



**University of
Zurich**^{UZH}

**Zurich Open Repository and
Archive**

University of Zurich
University Library
Strickhofstrasse 39
CH-8057 Zurich
www.zora.uzh.ch

Year: 2012

Pharmakogenetik in der Praxis: warum, wie, wann? - Teil 2

Taegtmeyer, A B ; Ceschi, A ; Kullak-Ublick, G A ; Jetter, A

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-69596>

Journal Article

Accepted Version

Originally published at:

Taegtmeyer, A B; Ceschi, A; Kullak-Ublick, G A; Jetter, A (2012). Pharmakogenetik in der Praxis: warum, wie, wann? - Teil 2. *Swiss Medical Forum*, 12(42):824-826.

Pharmakogenetik in der Praxis: warum, wie, wann?

Teil 2

Taegtmeyer AB, Ceschi A, Kullak-Ublick GA, Jetter A

Klinik für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, UniversitätsSpital Zürich, Rämistrasse 100, 8091 Zürich.

Korrespondierender Autor:

PD Dr. med. Alexander Jetter

Klinik für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, UniversitätsSpital Zürich

Rämistrasse 100, 8091 Zürich.

Tel: +41 44 255 90 50

Fax: +41 44 255 44 11

Email: alexander.jetter@usz.ch

Quintessenz:

In der Inneren Medizin können pharmakogenetische Untersuchungen in ausgewählten Situationen beim Einsatz von beispielsweise Phenprocoumon, Clopidogrel, Statinen oder Thiopurin-Analoga dazu dienen, Nebenwirkungen oder Wirkungslosigkeit zu erklären. Vielfältige technische Möglichkeiten zur Detektion der genetischen Varianten stehen zur Verfügung, die von der gezielten Suche nach bekannten Punktmutationen bis zum Screening und Vergleich ganzer Gene gegen Referenzsequenzen reicht. Neben der genetischen Information müssen demographische Faktoren, Begleitmedikation und Organfunktionen berücksichtigt werden, um eine adäquate Interpretation des Ergebnisses sicherzustellen. Die Rolle der Genetik beim Arzneistofftransport, bei medikamenteninduzierten Leberschäden und in der Toxikologie wird zunehmend erforscht.

Wörter im Haupttext: 1604, **Zeichen incl. Leerzeichen:** 13'560

Pharmakogenetik in der Inneren Medizin

Gerinnungssystem

In der Gerinnungshemmung mit Coumarinderivaten und in der Thrombozytenaggregationshemmung mit Clopidogrel sind pharmakogenetische Einflüsse klinisch relevant. So wurden für das im englischsprachigen Raum hauptsächlich verwendete Warfarin ein Einfluss von funktionsmindernden Mutationen des Cytochrom P450 Enzyms CYP2C9 zusammen mit Varianten der Vitamin-K Epoxidreduktase-1 (VKORC-1) auf das Ansprechen und die Blutungsrate vielfach nachgewiesen und Algorithmen zur genotypbasierten Dosisindividualisierung entwickelt [1, 2]. Das im deutschsprachigen Raum gebräuchliche Phenprocoumon weist diese Abhängigkeit vom CYP2C9 Genotyp weniger auf, da es auch über CYP3A4 abgebaut wird, für das bislang keine relevanten genetischen Einflüsse festgestellt wurden. Kürzlich wurde ein genotypbasierter Algorithmus für die Phenprocoumondosierung entwickelt, durch den fast 60% der Variabilität erklärt werden können und dessen Nützlichkeit für die Festlegung von Initial- und Erhaltungsdosen von Phenprocoumon in randomisierten Studien untersucht wird [7].

Für Clopidogrel, das über zwei durch mehrere Cytochrom P450 Enzyme vermittelte Schritte bioaktiviert wird, wird der Einfluss genetischer Polymorphismen insbesondere im CYP2C19-Enzym kontrovers diskutiert. Zwar wird eine genotypbasierte Dosierung derzeit in der Schweiz im Gegensatz zu den USA noch nicht empfohlen, es gibt aber Algorithmen, die vorschlagen, bei Patienten mit genetisch verminderter CYP2C19-Aktivität Prasugrel den Vorzug zu geben [3].

Protonenpumpenhemmstoffe

Die Protonenpumpenhemmer Omeprazol, sein S-Enantiomer Esomeprazol, Rabeprazol und Pantoprazol sind Substrate und unterschiedlich starke Hemmer von CYP2C19. In Ostasien wurde ein substanzieller Einfluss der CYP2C19-Genotypen auf den Erfolg einer Triple-Ulkustherapie, die Omeprazol enthielt, nachgewiesen, der eine CYP2C19 Genotypisierung vor deren Beginn nahelegt. Allerdings sind in der europäischen Bevölkerung funktionsmindernde CYP2C19-Varianten mit 2% eher selten, so dass die CYP2C19 Genotypisierung Fällen vorbehalten bleibt, in denen unerwünschte Wirkungen aufgetreten sind. Funktionssteigernde CYP2C19-Varianten, die zu einer Wirkungslosigkeit

trotz ausreichender Protonenpumpenhemmer-Dosierung führen, sind extrem selten, so dass sich eine Routine-Genotypisierung vor Therapiebeginn nicht lohnt. Die Genotypisierung kann aber bei Patienten sinnvoll sein, bei denen die genannten Protonenpumpenhemmer trotz hoher Dosierung nicht wirken.

Statin-Therapie

Bei der Therapie mit Statinen (HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren) ist die Assoziation zwischen Varianten des Transporters Organic Anion Transport Protein 1B1s (OATP1B1) und der Entwicklung einer Myopathie unter Simvastatin [4] bemerkenswert. OATP1B1 ist verantwortlich für die Aufnahme aller Statine in die Leberzelle. Bei reduzierter Aufnahme erhöht sich die Statin-Konzentration im Kreislauf und dadurch auch die Muskel-Exposition und -Toxizität. Die Frequenz eines funktionsmindernden Allels (*SLCO1B1*5*) war 15% bei Herzinfarkt-Patienten aus Grossbritannien. Homozygote Träger des Allels waren bis zu 16.9 –fach gefährdeter, eine Myopathie zu entwickeln, als Patienten ohne die Mutation [4]. Eine Genotypisierung vor Beginn einer Statintherapie wird aber noch nicht empfohlen, da prospektive Daten bislang fehlen. Zur Ursachenklärung bei statininduzierter Myopathie kann sie aber auch jetzt schon sinnvoll sein.

Tuberkulostatische Therapie

Das Tuberkulostatikum Isoniazid wird, ebenso wie Dapson, Sulfasalazin und Procainamid, durch die *N*-Acetyltransferase 2 (NAT2) abgebaut. Die Aktivität dieses Enzyms ist genetisch reguliert und in der europäischen Bevölkerung mit langsamen und schnellen Acetylierern (50 – 70% bzw. 30 – 50%) bimodal verteilt, während in der asiatischen Bevölkerung fast ausschliesslich schnelle Acetylierer vorhanden sind. Entsprechend wurde gezeigt, dass bei Europäern bei Beginn einer Isoniazid-Therapie eine Dosisadaptation an den NAT2 Genotyp zur Vermeidung von Unter- und Überdosierungen sinnvoll sein kann [5], ebenso wie zur Abklärung oder Vermeidung unerwünschter Wirkungen, z. B. peripherer Neuropathie unter Isoniazid [6] oder Lupus-Symptomatik unter Sulfasalazin [7].

Immunsuppression mit Thiopurin-Analoga

Die Thiopurinanaloga Azathioprin, 6-Mercaptopurin und 6-Thioguanin (Imurek®, Puri-Nethol® und Lanvis®) sind Prodrugs, die durch mehrere enzymatische Schritte zu 6-Thioguaninnukleotiden (6-TGN) bioaktiviert werden. Das genetisch polymorphe Enzym Thiopurinmethyltransferase (TPMT) ist an der Thiopurin-Desaktivierung beteiligt. Eine verminderte TPMT-Aktivität führt zur Akkumulation von 6-TGN und zu einer Knochenmarksuppression unter üblichen Thiopurin-Dosierungen. Patienten mit einer verminderten TPMT-Aktivität (rund 11% der Europäer [8]) brauchen daher tiefere Dosen, um den gleichen therapeutischen Effekt zu erreichen, aber auch um eine Knochenmarkstoxizität zu vermeiden. Durch Messung der TPMT-Aktivität in Erythrozyten (Phänotypisierung) oder Genotypisierung können Patienten mit verminderter Aktivität identifiziert werden. Da die Phänotypisierung nach Erythrozyten-Transfusion nicht zuverlässig ist, ist eine Genotypisierung zu bevorzugen. Die Bestimmung des TPMT-Genotyps vor Beginn einer Thiopurinanaloga-Therapie wird in den USA empfohlen [9]. Nach Dosiseinstellung ist die Überwachung des Blutbildes, der Leberwerte und der Thiopurinmetaboliten-Konzentrationen empfehlenswert [10], da eine Knochenmarkssuppression unter Thiopurinanaloga mit einer Latenz von mehreren Wochen auftreten kann.

Therapie der HIV-Infektion

Die Auswahl der antiretroviralen Therapie beinhaltet heute in den meisten Fällen ein Screening der HIV-Viren auf resistenzbegründende Mutationen. Daneben sind Cytochrom P450-Enzyme für den Metabolismus der meisten antiretroviralen Wirkstoffe wichtig, wobei für die Proteaseinhibitoren vor allem Wechselwirkungen im Vordergrund stehen, während relevante genetische Einflüsse auf die Pharmakokinetik bei den nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase Inhibitoren Efavirenz (und auch Nevirapin) gefunden wurden [11]. Während die Bestimmung von Plasmakonzentrationen der antiretroviralen Substanzen zur Therapieindividualisierung gut etabliert ist, werden genetische Untersuchungen der an Stoffwechsel und Transport beteiligten Proteine nicht routinemässig durchgeführt.

Forschungsausblicke

Pharmakogenetik der Arzneistofftransporter

Die Rolle der Arzneistofftransporter für erwünschte und unerwünschte Wirkungen wird zunehmend erkannt. Arzneistofftransporter gehören zu zwei Familien: den `ATP-binding cassette` (ABC) Transportern, die für die Eliminierung von Stoffen aus Zellen dienen, und den `solute-linked carrier` (SLC) Transportern, die die Aufnahme von Stoffen in Zellen erleichtern. Mehr als 34 verschiedene Arzneimitteltransporter sind in Darm und Leber charakterisiert worden [12]. Polymorphismen im wichtigsten Efflux-Transporter-Gen ABCB1 (kodiert das `multidrug resistance protein 1` – MDR-1, auch P-Glycoprotein genannt) und im wichtigen Aufnahmetransporter-Gen SLCO1B1 (kodiert das Organic Anion Transport Protein - OATP1B1) werden vor allem mit unerwünschten Arzneimittelwirkungen in Zusammenhang gebracht [4, 13]. Allerdings haben Untersuchungen zur Assoziation von Polymorphismen des ABCB1-Gens mit der Pharmakokinetik verschiedenster Substrate widersprüchliche Ergebnisse erbracht [14-17], so dass diese Untersuchungen in der Klinik nicht etabliert sind. Während für SLCO1B1 der oben erwähnte Einfluss auf die Statin-Toxizität belegt ist, stehen für viele weitere Transporter-Polymorphismen noch keine Ergebnisse zur Verfügung, die einen Einsatz in der Routine rechtfertigen würden. Im Gegensatz dazu kann bei Verdacht auf eine angeborene intrahepatische Cholestase, die z. B. durch die Gabe eines Medikaments exazerbiert und demaskiert worden ist, oder bei Verdacht auf einer Schwangerschaftscholestase eine Sequenzierung der Gene für die Gallensäuretransporter „Multidrug Resistance Protein 3“ (MDR3), „Gallensäure Export-Pumpe“ (BSEP: Bile Salt Export Pump), und „Familial Intrahepatic Cholestasis 1“ (FIC1) hilfreich sein [18].

Toxikogenomik und medikamentöse Leberschädigung

Die Toxikogenomik untersucht mit Gen-Expressions-Analysen die Wirkmechanismen von verschiedenen Noxen auf biologische Systeme [19, 20]. Die drei Hauptziele der Toxikogenomik sind, die zugrundeliegenden molekularen Ereignisse aufzuklären, bessere Biomarker für Toxizitäten zu identifizieren, und die genetischen Komponenten der individuellen Suszeptibilität auf bestimmte Noxen (*environmental stressors*) und deren Beziehung zu Krankheiten zu verstehen [19]. Ein weiterer

Aspekt der Toxikogenomik ist die frühe Identifizierung von potenziellen unerwünschten Wirkungen bei der Medikamentenentwicklung [20-22].

Die meisten toxikogenomischen Studien fokussieren auf Hepatotoxizität und medikamentöse Leberschädigung (drug induced liver injury DILI), da Leberfunktionsstörungen einer der wichtigsten Gründe für schwere unerwünschte Arzneistoffwirkungen und Marktrückzüge von neuen Medikamenten sind. So wurden mittels Genexpressionsprofil-Analysen u. a. die Mechanismen der Paracetamol-induzierten Hepatotoxizität untersucht [23, 24] und Ursachen für die Hepatotoxizität von Trovafloxazin beschrieben [25]. Kürzlich wurden mehrere prädisponierende HLA-Allele für die Entwicklung einer DILI unter Amoxicillin/Clavulansäure (Augmentin®) – Therapie demonstriert [26]. Allerdings bleibt ein medikamentöser Leberschaden glücklicherweise ein sehr seltenes Phänomen, bei dem meist erst das Zusammenspiel mehrerer Noxen die Leberschädigung bewirkt [28], so dass die präventive Untersuchung prädisponierender Gene vor Beginn einer potentiell hepatotoxischen Therapie selbst in Fällen klarer Assoziationen nicht als effektiv eingeschätzt wird.

Insbesondere stehen die Mechanismen, die idiosynkratischen Reaktionen zugrunde liegen, im Fokus der Forschung, in der Hoffnung, hiermit die Vorhersage, Verhinderung und spezifische Therapie idiosynkratischer Reaktionen zu ermöglichen. Ausserdem ist mit der Toxikogenomik die Erwartung verbunden, die Anzahl der Tierversuche bei der Medikamentenentwicklung zu reduzieren [22] und Grundlagen für die Entwicklung neuer Antidota zu finden. Da mit der Toxikogenomik posttranskriptionelle Toxizitätsmechanismen wie die Bindung an Proteine oder Veränderungen von Makromolekülen nicht untersucht werden können, ergeben sich Limitationen im Einsatz dieser Technik.

Pharmakogenetische Untersuchungen: wie?

Zur Genotypisierung stehen verschiedene Techniken zur Verfügung. In der Routinediagnostik werden häufig Polymerase Kettenreaktionen (PCR) mit nachfolgender Gelelektrophorese oder Real-Time PCR-Technologien angewendet. Zudem können z. B. für CYP2D6 zusätzliche Genkopien identifiziert werden. Diese Analysen weisen nur einzelne, häufigere (Punkt-) Mutationen des Gens nach. Die Nicht-Nachweisbarkeit dieser Mutationen führt dann zum Befund "Wildtyp" im Sinne einer

Ausschlussdiagnose. Meist sind die Tests so gewählt, dass 90-95% der relevanten Mutationen in der europäischen Bevölkerung erfasst werden. In 5-10% der Fälle kann demzufolge eine seltene, nicht untersuchte Mutation vorliegen, so dass trotz Befund "Wildtyp" eine veränderte Enzymaktivität besteht. Bei der Untersuchung von Nicht-Europäern kann dieser Prozentsatz deutlich höher sein.

Nur selten werden in der Routine Genabschnitte sequenziert, wodurch der gesamte genetische Code eines Abschnitts mit Referenzsequenzen verglichen werden kann. Des Weiteren stehen HPLC-Verfahren oder whole-genome sequencing zur Verfügung, die nur für Forschungsfragestellungen eingesetzt werden. Als Ausgangsmaterial dient für die Routinediagnostik DNA, die aus Lymphozyten einer EDTA-Blutprobe extrahiert wird. Gemäss schweizerischer Gesetzgebung müssen Patienten vor einer genetischen Untersuchung aufgeklärt werden und ihr schriftliches Einverständnis geben. Die schweizerische Gesellschaft für medizinische Genetik hält hierfür Formulare auch online bereit. Zu beachten ist, dass ausser der HLA-B*5701-Testung vor Beginn einer Abacavir-Therapie und der HLA-A*3101-Überprüfung vor Beginn mit Carbamazepin keine pharmakogenetische Untersuchung ohne vorgängige Kostengutsprache erstattet wird. Grundsätzlich sollte der genetische Befund in einem klinischen Kontext beurteilt werden, da insbesondere Wechselwirkungen einen relevanten Einfluss auf die Enzymaktivität haben können, der durch genetische Untersuchungen nicht erfasst werden kann.

Schlussfolgerungen

In der Schweiz sind aktuell genetische Tests vor Beginn einer Therapie mit Carbamazepin und mit Abacavir vorgeschrieben. In den USA gibt es verschiedene, von Konsortien ausgearbeitete Richtlinien, in denen die Anwendung genetischer Tests in ihrem klinischen Kontext empfohlen wird. Die derzeit verfügbaren guidelines befassen sich neben Warfarin mit Thiopurinen und der TPMT [8], sowie mit Clopidogrel und CYP2C19-Polymorphismen [3]. Es ist zu erwarten, dass sowohl aufgrund technischer Entwicklungen, die mit sinkenden Kosten und einer breiteren Verfügbarkeit von Gentests einhergehen, als auch aufgrund präziserer Forschungsergebnisse, die den Stellenwert pharmakogenetischer Untersuchungen zur Verbesserung der Wirksamkeit und zur Vermeidung von Nebenwirkungen valider beschreiben, weitere pharmakogenetische Leitlinien erarbeitet werden.

Deren Umsetzbarkeit in der ärztlichen Praxis wird auch davon abhängen, ob sinnvolle pharmakogenetische Untersuchungen von der obligatorischen Krankenversicherung erstattet werden.

Referenzen:

1. van Schie RM, Wessels JA, le Cessie S, de Boer A, Schalekamp T, van der Meer FJ, *et al.* Loading and maintenance dose algorithms for phenprocoumon and acenocoumarol using patient characteristics and pharmacogenetic data. *Eur Heart J* 2011.
2. Klein TE, Altman RB, Eriksson N, Gage BF, Kimmel SE, Lee MT, *et al.* Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med* 2009,**360**:753-764.
3. Scott SA, Sangkuhl K, Gardner EE, Stein CM, Hulot JS, Johnson JA, *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) Genotype and Clopidogrel Therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2011.
4. Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, *et al.* SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N Engl J Med* 2008,**359**:789-799.
5. Kinzig-Schippers M, Tomalik-Scharte D, Jetter A, Scheidel B, Jakob V, Rodamer M, *et al.* Should we use N-acetyltransferase type 2 genotyping to personalize isoniazid doses? *Antimicrob Agents Chemother* 2005,**49**:1733-1738.
6. Hiratsuka M, Kishikawa Y, Takekuma Y, Matsuura M, Narahara K, Inoue T, *et al.* Genotyping of the N-acetyltransferase2 polymorphism in the prediction of adverse drug reactions to isoniazid in Japanese patients. *Drug Metab Pharmacokinet* 2002,**17**:357-362.
7. Gunnarsson I, Kanerud L, Pettersson E, Lundberg I, Lindblad S, Ringertz B. Predisposing factors in sulphasalazine-induced systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1997,**36**:1089-1094.
8. Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet* 1980,**32**:651-662.
9. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2011,**89**:387-391.
10. Wusk B, Kullak-Ublick GA, Rammert C, von Eckardstein A, Fried M, Rentsch KM. Therapeutic drug monitoring of thiopurine drugs in patients with inflammatory bowel disease or autoimmune hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004,**16**:1407-1413.
11. Michaud V, Bar-Magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg MA. The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacol Rev* 2012,**64**:803-833.
12. Zhou SF, Liu JP, Lai XS. Substrate specificity, inhibitors and regulation of human cytochrome P450 2D6 and implications in drug development. *Curr Med Chem* 2009,**16**:2661-2805.
13. Ross JR, Riley J, Taegetmeyer AB, Sato H, Gretton S, du Bois RM, *et al.* Genetic variation and response to morphine in cancer patients: catechol-O-methyltransferase and multidrug resistance-1 gene polymorphisms are associated with central side effects. *Cancer* 2008,**112**:1390-1403.
14. Chowbay B, Cumaraswamy S, Cheung YB, Zhou Q, Lee EJ. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics* 2003,**13**:89-95.

15. Taegtmeier AB, Breen JB, Smith J, Burke M, Leaver N, Pantelidis P, *et al.* ATP-binding cassette subfamily B member 1 polymorphisms do not determine cyclosporin exposure, acute rejection or nephrotoxicity after heart transplantation. *Transplantation* 2010,**89**:75-82.
16. Cascorbi I. P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. *Handb Exp Pharmacol* 2011:261-283.
17. Wyen C, Fuhr U, Frank D, Aarnoutse RE, Klaassen T, Lazar A, *et al.* Effect of an antiretroviral regimen containing ritonavir boosted lopinavir on intestinal and hepatic CYP3A, CYP2D6 and P-glycoprotein in HIV-infected patients. *Clin Pharmacol Ther* 2008,**84**:75-82.
18. Genetic Testing for Hereditary Familial Cholestatic Liver Diseases. (<http://www.pharmacogenetics.ch>), 2012. Accessed 25.05.2012.
19. Waters MD, Fostel JM. Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects. *Nat Rev Genet* 2004,**5**:936-948.
20. Youns M, Hoheisel JD, Efferth T. Toxicogenomics for the prediction of toxicity related to herbs from traditional Chinese medicine. *Planta Med* 2010,**76**:2019-2025.
21. Khor TO, Ibrahim S, Kong AN. Toxicogenomics in drug discovery and drug development: potential applications and future challenges. *Pharm Res* 2006,**23**:1659-1664.
22. Van Hummelen P, Sasaki J. State-of-the-art genomics approaches in toxicology. *Mutat Res* 2010,**705**:165-171.
23. Kienhuis AS, Bessems JG, Pennings JL, Driessen M, Luijten M, van Delft JH, *et al.* Application of toxicogenomics in hepatic systems toxicology for risk assessment: acetaminophen as a case study. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011,**250**:96-107.
24. Ferrer-Dufol A, Menao-Guillen S. Toxicogenomics and clinical toxicology: an example of the connection between basic and applied sciences. *Toxicol Lett* 2009,**186**:2-8.
25. Cui Y, Paules RS. Use of transcriptomics in understanding mechanisms of drug-induced toxicity. *Pharmacogenomics* 2010,**11**:573-585.
26. Lucena MI, Molokhia M, Shen Y, Urban TJ, Aithal GP, Andrade RJ, *et al.* Susceptibility to Amoxicillin-Clavulanate-Induced Liver Injury Is Influenced by Multiple HLA Class I and II Alleles. *Gastroenterology* 2011,**141**:338-347.