

Untersuchungen zu pharmakogenetischen Grundlagen der Hyponatriämie durch Carbamazepin, Oxcarbazepin und Eslicarbazepin bei Menschen mit Epilepsie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Michael Alexander Schlegel

aus Engelskirchen

2020

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Rainer Surges

2. Gutachter: Apl.- Prof. Dr. Dr. rer. nat. Dieter Lütjohann

Tag der Mündlichen Prüfung: 02.04.2020

Aus der Klinik für Epileptologie

Direktor: Prof. Dr. med. Rainer Surges, MHBA

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis.....	5
2. Einleitung.....	6
2.1 Antikonvulsive Therapie.....	6
2.2 Nebenwirkungen der medikamentösen antikonvulsiven Therapie.....	7
2.3 Carbamazepin, Oxcarbazepin und Eslicarbazepin.....	8
2.4 Hyponatriämie.....	10
2.5 Wirkungsweise von Carbamazepin am Vasopressin 2- Rezeptor der Niere und die daraus resultierende Hyponatriämie.....	12
2.6 Mögliche genetische Prädisposition einer Hyponatriämie.....	14
2.7 Ziel der Arbeit.....	15
3. Material und Methoden.....	17
3.1 Retrospektive Erhebung des Patientenkollektivs.....	17
3.2 Genom- Amplifikation und SNP- Genotypisierung.....	19
3.3 Statistische Methoden.....	25
4. Ergebnisse.....	28
4.1 Struktur der Patientengruppe	28
4.2 Darstellung der Quantität eingenommener Antikonvulsiva in Form von Tagesdosis, Medikamentenlast und Serumspiegel.....	29
4.3 Laborwerte.....	31
4.4 Korrelation zwischen Hyponatriämie und Medikamenten.....	31
4.5 Ergebnisse der Genotypisierung.....	34
4.6 Zusammenhänge zwischen Allelverteilung der SNPs mit Hyponatriämie und Natriumspiegel.....	36
5. Diskussion.....	42

6. Zusammenfassung.....	49
7. Anhang.....	51
8. Abbildungsverzeichnis.....	67
9. Tabellenverzeichnis.....	70
10. Literaturverzeichnis.....	71
11. Danksagung.....	79

1. Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ADH	Antidiuretisches Hormon
AQ2	Aquaporin 2
AQP2	Aquaporin 2
AQWCV	Vesikel mit Aquaporin- Wasserkanälen
AVP	Arginin- Vasopressin
AVPR2- Gen	Gen des Vasopressin 2 Rezeptors (engl. Arginine Vasopressin Receptor 2 Gene)
C	Cytosin
CBZ	Carbamazepin
CD	Sammelrohr (engl. Collecting Duct)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ESL	Eslicarbazepin
G	Guanin
HWE	Hardy- Weinberg- Equilibrium
kb	Kilobasen
LTG	Lamotrigin
OXC	Oxcarbazepin
PCR	Polymerase- Kettenreaktion (engl. PCR)
PKA	Proteinkinase A
SD	Standardabweichung
SIADH	Syndrom der inadäquaten ADH- Ausschüttung
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SJS	Stevens- Johnson- Syndrom
T	Thymin
TEN	toxische epidermale Nekrolyse
V2R	Vasopressin 2- Rezeptor
VPA	Valproat

2. Einleitung

Die Epilepsie ist eine häufig in der Bevölkerung auftretende, chronische neurologische Erkrankung, welche sich bei 61 von 100.000 Menschen pro Jahr neu manifestiert (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2017; Fiest et al., 2017).

Ursächlich dafür können sowohl strukturelle Veränderungen, wie z. B. gutartige Hirntumoren, genetisch bedingte Hirnaufbaustörungen und Hirnsubstanzveränderungen nach Schlaganfall oder Hirntrauma, aber auch metabolische oder genetische Eigenschaften, wie z. B. Ionenkanal- oder Transmitterrezeptormutationen, sein (Berg et al., 2010; Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018; ILAE, 2010). Oftmals bleibt die Ursache auch unbekannt (ILAE, 2010).

Bei einem epileptischen Anfall kommt es zu unterschiedlich ausgeprägten Symptomen mit Beeinträchtigung der Sensibilität, der Motorik oder des Bewusstseins (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018). Diese sind Folge einer pathologisch exzessiven oder synchronen neuronalen Aktivität im Gehirn (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018). Anfälle für sich genommen werden in "generalisiert", "fokal" oder "unbekannt" eingeteilt (ILAE, 2010).

Eine Epilepsie liegt definitionsgemäß vor, wenn zwei unprovizierte Anfälle im Abstand von mehr als 24 Stunden auftreten, ein nicht provoziertes Anfall mit erhöhter Wahrscheinlichkeit, neue Anfälle zu erlangen auftritt, oder ein Epilepsie-Syndrom vorliegt (Fisher et al. 2014). Epilepsien werden ihrer Ursache entsprechend eingeteilt: Man unterscheidet "genetische", "strukturell/metabolische" oder "unbekannte Ursache" (s.o.) (ILAE, 2010).

2.1 Antikonvulsive Therapie

Primäres Ziel der medikamentösen Behandlung ist die Anfallskontrolle unter Vermeidung von Nebenwirkungen (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018). Die Auswahl der Medikamente hängt u.a. vom Epilepsietyp, dem Alter, dem Geschlecht, sowie der Komedikation ab (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018).

Nach den Leitlinien der deutschen Gesellschaft für Neurologie sind Lamotrigin (LTG)

oder Levetiracetam (LEV) das Mittel der ersten Wahl für die Therapie fokaler Anfälle (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018). Möglich ist jedoch auch eine Behandlung mit Valproat (VPA), Topiramat (TPM) oder Carbamazepin (CBZ) (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018).

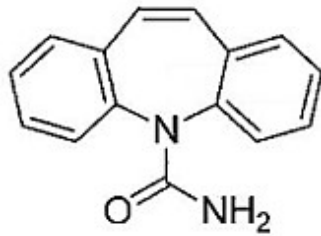
2.2 Nebenwirkungen der medikamentösen antikonvulsiven Therapie

Nebenwirkungen können zu Beginn, aber auch im späteren Verlauf der antikonvulsiven Therapie eine wichtige Rolle spielen, da sie zusätzliche Gesundheitsrisiken verursachen oder die Lebensqualität relevant einschränken können (Perucca et al., 2011). Perucca und Kollegen zeigten, dass 88 % einer Patientengruppe, welche eine antikonvulsive Therapie erfuhr, von Nebenwirkungen betroffen waren (Blume, 2010; Perucca et al, 2009).

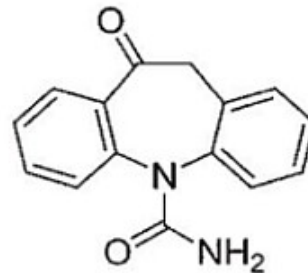
Häufig beschrieben werden kognitive Beeinträchtigung, Koordinationsstörungen, sowie Beeinträchtigung der Stimmung (Perucca et al., 2011).

Darüber hinaus können jedoch auch Reaktionen der Haut (z. B. bei Levetiracetam oder Carbamazepin) oder Veränderungen des Blutes in Form einer Hyponatriämie auftreten (Algahtani 2017 et al.; Dong et al., 2005; McCormack et al., 2011; Tangamornsuksan et al., 2013). Hyponatriämien können sowohl bei Carbamazepin (CBZ), Oxcarbazepin (OXC), als auch bei Eslicarbazepin (ESL) beobachtet werden (Gierbolini et al., 2016). Auf die spezifischen Nebenwirkungen dieser 3 Medikamente wird in Kapitel 2.3 eingegangen.

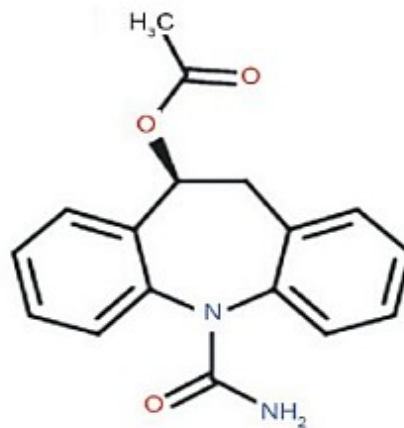
2.3 Carbamazepin, Oxcarbazepin und Eslicarbazepin



Carbamazepin



Oxcarbazepin



Eslicarbazepin

Abb. 1: Die Strukturformeln von Carbamazepin, Oxcarbazepin und Eslicarbazepin (Lutker und Matzger, 2010; Singh et al., 2013)

CBZ gehört, wie OXC und ESL, zu den Dibenzazepin- Antikonvulsiva und ist das Älteste aus dieser Klasse (Gierbolini et al., 2016).

Es ist für die Therapie fokaler Epilepsien zugelassen (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018). Frühe Studien, wie die von Jongmans (1964) bestätigten ein erfolgreiches Ansprechen bei 24 von 43 Patienten mit epileptischen Anfällen (Jongmans,

1964). In späteren Studien wurde die Wirksamkeit auch an großen Populationen belegt (Powell et al., 2016). CBZ wird heutzutage auch häufig als Referenzsubstanz bei Zulassungsstudien für neue Monotherapien verwendet (z.B. Baulac et al., 2017).

OXC steht seit den 1990er Jahren als strukturelles Derivat von CBZ zur Verfügung (Gierbolini et al., 2016). Es unterscheidet sich von CBZ durch seinen Keton-Substituenten an Position 10 des Dibenzazepinrings, wie in Abbildung 1 dargestellt (Gierbolini et al., 2016; Lutker und Matzger, 2010).

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass OXC signifikant besser als Placebopräparate in der Kontrolle fokaler Anfälle ist, so dass es mittlerweile in der Mono- wie auch als Kombinationstherapie für Kinder und Erwachsene zur Behandlung fokaler Anfälle mit und ohne Generalisierung eingesetzt wird (Schachter et al., 1999; Schmidt und Elger, 2004).

Auch ESL hat, ebenso wie CBZ und OXC, einen Dibenzazepin- Kern mit einem 5-Carboxyamid- Substitut (Gierbolini et al., 2016). Strukturelle Unterschiede bestehen an der 10,11- Position, wie in Abbildung 1 dargestellt (Gierbolini et al., 2016; Singh et al., 2013).

Ursprünglich wurde Eslicarbazepin als Kombinationstherapie mit anderen Antikonvulsiva entwickelt: Die Studie "Efficacy and safety of eslicarbazepine acetate as adjunctive treatment in adults with refractory partial-onset seizures: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase III study" von 2009 bestätigte für ESL eine signifikant niedrigere, eingestellte Anfallsfrequenz im Vergleich zum Placebo (Elger et al., 2009). Seit Mai 2017 ist ESL auch zur Monotherapie fokaler Epilepsien zugelassen (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018).

Als Nebenwirkungen der drei Medikamente sind, neben der erwähnten Hyponatriämie auch Schwindel, Somnolenz, Übelkeit, Erbrechen, Doppelbilder, Ataxie und Verschwommensehen beschrieben (Gierbolini et al., 2016). Für einige Nebenwirkungen sind auch genetische Assoziationen beschrieben worden, was im Verlauf unserer Arbeit noch von Relevanz sein wird:

Beim CBZ sind verschiedene Formen von Hypersensitivitätsreaktionen bekannt

(McCormack et al., 2011). Diese reichen vom makulopapulösen Exanthem bis hin zu ernststen, blasenbildenden Reaktionen (McCormack et al., 2011). Eine signifikante Assoziation mit dem Hypersensitivitätssyndrom zeigt das HLA-A - 3101 Allel (2 bis 5 % Prävalenz in nordeuropäischen Bevölkerungsgruppen) (McCormack et al., 2011). Außerdem wurde eine weitere Assoziation zum makulopapulösen Exanthem bei diesem Allel gefunden (McCormack et al., 2011). Laut McCormack und Kollegen steigert die Anwesenheit dieses Allels das Risiko für CBZ- induzierte Hypersensitivitätsreaktionen von 5 % auf 26 %, seine Abwesenheit senkt es von 5 % auf 3 % (McCormack et al., 2011).

Eine Assoziation zwischen dem Allel HLA- B 1502 und einem induzierten Stevens-Johnson- Syndrom wurde auch für OXC bei asiatischen Populationen (Chinesen und Thailändern) beschrieben (Chen et al., 2017). Schwere und Inzidenz des induzierten Stevens- Johnson- Syndroms sind jedoch geringer als beim CBZ (Chen et al., 2017).

2.4 Hyponatriämie

Die Hyponatriämie kann bei allen drei Antikonvulsiva auftreten (Gierbolini et al., 2016). Sie ist definiert als ein Serum- Natrium Wert von unter 135 mmol/l (Verbalis et al., 2013). Ein Serum- Natrium unter 125 mmol/l, je nach Literatur auch unter 120 mmol/l oder 129 mmol/l, wird als ernste Hyponatriämie betrachtet (Adrogué und Madias, 2012; Dong et al., 2005; Verbalis et al., 2013). Bei einem Serum- Natrium von über 145 mmol/l spricht man von Hypernatriämie (Muhsin und Mount, 2016). Eine Übersicht gibt Tabelle 1.

Tab. 1: Übersicht Serum- Natrium

Schwere Hyponatriämie	Hyponatriämie	Eunatriämie	Hypernatriämie
<125 mmol/l	<135 mmol/l	135- 145 mmol/l	>145 mmol/l

(Muhsin und Mount, 2016; Verbalis et al., 2013)

Bei einer akuten Hyponatriämie kann es zu Hirnschwellung und intrakranieller Hypertension kommen (Adrogué und Madias, 2012). Im Verlauf können sogar

lebensbedrohliche neurologische Komplikationen, einschließlich Anfälle, Koma, Hirnstamm- Herniation und Atemstillstand auftreten (Adrogué und Madias, 2012). Dong und Kollegen zeigten in einer Studie, dass 13,5 % von 451 Patienten, die mit CBZ behandelt wurden, eine Hyponatriämie entwickelten (hier definiert als Serum- Natrium kleiner oder gleich 134 mmol/l) ($P < 0,0001$) (Dong et al, 2005). 2,8 % der 451 Patienten hatten sogar eine ernste Hyponatriämie (hier definiert als Serum- Natrium kleiner oder gleich 128 mmol/l) ($P < 0,001$) (Dong et al., 2005). Die Studie von Dong und Kollegen zeigte auch, dass 29,9 % von 97 Patienten, die mit OXC behandelt wurden, ebenfalls eine Hyponatriämie entwickelten (hier definiert als Serum- Natrium kleiner oder gleich 134 mmol/l) ($P < 0,0001$) (Dong et al., 2005). 12,4 % der 97 Patienten entwickelten hier eine ernste Hyponatriämie (hier definiert als Serum- Natrium kleiner oder gleich 128 mmol/l) ($P < 0,001$) (Dong et al., 2005). Auch unter Einnahme von ESL können Patienten eine Hyponatriämie entwickeln (Singh und Asconapé, 2011). Frühe Studien zeigten jedoch, dass die Tendenzen hierzu eher gering sind (0,6 bis 1,3 %) (Singh und Asconapé, 2011). Neuere Untersuchungen, wie die von Gupta und Kollegen, kamen allerdings zu dem Ergebnis, dass bei Patienten mit Anfällen nach Infarkten, 12,5 % derjenigen, die ESL einnahmen, ebenfalls eine Hyponatriämie entwickelten (Gupta et al., 2015). 9,375 % waren symptomatisch, 3,125 % waren asymptomatisch (Gupta et al., 2015). Eine kürzlich veröffentlichte retrospektive Fallserie an 560 Patienten berichtet sogar von Hyponatriämien bei 33 % der Patienten mit ESL (Intravooth et al., 2018).

Sowohl die zum Teil klinisch sehr problematische Auswirkung, als auch die statistische Häufigkeit zeigen die Relevanz dieser Nebenwirkung. Ursachen und möglichen Vermeidungsstrategien der Hyponatriämie werden daher in den folgenden Kapiteln näher auf den Grund gegangen.

2.5 Wirkungsweise von Carbamazepin am Vasopressin 2- Rezeptor der Niere und die daraus resultierende Hyponatriämie

In der Literatur sind bereits zwei Mechanismen zur Auslösung einer Hyponatriämie durch CBZ beschrieben worden:

1. CBZ stimuliert die Ausschüttung des antidiuretischen Hormons (ADH, auch Vasopressin oder Arginin- Vasopressin, AVP) in der Hypophyse (Syndrom der Inadäquaten ADH- Ausschüttung (SIADH)) mit der Konsequenz einer Hyponatriämie (De Bragança et al., 2010; Finley et al., 2008).

2. CBZ bewirkt über einen direkten Effekt am sogenannten Vasopressin 2- Rezeptor- Protein G- Komplex eine Steigerung der Aquaporin 2 (AQP2)- Expression, wodurch es (zumindest teilweise) zu einer Hyponatriämie kommt (De Bragança et al., 2010).

Allgemein ist folgender Signalweg bekannt:

Der Vasopressin 2- Rezeptor (V2R) wird vom ADH, welches aus dem Hypophysen- Hinterlappen sezerniert wird, aktiviert (Finley et al., 2008).

Dabei handelt es sich um einen G- Protein- gekoppelten Rezeptor, der auf der basolateralen Membran des Sammelrohrs (engl. Collecting Duct, CD) der Niere liegt (Abbildung 2) und dessen Aufgabe es ist, den antidiuretischen Effekt des Vasopressins herbeizuführen (Finley et al., 2008).

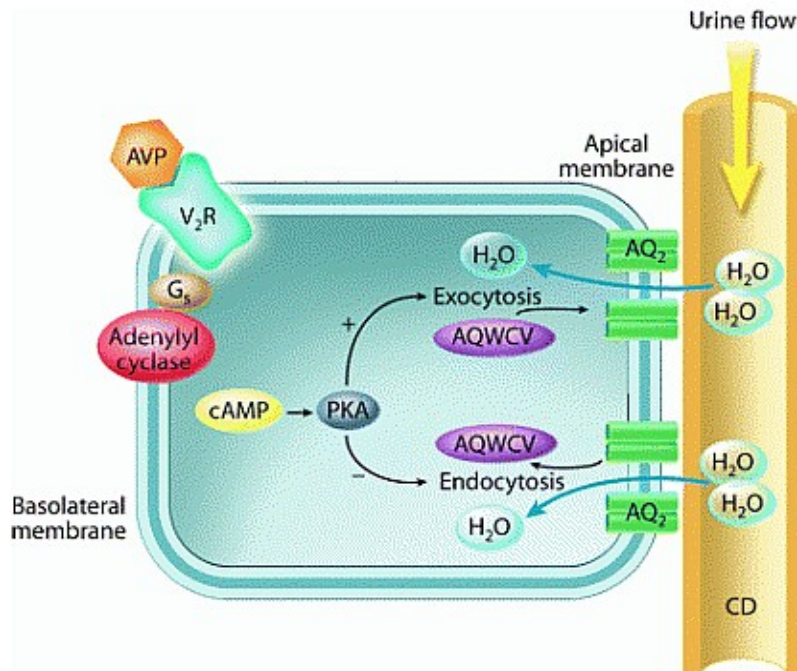


Abb. 2: Die Vasopressin- V2R - Aktivierung mit ihrem Signalweg (modifiziert nach Finley et al., 2008)

Während des ersten Schrittes des Signalwegs wird das Gs- Molekül aktiviert und wirkt auf die Adenylatcyclase. Dies führt wiederum zu einer Produktion von cAMP, welches die Proteinkinase A (PKA) aktiviert. Dieser Weg führt somit zu einer gesteigerten Exozytose von Vesikeln mit AQP2- Kanälen und einer reduzierten Endozytose. Dadurch bedingt werden AQP2- Kanäle in die apikale Membran eingebaut, was einen Anstieg der Wasserpermeabilität vom CD erlaubt (Abbildung 2) (Finley et al., 2008).

Die an dem Signalweg beteiligten Aquaporin- Kanäle sind hexahelikale Kanäle mit einer zentralen Pore, die kleinen Membran-Proteinen von ca. 30 kDA entsprechen und am Transport von Flüssigkeiten beteiligt sind (Verkman und Mitra, 2000).

De Bragança und Kollegen zeigten bei einem Versuch an Ratten die Wirkung von CBZ an diesem Signalweg:

Dieses agiert direkt am V2R- Protein G- Komplex, wodurch es zu einer Steigerung der AQP2- Expression kommt (De Bragança et al., 2010). Die Folge ist eine Steigerung der

Wasserabsorption im CD der Niere (De Bragança et al., 2010). Dieser Effekt könnte, zumindest teilweise, für die Hyponatriämie beim Gebrauch von CBZ verantwortlich sein (De Bragança et al., 2010).

Die andere These, nach der für die Hyponatriämie ausschließlich das SIADH (Schwartz-Bartter- Syndrom) zu verantworten ist, hielten die Autoren dieser Studie für unwahrscheinlich (De Bragança et al., 2010).

Wir nahmen die Hypothese der direkten Wirkung von CBZ am V2R der Niere ebenfalls als Grundlage für unsere Arbeit.

2.6 Mögliche genetische Prädisposition einer Hyponatriämie

In den Studien von Dong bzw. Lin und Kollegen wird ein Zusammenhang zwischen der CBZ- bzw. OXC- Dosis mit dem Natriumspiegel beschrieben (Dong et al., 2005; Lin et al., 2010).

Die von Dong und Kollegen 2005 durchgeführte Studie zeigt jedoch auch, dass eine Subgruppe zu existieren scheint, die anlagebedingt anfällig für eine Hyponatriämie unter CBZ bzw. OXC ist (Berghuis et al., 2016; Dong et al., 2005). Das Risiko, eine persistente Hyponatriämie zu bekommen, korrelierte hoch mit dem initialen Natriumspiegel, der kurz nach dem Einnahmestart gemessen wurde (Berghuis et al., 2016; Dong et al., 2005). Alter, Geschlecht und die Einnahme anderer Antikonvulsiva hatten nur einen geringen Einfluss auf das folgende Outcome der Patienten (Berghuis et al., 2016; Dong et al., 2005).

Es sind zwischenzeitlich etliche Gene bekannt, welche Regulatoren des Wasserabsorptionswegs enthalten (Berghuis et al., 2016). Keines dieser Gene wurde jedoch bisher in einem kausalen Zusammenhang für eine genetisch prädispositionierte und durch die Behandlung mit Antikonvulsiva bedingte Hyponatriämie beschrieben (Berghuis et al., 2016).

2.7 Ziel der Arbeit

Laut Berghuis und Kollegen sind folglich weitere Studien notwendig, um genetische Varianten zu finden, die Risiken einer klinisch relevanten Hyponatriämie beinhalten (Berghuis et al., 2016). Dies ist auch das Ziel unserer Arbeit. Es soll geprüft werden, ob die Ursache für die Entwicklung einer Hyponatriämie unter Einnahme von CBZ, OXC oder ESL nicht nur dosisabhängig ist, sondern auch eine genetische Grundlage hat.

Die von McCormack und Kollegen beschriebenen Assoziationen zwischen Allel und Hautreaktionen unter CBZ- Therapie wurden durch die Untersuchung von Single Nucleotid Polymorphismen (SNPs) getestet (McCormack et al., 2011). Auch beim Gen des V2Rs (engl. Arginine Vasopressin Receptor 2 Gene, AVPR2- Gen) sind unterschiedliche Varianten bzw. SNPs beschrieben worden (Saito et al., 2003).

Aus diesen Informationen ergab sich die folgende zentrale Fragestellung und Hypothese unserer Arbeit. Die Hypothese ist, dass bestimmte SNPs Varianten die Entstehung einer Hyponatriämie begünstigt. Daher wird als Fragestellung getestet, ob sich

die Verteilung der SNPs bei Menschen unter CBZ-, OXC- oder ESL- Therapie mit Hyponatriämie von denen ohne Hyponatriämie unterscheidet.

Es soll also geprüft werden, ob genetische Varianten bzw. SNPs, im AVPR2- Gen zu einer Hyponatriämie bei den Patienten, die mit mindestens einem der drei oben genannten Antikonvulsiva behandelt werden, beitragen. Weiterhin soll eine geschlechtsspezifische Betrachtung stattfinden, da das Gen für das Vasopressin 2- Rezeptorprotein auf dem X- Chromosom in der Region Xq28 liegt (Juul et al., 2014). Um eine ausgeglichene Genexpression zwischen beiden Geschlechtern zu gewährleisten, erfolgt hierbei die sogenannte X- Inaktivierung (Juul et al., 2014). Diese findet embryonal statt und inaktiviert wahllos ein X- Chromosom der Frau (Juul et al., 2014). Die Region Xq28 ist jedoch oft nicht in die Inaktivierung mit einbezogen, sodass es hierdurch zu phänotypischen Unterschieden bei den Geschlechtern kommen kann, was die Rezeptor-vermittelten Funktionen betrifft, wie z.B. die der Antidiurese (Juul et al., 2014).

Es soll daher auch geprüft werden, ob es geschlechtsspezifische Unterschiede bei der

Entwicklung einer Hyponatriämie unter Einnahme von CBZ, OXC oder ESL gibt.

3. Material und Methoden

Die Untersuchungen dieser Arbeit wurden auf der Grundlage der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes (1983) und den entsprechenden gesetzlichen Grundlagen durchgeführt.

Ein Einverständnis der Ethik- Kommission lag vor Beginn der Untersuchungen vor (Lfd. Nr. 040/07).

Es wurde in 3 Schritten vorgegangen: 1. Erhebung der Patientendaten, 2. die Genotypisierung und 3. die statische Auswertung.

3.1 Retrospektive Erhebung des Patientenkollektivs

Im ersten Schritt wurden im Zeitraum von November 2013 bis März 2014 Daten von über 1000 Patienten retrospektiv gesammelt.

Einschlusskriterien

Es wurden Patienten mit generalisierten, fokalen und psychogenen Anfällen, sowie solche mit Absencen in unsere Arbeit mit eingebunden. Diese wurden alle mindestens einmal im Zeitraum von 1990 bis 2014 in der Klinik für Epileptologie des Universitätsklinikums Bonn behandelt. Nur Patienten, die zuvor ihre eigene Desoxyribonucleinsäure (DNA) aus gespendetem EDTA- Blut für wissenschaftliche Zwecke zur Verfügung gestellt hatten, waren in dieser Sammlung verzeichnet und nur deren Daten wurden ins Projekt mit einbezogen.

Alle Patienten mussten an mindestens einem Tag ihres Klinikaufenthalts mindestens eines der drei Antikonvulsiva CBZ, OXC oder ESL eingenommen haben. Zum selben Zeitpunkt musste sowohl der Wert des Serum- Natriumspiegels, als auch der des Serumspiegels des Antikonvulsivums vorliegen.

Begleitende Antikonvulsiva, wie LEV oder VPA waren zulässig.

Ausschlusskriterien

Patienten die Einfluss- bzw. Risikofaktoren für eine Hyponatriämie aufwiesen, insbesondere Nierenerkrankungen oder Einnahme von Thiazid- Diuretika, wurden nicht in die Studie mitaufgenommen (Verbalis et al. 2013; Huang et al., 2015).

Die Informationen wurden retrospektiv aus einer elektronischen Patientenaktei (OSEPA, OPTIMAL SYSTEMS GmbH) erhoben.

Informationen wie Alter, Geschlecht, Art und Ursache der Epilepsie, sowie Anzahl, Serumspiegel und Tagesdosen der Antikonvulsiva wurden erfasst.

Alle Daten wurden in eine Exceltabelle[®] von Microsoft[®] eingetragen.

Insgesamt wurden die Daten von 230 Patienten nach Screening bezüglich Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie mit einbezogen.

Es wurde die Medikamentenlast (engl. Drugload) bestimmt und in die Tabelle mit eingetragen. Dies war wichtig zur Bildung von Extremgruppen für die spätere statistische Auswertung.

Die Medikamentenlast ist eine Größe mit der man, besser als bspw. durch die Anzahl der verordneten Medikamente, Aussagen zu Nebenwirkungen und Toxizität eines Medikaments treffen kann (Deckers et al., 1997). Die Medikamentenlast des Antikonvulsivums wurde definiert als das Verhältnis zwischen tatsächlich verordneter Tagesdosis und definierter (durchschnittliche, üblicherweise verordnete) therapeutische Tagesdosis (Deckers et al., 1997). Die definierte Tagesdosis für CBZ und OXC beträgt 1000 mg, die für ESL 800 mg (Deckers et al., 1997; WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2015).

Für die spätere Auswertung wurden die Daten der insgesamt 230 Patienten benutzt. Dafür wurde jeweils nur ein Messtag pro Patient ausgewählt. Dabei entschieden wir uns immer für den Tag, an dem die Medikamentenlast des Antikonvulsivums (bzw. die Gesamt- Medikamentenlast, sofern mehr als eines der drei untersuchten Antikonvulsiva eingenommen wurde) des Patienten am höchsten war. Gab es mehrere äquivalente Medikamentenlast- Werte, so wurde der Tag genommen, an dem der Natriumspiegel

seinen niedrigsten Wert hatte. War auch dieser äquivalent, wurde der chronologisch erste Tag verwertet.

3.2 Genom- Amplifikation und SNP- Genotypisierung

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die gelagerten DNA-Proben der insgesamt 230 Patienten zwischen Anfang März und Ende September 2014 auf die Allelverteilung der insgesamt 7 SNPs des AVPR2- Gens hin untersucht. Dieser experimentelle Teil fand im Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) in Bonn statt.

Die bereits vorhandenen DNA- Proben wurden von der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Wolfram Kunz zur Verfügung gestellt.

Insgesamt wurden 230 Proben DNA aus EDTA- Blut analysiert. Jede Probe enthielt 2000 ng DNA in mindestens 10 µl Lösung.

Bei der Analyse wurde sich auf SNPs des AVPR2- Gens beschränkt, da die Wirkung von CBZ auf sein Rezeptorprotein (mit Entwicklung einer Hyponatriämie) bereits beschrieben worden war (in Kapitel 2.5 bereits dargestellt) (De Bragança et al., 2010).

Es wurden SNPs ausgewählt, für die entweder schon eine hohe Allelfrequenz beschrieben worden war (rs3761527.AVPR2, rs5196.AVPR2, rs5201.AVPR2 und rs73627263.AVPR2), oder solche mit niedriger Allelfrequenz, aber bereits beschriebenen funktionellen Bedeutungen (rs104894759.AVPR2, rs104894756.AVPR2 und rs104894752.AVPR2). Insgesamt wurden sieben SNPs untersucht, wobei sich bei der Auswahl bezüglich SNPs mit hohen Allelfrequenzen bzw. funktioneller Bedeutung auf die Daten von "dbSNP" sowie "OMIM" (Online Mendelian Inheritance in Man) berufen wurde. Dies sind online-Datenbanken in denen SNPs des Menschen erfasst und wissenschaftlich beschrieben sind (National Center for Biotechnology Information, 2019; Online Mendelian Inheritance in Man, 2019).

Da Angaben zur Ethnie der 230 untersuchten Patienten oftmals nicht vorhanden waren, wurde sich bei der Auswahl von SNPs mit häufiger Allelfrequenz an den Allelfrequenzangaben der europäischen Population orientiert, entsprechend des Standortes der Klinik für Epileptologie. Eine Übersicht gibt Tabelle 2 (National Center for Biotechnology Information, 2019; Online Mendelian Inheritance in Man 2019).

Tab. 2 : Übersicht SNPs und Auswahlkriterien

SNP	Verteilung bzw. Frequenz in der europäischen Population, je nach Studie	Funktionelle Bedeutung
rs 5201	G: 29,57 - 32,37 % A: 67,63 - 70,43 %	-
rs3761527	C: 31,19 - 32 % T: 68,81 - 68 %	-
rs5196	T: 0 - 0,14 % A: 99,86 - 100 %	-
rs73627263	A: 0 - 0,03 % G: 99,97 - 100 %	-
rs104894759	C: 0 % T: 100 %	diabetes insipidus, nephrogenic, X - linked
rs104894756	A: 0 % G: 100 %	diabetes insipidus, nephrogenic, X - linked
rs104894752	Keine Frequenz (bislang nur für A beschrieben)	diabetes insipidus, nephrogenic, X - linked

(National Center for Biotechnology Information, 2019; Online Mendelian Inheritance in Man 2019)

Amplifikation

Im ersten Schritt wurde die DNA jedes Patienten vervielfältigt (amplifiziert), um genügend Material für den zweiten Schritt, die Genotypisierung zu bekommen. Mittels REPLI- g[®] Midi Kit (Qiagen, Niederlande) wurde eine Whole Genome Amplifikation durchgeführt. Durch das REPLI-g[®] - Kit kann laut Hersteller eine hoch einheitliche Vervielfältigung entlang des gesamten Genoms mit extrem geringer Sequenzverzerrung gewährleistet werden. Außerdem können bei isothermer Temperatur mit einer speziellen DNA- Polymerase bis zu 100 Kilobasen (kb) repliziert werden, ohne dass sie sich von der DNA- Matrize löst. Diese Polymerase hat eine 3'-5'- Korrekturleseaktivität, welche für eine hohe Genauigkeit während der Replikation sorgen soll. Sie wird während der Anwesenheit von Exonuclease- resistenten Primern benutzt. Dies soll hohe Gewinne an DNA- Produkten ermöglichen.

Durchführung:

1. Buffer D1 (Denaturations- Puffer) für 98 Proben

Zuerst wurde ein sogenannter Buffer D1 (Denaturations- Puffer) hergestellt. Hierzu wurden 126 µl DLB Buffer reconstituted mit 448 µl Nuclease- freiem Wasser in ein Reaktionsgefäß versetzt, gevortext und kurz abzentrifugiert. Alle anderen Reagenzien wurden ebenfalls gevortext und kurz abzentrifugiert.

2. Buffer N1 (Neutralisations- Puffer) für 98 Proben

168 µl Stopp- Lösung wurde mit 952 µl Nuclease- freiem Wasser versetzt, um den sogenannten Neutralisations- Puffer für 98 Proben herzustellen.

Anschließend wurde 5 µl gDNA- Probe mit 5 µl D1 Buffer gemischt, kurz abzentrifugiert und 3 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde jeweils 10 µl N1- Buffer zugegeben und nochmals gemischt und abzentrifugiert. Schließlich erhielt man 20 µl denaturierte gDNA.

3. Herstellung des Mastermix auf Eis für die Proben

Für die Herstellung des sogenannten Mastermix wurden schließlich 2750 ml Reaktions- Puffer mit 95 µl DNA- Polymerase versetzt. Je 30 µl Mastermix wurden mit 20 µl denaturierter gDNA gemischt, 16h bei 30 °C und 3 min bei 65 °C im Thermozykler inkubiert, sodass wir schließlich genug amplifizierte gDNA erhielten.

SNP- Genotypisierung

Für die Genotypisierung wurde die LightSNP Assay-Methode (TibMolBiol, Deutschland) verwendet.

Hierbei können durch Schmelzkurven- basierte Tests Mutationen erkannt werden, die unter einer molekularen, fluoreszierenden Sonde liegen.

Laut Herstellerangaben enthalten Light SNP Assays zwei Primer und eine Sonde. Mittels Primer wird zunächst durch Polymerase- Kettenreaktion (engl. Polymerase-Chain- Reaction, PCR) eine Kopie des zu untersuchenden DNA- Abschnitts erzeugt. Dieser ist meist 80- 250 Basen lang. An einen seiner Stränge kann die Sonde binden. Grundsätzlich gilt, dass die Sonde aufgrund der unterschiedlichen Elektronenkonfigurationen im ungebundenen Zustand einen niedrigeren Fluoreszenzwert aufweist, als im gebundenen.

Bei der Sonde handelt es sich um den Farbstoff Fluoreszin, welcher an ein Stück DNA gebunden ist. Diese enthält die komplementären Basen eines Allels des zu untersuchenden SNPs, z.B. die des homozygoten Wildtyps.

Hieran kann nun der zu untersuchende, in der PCR erzeugte DNA- Strang binden.

Entspricht das Allel des zu untersuchenden SNPs auf dem DNA- Strang nun ebenfalls dem homozygoten Wildtyp, so ist die Bindung stärker (Sonde und Allel stimmen überein), als wenn es sich um ein differentes homozygoten Allel handelt (Fehlpaarung, engl. Mismatch). Bei schwachen Bindungen tritt der Schmelzpunkt entsprechend bei niedrigerer Temperatur auf, als bei starken Bindungen. Bei Heterozygotie sieht man zwei Schmelzpunkte.

In einem Diagramm wurde nun die Temperatur gegen die Fluoreszenz aufgetragen. In der ersten Ableitung erscheint der Wendepunkt der Kurve als Höhepunkt bzw. Schmelzpunkt (engl. Melting Peak). Die entsprechende Temperatur der Peaks wurde nun auf der x- Achse abgelesen und dem entsprechenden Allel (z. B. homozygoter Wildtyp) zugeordnet.

Durchführung:

Die gDNA- Konzentrationen der zu messenden Proben wurden in einem Nanodrop™ (Thermo Fisher Scientific, USA) bestimmt und mit Nuclease- freiem Wasser auf 50 ng (+/- 5 ng) in 5 µl eingestellt. Für den sogenannten Reagent Mix wurden anschließend 100 µl PCR- geeignetes Wasser mit dem LightSNP-Assay- Reaktionsgefäß (TibMolBiol, Deutschland), das alle Primer und Sonden für 96 Proben erhält, gelöst, gevortext und kurz abzentrifugiert.

Danach wurden für den Mastermix wiederum je Probe 10,4 µl PCR- geeignetes Wasser, 1 µl Reagent mix, 2 µl FastStart NDNA- Master HybProbe (Roche, Schweiz) und 1,6 µl MgCl₂ (25 mM) mit 5 µl DNA- Probe (50 ng) vermischt. Je 15 µl wurden anschließend in eine 96er well- Plate pipettiert. Danach wurden die Proben einzeln zugegeben (50 ng/5 µl) und mit einer sogenannten Seal Foil, einer speziellen Verschlussfolie, versehen. Die Platte wurde schließlich bei 3000g für 2 min abzentrifugiert. Die Plattenbelegung wurde im Lightcycler® 480 (Roche, Schweiz) eingegeben und mit dem von TibMolBiol vorgegebenen Programm durchgemessen.

Eine Übersicht zu den verwendeten Materialien geben Tabellen 3 und 4.

Tab. 3: Übersicht der verwendeten Chemikalien und Apparaturen

Material	Hersteller, Land
230 DNA Proben mit 2000 ng DNA in min 10 µl Lösung	Life and Brain GmbH, Deutschland
REPLI- G® - Midi Kit für 98 Proben	Qiagen, Niederlande
574 µl Buffer D1 (Denaturations Puffer):	Labor
126 µl DLB Buffer resconstituted	Qiagen, Niederlande
448 µl Nuclease- freies Wasser	Qiagen, Niederlande
1120 µl Buffer N1 (Neutralisations Puffer):	Labor
168 µl Stopp- Lösung	Qiagen, Niederlande
952 µl Nuclease- freies Wasser	Qiagen, Niederlande
3000 µl Master Mix (Amplifikation):	Labor
2900 µl Reaktionspuffer	Qiagen, Niederlande
100 µl DNA Polymerase	Qiagen, Niederlande
Master Mix (Genotypisierung) für eine Reaktion mit einer DNA- Probe zu je 50 µg	Labor
10,4 µl PCR- gereinigtes Wasser	Roche, Schweiz
2 µl Fast Start DNA- Master HybProbe	Roche, Schweiz
1,6 µl MgCl ₂ (25 mM)	Roche, Schweiz
Reagent Mix (für 96 Proben):	Labor
LightSNP-Assay Vial (Lyophyllisat)	TibMolBiol, Deutschland
100 µl PCR- gereinigtes Wasser	Roche, Schweiz

Tab. 4: Übersicht der verwendeten Apparaturen

Apparatur	Hersteller, Land
Nanodrop™	(Thermo Fisher Scientific, USA)
Vortexer	Vortex VWR VV3
Centrifuge 5415R	Eppendorf AG, Deutschland
Light Cycler® 480 Sealing Foil	Roche, Schweiz
Light Cycler® 480 Multiwell Plates	Roche, Schweiz
Light Cycler® 480	Roche, Schweiz
Thermocycler	Eppendorf AG, Deutschland
Pipettenspritzen	Eppendorf AG, Deutschland
Eppendorfgefäße	Eppendorf AG, Deutschland

3.3 Statistische Methoden

Im letzten Teil wurden die Ergebnisse statistisch ausgewertet. Es sollte gezeigt werden, dass die Entwicklung einer Hyponatriämie nicht von der Dosis (hier verwendete Größen Medikamentenlast und Serumspiegel CBZ, OXC oder ESL) des Antikonvulsivums, sondern von einer ungleichen Allelverteilung auf dem AVPR2- Gen abhängt.

Die Merkmale Natriumspiegel, Hyponatriämie, SNP, Medikamentenlast und Serumspiegel wurden auf ihre gegenseitige Unabhängigkeit hin untersucht.

Bei den Allelverteilungen wurde zusätzlich getestet, ob die Verteilung im Hardy-Weinberg- Equilibrium (HWE) lag. Aufgrund der Hemizygotie der Männer für dieses Gen konnte dies nur für die weiblichen Patienten erfolgen (Juul et al., 2014).

Es wurde sich hierzu verschiedener statistischer Tests und Software- Programme bedient.

Mit dem Programm R 3.2.5. wurden alle mathematischen Tests durchgeführt.

Es wurde die folgende Nullhypothese festgelegt: "Es gibt keinen Zusammenhang zwischen der Allelverteilung eines SNPs und dem Natriumspiegel unter CBZ-, OXC- oder ESL- Einnahme".

Die Alternativhypothese hingegen lautet: "Es existiert ein Zusammenhang".

Festlegung von Testverfahren und Signifikanzniveau

Als Testverfahren wurden der Vierfelder- bzw. Chi- Quadrat- Test, der Fisher- Test, sowie der Produktmoment- Korrelationskoeffizient nach Pearson gewählt. Anschließend wurde die entsprechende Testgröße (entsprechend Chi- Quadrat, F oder r) bestimmt. Schließlich wurde der p- Wert, nachdem Chi- Quadrat, F bzw. r bestimmt wurden, mit der Software errechnet.

Folgende Merkmale wurden auf ihre gegenseitige Unabhängigkeit mittels Kontingenztafel und Bestimmung von Chi- Quadrat, sowie anschließender Berechnung des p- Werts geprüft:

"Hyponatriämie" – "Allelverteilung SNP" (jeweils eins der sieben ausgewählten SNPs des AVPR2- Gens),

"Natriumspiegel" – "Allelverteilung SNP" (jeweils eins der sieben ausgewählten SNPs des AVPR2- Gens).

Bei unterbesetzten Kontingenztafeln wurde anstelle des Chi-Quadrat-Tests der exakte Fisher- Test verwendet.

Alle drei Kombinationen wurden jeweils für Frauen, Männer, sowie für die Gesamtpopulation getestet.

Für folgende Merkmalskombinationen wurde mittels Produktmoment- Korrelationskoeffizienten nach Pearson und anschließender p- Wert- Bestimmung getestet:

"Medikamentenlast CBZ" gegen "Natriumspiegel",
 "Medikamentenlast OXC" gegen "Natriumspiegel",
 "Medikamentenlast ESL" gegen "Natriumspiegel",
 "Serumspiegel CBZ" gegen "Natriumspiegel",
 "Serumspiegel OXC" gegen "Natriumspiegel",
 sowie "Serumspiegel ESL" gegen "Natriumspiegel".

Für alle Tests wurde eine individuelle Irrtumswahrscheinlichkeit α von 5 % unterstellt.

Mittels Regressionsanalyse wurde zum Schluss nochmals überprüft, welchen Einfluss der Serumspiegel und die Medikation (Medikamentenlast) auf einen potentiellen, in der bivariaten Analyse gezeigten Zusammenhang zwischen Allelverteilung und Hyponatriämie (logistische Regression) bzw. Natrium-Serumspiegel (lineare Regression) haben. Hierzu wurden jeweils das dichotome Merkmal Hyponatriämie bzw. das kontinuierliche Merkmal Natriumspiegel als abhängige Variable betrachtet und durch die Kovariaten Serumspiegel und Medikamentenlast, sowie die Allelverteilung des Markers vorhergesagt. Der resultierende p- Wert für den genetischen Marker ist dabei um die Effekte der anderen Prädiktoren adjustiert.

Hierbei wurde jeweils der Gesamt- Serumspiegel, sowie die Gesamt- Medikamentenlast verwendet, da die drei Antikonvulsiva von den Patienten z.T. in Kombination eingenommen wurden.

4. Ergebnisse

4.1. Struktur der Patientengruppe

Es soll gezeigt werden, dass die Entwicklung einer Hyponatriämie nicht von Dosis oder Serumspiegel des Antikonvulsivums, sondern von der Allelverteilung des AVPR2- Gens abhängig ist.

Hierzu wurde zunächst die Alters- und Geschlechterverteilung, sowie die Verteilung von Hypo-, Eu- und Hypernatriämie in der Kohorte ermittelt. Außerdem wurde die Medikamentenlast und Serumspiegel des Antikonvulsivums, sowie der Natriumspiegel bestimmt. Zuletzt wurde die Allelverteilung untersucht.

Die Gesamtzahl der Patienten betrug 230. Diese befanden sich alle im Alter von 12 bis 75 Jahren. Das Durchschnittsalter lag bei 38,77 Jahren (arithmetischer Mittelwert \pm 13,47 Jahre Standardabweichung (SD)). Der Median lag bei 38,50 Jahren. Insgesamt waren 96 der 230 Patienten weiblichen (41,74 %) und 134 männlichen Geschlechts (58,26 %). Eine Übersicht bietet Tabelle 5.

Tab. 5: Gesamtzahl der Patienten, sowie die statistische Verteilung der Frauen, Männer und die Altersstruktur

	Anzahl	Alter in Jahren (Mittelwert) \pm SD	Alter in Jahren (Minimum)	Alter in Jahren (Maximum)	Median in Jahren
Gesamt	230	38,77 \pm 13,47	12	75	38,5
Frauen	96 (41,74 %)				
Männer	134 (58,26 %)				

4.2 Darstellung der Quantität eingenommener Antikonvulsiva in Form von Tagesdosis, Medikamentenlast und Serumspiegel

Tagesdosen

85 (37,0 %) der 230 Patienten hatten in der Vergangenheit CBZ in einer mittleren Tagesdosis von $1204 \text{ mg} \pm 487 \text{ mg SD}$ (Spanne 150 bis 2400 mg) eingenommen. Der Median betrug 1200 mg. OXC wurde von insgesamt 125 Patienten (54,3 %) in einer mittleren Tagesdosis von $1555 \text{ mg} \pm 618 \text{ mg SD}$ (Spanne 225 bis 3300 mg) eingenommen. Der Median betrug 1500 mg. ESL nahmen 20 Patienten (8,7 %) in einer mittleren Tagesdosis von $1350 \text{ mg} \pm 546 \text{ mg SD}$ (Spanne 400 mg bis 2400 mg) zu sich. Der Median lag hier bei 1200 mg.

Serumspiegel

Der Serumspiegel lag für CBZ im Mittel bei $9,56 \text{ mg/l} \pm 3 \text{ mg/l SD}$ (Spanne 3,5 mg/l bis 32,0 mg/l). Der Median betrug 9,25 mg/l. Der Mittelwert des OXC- Serumspiegels betrug $21,24 \text{ mg/l} \pm 8,84 \text{ mg/l SD}$ (Spanne 0 mg/l bis 45 mg/l). Der Median lag hier bei 21,85 mg/l. Für ESL lag der Serumspiegel im Mittel bei $15,10 \text{ mg/l} \pm 10,82 \text{ mg/l SD}$ (Spanne 2,5 mg/l bis 46 mg/l). Der Median betrug 15,1 mg/l.

Der Gesamtserumspiegel hatte einen Mittelwert von $16,78 \pm 9,60 \text{ SD}$ (Spanne 0 mg/l bis 50 mg/l). Der Median betrug hier 13,1 mg/l.

Medikamentenlast

Die Medikamentenlast hatten einen Mittelwert von $1,2 \pm 0,49 \text{ SD}$ (Spanne 0,15 bis 2,4) bei Patienten, die CBZ einnahmen. Der Median lag hier bei 1. Bei Patienten, die OXC einnahmen, lag die mittlere Medikamentenlast bei $1,56 \pm 0,62 \text{ SD}$ (Spanne 0,225 bis 3,3). Der Median betrug 1,5. Die mittlere Medikamentenlast von Patienten, die ESL einnahmen lag bei $1,69 \pm 0,68 \text{ SD}$ (Spanne 0,5 und 3). Der Median lag bei 1,5.

Die Gesamtmedikamentenlast hatte einen Mittelwert von $1,45 \pm 0,64 \text{ SD}$ (Spanne 0,15 – 4,95). Der Median betrug 1,45.

Eine Übersicht zu Tagesdosen, Serumspiegel und Medikamentenlast gibt Tabelle 6.

Tab. 6: Pharmakologische Werte (Tagesdosis, Serumspiegel, Medikamentenlast)

Wert	CBZ	OXC	ESL	Gesamt
Tagesdosis - Mittelwert [mg]	1204 ± 487 SD	1555 ± 618 SD	1350 ± 546 SD	
Tagesdosis - Minimum [mg]	150	225	400	
Tagesdosis - Maximum [mg]	2400	3300	2400	
Tagesdosis - Median [mg]	1200	1500	1200	
Serumspiegel - Mittelwert [mg/l]	9,56 ± 3 SD	21,24 ± 8,84 SD	15,1 ± 10,82 SD	16,78 ± 9,6 SD
Serumspiegel - Minimum [mg/l]	3,50	0	2,5	0
Serumspiegel - Maximum [mg/l]	32	45	46	50
Serumspiegel - Median [mg/l]	9,25	21,85	15,1	13,1
Medikamenten- last - Mittelwert (dimensionslos)	1,2 ± 0,49 SD	1,56 ± 0,62 SD	1,69 ± 0,68 SD	1,45 ± 0,64 SD
Medikamenten- last - Minimum (dimensionslos)	0,15	0,225	0,5	0,15
Medikamenten- last - Maximum (dimensionslos)	2,4	3,3	3	4,95
Medikamenten - last - Median (dimensionslos)	1,2	1,5	1,5	1,45

4.3 Laborwerte

Die Werte des Natrium-Serumspiegels lagen im Mittel bei $136,5 \text{ mmol/l} \pm 5,28 \text{ mmol/l}$ SD (Spanne 117 bis 147 mmol/l). Der Median betrug 138 mmol/l. 65 (28,26 %) der 230 Patienten wiesen mindestens einmal eine Hyponatriämie während der Antikonvulsiva-Einnahme auf, 165 (71,74 %) hatten stets eine Eu- (163 (70,87 %)), oder sehr selten eine Hypernatriämie (2 (0,87 %)). Eine Übersicht gibt Abbildung 3.

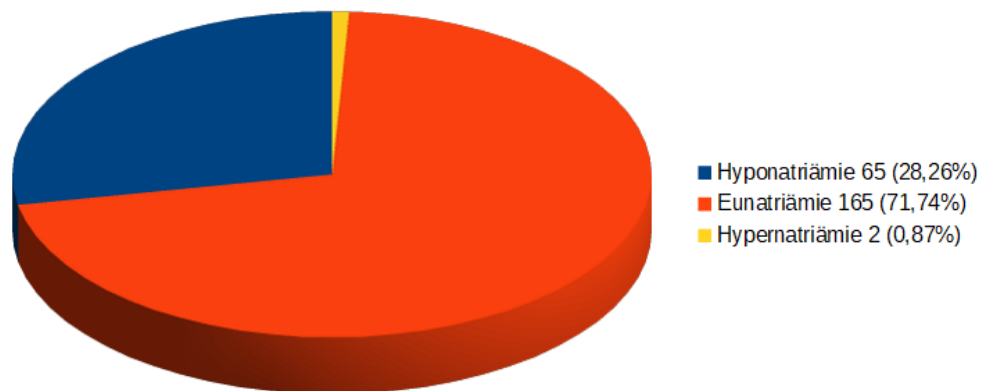


Abb. 3: Verteilung der Natriumspiegel

4.4 Korrelation zwischen Hyponatriämie und Medikamenten

Um zu zeigen, dass die Entwicklung einer Hyponatriämie nicht von der Menge der eingenommenen Antikonvulsiva, sondern von genetischen Faktoren (Allelverteilung) abhängt, wurde zunächst der Zusammenhang zwischen Medikamentenlast bzw. Serumspiegel der Antikonvulsiva und Natriumspiegel untersucht. Hierzu wurde jeweils die Medikamentenlast und der Serumspiegel gegen den Natriumspiegel in ein Koordinatensystem aufgetragen und der Korrelationskoeffizient r ermittelt.

Signifikant zeigte sich, dass der Natriumspiegel nur bei hoher ESL- Medikamentenlast ($r=-0,47$; $p=0,04$) und bei hohem ESL- Serumspiegel ($r=-0,48$; $p=0,03$) sank.

Beides ist in Abbildung 4 und 5 dargestellt. Für die Medikamentenlast und Serumspiegel von CBZ und OXC wurde hingegen keine signifikante Korrelation zum Natriumspiegel

gefunden.

Dies stellte einen Unterschied zum in der Literatur beschriebenen Zusammenhang zwischen der CBZ- bzw. OXC- Dosis mit dem Natriumspiegel dar (Dong et al., 2005; Lin et al., 2010).

In Tabelle 7 sind die getesteten Merkmale aller r- und p- Werte zusammengefasst (signifikante Werte mit Stern).

Alle Abbildungen mit nicht signifikanten Ergebnissen zu Medikamentenlast, Serum- und Natriumspiegel befinden sich im Anhang (Abbildungen 9-12).

Tab. 7: Korrelation zwischen Serumspiegel bzw. Medikamentenlast mit dem Natriumspiegel

Getestete Merkmale	r	p- Wert
CBZ- Medikamentenlast gegen Natriumspiegel	0,12	0,27
OXC- Medikamentenlast gegen Natriumspiegel	-0,04	0,63
ESL- Medikamentenlast gegen Natriumspiegel	-0,47	0,04*
CBZ- Serumspiegel gegen Natriumspiegel	0,02	0,85
OXC- Serumspiegel gegen Natriumspiegel	0,04	0,69
ESL- Serumspiegel gegen Natriumspiegel	-0,48	0,03*

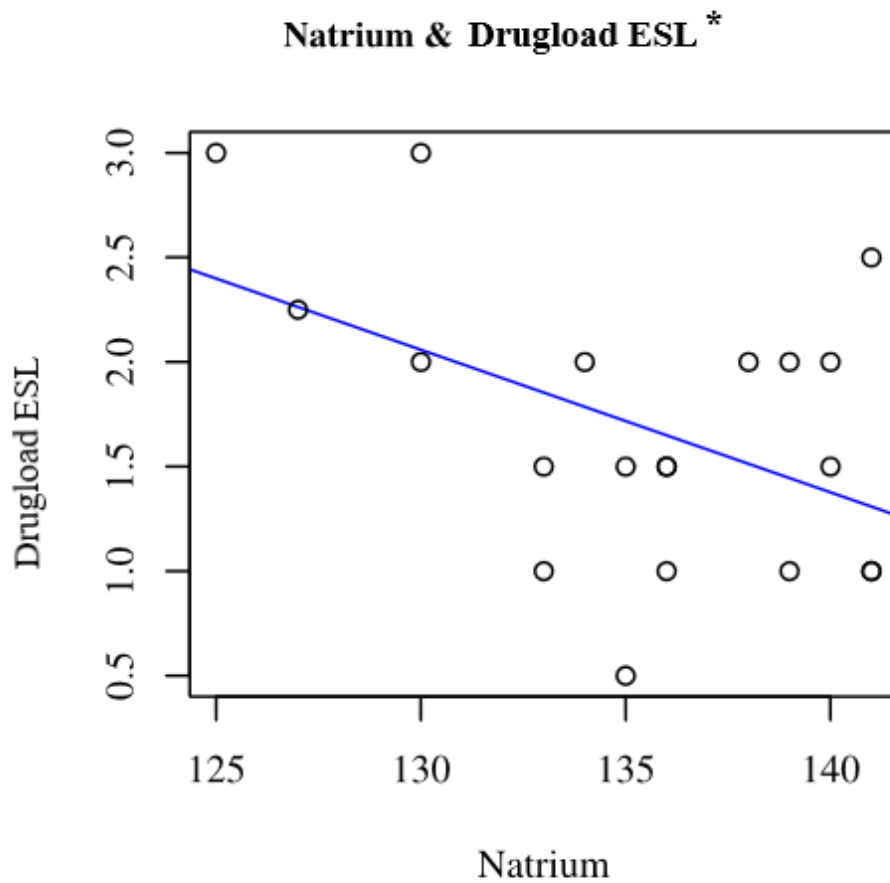


Abb. 4: Aufgetragen sind das Serum- Natrium (in mmol/l) gegen die Medikamentenlast (Drugload, dimensionslos) von ESL als Punktwolke: Signifikant fallendes Serum-Natrium bei hoher Medikamentenlast. Stern* = Signifikanz.

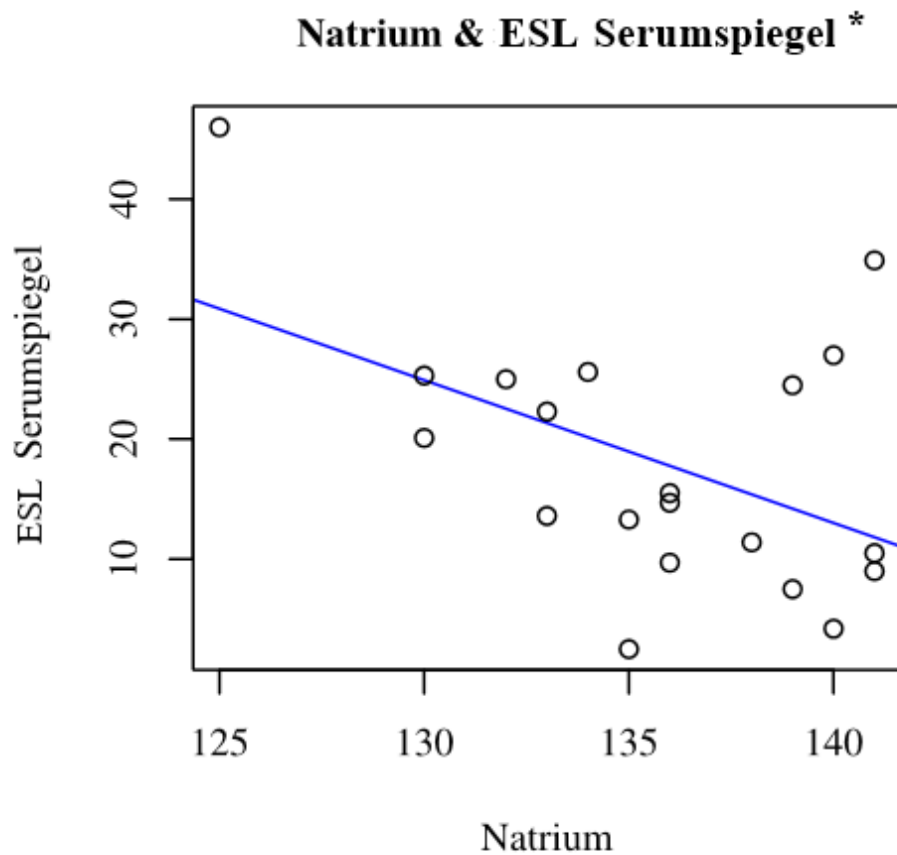


Abb. 5: Aufgetragen sind das Serum- Natrium (in mmol/l) gegen den Serumspiegel (in mg/l) von ESL als Punktwolke: Signifikant fallendes Serum- Natrium bei hohem Serumspiegel. Stern* = Signifikanz.

4.5 Ergebnisse der Genotypisierung

Um einen Zusammenhang zwischen genetischer Prädisposition mit dem Natriumspiegel zu zeigen, wurden die Patienten für die sieben ausgewählten SNPs auf ihre Allele hin genotypisiert. Da das AVPR2- Gen auf dem X- Chromosom liegt, wurden die Ergebnisse der Genotypisierung auch geschlechtsspezifisch ausgewertet (Juul et al., 2014).

Ob die Verteilung der Allele im Hardy- Weinberg- Equilibrium (HWE) lag, konnte aufgrund der entsprechenden Hemizygotie der Männer für dieses Gen nur bei den weiblichen Patienten geprüft werden (Juul et al., 2014).

Von den insgesamt 230 untersuchten Patienten konnten für den jeweiligen SNP 226

bzw. 227 Patienten in die Auswertung einbezogen werden. Bei 3 bzw. 4 Patientenproben lieferte die Genotypisierung, wahrscheinlich wegen schlechter Probenqualität, kein auswertbares Ergebnis.

Bei fünf der sieben untersuchten SNPs (rs73627263.AVPR2, rs5196.AVPR2, rs104894759.AVPR2, rs104894756.AVPR2 und rs104894752.AVPR2) zeigte sich, dass alle untersuchten Patienten (sowohl Männer als auch Frauen) homozygote Wildtypträger waren.

Bei der Untersuchung wurden nur bei den SNPs rs3761527.AVPR2 und rs5201.AVPR2 multiple Allelverteilungen gefunden.

Die Ergebnisse wurden schließlich nach Geschlechtern getrennt betrachtet. Bei der Genotypisierung der weiblichen Patientinnen zeigte sich folgende Verteilung:

Jeweils 1 Ergebnis pro untersuchtem SNP der 96 Patientinnen konnte nicht ausgewertet werden. Eine heterogene Verteilung zeigte sich nur für die SNPs rs3761527.AVPR2 und rs5201.AVPR2. Die Verteilungen der Allele lagen bei den Frauen alle im HWE (p jeweils 1) mit Ausnahme des SNPs rs5201.AVPR2 ($p=0,00116$).

Für die Genotypisierung der männlichen Patienten kamen folgende Ergebnisse zu Stande:

Jeweils 2- 3 Ergebnisse pro untersuchtem SNP der 134 männlichen Patienten konnten nicht ausgewertet werden. Eine heterogene Verteilung zeigte sich ebenfalls für die SNPs rs3761527.AVPR2 und rs5201.AVPR2.

Ausführliche Ergebnisse der Genotypisierung sind in Tabelle 8, sowie den Abbildungen 13- 15 im Anhang dargestellt.

Tab. 8: Allelverteilung

SNP	Allelverteilung gesamt	Allelverteilung weiblich mit HWE	Allelverteilung männlich
rs73627263.AVPR2	GG 226 (100 %)	GG 95 (100 %) (p=1)	GG 131 (100 %)
rs5196.AVPR2	AA 226 (100 %)	AA 95 (100 %) (p=1)	AA 131 (100 %)
rs104894759.AVPR2	TT 227 (100 %)	TT 95 (100 %) (p=1)	TT 132 (100 %)
rs104894756.AVPR2	GG 226 (100 %)	GG 95 (100 %) (p=1)	GG 131 (100 %)
rs104894752.AVPR2	AA 227 (100 %)	AA 95 (100 %) (p=1)	AA 132 (100 %)
rs3761527.AVPR2	AA 135 (59,5 %), AG 46 (20,3 %), GG 46 (20,3 %)	AA 46 (48,4 %), AG 41 (43,2 %), GG 8 (8,4 %) (p=1)	AA 89 (67,4 %), AG 5 (3,8 %), GG 38 (28,8 %)
rs5201.AVPR2	AA 134 (59 %), AG 52 (22,9 %), GG 41 (18,1 %)	AA 42 (44,2 %), AG 30 (31,6 %), GG 23 (24,2 %) (p=0,00116*)	AA 92 (69,7 %), AG 22 (16,7 %), GG 18 (13,6 %)

4.6 Zusammenhänge zwischen Allelverteilung der SNPs mit Hyponatriämie und Natriumspiegel

Es wurden die statistischen Zusammenhänge zwischen Allelverteilung der 7 SNPs sowohl mit dem Natriumspiegel, als auch mit der Hyponatriämie untersucht. Hierbei wurde der p- Wert mittels Fischer- bzw. Chi- Quadrat- Test bestimmt. Er wurde sowohl nach Geschlechtern getrennt, als auch für die Gesamtpopulation ermittelt.

Frauen, welche die Allele AA und AG im SNP rs5201.AVPR2 besaßen, zeigten signifikant häufiger eine Hyponatriämie, als solche die das Allel GG trugen ($\text{Chi}^2 = 6,0003$; $p = 0,05$). Darüber hinaus zeigten diese Patientinnen auch signifikant niedrigere Natriumspiegel ($F=4,677$; $p = 0,012$).

Bei den Männern entwickelten jene mit den Allelen AA und GG im SNP rs5201.AVPR2 signifikant häufiger eine Hyponatriämie, als solche mit dem Allel AG ($\chi^2=6,892$; $p=0,032$). Eine Signifikanz zwischen SNP und Natriumspiegel wurde bei den Männern jedoch nicht gefunden.

Die bei den Frauen beobachtete Signifikanz zwischen der Hyponatriämie bzw. dem Verhalten des Natriumspiegels mit der Allelverteilung des Markers rs5201.AVPR2 zeigte sich auch im Regressionsmodell, wobei sowohl um die Gesamt- Medikamentenlast, als auch den Gesamt- Serumspiegel der Antikonvulsiva adjustiert wurde.

Ein entsprechendes Ergebnis zeigte sich auch bei den Männern, jedoch nur im Hinblick auf das Merkmal Hyponatriämie:

Allelverteilung rs5201.AVPR2 (Frauen) – Hyponatriämie: p- Wert nach Adjustierung 0,041;

Allelverteilung rs5201.AVPR2 (Frauen) – Natriumspiegel: p- Wert nach Adjustierung 0,03;

Allelverteilung rs5201.AVPR2 (Männer) – Hyponatriämie: p- Wert nach Adjustierung 0,012.

Eine Übersicht zu den signifikanten Ergebnissen bieten Tabelle 9 und 10, jeweils für die SNPs mit den multiplen Allelverteilungen rs3761527.AVPR2 und rs5201.AVPR2, sowie die Abbildungen 6 bis 8. Nicht signifikante Abbildungen befinden sich im Anhang (Abb. 16-24).

Tab. 9: Zusammenhang zwischen Natriumspiegel und V2R- Genotyp

V2R- Variante	Gesamtkohorte	Männer	Frauen
rs3761527.AVPR2	0,498 (0,608)	0,12 (0,887)	0,378 (0,378)
rs5201.AVPR2	0,919 (0,4)	0,581 (0,561)	4,677 (0,012*; 0,03*)

Tabelle 9 zeigt die getesteten Merkmale V2R- Genotyp und Natriumspiegel. Dargestellt sind jeweils der F- Wert mit dem entsprechenden p- Wert, gefolgt von dem p- Wert nach Adjustierung in Klammern.

Signifikante Ergebnisse mit Stern*

Tab. 10: Zusammenhang zwischen Hyponatriämie und V2R- Genotyp

V2R- Variante	Gesamtkohorte	Männer	Frauen
rs3761527.AVPR2	0,472 (0,79)	1,732 (0,421)	0,631 (0,73)
rs5201.AVPR2	0,254 (0,881)	6,892 (0,032*; 0,012*)	6,003 (0,05*; 0,041*)

Tabelle 10 zeigt die getesteten Merkmale V2R- Genotyp und Hyponatriämie. Dargestellt sind jeweils Chi- Quadrat mit dem entsprechenden p- Wert, gefolgt von dem p- Wert nach Adjustierung in Klammern.

Signifikante Ergebnisse mit Stern*

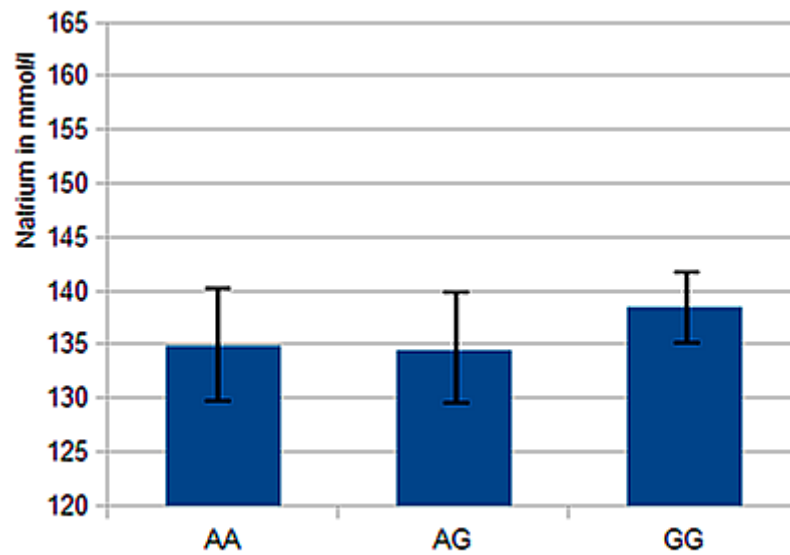


Abb. 6: Allele des SNPs rs5201.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die weiblichen Patienten*.

Abbildung 6 zeigt den durchschnittlichen Serum- Natriumwert in mmol/l für die drei Allele AA, AG und GG des SNPs rs5201.AVPR2 für die weiblichen Patienten. Die schwarzen Balken stellen die SD dar. Stern* = Signifikanz.

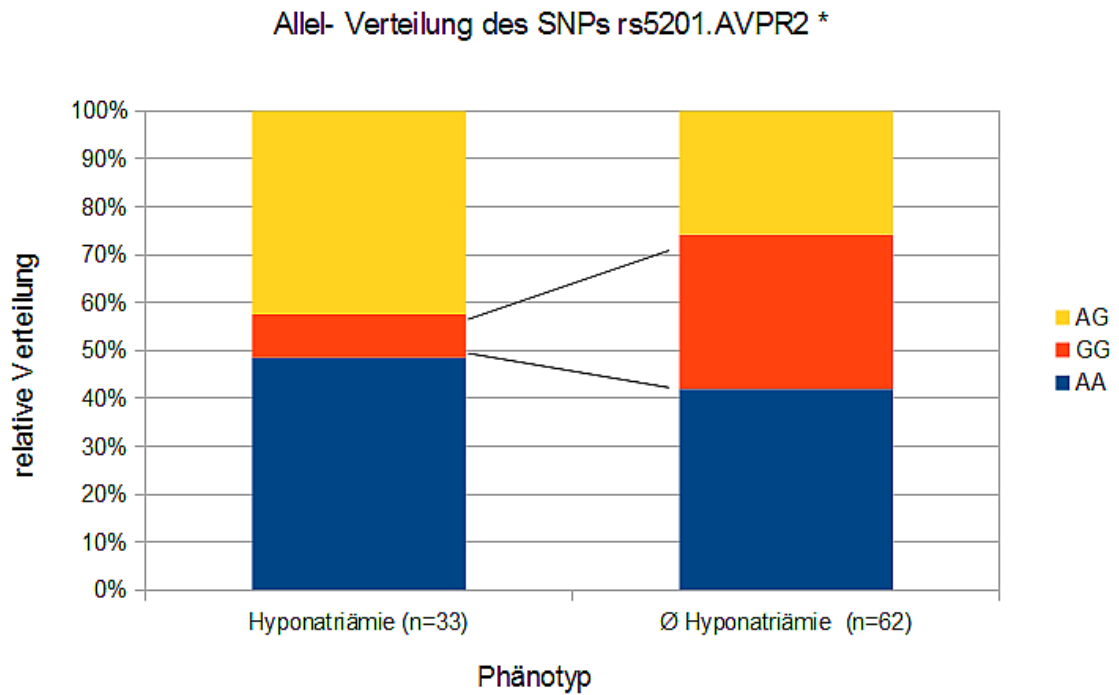


Abb. 7: Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die weiblichen Patienten.

Die Abbildungen 7 zeigt die absoluten und relativen Häufigkeiten der Allele des SNPs rs5201.AVPR2 für die weiblichen Patientinnen jeweils mit und ohne Hyponatriämie.

Stern* = Signifikanz.

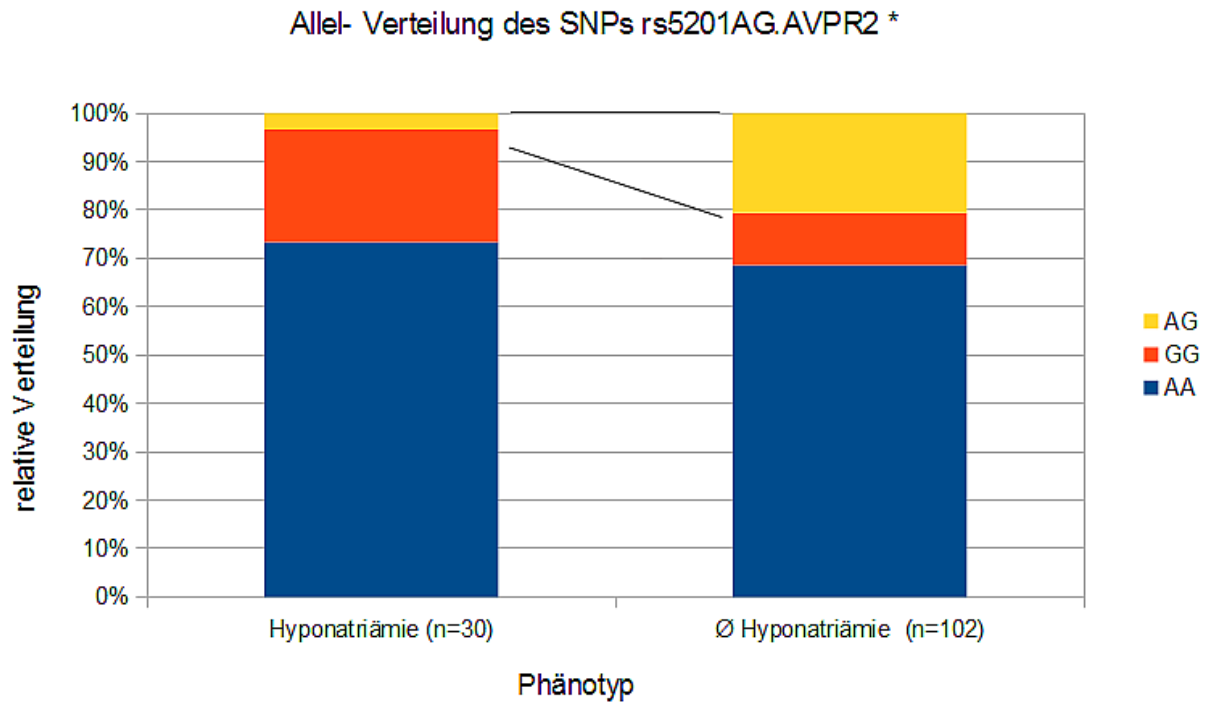


Abb. 8: Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die männlichen Patienten. Die Abbildung 8 zeigt die absoluten und relativen Häufigkeiten der Allele des SNPs rs5201.AVPR2 für männlichen Patienten jeweils mit und ohne Hyponatriämie. Stern* = Signifikanz.

5. Diskussion

Es sollte geprüft werden, ob der Entwicklung einer Hyponatriämie unter Einnahme von CBZ, OXC oder ESL eine genetische Prädisposition zugrunde liegt.

Dabei wurde basierend auf der Annahme, dass der V2R eine relevante pathophysiologische Rolle spielt, die Allelverteilung ausgewählter SNPs im AVPR2- Gen bei Menschen mit Epilepsie untersucht (De Bragança et al., 2010). Außerdem sollte nach geschlechtsspezifischen Unterschieden geschaut werden, aufgrund der Lokalisation des AVPR2- Gens auf dem X- Chromosom (Juul et al., 2014).

Es wurde gezeigt, dass insgesamt 65 (28,26 %) der 230 Patienten mindestens einmal eine Hyponatriämie unter Einnahme von CBZ, OXC bzw. ESL (einzeln oder in Kombination) entwickelten.

Es wurde geprüft, ob es einen Zusammenhang zwischen der Medikamentendosis (hier gewählte Größen Medikamentenlast und Serumspiegel) und dem Natriumspiegel gab.

Lediglich beim ESL wurde eine signifikant negative Korrelation zwischen dem Serumspiegel ($r = -0,48$; $p = 0,03$) und der Medikamentenlast ($r = -0,47$; $p = 0,04$) des Medikaments mit dem Natriumspiegel gefunden. Unser Patientenkollektiv von 20 Individuen, welche ESL einnahmen war jedoch relativ gering.

Für Serumspiegel und Medikamentenlast von CBZ und OXC wurde kein signifikanter Zusammenhang mit dem Serum- Natrium festgestellt.

Dies stellt einen Unterschied zu dem in der Literatur von Lin bzw. Dong und Kollegen beschriebenen Zusammenhang, zwischen der CBZ- bzw. OXC- Dosis mit dem Natriumspiegel, dar (Dong et al., 2005; Lin et al., 2010).

In der Studie von Lin und Kollegen wurde allerdings ein kleineres Patientenkollektiv, als bei unserer Untersuchung gewählt (Lin et al. : 73 Patienten, welche OXC einnahmen; unsere Studie: 125 Patienten, welche OXC einnahmen) (Lin et al., 2010). Die durchschnittliche Tagesdosis aller untersuchten Patienten lag mit ca. 1000 mg OXC (Lin et al.) ebenfalls weit unter unserer Durchschnittsdosis von 1555 mg OXC/d (Lin et al., 2010).

Auch Dong und seine Mitarbeiter konnten nur eine schwache Korrelation zwischen der

CBZ – Dosis und dem Serumnatrium nachweisen ($p=0,11$) (Dong et al., 2005). Einen signifikanten Zusammenhang zwischen der OXC– Dosis und dem Natriumspiegel konnten sie, ebenso wie wir, nicht nachweisen (Dong et al., 2005).

Nach unserer Genotypisierung der 7 ausgewählten SNPs, wurde jedoch eine Signifikanz zwischen Allelverteilung und Hyponatriämie, sowie Allelverteilung und Serumnatrium festgestellt:

Bei den weiblichen Patienten gab es für die Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 eine Signifikanz mit dem Phänotyp "Hyponatriämie" unter Einnahme mindestens eines der drei Antikonvulsiva. Ebenso wurde ein Zusammenhang mit dem Natriumspiegel gefunden.

Bei Patientinnen mit Hyponatriämie, war somit die Verteilung der Allele im SNP rs5201.AVPR2 signifikant ungleich:

Patientinnen, die eine Hyponatriämie entwickelten, trugen signifikant häufiger die Allele AA und AG im SNP rs5201.AVPR2. Der Natriumspiegel bei diesen Allelen war ebenfalls signifikant niedriger.

Von den sieben untersuchten SNPs des AVPR2- Gens zeigte sich auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem SNP rs5201.AVPR2 und dem Phänotyp Hyponatriämie, beim männlichen Geschlecht:

Männer, welche die Allele AA und GG trugen, entwickelten signifikant häufiger eine Hyponatriämie, als jene mit dem Allel AG im SNP rs5201.AVPR2.

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen SNP und Natriumspiegel wurde bei den Männern jedoch nicht gefunden.

Somit konnte auch ein möglicher geschlechtsspezifischer, phänotypischer Unterschied gezeigt werden.

Genetische Prädisposition zur Hyponatriämie unter CBZ, OXC und ESL

Signifikant wurde gezeigt, dass es einen genetischen Zusammenhang beim weiblichen Geschlecht für die Entwicklung einer Hyponatriämie bei Einnahme mindestens eines der drei untersuchten Antikonvulsiva gab. Auch für das Verhalten des Natriumspiegels konnten genetische Unterschiede gezeigt werden.

Wie Berghuis und Kollegen beschreiben, erklärte bislang kein Gen, welches Regulatoren des Wasserabsorptionswegs enthält, einen kausalen Zusammenhang für

eine genetisch bedingte Hyponatriämie, die durch CBZ bzw. OXC verursacht wird (Berghuis et al., 2016).

In der Vergangenheit gab es bereits Versuche, eine Ursache für die Entwicklung einer Hyponatriämie unter Einnahme von OXC oder CBZ zu finden (Berghuis et al., 2016; Dong et al., 2005; Lin et al., 2010).

Lin und Kollegen zeigten, dass potentielle Risikofaktoren für eine Hyponatriämie unter OXC- Einnahme, wie Alter, Geschlecht, Serum- Kreatinin, assoziierte Erkrankungen (Diabetes, Hirntumoren, Bluthochdruck etc.), sowie assoziierte Medikamente (Diuretika, Antikonvulsiva, Antihypertensiva) keine Bedeutung haben (Lin et al., 2010). Dong und Kollegen zeigten ebenfalls, dass Alter, Geschlecht oder andere Antikonvulsiva bei einigen Patienten nur geringen Einfluss auf die Entwicklung einer Hyponatriämie durch CBZ bzw. OXC haben (Berghuis et al., 2016; Dong et al., 2005).

Lin und Kollegen suchten bereits 2010 nach weiteren Risikofaktoren für eine OXC-induzierte Hyponatriämie (Lin et al., 2010). Hierbei konnte der erwähnte Zusammenhang zwischen einer Erhöhung der Tagesdosis von OXC und dem Abfall des Serum- Natriums als einziger Risikofaktor gezeigt werden (Lin et al., 2010).

Auch Dong und Kollegen zeigten 2005, dass es eine leichte Assoziation zwischen CBZ-Dosis und Natrium-Spiegel gibt (Dong et al., 2005).

In unserer Arbeit wurde ebenfalls geprüft, ob es einen Zusammenhang zwischen Medikamentendosis (hier gewählte Größen Medikamentenlast und Serumspiegel) und dem Natriumspiegel gab: Weder für die Medikamentenlast noch den Serumspiegeln von CBZ und OXC wurde in der vorliegenden Studie eine signifikante Assoziation mit dem Serum-Natriumspiegel festgestellt.

Lediglich beim ESL wurde eine signifikant negative Korrelation zwischen dem Natriumspiegel und dem Serum- ESL ($r = -0,48$; p - Wert 0,038), sowie der ESL-Medikamentenlast und dem Natriumspiegel gefunden ($r = -0,47$; p - Wert 0,04).

Jedoch war die Gruppe an Patienten, die ESL einnahmen relativ klein (20 ESL vs. 85 CBZ bzw. 125 OXC), sodass die Aussagekraft diesbezüglich gering ist. In einer kleinen Beobachtungsstudie mit 32 Patienten entwickelten 4 Patienten eine Hyponatriämie, die eingesetzten Dosen lagen zwischen 400-1200 mg pro Tag, also unter dem in unserer Studie berechneten Mittelwert (Gupta et al., 2015).

Ob ein robuster Zusammenhang zwischen dem Natriumspiegel und den Tagesdosen bzw. Serumspiegeln von CBZ, ESL und OXC besteht, kann derzeit weder mit den publizierten Daten noch mit unseren Ergebnissen eindeutig belegt werden. Zumindest legt die Datenlage nahe, dass nicht nur die Medikamentendosis, sondern auch genetische Faktoren eine Rolle zu spielen scheinen.

Bei den weiblichen Patienten wurde eine signifikante Ungleichverteilung der Allele des SNPs rs5201.AVPR2 bei Betroffenen mit und ohne Hyponatriämie nachgewiesen.

Dieser Zusammenhang zeigte sich auch in der Regressionsanalyse, bei der für die Gesamt- Medikamentenlast und den Gesamt- Serumspiegel des Antikonvulsivums adjustiert wurde.

Dies galt zwar auch für die männlichen Patienten, jedoch nur in Bezug auf das Merkmal Hyponatriämie und nicht auf das Merkmal Natriumspiegel.

Die von Juul und Kollegen erwähnten möglichen phänotypischen Unterschiede aufgrund der spezifischen Lage des AVPR2- Gens auf dem X- Chromosom konnten daher zum Teil reproduziert werden (Juul et al., 2014).

Die Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 lag mit $p= 0,00116$ bei den Frauen zwar nicht im (HWE), da der Erbgang jedoch X- chromosomal ist, kann eine Aussage zum HWE ohnehin nicht für die Gesamtpopulation getroffen werden (Juul et al., 2014).

Klinische Konsequenzen unserer beschriebenen Variante von rs5201 im AVPR2- Gen sind in der Literatur bislang nicht beschrieben.

Es sind jedoch zahlreiche andere genetische Varianten des AVPR2- Gens und deren klinische Auswirkungen bekannt (Online Mendelian Inheritance in Man, 2019; Saito et al., 2003).

Mutationen im AVPR2- Gen können zum Beispiel die Bindungsaffinität des Gs- Moleküls im Signaltransduktionsweg des V2Rs beeinflussen, wie Sadeghi und Kollegen beschrieben (Online Mendelian Inheritance in Man, 2019; Sadeghi et al., 1997). Eine verstärkte Aktivierung des V2Rs durch Mutationen in seinem Gen sind ebenfalls bekannt (Feldman et al., 2005, Online Medelian Inheritance in Man, 2019).

Der genaue Wirkmechanismus von CBZ, OXC oder ESL im Sammelrohr der Niere ist bislang in der Literatur nicht beschrieben worden. De Bragança und Kollegen zeigten lediglich allgemein, dass CBZ bei Ratten direkt am Vasopressin 2- Rezeptorkomplex im

Sammelrohr der Niere wirkt (De Bragnca et al., 2010). Berghuis und Kollegen vermuten, dass CBZ und OXC durch Stimulation des AVPR- 2 bzw. AQP2-Signaltransduktionswegs zur Antidiurese und somit zur Hyponatriämie beitragen (Berghuis et al., 2016).

Es ist also möglich, dass insbesondere bei Frauen mit den gefundenen Allelvarianten AA und AG rs5201 im AVPR2- Gen eine höhere Aktivierung des V2Rs bzw. eine stärkere prodiuretische Beeinflussung des Gs- Moleküls besteht (Feldman et al., 2005, Online Medelian Inheritance in Man, 2019, Sadeghi et al., 1997). Diese Wirkung könnte dann durch CBZ oder OXC verstärkt werden (Berghuis et al., 2016).

Limitationen der Untersuchung:

1. Populationsgröße

Die Populationsgröße mit knapp 100 weiblichen Patienten ist möglicherweise zu gering, um das Ergebnis sicher und valide erscheinen zu lassen. Ein größerer Stichprobenumfang könnte dazu beitragen, zufällige Fehler klein zu halten (Weiß und Rzany, 2008).

Außerdem waren die Allelfrequenzen, mit Ausnahme der SNPs rs5201.AVPR2 und rs3761527.AVPR2, in Bezug auf die Populationsgröße von 230 relativ klein (zwischen 0 % und 0,14 % für Europäer) (National Center for Biotechnology Information, 2019).

Eine untersuchte Populationsgröße von 1000 oder mehr Individuen, könnte somit mehr seltenere Allele beinhalten und schließlich weitere Hinweise auf eine genetisch prädispositionierte Hyponatriämie liefern.

2. Retrospektive Studie

Die Patientendaten wurden, bis auf die Bestimmung der SNPs, alle retrospektiv erfasst. Dies ist bezüglich der Qualität der Daten, im Gegensatz zu prospektiven Studien, eher von Nachteil, denn unvollständige oder falsche Angaben in den Krankenblättern werden oft übersehen bzw. lassen sich schwer korrigieren (Weiß und Rzany, 2008).

Die Laborwerte und alle relevanten Patientendaten (mit Ausnahme der SNPs) wurden in der Vergangenheit von unterschiedlichem Personal, unterschiedlichen Apparaten und zu unterschiedlichen Zeiten erfasst. Auf Beobachtungsgleichheit wurde somit nicht geachtet (Weiß und Rzany, 2008).

Eine Prospektive Studie, die das Phänomen "SNP rs5201.AVPR2 (weibliches Geschlecht) - Hyponatriämie" unter Einnahme von CBZ/OXC/ESL prüfen würde, könnte eine höhere Datenqualität liefern. Hierbei hätte man mehr Kontrollmöglichkeiten bezüglich der Stichprobe, Messmethoden, Dokumentation etc. (Weiß und Rzany, 2008).

3. Geringe Anzahl an Genen und SNPs

Unsere Untersuchung beschränkte sich außerdem nur auf ein einziges Gen, das AVPR2- Gen. Außerdem wurden hierbei nur 7 ausgewählte SNPs analysiert. Weitere, mögliche SNPs bei anderen Proteinen der Reaktionskette bezüglich der Wasserrückresorption, sowie weitere SNPs des AVPR2- Gens, wurden somit nicht erfasst.

Auch Proteine, wie der ENac -Kanal im CD, sind in der Literatur als Einflussfaktoren für die Natriumreabsorption durch Vasopressin über die V2Rs beschrieben worden (Bankir et al., 2005; Juul et al. 2014). Diese könnten ebenfalls untersucht werden.

4. Zeitlicher Verlauf und Trends

Die gemessenen Werte stammten jeweils von einem Patienten zu einem bestimmten Zeitpunkt. Intraindividuelle zeitliche Verläufe bezüglich Serumspiegel, Hyponatriämie und Medikamentenlast wurden nicht in die Studie mit einbezogen.

Bei den statistischen Test wurde jeweils ein bestimmtes Allel auf Signifikanz hin untersucht. Trendentwicklungen innerhalb der Allelverteilungen bezüglich Hyponatriämie und Natriumspiegel wurden nicht untersucht.

Ausblick

Sollte sich unser Ergebnis in künftigen Studien mit verbesserten Designs reproduzieren, so lassen sich in Zukunft hieraus viele wichtige Methoden für die Praxis zur Vermeidung

einer Medikamenten- induzierten Hyponatriämie entwickeln. Somit ließen sich durch vorherige Umstellung des Therapieplans unerwünschte Nebenwirkungen vermeiden. Weitere Studien müssten also folgen, um unser Ergebnis erneut durch bessere Methodik bestätigen zu können. Darauf aufbauend müssten weitere klinisch- praktische Verfahren für pharmakogenetisch- individuelle Therapiekonzepte entwickelt werden.

Unsere Ergebnisse sollten erneut an einer weiteren, möglichst großen Population (>100) bestätigt werden, um zufällige Fehler klein zu halten (Weiß und Rzany, 2008). Hierbei sollte möglichst prospektiv vorgegangen werden, damit eine bessere Datenqualität erreicht werden kann (Weiß und Rzany, 2008). Systematische Erfassungsfehler sollten klein gehalten werden und die Methoden zur Informationsgewinnung einheitlich sein (Weiß und Rzany, 2008).

Intraindividuelle Patientenverläufe sollten berücksichtigt werden. Ebenso könnten mögliche Trendentwicklungen bei den Allelverteilungen untersucht werden.

Schließlich sollten weitere SNPs des AVPR2- Gens, sowie weitere SNPs auf anderen Genen, wie z. B. die des ENaC- Kanals im CD, auf den Phänotypen "Hyponatriämie" hin untersucht werden (Bankir et al., 2005; Juul et al. 2014). Dies ist wichtig, um die genetische Ursache und die daraus folgenden Therapiemöglichkeiten, möglichst präzise einzugrenzen.

Anschließend müssten neuere, individual- genetische, antikonvulsive Therapiekonzepte entworfen werden. Diese müssen sowohl auf ihre praktische Umsetzbarkeit, statistische und apparative Genauigkeit, sowie ihrer ökonomischen Verfügbarkeit unter Berücksichtigung ethischer Grundsätze geprüft werden.

6. Zusammenfassung

Die Epilepsie ist eine häufig in der Bevölkerung auftretende, chronische neurologische Erkrankung, welche sich bei 61 von 100.000 Menschen pro Jahr neu manifestiert.

Carbamazepin, Oxcarbazepin und Eslicarbazepin werden bei fokalen Anfällen verschrieben.

Beim Einsatz aller drei Antikonvulsiva wurden Hyponatriämien bei bis zu einem Drittel der Patienten beschrieben, also ein Abfall des Serum-Natriumspiegels unter 135 mmol/l. Als mutmaßlicher Mechanismus wird u.a. eine direkte Wirkung am Vasopressin 2-Rezeptor- Protein G- Komplex diskutiert, die über eine Steigerung der Aquaporin 2-Expression eine gesteigerte Wasserabsorption in den renalen Tubuli verursacht.

Unter der Annahme, dass der Vasopressin 2- Rezeptor eine relevante pathophysiologische Rolle bei der Entwicklung von Hyponatriämien beim Einsatz von Carbamazepin, Eslicarbazepin und Oxcarbazepin spielt, wurde die Allelverteilung ausgewählter Einzelnukleotid- Polymorphismen im entsprechenden Gen des Rezeptors bei Menschen mit Epilepsie untersucht.

Es sollte geprüft werden, ob die Allelverteilung von Einzelnukleotid- Polymorphismen im Gen des Vasopressin 2- Rezeptors ungleich ist und somit die Entwicklung einer Hyponatriämie unter Carbamazepin, Oxcarbazepin oder Eslicarbazepin- Therapie eine genetische Prädisposition aufweist.

Diese Untersuchungen wurden an 230 Patienten der Klinik für Epileptologie der Universität Bonn retrospektiv durchgeführt. Diese hatten Carbamazepin, Oxcarbazepin oder Eslicarbazepin in der Vergangenheit eingenommen, worunter etwa 28 % eine Hyponatriämie entwickelt hatten.

Es wurden signifikante Unterschiede in der Allelverteilung für den Einzelnukleotid- Polymorphismus "rs5201.AVPR2" bei den weiblichen und männlichen Patienten mit Hyponatriämie gefunden. Bei den Frauen wurde zusätzlich noch ein signifikanter Einfluss von Allelverteilung in diesem Einzelnukleotid- Polymorphismus auf den

Natriumspiegel gefunden.

Eine signifikante Beziehung zwischen Medikamentendosis (mit den von uns verwendeten Größen Medikamentenlast und Serumspiegel) mit dem Natriumspiegel konnten wir hingegen nicht sicher bestätigen.

Die Studienergebnisse wurden nicht an einer zweiten unabhängigen Patientengruppe bestätigt, so dass die abschließende Bedeutung der Befunde für die Praxis unklar bleibt. Sollte sich unser Ergebnis jedoch bestätigen, so könnten in Zukunft hieraus genetisch diagnostizierte Risikokonstellationen zur Vermeidung einer Medikamenten- induzierten Hyponatriämie entwickelt werden.

7. Anhang

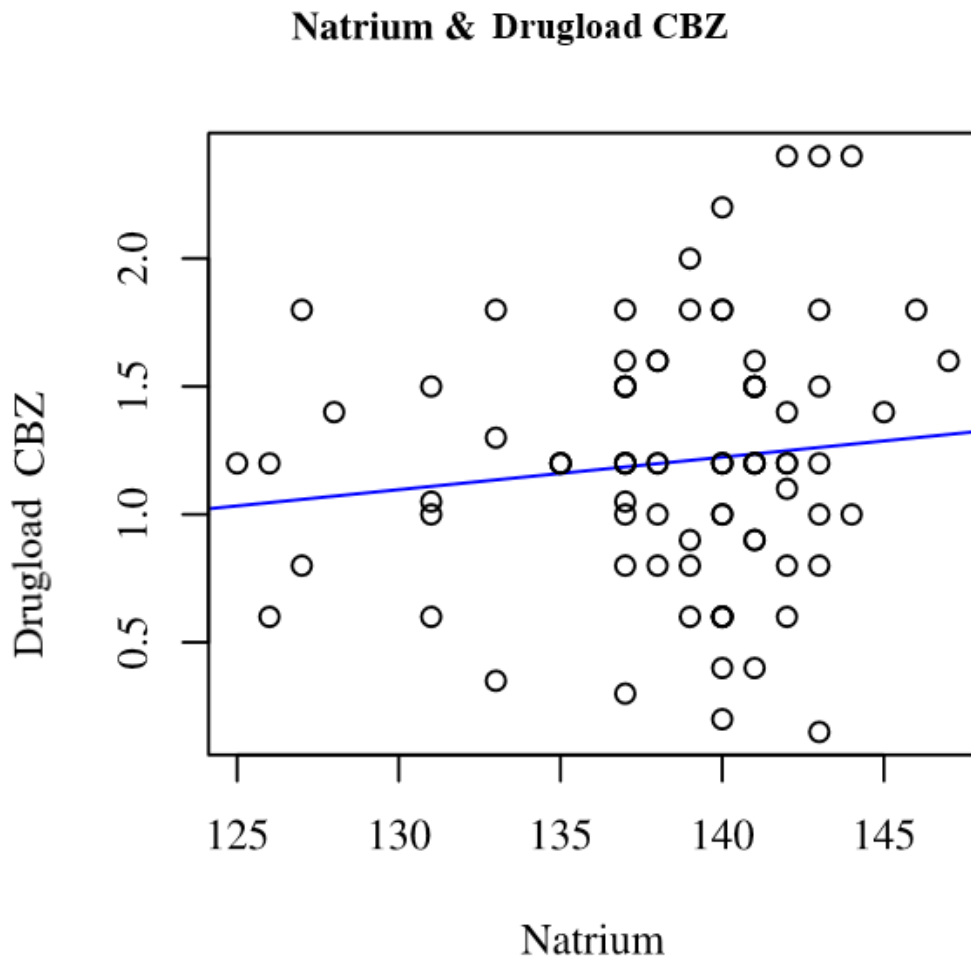


Abb. 9: Aufgetragen sind das Serum- Natrium (in mmol/l) gegen die Medikamentenlast (Drugload, dimensionslos) von CBZ als Punktwolke

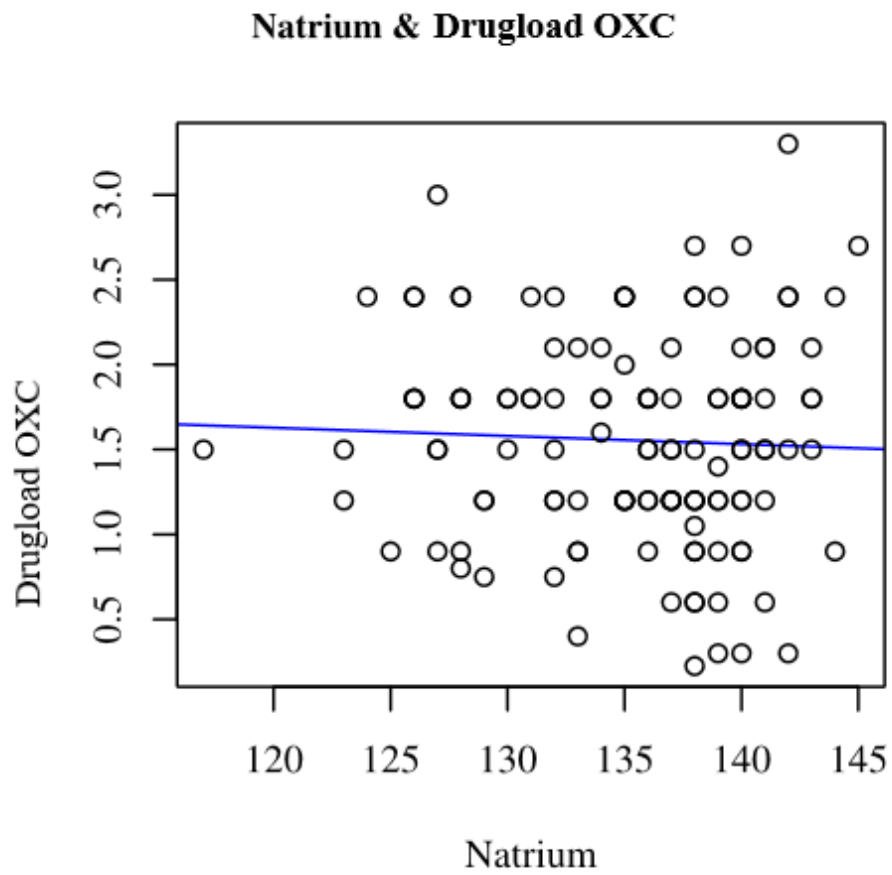


Abb. 10: Aufgetragen sind das Serum- Natrium (in mmol/l) gegen die Medikamentenlast (Drugload, dimensionslos) von OXC als Punktwolke

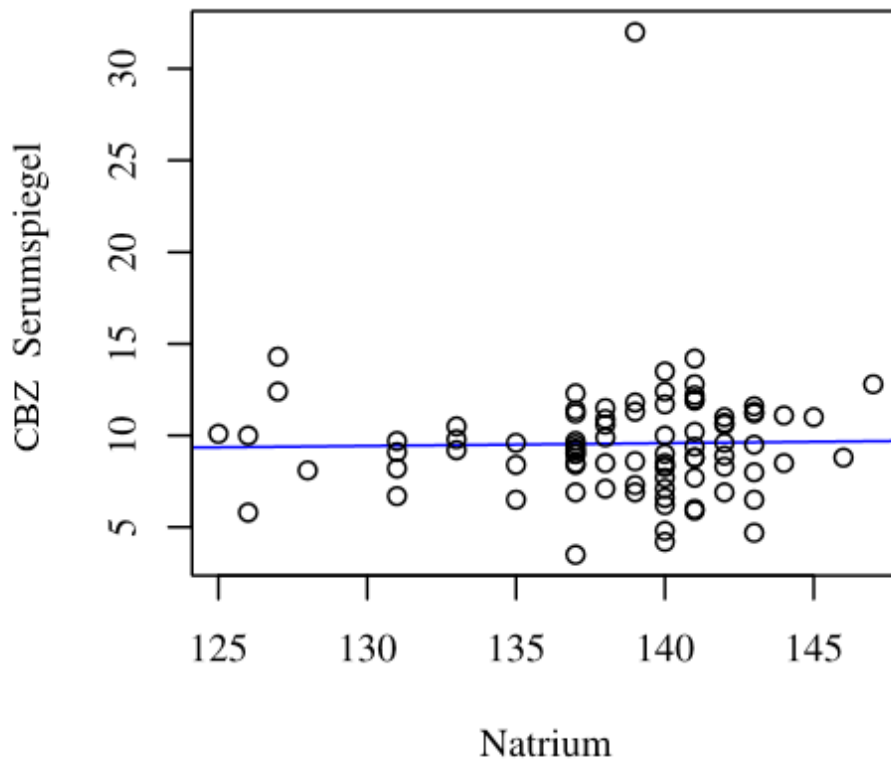
Natrium & CBZ Serumspiegel

Abb. 11: Aufgetragen sind das Serum- Natrium (in mmol/l) gegen den Serumspiegel (in mg/l) von CBZ als Punktwolke

Natrium & OXC Serumspiegel

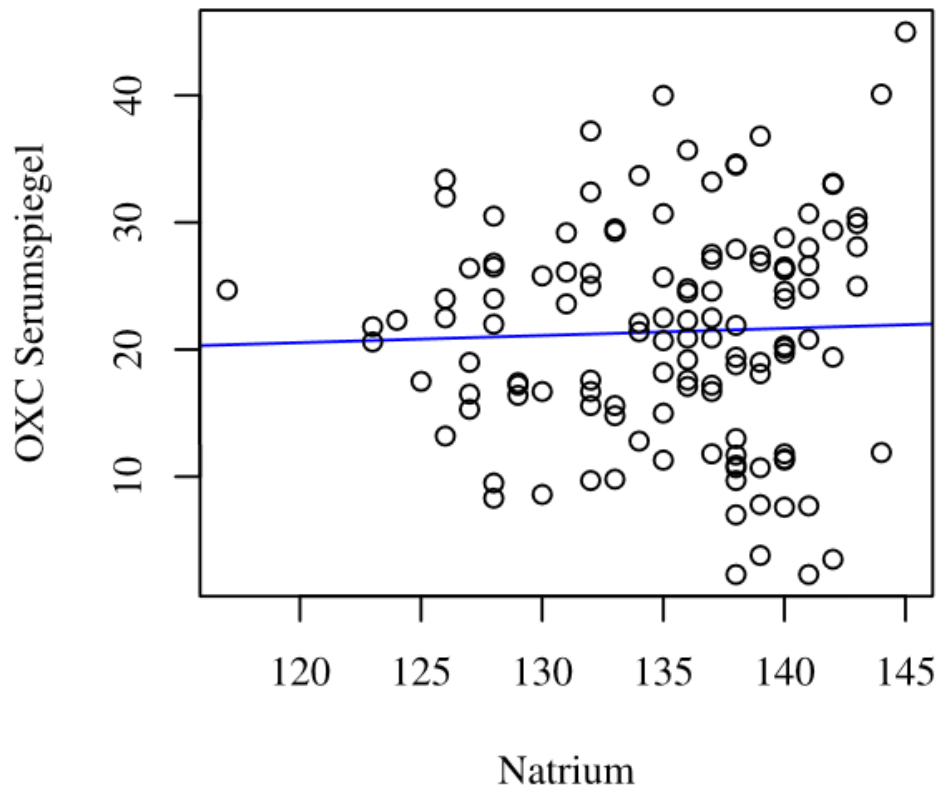


Abb. 12: Aufgetragen sind das Serum- Natrium (in mmol/l) gegen den Serumspiegel (in mg/l) von OXC als Punktwolke

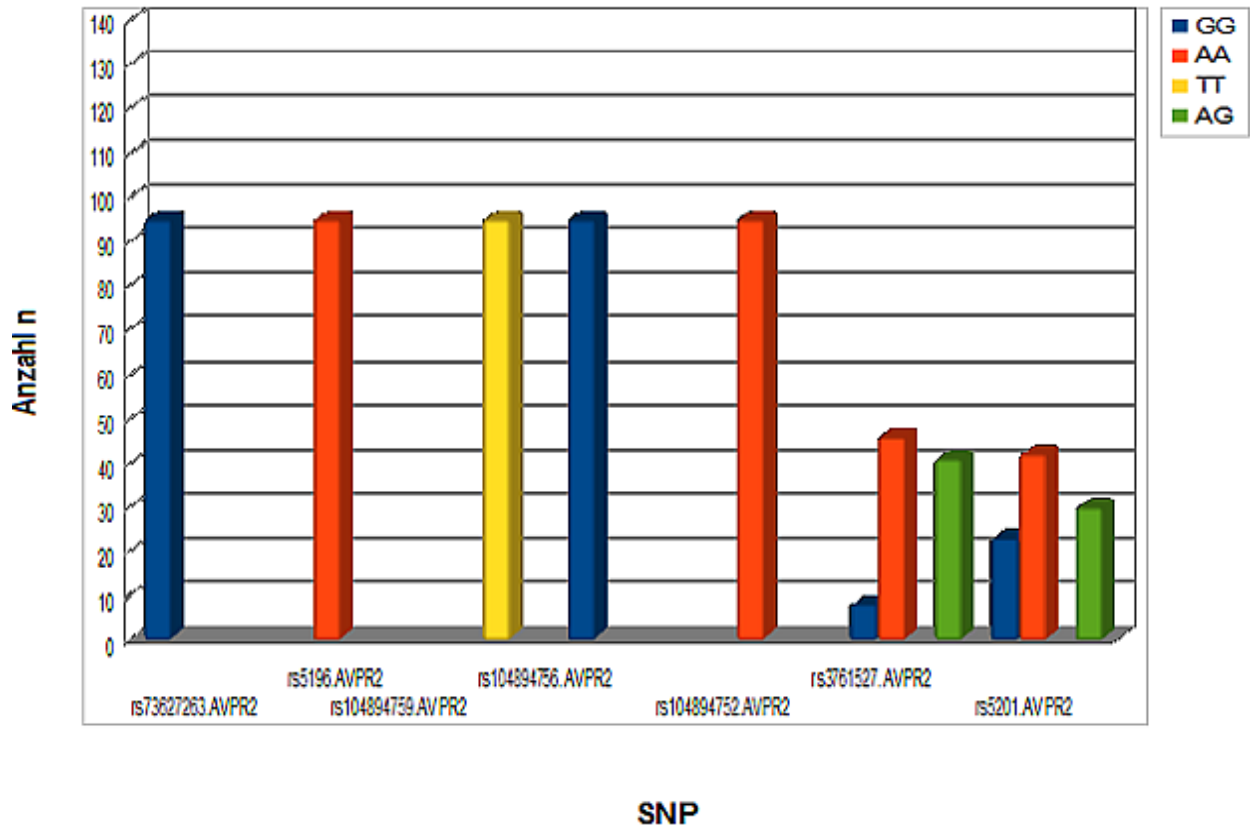


Abb. 13: Zahlenmäßige Verteilung der weiblichen Patienten (y- Achse) mit den Allelen TT, GG, AA und AG bei den dazugehörigen sieben untersuchten SNPs (x- Achse).

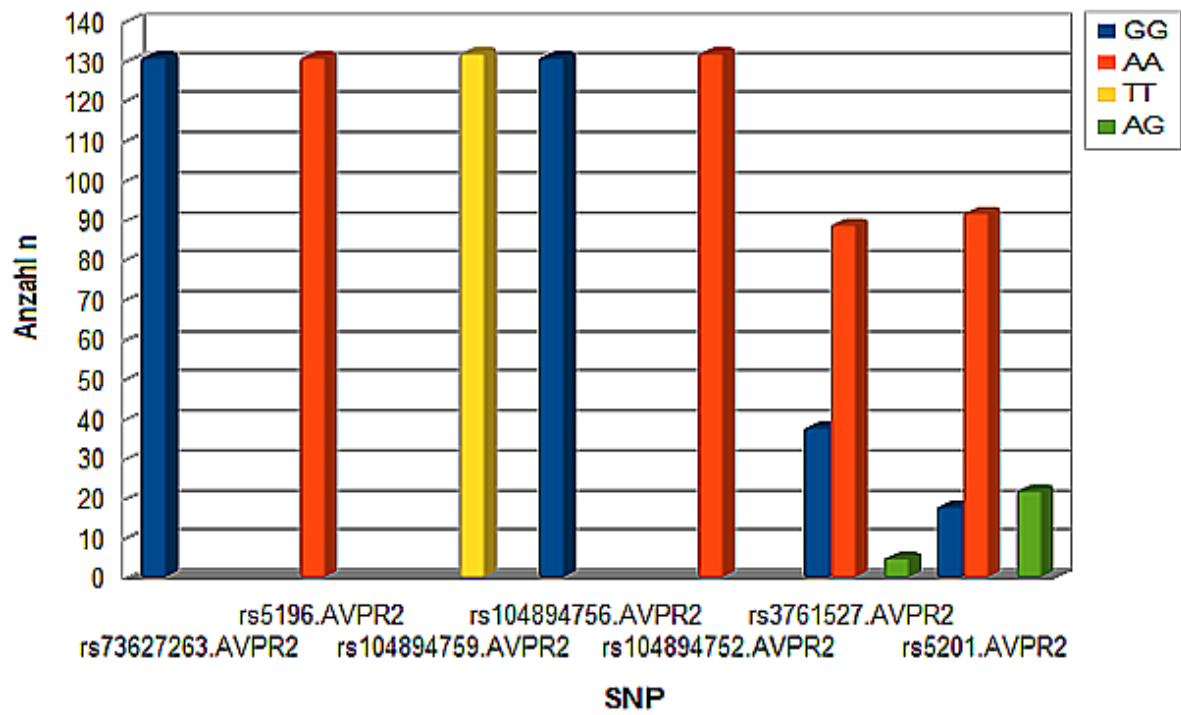


Abb. 14: Zahlenmäßige Verteilung der männlichen Patienten (y- Achse) mit den Allelen TT, GG, AA und AG bei den dazugehörigen sieben untersuchten SNPs (x- Achse).

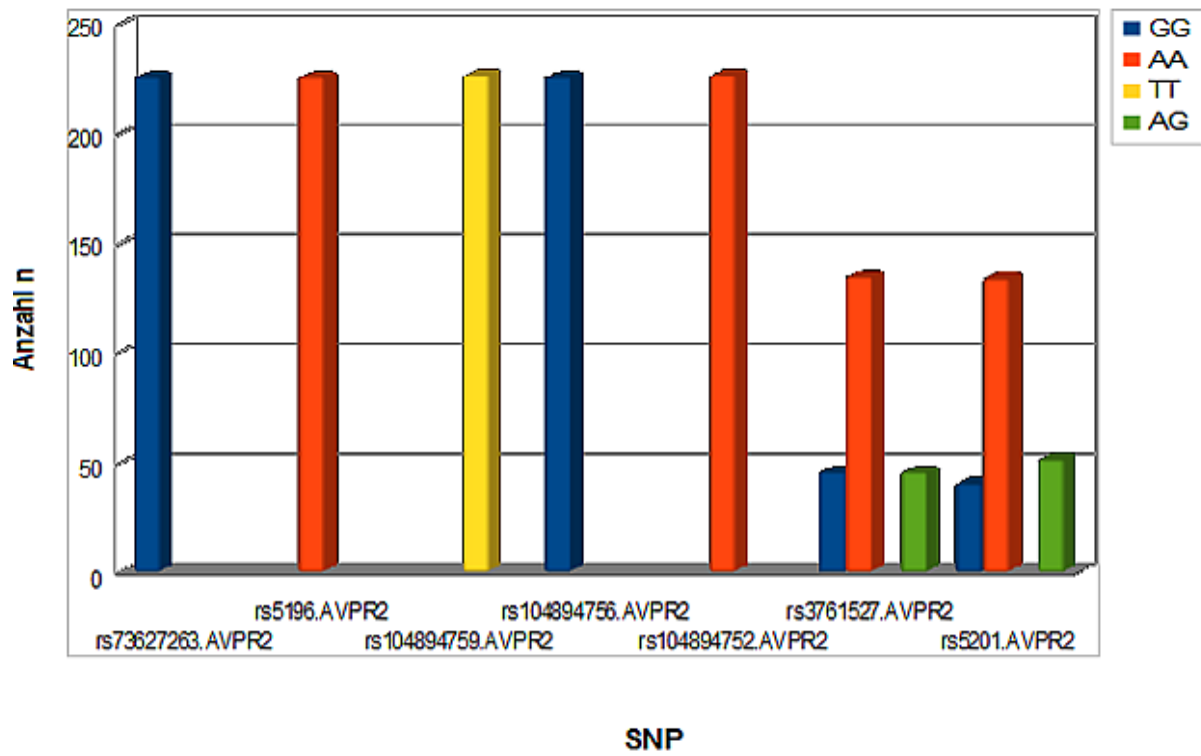


Abb. 15: Zahlenmäßige Verteilung aller Patienten (y- Achse) mit den Allelen TT, GG, AA und AG bei den dazugehörigen sieben untersuchten SNPs (x- Achse).

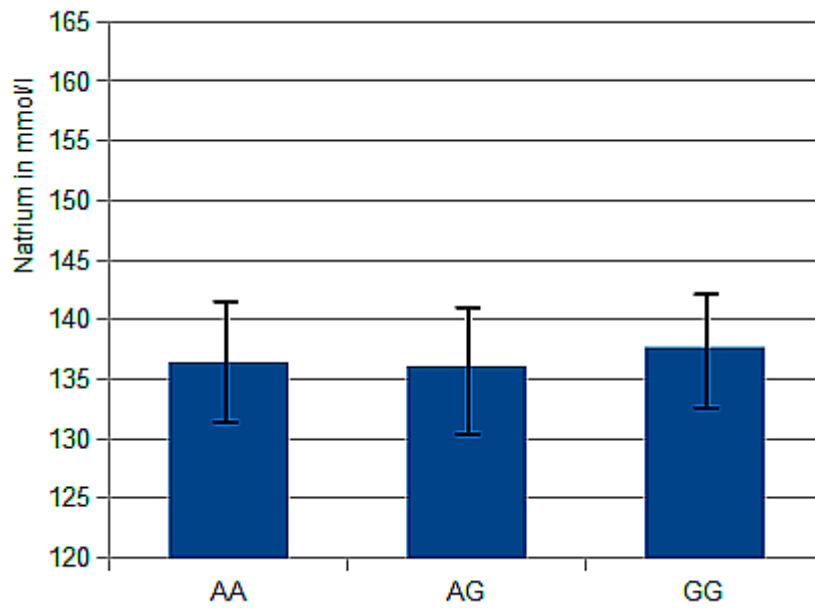


Abb. 16: Allele des SNPs rs5201.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die Gesamtpopulation

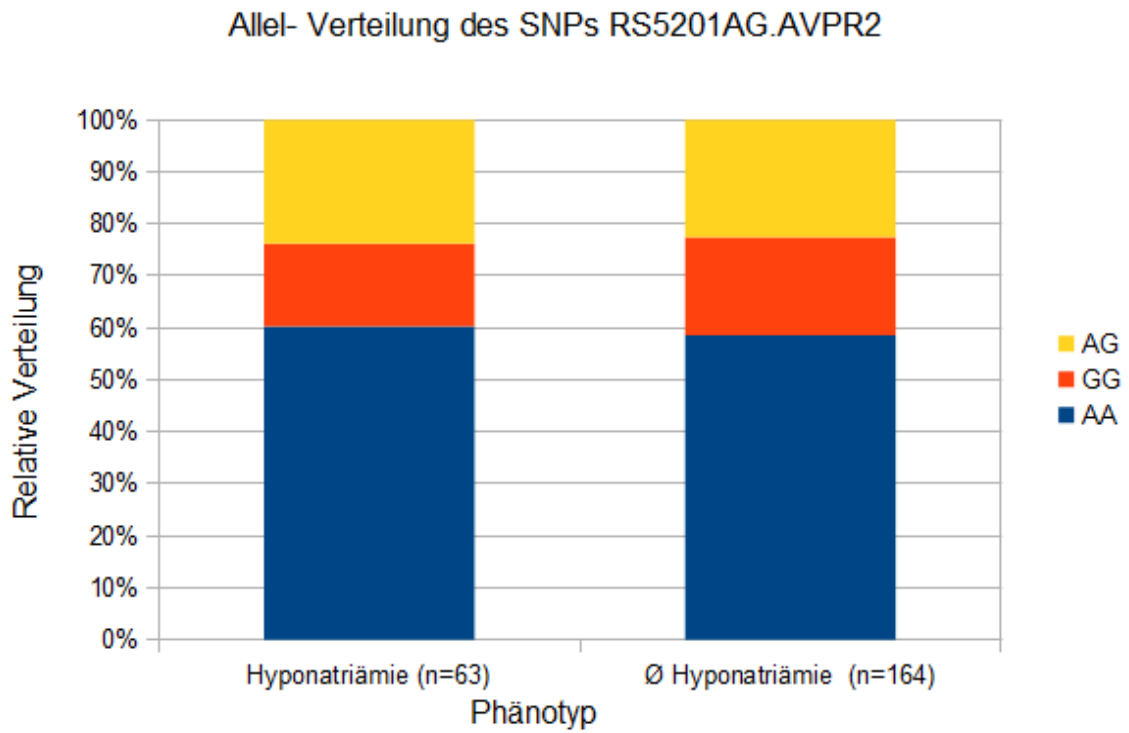


Abb. 17: Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die Gesamtpopulation

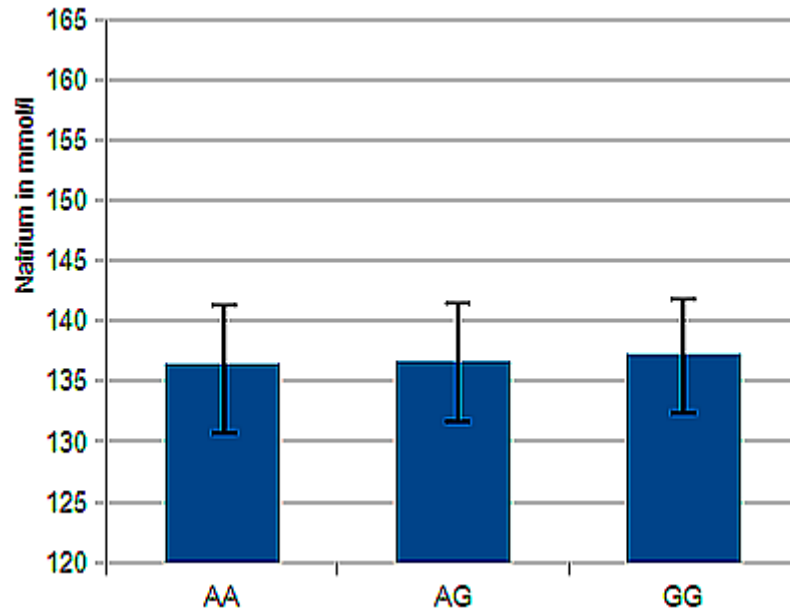


Abb. 18: Allele des SNPs rs3761527.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die Gesamtpopulation

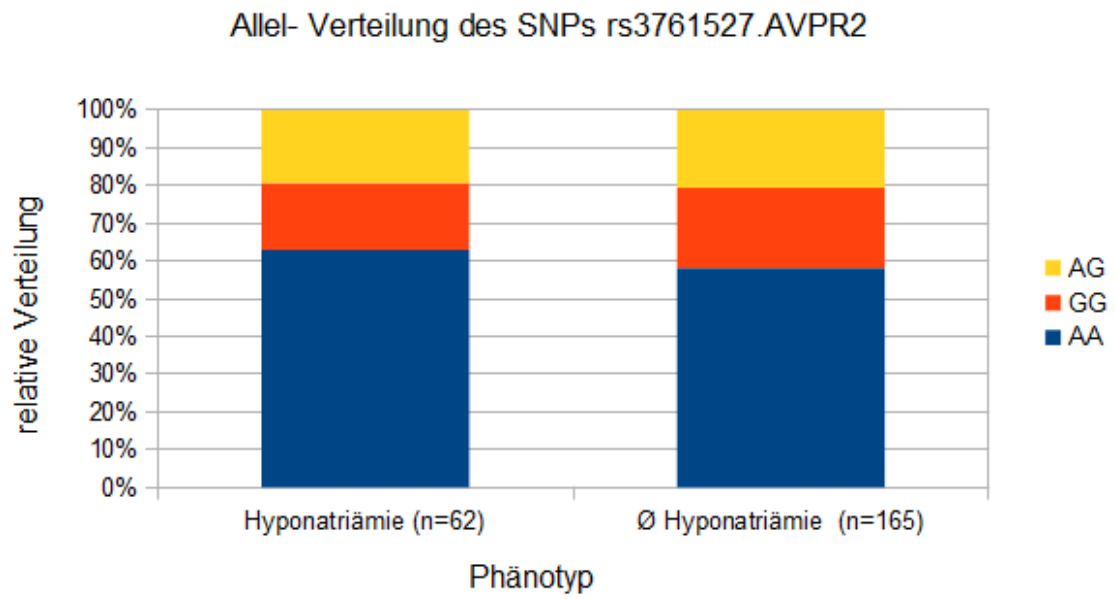


Abb. 19: Allelverteilung des SNPs rs3761527.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die Gesamtpopulation

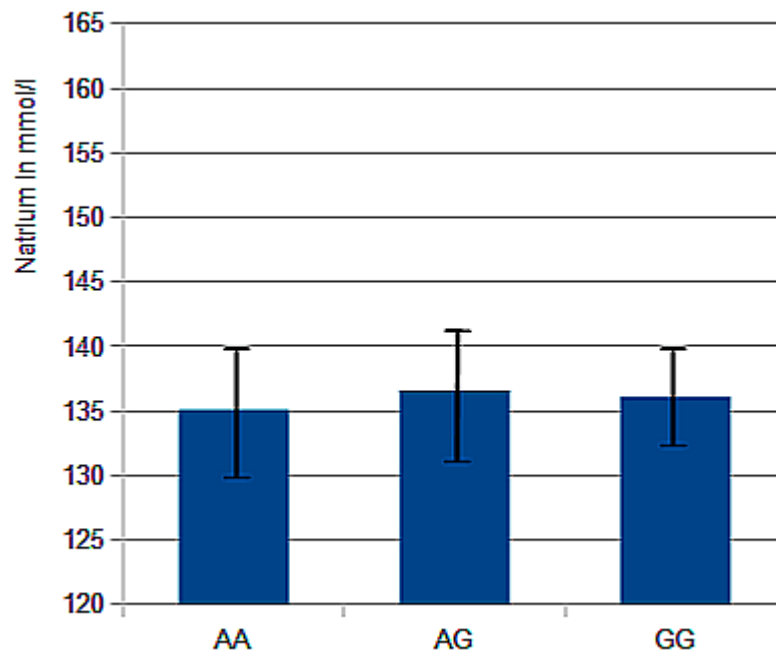


Abb. 20: Allele des SNPs rs3761527.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die weiblichen Patienten

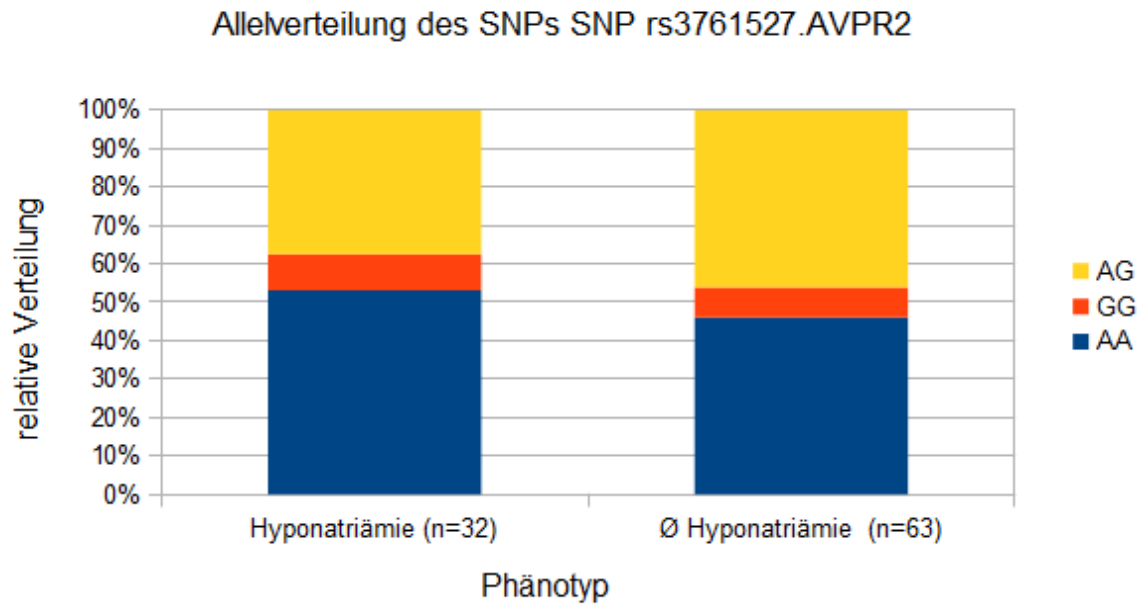


Abb. 21: Allelverteilung des SNPs rs3761527.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die weiblichen Patienten

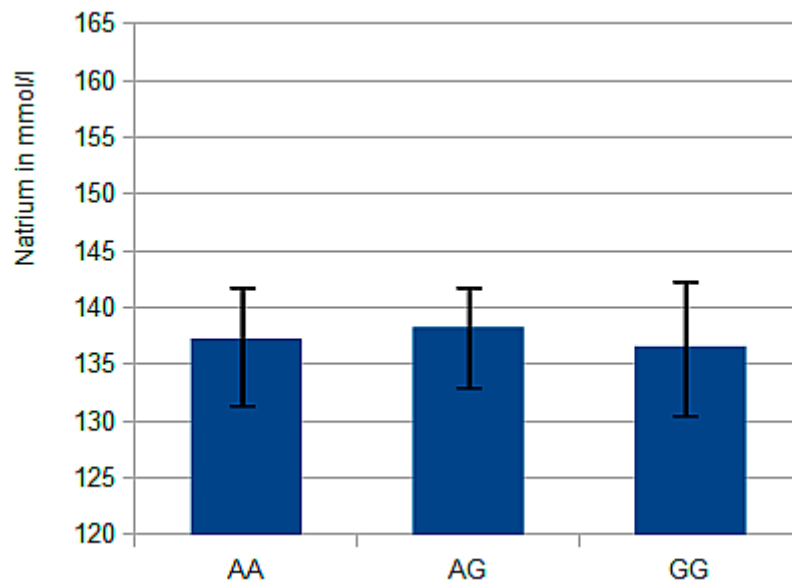


Abb. 22: Allele des SNPs rs5201.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die männlichen Patienten

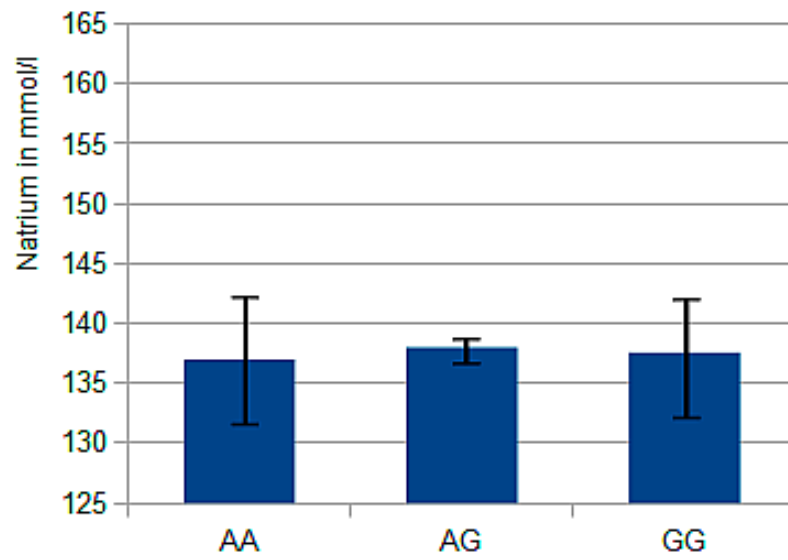


Abb. 23: Allele des SNPs rs3761527.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die männlichen Patienten

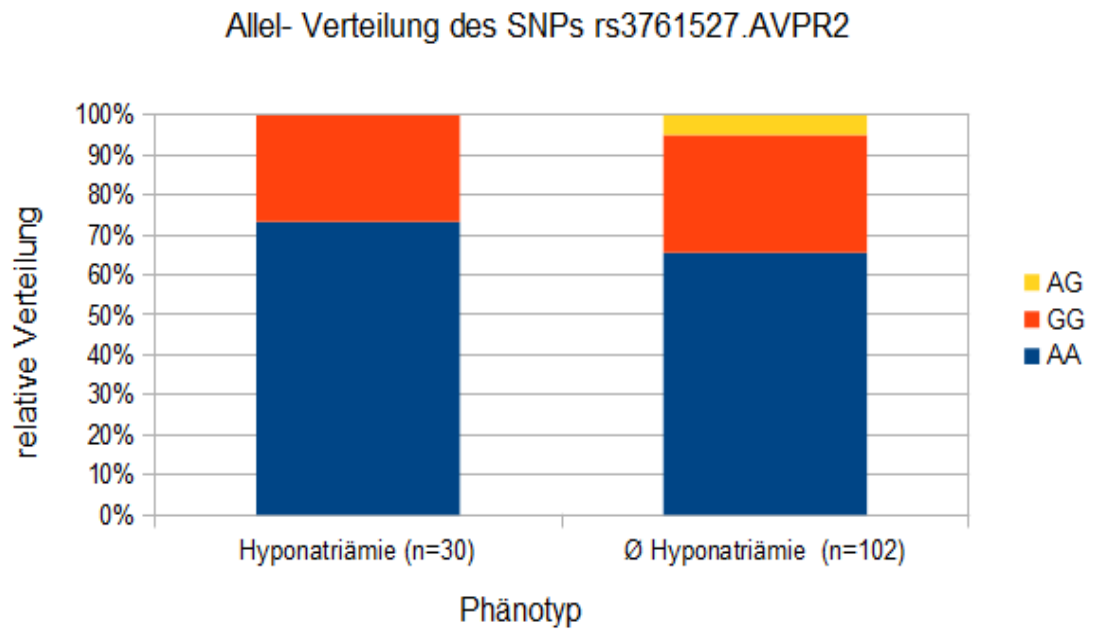


Abb. 24: Allelverteilung des SNPs rs3761527.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die männlichen Patienten

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Die Strukturformeln von Carbamazepin, Oxcarbazepin und Eslicarbazepin (Lutker und Matzger, 2010; Singh et al., 2013).....	8
Abb. 2: Die Vasopressin- V2R- Aktivierung mit ihrem Signalweg (modifiziert nach Finley et al., 2008).....	13
Abb. 3: Verteilung der Natriumspiegel.....	31
Abb. 4: Serum- Natrium (in mmol/l) gegen die Medikamentenlast von ESL als Punktwolke: Signifikant fallendes Serum- Natrium bei hoher Medikamentenlast.....	33
Abb. 5: Serum- Natrium (in mmol/l) gegen den Serumspiegel von ESL als Punktwolke: Signifikant fallendes Serum- Natrium bei hohem Serumspiegel.....	34
Abb. 6: Allele des SNPs rs5201.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die weiblichen Patienten*.....	39
Abb. 7: Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die weiblichen Patienten.....	40
Abb. 8: Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die männlichen Patienten.....	41
Abb. 9: Serum- Natrium (in mmol/l) gegen die Medikamentenlast von CBZ als Punktwolke.....	51

Abb. 10: Serum- Natrium (in mmol/l) gegen die Medikamentenlast von OXC als Punktwolke.....	52
Abb. 11: Serum- Natrium (in mmol/l) gegen den Serumspiegel von CBZ als Punktwolke.....	53
Abb. 12: Serum- Natrium (in mmol/l) gegen den Serumspiegel von OXC als Punktwolke.....	54
Abb. 13: Zahlenmäßige Verteilung der weiblichen Patienten (y- Achse) mit den Allelen TT, GG, AA und AG bei den dazugehörigen sieben untersuchten SNPs (x- Achse).....	55
Abb. 14: Zahlenmäßige Verteilung der männlichen Patienten (y- Achse) mit den Allelen TT, GG, AA und AG bei den dazugehörigen sieben untersuchten SNPs (x- Achse).....	56
Abb. 15: Zahlenmäßige Verteilung aller Patienten (y- Achse) mit den Allelen TT, GG, AA und AG bei den dazugehörigen sieben untersuchten SNPs (x- Achse).....	57
Abb. 16: Allele des SNPs rs5201.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die Gesamtpopulation.....	58
Abb. 17: Allelverteilung des SNPs rs5201.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die Gesamtpopulation.....	59
Abb. 18: Allele des SNPs rs3761527.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die Gesamtpopulation.....	60
Abb. 19: Allelverteilung des SNPs rs3761527.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die Gesamtpopulation.....	61
Abb. 20: Allele des SNPs rs3761527.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für	

die weiblichen Patienten.....62

Abb. 21: Allelverteilung des SNPs rs3761527.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die weiblichen Patienten.....63

Abb. 22: Allele des SNPs rs5201.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die männlichen Patienten.....64

Abb. 23: Allele des SNPs rs3761527.AVPR2 mit durchschnittlichem Natriumspiegel, für die männlichen Patienten.....65

Abb. 24: Allelverteilung des SNPs rs3761527.AVPR2 mit Hyponatriämie und ohne Hyponatriämie für die männlichen Patienten.....66

9. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht Serum- Natrium (Muhsin und Mount, 2016; Verbalis et al., 2013).....	10
Tab. 2: Übersicht SNPs und Auswahlkriterien (National Center for Biotechnology Information, 2019; Online Mendelian Inheritance in Man 2019).....	20
Tab. 3: Übersicht der verwendeten Chemikalien und Apparaturen.....	24
Tab. 4: Übersicht der verwendeten Apparaturen.....	25
Tab. 5: Gesamtzahl der Patienten, sowie die statistische Verteilung der Frauen, Männer und die Altersstruktur.....	28
Tab. 6: Pharmakologische Werte (Tagesdosis, Serumspiegel, Medikamentenlast).....	30
Tab. 7: Korrelation zwischen Serumspiegel bzw. Medikamentenlast mit dem Natriumspiegel.....	32
Tab. 8: Allelverteilung.....	36
Tab. 9: Zusammenhang zwischen Natriumspiegel und V2R- Genotyp.....	38
Tab. 10: Zusammenhang zwischen Hyponatriämie und V2R- Genotyp.....	38

10. Literaturverzeichnis

Adrogué HJ, Madias NE. The challenge of hyponatremia. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1140-1148

Algahtani H, Marghalani S, Satti M, Shirah B. Levetiracetam-Induced Skin Hyperpigmentation: An Extremely Rare Undesirable Side Effect. *J Epilepsy Res* 2017; 7: 106-108

Bankir L, Fernandes S, Bardoux P, Bouby N, Bichet DG. Vasopressin-V2 receptor stimulation reduces sodium excretion in healthy humans. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1920-1928

Baulac M, Rosenow F, Toledo M, Terada K, Li T, De Backer M, Werhahn KJ, Brock M. Efficacy, safety, and tolerability of lacosamide monotherapy versus controlled-release carbamazepine in patients with newly diagnosed epilepsy: a phase 3, randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet Neurol* 2017; 16: 43-54

Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010; 51: 676-685

Berghuis B, de Haan GJ, van den Broek MP, Sander JW, Lindhout D, Koeleman BP. Epidemiology, pathophysiology and putative genetic basis of carbamazepine- and oxcarbazepine-induced hyponatremia. *Eur J Neurol* 2016; 23: 1393-1399

Blume WT. Adverse antiepileptic drug effects. *Epilepsy Curr* 2010; 10: 11-12

Chen CB, Hsiao YH, Wu T, Hsih MS, Tassaneeyakul W, Jorns TP, Sukasem C, Hsu CN, Su SC, Chang WC, Hui RC, Chu CY, Chen YJ, Wu CY, Hsu CK, Chiu TM, Sun PL, Lee

HE, Yang CY, Kao PH, Yang CH, Ho HC, Lin JY, Chang YC, Chen MJ, Lu CW, Ng CY, Kuo KL, Lin CY, Yang CS, Chen DP, Chang PY, Wu TL, Lin YJ, Weng YC, Kuo TT, Hung SI, Chung WH. Risk and association of HLA with oxcarbazepine-induced cutaneous adverse reactions in Asians. *Neurology* 2017; 88: 78-86

De Bragança AC, Moyses ZP, Magaldi AJ. Carbamazepine can induce kidney water absorption by increasing aquaporin 2 expression. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 3840-3845

Deckers CLP, Hekster JA, Keyser A, Meinardi H, Renier WO. Reappraisal of polytherapie in epilepsy: a critical review of drugload and adverse effects. *Epilepsia* 1997; 38: 570-575

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2017: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. http://www.dgn.org/images/red_leitlinien/LL_2012/pdf/ll_01_2012_erster_epileptischer_anfall_und_epilepsien_im_erwachsenenalter.pdf (Zugriffsdatum 09.03.2017)

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2017: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. <https://www.dgn.org/leitlinien/3410-030-041-erster-epileptischer-anfall-und-epilepsien-im-erwachsenenalter-2017> (Zugriffsdatum 01.10.2017)

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2017: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. <https://www.dgn.org/leitlinien/3410-030-041-erster-epileptischer-anfall-und-epilepsien-im-erwachsenenalter-2017#therapie> (Zugriffsdatum 12.11.2017)

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. <https://www.dgn.org/leitlinien/3410-030-041-erster-epileptischer-anfall-und-epilepsien-im-erwachsenenalter-2017#definitionundklassifikation> (Zugriffsdatum 25.01.2018)

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. https://www.dgn.org/leitlinien/3410-030-041-erster-epileptischer-anfall-und-epilepsien-im-erwachsenenalter-2017#abb_3 (Zugriffsdatum 04.02.2018)

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. <https://www.dgn.org/leitlinien/3410-030-041-erster-epileptischer-anfall-und-epilepsien-im-erwachsenenalter-2017#therapie> (Zugriffsdatum 05.08.2018)

Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2018: Kapitel: Anfälle und Bewusstseinsstörungen Erster epileptischer Anfall und Epilepsien im Erwachsenenalter. <https://www.dgn.org/leitlinien/3410-030-041-erster-epileptischer-anfall-und-epilepsien-im-erwachsenenalter-2017> (Zugriffsdatum 14.11.2018)

Dong X, Leppik IE, White J, Rarick J. Hyponatremia from oxcarbazepine and carbamazepine. *Neurology* 2005; 65: 1976–1978

Elger C, Halász P, Maia J, Almeida L, Soares-da-Silva P. Efficacy and safety of eslicarbazepine acetate as adjunctive treatment in adults with refractory partial-onset seizures: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase III study. *Epilepsia* 2009; 50: 454-463

Feldman BJ, Rosenthal SM, Vargas GA, Fenwick RG, Huang EA, Matsuda-Abedini M, Lustig RH, Mathias RS, Portale AA, Miller WL, Gitelman SE. Nephrogenic syndrome of inappropriate antidiuresis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1884-1890

Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL, Jetté N. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology* 2017; 88: 296-303

Finley JJ, Konstam MA, Udelson JE. Arginine vasopressin antagonists for the treatment

of heart failure and hyponatremia. *Circulation* 2008; 118: 410-421

Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55: 475-482

Gierbolini J, Giarratano M, Benbadis SR. Carbamazepine-related antiepileptic drugs for the treatment of epilepsy - a comparative review. *Expert Opin Pharmacother* 2016; 17: 885-888

Gupta DK, Bhoi SK, Kalita J, Misra UK. Hyponatremia following eslicarbazepine therapy. *Seizure* 2015; 29: 11-14

Huang CC, Chung CM, Hung SI, Pan WH, Leu HB, Huang PH, Chiu CC, Lin LY, Lin CC, Yang CY, Li SY, Chen YC, Wu TC, Lin SJ, Chen JW. Clinical and Genetic Factors Associated With Thiazide-Induced Hyponatremia. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1422

ILAE, 2010: Revidierte Terminologie und Konzepte zur Einteilung von epileptischen Anfällen und Epilepsien: Bericht der Klassifikations- und Terminologiekommission der Internationalen Liga gegen Epilepsie, 2005- 2009. <http://www.ilae.org/Commission/Class/documents/German%20full%20article%20Berg%20et%20al%202010.pdf> (Zugriffdatum: 04.03.2017)

Intravooth T, Staack AM, Juerges K, Stockinger J, Steinhoff BJ. Antiepileptic drug-induced hyponatremia: Review and analysis of 560 hospitalized patients. *Epilepsy Res* 2018; 143: 7-10

Jongmans JW. Report on the Anti- Epileptic Action of Tegretol. *Epilepsia* 1964; 5: 74-82

Juul KV, Bichet DG, Nielsen S, Nørgaard JP. The physiological and pathophysiological functions of renal and extrarenal vasopressin V2 receptors. *Am J Physiol Renal Physiol*

2014; 306: 931-940

Lin CH, Lu CH, Wang FJ, Tsai MH, Chang WN, Tsai NW, Lai SL, Tseng YL, Chuang YC. Risk factors of oxcarbazepine-induced hyponatremia in patients with epilepsy. *Clin Neuropharmacol* 2010; 33: 293-296

Lutker KM, Matzger AJ. Crystal polymorphism in a carbamazepine derivative: oxcarbazepine. *J Pharm Sci* 2010; 99: 794-803

McCormack M, Alfirevic A, Bourgeois S, Farrell JJ, Kasperavičiūtė D, Carrington M, Sills GJ, Marson T, Jia X, de Bakker PI, Chinthapalli K, Molokhia M, Johnson MR, O'Connor GD, Chaila E, Alhusaini S, Shianna KV, Radtke RA, Heinzen EL, Walley N, Pandolfo M, Pichler W, Park BK, Depondt C, Sisodiya SM, Goldstein DB, Deloukas P, Delanty N, Cavalleri GL, Pirmohamed M. HLA-A*3101 and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in Europeans. *N Engl J Med* 2011; 364: 1134-1143

Muhsin SA, Mount DB. Diagnosis and treatment of hypernatremia. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2016; 30: 189-203

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs5201#frequency_tab (Zugriffsdatum: 15.04.2019)

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3761527#frequency_tab (Zugriffsdatum: 15.04.2019)

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs5196#frequency_tab (Zugriffsdatum: 15.04.2019)

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs73627263#frequency_tab (Zugriffsdatum: 15.04.2019)

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs104894759#publications> (Zugriffsdatum:15.04.2019)

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs104894756#frequency_tab
(Zugriffsdatum: 15.04.2019)

National Center for Biotechnology Information, 2019: dbSNP.
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs104894752#variant_details
(Zugriffsdatum: 15.04.2019)

Online Mendelian Inheritance in Man, 2019: Online Mendelian Inheritance in Man.
<https://omim.org/entry/300538#0018> (Zugriffsdatum: 15.04.2019)

Online Mendelian Inheritance in Man, 2019: Online Mendelian Inheritance in Man.
<https://omim.org/entry/300538#0001> (Zugrifssdatum: 23.06.2019)

Perucca P, Carter J, Vahle V, Gilliam FG. Adverse antiepileptic drug effects: toward a clinically and neurobiologically relevant taxonomy. *Neurology* 2009; 72: 1223-1229

Perucca P, Jacoby A, Marson AG, Baker GA, Lane S, Benn EKT, Thuman DJ, Hauser WA, Gilliam FG, Hesdorffer DC. Adverse antiepileptic drug effects in new-onset seizures: A case-control study. *Neurology* 2011; 76: 273-279

Powell G, Saunders M, Rigby A, Marson AG. Immediate-release versus controlled-release carbamazepine in the treatment of epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; 12: CD007124

Sadeghi H, Robertson GL, Bichet DG, Innamorati G, Birnbaumer M. Biochemical basis of partial nephrogenic diabetes insipidus phenotypes. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1806–1813

Saito S, Iida A, Sekine A, Kawauchi S, Higuchi S, Ogawa C, Nakamura Y. Catalog of 178 variations in the Japanese population among eight human genes encoding G protein-coupled receptors (GPCRs). *J Hum Genet* 2003; 48: 461-468

Schachter SC, Vazquez B, Fisher RS, Laxer KD, Montouris GD, Combs-Cantrell DT, Faught E, Willmore LJ, Morris GL, Ojemann L, Bennett D, Mesenbrink P, D'Souza J, Kramer L. Oxcarbazepine: double-blind, randomized, placebo-control, monotherapy trial for partial seizures. *Neurology* 1999; 52: 732-737

Schmidt D, Elger CE. What is the evidence that oxcarbazepine and carbamazepine are distinctly different antiepileptic drugs?. *Epilepsy Behav* 2004; 5: 627-635

Singh RP, Asconapé JJ. A review of eslicarbazepine acetate for the adjunctive treatment of partial-onset epilepsy. *J Cent Nerv Syst Dis* 2011; 3: 179-187

Singh M, Kumar L, Arora P, Mathur SC, Saini PK, Singh RM, Singh GN. Development and Validation of an RP-HPLC Method for Quantitative Estimation of Eslicarbazepine Acetate in Bulk Drug and Tablets. *Indian J Pharm Sci* 2013; 75: 736-739

Tangamornsuksan W, Chaiyakunapruk N, Somkrua R, Lohitnavy M, Tassaneeyakul W. Relationship between the HLA-B*1502 allele and carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol* 2013; 149: 1025-1032

Verbalis JG, Goldsmith SR, Greenberg A, Korzelius C, Schrier RW, Sterns RH, Thompson CJ. Diagnosis, evaluation, and treatment of hyponatremia: expert panel recommendations. *Am J Med* 2013; 126: 1-42

Verkman AS, Mitra AK. Structure and function of aquaporin water channels. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: 13-28

Weiß C, Rzany B. *Basiswissen Medizinische Statistik*. Heidelberg: Springer, 2008

WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2015: ATC/DDD Index.
http://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF01 (Zugriffsdatum: 16.12.2015)

WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2015: ATC/DDD Index.
http://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF02 (Zugriffsdatum: 16.12.2015)

WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2015: ATC/DDD Index.
http://www.whocc.no/atc_ddd_index/?code=N03AF04 (Zugriffsdatum: 16.12.2015)

11. Danksagung

Ich danke den Betreuern meiner Dissertation Herrn Prof. Dr. med. Rainer Surges, Frau Dr. rer. nat. Catharina Scholl, und Herrn Dr. med. Daniel Nass. Weiterhin danke ich Frau Prof. Dr. med. Julia Stingl und Herrn Prof. Dr. med. Christian E. Elger.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. med. Michael Steffens, sowie den übrigen Mitarbeitern der Forschungsgruppe Pharmakogenomik des BfArMs.

Auch bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. Wolfram Kunz, sowie den Mitarbeitern der Klinik für Epileptologie der Universität Bonn und den Mitarbeitern der Life and Brain GmbH.

Mein Dank gilt schließlich meiner Familie, Freunden und Kommilitonen.