperidol.**  
Cell Mol Neurobiol (1997) 17 (2): 227-233.

Firkusny L., Gleiter C.  
**Maprotiline metabolism appears to co-segregate with the genetically-determined CYP2D6 polymorphic hydroxylation of debrisoquine.**  
Br J Clin Pharmacol (1994) 37 (4): 383-388.

Gaedigk A., Gotschall R. R., Forbes N. S., Simon S. D., Kearns G. L., Leeder J. S.  
**Optimization of cytochrome P4502D6 (CYP2D6) phenotype assignment using a genotyping algorithm based on allele frequency data.**  
Pharmacogenetics (1999) 9 (6): 669-682.

Gonzales F.  
**Human cytochrome P450: problems and prospects.**  
Trends Pharmacol Sci (1992) 13: 145-158.

Gonzalez F. J., Idle J. R.  
**Pharmacogenetic phenotyping and genotyping. Present status and future potential.**  
Clin Pharmacokinet (1994) 26 (1): 59-70.

Gough A., Smith C., Howell S., Wolf C., Bryant S., Spurr N.  
**Localization of the CYP2D gene locus to human chromosome 22q13.1 by polymerase chain reaction, in situ hybridization, and linkage analysis.**  
Genomics (1993) 15: 430-432.

Griese E. U., Zanger U. M., Brudermanns U., Gaedigk A., Mikus G., Morike K., Stuken T., Eichelbaum M.  
**Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population.**  
Pharmacogenetics (1998) 8 (1): 15-26.

Hamelin B., Turgeon J., Vallee F., Belanger P., Paquet F., Lebel M.  
**The disposition of fluoxetine but not sertraline is altered in poor metabolizers of debrisoquin.**  
Clin Pharmacol Ther (1996) 60 (5): 512-521.

Hamelin B. A., Dorson P. G., Pabis D., Still D., Bouchard R. H., Pourcher E., Rail J., Turgeon J., Crismon M. L.  
**CYP2D6 mutations and therapeutic outcome in schizophrenic patients.**  
Pharmacotherapy (1999) 19 (9): 1057-1063.

Haritos V. S., Ghabrial H., Ahokas J. T., Ching M. S.  
**Role of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) in the stereospecific metabolism of E- and Z-doxepin.**  
Pharmacogenetics (2000) 10 (7): 591-603.

Heim M. H., Meyer U. A.  
**Evolution of a highly polymorphic human cytochrome P450 gene cluster: CYP2D6.**  
Genomics (1992) 14 (1): 49-58.

Hiroi T., Imaoka S., Funae Y.  
**Dopamine formation from tyramine by CYP2D6.**  
Biochem Biophys Res Commun (1998) 249 (3): 838-843.

Huang M., Peer A. v., Woestenborghs R., Coster R. d., Haeykants J., Jansen A., Zylicz Z., Visscher H., Jonkmann J.  
**Pharmacokinetics of the novel antipsychotic agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects.**  
Clin Pharmacol Ther (1993) 54 (3): 257-268.

Ingelman-Sundberg M., Daly A., Nebert D.  
**Homepage of the Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Committee.**  
<http://www.imm.ki.se/CYPalleles>.

Ingelman-Sundberg M., Evans W. E.  
**Unravelling the functional genomics of the human CYP2D6 gene locus.**  
Pharmacogenetics (2001) 11 (7): 553-554.

Ingelman-Sundberg M., Oscarson M., McLellan R. A.  
**Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment.**  
Trends Pharmacol Sci (1999) 20: 342-349.

Ji L., Pan S., Marti-Jaun J., Hanseler E., Rentsch K., Hersberger M.  
**Single-step assays to analyze CYP2D6 gene polymorphisms in Asians: allele frequencies and a novel \*14B allele in mainland Chinese.**  
Clin Chem (2002a) 48 (7): 983-988.

Ji L., Pan S., Marti-Jaun J., Hänseler E., Rentsch K., Hersberger M.  
**Single-Step Assays to Analyze CYP2D6 Gene Polymorphisms in Asians: Allele Frequencies and a Novel \*14B Allele in Mainland Chinese.**  
Clin Chem (2002b) 48 (7): 983-988.

Johansson I., Lundqvist E., Bertilsson L., Dahl M. L., Sjoqvist F., Ingelman-Sundberg M.  
**Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine.**  
Proc Natl Acad Sci U S A (1993) 90 (24): 11825-11829.

Kalow W., Tang B.  
**Hypothesis: comparison of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research.**  
Pharmacogenetics (1998) 8: 283-289.

Kapitany T., Lenzinger E., Schindler S., Barnas C., Fuchs K., Sieghart W., Aschauer H., Kaspar S.  
**Genetic polymorphisms for drug metabolism (Cyp2D6) and tardive dyskinesia in schizophrenia.**  
Schizophr Res (1998) 32 (2): 101-106.

Kerwin R., Osborne S.  
**Antipsychotic drugs.**  
Medicine (2000) 28 (4): 23-25.

Kimura S., M U., Skoda R., Meyer U., Gonzales F.  
**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 (1989) 45: 889-904.

Kirchheiner J., Brosen K., Dahl M. L., Gram L. F., Kasper S., Roots I., Sjoqvist F., Spina E., Brockmoller J.  
**CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages.**  
Acta Psychiatr Scand (2001) 104 (3): 173-192.

Kohnke M. D., Griese E. U., Stosser D., Gaertner I., Barth G.  
**Cytochrome P450 2D6 deficiency and its clinical relevance in a patient treated with risperidone.**

Pharmacopsychiatry (2002) 35 (3): 116-118.

Kvist E. E., Al-Shurbaji A., Dahl M. L., Nordin C., Alvan G., Stahle L.  
**Quantitative pharmacogenetics of nortriptyline: a novel approach.**

Clin Pharmacokinet (2001) 40 (11): 869-877.

Lane H., Hu O., Jann M., Deng H., Lin H., Chang W.  
**Dextromethorphan phenotyping and haloperidol disposition in schizophrenic patients.**

Psychia Res (1997) 69 (2-3): 105-111.

Lane H. Y., Chiu W. C., Chou J. C., Wu S. T., Su M. H., Chang W. H.  
**Risperidone in acutely exacerbated schizophrenia: dosing strategies and plasma levels.**

J Clin Psychiatry (2000) 61 (3): 209-214.

Lieberman J., Alvir J., Koreen A., Geisler S., Chakos M., Sheitman B., Woerner M.  
**Psychobiological correlates of treatment response in schizophrenia.**

Neuropsychopharmacol (1996) 14 (3 Suppl): 13S-21S.

Linder M., Prough R., Valdes R.

**Pharmacogenetics: a laboratory tool for optimizing therapeutic effect.**

Clin Chem (1997) 43 (3): 254-266.

Lovlie R., Daly A. K., Matre G. E., Molven A., Steen V. M.

**Polymorphisms in CYP2D6 duplication-negative individuals with the ultrarapid metabolizer phenotype: a role for the CYP2D6\*35 allele in ultrarapid metabolism?**

Pharmacogenetics (2001) 11 (1): 45-55.

Lovlie R., Daly A. K., Molven A., Idle J. R., Steen V. M.

**Ultrarapid metabolizers of debrisoquine: characterization and PCR-based detection of alleles with duplication of the CYP2D6 gene.**

FEBS Lett (1996) 392 (1): 30-34.

Mahgoub A., Idle J. R., Dring L. G., Lancaster R., Smith R. L.

**Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man.**

Lancet (1977) 2 (8038): 584-586.

Masimirembwa C., Johansson I., Hasler J., Ingelman-Sundberg M.

**Genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2D6 in Zimbabwean population.**

Pharmacogenetics (1993) 3 (6): 275-280.

Masimirembwa C., Persson I., Bertilsson L., Hasler J., Ingelman-Sundberg M.

**A novel mutant variant of the CYP2D6 gene (CYP2D6\*17) common in a black African population: association with diminished debrisoquine hydroxylase activity.**

Br J Clin Pharmacol (1996) 42 (6): 713-719.

McElroy S., Sachse C., Brockmoller J., Richmond J., Lira M., Friedman D., Roots I., Silber B. M., Milos P. M.

**CYP2D6 genotyping as an alternative to phenotyping for determination of metabolic status in a clinical trial setting.**

AAPS PharmSci (2000) 2 (4): E33.



Mellstrom B., Bertilsson L., Lou Y. C., Sawe J., Sjoqvist F.  
**Amitriptyline metabolism: relationship to polymorphic debrisoquine hydroxylation.**  
Clin Pharmacol Ther (1983) 34 (4): 516-520.

Meyer U. A., Zanger U. M.  
**Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism.**  
Annu Rev Pharmacol Toxicol (1997) 37: 269-296.

Mihara K., Otani K., Suzuki A., Yasui N., Nakano H., Meng X., Ohkubo T., Nagasaki T., Kaneko S., Tsuchida S., Sugawara K., Gonzalez F. J.  
**Relationship between the CYP2D6 genotype and the steady-state plasma concentrations of trazodone and its active metabolite m-chlorophenylpiperazine.**  
Psychopharmacology (Berl) (1997a) 133 (1): 95-98.

Mihara K., Otani K., Tybring G., Dahl M. L., Bertilsson L., Kaneko S.  
**The CYP2D6 genotype and plasma concentrations of mianserin enantiomers in relation to therapeutic response to mianserin in depressed Japanese patients.**  
J Clin Psychopharmacol (1997b) 17 (6): 467-471.

Muller B., Zopf K., Bachofer J., Steimer W.  
**Optimized Strategy for Rapid Cytochrome P450 2D6 Genotyping by Real-Time Long PCR.**  
Clin Chem (2003) 49 (10): 1624-1631.

Murphy G. M., Jr., Pollock B. G., Kirshner M. A., Pascoe N., Cheuk W., Mulsant B. H., Reynolds C. F.3rd.  
**CYP2D6 genotyping with oligonucleotide microarrays and nortriptyline concentrations in geriatric depression.**  
Neuropsychopharmacology (2001) 25 (5): 737-743.

Musa M. N., Miescke K. J.  
**Pharmacogenetics of desipramine metabolism.**  
Int J Clin Pharmacol Ther (1994) 32 (3): 126-130.

Nebert D. W.  
**Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist?**  
Am J Hum Genet (1997) 60 (2): 265-271.

Nelson D., Kamataki T., Waxman D., Guengerich F., Estabrook R., Feyereisen R.  
**The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature.**  
DNA Cell Biol (1993) 12: 1-51.

Otton S., Ball S., Cheung S., Inaba T., Rudolph R., Sellers E.  
**Venlafaxine oxidation in vitro is catalysed by CYP2D6.**  
Br J Clin Pharmacol (1996) 41 (2): 149-156.

Owen J. R., Nemeroff C. B.  
**New antidepressants and the cytochrome P450 system: focus on venlafaxine, nefazodone, and mirtazapine.**  
Depress Anxiety (1998) 7 Suppl 1: 24-32.

Pollock B. G., Mulsant B. H., Sweet R. A., Rosen J., Altieri L. P., Perel J. M.  
**Prospective cytochrome P450 phenotyping for neuroleptic treatment in dementia.**  
Psychopharmacol Bull (1995) 31 (2): 327-331.

Poolsup N., Li Wan Po A., Knight T. L.  
**Pharmacogenetics and psychopharmacotherapy.**  
J Clin Pharm Ther (2000) 25 (3): 197-220.

Prior T. I., Chue P. S., Tibbo P., Baker G. B.  
**Drug metabolism and atypical antipsychotics.**  
Eur Neuropsychopharmacol (1999) 9 (4): 301-309.

Raimundo S., Fischer J., Eichelbaum M., Griese E. U., Schwab M., Zanger U. M.  
**Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metabolizer' phenotype for drug oxidation by CYP2D6.**  
Pharmacogenetics (2000) 10 (7): 577-581.

Raimundo S., Toscano C., Klein K., Fischer J., Griese E. U., Eichelbaum M., Schwab M., Zanger U. M.  
**A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects.**  
Clin Pharmacol Ther (2004) 76 (2): 128-138.

Rau T., Wohlleben G., Wuttke H., Thuerauf N., Lunkenheimer J., Lanczik M., Eschenhagen T.  
**CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants - a pilot study.**  
Clin Pharmacol Ther (2004a) 75 (5): 386-393.

Rau T., Wohlleben G., Wuttke H., Thuerauf N., Lunkenheimer J., Lanczik M., Eschenhagen T.  
**CYP2D6 genotype: impact on adverse effects and nonresponse during treatment with antidepressants-a pilot study.**  
Clin Pharmacol Ther (2004b) 75 (5): 386-393.

Sachse C., Brockmoller J., Bauer S., Roots I.  
**Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences.**  
Am J Hum Genet (1997) 60 (2): 284-295.

Sallee F. R., DeVane C. L., Ferrell R. E.  
**Fluoxetine-related death in a child with cytochrome P-450 2D6 genetic deficiency.**  
J Child Adolesc Psychopharmacol (2000) 10 (1): 27-34.

Schillevoort I., de Boer A., van der Weide J., Steijns L. S., Roos R. A., Jansen P. A., Leufkens H. G.  
**Antipsychotic-induced extrapyramidal syndromes and cytochrome P450 2D6 genotype: a case-control study.**  
Pharmacogenetics (2002) 12 (3): 235-240.

Scordo M., Caputi A., D'Arrigo C., Fava G., Spina E.  
**Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population.**  
Pharmacol Res (2004) 50 (2): 195-200.

Scordo M. G., Spina E.

**Cytochrome P450 polymorphisms and response to antipsychotic therapy.**

Pharmacogenomics (2002) 3 (2): 201-218.

Shimoda K., Someya T., Yokono A., Morita S., Hirokane G., Takahashi S., Okawa M.  
**Impact of CYP2C19 and CYP2D6 genotypes on metabolism of amitriptyline in Japanese psychiatric patients.**

J Clin Psychopharmacol (2002) 22 (4): 371-378.

Sindrup S., Brosen K., Gram L., Hallas J., Skelbo E., Allen A., Allen G., Cooper S., Mellows G., Tasker T.

**The relationship between paroxetine and the sparteine oxidation polymorphism.**

Clin Pharmacol Ther (1992) 51 (3): 278-287.

Spina E., Ancione M., DiRosa A., Meduri M., Caputi A.

**Polymorphic debrisoquine oxidation and acute neuroleptic-induced adverse effects.**

Eur J Clin Pharmacol (1992) 42 (3): 347-348.

Spina E., Gitto C., Avenoso A., Campo G. M., Caputi A. P., Perucca E.

**Relationship between plasma desipramine levels, CYP2D6 phenotype and clinical response to desipramine: a prospective study.**

Eur J Clin Pharmacol (1997) 51 (5): 395-398.

Stamer U. M., Bayerer B., Wolf S., Hoefft A., Stuber F.

**Rapid and reliable method for cytochrome P450 2D6 genotyping.**

Clin Chem (2002) 48 (9): 1412-1417.

Steimer W., Bachofer J., Leucht S., Muller B.

**Rapid detection of the ultraextensive metabolizer associated CYP2D6\*35 polymorphism.**

Clinical Chemistry (2002a) Orlando.

Steimer W., Bachofer J., Leucht S., Muller B.

**Rapid detection of the ultraextensive metabolizer associated CYP2D6\*35 polymorphism.**

Clinical Chemistry (2002b) 48 (6): A45-A45.

Steimer W., Mueller B., Leucht S., Kissling W.

**Prevalence of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) and serotonin transporter (5-HTT) polymorphisms in depressed inpatients compared to a control group.**

Clinical Chemistry (2000) San Francisco.

Steimer W., Muller T., Popp J., Heres S., Kissling W., Leucht S.

**Rapid detection of the intermediate metabolizer associated CYP2D6 polymorphisms\*9 and\*17 with real time PCR.**

Therapeutic Drug Monitoring (2005a) 27 (2): 242-243.

Steimer W., Potter J. M.

**Pharmacogenetic screening and therapeutic drugs.**

Clin Chim Acta (2002c) 315 (1-2): 137-155.

Steimer W., Zopf K., Von Amelunxen S., Pfeiffer H., Bachofer J., Popp J., Messner B., Kissling W., Leucht S.

**Allele-Specific Change of Concentration and Functional Gene Dose for the Prediction of Steady-State Serum Concentrations of Amitriptyline and Nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 Extensive and Intermediate Metabolizers.**

Clin Chem (2004) 50 (9): 1623-1633.

Steimer W., Zopf K., von Amelunxen S., Pfeiffer H., Bachofer J., Popp J., Messner B., Kissling W., Leucht S.

**Amitriptyline or Not, That Is the Question: Pharmacogenetic Testing of CYP2D6 and CYP2C19 Identifies Patients with Low or High Risk for Side Effects in Amitriptyline Therapy.**

Clin Chem (2005b) 51 (2): 376-385.

Steiner E., Bertilsson L., Sawe J., Bertling I., Sjoqvist F.

**Polymorphic debrisoquine hydroxylation in 757 Swedish subjects.**

Clin Pharmacol Ther (1988) 44 (4): 431-435.

Stormer E., Brockmoller J., Roots I., Schmider J.

**Cytochrome P-450 enzymes and FMO3 contribute to the disposition of the antipsychotic drug perazine in vitro.**

Psychopharmacology (Berl) (2000a) 151 (4): 312-320.

Stormer E., von Moltke L. L., Shader R. I., Greenblatt D. J.

**Metabolism of the antidepressant mirtazapine in vitro: contribution of cytochromes P-450 1A2, 2D6, and 3A4.**

Drug Metab Dispos (2000b) 28 (10): 1168-1175.

Stuven T., Griese E. U., Kroemer H. K., Eichelbaum M., Zanger U. M.

**Rapid detection of CYP2D6 null alleles by long distance- and multiplex-polymerase chain reaction.**

Pharmacogenetics (1996) 6 (5): 417-421.

Swanson J. R., Jones G. R., Krasselt W., Denmark L. N., Ratti F.

**Death of two subjects due to imipramine and desipramine metabolite accumulation during chronic therapy: a review of the literature and possible mechanisms.**

J Forensic Sci (1997) 42 (2): 335-339.

Tamminga W. J., Wemer J., Oosterhuis B., De Boer A., Vranckx S., Drenth B. F., De Zeeuw R. A., De Leij L. F., Jonkman J. H.

**Polymorphic drug metabolism (CYP2D6) and utilisation of psychotropic drugs in hospitalised psychiatric patients: a retrospective study.**

Eur J Clin Pharmacol (2003) 59 (1): 57-64.

Taylor D.

**Clozapine - Five years on.**

Pharm J (1995) 254: 260-263.

Tyndale R., Kalow W., Inaba T.

**Oxidation of reduced haloperidol to haloperidol: involvement of human P450IID6 (sparteine/debrisoquine monooxygenase).**

Br J Clin Pharmacol (1991) 31 (6): 655-660.

- Ulrich S., Neuhof S., Braun V., Meyer F. P.  
**Therapeutic window of serum haloperidol concentration in acute schizophrenia and schizoaffective disorder.**  
Pharmacopsychiatry (1998a) 31 (5): 163-169.
- Ulrich S., Northoff G., Wurthmann C., Partscht G., Pester U., Herscu H., Meyer F. P.  
**Serum levels of amitriptyline and therapeutic effect in non-delusional moderately to severely depressed in-patients: a therapeutic window relationship.**  
Pharmacopsychiatry (2001) 34 (1): 33-40.
- Ulrich S., Wurthmann C., Brosz M., Meyer F. P.  
**The relationship between serum concentration and therapeutic effect of haloperidol in patients with acute schizophrenia.**  
Clin Pharmacokinet (1998b) 34 (3): 227-263.
- Vandel P., Haffen E., Vandel S., Bonin B., Nezelof S., Sechter D., Broly F., Bizouard P., Dalery J.  
**Drug extrapyramidal side effects. Cyp2D6 genotypes and phenotypes.**  
Eur J Clin Pharmacol (1999) 55 (9): 659-665.
- vanOs J., Fahy T., Jones P., Harvey I., Sham P., Lewis S., Bebington P., Toone B., Williams M., Murray R.  
**Psychopathological syndromes in the functional psychoses: associations with course and outcome.**  
Psychol Med (1996) 26 (1): 161-176.
- Wedlund P. J., de Leon J.  
**Pharmacogenomic testing: the cost factor.**  
Pharmacogenomics J (2001) 1 (3): 171-174.
- Wuttke H., Rau T., Heide R., Bergmann K., Bohm M., Weil J., Werner D., Eschenhagen T.  
**Increased frequency of cytochrome P450 2D6 poor metabolizers among patients with metoprolol-associated adverse effects.**  
Clin Pharmacol Ther (2002) 72 (4): 429-437.
- Yokota H., Tamura S., Furuya H., Kimura S., Watanabe M., Kanazawa I., Kondo I., Gonzalez F. J.  
**Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism.**  
Pharmacogenetics (1993) 3 (5): 256-263.
- Yoshii K., Kobayashi K., Tsumuji M., Tani M., Shimada N., Chiba K.  
**Identification of human cytochrome P450 isoforms involved in the 7-hydroxylation of chlorpromazine by human liver microsomes.**  
Life Sci (2000) 67 (2): 175-184.
- Zanger U. M., Fischer J., Raimundo S., Stuken T., Evert B. O., Schwab M., Eichelbaum M.  
**Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6.**  
Pharmacogenetics (2001) 11 (7): 573-585.

## 8. Anhang

### 8.1. Paranoid-Depressivitäts-Skala (PD-S)

(Collegium Internationale Psychiatriae Scholarum 1996)

Prüfungsnummer <input type="text"/>	Testcode <input type="text"/>	laufende Nr. <input type="text"/>	Prüftag Nr. <input type="text"/>	Messung stelle <input type="text"/>	Prüfer-Nr. <input type="text"/>	CIPS	
Code des Patienten/ Probanden <input type="text"/>	Datum Tag <input type="text"/>	Monat <input type="text"/>	Jahr <input type="text"/>	Tageszeit Stunde <input type="text"/>	Medikation <input type="text"/>		Initialien des Probanden (Patienten) <input type="text"/>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		
Unterschrift des Untersuchers <input type="text"/>							PD-S

<b>Anleitung</b> Lesen Sie bitte die folgenden Sätze. Entscheiden Sie bei jeder Feststellung, ob sie für Sie zu trifft oder nicht. Machen Sie ein Kreuz in eines der vier Kästchen rechts entsprechend der Stärke Ihrer Zustimmung bzw. Ablehnung. Füllen Sie den Bogen sorgfältig und möglichst schnell selbständig aus. Lassen Sie keinen Satz aus!	
Bitte, hier anfangen (1.–13.)	hier fortsetzen (14.–26.)
trifft ausgesprochen zu trifft überwiegend zu trifft etwas zu trifft gar nicht zu	trifft ausgesprochen zu trifft überwiegend zu trifft etwas zu trifft gar nicht zu
1. Ich habe die Anweisung verstanden	14. Ich fühle mich niedergeschlagen und schwermütig
2. Ich bin bereit, jede Frage so wahrheitsgetreu wie möglich zu beantworten	15. Man will mich geistig vernichten
3. Ich habe Freude an den verschiedensten Spielen und Freizeitbeschäftigungen	16. Ich kann das, was ich lese, nicht mehr so gut verstehen wie früher
4. Kritik verletzt mich stärker als früher	17. Am liebsten würde ich mir das Leben nehmen
5. In letzter Zeit bin ich sehr ängstlich und schreckhaft	18. Ich war schon mal so aufgeregt, daß ich nur schwer einschlafen konnte
6. Ich war hin und wieder erkältet	19. An manchen Tagen kann ich mich schlechter konzentrieren als gewöhnlich
7. Ich werde gegen meinen Willen von anderen Menschen beeinflusst	20. Ich werde dauernd von anderen beobachtet oder kontrolliert
8. Ich weine leicht	21. Morgens fühle ich mich besonders schlecht
9. Ich hatte schon mal das Gefühl, den Weltuntergang zu erleben	22. Ich leide unter fremdartigen Veränderungen am oder im Körper
10. Gelegentlich fühle ich mich müde	23. Es gibt Leute, die meine Gedanken und Ideen zu stehlen versuchen
11. Ich werde von anderen zu Unrecht für krank gehalten	24. Ich habe zu anderen Menschen keine innere Beziehung mehr
12. Manchmal kommen mir Körperbewegungen wie von selbst	25. Zu allen meinen Handlungen und Gedanken werden Bemerkungen gemacht
13. Ich habe Angst, den Verstand zu verlieren	26. Ich habe manchmal im Leben Angst gehabt

Bitte hier anfangen (27.–35.)	trifft ausgesprochen zu	trifft überwiegend zu	trifft etwas zu	trifft gar nicht zu	hier fortsetzen (36.–43.)	trifft ausgesprochen zu	trifft überwiegend zu	trifft etwas zu	trifft gar nicht zu
27. Man ist neidisch auf mein Wissen, meine Entdeckungen und besonderen Erfahrungen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	36. Ich bin jetzt viel weniger am Liebesleben interessiert	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28. Ich habe eigenartige Erlebnisse wie Eingebungen, Visionen und dergleichen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	37. Wenn ich einen Gedanken denke, wird er auch schon von anderen gewußt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Hin und wieder bin ich schlecht gelaunt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	38. Für manche Dinge muß ich eigene, neue Worte bilden, die andere Leute zunächst nicht verstehen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Man trachtet mir nach dem Leben	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	39. Oft fühle ich mich einfach miserabel	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Ich fühle, daß ich nahe daran bin zusammenzubrechen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	40. Ich habe schon mal vor lauter Aufregung Herzklopfen bekommen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32. Ich habe das Gefühl, mit elektrischen Strömen, Strahlen oder Hypnose beeinflusst zu werden	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	41. Ich komme beim besten Willen nicht mit den kleinsten Gedankenschritten voran	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33. Ich habe mir schon mal den Magen verdorben	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	42. Ich habe keine Gefühle mehr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34. Ich habe ständig Angst, daß ich etwas Falsches sagen oder tun könnte	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	43. Ich glaube, daß ich jede Frage wahrheitsgetreu beantwortet habe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35. Manchmal fühle ich eine übermenschliche und überströmende Kraft in mir	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>					
Bitte prüfen Sie, ob Sie alle Feststellungen beantwortet haben!									
Score P	Score D	Score Kv							
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>							

## 8.2. Begleitsymptomliste

### Pharmakogenetische Untersuchung bei psychiatrischen Patienten

Betr. ....

Leidet die Patientin/ der Patient während der Therapie unter einer/mehreren der folgenden Nebenwirkungen, und war dies evtl. der Grund, eine Medikamentenumstellung vorzunehmen?

			ggf. durch welches Medikament?	war dies Absetzgrund?
a. Verhalten	Toxischer Verwirrheitszustand	<input type="checkbox"/>		
	Erregung/ Agitation	<input type="checkbox"/>		
	Depressive Stimmung	<input type="checkbox"/>		
	Gesteigerte mot. Aktivität	<input type="checkbox"/>		
	Verminderte mot. Aktivität	<input type="checkbox"/>		
	Schlaflosigkeit	<input type="checkbox"/>		
	Schläfrigkeit, Somnolenz, Dösigkeit	<input type="checkbox"/>		
b. Neurologisch	Rigor	<input type="checkbox"/>		
	Tremor	<input type="checkbox"/>		
	Dystonische Symptome	<input type="checkbox"/>		
	Akathisie	<input type="checkbox"/>		
	Spätdyskinesien	<input type="checkbox"/>		
c. Vegetativ	Mundtrockenheit	<input type="checkbox"/>		
	Behinderte Nasenatmung	<input type="checkbox"/>		
	Verschwommenes Sehen	<input type="checkbox"/>		
	Obstipation	<input type="checkbox"/>		
	Vermehrter Speichelfluß	<input type="checkbox"/>		
	Schwitzen	<input type="checkbox"/>		
	Übelkeit/ Erbrechen	<input type="checkbox"/>		
	Diarrhoe	<input type="checkbox"/>		
d. Cardiovasculär	Hypotonie	<input type="checkbox"/>		
	Ohnmacht/ Schwindelgefühl	<input type="checkbox"/>		
	Tachykardie	<input type="checkbox"/>		
	Hypertonie	<input type="checkbox"/>		
	Abnormes EKG	<input type="checkbox"/>		
e. Andere	Dermatologische Symptome	<input type="checkbox"/>		
	Gewichtszunahme	<input type="checkbox"/>		
	Gewichtsverlust	<input type="checkbox"/>		
	Anorexie/ Appetitverlust	<input type="checkbox"/>		
	Kopfschmerzen	<input type="checkbox"/>		
f. Sonstige	.....	<input type="checkbox"/>		

Wie beeinträchtigt sind die Begleitsymptome bei diesem Pat. verglichen mit denen anderer Pat.?

gar nicht	<input type="checkbox"/>	deutlich	<input type="checkbox"/>
sehr wenig	<input type="checkbox"/>	nicht beurteilbar	<input type="checkbox"/>
mäßig	<input type="checkbox"/>		



### 8.3. Patiententabelle

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
1	71	*2/*2	2	ja	nein	1	nein	0	0,62	*
2	77	*1/*4	1	ja	ja	1	nein	0	1,59	nein
3	49	*41/*41	1	ja	ja	1	nein	0	1,17	nein
4	78	*1/*1	2	nein	nein	0	nein	0	*	nein
7	54	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	1	0,95	*
8	54	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	1,03	ja
9	105	*1/*10	2	nein	nein	0	ja	0	*	nein
10	42	*1/*5	1	ja	nein	2	nein	1	1,28	ja
11	159	*1/*4	1	ja	ja	2	ja	0	0,86	nein
12	40	*4/*5	0	ja	ja	1	ja	0	1,11	nein
13	62	*1/*1	2	ja	ja	2	ja	1	1,13	nein
14	28	*1/*4	1	nein	nein	0	ja	1	*	*
15	27	*1/*9	2	ja	ja	2	nein	1	1,32	*
16	59	*1/*4	1	ja	ja	1	ja	0	1,67	nein
17	36	*1/*41	2	ja	ja	2	nein	0	0,65	nein
18	66	*2/*2XN	3	nein	nein	0	nein	1	*	nein
19	38	*1/*4	1	*	*	*	nein	*	*	nein
20	82	*41/*4	1	ja	nein	1	nein	1	1,29	nein
21	50	*1/*3	1	ja	ja	1	ja	1	1,81	nein
22	114	*4/*4	0	ja	ja	1	ja	2	0,91	nein
23	39	*1/*41	2	*	*	*	nein	*	*	ja
24	61	*1/*1	2	nein	nein	0	nein	0	*	ja

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
25	111	*1/*3	1	nein	nein	0	nein	0	*	nein
26	35	*3/*5	0	ja	ja	2	ja	1	0,85	ja
27	17	*1/*1	2	nein	nein	0	nein	1	*	nein
28	28	*41/*4	1	ja	ja	1	ja	1	1,21	*
29	30	*1/*5	1	ja	ja	1	nein	0	0,94	ja
30	48	*1/*4	1	ja	ja	1	ja	0	0,92	nein
31	104	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	1	0,53	nein
32	27	*1/*41	2	nein	nein	0	nein	0	*	nein
33	103	*1/*1XN	3	ja	ja	2	ja	1	0,78	*
34	38	*1/*1	2	nein	nein	0	ja	0	*	nein
35	51	*2/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,98	nein
37	47	*1/*1	2	ja	ja	2	nein	1	0,69	ja
38	31	*41/*41	1	nein	nein	0	nein	0	*	*
39	28	*1/*4	1	*	*	*	nein	*	*	nein
40	49	*1/*9	2	ja	ja	1	nein	0	1,30	ja
41	31	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	0,84	nein
42	45	*1/*5	1	ja	ja	1	nein	0	0,84	*
43	49	*1/*41	2	*	*	*	nein	*	*	*
44	65	*1/*6	1	ja	ja	2	nein	0	0,92	nein
45	85	*1/*1	2	ja	nein	2	nein	1	1,68	ja
46	37	*41/*41	1	nein	nein	0	nein	0	*	nein
47	96	*1/*1	2	ja	nein	1	nein	1	1,02	nein
49	32	*3/*3	0	nein	nein	0	nein	1	*	nein
50	82	*1/*1	2	ja	ja	1	ja	1	0,48	nein
51	28	*2/*9	2	nein	nein	0	ja	1	*	nein

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
52	29	*1/*4	1	ja	ja	1	nein	0	1,61	nein
53	139	*1/*4	1	ja	ja	2	nein	0	0,31	nein
54	20	*41/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,54	*
55	51	*1/*4	1	ja	ja	1	nein	0	1,17	nein
56	52	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	1,61	*
57	69	*41/*4	1	ja	nein	1	nein	0	0,81	*
58	36	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	*	ja
59	52	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	1,12	nein
61	42	*1/*1	2	ja	nein	1	ja	0	*	nein
62	22	*1/*1	2	nein	nein	0	nein	0	*	*
63	54	*1/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,78	nein
64	83	*1/*10	2	ja	ja	1	nein	3	1,01	ja
65	20	*1/*10	2	ja	ja	1	nein	0	0,70	*
66	62	*1/*41	2	*	*	*	nein	*	*	nein
67	36	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	1,33	ja
68	74	*2/*2	2	ja	ja	1	ja	1	1,37	nein
69	96	*1/*5	1	*	*	*	nein	0	*	*
70	36	*1/*1	2	ja	ja	1	ja	1	0,77	*
72	23	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	1,07	*
73	22	*1/*2	2	nein	nein	0	nein	0	*	ja
74	10	*1/*4	1	nein	nein	0	nein	0	*	*
75	42	*1/*4	1	ja	ja	2	ja	2	0,47	ja
76	92	*1/*4	1	ja	ja	1	ja	0	1,08	nein
77	147	*41/*10	1	ja	ja	1	ja	1	0,89	nein
79	75	*6/*9	1	nein	nein	0	nein	0	*	ja

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
80	28	*1/*6	1	ja	ja	1	nein	0	1,31	ja
81	36	*1/*10	2	ja	ja	1	nein	0	*	*
83	27	*1/*4	1	ja	ja	1	nein	0	1,22	nein
84	38	*1/*4	1	ja	ja	2	nein	0	0,79	ja
85	27	*3/*10	1	ja	ja	1	nein	0	0,84	nein
86	67	*41/*4	1	ja	ja	1	nein	1	0,87	nein
87	187	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	0,81	ja
88	42	*1/*2	2	nein	nein	0	nein	0	*	nein
89	31	*1/*1	2	nein	nein	0	nein	1	*	nein
91	129	*2/*2	2	ja	ja	2	nein	1	1,05	nein
92	87	*2/*2	2	nein	nein	0	nein	0	*	nein
93	28	*1/*41	2	ja	ja	1	nein	0	0,77	nein
94	73	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	2	*	nein
95	43	*4/*4	0	nein	nein	0	nein	0	*	nein
97	95	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	0,41	nein
98	36	*2/*41	2	ja	ja	1	nein	0	*	*
99	92	*1/*2	2	ja	ja	2	nein	2	1,67	nein
100	18	*2/*4	1	ja	ja	1	nein	0	1,14	*
101	27	*1/*2	2	nein	nein	0	nein	0	*	*
102	199	*1/*4	1	ja	ja	1	ja	1	1,64	nein
103	70	*1/*9	2	ja	ja	1	nein	0	1,26	nein
104	24	*41/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,78	*
105	79	*1/*6	1	ja	ja	2	nein	1	0,84	nein
106	15	*2/*4	1	ja	ja	1	ja	0	1,43	*
107	54	*1/*1	2	nein	nein	0	nein	0	*	nein

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
108	51	*1/*2	2	ja	ja	1	ja	0	0,56	nein
109	46	*4/*4	0	ja	ja	1	ja	0	0,96	nein
110	87	*1XN/*2	3	ja	ja	2	nein	0	0,87	nein
111	51	*41/*4	1	nein	nein	0	ja	0	*	nein
112	83	*4/*4	0	nein	nein	0	ja	0	*	nein
113	46	*9/*10	1	nein	nein	0	nein	0	*	nein
115	39	*3/*10	1	ja	ja	1	nein	0	1,43	nein
116	17	*1/*1	2	ja	ja	1	ja	1	0,26	nein
117	39	*1/*2	2	ja	ja	2	nein	0	0,90	ja
118	27	*1/*1	2	nein	nein	0	ja	1	*	*
120	53	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	1	0,72	ja
121	32	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	1,34	ja
122	28	*41/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,73	nein
123	62	*1/*41	2	nein	nein	0	nein	0	*	nein
124	36	*1/*1	2	nein	nein	0	ja	0	*	nein
125	100	*1/*2	2	ja	ja	2	nein	0	1,63	nein
126	27	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	0,75	*
127	32	*1/*2	2	ja	ja	1	ja	1	*	ja
128	67	*1/*1	2	ja	nein	3	ja	2	0,79	nein
130	32	*41/*6	1	ja	ja	1	ja	0	0,88	nein
131	44	*1/*2	2	ja	nein	1	nein	1	0,91	ja
132	27	*1/*9	2	nein	nein	0	ja	0	*	nein
133	76	*1/*4	1	ja	ja	2	ja	0	1,19	nein
134	109	*1/*4	1	ja	ja	3	ja	2	1,32	nein
135	78	*4/*4	0	nein	nein	0	nein	0	*	*

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
136	117	*3/*4	0	ja	nein	1	nein	2	1,07	nein
137	77	*2/*41	2	ja	ja	2	nein	0	1,71	nein
138	25	*2/*3	1	ja	ja	1	nein	0	0,60	nein
139	36	*2/*4	1	ja	ja	1	ja	1	1,14	nein
140	39	*1/*5	1	nein	nein	0	nein	0	*	ja
142	86	*41/*41	1	ja	ja	2	ja	1	1,50	nein
143	65	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	1	1,42	*
145	51	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	1	0,98	nein
146	19	*1/*1	2	*	*	*	ja	1	*	*
147	41	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	1	1,82	ja
148	53	*1/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,83	nein
149	100	*2/*5	1	ja	ja	2	nein	2	0,73	nein
150	20	*4/*4	0	nein	nein	0	nein	0	*	*
151	95	*1/*10	2	ja	ja	2	nein	1	0,98	*
152	22	*2/*4	1	ja	ja	1	nein	0	0,98	*
153	14	*2/*3	1	ja	ja	1	nein	0	0,91	nein
154	94	*1/*41	2	ja	ja	2	ja	1	0,53	nein
156	43	*2/*4	1	ja	ja	1	ja	0	0,83	ja
157	45	*1/*1	2	ja	ja	1	ja	0	1,53	nein
158	33	*1/*1	2	ja	ja	1	nein	0	1,39	ja
159	35	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	1,18	*
160	80	*1/*2	2	ja	ja	1	ja	0	0,44	*
161	17	*1XN/*9	3	ja	ja	1	nein	0	0,85	*
162	80	*1/*2	2	ja	ja	3	nein	1	0,87	nein
163	41	*1/*2	2	nein	nein	0	ja	0	*	ja

Pat.-Nr.	Aufenthaltsdauer (in Tagen)	Genotyp	GDG	CYP2D6-abh. Medikamente (gesamter Aufenthalt)	CYP2D6-abh. Medikamente (innerhalb der ersten 4 Wochen)	Anzahl CYP2D6-abh. Medikamente	ADE	Anzahl Switches	Relative mittlere Dosis/kg KG	Ansprechen nach 4 Wochen
164	8	*1/*2	2	ja	ja	1	nein	0	1,41	*
166	29	*1/*2XN	3	ja	ja	2	nein	1	0,85	*
167	15	*1/*41	2	ja	ja	1	nein	0	0,62	*

\* keine Daten verfügbar

## **9. Danksagung**

Herrn Prof. Dr. D. Neumeier danke ich herzlich für die Möglichkeit der Promotion am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn OA PD Dr. W. Steimer für die Überlassung des Themas der Doktorarbeit und die intensive Betreuung bei der Planung und Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Dr. B. Müller und Frau Dr. B. Messner danke ich für die Betreuung bei der Entwicklung und Etablierung der dargestellten PCR-Methoden, Frau C. Wallner und Frau A. Schreiegg für die praktische Hilfestellung im Labor.

Des weiteren gilt mein Dank Herrn OA Dr. S. Leucht und Herrn Dr. S. Heres für die Betreuung bei der Durchführung der Studie an der Klinik für Psychiatrie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München.

Ein ganz herzlicher Dank gebührt meiner Familie, die mich in der gesamten Zeit meines Studiums auf die bestmögliche Weise unterstützte, stets ein offenes Ohr für meine Probleme, Sorgen aber auch Freuden hatte und so mein Studium und die Durchführung dieser Arbeit erst möglich machte.



## 10. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Julia Bachofer
Adresse	Marktplatz 38 89312 Günzburg
Geburtsdatum	20.09.1977
Familienstand	ledig
Konfession	evangelisch

### Schulbildung

1984 – 1988	Grundschule in Laupheim
1988 – 1997	Gymnasium in Laupheim
	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### Berufsausbildung

April – September 1998	Beginn der Ausbildung zur Krankenschwester im Kreiskrankenhaus Laupheim
------------------------	--

### Hochschulausbildung

Oktober 1998	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Technischen Universität München
August 2000	Ärztliche Vorprüfung
August 2001	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2004	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
April 2004 - März 2005	PJ am Krankenhaus München-Bogenhausen (Chirurgie und Innere Medizin) und am Kantonsspital Luzern, CH (Gynäkologie und Geburtshilfe)
Mai 2005	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### Berufliche Tätigkeit

Seit August 2005	Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin des KKH Günzburg in der Weiterbildung zur Fachärztin für Innere Medizin
------------------	---

### Dissertation

Seit 2001	Arbeit an der Dissertation am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München (Leitung: Prof. Dr. D. Neumeier)
-----------	--

<u>Fremdsprachen</u>	Englisch, Französisch
----------------------	-----------------------

<u>Persönliche Interessen</u>	Literatur, Klassische Musik, Bildende Kunst, Bergwandern, Tanzen
-------------------------------	---

## 11. Veröffentlichungen

Während der Forschungsarbeiten zu dieser Dissertation sind Teile der Ergebnisse im Rahmen folgender Publikationen vorveröffentlicht worden. Dies wurde der Fakultät für Medizin am Klinikum rechts der Isar nach §6 Absatz 1 Satz 2 der Promotionsordnung angezeigt.

- [1] Müller B, Zöpf K, Bachofer J, Steimer W.  
**Optimized Strategy for Rapid Cytochrome P450 2D6 Genotyping by Real-Time Long PCR.**  
Clin Chem 2003;49 (10):1624-31.
- [2] Steimer W, Bachofer J, Leucht S, Müller B.  
**Rapid detection of the ultraextensive metabolizer associated CYP2D6\*35 polymorphism.**  
Clinical Chemistry 2002;48 (6):A45.
- [3] Steimer W, von Amelunxen S, Pfeiffer H, Zöpf K, Bachofer J, Müller B, Kissling W, Leucht S.  
**CYP2D6 genotypes correlate with clinical outcome: A prospective two-center clinical study in depressed inpatients treated with amitriptyline.**  
Therapeutic Drug Monitoring. Basel, 2003. pp. 532.
- [4] Steimer W, Zöpf K, Bachofer J, Amelunxen S, Pfeiffer H, Müller B, Kissling W, Leucht S.  
**Impact of the intermediate metabolizer CYP2D6 genotype on amitriptyline and nortriptyline plasma levels.**  
Ther Drug Monit, 2003. pp. 528.
- [5] Steimer W, Bachofer J, Popp J, Messner B, Heres S, Kissling W, Leucht S.  
**Prospective CYP2D6 genotyping in psychiatric inpatients. A preliminary report.**  
Clinical Chemistry, 2004. pp. A136.
- [6] Steimer W, Zöpf K, Von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J, Messner B, Kissling W, Leucht S.  
**Allele-Specific Change of Concentration and Functional Gene Dose for the Prediction of Steady-State Serum Concentrations of Amitriptyline and Nortriptyline in CYP2C19 and CYP2D6 Extensive and Intermediate Metabolizers.**  
Clin Chem 2004;50 (9):1623-33.
- [7] Steimer W, Bachofer J, Popp J, Heres S, Kissling W, Leucht S.  
**Intermediate metabolizers and increased risk of adverse events in psychiatric in-patients. An update including all relevant alleles with reduced function and applying gene-dose for analysis.**  
Therapeutic Drug Monitoring 2005;27 (2):242-43.

- [8] Steimer W, Popp J, Bachofer J, Müller T, Heres S, Kissling W, Leucht S.  
**The dopamine D4 receptor 48 base pair repeat polymorphism influences antipsychotic induced body weight gain. A preliminary report.**  
Therapeutic Drug Monitoring 2005;27 (2):242.
- [9] Steimer W, Zöpf K, von Amelunxen S, Pfeiffer H, Bachofer J, Popp J, Messner B, Kissling W, Leucht S.  
**Amitriptyline or Not, That Is the Question: Pharmacogenetic Testing of CYP2D6 and CYP2C19 Identifies Patients with Low or High Risk for Side Effects in Amitriptyline Therapy.**  
Clin Chem 2005;51 (2):376-85.
- [10] Steimer W, Bachofer J, Popp J, Heres S, Kissling W, Leucht S.  
**CYP2D6 Genotyping in Psychiatric Inpatients. A comprehensive analysis.**  
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 2005;43:A89-90. 2. Kongress der DGKL & ÖGLMKC, Jena, 06.-08.10.2005.

## 12. Auszeichnungen

Drei der oben genannten Arbeiten/Kongressbeiträge wurden mit internationalen Preisen ausgezeichnet:

- [1] Best Abstract Award der Molecular Pathology Division der American Association of Clinical Chemistry (AACC) 2002, Orlando:

Steimer W, Bachofer J, Leucht S, Müller B.

**Rapid detection of the ultraextensive metabolizer associated CYP2D6\*35 polymorphism.**

Clinical Chemistry 2002;48 (6):A45.

- [2] Distinguished Abstract Award der National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) für einen Beitrag zum 54. Annual Meeting der American Association of Clinical Chemistry (AACC) in Los Angeles, 2004:

Steimer W, Bachofer J, Popp J, Messner B, Heres S, Kissling W, Leucht S.

**Prospective CYP2D6 genotyping in psychiatric inpatients. A preliminary report.**

Clinical Chemistry, 2004. pp. A136.

- [3] "Best Poster in TDM". Award der International Association of Therapeutic Drug-Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) für einen Beitrag zum "9th International Congress" in Louisville, Kentucky, USA vom 23. bis 28. April 2005:

Steimer W, Popp J, Bachofer J, Müller T, Heres S, Kissling W, Leucht S.

**The dopamine D4 receptor 48 base pair repeat polymorphism influences antipsychotic induced body weight gain. A preliminary report.**

Therapeutic Drug Monitoring 2005;27 (2):242.