

Nelly Siller
Dr.med.

In vivo Aktivitätsmessung von CYP3A in Patienten mit Hilfe einer Microdosis Midazolam

Fach: Klinische Pharmakologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Gerd Mikus

Die Variabilität des Metabolismus von Arzneimitteln stellt eine individuelle Reaktion auf applizierte Arzneimittel in der Pharmakotherapie dar. Einen wesentlichen Anteil an dieser Variabilität haben die Cytochrom-P450-Enzyme der Subfamilie 3A, denen aufgrund der breiten Substratspezifität, des häufigen Vorkommens und der hohen Proteinmenge eine Hauptrolle im Metabolismus von Arzneimittel zugeschrieben wird. Die Ergebnisse der bisher an gesunden Probanden durchgeführten Studien zur CYP3A Aktivitätsmessung *in-vivo* (Phänotypisierung) können nicht ohne weiteres auf die einzelne Patientensituation angewendet werden. Man kann davon ausgehen, dass Aspekte wie multiple Arzneimittelaufnahmen, verschiedene Grunderkrankungen, genetische Disposition und Veranlagungen einen noch unbekanntem Einfluss auf die CYP3A Aktivität in Leber und Darm haben.

Für eine präzise Aktivitätsbestimmung von CYP3A müssen definierte Validierungskriterien eingehalten werden. Deshalb ist die Analyse der CYP3A Aktivität bei Patienten unter Arzneimittelaufnahmen einschließlich CYP3A Induktoren und Inhibitoren, sowie bei Patienten mit eingeschränkter Leber- und Nierenfunktion erforderlich.

Um die an Probanden etablierten Methoden der CYP3A Aktivitätsmessung in Patienten zu validieren, wurden bei insgesamt 30 hämatologischen und 17 dermatologischen Patienten mit Hilfe einer Mikrodosis Midazolam als Markersubstanz komplette Pharmakokinetiken von Midazolam erstellt. Die Patienten erhielten 3 µg Midazolam in Wasser gelöst per os und es erfolgten innerhalb von 8 Stunden 9 Blutentnahmen. Die Plasmakonzentrationen von Midazolam und 1'-OH-Midazolam wurden mit einer ultrasensitiven Bestimmungsmethode (UPLC-Tandem-Massenspektrometrie) gemessen und die metabolische Clearance (Cl_{met}) von Midazolam zu 1'-Hydroxymidazolam berechnet. Die daraus resultierende CYP3A Aktivität wurde mit entsprechenden Aktivitätsdaten aus klassischen Interaktionsstudien an gesunden Probanden verglichen und bewertet.

Aufgrund einer guten Korrelation ($r^2=0.8696$) der partiellen Flächen unter den Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven (AUC) mit der gemessenen gesamten AUC von Midazolam konnte eine Bestätigung der bei Probanden etablierten Limited Sampling Strategy (LSS) erfolgen, bei der mit nur 4 Blutproben eine präzise Bestimmung der CYP3A Aktivität möglich ist. Ein Vergleich der berechneten metabolischen Clearance von Patienten ohne CYP3A Modulation mit Probandenstudien bestätigte diese Messergebnisse. In der Patientenkohorte mit eingeschränkter Nierenfunktion konnte die erwartete unveränderte CYP3A Aktivität nachgewiesen werden. Eine Patientenkohorte mit Patienten, die eine eingeschränkte Leberfunktion aufwies, ergab keine signifikant niedrigeren CYP3A Aktivitätsdaten. Dies deutet darauf hin, dass eine nur geringgradig eingeschränkte Leberfunktion vermutlich noch gut kompensiert werden kann. Hinweise liefern hierzu auch vergleichbare Ergebnisse in der Literatur. Bei den Patienten, die einen bekannten Induktor der CYP3A Aktivität erhielten, ergaben die Aktivitätsmessungen keinen signifikanten Unterschied zu Patienten ohne CYP Modulation. Eine Extrapolierung bisheriger *in-vitro* und tierexperimenteller *in-vivo* Studien ist hier somit zunächst nicht möglich. Die CYP3A Aktivität in der Kohorte aus Patienten mit inhibierenden Arzneimitteln zeigte sich jedoch signifikant erniedrigt, wobei nach einer Aufteilung in vorbeschriebene schwache und starke

Inhibitoren deutlich wurde, dass unsere Methodik eventuell nur bei starken Inhibitoren präzise Ergebnisse liefert oder die in der Literatur aufgeführte Inhibition durch das Antibiotikum Ciprofloxacin kritisch hinterfragt werden muss. Es konnte zudem gezeigt werden, dass bei gleichzeitiger Anwendung von Induktoren und Inhibitoren in therapeutischen Dosierungen die inhibierende Wirkung auf CYP3A überwiegt. Außerdem wird in der Arbeit noch die starke inhibitorische Wirkung des neuesten antifungiziden Azols Posaconazol auf die CYP3A Aktivität bestätigt.

Zwei interessante Patientenfälle wurden im dem untersuchten Patientengut beobachtet. Eine Patientin präsentierte unter einer Posaconazoltherapie neben der erwarteten reduzierten CYP3A Aktivität auch einen bisher ungeklärten beeinträchtigten Sekundärmetabolismus von Midazolam, erkennbar an extrem erhöhten 1'-OH-Midazolamkonzentrationen. Bei einem anderen Patienten, der mit der hepatotoxischen Substanz Arsentrioxid behandelt wurde, konnten erstmals Daten zur CYP3A Aktivität, die sich als unverändert erwies, erhoben und veröffentlicht werden.

Über die berechnete metabolische Clearance von Midazolam, das in einer Mikrodosis von 3 µg verabreicht wird, ist eine präzise, unkomplizierte und sichere Bestimmung der momentanen CYP3A Aktivität bei Patienten möglich. Langfristig sollen durch die Messung der individuellen CYP3A Aktivität mittels einer unkomplizierten Methode, die wenige Risiken aufweist, Dosisanpassungen von bekannten CYP3A Substraten möglich sein. Somit können Arzneimittelschäden verringert und Therapieschemata optimiert und individualisiert werden.