

Metabolomics kan potentielt forbedre lægemiddelterapien

Claus Stage¹, Gesche Jürgens², Kim Peder Dalhoff¹ & Henrik Berg Rasmussen²

Metabolomics er en ny videnskabsgren, som er blevet udviklet i løbet af de seneste 2-3 dekader i kølvandet på andre »omics«-videnskaber såsom *genomics*, *transcriptomics* og *proteomics* [1]. *Metabolomics* opståen er muliggjort af en rivende udvikling inden for analytisk kemi og bioinformatik, hvorved man nu kan identificere og kvantificere tusinder af små molekyler i et prøvemateriale og efterfølgende behandle de mange data.

I *metabolomics* beskæftiger man sig med organismers metabolom, som udgøres af den samlede mængde af små organiske molekyler i celler og væv [2]. Ved små organiske molekyler forstås aminosyrer, små signalmolekyler, monosakkarider som glukose og fruktose etc. Metabolomet ændrer sig fra sekund til sekund og påvirkes af både endogene og eksogene faktorer såsom genetisk sammensætning, alder, organpatologi, føde, lægemidler og luften, vi indånder. Desuden har bakteriefloraen i tarmen betydning for metabolomet [3]. Ved *metabolomics* undersøger man både intermediære produkter og slutprodukter fra stofskiftet samt eksogent tilførte stoffer og får derfor et godt billede af de faktiske processer i vævene og den eksogene påvirkning. Typiske metoder til metabolomstudier ses i **Tabel 1**, mens **Figur 1** viser et typisk resultat fra en metabolomundersøgelse.

Metabolomics adskiller sig primært fra den traditionelle kliniske biokemi ved, at der produceres meget store mængder data, hvilket kan bidrage til en bedre forståelse af patofysiologien hos en patient. *Metabolomics* kan desuden foretages *untargeted* – altså med en hypotesefri tilgang til vurdering af en patients fysiologiske status. Det åbner mulighed for identifikation af nye biomarkører.

De nuværende principper for lægemiddelterapi er i vid udstrækning baseret på standarddoser efter princippet *one size fits all*. Effekten af en del lægemidler udviser imidlertid stor individuel variation, og der er store individuelle forskelle i tilbøjeligheden til at få medicinrelaterede bivirkninger. I USA formoder man, at 80.000-100.000 hospitalpatienter årligt dør som følge af medicinrelaterede bivirkninger, mens mere end en million patienter hvert år indlægges som følge af medicinbivirkninger [5]. Ud over at påføre den enkelte patient ubehagelige komplikationer er medi-

cinrelaterede bivirkninger således årsag til store samfundsmæssige udgifter. I Danmark menes bivirkninger således at koste samfundet omkring otte milliarder kroner hvert år, men nøjagtige tal savnes [6]. Der er derfor behov for forbedring af farmakoterapien og for en om muligt mere individualiseret terapi. Læger har i princippet altid arbejdet med individualiseret terapi i form af klinisk dosistitrering ud fra effekt og bivirkninger, men ved yderligere at individualisere behandlingen ud fra den enkelte patients metabolomprofil er håbet, at man både kan øge behandlingseffekten og nedsætte frekvensen af bivirkninger. Som redskab til individualisering af lægemiddelterapien har man hidtil især fokuseret på farmakogenetik – altså genvariationers betydning for lægemiddelrespons. *Metabolomics* er et af de nyere skud på stammen i jagten på forbedret individuel lægemiddelterapi.

ANVENDELSESMULIGHEDER VED METABOLOMSTUDIER

Metabolomstudier kan på forskellig vis bidrage til udviklingen af biologisk og biomedicinsk forskning, og opdagelse af biomarkører er det vigtigste anvendelsesområde [7, 8]. En biomarkør defineres direkte oversat fra Biomarkers Definitions Working Group [9] som: »En karakteristik, som måles objektivt og vurderes som indikator for normale biologiske processer, patologiske processer eller farmakologiske effekter af en terapeutisk intervention«.

STATUSARTIKEL

- 1) Klinisk Farmakologisk Afdeling, Bispebjerg Hospital
- 2) Forskningsinstitut for Biologisk Psykiatri, Psykiatrisk Center Sct. Hans

Ugeskr Læger
2014;176:V02130127



TABEL 1

Analysemetoder til metabolomstudier.

Metoder til separation af metabolitter

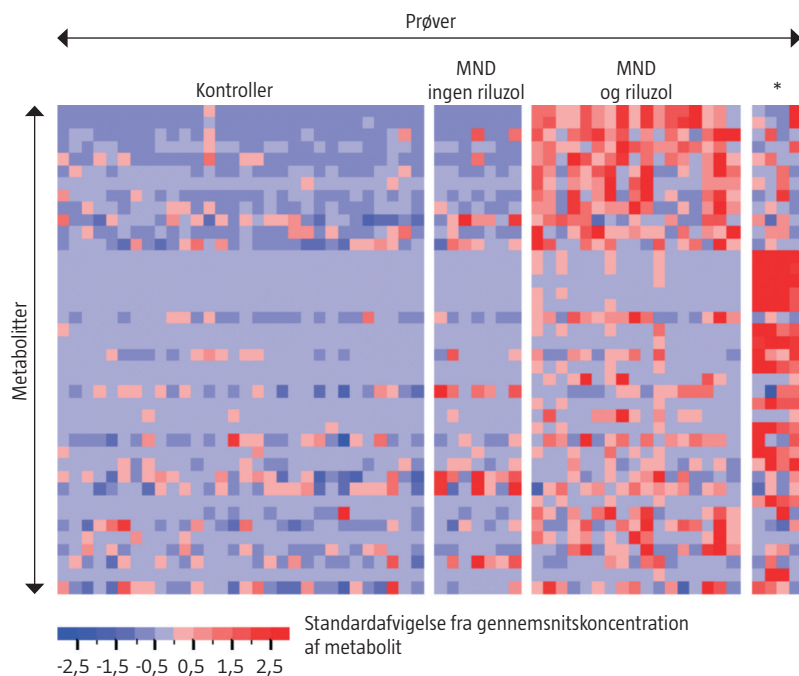
Gaskromatografi
Højtryksvæskrokromatografi
Væskrokromatografi
Kapillærelektroforese

Metoder til detektion af metabolitter

Massespektrometri
Kernemagnetisk resonans-spektroskopi
Matrix-assisted laser desorption/ionization

FIGUR 1

Heat map fra en metabolomundersøgelse hos patienter med *motor neurone disease* (MND) vs. en kontrolgruppe. Figuren viser niveauer af metabolitter hos patienter med MND og hos kontrolpersoner. Hver række repræsenterer en metabolit og hver søjle en forsøgsdeltager. Hvert kvadrat repræsenterer således én metabolit hos én deltager, og farven fortæller om koncentrationen ift. gennemsnitskoncentrationen, hvor rød angiver forhøjede niveauer. Patienterne med MND er underopdelt i tre grupper med og uden medicin (riluzol) samt en gruppe med fire patienter (markeret med stjerne), som har et karakteristisk mønster, hvoraf tre har *lower motor neurone disease*. Modifieret med tilladelse fra [2, 4].



Biomarkører har således et bredt anvendelsespotentiale, og brugen af dem er efterhånden ganske udbredt i almindelig klinisk dagligdag. Eksempler på biomarkører i klinikken – dog ikke fundet ved brug af metabolomstudier – er C-reaktivt protein, *brain-natriuretisk peptid*, prostataspecifikt antigen (PSA), cancerantigen-125, blodglukose og kreatinin, som er en hjælp ved diagnostik, monitorering og prognose af forskellige sygdomme [10]. *Nuclear magnetic resonance*-spektroskopistudier af medfødte stofskiftesygdomme var nogle af de første metabolomstudier, hvor man fandt diagnostisk relevante biomarkører [11, 12]. Siden er det især inden for cancerforskning og kardiovaskulær forskning, at metabolomstudier har vundet indpas. *Sreekumar et al* [13] fandt i 2009, at urinsarcosin var en mere pålidelig markør end PSA til at skelne biopsipositive fra biopsinegative mænd i PSA-intervallet 2-10 ng/ml og således kunne bidrage til tidlig diagnostik af prostatacancer. I overensstemmelse hermed fandt man i et nyligt publiceret studie af *Lucarelli et al* [14], at serumsarcosin forbed-

rede diagnostikken hos patienter, der havde prostatacancer med S-PSA under 4,0 ng/ml. Der er således et muligt potentiale for sarcosin som biomarkør for tidlige stadier af prostatacancer, men præcist på hvilke præmisser, det bør bruges, mangler at blive fastslået.

I forbindelse med udvikling af lægemidler kan *metabolomics* anvendes til at identificere biomarkører i metaboliske processer, som kan være af betydning for en sygdomsproces, og dermed afsløre eventuelle nye angrebepunkter for lægemiddelterapi [7]. I prækliniske lægemiddelforsøg kan biomarkører både bidrage til forståelsen af et lægemiddels effekter samt potentiale for toksicitet og i kombination med farmakokinetiske data give et fingerpeg om dosis-responsforhold [7, 15, 16].

Et andet potentielt anvendelsesområde for *metabolomics* er anvendelse af lægemidler. Et lægemiddelrespons afhænger af både genetiske og miljømæssige faktorer. Håbet er, at farmako-*metabolomics* kan anvendes til mere præcist at forudsige lægemiddelresponsen hos den enkelte patient, idet man med denne teknik tager højde for både genetiske faktorer og miljømæssige påvirkninger. Det er stadig sparsomt med humanstudier på området, men *Kaddurah-Daouk et al* [17] fandt på basis af en prædosismetabolomprofil af 89 patienter med svær depression 81% af de patienter, som responderede på sertralín (n = 43). Konklusionen blev, at metaboliske profiler kunne bidrage til at klassificere patienter, som enten responderer eller nonresponderer på sertralín.

Et af de hyppigst anvendte lægemidler i verden er paracetamol, som hos disponerede personer kan give leverpåvirkning med forhøjede levertransaminaser (alaninaminotransferase og aspartataminotransferase) ved brug af højeste rekkommanderede dosis på et gram fire gange dagligt [18]. For at vurdere om metabolitprofiler i urin kan bruges til at forudsige, om en person får tegn på paracetamolinduceret leverpåvirkning, udførte *Winnike et al* [19] et studie med opsamling af urin fra 71 raske frivillige, som i en uge indtog fire gram paracetamol dagligt. Det var ikke muligt at skelne respondenter (med leverpåvirkning) fra ikke-responsdenter ud fra prædosisurinmetabolitprofiler, men få dage efter påbegyndelse af forsøget (og inden en alaninaminotransferasesignering blev observeret hos respondenterne) fandt man signifikant forskel i urinmetabolitprofilerne mellem respondenter og ikke-responsdenter. Man kunne med en præcision på 73% afgøre, om en deltager var respondent eller ikke-responsdent, og konkluderede, at hvis man i undersøgelser med andre lægemidler fandt lignende resultater, kunne farmakometabolomstudier bruges i tidlig fase af en lægemiddelterapi til at identificere

personer, der var disponerede for lægemiddelinduceret leverpåvirkning.

I et andet studie af Clayton *et al* [20] fandt man hos 99 raske frivillige forsøgspersoner, der indtog et gram paracetamol som engangsdosis, en tydelig sammenhæng mellem P-cresol i prædosisurinmetabolitprofiler og ratio mellem de to eliminationsprodukter af paracetamol – paracetamolsulfat og paracetamolglukoronid – i urinen. P-cresol dannes ved mikrobiel nedbrydning af aminosyren tyrosin i tarmen, og resultaterne af studiet tyder på, at øget P-cresol kan nedsætte sulfateringskapaciteten. Dette kan muligvis have betydning for andre lægemidler, hvor sulfatering også indgår i metabolismen og dermed muligvis kan påvirke lægemiddelresponsen. Studiet viste samtidig, at metabolomstudier har potentiale til at afsløre hidtil ukendte mekanismer, der har betydning for lægemiddelmetabolisering.

FREMTIDIGE PERSPEKTIVER OG UDFORDRINGER

FDA godkendte i 2007 en test for genetisk varians i to gener (*CYP2C9* og *VKORC1*), som kan øge risikoen for blødning ved behandling med warfarin [21]. Formentlig vil flere ældre lægemidler fremover blive undersøgt både farmakogenetisk og med inddragelse af omics-videnskaber herunder *metabolomics* for at finde ud af, om de kan bruges mere målrettet til nogle undergrupper af patienter.

En af de nærmeste udfordringer for *metabolomics* bliver at integrere informationen herfra med informationen fra *genomics*, *proteomics* etc. Dette kræver adgang til avancerede og højtydende computerprogrammer, som kan samkøre, analysere og modellere de enorme mængder data samt ekspertise i fortolkning af resultaterne. Ved at kombinere forskellige omics-videnskaber kan man få et systembiologisk billede af menneskets (pato)fysiologiske processer samt af lægemidlers farmakodynamik og -kinetik. Bedre forståelse af sygdomsmekanismer og bedre behandlingsprincipper kræver et sådant fokus på systembiologi, og dette vil øge chancen for succes hen imod en mere biologisk funderet individualiseret lægemiddelterapi.

Kombination af flere omics-videnskaber har for nylig fundet sted i nogle humanstudier [22, 23], og p.t. er et dansk multicenterstudie i gang, hvor man ved at kombinere *metabolomics* og *genetic profiling* forsøger at belyse betydningen af polymorfier i det gen, der koder for leverenzymet, CES1, og metabolisme af flere CES1-afhængige lægemidler [24].

Menneskets biologi udviser på molekylært niveau ganske stor individuel variation, og en af udfordringerne for *metabolomics* er at definere fysiologisk normale metaboliske mønstre for at kunne identifi-



FAKTABOKS

I *metabolomics* beskæftiger man sig med organismers metabolom, som udgøres af den samlede mængde små organiske molekyler i celler og væv.

Metabolomics bruges primært til at finde biomarkører. Biomarkører har et bredt anvendelsespotentiale.

Biomarkører kan bruges til diagnosticering, prognostisering og monitorering af sygdomme samt til at øge den patofysiologiske forståelse af sygdomme.

Biomarkører i metaboliske processer kan afsløre nye angrebepunkter for lægemiddelterapi.

Biomarkører kan forudsige lægemiddelrespons og disponering for lægemiddelinduceret bivirkning.

Identifikation af brugbare biomarkører kræver definition af fysiologisk normale metaboliske mønstre.

cere brugbare biomarkører [8]. En sådan afgrænsning er nødvendig for at kunne påvise, at forskel i effekt ved lægemiddelterapi ikke bare skyldes tilfældig interindividuel variation. Påvisning af fysiologisk normale metaboliske mønstre vil kræve analyser af biologisk materiale (blod, urin og spyt) fra et stort antal såvel unge som ældre raske mænd og kvinder med forskellig statur og etnicitet, hvor man tager højde for forskellige miljømæssige faktorer som rygning, alkoholforbrug og madvaner. Ved påvisning af relevante biomarkører har *metabolomics* potentiale til, at man vil kunne både diagnosticere, monitorere og forudsige prognosen af sygdomme samt bidrage med ny viden om sygdomspatiologi samt lægemiddelterapi og -udvikling. Niveaue af metabolitter i et prøvemateriale som f.eks. plasma afspejler grundlæggende effekten af såvel genetisk baggrund som miljø- og livsstilspåvirkninger. Niveaue af nogle af disse metabolitter varierer over tid, men andre er »stabile« hos det enkelte individ og vil kunne anvendes i diagnostisk og terapeutisk øjemed.

Brugen af *metabolomics* er inde i en rivende udvikling, men foregår på nuværende tidspunkt primært i forskningsmæssigt regi og i forbindelse med udvikling af lægemidler. Det store gennembrud med implementering i klinikken lader vente på sig, trods et stigende antal publicerede artikler på området. Mulige forklaringer på denne diskrepans er manglende klinisk evidens fra randomiserede forsøg til at påvise brugbarheden for lægen og fordelene for patienterne, manglende udbredelse af evidensen til klinikerne samt manglende viden om (eller hjælp til) tolkning og brug af resultaterne. Når disse forhold bedres, og hvis priser, svartider og prædiktive værdier for analyseresultaterne er rimelige, vil *metabolomics* formentlig få en større plads i patientbehandlingen.

KORRESPONDANCE: Claus Stage, Klinisk Farmakologisk Afdeling, Bispebjerg Hospital, Bispebjerg Bakke 23, 2400 København NV. E-mail: clausstage@hotmail.com

ANTAGET: 15. juli 2013

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTE.DK: 14. oktober 2013

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriften.dk

TAKSIGELSE: Det Strategiske Forskningsråd takkes for økonomisk støtte. Denne statusartikel er udarbejdet som led i INDICES-projektet, der sigter mod individuel skræddersyning af behandling med nogle hyppigt anvendte lægemidler. INDICES er støttet af Det Strategiske Forskningsråd (IO-092792/DSF).

LITTERATUR

- Schmidt C. Metabolomics takes its place as latest up-and-coming "omic" science. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:732-4.
- Kaddurah-Daouk R, Kristal BS, Weinshilboum RM. Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008;48:653-83.
- Johnson CH, Patterson AD, Idle JR et al. Xenobiotic metabolomics: major impact on the metabolome. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012;52:37-56.
- Rozen S, Cudkowicz ME, Bogdanov M et al. Metabolomic analysis and signatures in motor neuron disease. *Metabolomics* 2005;1:101-8.
- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1200-5.
- Nielsen LF, Møldrup C. Metabonometer viser organismens tilstand. Danmarks Farmaceutiske Universitet: Lægemedelforskning 2005:6-7.
- Nordström A, Lewensohn R. Metabolomics: moving to the clinic. *J Neuroimmune Pharmacol* 2010;5:4-17.
- Haring R. Perspectives for metabolomics in testosterone replacement therapy. *J Endocrinol* 2012;215:3-16.
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89-95.
- Mamas M, Dunn WB, Neyses L et al. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol* 2011;85:5-17.
- Iles RA, Hind AJ, Chalmers RA. Use of proton nuclear magnetic resonance spectroscopy in detection and study of organic acidurias. *Clin Chem* 1985;31:1795-801.
- Yamaguchi S, Koda N, Eto Y et al. Quick screening and diagnosis of organic acidemia by NMR urinalysis. *J Pediatr* 1985;106:620-2.
- Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature* 2009;457:910-4.
- Lucarelli G, Fanelli M, Larocca AMV et al. Serum sarcosine increases the accuracy of prostate cancer detection in patients with total serum PSA less than 4.0 ng/ml. *Prostate* 2012;72:1611-21.
- Tan DSW, Thomas GV, Garrett MD et al. Biomarker-driven early clinical trials in oncology: a paradigm shift in drug development. *Cancer J* 2009;15:406-20.
- Sarker D, Pacey S, Workman P. Use of pharmacokinetic/pharmacodynamic biomarkers to support rational cancer drug development. *Biomark Med* 2007;1:399-417.
- Kaddurah-Daouk R, Boyle SH, Matson W et al. Pretreatment metabotype as a predictor of response to sertraline or placebo in depressed outpatients: a proof of concept. *Transl Psychiatry* 2011;1:e26.
- Watkins PB, Kaplowitz N, Slattey JT et al. Aminotransferase elevations in healthy adults receiving 4 grams of acetaminophen daily: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;296:87-93.
- Winnike JH, Li Z, Wright FA et al. Use of pharmacometabonomics for early prediction of acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2010;88:45-51.
- Clayton TA, Baker D, Lindon JC et al. Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *PNAS* 2009;106:14728-33.
- www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/2007/ucm108984.htm (4. sep 2013).
- Suhre K, Shin SY, Petersen AK et al. Human metabolic individuality in biomedical and pharmaceutical research. *Nature* 2011;477:54-60.
- Brockmüller SF, Bucher E, Müller BM et al. Integration of metabolomics and expression of glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAM) in breast cancer-link to patient survival, hormone receptor status, and metabolic profiling. *J Proteome Res* 2012;11:850-60.
- www.indices-project.dk/?side=Forside (4. sep 2013).

Fordele og ulemper ved postmenopausal hormonel substitutionsterapi

Pia Eiken^{1,2}, Peter Vestergaard^{3,4} & Jens-Erik Jensen⁵

STATUSARTIKEL

1) Kardiologisk, Nefrologisk, Endokrinologisk Afdeling H, Hillerød Hospital

2) Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

3) Klinisk Institut, Aalborg Universitet

4) Endokrinologisk Afdeling, Klinik Medicin, Medicinerhuset, Aalborg

5) Endokrinologisk Afdeling, Hvidovre Hospital

Ugeskr Læger
2014;176:V06130367

Gennem de seneste ti år har der været bekymring om anvendelsen af hormonel substitutionsterapi (HT), specielt efter publikation af resultaterne fra det amerikanske Women's Health Initiative (WHI). Kvindernes middelalder var 63,3 år ved studiestart, og studiet viste øget risiko for cancer mammae [1] og samlet set flere risici end fordele [2, 3] samt manglende gevinst ved primær forebyggelse af kardiovaskulær sygdom [4]) ved brug af HT. I USA anvendes der primært østrogen udvundet fra hoppeurin (*conjugated equine estrogen* (CEE)), mens man i Danmark anvender naturligt østrogen (østradiol). Ligeledes anvender man i USA syntetisk progesteron (medroxyprogesteronacetat (MPA)), som muligvis har mindre gunstige effekter [5, 6] på bl.a. kardiovaskulær sygdom, end naturligt forekommende progesteron har. I 2003 blev et dansk studie – Danish Osteoporosis

Prevention Study (DOPS) [7] med kvinder, der i gennemsnitsalder var over ti år yngre ved studiestart end kvinderne i WHI-studiet, lukket ned ti år før planlagt pga. den nævnte øgede risiko for cancer mammae. Selvom HT havde været anvendt i Danmark gennem flere årtier, faldt salget dramatisk efter 2003. Alleerede for ti år siden blev der sat spørgsmålstegn ved resultaterne af WHI [8], og specielt ved om resultaterne var relevante for kvinder, der påbegyndte HT i perimenopausen [9].

I 2013 anbefalede det amerikanske forebyggende Services Task Force (USPSTF) ikke anvendelse af HT til primær forebyggelse af kroniske lidelser hos postmenopausale kvinder [10] uden skelen til timingen af påbegyndelsen af HT efter menopausen. Disse anbefalinger er i overensstemmelse med et Cochranereview fra 2012 [11], som omfatter 23 ran-