Aus der Klinik für Kardiologie / Zentrum für Innere Medizin
Chefarzt: PD Dr. med. habil. B. Graf
HELIOS Kliniken Schwerin
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Rostock

# Pharmakokinetische Interaktionsstudie zwischen Torasemid und den beiden AT1-Blockern Losartan und Irbesartan auf Ebene des Cytochrom P450 2C9

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Meybaum, Annett Sabine
geb. in Greifswald

aus Schwerin

Rostock, 2007
Dekan: Prof. Dr. med. E. C. Reisinger

urn:nbn:de:gbv:28-diss2009-0068-5

Dekan Prof. Dr. med. E. C. Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. med. habil. B. Drewelow
   Direktor des Institutes für klinische Pharmakologie der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

2. Gutachter: Prof. Dr. med. habil. M. F. Fromm
   Leiter der Klinischen Pharmakologie und Klinischen Toxikologie des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie der Medizinischen Fakultät der Universität Erlangen / Nürnberg

3. Gutachter: PD Dr. med. habil. D. Werner
   04/2008 Oberarzt der Klinik für Kardiologie im HELIOS Klinikum Schwerin
   aktuell: Chefarzt der Klinik für Kardiologie im Klinikum Stift Betlehem Ludwigslust

Datum der Verteidigung: 16.04.2008

# *INHALTSVERZEICHNIS*


| | | |
|---|---|---|
| ***1. EINLEITUNG*** | | ***Seite 07 - 30*** |
| ***1.1. Allgemeine Therapie*** | | ***Seite 08 - 09*** |
| 1.1.1. | Arterielle Hypertonie | Seite 08 |
| 1.1.2. | Chronische Herzinsuffizienz | Seite 09 |
| ***1.2. Spezielle Therapie*** | | ***Seite 10 - 13*** |
| 1.2.1. | AT1-Rezeptor Blockade | Seite 10 - 12 |
| 1.2.2. | Diuretika | Seite 13 |
| ***1.3. Cytochrom P450 2C9*** | | ***Seite 14 - 17*** |
| 1.3.1. | Cytochrom P450 – Enzymsystem | Seite 14 |
| 1.3.2. | Isoenzym CYP2C9 | Seite 15 |
| 1.3.3. | CYP2C9 – Polymorphismus | Seite 16 - 17 |
| ***1.4. Organisches Anionen – Transport – Polypeptid (OATP)*** | | ***Seite 18 - 19*** |
| 1.4.1. | Allgemein | Seite 18 - 19 |
| 1.4.2. | OATP - Polymorphismus | Seite 19 |
| ***1.5. Die AT1 – Blocker Losartan und Irbesartan*** | | ***Seite 20 - 26*** |
| 1.5.1. | Stellenwert in der Therapie der art. Hypertonie | Seite 20 |
| 1.5.2. | Stellenwert in der Therapie der chron. Herzinsuffizienz | Seite 21 |
| 1.5.3. | Losartan | Seite 22 - 25 |
| | 1.5.3.1. Pharmakokinetik | Seite 22 |
| | 1.5.3.2. Interaktionen auf CYP2C9 – Ebene | Seite 24 |
| 1.5.4. | Irbesartan | Seite 25 - 26 |
| | 1.5.4.1. Pharmakokinetik | Seite 25 |
| | 1.5.4.2. Interaktionen auf CYP2C9 – Ebene | Seite 26 |
| ***1.6. Das Schleifendiuretikum Torasemid*** | | ***Seite 27 - 29*** |
| 1.6.1. | Stellenwert in der Therapie der art. Hypertonie und chron. Herzinsuffizienz | Seite 27 |
| 1.6.2. | Pharmakokinetik | Seite 28 |
| 1.6.3. | Interaktionen auf CYP2C9 – Ebene | Seite 29 |
| ***1.7. Zusammenfassende Fragestellung*** | | ***Seite 30*** |

***2. METHODIK*** ***Seite 31 - 39***

***2.1. Allgemeiner Studienaufbau*** ***Seite 31 - 35***

2.1.1. Studienpopulation Seite 32

2.1.2. Studienplanung Seite 33

***2.2. Probengewinnung, - Verarbeitung und Dokumentation*** ***Seite 36 - 37***

***2.3 Analytik*** ***Seite 38***

2.4.1. Substratquantifizierung Seite 38

2.4.2. Pharmakokinetische Analyse Seite 38

2.4.3. Genotypisierung Seite 38

***2.5. Statistik*** ***Seite 39***

***3. ERGEBNISSE*** ***Seite 40 - 49***

***3.1. Parameter der Studienpopulation*** ***Seite 40 - 41***

***3.2. Torasemid*** ***Seite 42 - 49***

3.2.1. Pharmakokinetische Basisparameter Seite 42

3.2.1.1. Geschlechtsabhängigkeit Seite 43

3.2.1.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit Seite 45

3.2.1.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit Seite 48

3.2.1.4. Abhängigkeit von BMI, Komedikation und Indikation Seite 49

***3.3. Irbesartan*** ***Seite 50 - 51***

3.3.1. Pharmakokinetische Basisparameter Seite 50

3.3.1.1. Geschlechtsabhängigkeit Seite 50

3.3.1.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit Seite 51

3.3.1.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit Seite 51

***3.4. Losartan*** ***Seite 52 - 54***

3.4.1. Pharmakokinetische Basisparameter Seite 52

3.4.1.1. Geschlechtsabhängigkeit Seite 52

3.4.1.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit Seite 53

3.4.1.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit Seite 54

***3.5. Interaktionsergebnisse*** ***Seite 55 - 60***

3.5.1. Torasemid und Irbesartan Seite 55

3.5.1.1. Geschlechtsabhängigkeit Seite 56

3.5.1.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit Seite 57

3.5.1.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit Seite 57
3.5.2. Torasemid und Losartan Seite 59
3.5.2.1. Geschlechtsabhängigkeit Seite 60
3.5.2.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit Seite 60
3.5.2.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit Seite 60
***4. DISKUSSION Seite 61 - 69***
***4.1. Einleitung Seite 61***
***4.2. Torasemid – Basiswerte Seite 62 - 66***
4.2.1. Plasmakonzentration, HWZ, Clearance Seite 62
4.2.2. $AUC_{0-24h}$ vs. Geschlecht Seite 63
4.2.3. $AUC_{0-24h}$ vs. CYP2C9 – und OATP1B1 – Genotyp Seite 65
***4.3. Torasemid unter Komedikation mit Losartan und Irbes. Seite 67 - 69***
4.3.1. Torasemid – Irbesartan Seite 67
4.3.2. Torasemid – Losartan Seite 68
***4.4. Diskussion der Methode Seite 69***
***5. ZUSAMMENFASSUNG Seite 70 - 71***
***6. ANLAGEN Seite 72 - 78***
***7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS Seite 79 - 80***
***8. ABBILDUNGS – UND TABELLENVERZEICHNIS Seite 81 - 82***
***9. LITERATURVERZEICHNIS Seite 83 - 90***
***10.LEBENSLAUF Seite 91***
***11.SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG Seite 92***
***12.DANKSAGUNG Seite 93***

# *1. EINLEITUNG*

Der medikamentösen Therapie der arteriellen Hypertonie sowie der chronisch myokardialen Insuffizienz kommt bei Prävalenzen unter der Bevölkerung des höheren Alters mit bis zu 50% eine große Bedeutung im medizinischen Alltag zu. *(Wolf – Maier et al. 2003)*

In den vergangenen Jahren ergaben sich auf diesem Gebiet infolge großer Studien umfangreiche Novellierungen. Zunehmend spielen Angiotensin – II – Rezeptorantagonisten aufgrund deutlich aufgezeigter Prognoseverbesserungen hinsichtlich des Überlebens, subjektiver und objektiver Leistungsfähigkeit und Lebensqualität als feste Säule in den Therapiekonzepten eine Rolle. *(Asmar 2006)*

Den aktuellen Therapieleitlinien der European Society of Hypertension und der Deutschen Hochdruckliga folgend, ergeben sich in der klinischen Praxis häufig Kombinationen von AT1 – Blockern und Diuretika *(ESC Guidelines Treatment of hypertension 2003; Swedberg et al. 2005)*.

Maßgebend ist hier, die als synergistisch zu betrachtende Wirkung der beiden Medikamentengruppen. In einer ohnehin schon multifaktoriell beeinflussten Therapie stellt sich somit die Frage nach einem möglicherweise existenten pharmakokinetischen Interaktionspotential.

Gegenstand dieser Studie soll sein, eventuell vorhandene Interaktionen zwischen den häufig verwendeten Vertretern Irbesartan, Losartan und Torasemid, welche alle gleichermaßen über das Cytochrom P450 2C9 metabolisiert werden, zu untersuchen.

## *1.1. ALLGEMEINE THERAPIE*

### *1.1.1. Arterielle Hypertonie*

Die arterielle Hypertonie betrifft annähernd 1 Milliarde Menschen weltweit. Dabei beläuft sich die Anzahl der Menschen, die an dieser Erkrankung bzw. an den direkten und indirekten Folgen versterben auf nahezu 7,1 Millionen pro Jahr. *(Chobanian et al. 2003)*

Erklärtes Ziel einer effektiven antihypertensiven Therapie, welche immer eine Kombination aus konservativen Allgemeinmaßnahmen und optimaler medikamentöser Einstellung sein sollte, ist eine maximale Reduzierung des kardiovaskulären Gesamtrisikos (Mortalität wie auch Morbidität) sowie das Vermeiden bzw. die Reduktion von Endorganschädigungen. Hierbei stellt sich die medikamentöse Einstellung in Form einer Stufen- bzw. Kombinationstherapie unter Einbeziehung von in den Leitlinien verankerten Basistherapeutika dar. *(ESC Guidelines Treatment of hypertension 2003)*

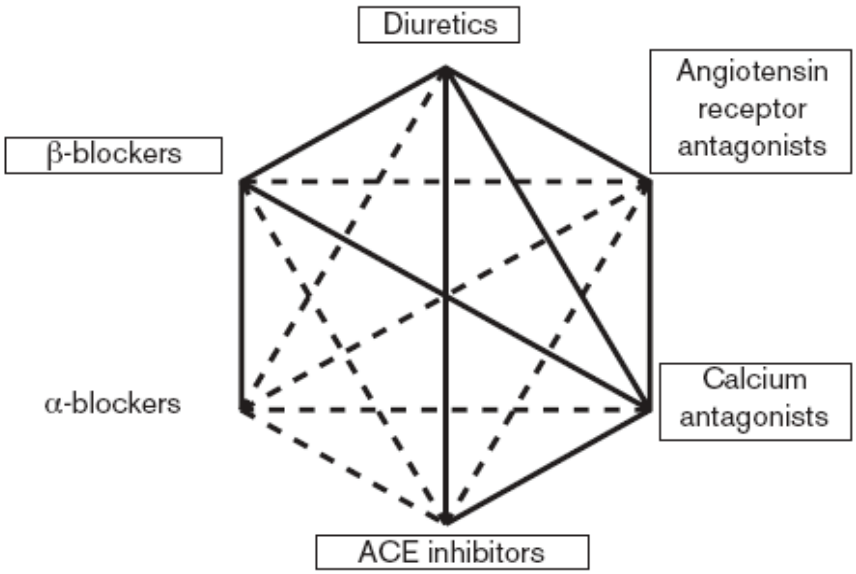



**Abb. 1: Möglichkeiten der Kombination von antihypertensiven Medikamenten** *(nach ESC Guidelines Treatment of Hypertension 2003)*

### *1.1.2. Chronischen Herzinsuffizienz*

Wesentliches Behandlungsziel ist der Erhalt oder die Verbesserung der Lebensqualität, Verminderung der Symptome und damit der Hospitalisationsrate, sowie die Vorbeugung einer Progression der Erkrankung und Verlängerung der Lebensdauer.
Wie bei der antihypertensiven Therapie ergibt sich ein Konzept aus konservativen Maßnahmen (wie Gewichtsreduktion und Flüssigkeitsrestriktion) und medikamentöser Einstellung. Diese erfolgt in Form einer Stufentherapie je nach Ausmaß der linksventrikulären Dysfunktion (NYHA-Klassifikation). *(Abb.2; Swedberg et al. 2005)*

| **Medikament** | **NYHA I** | **NYHA II** | **NYHA III** | **NYHA IV** |
|---|---|---|---|---|
| **ACE-Hemmer** | indiziert | Indiziert | indiziert | indiziert |
| **ß – Blocker** | - nach Myokardinfarkt<br>- bei Hypertonie | indiziert[1] | indiziert[1] | indiziert[1] |
| **Diuretika** | | | | |
| **Thiazide** | bei Hypertonie | bei Flüssigkeitsretention | indiziert zur Potenzierung der Schl.diuret Wirkung | indiziert zur Potenzierung der Schl.diuret. Wirkung |
| **Schleifen-diuretika** | | bei Flüssigkeitsretention | indiziert | indiziert |
| **Aldosteron – Antagonisten** | nach Myokardinfarkt | nach Myokardinfarkt | indiziert | indiziert |
| **$AT_1$-Rezeptor-Blocker** | bei ACE – Hemmer - Intoleranz | bei ACE – Hemmer – Intoleranz | bei ACE – Hemmer - Intoleranz | bei ACE – Hemmer - Intoleranz |
| **Herzglycoside** | bei tachysystol. Vorhofflimmern | - bei tachysystol. Vorhofflimmern<br>- im Sinusrhythmus nach Besserung von schwerer Symptomatik[2] | indiziert[2] | indiziert[2] |

[1] nur bei stabilen Patienten, langsam einschleichend unter engmaschiger Kontrolle

[2] mit niedrigen Zielserumspiegeln

**Abb. 2: Medikamentöse Stufentherapie bei systolischer linksventrikulärer Dysfunktion (EF<40%)** *(modifiziert nach Swedberg et al., 2005)*

## *1.2. SPEZIELLE THERAPIE*

### *1.2.1. AT 1- Rezeptor Blockade*

Grundlage der Anwendung von AT-II-Rezeptorantagonisten ist die Blockade Angiotensin II vermittelter Effekte innerhalb des Renin-Angiotensin-Systems.
Angiotensin II ist über die Aktivierung des Sympathikus der stärkste bisher bekannte direkte Vasokonstriktor. Ebenso stimuliert es die Synthese und Sekretion von Aldosteron aus der Nebennierenrinde, woraus eine Steigerung der Natriumreabsorption in den distalen Tubuli und damit eine Natrium – und Wasserretention erfolgt. Klinisch bedeutsam sind weiterhin die Förderung der Hypertrophie und Proliferation von Muskelzellen, sowie die Stimulation vaskulärer und kardialer Fibrose.

Der Eingriff in das Renin-Angiotensin-Aldosteron System stellt eine feste Größe in der Basis-Therapie der arteriellen Hypertonie sowie der chronischen Herzinsuffizienz dar. Hier ist seit Jahren der Einsatz von ACE-Hemmern obligatorisch. Ihre Wirkung beruht auf einer direkten Hemmung des wesentlichen katalysierenden Enzyms in der Umwandlung von Angiotensin I in Angiotensin II. Hieraus folgt eine Hemmung der Stimulation von AT1- und AT2- Rezeptoren und damit eine Abschwächung der oben geschilderten rezeptorvermittelten Effekte.

Allerdings ist bekannt, dass z.B. am Herzen nur 20% der Angiotensin II - Bildung durch das Angiotensin-Converting-Enzym katalysiert wird. Der wesentlich größere Anteil wird über die H-Chymase gebildet. So gibt es über verschiedenste alternative lokale, organbezogene ACE-unabhängige Syntheseschritte (z.B. Chymase, Kallikrein, Tonin) einen natürlichen „Umgehungsweg“ der ACE - Hemmer - Therapie. *(Roig et al. 2000)*

Eine Übersicht über die Bildungswege des Angiotensin II liefert Abb.3.

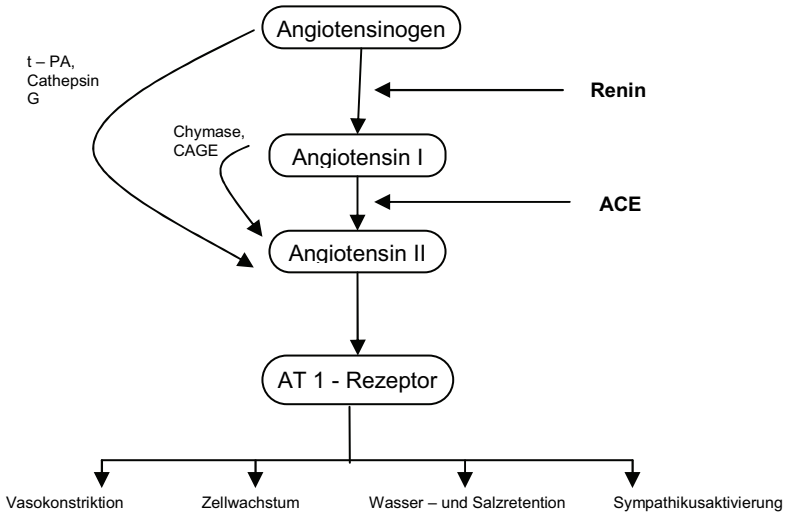



**Abb. 3: Bildung von Angiotensin II durch alternative Enzymsysteme** *(modifiziert nach Grobecker 1999)*

Ein weiterer Aspekt ist die Beeinflussung des Bradykininstoffwechsels.
Durch die unselektive Blockade von AT1 – und AT2 – Rezeptoren unter ACE – Hemmer – Therapie kommt es zur Hemmung der ACE-Vermittelten Umwandlung des EDRF-NO freisetzenden Bradykinin in seine inaktiven Abbauprodukte. Neben den gewünschten organprotektiven und blutdrucksenkenden Effekten ist dieser Mechanismus auch für die häufigsten unerwünschten Nebenerscheinungen wie dem typischen „ACE-Hemmer-Husten“ verantwortlich. *(Dominiak, Unger 1999)*

Hier stellen die AT1-Blocker eine sinnvolle Alternative dar. Durch die selektive Blockade der AT1-Rezeptoren kommt es zu einer vollständigeren Hemmung der Angiotensin II vermittelten Wirkungen. *(Abb.4)*

Bei fehlender Beeinflussung des Bradykinin-Stoffwechsels liegt der wesentliche Vorteil dieser Medikamentenklasse in ihrer Nebenwirkungsarmut. In verschiedenen Studien wurde eine Nebenwirkungsrate beschrieben die nahezu auf Placeboniveau liegt. *(Dominiak, Unger 1999; Pitt 2000; Elliott et al. 2007; Grond 2006)*

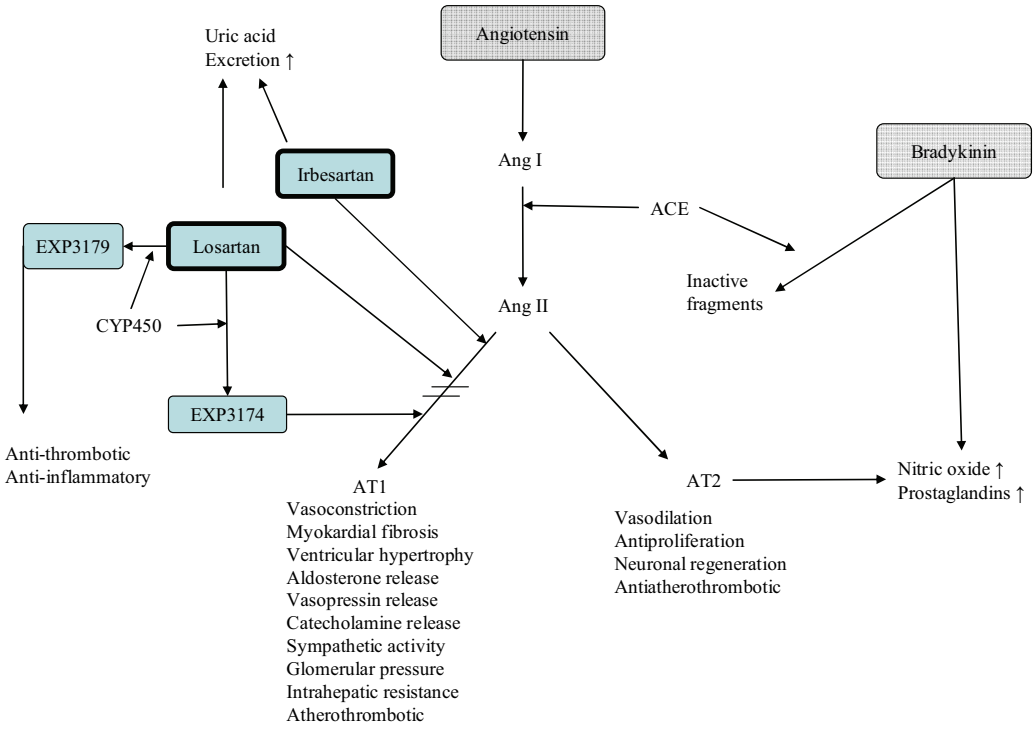



**Abb. 4: Pharmakologischer Ansatz von Irbesartan/Losartan** *(modifiziert nach Vogel et al. 2005)*

### *1.2.2. Diuretika*

Zwei Indikationen für den Einsatz von Diuretika sind die arterielle Hypertonie und die chronische Herzinsuffizienz. Hierbei spielt vor allem die Beeinflussung diverser zellulärer Transportmechanismen von Elektrolyten in der Niere - insbesondere der Natriumrückresorption eine wichtige Rolle. So wird über den Gesamtnatriumbestand des Körpers, welcher als wichtigster osmotisch wirksamer Parameter das intravasale Flüssigkeitsvolumen reguliert, der Blutdruck über Verschiebungen von Flüssigkeiten von intra. - nach extrazellulär und umgekehrt wesentlich beeinflusst. Je nach Angriffsort der Diuretika am Nephron hinsichtlich der Natriumresorption unterscheidet man verschiedenste Klassen. Die Gruppe der Schleifendiuretika ist gekennzeichnet durch eine kompetitive Blockade des Natrium-Kalium-Chlorid-Cotransporters.
Diuretika sind als first-line Medikamente fest in den Leitlinien zur Therapie der arteriellen Hypertonie verankert. In zahlreichen Langzeit-Studien hat sich ein deutlicher Benefit in Bezug auf die Reduktion der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität gezeigt. Da viele der Patienten mit einer essentiellen Hypertonie an einem "kochsalzsensitiven" Blutdruck leidet, kommt der Salurese eine immens wichtige Rolle zu. (*Fortuno 1999; Luft 1993; ESC Guidelines Treatment of Hypertension 2003)*

Der Angriffspunkt der Diuretika in der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz liegt in der Reduktion der Natrium- und Wasserretention. Bei verminderter Auswurffraktion kommt es zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems. Über die Ausschüttung von Vasopressin erfolgt die Steigerung der Natrium-Resorption im distalen Tubulus mit daraus resultierender Wasserretention. So werden die Diuretika als first-line Medikamente zur symptomatischen Therapie wie der Reduktion von peripheren Ödemen und Lungenstauung angewandt. Des Weiteren besteht eine extrarenale Wirkung auf die Kapazitätsgefäße mit venösem Pooling und daraus folgender Vorlastsenkung mit Abfall des pulmonalarteriellen Druckes und des enddiastolisch - linksventrikulären Druckes, sowie eine Steigerung der renalen Durchblutung.
Nach Empfehlung der ESC erfolgt häufig eine Kombination mit ACE-Hemmern und $AT_1$-Rezeptorblockern. Dabei kommt es insbesondere zu einem ausgleichenden Effekt in Bezug auf die Stabilisierung des Kaliumspiegels im Plasma (Erhöhte Kalium Ausscheidung unter Torasemid; Verminderung der $K^+$-Exkretion unter $AT_1$-Rezeptor – Blockade).

## *1.3. CYTOCHROM P450 2C9*

### *1.3.1. Cytochrom P450 – Enzymsystem*

Bei der Supergenfamilie des Cytochrom P450-Enzymsystems handelt es sich um eine Gruppe von intrazellulären, membrangebundenen Hämproteinen. Diese funktionieren als terminale bzw. mischfunktionelle Oxidasen, welche eine herausragende Bedeutung im menschlichen Körper für den Metabolismus von Fremdstoffen haben. Sie sind verantwortlich für die Metabolisierung von ca. 50% aller Medikamente.

Beim Menschen allein sind derzeit ganze 35 verschiedene Cytochrom P450-Gene bekannt. Alle Spezies zusammengenommen werden 481 Gene und 22 Pseudogene gezählt. Dabei erfolgt die Klassifizierung nach der Homologie innerhalb der ca. 500 Aminosäuren umfassenden Sequenz. Arabische Nummern kodieren Sequenzen mit einer Identität von mehr als 40% als einer Familie zugehörig. Bei über 55% Übereinstimmung erfolgt die Zuteilung der Cytochrom-Gene zu einer Subfamilie per lateinischen Buchstaben. Beim Menschen sind mittlerweile 17 Familien und 42 Subfamilien bekannt. Dabei ist jedoch zu beachten, dass die Metabolisierung von Medikamenten und anderen natürlichen exogenen oder synthetischen Substanzen über die Familien 1 – 3 gewährleistet wird. Alle übrigen Familien sind größtenteils für die Metabolisierung endogener Substanzen (wie Hormonen) verantwortlich.
Die metabolische Clearance jeder Isoform ist wesentlich vom Phänotyp abhängig. Dabei differieren die Genexpression und die daraus folgende unterschiedliche Ausprägung von Eigenschaften zwischen den einzelnen Isoformen. Alle Isoformen weisen spezifische Charakteristika und Substratspezifitäten auf, jedoch können auch häufig Überlappungen festgestellt werden. Das gewebsspezifisch unterschiedliche aber doch ubiquitäre Vorkommen des Enzymsystems, vor allem im endoplasmatischen Retikulum der Leber, aber auch in geringerem Maße in Niere, Lunge und Intestinum - gewährleistet die Bewältigung einer Vielzahl unterschiedlichster Leistungen. So ist Cytochrom P450 biochemisch gesehen z.B. für die Katalyse der oxidativen Reaktion im Rahmen der Phase-I-Reaktion der Biotransformation (Funktionalisierungsreaktion), welche NADPH und sauerstoffabhängig ist, verantwortlich. Sie funktioniert als Elektronentransporter zur Aktivierung des molekularen Sauerstoffes.

$$\mathbf{X\text{-}H + NADPH + H^+ + O_2 \rightarrow XOH + NADP^+ + H_2O}$$

### *1.3.2. Isoenzym CYP2C9*

Seit längerer Zeit ist die wichtige Rolle des Isoenzyms Cytochrom P450 2C9 in der Medikamentenmetabolisierung bekanntes. Zur Subfamilie der CYP 2C gehören 4 bekannte Isoenzyme: CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 und CYP2C19. Anhand genetischer Analysen wird derzeit das Vorliegen weiterer 3 Untergruppen diskutiert.
Die vorhandenen Isoformen teilen sich mehr als 82% ihrer Aminosäuresequenz und trotzdem kommt es hier nur zu einer geringen Überlappung in der Substratspezifität.

CYP2C9 besteht aus einer Sequenz von 490 Aminosäuren mit einer Molekülmasse von ca. 55.6 KDa. Es wird in der Leber synthetisiert und macht dort ca. 20% des Gesamtgehaltes an Cytochrom P450 aus. Die metabolisierten Substrate weisen als strukturelle Gemeinsamkeit eine Entfernung von 7Å zwischen dem Kohlenstoffatom, das in der Phase-I-Reaktion oxidiert wird und einem anionischen Bereich auf. Zur Substraterkennung dienen 6 Substraterkennungsstellen (substrate recognition sites = SRS). Die Möglichkeit ein bestimmtes Substrat zu metabolisieren ist hier definiert durch einige wenige kurze Sequenzen bzw. einzelne Aminosäuren innerhalb eines SRS (z.B. Ile359Leu – Substitution in SRS5 → Hydroxylierung von Tolbutamid und Phenytoin; Phe114Leu – Substitution in SRS1 → Warfarin-Hydroxylierung). Dabei sind die meisten der Cytochrom P450 2C9 Substrate schwache Säuren mit einem pKa-Wert von 3.8 – 8.1.
Einen Überblick über die häufigsten Substrate gibt Abb.5.

| **Substanzklasse** | **Vertreter** |
|---|---|
| Nichtsteroidale Antiphlogistika | Diclofenac, Ibuprofen, Meloxicam, Piroxicam, Indometacin, S-Naproxen |
| Cumarine | S-Warfarin, Phenprocoumon |
| Antiepileptika | Phenytoin |
| Antidepressiva | Amitryptilin, Fluoxetin |
| Orale Antidiabetika / Insulinsensitizer | Tolbutamid, Glipizid, Rosiglitazon |
| Angiotensin-2-Rezeptorantagonisten | Losartan, Irbesartan |
| HMG-CoA-Reduktasehemmer | Fluvastatin |
| Schleifendiuretika | Torasemid |

**Abb. 5: Beispiele für Substrate des Cytochrom P450 2C9** *(modifiziert nach http://medicine.iupui.edu)*

Hierunter lassen sich auch die für unsere Studie wichtigen Vertreter Irbesartan, Losartan und Torasemid finden.

### *1.3.3. CYP2C9 – Polymorphismus*

Es konnten verschiedenste Polymorphismen des Cytochrom P450 2C9 identifiziert werden. Jedoch sind lediglich 2 Allelvariationen klinisch interessant, da mit ihnen eine signifikant verringerte Funktion im Vergleich mit dem Wildtyp einhergeht. Hierbei handelt es sich um das Allel *2, bei der eine Aminosäure-Substitution Arg144Cys vorliegt. Aus einer veränderten Interaktion zur CYP-Oxidoreduktase resultiert eine reduzierte maximale Reaktionsgeschwindigkeit (Vmax). Die zweite Allelvariation (*3) entsteht durch eine Ile359Leu Substitution und hat durch eine veränderte Substratspezifität ein Absinken der Vmax und ein Anstieg der Michaelis-Menten Konstante (Km) zur Folge. Eine Übersicht über die klinisch relevanten Allelvariationen gibt die Abb. 6.

| **Enzym** | **Allelvariante** | **Mutation** | **Konsequenz** | **In-vitro Enzymaktivität** |
|---|---|---|---|---|
| CYP2C9.1 | CYP2C9 *1 | Wildtyp (Arg >144/Ile359) | | Normal |
| CYP2C9.2 | CYP2C9 *2 | Arg > 144Cys | Reduz. Affinität zur Cytochrom-P450-Oxidoreduktase | Vermindert |
| CYP2C9.3 | CYP2C9 *3 | Ile > 359Leu | Veränderte Substratspezifität | Höhere $K_m$ und/oder niedrigere $V_{max}$ |

**Abb. 6: Allelvariationen des CYP2C9 und ihre spezifischen Charakteristika** *(modifiziert nach http://www.imm.ki.se)*

Das Vorliegen eines hetero – oder homozygoten *3 Genotypes geht immer, bei allen Substraten des CYP2C9 mit einer verringerten totalen Clearance des Substrates einher. Vergleichsweise beträgt die Enzymaktivität der *3-Allelvariante 10 – 30% im Vergleich zum Wildtyp. *(Abb. 7)* Der *2 Genotyp weist diese eingeschränkte Clearance dagegen bei nicht allen Substraten auf. *(Vormfelde et al. 2004; Kirchheiner, Brockmöller 2005)*

Beispiele für diese Abhängigkeit der Clearance vom Genotyp zeigt Abb.7.

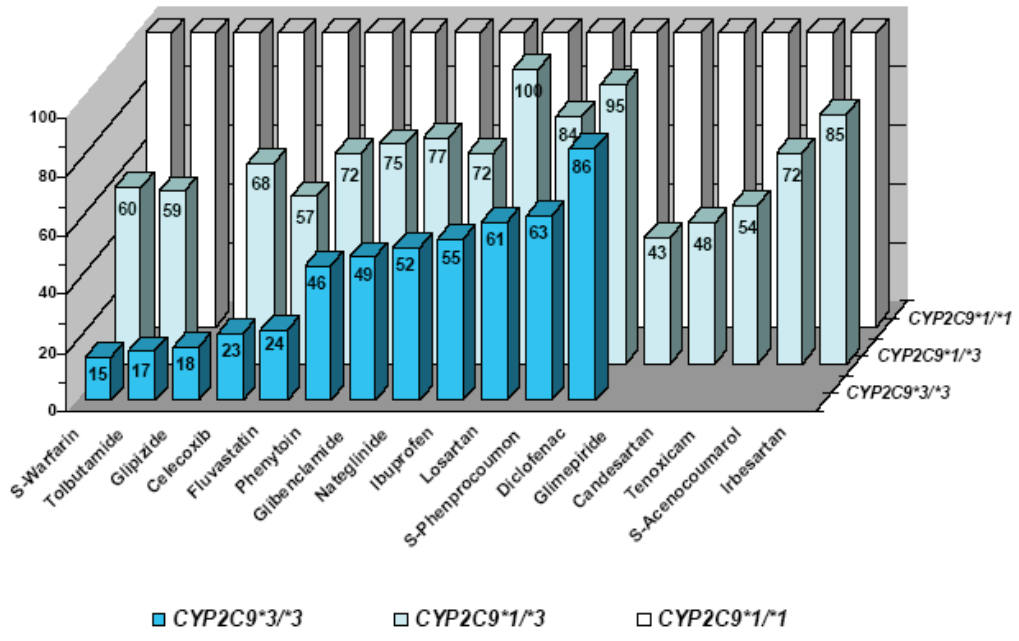



**Abb.7: Prozentuale Clearancereduktion in Abhängigkeit vom CYP2C9-Genotyp** *(Kirchheiner et al 2005*

Das Vorkommen der Allelvariationen gestaltet sich innerethnisch unterschiedlich. So kommen z.B. die Mutationen *5,*6 und *11 nur in der afrikanischen Population vor. Innerhalb der kaukasischen Bevölkerungsgruppen belaufen sich die Häufigkeiten wie folgt: *1 : 79-86%; *2 : 8 – 13%; *3 : 3 – 9%. *(Kirchheiner, Brockmöller 2005)*

Bei der Vielzahl an CYP450 2C9 – abhängig metabolisierten Medikamenten ist es wichtig, potentielle Interaktionen zu kennen bzw. abschätzen zu können. Gemeinhin werden AT1-Blocker als Medikamentengruppe mit äußerst geringem Interaktionspotential beworben. Jedoch kann dies nicht pauschalisiert werden. So haben in vitro Untersuchungen der Affinität von Sartanen zu Cytochrom P450 Enzymen gezeigt, dass besonders durch Losartan und Irbesartan eine potente Inhibition von CYP2C9 assoziierter Tolbutamid-Hydroxylierung erfolgt ($K_i$ 4,1µM und 24µM). In geringerem Ausmaß liegt auch eine Affinität zu CYP1A2 und CYP3A4 vor. Daraus folgt die Vermutung, dass vor allem bei diesen beiden AT1-Blockern Interaktionspotentiale vorliegen. (*Taavitsainen et al. 2000; Unger, Kaschina 2003; Brandolese et al. 2001; Egger 2005; Holstein et al. 2005; Hong et al. 2005; Johnson et al. 2005; Rosemary et al. 2006; Suzuki et al. 2006; Uchida et al. 2003)*

## *1.4. ORGANISCHES ANIONEN – TRANSPORT – POLYPEPTID (OATP)*

### *1.4.1. Allgemein*

Zunehmend kam es in den letzten Jahren zu Beobachtungen, dass zwischen Medikamenten die keinen gemeinsamen bekannten Metabolismus (z.B. über das Cytochrom-Enzymsystem) bestritten, trotzdem Interaktionen nachweisbar waren. Vermehrt zeigte sich, dass verschiedenste Arzneimitteltransporter eine Rolle im Rahmen dieser noch selten untersuchten Interaktionen stehen. Der Angriffspunkt ist der, für die Elimination einer Substanz wichtige transmembranale Transport z.B. bei der Aufnahme aus dem portalen Blut in die Leberzellen. Die bekannten Transporter für organische und anorganische Substanzen sind unterteilt in zwei große Superfamilien: die ABC-Familie (auch Multidrug-Resistance-P-Glycoproteine genannt) mit weiteren sieben Subfamilien und die solute - carrier (SLC-Familie).

Für die Aufnahme von amphipathisch - organischen Stoffen wie Gallensäuren, Steroidhormonen und ihrer jeweiligen Konjugaten, sowie Eicosanoiden und Arzneimitteln ist insbesondere die Superfamilie der Organischen Anionen Transportproteine (OATP bzw. SLC21A) zuständig. *(Pizzagalli 2003).* Dabei obliegt der Transport von Arzneistoffen in der Hauptsache den organischen Anionentransportern OAT1 – 3 und den Kationentransportern OCT1 - 3 der SLC – Superfamilie. *(Cerrutti et al. 2002; König et al. 2000, 2006)*

Die OATP's findet man dabei vor allem an der sinusoidalen Plasmamembran der Hepatozyten. Sie werden allerdings auch in anderen Geweben exprimiert (Niere, Gehirn und Darm). Sie stellen ein Natrium - abhängiges Transportsystem dar.
Insgesamt sind 36 Superfamilien bei Menschen, Ratten und Mäusen identifiziert. Zur besseren Unterscheidung wurde eine Unterteilung dieser heterogenen Superfamilie in einzelne Untergruppen vorgenommen. So erfolgt eine Gliederung in 6 Familien mit >/= 40% Aminosäuren Übereinstimmung in der Gensequenz, erkennbar an den arabischen Zahlen 1 – 6. Diese werden wiederum in Subfamilien mit >/= 60% Sequenzübereinstimmung gruppiert. *(Abb.8)*

| neuer Gen-Name | neuer Protein-Name | altes Gen-Symbol | alter Protein-Name | Vordergr. Substrate | Expr. ort | Genort | Sequence Accession ID |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SLCO 1B1 | OATP 1B1 | SLC 21A6 | OATP-C LST-1 OATP2 | Biliäre Salze, org. Anionen | Leber | 12p12(h) | NM006446 |

**Abb. 8: Nomenklatur des OATP1B1** *(modifiziert nach SLC21/SLCO: The organic anion transporting family;Hagenbuch, Meier 2004)*

Einige der Superfamilien weisen dabei eine sehr hohe Substratspezifität auf mit einem engen Spektrum an Transportsubstraten. Hier stehen mehr die spezifischen physiologischen Funktionen in einzelnen Organen im Vordergrund. Im Gegensatz dazu gibt es OATPs mit einer breiten Substratspezifität. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Bioverfügbarkeit, Aufnahme und Elimination verschiedenster amphipatischer organisch anionischer Stoffe. *(Hagenbuch, Meier 2004)*

Insbesondere das OATP1B1 weist ein Leber – spezifisches Vorkommen auf und ist für die Aufnahme vieler verschiedener Substanzen zuständig. Es liegt somit die Vermutung vor, dass es auch für das in dieser Studie untersuchte Torasemid der entscheidende Mediator für die hepatische Elimination ist. *(Tirona et al. 2001, Nozawa et al. 2002)*

### *1.4.2. OATP-Polymorphismus*

Bei den OATP1B1 sind viele verschiedene Einzelnucleotid Polymorphismen (Single NPs) identifiziert worden. Insbesondere die Mutation c.521TC (Val174A1a) ist assoziiert mit einer deutlich herabgesetzten Aktivität des Transporters (in vitro) und damit eventueller Plasmaspiegelkumulation einer transportpflichtigen Substanz vor dem Transporter in vivo. *(Hagenbuch, Meier 2004; Niemi 2004)*

## *1.5. DIE AT1 – BLOCKER LOSARTAN UND IRBESARTAN*

### *1.5.1. Stellenwert in der Therapie der arteriellen Hypertonie*

Im Rahmen der LIFE-Studie konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Losartan zu einer signifikanten Senkung des Risikos für die Endpunkte kardiovaskulärer Tod, Schlaganfall und Entwicklung einer chronischen Herzinsuffizienz führt. In direkter Gegenüberstellung von Losartan und Atenolol kam es zu einer vergleichbaren Senkung des Blutdrucks, bei jedoch deutlichem Vorteil in Bezug auf die Regression einer linksventrikulären Hypertrophie auf Seiten des AT1-Blockers und das bei einem placeboähnlichen Nebenwirkungsprofil. *(Dahlöf 2002; Dahlöf et al. 2004)*

Ebenso konnte im Rahmen der SILVHIA – Studie eine Überlegenheit für Irbesartan in Bezug auf eine signifikant bessere Reduktion des linksventrikulären Masseindex gegenüber Atenolol nachgewiesen werden. *(Malmquist et al. 2001)*

Neben der Reduktion des kardiovaskulären Risikos zeigten sich in den folgenden Studien - insbesondere für das antihypertensiv hochpotente Irbesartan, welches auch eine deutliche Überlegenheit in der effektiven Blutdrucksenkung z.B. gegenüber Valsartan aufweist - interessante organprotektive Effekte. *(Bobrie et al. 2005)* So sind für Hochrisikopatienten mit Typ 2 Diabetes und arterieller Hypertonie insbesondere deutliche nephroprotektive Effekte im Sinne einer Reduktion der Albuminurie und damit verbundener Risikosenkung für die Entwicklung einer manifesten diabetischen Nephropathie nachgewiesen worden. *(Parving et al. 2001)* Ebenso wird eine vaskuläre antiinflammatorische Wirkung aufgrund selektiver Blockade eines Angiotensin II – Rezeptor-Subtypes und damit verbundene sekundäre Gefäßprotektion diskutiert. *(Fliser 2004)*

Nach heutiger Studienlage stellen AT 1 –Blocker insbesondere aufgrund ihrer günstigen Beeinflussung von kardiovaskulären Begleiterkrankungen und der belegten Nebenwirkungsarmut einen feste Säule in der antihypertensiven Kombinationstherapie (insbesondere bei ACE-Hemmer Unverträglichkeit) dar. *(McMurray et al 2005, Richter et al. 2000)*

### *1.5.2. Stellenwert in der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz*

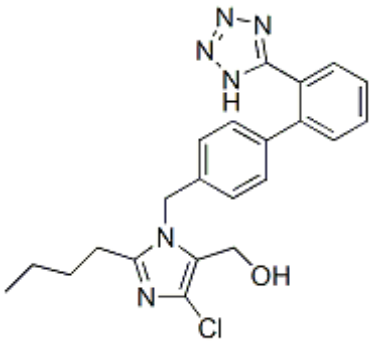
Nach dem Erscheinen großer Studien wie VALIANT, CHARM, Val-HeFt, IRMA und ELITE II erfolgte die Neuformulierung der gängigen Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz mit linksventrikulärer Dysfunktion. Schon nach Veröffentlichung der ELITE I + II-Studie in den frühen 90er Jahren erfolgte die zunehmende Einbeziehung der AT II-Rezeptorantagonisten in die Therapieleitlinien.

Als erster AT1-Blocker erhielt Losartan infolge der ELITE II – Studie die Zulassung zur Herzinsuffizienztherapie. Hier hatte sich in der direkten Gegenüberstellung zu Captopril zwar keine Überlegenheit in Bezug auf die Sterblichkeit ergeben – bei jedoch vergleichbaren Effekten und signifikant besserer Tolerierung aufgrund geringeren Nebenwirkungspotentials erfolgte 2000 die Aufnahme als empfohlene second-line-Therapie bei ACE-Hemmer-Unverträglichkeit und fehlendes Ansprechen auf die Standardtherapie in die Leitlinien. *(Pitt 2000)*

Eine aktuelle Studie zeigte eine Überlegenheit des AT1 – Blockers Candesartan gegenüber 3 verschiedenen ACE-Hemmern hinsichtlich der Prävention des linksventrikulären Remodelings nach akutem Myokardinfarkt. *(Suzuki 2006)* Als erster AT1-Blocker bekam Valsartan 2005 nach Veröffentlichung der ersten VALIANT-Studie die Zulassung bei linksventrikulärer Dysfunktion nach Herzinfarkt infolge des Nachweises einer gleichwertigen Wirksamkeit von Valsartan und Captopril bei Verminderung der Mortalität und Morbidität. *(Pfeffer et al. 2003)* Im Rahmen der CHARM-Studie konnte eine signifikante Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse, eine Verminderung der Häufigkeit von Klinikeinweisungen und damit das Anheben der Lebensqualität unter Kombination mit einem ACE-Hemmer oder anderweitiger Standardtherapie verzeichnet werden. *(McMurray et al. 2003)*

Zunehmend an Bedeutung gewannen dabei auch nachgewiesene Begleiteffekte, insbesondere bei Irbesartan, wie die Reduktion der Mikro- und Makroalbuminurie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ2 und damit Verminderung der Ausbildung einer diabetischen Nephropathie, sowie die Stabilisierung eines Sinusrhythmus bei vorbestehendem intermittierenden Vorhofflimmern. *(Madrid et al. 2002; Fliser et al. 2004; Parving et al. 2001)*

### *1.5.3. Losartan*




Losartan

#### *1.5.3.1. Pharmakokinetik*

Die erstmalige Zulassung für die Indikation der chronischen Herzinsuffizienz erhielt der selektive Angiotensin-Rezeptor-Antagonist Losartan 1995 durch die US Food and Drug Administration infolge der überzeugenden Ergebnisse der ELITE I + II Studien. *(Vogel et al. 2005)*.

Dabei ist die kompetitive Bindungsaffinität des Losartan am $AT_1$ – und $AT_2$ – Rezeptor um den Faktor 10`000 im Vergleich zu Angiotensin II erhöht. Die eigentliche Wirkung wird allerdings über den aktiven Metaboliten EXP3174 vermittelt. Dieser ist nochmals 10fach potenter in seiner Wirksamkeit und nicht-kompetitiv gegenüber Angiotensin II. Losartan selbst wird oral rasch resorbiert unterliegt einem hohen first-pass Effekt und erreicht seine maximale Plasmakonzentration nach 1 – 2 Stunden. Die Halbwertszeit liegt bei 6 – 9h. Etwa 14% des oral aufgenommenen Losartans werden per Oxidation über das Cytochrom P450 2C9 in der Leber zu diesem Carbonsäuremetaboliten verstoffwechselt. Die Metabolisierung beginnt schon bei der Resorption über die Darmschleimhaut (8% präsystemisch, 6% systemisch). Eine untergeordnete Rolle spielen hier die Enzyme CYP3A4 und CYP2C10. Die Bioverfügbarkeit beträgt 33%, die Plasmaproteinbindung beider Substanzen ist mit 98% für Losartan und 99.8% für EXP3174 sehr ausgeprägt.

Wesentliche Unterschiede der Basissubstanz und ihres Metaboliten bestehen in der Area under concentration time – curve ($AUC_{0\text{-}24h}$), welche für den aktiven Metaboliten bis zu 4fach höher liegt (1.9 vs. 0.48 µg/lxh, EXP3174 vs. Losartan), sowie in der Eliminationshalbwertszeit (6h vs. 3h; EXP3174 vs. Losartan) und der renalen Clearance (4fach höher für Losartan).

Die Pharmakokinetik beider Substanzen zeigt sich linear und Dosis-proportional. Auch nach mehrmaliger Gabe über einen längeren Zeitraum stellt sie sich stabil dar. Ebenso liegen keine Hinweise auf eine Aktivitätsabhängigkeit von Nahrungsaufnahme, Alter, Rasse oder gar Geschlecht vor.

Bei der vorliegenden hauptsächlich hepatischen Metabolisierung unterliegen die pharmakokinetischen Parameter Plasmakonzentration, Bioverfügbarkeit und Plasmaclearance allerdings einer deutlichen Abhängigkeit von der Leberfunktion (erhöht: Plasmakonzentration, Bioverfügbarkeit; verringert: Plasmaclearance). Hieraus folgert zumindest bei ausgeprägter Leberfunktionsstörung die Notwendigkeit einer Dosisreduktion. Hingegen ist eine Berücksichtigung der Nierenfunktion nicht notwendig, da nur 35% renal eliminiert werden (>65% über Faeces). *(Grobecker 1999; Sica et al. 2005; Bienert et al. 2006)*

*1.5.3.2. Interaktionen auf CYP2C9 - Ebene*

Unterstellt man bei Benutzung desselben Enzymsystems ein mögliches Interaktionspotential, so besonders bei Substanzen mit einer ausgeprägten Affinität zum entsprechenden Isoenzym.

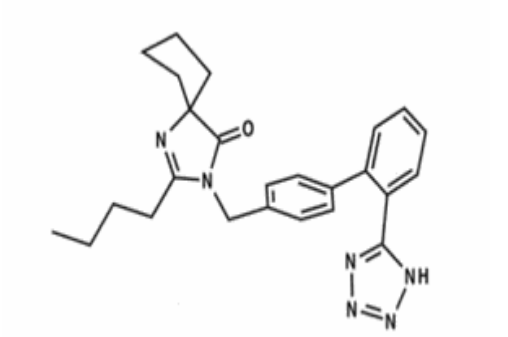
Dies ist z.B. der Fall bei den beiden Substanzen Losartan und Phenytoin. Fischer et al. haben auf Basis dieser Vermutung eine prospektiv, randomisierte Studie initiiert und konnten zeigen, dass eine gleichzeitige Gabe von Losartan auf die Pharmakokinetik von Phenytoin zwar keinen Einfluss hat, wohl aber umgekehrt. So erhöht sich die $AUC_{0\text{-}24h}$ von Losartan im Mittel um 17% (n.s.). Die mittlere AUC von EXP3174 verringerte sich um 63% (1254 ± 256 ng*h/mL vs. 466 ± 174 ng*h/mL; p=0.0001) bei verminderter Metabolisierungsrate von Losartan zu EXP3174 (1.91 ± 0.8 mL/h per kg vs. 0.62 ± 0.4 mL/h per kg; p = 0.0001). Dies hat, bei Verminderung des eigentlich aktiven Metaboliten eine deutlich verminderte Wirksamkeit von Losartan zur Folge. (*Fischer et al. 2002)*

Ebenso lag in der Kombination Warfarin (ebenfalls CYP2C9 Substrat) und Losartan, welche insbesondere im kardiologischen Patientengut gehäuft auftreten kann ein mögliches Interaktionspotential. Dies konnte jedoch im Rahmen einer randomisierten, placebo-kontrollierten Studie von Kong et al. ausgeschlossen werden. Es zeigte sich kein signifikanter Effekt von Losartan auf die Pharmakokinetik von Warfarin. *(Kong et al. 1995)* Insgesamt liegt ein günstiges intersubstantielles Interaktionspotential vor.

Klinisch signifikante Interaktion mit Hemmstoffen des Enzymsystems sind zum jetzigen Zeitpunkt nicht bekannt (z.B. Cimetidin, Ketoconazol). Eine Interaktion mit HCT und Digoxin wurde ausgeschlossen. *(Sica et al. 2005; Fachinformation des Herstellers)*

### *1.5.4. Irbesartan*

*1.5.4.1. Pharmakokinetik*




Irbesartan

Irbesartan ist ein auf einer Benzylamid – Grundstruktur aufbauender selektiver AT1 – Rezeptorblocker, welcher als nicht – kompetitiver Antagonist am AT1 Rezeptor die Wirkung von Angiotensin II hemmt. Die Applikation erfolgt im klinischen Alltag als Einmalgabe von 150 – 300 mg täglich. Das Steady – state wird nach regelmäßiger Einnahme einer Dosis nach 3 Tagen erreicht. Bei 90% Plasmaproteinbindung weist Irbesartan eine Bioverfügbarkeit von 60 – 80% auf. Die Halbwertszeit bzw. die dosisunabhängige Eliminationshalbwertszeit liegt zwischen 11 – 15 h bzw. 12 – 20 h. Die Elimination erfolgt nach hepatischem Metabolismus zu 80% über Faeces und 20% renal. Die renale Clearance beträgt 3.0 – 3.5 ml/min, das Verteilungsvolumen 53 – 93l. Irbesartan weist eine dosislineare Pharmakokinetik auf (Dosisbereich 10 – 600 mg). Auch bei Mehrfachgabe kommt es zu keiner klinisch relevanten Kumulation.

Nachgewiesen ist eine tendenziell erhöhte Plasmakonzentration bei Frauen und älteren Patienten. Es wurden erhöhte Werte der AUC und der maximalen Plasmakonzentration ($c_{max}$) verzeichnet, welche jedoch in ihrer Ausprägung ohne klinische Relevanz waren. Eine Beeinflussung durch Nahrungsaufnahme liegt ebenso wie eine notwendige Anpassung der Dosierung bei Niereninsuffizienz und Leberzirrhose nicht vor. Es findet keine Auswaschung durch Hämodialyse statt.

*(Grobecker 1999,Fachinformation des Herstellers 2004, Marino et al. 1998)*

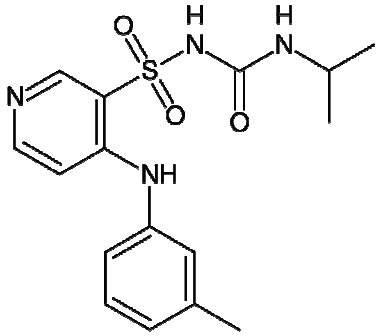
Die Metabolisierung von Irbesartan wird hauptsächlich über das Cytochrom P450 2C9 durch hepatische Glukuronidkonjugation und Oxidation gewährleistet; zu sehr geringen, klinisch nicht signifikanten Anteilen auch über CYP3A4. *(Bourrie 1999)* Zum größten Teil wird Irbesartan unverändert wieder ausgeschieden. Aktive Metaboliten wurden nicht nachgewiesen. Von den 8 bekannten inaktiven Metaboliten stellt das Irbesartanglukuronid mit 6% den Hauptanteil.

Wie bei verschiedensten Substraten des Cytochrom P450 2C9 Enzymsystems konnte auch für Irbesartan eine Abhängigkeit der Pharmakokinetik vom vorliegenden Genotyp und daraus resultierenden Phänotyp nachgewiesen werden. So wurde im Rahmen der SILVHIA – Studie 2002 der Nachweis erbracht, dass unter Irbesartan eine signifikant stärkere Reduktion des diastolischen Blutdrucks mit einem CYP 2C9 *2 Genotyp einherging (*1 / *1 – 7.5% vs. *1 / *2 – 14.4%). Tendenziell konnte derselbe Effekt, allerdings nicht auf Signifikanzniveau für den systolischen Blutdruck verzeichnet werden. Hingegen wurden bei den innerhalb der Doppelblindstudie mit Atenolol (nicht CYP2C9 abhängig metabolisiert) therapierten Patienten keine Unterschiede festgestellt. *(Hallberg et al. 2002)* Ebenso zeigte eine große Studie innerhalb der chinesischen Bevölkerung einen direkten Zusammenhang zwischen Genotyp des CYP2C9 und den pharmakokinetischen Eigenschaften. Das Vorliegen des Genotyp *3 ging mit signifikant erhöhten Irbesartan Plasmakonzentrationen einher. Ein klinischer Effekt auf die Blutdrucksenkung konnte hier allerdings nicht nachgewiesen werden. (*Xiumei et al. 2005, Hong et al. 2005)*

### *1.5.4.2. Interaktionen auf CYP2C9 - Ebene*

Auf der Basis des Metabolismus untersuchte Wechselwirkungen zu anderen Substraten des CYP2C9 ergaben nur begrenzte Interaktionspotentiale. So kommt es zwar unter gleichzeitiger Gabe von Fluconazol zu einer Anhebung der Steady – State Plasma - Peak-Konzentration und der AUC. Jedoch geschieht dies nicht auf klinisch signifikantem Niveau. 1997 gaben Brunner et al. als Charakteristika des „neuen Angiotensin II Rezeptor Antagonisten Irbesartan“ fehlende bekannte Interaktionen an. Ausgeschlossen wurden bis heute, bei in vitro bestehenden Wechselwirkungen signifikante Interaktionen für Tolbutamid und Warfarin. Eine Evaluation zur Beeinflussung durch Enzymsysteminduktoren (z.B. Rifampicin) liegt nicht vor. *(Fachinformation des Herstellers 2004, Marino, Vachharanjani 2001, Brunner 1997)*

## *1.6. DAS SCHLEIFENDIURETIKUM TORASEMID*




Torasemid

### *1.6.1. Stellenwert in der Therapie der arteriellen Hypertonie und der chronischen Herzinsuffizienz*

Maßgeblich verantwortlich für die Bedeutung von Torasemid in den aktuellen Therapiestandards, sind die Ergebnisse der TORIC-Studie. Im direkten Vergleich mit Furosemid bezogen auf Sicherheit, Toleranz, Hospitalisationsrate sowie Mortalität konnte eine beeindruckende Überlegenheit von Torasemid verzeichnet werden. So wurde eine Reduktion der Gesamtmortalität um 51.5%, der kardialen Mortalität um 59.7% und in Hinblick auf den Endpunkt plötzlicher Herztod sogar eine Reduktion um 65.8% verzeichnet. Hierfür wurden vor allem die deutlich verminderten Kaliumverluste gegenüber Furosemid diskutiert. Damit kommt es zu einer Verringerung des Risikos einer, durch abnorm erniedrigte Serumkaliumwerte getriggerten malignen Herzrhythmusstörung. *(Cosin, Diez 2002)*

Murray et al. zeigten ebenfalls eine Überlegenheit von Torasemid gegenüber Furosemid bei der stationären Wiederaufnahmerate von Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz. Primär wird hier eine konstantere Bioverfügbarkeit und eine bessere Compliance z.B. aufgrund einer weniger überschießenden Diurese diskutiert. *(Murray et al. 2001)*

### *1.6.2. Pharmakokinetik*

Torasemid gehört zur Gruppe der Pyrid-Sulfonyl-Harnstoff-Abkömmlinge. Es ist hervorragend oral resorbierbar. Die Bioverfügbarkeit liegt bei 80%. Bei einem Verteilungsvolumen von 0.2 L/kg besteht eine hohe Proteinbindung (>99%). Der maximale Serumspiegel wird nach 1-2 Stunden erreicht. Der first-pass Effekt, dem Torasemid unterliegt, beträgt 10-20%. Es unterliegt einem ausgeprägten hepatischen Metabolismus. Dabei entstehen Cytochrom P450 2C9 abhängig 3 Metaboliten mit unterschiedlichen Eigenschaften. Die Metabolite M1 und M5 werden durch stufenweise Oxidation der Methylgruppe am Phenylring erzeugt. Der Metabolit M3 entsteht durch Ringhydroxylierung. Dabei geht die diuretische Wirkung im wesentliche von Torasemid selbst und dem Metaboliten M3 aus. M1 weist nur eine sehr geringe Aktivität auf, M5 ist diuretisch unwirksam.

Torasemid unterliegt einer dosislinearen Kinetik. Die terminale Halbwertszeit beträgt 3 – 4 Stunden. Die Elimination erfolgt zu 24% unverändert über die Niere. Den größten Anteil an der renalen Ausscheidung hat M5 mit immerhin 41% (M1 12%, M3 3%). Die totale Clearance beträgt 40 ml/min (renal ca. 10 ml/min).

Bei einer vorliegenden Niereninsuffizienz sind die totale Clearance und die Eliminationshalbwertzeit unverändert. Allerdings verlängert sich die Halbwertzeit von M3 und M5, wobei die eigentliche Wirksamkeit und Wirkdauer unbeeinflusst bleiben. Eine Leberfunktionsstörung beeinflusst die Halbwertzeit nur geringfügig. Eine Kumulation ist nicht zu erwarten. Ebenso konnte keine Abhängigkeit der Resorption von der Nahrungsaufnahme beobachtet werden. *(Knauf, Mutschler 1998; Fachinformation des Herstellers; Risler et al. 1994, Miners et al. 1995, Miners et al. 2000)*

Auf Basis des bekannten Cytochrom P450 2C9 - Polymorphismus und den daraus resultierenden Aktivitätsunterschieden der Enzyme entstand die Fragestellung nach einer eventuellen Erhöhung des Torasemid - Plasmaspiegel bei einem gering aktiven CYP2C9-Genotyp. In einer Studie aus dem Jahr 2004 konnte Vormfelde et al. tatsächlich eine signifikante Erhöhung der AUC und $c_{max}$ bei Probanden mit dem CYP2C9 Genotyp *3 nachweisen. Einen Unterschied zwischen *1 und *2 ergab sich hingegen nicht.

Auffällig war außerdem, dass innerhalb der Probanden mit Genotyp *1 und *2 eine sehr hohe Variabilität der extrarenalen Clearance vorhanden war. Als Begründung wurde eine genetische Variation der Transportproteine, welche die tubuläre Sekretion vermitteln (OAT1 und 3) angeführt. *(Vormfelde et al. 2004)*

2006 zeigte Vormfelde auf, dass die orale Clearance von Torasemid linear mit dem Vorliegen von CYP2C9 *3 Allelen assoziiert ist (*1/*3 > *2/*3 > *3/*3). *(Vormfelde et al. 2006-in press)*

### *1.6.3. Interaktionen auf CYP2C9 – Ebene*

Nach aktueller Literatur liegen derzeit keine Daten über bekannte Interaktionen auf Basis eines gemeinsamen Metabolismus über Cytochrom P450 2C9 vor.

## *1.7. ZUSAMMENFASSENDE FRAGESTELLUNG*

Die Substanzen Torasemid, Losartan und Irbesartan nehmen aufgrund ihrer synergistischen klinischen Wirkungen eine wichtige Rolle in der Therapie der arteriellen Hypertonie und chronischen Herzinsuffizienz ein. Unterstützt wird diese Stellung durch die aktuelle Studiensituation und den Empfehlungen der entsprechenden Leitlinien. Alle drei Arzneimittel, welche häufig als Kombinationsmedikation eingesetzt werden, erfahren ihre Metabolisierung über das Cytochrom P450 2C9. Hieraus resultierte die Initiierung der vorliegenden Studie unter folgender Fragestellung:

1. Liegt eine pharmakokinetische Interaktion zwischen Torasemid – Irbesartan oder Torasemid-Losartan vor?

2. Werden bei einer vorliegenden Interaktion die Veränderungen der pharmakokinetischen Parameter durch Variablen wie Geschlecht oder Genotyp des CYP2C9 oder des OATP1B1 beeinflusst?

3. Inwieweit liegt eine klinische Relevanz einer auftretenden Interaktion vor?

4. Welchen Einflussgrößen unterliegt die Pharmakokinetik jedes einzelnen Interaktionspartners?

# 2. METHODIK

## 2.1. ALLGEMEINER STUDIENAUFBAU

Die Genehmigung der Studie erfolgte nach Vorlage des Prüfplanes, des Studienprotokolls, der Patientenerklärung einschließlich Einwilligung und Prüfung durch die Ethikkommission der Ärztekammer Mecklenburg-Vorpommerns am 27.09.2004. Es bestanden keine berufsrechtlichen und berufsethischen Vorbehalte. Hinsichtlich der zusätzlich benötigten Blutentnahmen innerhalb des Studienplanes waren alle Patienten über die klinikinterne Haftpflichtversicherung abgesichert.

Die Patientenrekrutierung, Datenerfassung und Probengewinnung erfolgte an der Klinik für Kardiologie der HELIOS Kliniken Schwerin. Die daraufhin notwendige Probenaufbereitung wurde im Institut für Labormedizin selbigen Klinikums durchgeführt. Arzneimittelanalytik und Genotypisierung erfolgte anschließend durch das Institut für klinische und experimentelle Pharmakologie und Toxikologie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Es handelt sich um eine pharmakokinetische Interaktionsstudie nach dem Arzneimittelgesetz zugelassener - und von den Fachgesellschaften als Kombination empfohlener Arzneimittel.

### *2.1.1. Studienpopulation*

Einschlusskriterien:

- Indikation für die kombinierte Gabe von Torasemid und AT1-Blocker = unzureichend eingestellte arterielle Hypertonie oder chronische Herzinsuffizienz
- in Dosierung und Applikationsart stabile Begleitmedikation
- freiwillige Teilnahme, Einwilligung
- klinische Stabilität des Patienten

Ausschlusskriterien:

- Minderjährigkeit
- Schwangerschaft
- fehlende Einwilligungsfähigkeit
- bekannte allergische Reaktion auf eines der Prüfpräparate
- Niereninsuffizienz (keine anamnestisch bekannten renalen Erkrankungen)
- Leberinsuffizienz (keine anamnestisch bekannten hepatischen Erkrankungen; Bilirubin im Normbereich)
- Operationen, Angiographien, Kontrastmittelgaben oder andere invasive Prozeduren im Studienzeitraum
- klinische Instabilität des Patienten (dekompensierte Herzinsuffizienz, Sepsis, systemische Entzündungen)

### *2.1.2. Studienplanung*

Die Studie bestand aus zwei Teilabschnitten, die zeitlich aufeinander folgend durchgeführt wurden. Jeder Teilabschnitt beinhaltete die konsekutive Rekrutierung von 12 Probanden, welche an jeweils 4 bzw. 5 zusammenhängenden Studientagen teilnahmen.

**Studiengruppe I**

12 Probanden
Prüfpräparate: 10mg Torasemid / 150mg Irbesartan
stabile Komedikationen über gesamten Studienverlauf

Tag 1: Aufnahme des Plasmakonzentrations-Zeitverlaufes von Torasemid nach morgendlicher Einnahme von 10 mg Torasemid (mindestens 2 Wochen als Dauermedikation vorhanden)

Tag 4: Aufnahme des Plasmakonzentrations-Zeitverlaufes von Torasemid unter Kombination (Torasemid + Irbesartan)

| **Studientag** | **Studienphase** | **Ablauf** |
|---|---|---|
| Tag 0 | Rekrutierung | Anamnese<br>Einschluss -/Ausschlusskriterien<br>Aufklärung<br>Einverständniserklärung |
| Tag 1 | Nullkinetik | Einnahme 10 mg Torasemid<br>Blutentn. für Pharm.kin. (8x/24 h)<br>Blutentn. für Genotypisierung |
| Tag 2 | Kombination | Zusätzliche Einn. 150mg Irbesartan<br>Erhebung unerwünschter Effekte |
| Tag 3 | Steady state | --//-- |
| Tag 4 | Interaktionskinetik | Einnahme Medikation<br>Blutentn. für Pharm.kin. (8x/24 h)<br>Erhebung unerwünschter Effekte |

**Tab. 1: Studienablauf - Studiengruppe I**

**Studiengruppe II**

12 Probanden
Prüfpräparate: 10mg Torasemid / 100 mg Losartan
stabile Komedikation über gesamten Studienverlauf

Tag 1: Aufnahme des Plasmakonzentrations-Zeitverlaufes von Torasemid nach morgendlicher Einnahme von 10 mg Torasemid (mindestens 2 Wochen als Dauermedikation vorhanden)

Tag 5: Aufnahme des Plasmakonzentrations-Zeitverlaufes von Torasemid unter Kombination (Torasemid + Losartan)

| **Studientag** | **Studienphase** | **Ablauf** |
|---|---|---|
| Tag 0 | Rekrutierung | Anamnese<br>Einschluss -/Ausschlusskriterien<br>Aufklärung<br>Einverständniserklärung |
| Tag 1 | Nullkinetik | Einnahme 10 mg Torasemid<br>Blutentn. für Pharm.kin. (8x/24 h)<br>Blutentn. für Genotypisierung |
| Tag 2 | Kombination | Zusätzliche Einn. 50mg Losartan<br>Erhebung unerwünschter Effekte |
| Tag 3 | Aufsättigung | Einnahme 100mg Losartan<br>Erhebung unerwünschter Effekte |
| Tag 4 | Steady state | --//-- |
| Tag 5 | Interaktionskinetik | Einnahme Medikation<br>Blutentn. für Pharm.kin. (8x/24 h)<br>Erhebung unerwünschter Effekte |

**Tab.2: Studienablauf der Studiengruppe II**

Zusätzlich erfolgte in beiden Gruppen an Tag 1 eine Genotypisierung der Probanden in Bezug auf Cytochrom P450 2C9, da alle beteiligten Prüfpräparate Substanzen der Cytochrom-abhängigen Metabolisierung sind.
Des Weiteren wurde zusätzlich eine Genotypisierung des Organic Anionic Transporter Proteins (OATP1B1) durchgeführt zur Untersuchung der Rezeptor-abhängigen hepatischen Aufnahme von Torasemid.

**Einnahmeordnung**

Die Einnahme von Torasemid geschah konstant als Torem® 10 (Berlin-Chemie AG; Menarini-Group; Berlin) einmal täglich morgens zusammen mit der weiteren Begleitmedikation. In beiden Studiengruppen erfolgte am Tag 2 die Zugabe der Kombinationsmedikation. Hierbei verwendeten wir Karvea® 150 (Irbesartan; Bristol-Myers Squibb GmbH; München) in Studiengruppe I als Anfangs- und Erhaltungsdosis. In Studiengruppe II kam LORZAAR® 100 (Losartan; MSD Chibropharm GmbH; Haar) zur Anwendung. Wobei wir nach bestehender Empfehlung eine stufenweise Anhebung der Tagesdosis vornahmen (Tag 1-50mg; Tag 2-100mg).

Die Festlegung der Dosierung der Studienpräparate erfolgte zwecks Vergleichbarkeit auf Basis der AT1-Blocker - Äquivalenzdosisstudie von Oparil. *(Oparil et al. 2001, Dominiak, Häuser 2003)*

Die Medikamenteneinnahme erfolgte an allen Tagen unter Aufsicht des Prüfarztes.
Eine, z.B. medizinisch indizierte Veränderung der Begleitmedikation, hatte den Ausschluss aus der Studie zur Folge.

## *2.2. PROBENGEWINNUNG UND DOKUMENTATION*

**Rekrutierung – Tag 0**

Die Probanden rekrutierten sich aus dem jeweils aktuellen Patientenpool der Klinik für Kardiologie der HELIOS Kliniken Schwerin.

Nach Überprüfung der Einschluss-relevanten Parameter (Indikation, Torasemid-Dauermedikation, stabile Begleitmedikation, Creatinin, Bilirubin) erfolgte die Aufklärung des Patienten über Studienhintergrund und –Zielsetzung, Durchführung, zeitlichen und formellen Ablauf, zusätzliche Belastungen außerhalb der üblichen Stationsroutine, mögliche Risiken und Begleiterscheinungen schriftlich und mündlich. Jeder Teilnehmer hinterlegte eine schriftliche Einverständniserklärung. Ebenso wurde auf die absolute Freiwilligkeit und damit verbunden auch jederzeit bestehende Möglichkeit der Revision seines Einverständnisses hingewiesen. *(Patientenaufklärung siehe Anhang)*

Nachfolgend wurden studienrelevante Parameter erhoben und protokolliert.

- Name, Geburtsdatum
- Größe, Gewicht, Geschlecht
- Haupt- und Nebendiagnosen
- Begleitmedikation (Dauer- und Bedarfsmedikation)
- Creatinin
- Bilirubinwert

Zum Zweck der Anonymisierung und eindeutigen Zuordenbarkeit der Proben erfolgte die Vergabe eines standardisierten 10-stelligen Codes.

**Pharmakokinetik (Nullkinetik – Tag 1, Interaktionskinetik – Tag 4, bzw. 5)**

Die Erhebung der pharmakokinetischen Daten erstreckt sich über 24 Stunden. Dabei werden über diesen Zeitraum 8 Mal jeweils 7.5 ml EDTA Blut entnommen.
Zu diesem Zweck wird dem Probanden am Entnahmetag eine Flexüle in eine periphere Vene eingelegt.
Zum Zeitpunkt 0 / Tag 1 erfolgt die erstmalige Entnahme. Gleichzeitig wird eine zusätzliche Probe 7.5ml EDTA – Blut zur Genotypisierung des Cytochrom P450 2C9 und des OATP1B1 entnommen. Anschließend nimmt der Patient sofort unter Aufsicht des durchführenden Arztes seine Standardmedikation einschließlich 10 mg Torasemid ein.

Die weiteren Entnahmen erfolgen ab dem Zeitpunkt der Einnahme nach 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 und 24 Stunden. Diese letzte Blutentnahme findet wiederum vor der erneuten morgendlichen Medikamentengabe statt. Die weiteren (patientenspezifischen) Medikamenteneinnahmen erfolgen im normalen stationären Tagesverlauf.

Der Entnahmezeitpunkt wird zusammen mit der Patienten-ID-Nummer auf jeder Monovette vermerkt. Ebenso erfolgt die Protokollierung des Entnahmezeitpunktes, etwaiger Besonderheiten bei der Abnahme oder unerwünschter Ereignisse im Studienprotokoll. Der Proband wird im Rahmen einer jeden Blutentnahme an Tag 1 und 4, bzw. 5 nach etwaigen Ereignissen befragt und ist ebenso angehalten dies selbstständig an den übrigen Tagen anzuzeigen. Die Vorgehensweise an Tag 4 und 5 entspricht dem oben geschilderten Vorgehen. *(Studienprotokoll siehe Anhang)*

**Probenverarbeitung**

Die gewonnenen Proben wurden zentrifugiert. Das erhaltene Plasma abpipettiert und bei – 20 ° C aserviert. Es erfolgte der Versand auf Trockeneis zur weiteren Analyse in das Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Erlangen.

## *2.3. ANALYTIK*

### *2.3.1. Substratquantifizierung*

Die Plasmakonzentration von Losartan und seinem Metaboliten – EXP3174 wurden mittels Liquid Chromatographie – Massenspektrometrie (LC/MS) entsprechend der Methodenbeschreibung nach Polinko et al. ermittelt. Eigens für die Messung der Plasmakonzentrationen von Irbesartan und Torasemid wurden am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität Erlangen zwei LC/MS Analysen entwickelt, deren Güte entsprechend der Methodik von Shah et al. validiert wurde. Die wesentlichen Parameter der verschiedenen analytischen Methoden sind im Anhang dargestellt.

### *2.3.2. Pharmakokinetische Analyse*

Die Plasmakonzentrations-Zeitkurven wurden über ein Nicht-Kompartiment-Modell mittels Win Nonlin Version 3.3 (Pharsight, Mountain View, CA, USA) ermittelt. Die maximale Plasmakonzentration ($c_{max}$) und der Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration ($t_{max}$) wurden direkt aus den beobachteten Daten übernommen. Die Eliminations-Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde berechnet aus ln2 / $\lambda z$ ($\lambda z$ = Eliminationsgeschwindigkeitskonstante). Die Fläche unter der Kurve (Area under curve, $AUC_{0\text{-}24h}$) über eine Zeitdauer von 24 Stunden wurde unter Nutzung der linearen Trapezregel kalkuliert. Die orale Clearance wurde als Dosis / $AUC_{0\text{-}24h}$ errechnet.

### *2.3.3. Genotypisierung*

Die notwendige DNA – Menge wurde aus 200µl peripher venösem Blut extrahiert. Die Antikoagulation erfolgte per Ethylendiamintetraessig-Säure (Flexigene Kit – QUIAGEN, Hilden; Deutschland). Die Genotypisierung wurde über vorgefertigte TaqMan Tests (Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) durchgeführt. Die Methodik wurde von Egger et al. 2005 beschrieben. Die Vermehrung des genetischen Materials erfolgt in 5 µl (Volumen) welches 1 µl DNA – Lösung (5ng/µl), 0,1 µl jedes Primers (100pmol/µl), 0,1 µl jeder Probe (100pmol/µl) und 2,5 µl des PCR Master Mix (Absolute PCR Master Mix, Abgene, Hamburg, Germany) enthält unter Nutzung des ABI Prism Sequenz Detektors (Applied Biosystems, Weierstadt, Germany).

## *2.4. STATISTIK*

Die Ergebnisse werden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben und im Falle der Eliminationshalbwertszeit und des Zeitpunktes der maximalen Plasmakonzentration als Mittelwert ± Standardfehler. Inwieweit die Variabilität der Pharmakokinetik von Torasemid durch Geschlecht, den Polymorphismus von CYP2C9 oder OATP1B1 bestimmt wurde, ist per faktorieller Varianzanalyse überprüft worden. Nachfolgend wurden die CYP2C9 Genotypen durch eine Analyse per Bonferroni Test verglichen. CYP2C9, OATP1B1 und Geschlecht fließen dabei als unabhängige Variablen ein. Die Gleichheit der Gruppenvarianzen wurde durch die Levene-Statistik getestet. Der statistische Vergleich der pharmakokinetischen Variablen zwischen Mutationsträgern (hetero - /homozygot) und Nichtträgern dieser Single Neukleotid Polymorphismen und Frauen vs. Männer erfolgte durch den Mann – Whitney U oder Kruskal – Wallis Test. Der Vergleich der pharmakokinetischen Daten von Torasemid vor und nach Komedikation mit den AT1-Blocker erfolgt über einen nicht-parametrischen, gepaarten Test, Korrelationsanalysen per Pearson Korrelationstest. Die Datenanalyse wurde per SPSS 14.0 für Windows (SPSS Inc., Chicago III) durchgeführt. Das Signifikanzniveau ist auf $< 0.05$ festgelegt.

# 3. ERGEBNISSE

## 3.1. PARAMETER DER STUDIENPOPULATION

Im Studienverlauf wurden insgesamt 27 Patienten eingeschlossen, welche initial alle Einschlusskriterien erfüllten. Hiervon mussten jedoch 3 Probanden im Verlauf als drop out verzeichnet werden. Ein Patient wurde aufgrund einer akuten Verschlechterung des Gesundheitszustandes mit der Notwendigkeit der zusätzlichen Gabe eines Antibiotikums ausgeschlossen. Zwei Probanden mussten auf Amiodaron während der Einstellungsphase von Losartan aufgrund von ventrikulären Arrhythmien eingestellt werden. Da Amiodaron ebenfalls über das Cytochrom P450 Enzymsystem metabolisiert wird, konnte in diesen Fällen eine etwaige anderweitige Interaktion zwischen den Prüfpräparaten nicht ausgeschlossen werden.

Unter den 24 Probanden waren 7 Frauen und 17 Männer (SG I – 5 Frauen vs. 7 Männer; SG II – 2 Frauen vs. 10 Männer).
Die Indikationen zur Einstellung auf eine zusätzliche AT1-Blocker-Medikation bestanden in insgesamt 18 Fällen aus einer unzureichend eingestellten arteriellen Hypertonie (SG I – 8; SG II – 10), sowie in insgesamt 6 Fällen in der Therapieoptimierung bei chronisch myokardialer Insuffizienz NYHA II – III (SG I – 4; SG II – 2), wobei Patienten mit einer manifesten Herzinsuffizienz ausgeschlossen waren.
In keinem der Fälle war in der Komedikation ein CYP2C9 – Inhibitor vorhanden. 5 Patienten nahmen ein weiters CYP2C9 – Substrat ein (2 x Phenprocoumon, 2 x Ibuprofen, 1 x Glimepirid). Das Durchschnittsalter der Probanden lag dabei insgesamt bei 64,4 Jahren (SG I 67.8 ± 8.5; SG II 60.9 ± 7.5).
Aus den erhobenen Parametern Größe (m) und Gewicht (kg) wurde der Body mass Index ermittelt, welcher sich intersexuell als nahezu identisch herausstellte (29.8 ± 3.16 vs. 28.2 ± 3.67; Frauen vs. Männer; n.s.). Der BMI im Mittelwert betrug 28.7 ± 3.54.

Abweichungen im Studienprotokoll wurden vermerkt und bei den Analysen und Berechnungen entsprechend berücksichtigt. Unerwünschte Ereignisse wurden regelmäßig von den Patienten erfragt.

In 3 Fällen wurden Symptome wie Schwindel, Leistungsschwäche und Kopfschmerzen verzeichnet. Diese Symptome sistierten jedoch nach kurzer Zeit ohne Interventionsnotwendigkeit.

Unerwünschte Zwischenfälle:

SG I

| | |
|---|---|
| Proband 7 | Schwächegefühl direkt nach Irbesartan-Einnahme – kurzzeitig, selbstlimitierend; keine Kreislaufinstabilität |
| Proband 10 | Schwindel nach Einnahme von Irbesartan – RR 100 mmHg syst. – Kontrolle 30 Min. später: 140 mmHg syst. |

SG II

| | |
|---|---|
| Proband 15 | Kopfschmerzen ohne Zusammenhang mit Medikamenteneinnahme, keine Intervention, spontan sistierend nach 2 Stunden |

## *3.2. TORASEMID*

### *3.2.1. Pharmakokinetische Basisparameter*

| **Pharmacokinetic Parameter** | **Torasemid** |
|---|---|
| **AUC $_{(0\text{-}24h)}$ (µg*h/l)** | 4142.93 ± 1796.52 |
| **Body mass (kg)** | 84.57 ± 13.57 |
| **B.m.corr. AUC $_{(0\text{-}24h)}$ (µg*h/l*kg)** | 51.48 ± 27.77 |
| **$C_{max}$ (µg/l)** | 1047.08 ± 391.88 |
| **$t_{max}$ (h)** | 1.31 ± 0.62 |
| **$t_{½}$ (h)** | 3.28 ± 1.08 |
| **$Cl_{oral}$ (l/h)** | 2.69 ± 0.87 |
| **$V_z$ (l)** | 12.06 ± 4.44 |
| **B.m.corr. $V_z$ (l/kg)** | 0.14 ± 0.04 |

**Tab. 3: Pharmakokinetische Basisparameter von Torasemid** *(Dauermedikation 10 mg oral)*

Als Parameter der Torasemid – Pharmakokinetik wurde die Area under concentration time curve (AUC in µg*h/l) ermittelt. Diese wurde gewichtskorrigiert (µg*h/l*kg), ebenso wie das Verteilungsvolumen ($V_z$ in l; bzw. l/kg). Weiterhin erfolgte eine Analyse des Konzentrationsmaximum ($c_{max}$ in µg/l), der Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration ($t_{max}$ in h), der Eliminationshalbwertzeit in Stunden ($t_{1/2}$ in h) und letztlich der oralen Clearance ($Cl_{oral}$ in l/h). Wobei die orale Clearance und das Verteilungsvolumen nur unter der Einschränkung der variablen intestinalen Resorption des einzelnen Patienten zu betrachten sind.

Es zeigte sich eine Streubreite der Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven (Standardabweichung 1796.52 µg*h/l bei einer mittleren AUC von 4142.93 µg*h/l). Die Dosis – adjustierte $AUC_{0\text{-}24h}$ und die $c_{max}$ variierten um den Faktor 4.1 bzw. 3.4 interindividuell.

Daraufhin wurden die Ergebnisse hinsichtlich eventuell auftretender Abweichungen von bekannten Pharmakokinetikdaten und Zusammenhängen mit den erhobenen Patientendaten untersucht.

*3.2.1.1. Geschlechtsabhängigkeit*

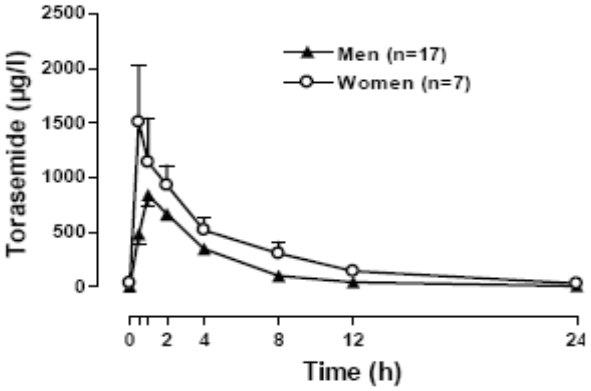
| Pharmacokinetic Parameter | Male (n = 17) | Female (n = 7) | Significance (p value) |
|---|---|---|---|
| **AUC $_{(0\text{-}24h)}$ (µg*h/l)** | 3595.1 ± 722.3 | 5473.4 ± 2839.9 | 0.008 |
| **Body mass (kg)** | 87.3 ± 14.0 | 78.0 ± 10.6 | ns |
| **B.m.corr.AUC $_{(0\text{-}24h)}$ (µg*h/l*kg)** | 42.6 ± 12.9 | 72.7 ± 42.1 | 0.006 |
| **$C_{max}$ (µg/l)** | 928.7 ± 317.8 | 1334.7 ± 428 | 0.009 |
| **$t_{max}$ (h)** | 1.0 (0.5 – 2.0) | 2.0 (0.5 – 2.0) | ns |
| **$t_{½}$ (h)** | 2.94 ± 0.75 | 4.10 ± 1.35 | 0.006 |
| **Cl $_{oral}$ (l/h)** | 2.90 ± 0.63 | 2.28 ± 1.07 | ns |
| **$V_z$ (l)** | 12.31 ± 4.35 | 11.45 ± 4.96 | ns |
| **B.m.corr. $V_z$ (l/kg)** | 0.14 ± 0.04 | 0.14 ± 0.05 | ns |

**Tab. 4: Pharmakokinetische Basisparameter Torasemid (10mg oral) in Abhängigkeit vom Geschlecht**

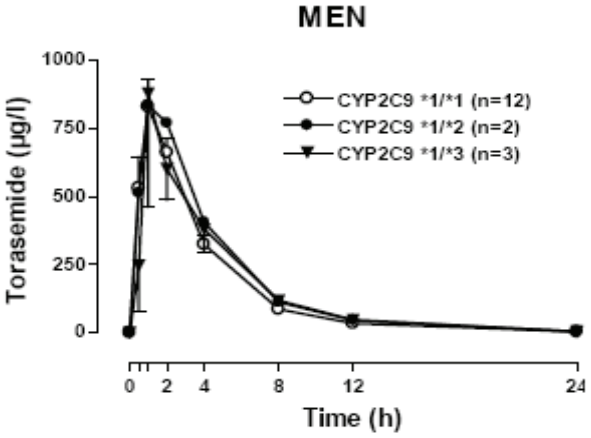
Die $AUC_{0\text{-}24h}$ von Torasemid betrug im Mittel 4143 ± 1797 µg*h/l. Gliedert man die Studienpopulation nach dem Geschlecht auf, ergibt sich ein bisher nicht beschriebener Unterschied innerhalb der pharmakokinetischen Parameter. Bei den männlichen Probanden zeigt sich die AUC im Mittel mit 3595.1 µg*h/l (± 722.3) im Rahmen der Ergebnisse der Literatur. Dagegen ergibt sich bei den weiblichen Probanden eine signifikant erhöhte AUC mit 5473.4 µg*h/l und eine deutlich größere Streubreite (± 2839.9) der Werte. Dieser signifikante Unterschied (p = 0.008) wurde nach der Gewichtskorrektur noch verstärkt (72.7 ± 42.1 vs. 42.6 ± 12.9; p = 0.006). Im Mittel betrug die $AUC_{0\text{-}24h}$ bei weiblichen Probanden um 52% nach Gewichtsangleichung sogar 71% mehr als bei den Männern. *(Abb.9 - A)*

Ebenfalls ein signifikanter Anstieg konnte bei Frauen bei der maximalen Plasmakonzentration (1334.7 ± 428 vs. 928.7 ± 317.8; p = 0.009) und der Eliminationshalbwertzeit (4.10 ± 1.35 vs. 2.94 ± 0.75; p = 0.006) verzeichnet werden. Ein zu vermutender Unterschied im Verteilungsvolumen ergab sich allerdings nicht (11.45 ± 4.96 vs. 12.31 ± 4.35; ns; Frauen vs. Männer).

**A**




**B**




**C**

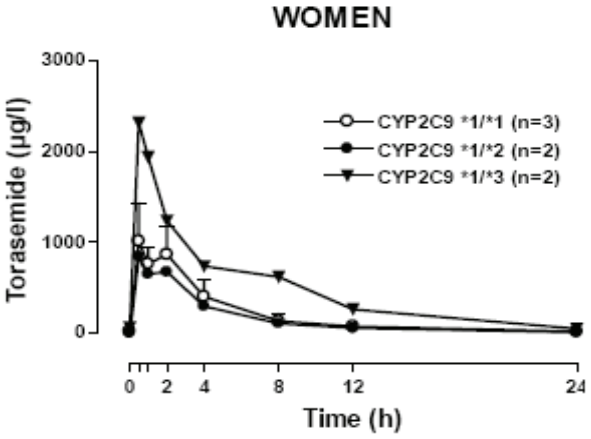



**Abb. 9: Mittlere Plasmakonzentration von 10 mg Torasemid (± Standardabweichung) über 24 Std. bei Patienten mit stabiler Dauermedikation; Abhängigkeit vom Geschlecht**

**A –** Männer vs. Frauen

**B –** Männer in Abhängigkeit vom CYP2C9 – Genotyp

**C –** Frauen in Abhängigkeit vom CYP2C9 – Genotyp

*3.2.1.2. CYP2C9 – Genotyp – Abhängigkeit*

Die Verteilung der Genotypen innerhalb der Studiengruppen wird in Tab. 5 dargestellt. Dabei fällt eine höhere Frequentierung des Wildtypes und ein völliges Fehlen von *3-Allelträgern in Studiengruppe II auf.

| | ***1/ *1** | ***1 / *2** | ***1 / *3** |
|---|---|---|---|
| **SG I** | 5 | 2 | 5 |
| **SG II** | 10 | 2 | 0 |
| **Gesamt** | 15 | 4 | 5 |

**Tab. 5: Verteilung der CYP2C9-Genotypen innerhalb der Studiengruppen** *(SG I = Irbesartan, SG II = Losartan)*

Die Verteilung der Genotypen intersexuell stellt sich wie in Tab. 6 aufgeführt dar. Bei lediglich 43% der weiblichen Probanden liegt der Wildtyp vor. Dem gegenüber stehen 71% bei den Männern.

| | **männlich** | **weiblich** |
|---|---|---|
| ***1 / *1** | 12 | 3 |
| ***1 / *2** | 2 | 2 |
| ***1 / *3** | 3 | 2 |

**Tab. 6: Verteilung der CYP2C9-Genotypen geschlechtsabhängig (Gesamtstudienpopulation)**

Betrachtet man in Abhängigkeit vom vorliegenden Genotyp des CYP2C9 die Ergebnisse der $AUC_{0\text{-}24h}$, so werden die Daten der oben beschriebenen bekannten Cytochrom P450 2C9 abhängigen Torasemidkinetik bestätigt. So zeigte sich bei den Probanden mit einem *3 Allel im Mittel eine um 46% signifikant höhere Plasmakonzentration über der Zeit (69.2 ± 43.3 vs. 46.7 ± 23.9; p = 0.001; *1 / *3 vs. *1 / *1). Das Vorliegen eines *2 Allels war hingegen nicht mit einer signifikanten Erhöhung der $AUC_{0\text{-}24h}$ verbunden (p = 0.911; *1 / *2 vs. *1 / *1). *(Tab. 7; Abb. 10 + 11)*

| Genotyp | *1 / *1 (n=15) | *1 / *2 (n=4) | *1 / *3 (n=5) | Sign. (*1 vs. *3) |
|---|---|---|---|---|
| $AUC_{0-24h}$ in µg*h/l | 3755 ± 1514 | 3918 ± 617 | 5485 ± 2716 | p = 0.001 |
| $AUC_{0-24h}$/kg KG in µg*h/l*kg | 46.7 ± 23.9 | 46.8 ± 8.8 | 69.2 ± 43.3 | p = 0.001 |

**Tab. 7: AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen (Gesamtstudienpopulation)**

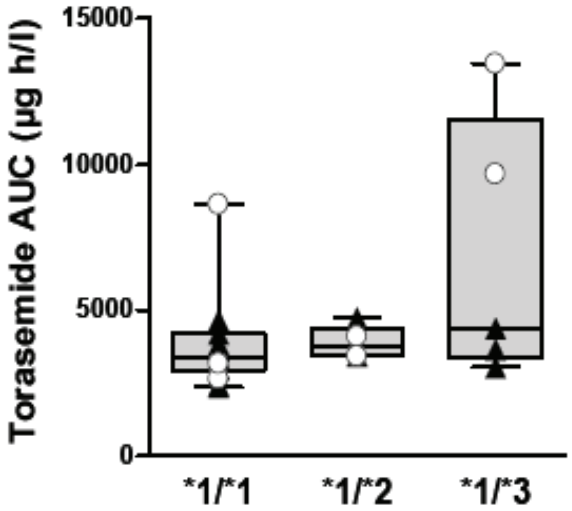



**Abb. 10: Area under concentration – time Kurve 0-24h ($AUC_{0-24h}$) von Torasemid in Abhängigkeit des CYP2C9 Genotypes; Box - Whisker-Plot Darstellung** *(horizontale Linie innerhalb der Kästen = Median; Box-Kanten = oberes und unteres Quartil; Whisker = maximales und minimales Ergebnis; Kreise = Frauen; Dreiecke = Männer)*

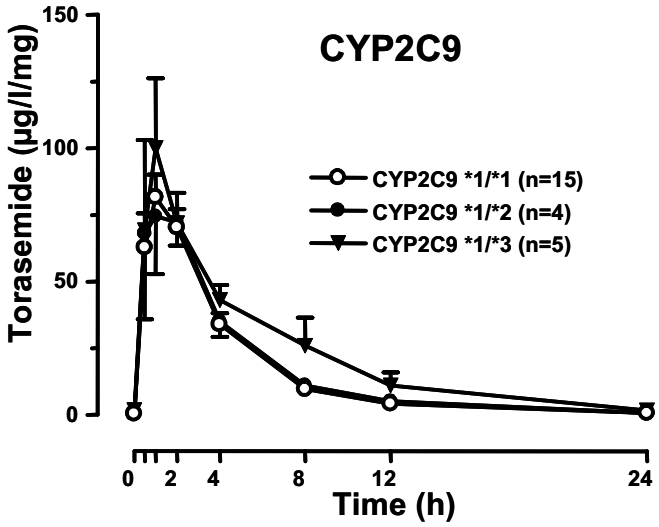



**Abb. 11: AUC über 24 Std. ($AUC_{0-24h}$) von Torasemid in Abhängigkeit vom Genotyp**

Das völlige Fehlen eines *3 – Allel-Trägers in Studiengruppe II (siehe Tab. 5) schlug sich in der ungleichen Verteilung der $AUC_{0\text{-}24h}$ zwischen den Studiengruppen nieder (4733 ± 2295 vs. 3553 ± 850; SG I vs. SG II).

Nimmt man jetzt Bezug auf die Verteilung der CYP2C9 Wildtypen intersexuell, so stellt sich die $AUC_{0\text{-}24h}$ wie folgt dar. *(Tab. 8)*

| | ***1 / *1** | ***1 / *2** | ***1 / *3** |
|---|---|---|---|
| **Frauen** | 67.1 ± 48.7 (n = 3) | 43.8 ± 14.3 (n = 2) | 110.2 ± 33.9 (n = 2) |
| **Männer** | 41.5 ± 12.4 (n = 12) | 49.6 ± 0.2 (n = 2) | 42.1 ± 20.0 (n = 3) |

**Tab. 8: $AUC_{0\text{-}24h}$ in Abhängigkeit von Geschlecht und CYP2C9 Genotyp**

Graphisch verdeutlicht wird die unterschiedliche Ausprägung der $AUC_{0\text{-}24h}$ nach Geschlecht und CYP2C9 – Genotyp aufgeschlüsselt in Abb. 9 - B und 9 - C dargestellt *(Seite 44)*.

*3.2.1.3. OATP1B1 – Genotyp – Abhängigkeit*

Die Verteilungen der OATP1B1 – Genotypen TT und TC stellen sich, wie in Tab. 9 und 10 aufgezeigt, dar.

| | **Männlich** | **Weiblich** |
|---|---|---|
| **OATP1B1 – TT** | 9 | 4 |
| **OATP1B1 – TC** | 8 | 3 |

**Tab. 9: Verteilung der OATP1B1-Genotypen geschlechtsabhängig**

| | **OATP1B1 - TT** | **OATP1B1 – TC** |
|---|---|---|
| **SG I** | 7 | 5 |
| **SG II** | 6 | 6 |

**Tab. 10: Verteilung der OATP1B1-Genotypen innerhalb der Studiengruppen** (*SG I = Irbesartan, SG II = Losartan)*

Innerhalb der Studiengruppen war nahezu eine Gleichverteilung zwischen TT – und TC – Genotyp zu verzeichnen. Geschlechtsspezifisch überwog keiner der beiden Genotypen. Der Genotyp CC trat in unserem Patientenkollektiv nicht auf.

Vergleicht man die Höhe der AUC mit dem jeweils vorliegenden Genotyp so zeigt sich auch hier ein signifikanter Unterschied. So wiesen Probanden mit dem Genotyp TC eine im Mittel um 38% höhere mittlere Körpergewichts - korrigierte $AUC_{0\text{-}24h}$ als die Träger des TT – Genotypes auf (63.0 ± 34.0 vs. 41.6 ± 17.1; p = 0.03; TC vs. TT). *(Tab. 11; Abb.12)*

| | **OATP1B1 – TT** (n=13) | **OATP1B1 – TC** (n=11) | **TT vs. TC)** |
|---|---|---|---|
| **$AUC_{0\text{-}24}$-0 (µg*h/l)** | 3523 ± 1140 | 4876 ± 2184 | p = 0.03 |
| **$AUC_{0\text{-}24}$-0/kg (µg*h/l*kg** | 41.6 ± 17.1 | 63.0 ± 34.0 | p = 0.03 |

**Tab. 11: $AUC_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1-Genotypen (Gesamtstudienpopulation)**

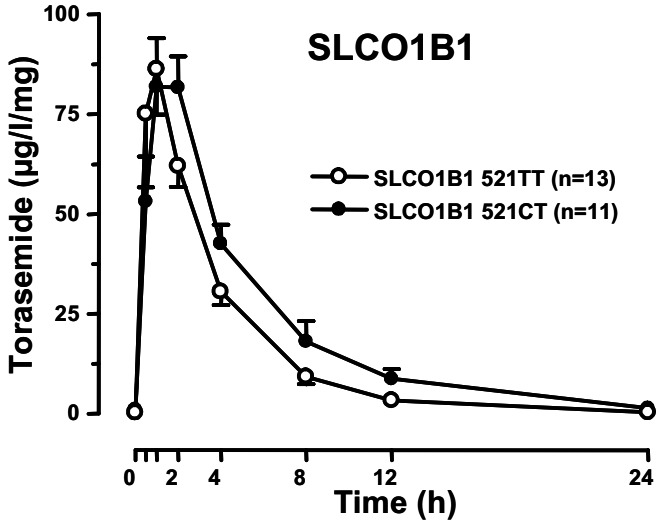



**Abb. 12: $AUC_{0\text{-}24h}$ von Torasemid in Abhängigkeit des vorliegenden OATP1B1 - Genotyps**

*3.2.1.4. Abhängigkeit von BMI, Komedikation und Indikation*

Korreliert man den BMI der untersuchten Patienten mit der $AUC_{0\text{-}24h}$, ergab sich in unserer Studie kein signifikanter Zusammenhang.

Hinsichtlich der Komedikation mit und ohne zusätzliche CYP2C9 – Substrate bezogen auf die körpergewichtskorrigierte $AUC_{0\text{-}24h}$ ergab sich kein Unterschied. (51.8 ± 29.2 vs. 49.9 ± 24.6; ohne CoMed. vs. mit CoMed.; p = 0.45)

Im Vergleich der beiden Indikationsgruppen arterielle Hypertonie und chronische Herzinsuffizienz zeigte sich ein nicht signifikanter Unterschied in Bezug auf die AUC, wobei keine Patienten mit manifester Herzinsuffizienz eingeschlossen wurden. (47.4 ± 22.6 (n=18) vs. 63.2 ± 40.0 (n = 6); art. Hypertonie vs. chron. Herzinsuff.; p = 0.07)

## *3.3. IRBESARTAN*

### *3.3.1. Pharmakokinetische Basisparameter*

| Pharmacokinetic Parameter | Irbesartan |
|---|---|
| **$C_{max}$ (µg/l)** | 5528 ± 1725 (4432 – 6624) |
| **$t_{max}$ (h; median, range)** | 1.0 (0.5 – 4) |
| **$AUC_{(0-24h)}$ (µg*h/l)** | 29304 ± 12597 (21300 – 37308) |
| **$t_{1/2}$ (h)** | 9.8 ± 4.5 (7.0 – 12.7) |
| **$Cl_{(oral)}$ (l/h)** | 6.0 ± 2.5 (4.4 – 7.6) |
| **$V_z$ (l)** | 84.1 ± 47.0 (54.3 – 114.0) |

**Tab. 12: Pharmakokinetische Basisparameter von Irbesartan**

Ebenso wie für Torasemid wurden auch für die Interaktionspartner die pharmakokinetischen Basisparameter erfasst. *(Tab. 12)* Die mittlere $AUC_{0-24h}$ von Irbesartan betrug im Patientenkollektiv 29304 ± 12597 µg*h/l. Auch diese Ergebnisse wurden auf Abhängigkeiten hinsichtlich Geschlecht und Genotyp des CYP2C9 und OATP1B1 untersucht.

#### *3.3.1.1. Geschlechtsabhängigkeit*

Betrachtet man die Plasma-Konzentrations-Zeitkurven von Irbesartan in Abhängigkeit vom Geschlecht, so zeigen sich bei numerisch höheren Werten bei den weiblichen Probanden insgesamt jedoch keine signifikanten Unterschiede (25403.07 ± 34765.78 ± 15908.83; p = 0.11; Männer vs. Frauen).

| | Männlich (n=7) | Weiblich (n=5) | Sign. |
|---|---|---|---|
| **$AUC_{0-24h}$ (µg*h/l)** | 25403.07 ± 8921.65 | 34765.78 ± 15908.83 | p = 0.11 |

**Tab. 13: Irbesartan - $AUC_{0-24}$ in Abhängigkeit des Geschlechts** *(SG I)*

*3.3.1.2. CYP2C9 – Genotyp – Abhängigkeit*

| | ***1/*1 (n = 5)** | ***1/*2 (n = 2)** | ***1/*3 (n = 5)** | **Sign. (*1 vs. *3)** |
|---|---|---|---|---|
| **$AUC_{0\text{-}24h}$(µg*h/l)** | 24510 ± 9948.4 | 28057 ± 8337.7 | 34598 ± 15985 | p = 0.13 |
| **$AUC_{0\text{-}24h}$/kg BM** | 299 ± 147.3 | 384 ±90.6 | 414 ± 235.2 | p = 0.19 |

**Tab. 14: Irbesartan - $AUC_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen** *(SG I)*

Innerhalb des vorhandenen Patientenkollektivs liegt eine repräsentative Verteilung der CYP2C9 Genotypen vor. Es zeigt sich eine tendenzielle Zunahme der AUC bei Trägern des Allel *3 (24510 ± 9948.4 vs. 34598 ± 15985; *1 / *1 vs. *1 / *3). Jedoch erreicht dieser Unterschied nicht das Signifikanzniveau (p = 0.27).

*3.3.1.3. OATP1B1 – Genotyp – Abhängigkeit*

| | **OATP1B1 – TT (n = 7)** | **OATP1B1 – TC (n = 5)** | **Sign.** |
|---|---|---|---|
| **$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg*h/l)** | 24100 ± 8972.2 | 36590 ± 14209.4 | p = 0.05 |
| **$AUC_{0\text{-}24h}$/kg BM (µg*h/l*kg)** | 267 ± 73.8 | 493 ± 205.7 | p = 0.01 |

**Tab. 15: Irbesartan - $AUC_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1-Genotypen** *(SG I)*

Bei gleichmäßiger Verteilung der Häufigkeiten der Genotypen TT / TC (7 vs. 5) kann eine grenzwertig signifikant erhöhte $AUC_{0\text{-}24h}$ für Probanden mit dem Genotyp TC festgestellt werden (24100 ± 8972.2 vs. 36590 ± 14209.4; TT vs. TC; p = 0.05). Dieses Ergebnis wird nach einer Gewichtskorrektur signifikant (p = 0.01).

## *3.4. LOSARTAN*

### *3.4.1. Pharmakokinetische Basisparameter*

| **Pharmacokinetic Parameter** | **Losartan** | **EXP 3174** |
|---|---|---|
| **$C_{max}$ (µg/l)** | 684 ± 329 (475 – 893) | 1904 ± 803 (1394 – 2414) |
| **$t_{max}$ (h; median,range)** | 1.0 (0.5 – 2.0) | 2.0 (2.0 – 8.0) |
| **AUC $_{(0-24h)}$ (µg*h/l)** | 1468 ± 751 (990 – 1945) | 13374 ± 5759 (9715 – 17034) |
| **$t_{1/2}$ (h)** | 4.8 ± 1.4 (3.9 – 5.7) | 5.6 ± 2.6 (4.0 – 7.3) |
| **Cl $_{(oral)}$ (l/h)** | 81.0 ± 33.4 (59.8 – 102.3) | 8.6 ± 3.0 (6.7 – 10.5) |
| **$V_z$ (l)** | 551 ± 236 (401 – 702) | 64.0 ± 16.1 (53.8 – 74.2) |

**Tab. 16: Pharmakokinetische Basisparameter von Losartan und seinem Metaboliten EXP3174**

Entsprechend der bekannten Pharmakokinetik hinsichtlich der Metabolisierung von Losartan zu seinem eigentlich aktiven Metaboliten EXP3174 wurden sowohl für Losartan als auch für EXP3174 die pharmakokinetischen Basisparameter erhoben. Es zeigten sich, übereinstimmend mit der bekannten Pharmakokinetik von Losartan deutlich höhere $AUC_{0-24h}$ Werte für den aktiven Metaboliten EXP3174 (13374 ± 5759 vs. 1468 ± 751 µg*h/l; EXP3174 vs. Losartan). Gleichermaßen erfolgte eine Analyse hinsichtlich der Abhängigkeit von Geschlecht und Genotyp des CYP2C9 und OATP1B1.

#### *3.4.1.1. Geschlechtsabhängigkeit*

| | **Männlich (n = 10)** | **Weiblich (n = 2)** | **Sign.** |
|---|---|---|---|
| **AUC $_{0-24h}$ (µg*h/l) - Losartan** | 1560.04 ± 776.49 | 1006.8 ± 523.26 | p = 0.18 |
| **AUC $_{0-24h}$ (µg*h/l) – E3174** | 13000 ± 6449.05 | 12632.4 ± 234.33 | p = 0.47 |

**Tab. 17: E3174 und Losartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der Geschlechter** *(SG II)*

Betrachtet man beide Geschlechter getrennt voneinander, so zeigen sich weder für die Grundsubstanz Losartan noch für seinen aktiven Metaboliten eine signifikante Geschlechtsabhängigkeit der Pharmakokinetik *(siehe Tab. 17)*, bei allerdings äußerst unausgewogener Verteilung der Geschlechter in der Studiengruppe II.

*3.4.1.2. CYP2C9 – Genotyp – Abhängigkeit*

Losartan

| | ***1/*1 (n = 10)** | ***1/*2 (n = 2)** | **Sign.** |
|---|---|---|---|
| **$AUC_{0\text{-}24h}$(µg*h/l)** | 1266.8 ± 392.40 | 2472.6 ± 1549.69 | p = 0.015 |
| **$AUC_{0\text{-}24h}$/kg (µg*h/l*kg)** | 15.44 ± 5.69 | 25.5 ± 16.83 | p = 0.06 |

**Tab. 18: Losartan - AUC $_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen** *(SG II)*

Bei ungleicher Verteilung der Genotypen (10 vs. 2) und völligem Fehlen des *3 Allel lässt sich keine Aussage treffen. Rein formal unterscheidet sich die $AUC_{0\text{-}24h}$ von Losartan jedoch signifikant zwischen *1 / *1 und *1 / * 2 Allel – Trägern (1266.8 ± 392.40 vs. 2472.6 ± 1549.69 µg*h/l; *1 / *1 vs. *1 / *2; p = 0.015). Allerdings hält dieses Ergebnis einer Gewichtskorrektur nicht stand (15.44 ± 5.69 vs. 25.5 ± 16.83 µg*h/l*kg; *1 / *1 vs. *1 / *2; p = 0.06).

EXP3174

| | ***1/*1** | ***1/*2** | **Sign.** |
|---|---|---|---|
| **AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg*h/l)** | 11681.34 ± 4574.8 | 19225.75 ± 9558.74 | p = 0.05 |
| **AUC $_{0\text{-}24h}$ / kg** | 140.72 ± 53.4 | 197.6 ± 105.36 | p = 0.13 |

**Tab. 19: EXP3174 - AUC $_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen** *(SG II)*

Ähnlich gestalten sich die Ergebnisse hinsichtlich der $AUC_{0\text{-}24h}$ vom aktiven Metaboliten EXP3174. Es lassen sich zwischen *1 und *2 Trägern Tendenzen einer Steigerung der $AUC_{0\text{-}24h}$ feststellen (11681.34 ± 4574.8 vs. 19225.75 ± 9558.74; *1 / *1 vs. *1 / *2; p = 0.05), welche jedoch wiederum nach einer Gewichtskorrektur der $AUC_{0\text{-}24h}$ nicht das Signifikanzniveau erreichen.

*3.4.1.3. OATP1B1 – Genotyp – Abhängigkeit*

Losartan

| | **OATP1B1 – TT (n = 6)** | **OATP1B1 – TC (n = 6)** | **Sign.** |
|---|---|---|---|
| **AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg*h/l)** | 1124.0 ± 334.4 | 1811.7 ± 920.0 | p = 0.06 |
| **AUC $_{0\text{-}24h}$ /kg BM (µg*h/l*kg)** | 13.0 ± 3.0 | 21.3 ± 9.9 | p = 0.04 |

**Tab. 20: Losartan - AUC $_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1 -Genotypen** *(SG II)*

Ein interessanter Aspekt ergibt sich, betrachtet man die $AUC_{0\text{-}24h}$ von Losartan in Abhängigkeit zum OATP1B1 – Genotyp. Bei Trägern des TC-Genotyps liegt im Vergleich zu TT-Trägern eine grenzwertig signifikant höhere $AUC_{0\text{-}24h}$ vor (1124.0 ± 334.4 vs. 1811.7 ± 920.0; TT vs.TC; p = 0.06). Nach einer Gewichtskorrektur erreicht dieser Trend sogar deutlich das Signifikanzniveau (13.0 ± 3.0 vs. 21.3 ± 9.9; TT vs. TC; p = 0.04).

EXP3174

| | **OATP1B1 – TT** | **OATP1B1 – TC** | **Sign.** |
|---|---|---|---|
| **AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg*h/l)** | 13179.2 ± 5099.9 | 12698.3 ± 6983.6 | p = 0.45 |
| **AUC $_{0\text{-}24h}$ /kg BM (µg*h/l*kg)** | 155.2 ± 62.4 | 145.3 ± 66.9 | p = 0.4 |

**Tab. 21: E3174 - AUC $_{0\text{-}24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1 -Genotypen** *(SG II)*

Einen ähnlichen Trend würde man in der Beziehung von EXP3174 und den OATP1B1 – Genotypen erwarten. Dies bestätigte sich nicht. Vielmehr stellen sich nahezu identische Parameter dar (13179.2 ± 5099.9 vs. 12698.3 ± 6983.6; TT vs. TC; p = 0.45).

## *3.5. INTERAKTIONSERGEBNISSE*

### *3.5.1. Torasemid und Irbesartan*

| **Pharmacokinetic Parameter** | **Treatment period 1** Torasemide alone | **Treatment period 2** Irbesartan coadministration | **P value** (Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test) |
|---|---|---|---|
| **$AUC_{0-24h}$ (µg*h/l)** | 4733 ± 2295 (3274 – 6191) | 5355 ± 2467 (3788 – 6923) | 0.002 |
| **$AUC_{0-24h}$/kg KG (µg*h/l*kg)** | 60.3 ± 35.8 | 68.3 ± 39.0 | 0.0085 |
| **$AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$** | | 1.15 ± 0.14 | |
| **$c_{max}$ (µg/l)** | 1142 ± 446 (858 – 1426) | 1048 ± 573 (684 – 1413) | 0.339 |
| **$t_{max}$(h;median,range)** | 1.0 (0.5 – 2.0) | 2.0 (0.5 – 4.0) | 0.297 |
| **$t_{1/2}$ (h)** | 3.5 ± 1.2 (2.7 – 4.2) | 4.1 ± 2.0 (2.8 – 5.4) | 0.021 |
| **$Cl_{(oral)}$ (l/h)** | 2.5 ± 0.8 (2.0 – 3.0) | 2.2 ± 0.7 (1.7 – 2.6) | 0.002 |
| **$V_z$ (l)** | 11.3 ± 2.9 (9.5 – 13.2) | 11.7 ± 4.3 (8.9 – 14.4) | 0.5186 |

**Tab. 22: Veränderung der AUC von Torasemid unter Komedikation mit Irbesartan**

Nach Erhebung der Torasemid – Nullkinetik erfolgte, wie in der Methodik beschrieben, die Aufsättigung der Studiengruppe I mit Irbesartan. Die nachfolgend ermittelten Werte für Torasemid stellen sich wie folgt dar: Es kam zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der $AUC_{0-24h}$ (4733 ± 2295 vs. 5355 ± 2467 µg*h/l; $AUC_{TMP1}$ vs. $AUC_{TMP2}$; p = 0.002). Auch nach Gewichtskorrektur bleibt dieser Anstieg signifikant (60.3 ± 35.8 vs. 68.3 ± 39.0 µg*h/l*kg; $AUC_{TMP1}$ vs. $AUC_{TMP2}$; p = 0.0085).

Prozentual kommt es zu einer durchschnittlichen Zunahme um 14.5%. Im Einzelfall betrug dieser Anstieg bis zu 45%. *(Abb. 13, Seite 58)*

Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Eliminationshalbwertszeit (3.5 ± 1.2 vs. 4.1 ± 2.0 h; TMP 1 vs. TMP 2; p = 0.021) und damit auch einer Verminderung der oralen Clearance von Torasemid (2.5 ± 0.8 vs. 2.2 ± 0.7; TMP1 vs. TMP2; p = 0.002) unter Komedikation mit Irbesartan 150 mg.

Zu einer signifikanten Verschiebung des Zeitpunktes der maximalen Plasmakonzentration ($t_{max}$) und der maximalen Plasmakonzentration ($c_{max}$) kam es jedoch nicht.

*3.5.1.1. Geschlechtsabhängigkeit*

| | **$AUC_{TMP1}$ (µg*h/l)** | **$AUC_{TMP2}$ (µg*h/l)** | **$AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$** |
|---|---|---|---|
| **Männer** | 3505 ± 458 | 3919 ± 741 | 1.11 ± 0.086 |
| **Frauen** | 6451 ± 2780 | 7365 ± 2693 | 1.19 ± 0.19 |

**Tab. 23: Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Geschlechtes**

Sucht man nach speziellen Abhängigkeiten der $AUC_{0\text{-}24h}$ – Entwicklung unter der Komedikation mit Irbesartan, so findet sich beispielsweise kein signifikanter Unterschied im Anstieg der Plasmakonzentrationen über der Zeit zwischen den Geschlechtern. Tendenziell zeigte sich eine größere Zunahme bei den Frauen. Hier lässt sich jedoch bei der begrenzten Anzahl (n = 5) bei einer 19 %igen Steigerung gegenüber einer 11% Steigerung bei den Männern (n = 7) keine signifikante Aussage treffen.

*3.5.1.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit*

| | $AUC_{TMP1}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$ |
|---|---|---|---|
| ***1 / *1** | 4366 ± 2390 | 4803 ± 2258 | 1.13 ± 0.12 |
| ***1 / *3** | 5485 ± 2716 | 6168 ± 3070 | 1.13 ± 0.098 |

**Tab. 24: Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Genotyps von CYP2C9**

Bei oben beschriebener Häufigkeitsverteilung der Genotypen des Cytochrom P450 2C9 innerhalb der Studiengruppe (*1 / *1 – n = 5; *1 / *3 – n = 5) zeigt sich entgegen den Erwartungen keine signifikante Genotyp – abhängige Stärke des AUC – Anstieges (1.13 ± 0.12 vs. 1.13 ± 0.098; *1 / *1 vs. *1 / *3). Allerdings sind die Fallzahlen für die drei verschiedenen Genotypen zu gering um eine verlässliche Aussage zu treffen.

*3.5.1.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit*

| | $AUC_{TMP1}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$ |
|---|---|---|---|
| **OATP1B1 – TT** | 3777 ± 1318 | 4119 ± 1195 | 1.105 ± 0.117 |
| **OATP1B1 - TC** | 6071 ± 2835 | 7086 ± 2859 | 1.20 ± 0.165 |

**Tab. 25: Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Genotyps von OATP1B1**

Abhängig vom Vorhandensein der TT – Allelvariante des spezifischen hepatischen OATP1B1 – Rezeptors konnte eine vergleichsweise geringere Steigerungsrate der $AUC_{0\text{-}24h}$ beobachtet werden. Dieser Unterschied führt nominal (jedoch nicht signifikant) bei Probanden mit der TC – Mutation zu einer Steigerung der $AUC_{0\text{-}24h}$ von durchschnittlich 20 % (6071 ± 2835 vs. 7086 ± 2859 µg*h/l; TMP 1 vs. TMP 2).
Träger des TT – Allel hingegen konnten lediglich eine Steigerung von 10.5 % im Mittel aufweisen (3777 ± 1318 vs. 4119 ± 1195 µg*h/l; TMP 1 vs. TMP 2).

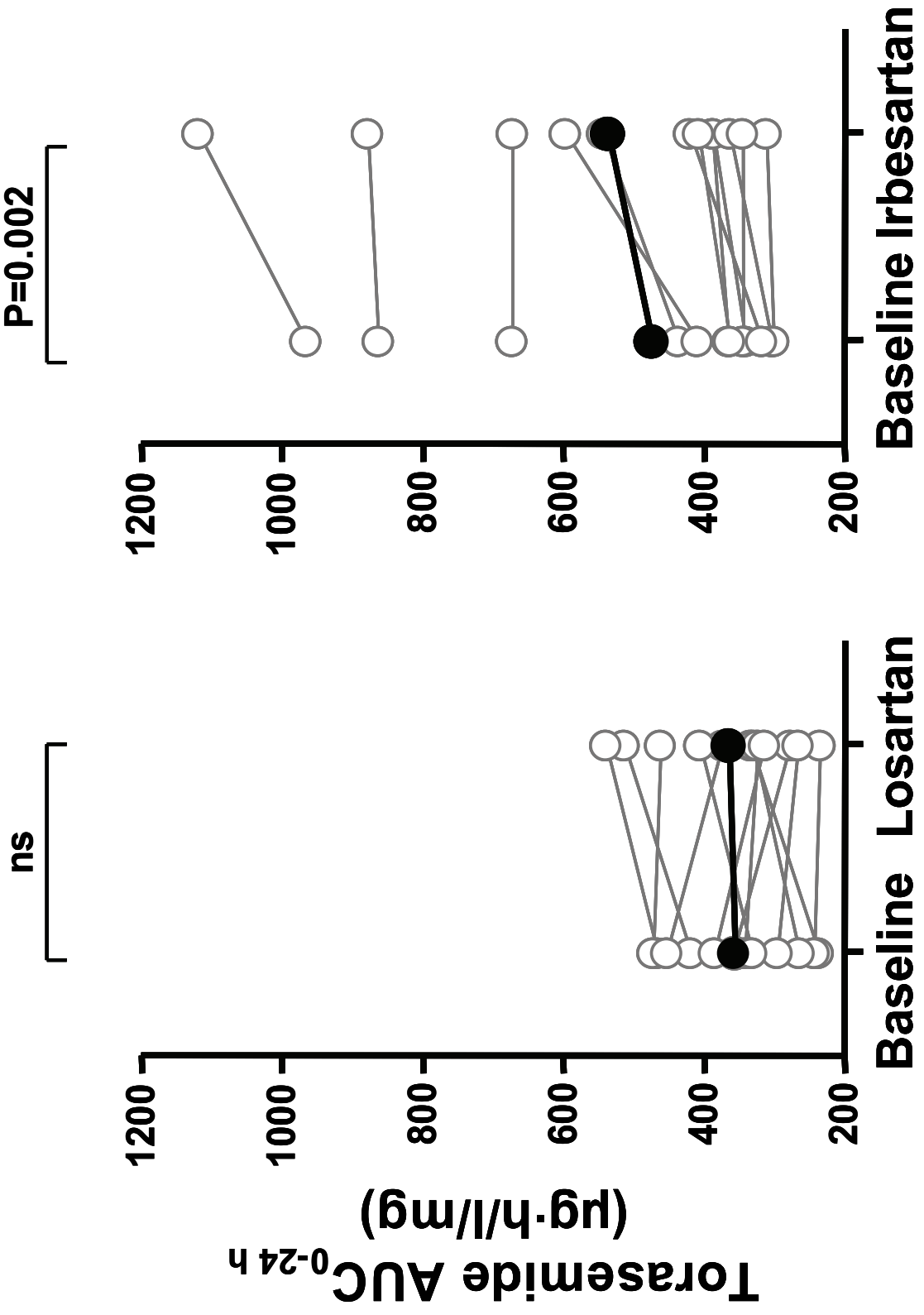



**Abb.13: Δ $AUC_{0\text{-}24h}$ Torasemid – Losartan; Torasemid – Irbesartan TMP1 vs. TMP2**

### *3.5.2. Torasemid und Losartan*

| **Pharmacokinetic Parameter** | **Treatment period 1** Torasemide alone | **Treatment period 2** Losartan coadministration | **P value** (Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test) |
|---|---|---|---|
| **$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg*h/l)** | 3553 ± 850 (3013 – 4093) | 3641 ± 973 (3022 – 4259) | 0.7910 |
| **$AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$** | | 1.04 ± 0.21 (0.91 – 1.17) | |
| **$c_{max}$ (µg/l)** | 951 ± 320 (748 – 1155) | 861 ± 298 ( 671 – 1051) | 0.4697 |
| **$t_{max}$ (h;median,range)** | 1.0 (0.5 – 2) | 1.5 (0.5 – 4) | 0.7695 |
| **$t_{1/2}$ (h)** | 3.1 ± 1.0 (2.5 – 3.7) | 3.5 ± 1.2 (2.7 – 4.3) | 0.2661 |
| **$Cl_{(oral)}$ (l/h)** | 3.0 ± 0.8 (2.5 – 3.5) | 2.9 ± 0.7 (2.5 – 3.4) | 0.9697 |
| **$V_z$ (l)** | 13.2 ± 5.1 (9.9 – 16.4) | 14.5 ± 5.7 (10.8 – 18.1) | 0.7910 |

**Tab. 26: Veränderung der AUC von Torasemid unter Komedikation mit Losartan**

Nach Zugabe von Losartan entsprechend dem Protokoll wurden, wie im Methodikteil geschildert, die Parameter der Interaktionskinetik erhoben. Es zeigte sich keine signifikante Veränderung der Torasemid – Pharmakokinetik. Der zu verzeichnende Plasmakonzentrationsverlauf über der Zeit ($AUC_{0\text{-}24h}$ in µg*h/l) blieb bei allen Patienten stabil (3553 ± 850 vs. 3641 ± 973; TMP 1 vs. TMP 2). *(Abb. 13, Seite 58)*

Ebenso zeigte sich keine Abnahme der oralen Clearance von Torasemid (3.0 ± 0.8 vs. 2.9 ± 0.7 l/h; TMP1 vs. TMP2).

*3.5.2.1. Geschlechtsabhängigkeit*

| | $AUC_{TMP1}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$ |
|---|---|---|---|
| **Männer** | 3658 ± 881 | 3716 ± 1059 | 1.027 ± 0.213 |
| **Frauen** | 3029 ± 548 | 3263 ± 42 | 1.097 ± 0.213 |

**Tab. 27: Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Geschlechtes**

Auch nach geschlechtsbezogener Auswertung der Parameter zeigte sich kein Unterschied in der $AUC_{0\text{-}24h}$ von Torasemid unter der Komedikation mit Losartan (1.027 ± 0.213 vs. 1.097 ± 0.213; Männer vs. Frauen)

*3.5.2.2. CYP2C9 – Genotyp Abhängigkeit*

| | $AUC_{TMP1}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$ |
|---|---|---|---|
| ***1 / *1** | 3421 ± 872 | 3584 ± 1016 | 1.054 ± 0.223 |
| ***1 / *2** | 4067 ± 921 | 3924 ± 977 | 0.962 ± 0.023 |

**Tab. 28: Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des CYP2C9 – Genotyps**

Ebenso ergibt sich kein Unterschied in der Entwicklung der Area under curve zwischen Trägern des *1 oder *2 Allels (1.054 ± 0.223 vs. 0.962 ± 0.023; TMP 1 vs. TMP 2).

*3.5.1.3. OATP1B1 – Genotyp Abhängigkeit*

| | $AUC_{TMP1}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}$ (µg*h/l) | $AUC_{TMP2}/AUC_{TMP1}$ |
|---|---|---|---|
| **OATP1B1 – TT** | 3226 ± 915 | 3455 ± 1016 | 1.090 ± 0.220 |
| **OATP1B1 – TC** | 3880 ± 705 | 3827 ± 985 | 0.987 ± 0.195 |

**Tab. 29: Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit der OATP1B1 - Genotypes**

Eine Abhängigkeit der AUC - Dynamik unter Komedikation mit Losartan vom OATP1B1 – Genotyp ist ebenfalls nicht zu erkennen (1.090 ± 0.220 vs. 0.987 ± 0.195; TT vs. TC).

# 4. DISKUSSION

## 4.1. EINLEITUNG

Der medikamentösen Therapie der arteriellen Hypertonie, sowie der chronischen myokardialen Insuffizienz kommt eine stetig wachsende Bedeutung zu. Im Rahmen der modernen Therapieprinzipien stehen zur Optimierung der harten Endpunkte Mortalität und Morbidität leitliniengerecht Kombinationsmedikationen im Vordergrund. *(ESC Guidelines 2003; Swedberg et al. 2005)*

Das Anliegen der vorliegenden Studie ist es, pharmakokinetisch und – genetisch mögliche Interaktionen, zwischen den klinisch gebräuchlichen und etablierten Substanzen Torasemid und Irbesartan bzw. Losartan nachzuweisen bzw. zu widerlegen aufgrund des gemeinsamen Metabolisierungsweges über das Cytochrom P450 2C9 Enzym. Differenziert wurden die Genotypen des CYP2C9 und des OATP1B1 betrachtet. Weitere Parameter wie Geschlecht, BMI und Komedikation wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Pharmakokinetik überprüft.

## *4.2. TORASEMID – BASISWERTE*

### *4.2.1. Plasmakonzentration, HWZ, Clearance*

Die über einen Zyklus von jeweils 24 Stunden erhobenen Basiswerte der Pharmakokinetik von Torasemid beziehen sich auf den Plasmakonzentrations – Zeitverlauf (Area under concentration – time curve), die maximale Plasmakonzentration, der Zeit bis zum Erreichen des Konzentrationsmaximums, der Eliminationshalbwertszeit, der oralen Clearance und des Verteilungsvolumens.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den bekannten Daten aus einer von Knauf und Mutschler 1998 veröffentlichten Metaanalyse von 14 Torasemid – Pharmakokinetik – Studien, so bestätigen sich die bekannten pharmakokinetischen Eigenschaften Torasemids auch bei geringer Patientenzahl in unserer Studie.

| **Pharmacokinetic Parameter** | **Eigene Ergebnisse** | **Knauf, Mutschler 1998** |
|---|---|---|
| **$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg*h/l)** | 4142.93 ± 1796.52 | zw. 3357 ± 859 – 3871 ± 774 |
| **$c_{max}$ (µg/l)** | 1047.08 ± 391.88 | zw. 988 ± 269 – 1507 ± 317 |
| **$t_{max}$ (h)** | 1.31 ± 0.62 | zw. 0.9 ± 0.4 – 1.5 ± 0.6 |
| **$t_{1/2}$ (h)** | 3.28 ± 1.08 | zw. 3.2 ± 0.7 – 3.6 ± 1.3 |

**Tab. 30: Knauf, Mutschler 1998 – entnommene Werte von Studien mit gleicher Torasemid Dosierung** *(=Dauermedikation; 10 mg; oral)*

### *4.2.2. $AUC_{0\text{-}24h}$ vs. Geschlecht*

Unerwartet und bisher noch nicht beschrieben ist eine offensichtlich existierende Auswirkung des Geschlechts auf die Pharmakokinetik von Torasemid. Das Geschlecht des Probanden erwies sich als prädiktionierende unabhängige Variable welche die $AUC_{0\text{-}24h}$ von Torasemid signifikant beeinflusst ($p < 0.0001$ in Kovarianzanalyse; $R^2=0.85$) So ergaben sich signifikante Unterschiede in der Ausprägung der $AUC_{0\text{-}24h}$ von Frauen und Männern (3595 ± 722 vs. 5473 ± 2840 µg*h/l; Männer vs. Frauen; $p = 0.008$).

Im Einzelfall kann der Unterschied im Vergleich zur mittleren $AUC_{0\text{-}24h}$ der Männer bis zu 168% betragen (9653.7 vs. 3595 ± 722 µg*h/l). Im Mittel zeigte sich eine 52%ige nach Gewichtskorrektur sogar 71%ige Erhöhung der $AUC_{0\text{-}24h}$ bei den Frauen. Ebenfalls als signifikant erhöht, erwiesen sich in dieser Studie sowohl die maximale Plasmakonzentration ($c_{max}$) (929 ± 318 vs. 1335 ± 428 µg/l; Männer vs. Frauen) als auch die Halbwertszeit ($t_{1/2}$) (2.9 ± 0.75 vs. 4.1 ± 1.35 h; Männer vs. Frauen; $p = 0.006$).

Daraus lässt sich die Schlussfolgerung ziehen, dass bei Frauen eine deutlich höhere Wirkung von Torasemid vorliegen kann.

Als mögliche Erklärung für diesen geschlechtsspezifischen Unterschied fällt die Häufung des Genotyps *1 / *3 bei den weiblichen Probanden auf. Dieser geht mit einer Abnahme der Aktivität des Cytochrom P450 2C9 und damit mit erhöhten Plasmakonzentrationen einher. In unserer Untersuchung wiesen gerade einmal 43% der weiblichen Probanden einen Wildtyp und damit eine normale Aktivität des CYP2C9 auf. Dem stehen 71% Wildtypträger bei den Männern gegenüber. Vergleicht man innerhalb der Genotypgruppen *1 und *3 erneut die $AUC_{0\text{-}24h}$ der beiden Geschlechter miteinander, so bleibt die Erhöhung der $AUC_{0\text{-}24h}$ zu Gunsten der weiblichen Probanden bestehen. *(Tab. 8, Seite 47)*

In der Analyse der Begleitmedikation auf eventuell gleichzeitig applizierte Inhibitoren des Cytochrom P450 – 2C9 Enzymsystems fand sich kein Zusammenhang mit den deutlich erhöhten Werten der Frauen.

In der Literatur gibt es nur wenige Daten zu anderen Cytochrom P450 2C9 Substraten und einer geschlechtsabhängigen Metabolisierung. Es konnten zum Beispiel für Naproxen ähnliche Daten festgestellt werden ($AUC_{0\text{-}24h}$ höher bei Frauen). *(Tanaka 1999)* Eine prinzipielle Abhängigkeit der Cytochrom P450 2C9 - Aktivität vom Geschlecht ist jedoch nicht beschrieben.

Vergleichbare klinische Daten für Torasemid liegen derzeit nicht vor. Lediglich im Rahmen einer tierexperimentellen Studie von Kling et al. 1991 wurde eine ähnliche Tendenz beschrieben. Dabei zeigten sich Daten, die auf eine gesteigerte lumino – tubuläre Reabsorption von Torasemid bei gleicher tubulärer Sekretion von weiblichen im Vergleich zu männlichen Ratten hinwiesen. Für die Entfaltung der vollen Wirkung benötigten die weiblichen Ratten im Mittel lediglich 0.42 mg/kg entgegen 1.87 mg/kg bei den Männchen.

Das Fehlen von klinischen Daten zu diesem Sachverhalt ist typisch für die jahrelange Unterrepräsentation von Frauen in klinischen Studien. Als Gründe hierfür werden diverse Risiken für Frauen im gebärfähigen Alter, sowie schwankende Hormonspiegel und damit nicht auszuschließende Variabilität der Interaktionen angeführt. Ebenso besteht eine gewisse Zurückhaltung bei der Rekrutierung von Frauen als Probanden im Zusammenhang mit Komplikationen unter Thalidomid und Diethylstilbestrol. *(Thürmann 2005; Knauf, Mutschler 1998)* Demgegenüber steht eine bekannte Häufung von Nebenwirkungen insbesondere bei Frauen. Neueste Daten des Pharmakovigilanz-Projektes des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) protokollieren beispielsweise 56 Fälle von unerwünschten Nebenwirkungen. 42 dieser Ereignisse wurden bei Frauen verzeichnet. (*Prof. P. Thürmann, Wuppertal, pers. Mitteilg.)*

Letztlich steht damit die Frage nach einer geschlechtsdifferenten Torasemid-Dosierung im Raum. Auf Basis dieses Wissens und der internationalen Studiensituation ist es sinnvoll und notwendig die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in einer weiterführenden und vor allem hinsichtlich der Probandenzahl umfangreicheren Studie zu verifizieren, welche aktuell in unserer Einrichtung durchgeführt wird.

### *4.2.3. $AUC_{0-24h}$ vs. CYP2C9 – und OATP1B1 – Genotyp*

Mehrfach wurde eine Abhängigkeit der Aktivität des Enzyms CYP2C9 vom Genotyp geschildert. *(Vormfelde et al. 2004, Vormfelde et al. in press)* Daher wurde in der vorliegenden Arbeit eine Aufschlüsselung nach CYP2C9 – Subgruppen vorgenommen. Betrachtet man sich die Verteilung der Genotypen innerhalb der 24 Probanden *(Tab.5)* so entspricht dies annähernd den schon beschriebenen bekannten Häufigkeiten in der Gesamtpopulation (*Kirchheiner, Brockmöller 2005*).

Erwartungsgemäß konnte in der vorliegenden Arbeit ein Einfluss der Allelvariationen dokumentiert werden. So wiesen Träger des *3 Genotyps eine im Mittel um 46% höhere $AUC_{0-24h}$ auf als Wildtypträger ($p = 0.03$).

Dies korreliert mit der aktuellen Arbeit von *Vormfelde et al. (in press),* in welcher der Einfluss der verschiedenen Subfamilien des Cytochrom 2C9 auf den Metabolismus von Torasemid untersucht wurde. Hier fand sich lediglich ein Einfluss der *3 – Mutation auf die Aktivität des Enzyms und damit auf die Höhe der Plasmakonzentration. 2006 zeigte Vormfelde auf, dass die orale Clearance von Torasemid linear mit dem Vorliegen von CYP2C9 *3 Allelen assoziiert ist (*1/*3 > *2/*3 > *3/*3). *(Vormfelde et al. 2006)* Auffällig stellte sich damals außerdem dar, dass innerhalb der Probanden mit Genotyp *1 und *2 eine sehr hohe Variabilität der extrarenalen Clearance vorhanden war. Als mögliche Begründung kann eine eventuelle genetische Variation in Transportproteinen, welche die tubuläre Sekretion vermitteln (OAT1 und 3) angeführt werden. *(Vormfelde et al. 2004)*

2006 beschreibt *Vormfelde et al.* die Rolle des renalen Organic anionic transporters (OAT4) im Zusammenhang mit der Variabilität der Pharmakokinetik von Torasemid. Auch für andere Medikamente wie dem Schleifendiuretikum Furosemid ist eine Abhängigkeit der Aktivität von der Funktionalität des Organic anionic transporter Systems bekannt. Innerhalb einer tierexperimentellen Studie wurde dabei insbesondere auf einen geschlechtsabhängigen Unterschied in der Ausprägung der AUC hingewiesen. *(Cerrutti et al. 2002)*

Interessanterweise wurde in der aktuell vorliegenden Studie noch ein weiterer beeinflussender Faktor gefunden. Statistisch ergab sich ein Zusammenhang zwischen der $AUC_{0\text{-}24h}$ und dem Vorliegen der Allelvariationen TT und TC eines speziellen hepatischen transmembranalen Transportproteins (OATP1B1). So betrug die AUC bei Trägern der TT – Mutation 41.6 ± 17.1 vs. 63.0 ± 34.0 µg*h/l*kg bei TC-Allelträgern ($p = 0.03$). In der durchgeführten Kovarianzanalyse zeigten sich zusammenfassend der CYP2C9 - Genotyp ($p = 0.002$) und der OATP1B1 – Genotyp ($p < 0.0001$) als prädiktionierende unabhängige Variable der $AUC_{0\text{-}24h}$ ($R^2 = 0.85$).

Dieser Zusammenhang wurde in der Literatur bisher nicht dokumentiert. Er ist Gegenstand der bereits erwähnten weiterführenden Studie.

## *4.3 TORASEMID UNTER KOMEDIKATION MIT LOSARTAN UND IRBESARTAN*

Die AT1-Blocker als Substanzklasse wurden bisher mit geringem Nebenwirkungsprofil und ausgesprochen niedrigem Interaktionspotential beschrieben. Nach der Veröffentlichung von Taavitsainen et al. lies sich vermuten, dass insbesondere die AT1-Blocker Losartan und Irbesartan ein hohes Potential für Interaktionen mit weiteren Cytochrom P450 2C9 Substraten aufweisen. Beide Substanzen haben eine hohe Affinität zu den jeweiligen Bindungsstellen des Enzymkomplexes und verursachen damit am ehesten eine relevante Inhibition der Enzymaktivität. *(Taavitsainen et al. 2000)*

### *4.3.1. Torasemid – Irbesartan*

Noch 1997 beschrieben Brunner et al. Irbesartan als einen AT1 – Blocker ohne bekannte Interaktionen. Zum jetzigen Zeitpunkt ist lediglich eine zwar signifikante aber klinisch nicht relevante Interaktion mit Fluconazol bekannt. *(Marino, Vachharanjani 2001)*

Im Falle der Komedikation von Torasemid und Irbesartan kam es allerdings zu einem signifikanten Anstieg der $AUC_{0\text{-}24h}$ von Torasemid im Mittel um 14%. Im Einzellfall konnte dieser Anstieg jedoch bis zu 45% des Ausgangswertes betragen. Begleitet wurde diese Beobachtung von einer signifikanten Zunahme der Eliminationshalbwertszeit und einer Abnahme der oralen Clearance. Diese Ergebnisse waren durchaus vereinbar mit den vorherigen Schilderungen der moderaten inhibitorischen Aktivität von Irbesartan basierend auf Untersuchungen an menschlichen hepatischen Mikrosomen. *(Taavitsainen et al. 2000)*

Im Falle der aktuell untersuchten Torasemid – Irbesartan Interaktion zeigte sich keine vom Genotyp abhängige AUC – Entwicklung. Der Einfluss des Geschlechts war ebenfalls lediglich marginal (19% vs. 11%; Frauen vs. Männer). Im gleichen Bereich befanden sich die AUC – Anstiege in Abhängigkeit der vorliegenden OATP-Genotypen. Hier konnte bei OATP – TT ein Anstieg von 10% im Vergleich zu 20% bei

OATP – TC gefunden werden. In beiden Fällen wurde das Signifikanzniveau jedoch nicht erreicht. Bei einer zumindest nominal nachgewiesenen geringradigen Abhängigkeit der AUC-Entwicklung unter Komedikation mit Irbesartan vom OATP1B1 – Genotyp muss anscheinend nicht nur über einen Einfluss auf die Disposition für Torasemid sondern auch über die Rolle bei Interaktionen nachgedacht werden. Für allgemeingültige Aussagen ist das Studienkollektiv jedoch zu begrenzt. Trotz der signifikanten Unterschiede in den Plasmakonzentrationszeitverläufen blieb eine klinische Relevanz dieser Interaktionen im Einzelnen fraglich. Anders als zum Beispiel im Falle der bekannten Interaktion auf Basis des Cytochrom P450 2D6 zwischen Metoprolol und Amiodaron lagen nach aktuellem Kenntnisstand keine Fallbeispiele von klinisch relevanten Nebenwirkungen unter einer Komedikation von Torasemid und Irbesartan vor, wie zum Beispiel exzessive Hypotension, Übelkeit, Erbrechen, Hautausschläge, Muskelkrämpfe sowie ein Ansteigen der Harnsäure – und Creatininwerte. Bei der angeführten Komedikation zwischen Metoprolol und Amiodaron waren wiederholt Fälle ausgeprägter Hypotensionen sowie Bradykardie-Ereignisse nach Gabe einer Loading-dose Amiodaron bei Patienten mit einer bestehenden Dauermedikation mit Metoprolol beobachtet worden. *(Leor et al. 1988)*
Im Einzelnen war innerhalb einer Studie 2004 ein Plasmaspiegelanstieg des Metoprolol von bis zu 200% gefunden geworden. *(Werner et al. 2004)* Ebenfalls auffällig war in der genannten Studie die Abhängigkeit der Ausprägung des Effektes vom vorliegenden CYP2D6 Genotyp.

### *4.3.2. Torasemid – Losartan*

Unter den angewandten Einschlusskriterien und Dosierungen kam es unter der Applikation von Losartan im Standarddosisbereich von 100 mg zu keinen signifikanten Veränderungen innerhalb der pharmakokinetischen Parameter von Torasemid. Aufgrund der vorliegenden Daten in der Literatur und nach dem ersten Teil der Studie war unter der Komedikation mit Losartan ein Effekt erwartet worden. Die Auswirkungen von Losartan auf den Metabolismus von Torasemid waren nur marginal. Die Veränderungen z.B. der $AUC_{0\text{-}24h}$ erreichten in keinem Fall das Signifikanzniveau. Eine klinisch relevante Interaktion zwischen Torasemid und Losartan auf der Ebene des CYP2C9 war nicht nachweisbar. Eine Kombinationstherapie beider Substanzen ist

hinsichtlich der Pharmakokinetik bedenkenlos möglich. Gleiche Ergebnisse gab es unter anderem bei einer Komedikation von Losartan und Warfarin. Auch hier konnte eine klinisch relevante Interaktion ausgeschlossen werden. *(Kong et al. 1995)*

In früheren Studien kommt es allerdings unter Kombination von Losartan und z.B. Phenytoin zu einer signifikanten Veränderung in der Pharmakokinetik von Losartan. So kann ein Anstieg der $AUC_{0\text{-}24h}$ um 29% von Losartan (*1 / *1 Träger) und 63% von EXP3174 verzeichnet werden. *(Fischer et al. 2002)* Die vorliegende Studie war jedoch in ihrer Struktur nicht darauf ausgerichtet einen ähnlichen Effekt auf Losartan unter Torasemid nachzuweisen.

## *4.4. DISKUSSION DER METHODE*

Betrachtet man die überraschenden Ergebnisse der Geschlechtsabhängigkeit und des Einflusses des OATP1B1 – Polymorphismus auf die Torasemid - Pharmakokinetik, so muss man als Einschränkung natürlich die beschränkte Patientenanzahl realisieren. Die hier gefundenen Zusammenhänge zwischen Höhe der Plasmakonzentration und dem Geschlecht sowie dem genetischem Polymorphismus des OATP1B1 müssen nachfolgend anhand einer größeren Probandenanzahl verifiziert werden. Dies ist, wie schon erwähnt Gegenstand einer weiteren Studie.

Des Weiteren kann die vorliegende Studie keine Aussage über einen Einfluss von Torasemid auf den Metabolismus von Losartan oder Irbesartan machen.

Fraglich ist ebenfalls, ob bei Verwendung der Standarddosierungen eine effektiv hemmende Plasmakonzentration erreicht wird. Die gemessenen maximalen Plasmakonzentrationen betrugen 21.4 µM Irbesartan und 3.2 µM Losartan. Bei relativ hoher Plasmaprotein – Bindungskapazität der AT 1 – Blocker liegt nur ein geringer Anteil der Wirkstoffe in freier Form im Plasma vor (Losartan – 1.3%, EXP3174 – 0.2%, Irbesartan – 10%). Daraus folgend kann nur ein geringer Anteil die Leberzellmembran penetrieren. Ob in höheren Dosisbereichen eventuell eine stärkere Hemmung der CYP2C9 Aktivität und damit eine Interaktion mit klinischer Relevanz erfolgt, muss noch untersucht werden.

# 5. ZUSAMMENFASSUNG

## HINTERGRUND UND ZIELSETZUNG

Ziel der Arbeit war die Überprüfung einer möglichen Interaktion auf pharmakokinetischer Ebene zwischen dem Schleifendiuretikum Torasemid und den beiden AT1 – Blockern Irbesartan und Losartan. Aufgrund der synergistischen Wirkungen in der Therapie der arteriellen Hypertonie und chronischen Herzinsuffizienz werden diese Medikamente in der täglichen Praxis häufig kombiniert. Bei Nutzung des gleichen Metabolisierungsweges über das Cytochrom P450 2C9 stellte sich, bei vergleichsweise hoher Affinität der beiden Sartane zu diesem Enzym die Frage nach einer klinisch relevanten Interaktion. Die Aufdeckung einer eventuell existenten Interaktion ist in einer zunehmend durch Kombinationsmedikation bestimmten Therapie von großer Wichtigkeit. Erst durch dieses Wissen können unerwünschte Nebenwirkungen und Therapieversagen vermieden werden. Des Weiteren war von Interesse inwieweit eine Abhängigkeit der Pharmakokinetik von Torasemid allein - und der Interaktionskinetik von verschiedenen Faktoren, wie Geschlecht, CYP2C9 – Aktivität und Genotyp des hepatischen transmembranalen Transportproteins OATP1B1 besteht.

## METHODEN

Wir führten eine prospektive Studie mit 2 Studiengruppen bestehend aus jeweils 12 Patienten durch. Haupteinschlusskriterium war das Vorhandensein einer Dauermedikation von 10 mg Torasemid und der Indikation zur zusätzlichen Gabe eines AT1- Rezeptor Blockers. Nach Erfassung der pharmakokinetischen Basisparameter von Torasemid über einen Zeitraum von 24 Stunden (8 Entnahmen von jeweils 7,5 ml peripher-venösen Blutes in EDTA - Monovetten) erfolgte die Aufsättigung im Standarddosisbereich mit Irbesartan (Studiengruppe I – 150 mg) bzw. Losartan (Studiengruppe II – 100 mg). Danach erfolgte die erneute Bestimmung der pharmakokinetischen Parameter von Torasemid und dem jeweiligen Angiotensin II – Rezeptor – Antagonisten im steady-state nach dem vorher geschilderten Prinzip und der Ermittlung der Plasmakonzentrations-Zeit-Profile. Die Quantifizierung der Substrate erfolge per LC/MS. Die Genotypisierung für CYP2C9 und OATP1B1 erfolgte nach PCR durch vorgefertigter TaqMan Tests (Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland) unter Nutzung eines ABI Prism Sequenz Detektors.

***ERGEBNISSE***

Die Pharmakokinetik von Torasemid zeigte sich abhängig vom Geschlecht. Die $AUC_{0\text{-}24h}$ war bei Frauen im Mittel um 52% erhöht (nach Gewichtskorrektur 71%). Außerdem war eine Abhängigkeit vom vorliegenden Genotyp des OATP1B1 nachweisbar. Die $AUC_{0\text{-}24h}$ war um 38% gesteigert bei Trägern des TC – Allels gegenüber dem TT – Allel. Beide Ergebnisse sind erstmals beschrieben. Bestätigt hat sich die bekannte Abhängigkeit der Pharmakokinetik von Torasemid vom CYP2C9 – Genotyp. Ebenso liegt eine signifikante Abhängigkeit der AUC vom OATP1B1 – Genotyp für Irbesartan und numerisch auch für die Pharmakokinetik von Losartan vor.

Betrachtet man die Interaktionskinetik so ergab sich zwar keine Interaktion zwischen Losartan und Torasemid, jedoch kommt es zwischen Irbesartan und Torasemid zu einer signifikanten Interaktion mit einem durchschnittlichen Anstieg der $AUC_{0\text{-}24}$ um 14% und einem maximalen Anstieg von 45%. Ebenso erfolgten ein signifikanter Anstieg der Eliminationshalbwertzeit und eine Abnahme der oralen Clearance. Eine Abhängigkeit der Interaktion vom Geschlecht oder Genotyp des CYP2C9 konnte nicht beobachtet werden. Lediglich nominal wird die Ausprägung der Interaktionen durch den vorliegenden Genotyp des OATP1B1 beeinflusst.

***SCHLUSSFOLGERUNG***

In Bezug auf die initiale Zielsetzung der Arbeit konnte eine klinisch relevante Interaktion für die Kombinationstherapie Torasemid und Losartan ausgeschlossen werden. Im Vergleich dazu konnte unter der Komedikation von Torasemid und Irbesartan ein signifikanter Anstieg der Plasmakonzentration von Torasemid nachgewiesen werden. Im Einzelfall kam es zu einem Anstieg um 45% (im Mittel um 13%). In diesem Zusammenhang fielen jedoch keinerlei klinisch relevanten Nebenwirkungen wie Hypotension, Übelkeit oder ein Anstieg der Retentionsparameter auf. Eine Empfehlung zur generellen Dosisreduktion bei einer kombinierten Gabe von Torasemid und Irbesartan kann anhand der vorliegenden Studie aufgrund der kleinen Fallzahl nicht gegeben werden.

Als interessantes Nebenergebnis fiel jedoch eine signifikante Geschlechts - und eine OATP1B1 – Genotyp – Abhängigkeit der Torasemid Pharmakokinetik auf, welche so weltweit noch nicht beschrieben ist und welche in einer folgenden Studie mit größerer Patientenzahl weiter verifiziert wird. *(siehe auch Anlage IV – Thesen)*

# *6. ANLAGEN*

**Anlage I - Patientenaufklärung**

**Anlage II - Studienprotokoll**

**Anlage III - Analytische Bedingungen zur Quantifizierung der verschiedenen Arzneistoffe**

**Anlage IV - Thesen**

Klinik für Kardiologie
Zentrum für Innere Medizin
Chefarzt: Priv.-Doz. Dr. med. habil. B. Graf
HELIOS-Kliniken Schwerin
Wismarsche Straße 393 19055 Schwerin

# Information über die „Pharmakokinetische Interaktionsstudie Torasemid und Irbesartan / Losartan“

Patientenname:
Geburtsdatum:

Ihre behandelnden Ärzte haben Ihnen – unabhängig von dieser Studie - vorgeschlagen, Sie zusätzlich zu Torasemid (Unat®) auf einen AT 1 – Blocker einzustellen. Diese Arzneimittelkombination wird zur Behandlung des hohen Blutdrucks (arterielle Hypertonie) und / oder der Herzschwäche (Herzinsuffizienz) eingesetzt. Der klinische Nutzen dieser Kombinationstherapie ist durch große Studien gut belegt. Diese Arzneimittelkombination wird von den entsprechenden Fachgesellschaften für die beiden oben genannten Indikationen empfohlen.

Die die Wasserausscheidung fördernde Substanz Torasemid wird genau wie zwei Substanzen aus der Klasse der AT 1 – Blocker (Losartan und Irbesartan) über das Leberenzym Cytochrom P 450 CYP 2C9 abgebaut. Bisher nicht untersucht ist, ob die Kombination von Torasemid mit Losartan (Lorzaar®) oder Irbesartan (Karvea®) zu einer Hemmung des Torasemidabbaus führt und somit die Wirkung des Torasemids verstärkt.

Ob eine solche wirkungsverstärkende Interaktion zwischen Torasemid und den beiden oben genannten AT 1 – Blockern vorliegt, möchten wir in dieser Studie untersuchen.

Im Rahmen der geplanten Untersuchung möchten wir Sie fragen, ob wir vor und am Ende der Einstellung auf Irbesartan oder Losartan bei Ihnen jeweils innerhalb von 24 Stunden je 8 Röhrchen Blut a 10 ml abnehmen dürfen. Gleichzeitig möchten wir mit einer weiteren Blutprobe die Abbaukapazität Ihres Körpers (genetische Untersuchung des entsprechenden Cytochroms) für Torasemid untersuchen. Das Ergebnis dieser Untersuchung können Sie selbstverständlich erfahren.

❒ Nach reiflicher Überlegung erkläre ich mich freiwillig zur Teilnahme an der bereit. Ich habe die Patientenaufklärung gelesen, meine Fragen wurden mir verständlich und vollständig beantwortet. Bei weiteren Fragen kann ich mich jederzeit an den Prüfarzt (Herrn PD Dr. Werner, Tel.: 0385-5202519) wenden. Ich weiß, dass ich jederzeit, auch ohne Angabe von Gründen, diese Einverständniserklärung zurückziehen kann.

Datenschutz

Ich bin damit einverstanden, dass im Rahmen der Studie meine Daten einschließlich der Daten über Geschlecht, Alter, Gewicht und Körpergröße aufgezeichnet und ausschließlich anonymisiert (d.h. ohne Namensnennung) ausgewertet werden.

Datum:.....

Ärztin/Arzt:.....Proband:.....

**Anlage I: Patientenaufklärung**

Klinik für Kardiologie
Zentrum für Innere Medizin
Chefarzt: Priv.-Doz. Dr. med. habil. B. Graf
HELIOS-Kliniken Schwerin
Wismarsche Straße 393 19055 Schwerin

# Studienprotokoll der

## „Pharmakokinetische Interaktionsstudie Torasemid und Irbesartan / Losartan“

Studiennummer:

Patientenname:

Geb.-Datum:

Gewicht:

Alter:

Torasemiddosis:

Verabreichter AT 1 – Blocker:

**Diagnosen:**

| |
|---|
| 1. |
| 2. |
| 3. |
| 4. |
| 5. |

**Komedikation:**

| |
|---|
| 1. |
| 2. |
| 3. |
| 4. |
| 5. |

Kreatinin:

Bilirubin:

Besonderheiten des Studienablaufes:

**Zeitpunkt der Abnahme der CYP 2 C 9- Genotypisierung:**

**Torasemidkinetik vor Gabe von Irbesartan / Losartan**

| Zeitl.Abstand (h) | Wahre Uhrzeit | Besonderheiten |
|---|---|---|
| 0 | | |
| 0,5 | | |
| 1 | | |
| 2 | | |
| 4 | | |
| 8 | | |
| 12 | | |
| 24 | | |

**Torasemidkinetik nach Gabe von Irbesartan / Losartan**

| Zeitl.Abstand (h) | Wahre Uhrzeit | Besonderheiten |
|---|---|---|
| 0 | | |
| 0,5 | | |
| 1 | | |
| 2 | | |
| 4 | | |
| 8 | | |
| 12 | | |
| 24 | | |

**Zeitpunkt des Probenversandes zur Analytik:**

**Anlage II: Studienprotokoll**

| | *Torasemid* | *Irbesartan* | *Losartan* | *EXP3174* |
|---|---|---|---|---|
| *Interner Standard Extraktion* | Clopamid fest-flüssig (SPE, Methanol) | Valsartan flüssig-flüssig (Hexan/Diethylether: 50/50: v/v) | Irbesartan flüssig-flüssig (Methyltert-butylether) | Irbesartan |
| *HPLC* | | | | |
| Mobile Phase | Acetonitrile/2% Essig-säure: 90/10: v/v) | Methanol/0.2% Essig- säure: 90/10: v/v) | Acetonitrile/0,2%Ameisen-säure: 55/45: v/v) | |
| Trennsäule | 8/3 Nucleosil 300-5 $C_4$ | CC8/3 Nucleosil 300-5 $C_4$ | ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6*150mm, 5µm | |
| Flußrate (ml/min) | 0.3 | 0.3 | 0.2 | |
| Massenspektrometer | Finnigan MAT LCQ ESI ion trap mass spectrometer; Positive scan mode-selected reaction monitoring | API4000 (Applied Biosystems); Multiple reaction monitoring-negative ion mode | API4000 (Applied Biosystems); Multiple reaction monitoring-positive ion mode | |
| Parameter | Parent mass: 349.4 (346.2), Daughter mass: 264.1 (250.0), CE: 20, Isolationwidth: 1, Sheath gas: 45, Auxillary gas: 0, Spray voltage (kV): 5, Capillary temperature: 180°C, Capillary voltage: 11, Tube lens offset: 55 | Q1: 427.1 (434.2), Q3: 193.0 (179.1), Dwell time (ms): 200, DP: -90, EP: -10, CE: -34, CXY: -13 (-11), Collision gas: 7, Curtain gas: 15, GS1; 60, GS2: 50, Ion spray voltage: -4500, Temperature: 600°C, Interface heater: On | Q1: 423.1; 437.2 (429.0), Q3: 205.2; 207.1 (207.1), Dwell time (ms): 250 DP: 51; 61 (71), EP: 10, CE: 77; 31(35), CXP: 30; 18 (14), Collision gas: 4; 5 (4), Curtain gas:10, GS1: 50, GS2: 70; 60 (70), Ion spray voltage: 5000, Temperature: 600°C, Interface heater: On | |
| Eichkurve | | | | |
| Range (µg/l) | 25–5000 | 50–3000 | 1–1000 | 1–1000 |
| r | ≥ 0.9956 | ≥ 0.9986 | ≥ 0.9996 | ≥ 0.9994 |
| Koeffizient der Variation (%, intraday/ between-day) | | | | |
| LLOQ | 9.3 / 10.7 | 9.1 / -8.0 | 10.5 / 8.5 | 13.8 / 2,7 |
| ULOQ | 7.2 / 3.3 | 7.4 / 2.9 | 3.2 /4.0 | 4.0 / 2.7 |

**Anlage III: Analytische Bedingungen für die Quantifizierung der verschiedenen Arzneistoffe**

LLOQ, lower limit of quantification; ULOQ, upper limit of quantification; Q, Quadrupol; DP,Declustering potential; EP, Entrance potential; CE, Collision energy; CXP, Collision cell exit potential; GS1, Nebulizer gas; GS2, Turbo gas.

## Anlage IV – Thesen

Hintergründe

- Die Substanzklassen der AT1 – Rezeptorblocker und Schleifendiuretika sind augrund ihrer synergistischen Wirkung und überzeugenden Ergebnissen in vielen klinischen Studien Bestandteil der aktuellen Leitlinien zur Therapie der arteriellen Hypertonie und chronischen Herzinsuffizienz. Im klinischen Alltag kommt es daher gehäuft zu einer Kombination beider Stoffgruppen.
- Das Schleifendiuretikum Torasemid und die beiden Angiotensin II – Rezeptorantagonisten Losartan und Irbesartan werden gleichermaßen über das Cytochrom P450 2C9 Enzym metabolisiert.
- Losartan und Irbesartan weisen eine hohe Affinität zu den Bindungsstellen des CYP2C9 – Enzyms und können damit eine relevante Inhibition der Enzymaktivität verursachen.

Fragestellung

- Liegen aufgrund des gemeinsamen Metabolisierungsweges klinisch relevante pharmakokinetische Interaktionen bei Kombinationen von Torasemid und Irbesartan oder Torasemid und Losartan vor?
- Unterliegen die Interaktionen einer Abhängigkeit von Geschlecht, Genotyp des CYP2C9 oder Genotyp des transmembranalen Transportproteins OATP1B1?
- Inwieweit bestehen Abhängigkeiten der Basispharmakokinetik der einzelnen Substanzen von Faktoren wie Geschlecht und Genotyp des CYP2C9 und OATP1B1?

Methodik

- Die Untersuchung war angelegt als prospektive klinische Studie mit 2 Studiengruppen zu je 12 Patienten.
- Bei Vorhandensein einer Indikation für AT1-Blocker und bestehender Dauermedikation mit 10 mg Torasemid oral erfolgte die Ermittlung der pharmakokinetischen Basisparameter und nach Aufsättigung mit Irbesartan oder Losartan die Erfassung der Plasmakonzentrations-Zeit-Profile.

- Die Substratquantifizierung wurde per Liquid - Chromatographie/ Massenspektrometrie, die Genotypisierung über PCR per TaqMan Test unter Nutzung eines ABI Prism Sequenz Detektor durchgeführt.

Ergebnisse

- Zwischen Irbesartan und Torasemid besteht eine statistisch signifikante Interaktion. Es kam unter einer Komedikation zu einem Anstieg der Area under concentration time curve ($AUC_{0\text{-}24h}$) von Torasemid im Mittel um 14% ($p = 0.002$), im Einzelfall sogar bis zu 45%. Dabei konnte keine Abhängigkeit des Anstiegs vom Genotyp des CYP2C9 festgestellt werden. Allerdings kam es bei dem OATP1B1 Genotyp TC zu einem doppelt so hohen AUC – Anstieg wie bei Trägern des TT-Allels. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.
- Zwischen Losartan und Torasemid bestehen bei Einsatz von Standarddosierungen keine pharmakokinetischen Interaktionen.
- Die bekannten pharmakokinetischen Basisparameter von Torasemid wurden mit den vorliegenden Daten bestätigt. Allerdings zeigte sich eine bisher noch nicht beschriebene Abhängigkeit der $AUC_{0\text{-}24h}$, der Eliminationshalbwertszeit und der oralen Clearance vom Geschlecht und dem OATP1B1-Genotyp der Probanden. So liegt bei Frauen die $AUC_{0\text{-}24h}$ im Mittel um 52% höher ($p = 0.008$). Bei Trägern des TC-Allels steigert sich die $AUC_{0\text{-}24h}$ um 38% ($p = 0.03$).

Schlussfolgerungen

- Eine klinisch relevante Interaktion konnte für die Kombinationsmedikation Torasemid – Losartan ausgeschlossen werden.
- Die nachgewiesene Interaktion zwischen Torasemid und Irbesartan ist moderat aber signifikant. Dies ist auch insofern von allgemeinem Interesse, da bisher keine Interaktionen mit Torasemid auf der CYP2C9 – Ebene bekannt sind. Eine allgemeingültige Empfehlung zur Dosisanpassung von Torasemid kann jedoch aufgrund des kleinen Studienumfanges nicht gegeben werden
- Die Abhängigkeit der pharmakokinetischen Parameter von Torasemid von Geschlecht und Genotyp des OATP1B1 ist bisher nicht beschrieben. Diese Ergebnisse und die klinische Relevanz selbiger werden in einer weiterführenden Studie derzeit verifiziert.

# *7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS*

| | |
|---|---|
| µl | Mikroliter |
| µM | Mikromol |
| Å | Ångström |
| Abb. | Abbildung |
| ACE | Angiotensin Converting Enzym |
| AT - 1 Blocker | Angiotensin - Rezeptor 1 Antagonisten |
| AT - 1 Rezeptor | Angiotensin - Rezeptor 1 |
| AT - 2 Rezeptor | Angiotensin - Rezeptor 2 |
| AT II | Angiotensin II |
| AUC | Area Under Concentration |
| B.m. corr. | Body mass corrected |
| Blutentn. | Blutentnahme |
| BMI | Body Mass Index |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | circa |
| CAGE | chymostatin sensitive angiotensin generating enzyme |
| CC | OATP1B1 - Genotyp |
| $Cl_{(oral)}$ | orale Clearance |
| $c_{max}$ | Maximal Plasmakonzentration |
| CoMed. | Zusätzliche Medikation |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| EDRF – NO | Endothelium derived Relaxing Factor |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |
| EF | Ejektionsfraktion |
| h | Stunden |
| $H^+$ | Wasserstoff |
| $H_2O$ | Wasser |
| HCT | Hydrochlorothiazid |
| HMG-CoA | 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A |
| HWZ | Halbwertzeit |
| kDa | Kilo Dalton |

| | |
|---|---|
| kg | Kilogramm |
| $K_i$ | substratspezifische $K_m$ |
| $K_m$ | Michaelis Konstante |
| l | Liter |
| LC/MS | liquid-chromatographie / mass-spectrometrie |
| mg | Milligramm |
| min | Minute |
| ml | Milliliter |
| mmHg | Millimeter Quecksilbersäule |
| n.s. | nicht signifikant |
| $NADP^+$ | Nicotinamidadenindinukleotidphosphat |
| NADPH | Nicotinamidadenindinukleotidphosphat an $H^+$ geb. |
| ng | Nanogramm |
| NYHA | New York Heart Association |
| $O_2$ | Sauerstoff |
| OATP | organisches Anionen – Transport – Polypeptid |
| p | Signifikantsniveau |
| PCR | Polymerasekettenreaktion |
| Pharm.kin. | Pharmakokinetik |
| pKa | Gleichgewichtskonstante einer Säure |
| SG | Studiengruppe |
| Sign. | Signifikanz |
| $t_{1/2}$ | Halbwertszeit |
| $t_{max}$ | Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration |
| t – PA | tissue Plasminogenaktivator |
| Tab. | Tabelle |
| TC | OATP1B1 - Genotyp |
| TMP | Treatment periode |
| TT | OATP1B1 - Genotyp |
| $V_{max}$ | maximale Reaktionsgeschwindigkeit |
| $V_z$ | Verteilungsvolumen |
| vs. | versus |
| X | Substrat |
| z.B. | zum Beispiel |

# *8. ABBILDUNGS – UND TABELLENVERZEICHNIS*


***Abb. 1:*** Möglichkeiten der Kombination von antihypertensiven Medikamenten - Seite 08

***Abb. 2:*** Medikamentöse Stufentherapie bei systolischer linksventrikulärer Dysfunktion (EF<40%) - Seite 09

***Abb. 3:*** Bildung von Angiotensin II durch alternative Enzymsysteme - Seite 10

***Abb. 4:*** Pharmakologischer Ansatz von Irbesartan/Losartan - Seite 12

***Abb. 5:*** Beispiele für Substrate des Cytochrom P450 2C9 - Seite 15

***Abb. 6:*** Allelvariationen des CYP2C9 und ihre spezifischen Charakteristika - Seite 16

***Abb. 7:*** Prozentuale Clearancereduktion in Abhängigkeit vom CYP2C9-Genotyp - Seite 17

***Abb. 8:*** Nomenklatur des OATP1B1 - Seite 19

***Abb. 9:*** Mittlere Plasmakonzentration von 10 mg Torasemid über 24 Std. bei Patienten mit stabiler Dauermedikation; Abhängigkeit vom Geschlecht - Seite 44

***Abb. 10:*** Area under concentration – time Kurve 0-24h ($AUC_{0-24h}$) von Torasemid in Abhängigkeit des CYP2C9 Genotypes - Seite 46

***Abb. 11:*** AUC über 24 Std. ($AUC_{0-24h}$) von Torasemid in Abhängigkeit vom Genotyp - Seite 46

***Abb. 12:*** $AUC_{0-24h}$ von Torasemid in Abhängigkeit des OATP1B1 – Genotyps - Seite 49

***Abb. 13:*** $\Delta$ $AUC_{0-24h}$ Torasemid – Losartan; Torasemid – Irbesartan - Seite 58


---


***Tab. 1:*** Studienablauf - Studiengruppe I - Seite 33

***Tab. 2:*** Studienablauf der Studiengruppe II - Seite 34

***Tab. 3:*** Pharmakokinetische Basisparameter von Torasemid - Seite 42

***Tab. 4:*** Pharmakokinetische Basisparameter Torasemid (10mg oral) in Abhängigkeit vom Geschlecht - Seite 43

***Tab. 5:*** Verteilung der CYP2C9-Genotypen innerhalb der Studiengruppen - Seite 45

***Tab. 6:*** Verteilung der CYP2C9-Genotypen geschlechtsabhängig (Gesamtstudienpopulation) - Seite 45

***Tab. 7:*** $AUC_{0-24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen (Gesamtstudienpopulation) - Seite 46

***Tab. 8:*** $AUC_{0-24h}$ in Abhängigkeit von Geschlecht und CYP2C9 Genotyp - Seite 47

***Tab. 9:*** Verteilung der OATP1B1-Genotypen geschlechtsabhängig - Seite 48

***Tab. 10:*** Verteilung der OATP1B1-Genotypen innerhalb der Studiengruppen - Seite 48

***Tab. 11:*** $AUC_{0-24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1-Genotypen (Gesamtstudienpopulation) - Seite 48

***Tab. 12:*** Pharmakokinetische Basisparameter von Irbesartan - Seite 50

***Tab. 13:*** Irbesartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit des Geschlechts *(SG I)* - Seite 50
***Tab. 14:*** Irbesartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen *(SG I)* - Seite 51
***Tab. 15:*** Irbesartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1-Genotypen *(SG I)* - Seite 51
***Tab. 16:*** Pharmakokinetische Basisparameter von Losartan und seinem Metaboliten EXP3174 - Seite 52
***Tab. 17:*** E3174 und Losartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der Geschlechter *(SG II)* - Seite 52
***Tab. 18:*** Losartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen *(SG II)* - Seite 53
***Tab. 19:*** EXP3174 - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der CYP2C9-Genotypen *(SG II)* - Seite 53
***Tab. 20:*** Losartan - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1 -Genotypen *(SG II)* - Seite 54
***Tab. 21:*** E3174 - AUC $_{0-24}$ in Abhängigkeit der OATP1B1 -Genotypen *(SG II)* - Seite 54
***Tab. 22:*** Veränderung der AUC von Torasemid unter Komedikation mit Irbesartan - Seite 55
***Tab. 23:*** Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Geschlechtes - Seite 56
***Tab. 24:*** Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Genotyps von CYP2C9 - Seite 57
***Tab. 25:*** Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Genotypes von OATP1B1 - Seite 57
***Tab. 26:*** Veränderung der AUC von Torasemid unter Komedikation mit Losartan - Seite 59
***Tab. 27:*** Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des Geschlechtes - Seite 60
***Tab. 28:*** Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des CYP2C9 – Genotyps - Seite 60
***Tab. 29:*** Veränderung der AUC von Torasemid in Abhängigkeit des OATP1B1 - Genotyps - Seite 60
***Tab. 30:*** Knauf, Mutschler 1998 – entnommene Werte von Studien mit gleicher Torasemid Dosierung - Seite 62

# *9. LITERATURVERZEICHNIS*


1. ***Asmar*** R. Erzielung einer effektiven Blutdruckkontrolle durch Angiotensin-II-Antagonisten. Int J Clin Pract ***2006***; 60: 315 – 320.
2. ***Bienert*** A, Brzezinski R, Szalek E et al. Bioequivalence study of two losartan formulatios administered orally in healthy male volunteers. Arzneim. – Forsch./Drug Res. ***2006***; 56: 723 – 728.
3. ***Bobrie*** G, Delonca J, Moulin C et al. A Home blood pressure monitoring study comparing the antihypertensive efficacy of two angiotensin II receptor antagonist fixed combinations. Am J Hypertens ***2005***; 18: 1482 – 1488.
4. ***Bourrie*** M, Meunier V, Berger Y et al. Role of Cytochrome P-4502C9 in Irbesartan oxidation by human liver microsomes. Drug Metabolism and Disposition. ***1999***; 27: 288 – 296.
5. ***Brandolese*** R, Scordo MG, Spina E et al. Severe phenytoin intoxication in a subject homozygous for CYP2C9 *3. Clin Pharmacol Ther. ***2001***; 70: 391 – 994.
6. ***Brunner*** HR. The new angiotensin II receptor antagonist, irbesartan: pharmacokinetic and pharmacodynamic consideration. Am J Hypertens ***1997***; 10:311S – 317S.
7. ***Buist*** SCN, Klaassen CD. Rat and mouse differences in gender-predominant expression of organic anion transporter (OAT 1 – 3; SLC22A6 – 8) mRNA levels. Drug Metabolism and Disposition ***2004***; 32: 620 – 625.
8. ***Cerrutti*** JA, Quaglia NB, Brandoni A et al. Effects of gender on the pharmacokinetics of drugs secreted by the renal organic anions transport systems in the rat. Pharmacol Research ***2002***; 45: 107 - 112.
9. ***Chobanian*** AV, Bakris GL, Black HR, et al. Seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. Hypertension ***2003***; 42: 1206 – 1252.
10. ***Cosin*** J, Diez J. Torasemide in chronic heart failure: results of the TORIC study. Eur J Heart Fail ***2002;*** 4: 507-513.
11. ***Dahlöf*** B. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan intervention for endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. The Lancet ***2002***; 359: 995-1003.

12. ***Dahlöf*** B, Burke TA, Krobot K et al. Population impact of losartan use on stroke in the European Union (EU): projections from the losartan intervention for endpoint reduction in hypertension (LIFE) study. Journal of Human Hypertension adv. online publication ***2004***; doi:10.1038/sj.jhh.1001710.
13. ***Devereux*** RB, Dahlöf B, Gerdts E et al. Regression of hypertensive left ventricular hypertrophy by Losartan compared with atenolol. Circulation ***2004***; 110: 1456 – 1462.
14. ***Dominiak*** P, Unger T. AT1-Rezeptorantagonisten, Angiotensin II. ***1999***; 2. Aufl., Steinkopff Verlag, Darmstadt
15. ***Dominiak*** P, Häuser W. Dosage equivalents of $AT_1$ – receptor antagonists available in germany. Dtsch Med Wochenschr ***2003***; 128: 2315 – 2318.
16. ***Egger*** T. Cytochrome P450 polymorphisms in geriatric patients: impact on adverse drug reactions – a pilot study. Drugs Aging ***2005***; 22: 265 – 272.
17. ***Elliott*** WJ, Meyer PM. Incident diabetes in clinical trials of antihypertensive drugs: a network meta-analysis. Lancet ***2007***; 369: 201 – 207.
18. ***Fachinformation*** Berlin-Chemie Menarini Group Okt. ***2002***, M000204
19. ***Fattinger*** K, Meier – Abt P. Klinische Pharmakologie: Arzneimittelinteraktionen – neben den P450-Cytochromen auch auf Arzneimitteltransporter achten! Schweiz Med Forum ***2004***; 4: 1306 – 1307.
20. ***Ferrara*** N. Torasemide vs. furosemide in patients with congestive heart failure: a double-masked, randomized study. Current Therapeutic Research ***1997***; 58: 291 – 299.
21. ***Fischer*** TL, Pieper JA, Graff DW et al. Evaluation of potential losartan-phenytoin drug interactions in healthy volunteers. Clin Pharmacol Ther ***2002***; 72:238 – 46
22. ***Fliser*** D. Antiinflammatory effects of Angiotensin II subtype 1 receptor blockade in hypertensive patients with microinflammation. Circulation ***2004***;110/9: 1103-1107
23. ***Flockhart*** D. Cytochrome P450 Drug Interaction Table. www.dml.georgtown.edu/depts/pharmacology/davetab.html
24. ***Fortuno*** A. Torasemide inhibits angiotensin II-induced vasoconstriction and intracellular calcium increase in the aorta of spontaneously hypertensive rats. Hypertension ***1999***;34:138-143
25. ***Giudelines Committee***. European Society of Hypertension – European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. J Hypertens ***2003***; 21: 1011-1053.
26. ***Grobecker*** H. Angiotensin – II – Rezeptorantagonisten, Pharmakologie und therapeutische Anwendung. Stuttgart: Wiss.Verl.-Ges. ***1999***

27. ***Grond*** M. Leitlinien der DGS und der DGN zur Schlaganfalltherapie – neue Therapieaspekte. Clin Res Cardiol ***2006***; 95: 41 – 46.
28. ***Grothusen*** C. EXP3174 inhibits collagen-dependent platelet activation via glycoprotein receptor-VI independent of AT1-receptor antagonism: potential impact on atherothrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol ***2007***; 27: 73 – 84.
29. ***Hagenbuch*** B, Meier PJ. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. Pflugers Arch ***2004***; 447: 653 – 665.
30. ***Hallberg*** P, Karlsson J, Kurland L et al. The CYP2C9 genotype predicts the blood pressure response to irbesartan: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA trial).J Hypertens. ***2002***; 20: 2089 – 2093.
31. ***Holstein*** A, Plaschke A, Ptak M et al. Association between CYP2C9 slow metabolizergenotypes and severe hypoglycaemia on medication with sulphonylurea hypoglycaemic agents. Br J Clin Pharmacol ***2005***; 60: 103 – 106.
32. ***Hong*** X, Zhang S, Mao G et al. CYP2C9 *3 allelic variant is associated with metabolism of irbesartan in Chinese population. Eur J Clin Pharmacol ***2005***; 61: 627 – 634.
33. ***Johnson*** DL, Lewis BC, Elliot DJ et al. Electrochemical characterisation of the human cytochrome P450 CYP2C9. Biochemical Pharmacology ***2005***; 69: 1533 – 1541.
34. ***Kato*** Y, Kuge K, Kusuhara H et al. Gender difference in the urinary excretion of organic anions in rats. J Pharmacol Exp Ther ***2002***; 302: 483 – 489.
35. ***Kirchheiner*** J. Arzneitherapieempfehlungen auf pharmakogenetischer Basis. Habilitation ***2004***.
36. ***Kirchheiner*** J, Ufer M, Walter EC et al. Effects of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics of R - and S - phenprocoumon in healthy volunteers. Pharmacogenetics ***2004***; 14: 19 – 26.
37. ***Kirchheiner*** J, Brockmöller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. Clin Pharmacol Ther ***2005***; 77: 1 – 16.
38. ***Kirchheiner*** J, Roots I, Goldammer et al. Effect of genetic polymorphisms in cytochrome P450 (CYP) 2C9 and CYP2C8 on the pharmacokinetics of oral antidiabetic drugs – clinical relevance. Clin Pharmacokinet ***2005***; 44: 1209 – 1225.

39. ***Kirchheiner*** J, Seeringer A, Brockmöller J et al. Stand der Pharmakogenetik in der klinischen Arzneimitteltherapie. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz ***2006***; 10: 995 – 1003.
40. ***Kling*** L, Schaumann W, Kaufmann B et al. Sex difference in saluretic and diuretic activity of torasemide in Spraque-Dawley rats (Abstract). Naunyn – Schmiedeberg`s Arch Pharmacol ***1991***; 844 : R114.
41. ***Knauf*** H, Mutschler E. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of Torasemide. Clin Pharmacokinet ***1998***; 34: 1-34.
42. ***König*** J, Cui Y, Nies AT et al. Localization and genomic organisation of a new hepatocellular organic anion transporting polypeptide. J Biol Chem ***2000***; 275: 23161 – 23168.
43. ***König*** J, Cui Y, Nies AT et al. A novel human organic anion transporting polypeptide localizes to the basolateral hepatocyte memrane. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol ***2000***; 278: G156 – 164.
44. ***König*** J, Seithel A, Gradhand U et al. Pharmacogenomics of human OATP transporters. Naunyn-Schmiedeberg`s Arch Pharmacol ***2006***; 372: 432 – 443.
45. ***Kong*** AN, Tomasko L, Waldman SA et al. Losartan does not affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of Warfarin. J Clin Pharmacol ***1995***; 35: 1008 – 1015.
46. ***Leor*** J, Levastowsky D, Sharon C et al. Amiodarone and ß – adreneric blockers: An interaction with Meteprolol but not with Atenolol. Am Heart J 1988; 116: 206 – 207.
47. ***Luft*** FC. Torasemide in the treatment of arterial hypertension. J cardiovasc Pharmacol. ***1993***; 22: S32 - S39.
48. ***Madrid*** AH, Bueno MG, Rebollo JMG et al. Anwendung von Irbesartan zur Aufrechterhaltung des Sinusrhythmus bei Patienten mit langanhaltendem persistierendem Vorhofflimmern. Circulation ***2002***; 106: 331 – 336.
49. ***Malmqvist*** K, Kahan T, Edner M et al. Regression of left ventricular hypertrophy in human hypertension with irbesartan. J Hypertens ***2001***; 19: 1167 – 1176.
50. ***Marino*** MR, Vachharanjani NN. Drug interaction with irbesartan. Clin Pharmacokinet. ***2001***; 40: 605 – 614.
51. ***Marino*** MR, Langenbacher K, Ford NF et al. Pharmacocinetics and pharmacodynamics of irbesartan in healthy subjects. J Clin Parmacol ***1998***; 38: 246-255.

52. ***McMurray*** JJV, Östergren J, Swedberg K et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left – ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. Lancet ***2003***; 362: 767 – 771.
53. ***McMurray*** JJV, Cohan-Solal A, Dietz R et al. Praktische Empfehlungen zum Einsatz von ACE-Inhibitoren, Beta-blockern, Aldosteronantagonisten und Angiotensin-Rezeptor-Blockern bei Herzinsuffizienz: Umsetzung der Leitlinien in die Praxis. Eur J Heart Fail ***2005***; 7: 710 – 721.
54. ***Miners*** JO, Rees DLP, Valente L et al. Human hepatic cytochrome P450 2C9 catalyzes the rate-limiting pathway of torasemide metabolism. J Pharmacol Exp Ther ***1995***; 272: 1076 – 1081.
55. ***Miners*** JO, Coulter S, Birkett DJ et al. Torasemide metabolism by CYP2C9 variants and other human CYP2C subfamily enzymes. Pharmacogenetics ***2000***; 10: 267 – 270.
56. ***Murray*** MD, Deer MM, Ferguson JA, et al. Open-label randomized trial of torasemide compared with furosemide therapy for patients with heart failure. Am J Med ***2001***; 111: 513-520.
57. ***Niemi*** M. High plasma pravastatin concentrations are associated with single nucleotide polymorphisms and haplotypes of organic anion transporting polypeptide – C (OATP-C, SLCO1B1). Pharmacogenetics ***2004***; 14: 429 – 440.
58. ***Nozawa*** T, Nakajima M, Tamai I et al. Genetic polymorphisms of human organic anion transporters OATP-C (SLC1A6) and OATP-B (SLC21A9): allele frequencies in the Japanese population and functional analysis. J Pharmacol Exp Ther ***2002***; 302: 804 – 813.
59. ***Oparil*** S, Williams D, Chrysant SG et al. Comparitive efficacy of Olmesartan, Losartan, Valsartan, and Irbesartan in the control of essential hypertension. J Clin Hypertens ***2001***; 3: 283 – 291.
60. ***Paneitz*** A, Meissner K, Kroemer HK et al. Arzneimittelinteraktionen: Neue Mechanismen und klinische Relevanz. Internist ***2000***; 41: 338 – 343.
61. ***Parving*** HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J et al. The effect of Irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med. ***2001***; 345: 870 – 878.
62. ***Pfeffer*** MA, McMurray JJV, Velasquez EJ et al. Valsartan, Captopril oder beides bei Myokardinfarkt mit Komplikation durch Herzinsuffizienz, linksventrikuläre Dysfunktion oder beides. N Engl J Med ***2003***; 349: 1893 – 1906.

63. ***Pitt*** B. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial – the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. The Lancet ***2000***; 355: 1582-1587.
64. ***Pizzagalli*** F**.** Identification and functional characterization of human organic anion transporting polypeptides. Dissertation ETH Nr. 15146; ***2003***; University of Basel.
65. ***Polinko*** M, Riffel K, Song H et al. Simultaneous determination of losartan and EXP3174 in human plasma and urine utilizing liquid chromatography / tandem mass spectrometry. J Pharm Biomed Anal ***2003***; 33: 73 – 84.
66. ***Richter*** M, Skupin M, Grabs R et al. New approach in the therapy of chronic rejection? ACE – and AT1-blocker reduce the development of chronic rejection after cardiac transplantation in a rat model. J Heart Lung Transplant ***2000***; 19: 1047 – 1055.
67. ***Risler*** T, Schwab A, Kramer B, et al. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of loop diuretics in renal failure. Cardiology ***1994***; 84: 155 – 161.
68. ***Roig*** E, Perez-Villa F, Morales M et al. Klinische Implikationen erhöhter Angiotensin-II-Spiegel im Plasma trotz ACE-Hemmer-Therapie bei Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz. Eur Heart J ***2000***; 21: 53 – 57.
69. ***Rosemary*** J, Surendiran A, Rajan S et al. Influence of the CYP2C9 & CYP2C19 polymorphisms on the phenytoin hydroxylation in healthy individuals from south India. Indian J Med Res ***2006***; 123: 665 – 670.
70. ***Schalekamp*** T, Brasse BP, Roijers JFM et al. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and Phenprocoumon antikoagulation status: Interaction between both genotypes affects dose requirement. Clin Pharmacol Ther ***2007***; 81: 1 – 9.
71. ***Shah*** VP. Bioanalytical method validation - a revisit with a decade of progress. Pharm Res ***2000***; 17: 1551 – 1557.
72. ***Sica*** DA, Gehr TW, Ghosh S, et al. Clinical pharmacokinetics of losartan. Clin Pharmacokinet ***2005***; 44: 797 – 814.
73. ***Stearns*** RA, Chakravarty PK, Chen R et al. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily members. Drug Metab Dispos ***1995***; 23: 207 – 215.
74. ***Suzuki*** H. Inhibitory effect of candesartan cilexetil on left ventricular remodeling after myocardial infarction. Int Heart J ***2006***; 47: 715 – 725.
75. ***Suzuki*** K, Yanagawa T, Shibasaki T et al. Effect of CYP2C9 genetic polymorphisms on the efficacy and pharmacokinetics of glimepiride in subjects with type 2 diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice ***2006***; 72: 148 – 154.

76. ***Swedberg*** K, Cleland J, Dargie H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005). Eur Heart J ***2005***; 26: 1115-1140
77. ***Taavitsainen*** P, Kiukaanniemi K, Pelkonen O, et al. In vitro inhibition screening of human hepatic P450 enzymes by five angiotensin-II receptor antagonists. Eur J Clin Pharmacol ***2000***; 56: 135 – 140.
78. ***Tanaka*** E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. J Clin Pharm Ther ***1999***; 24: 339 – 346.
79. ***Thürmann*** PA. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Pharmakokinetik und –dynamik von Arzneimitteln. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz ***2005***; 48: 536-540.
80. ***Tirona*** RG, Leake BF, Merino G et al. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European – and African-Americans. J Biol Chem ***2001***; 276: 35669 – 35675.
81. ***Uchida*** S, Watanabe H, Nishio S et al. Altered pharmacokinetics and excessive hypotensive effect of candesartan in a patient with the CYP2C9 1/3 genotype. Clin Pharmacol Ther ***2003***; 74: 505 – 508.
82. ***Unger*** T, Kaschina E. Drug interactions with angiotensin receptor blockers: a comparison with other antihypertensives. Drug Saf ***2003***; 26: 707 – 720.
83. ***Vogel*** S, Hoorn EJ, Papademetriou V, et al. Losartan in cardiovascular disease. Future Cardiol ***2005***; 1: 433 – 446.
84. ***Vormfelde*** SV, Engelhardt S, Zirk A et al. CYP2C9 polymorphisms and the interindividual variability in pharmacokinetics and pharmacodynamics of the loop diuretic drug torasemide. Clin Pharmacol Ther ***2004***; 76: 557 – 566.
85. ***Vormfelde*** SV, Schirmer M, Toliat MR, et al. Genetic variation at the CYP2C locus and its association with torasemide biotransformation. The Pharmacogenomics Journal ***2006*** (in press).
86. ***Vormfelde*** SV, Schirmer M, Hagos Y et al. Torasemide renal clearance and genetic variation in luminal and basolateral organic anion transporters. Br J Clin Pharmacol ***2006***; 1 – 13.
87. ***Wachtell*** K, Lehto M, Gerdts e et al. Angiotensin II receptor blockade reduces new-onset atrial fibrillation and subsequent stroke compared to Atenolol (LIFE – Study). JACC ***2005***; 45: 712 – 719.

88. ***Werner*** D, Wuttke H, Fromm MF et al. Effect of Amiodarone on the plasma levels of Metoprolol. Am J Cardiol ***2004***; 94: 1319 – 1321.
89. ***Wolf-Maier*** K, Cooper RS, Banegas JR et al. Bluthochdruckprävalenz und Blutdruckwerte in 6 europäischen Staaten, Kanada und den Vereinigten Staaten. JAMA ***2003***; 289: 2363 – 2369.
90. ***Wuttke*** H, Rau T, Heide R et al. Increased frequency of cytochrome P450 2D6 poor metabolizers among patients with metoprolol – associated adverse effects. Clin Pharmacol Ther ***2002***; 72: 429 – 437.
91. ***Xiumei*** H, Shanchun Z, Guangyun M et al. CYP2C9 *3 allelic variant is associated with metabolism of irbesartan in Chinese population. Eur J Clin Pharmacol. ***2005***; 61: 627 – 634.
92. ***Yasar*** Ü, Tybring G, Hidestrand M, et al. Role of CYP2C9 polymorphism in Losartan oxidation. DMD ***2001***; 29: 1051 – 1056.
93. ***Yasar*** Ü, Forslund-Bergengren C, MD Tybring G, et al. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype. Clin Pharmacol Ther ***2002***; 71: 89 – 98

# *10. LEBENSLAUF*

**Persönliche Daten**

| | |
|---|---|
| Name, Vorname | Meybaum, Annett – geb. Wolff |
| Geburtsdatum | 08.12.1977 |
| Geburtsort | Greifswald |
| Familienstand | verheiratet, keine Kinder |

**Schulbildung**

| | |
|---|---|
| 09/1984 – 09/1991 | 1. – 7. Klasse der 10. POS „Fiete Schulze“, Leipzig |
| 09/1991 – 07/1996 | ab 8. Klasse bis zum Erlangen der Hochschulreife: Gymnasium „Felix Klein“, Leipzig |
| 10/1996 – 11/2003 | Studium der Humanmedizin, Universität Leipzig |
| 14.11.2003 | 3. Staatsexamen |

**beruflicher Werdegang**

| | |
|---|---|
| 02/2004 – 10/2004 | Ärztin im Praktikum in der Inneren Klinik der HELIOS Kliniken Schwerin |
| zum 01.10.2004 | Erlangen der Vollapprobation und Übernahme als Weiterbildungsassistentin für Innere Medizin an den HELIOS Kliniken Schwerin |
| seit 10/2005 | Doktorandin an der Klinik für Kardiologie der HELIOS Kliniken Schwerin unter Betreuung durch PD Dr. med. habil. D. Werner;<br>Thema - vergebender Hochschullehrer Prof. Dr. B. Drewelow<br>Thema: „Pharmakokinetische Interaktionsstudie zwischen Torasemid und den beiden AT1-Blockern Losartan und Irbesartan auf Ebene des Cytochrom P450 2C9“ |

**Bisherige Kongressbeiträge von Promotionsergebnissen**

1. 10. Kardiologisches Symposium / Schwerin 2006
2. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie / Nürnberg 2006
3. Jahrestagung der DGPT / Würzburg 2006

# *11. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG*

Hiermit erkläre ich, Annett Meybaum an Eides Statt, dass ich diese Dissertation selbstständig, ohne unzulässige Hilfe Dritter und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Quellen angefertigt und die, der Literatur entnommenen Daten als solche gekennzeichnet habe.

Schwerin, den 16. Juni 2007 Annett Meybaum

# *12. DANKSAGUNG*

Hiermit möchte ich allen „Danke“ sagen, die im Zeitraum der Entstehung dieser Arbeit vom September 2005 bis Juni 2007 mit ihrer Unterstützung zum Gelingen des Projektes beigetragen haben. Durchgeführt wurde die Studie an der Klinik für Kardiologie der HELIOS Kliniken Schwerin (Lehrkrankenhaus der Universität Rostock). In diesem Rahmen möchte ich zu allererst ein besonderes Dankeschön Herrn PD Dr. med. D. Werner aussprechen, der die Arbeit betreute.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Fromm und dem Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Friedrich – Alexander Universität Erlangen - Nürnberg für die ständige Mitbetreuung der Arbeit. Danken möchte ich in diesem Kontext insbesondere noch Herrn Dr. O. Zolk für die Durchführung der Genotypisierung und die statistische Aufarbeitung der Daten.
Herrn Prof. Dr. B. Drewelow möchte ich für die Vergabe des Promotionsthemas danken.

Den Mitarbeitern des Labormedizinischen Institutes der HELIOS Kliniken Schwerin, v.a. Herrn Prof. Dr. H. Lestin und Herrn Dr. A. Grosch danke ich für die gute Zusammenarbeit und zuverlässige Probenaufarbeitung. Die pharmakokinetische Analytik der Losartan und EXP3174 – Proben wurde im Institut für Organische Chemie und Biochemie Darmstadt durchgeführt. Hierfür einen besonderen Dank an Prof. B. Schmidt und Frau Dr. S. Umbreen. Für die Berechnung der pharmakokinetischen Daten bedanke ich mich bei Frau PD Dr. U. Werner. Für die Unterstützung im klinischen Teil der Arbeit möchte ich mich bei Herrn ChA PD Dr. B. Graf und insbesondere bei Frau Dr. S. Huth bedanken.