

Klassisk farmakogenetik

Professor Kim Brøsen

Syddansk Universitet, Institut for Sundhedstjenesteforskning,
Klinisk Farmakologi

Farmakogenetik har siden slutningen af 1950'erne været betegnelsen for et forskningsområde, der vedrører betydningen af genetiske faktorer betydning for variation i lægemidlers ønskede og uønskede virkninger. Interessen for farmakogenetik har tidligt været drevet af en forestilling om, at man ved at fæno- eller genotype patienterne før behandling kan optimere virkningen og nedsætte forekomsten af bivirkninger ved at vælge den rigtige dosis af det rigtige lægemiddel. De tidligt påviste farmakogenetiske tilstande omfattede både eksempler på arveligt betinget ændret følsomhed for lægemidler, som for eksempel glukose-6-fosfat-dehydrogenasemangel, og malign hypertermi under generel anæstesi. Atyrisk plasmakolinesterase med forlænget muskelparalyse ved suksametonium er et eksempel på en af de tidligt påviste, sjældne, arveligt betingede farmakokinetiske varianter.

N-acetyleringspolymorfien blev beskrevet allerede i 1960, og den er knyttet til cytoplasmaenzymet N-acetyltransferase 2, som på grund af genetiske varianter i *NAT 2*-genet giver ophav til to fænotyper i populationen, *slow acetylators* og *fast acetylators*. Den farmakogenetiske betydning af *NAT 2*-polymorfien er begrænset, fordi kun meget få lægemidler, og i klinisk praksis kun isoniazid, elimineres ved N-acetylering.

Fra 1960 og ca. 15 år frem var farmakogenetikken karakteriseret af en række markante tvillingestudier udført blandt andet af *Elliot Vessel*, men det er glædeligt, at også danske forskere gjorde sig bemærket med et meget citeret arbejde [1] om

fenytoins farmakogenetik. Et nyere eksempel på et tvillingestudie er vist i **Figur 1** [2].

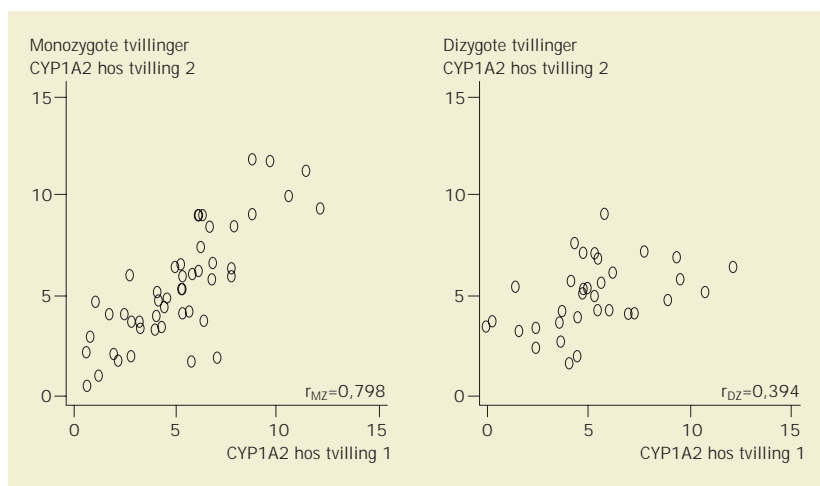
Cytokrom P450

Farmakogenetikken fik en renæssance i 1970'erne med opdagelsen af de polymorft udtrykte cytokrom P450-enzymers, og de vigtigste er CYP2D6, CYP2C19 og CYP2C9.

CYP2D6-oxidationspolymorfien blev opdaget ved en tilfældighed i midten af 1970'erne, fordi tyske forskere under ledelse af *Michel Eichelbaum*, som arbejdede med det anti-arytmiske lægemiddel spartein, og engelske forskere under ledelse af *Robert Smith*, som arbejdede med det antihypertensive lægemiddel debrisoquin [3], samtidig opdagede, at 5-10% af en hvid befolkning var ude af stand til at nedbryde et af de to stoffer. Den nyopdagede tilstand blev kaldt langsom nedbrydning eller på engelsk *poor metabolism*, og individer med den hyppigst forekommende fænotype blev benævnt *extensive metabolizers*. Utallige studier af hvide, vesteuropæiske og nordamerikanske befolkninger har konsekvent vist, at *poor metabolizer*-hyppigheden er på omkring 8% med meget små udsving. Det er derfor interessant set med danske øjne, at det for nylig er vist, at *poor metabolizer*-hyppigheden på Færøerne er næsten det dobbelte eller omkring 15%. I studier blandt andre racer er det fundet, at hyppigheden af *poor metabolizer* både hos asiater og sorte er væsentligt lavere end hos hvide, helt ned til 1-2%.

I familiestudier er det fundet, at *poor metabolizers* er homozygot for et autosomt recessivt allel, mens *extensive metabolizers* omfatter både homo- og heterozygot for det dominante allel. I 1988 lykkedes for et schweizisk/amerikansk forskerhold under ledelse af *Urs A. Meyer* og *Frank Gonzalez* at påvise, at grundlaget for polymorfien er et enzym, som vi i

Figur 1. Koffeinmetabolisk ratio AFMU+1MU+1MX/17DMU, som udtrykker CYP1A2 i 49 monozygote og 34 dizygote tvillinger. Koffeinratioen hos den ene tvilling er plottet over for koffeinratioen hos den anden tvilling. r_{MZ} og r_{DZ} er lig med intraklassekorrelationskoefficienterne for henholdsvis monozygote og dizygote tvillingepar. AFMU, 5-acetylamino-6-formylamino-3-metylluracil; 1MU, 1-metyllurinsyre; 1MX, 1-metylxantin; 17DMU, 1,7-dimetyllurinsyre fra [2].



dag benævner CYP2D6. CYP2D6 mangler i de fleste tilfælde helt hos *poor metabolizers*. Det skyldes forekomsten af inaktiverende mutationer i CYP2D6-genet eller sjældnere deletion af hele genet. CYP2D6 er lokaliseret på den lange arm af kromosom 22 i tandemarrangement med de to pseudogener, CYP2D7 og CYP2D8. CYP2D6 udviser betydelig allellisk heterogenitet, og mere end 80 forskellige varianter, væsentligst i form af enkeltnukleotidpolymorfier (*single nucleotide polymorphism*, SNP) er beskrevet [4]. CYP2D6*3, *4 og *5 forårsager tilsammen mere end 90% af tilfældene af *poor metabolizers*. Selv inden for *extensive metabolizer* populationen er der en betydelig variation i CYP2D6-aktiviteten. Svenske forskere beskrev som de første en ikkedistinkt fænotype benævnt ultrahurtige omdannere (*ultrarapid metabolizers*), og blandt disse er der 10-20%, som har en eller op til 12 ekstra funktionelt aktive kopier af CYP2D6 i tandemarrangement.

CYP2D6 udgør ikke mere end 2-5% af det totale hepatiske lægemiddeloxiderende CYP, men er hovedårsag til elimineringen af mere end 30 klinisk anvendte lægemidler: alle tri-cykliske antidepressiva, enkelte selektive serotoningenoptagelseshæmmere (SSRI), beta-adrenoceptorblokerende lægemidler, antiarytmika, antipsykotika og opioider. Hvis det farmakologisk virksomme stof er substrat for CYP2D6, vil *poor metabolizers* opnå 2-5 gange højere plasmakoncentrationer end gennemsnittet af *extensive metabolizers*. Enkelte CYP2D6-substrater er *prodrugs*, f.eks. codein, som omdannes af CYP2D6 til den aktive metabolit morfin, eller lægemidler, hvor en væsentlig del af virkningen stammer fra dannelsen af en aktiv metabolit, f.eks. tramadol. Her risikerer *poor metabolizers* terapivigt.

CYP2D6 var det første enzym, for hvilket det blev vist, at hvis et lægemiddels samlede elimination sker via et enkelt velkarakteriseret CYP, så bliver dette CYP's funktionelle karakteristika afgørende for den plasmakoncentration, man opnår ved en given dosis, hvilket blandt andet har stor betydning for muligheden for at kunne forudsige interaktioner.

CYP2C-subfamiliens farmakogenetik

CYP2C-subfamilien omfatter fire stærkt homologe gener, som alle udviser polymorfi, på kromosom 10 [5]. Det drejer sig om CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 og CYP2C19. De fire enzymer har imidlertid klart adskilte substratspecificiteter. CYP2C8 udviser polymorfi [5], men de farmakokinetiske konsekvenser af dette kendes endnu ikke

Foruden vildtypeallelet CYP2C9*1 er der beskrevet et antal SNP inklusive de relativt hyppigt forekommende *2 og *3, der begge er relateret til nedsat enzymaktivitet af CYP2C9. CYP2C9*2/*2, *2/*3 og *3/*3 udgør tilsammen en art *poor metabolizer*-fænotype med en hyppighed på omkring 4%. Warfarin nedbrydes af CYP2C9, og det er vist i adskillige kliniske studier, at patienter med *poor metabolizer*-genotyperne skal have markant lavere vedligeholdelsesdoser end *1-genotyperne, og der er rapporteret om statistisk signifikant flere

blødningsepisoder i opstarten af behandlingen hos disse patienter. CYP2C9-genotypebestemmelse kan dog ikke umiddelbart anbefales som en fast rutine, fordi vedligeholdelsesdosis af warfarin varierer betydeligt inden for hver genotype. Det skyldes dels, at CYP2C9 påvirkes af miljøfaktorer, utallige interaktioner med andre lægemidler, og dels at den antikoagulerende effekt også skyldes receptorforhold, hvis farmakogenetik er ufuldstændigt forstået.

CYP2C19

Omkring 1984 opdagede en schweizisk farmakolog Adrian Kupfer en genetisk oxidationspolymorfi ved hjælp af epilepsimidlet mefenytin. Mefenytin anvendes ikke længere klinisk, men stoffet har stadigvæk en plads som modelstof ved udforskning af CYP2C19-oxidationspolymorfien. Omeprazol er et alternativ til mefenytin til fænotypebestemmelse. Af en hvid befolkning har 2-3% en stærkt nedsat evne til at hydroxylere S-mefenytin. Blandt asiater er op imod 20% af befolkningen *poor metabolizers*. Det er vist i familiestudier, at *poor metabolizers* af mefenytin er homozygote for et recessivt allel, med en hyppighed på ca. 20% blandt hvide, og at *extensive metabolizers* er homo- eller heterozygote for et dominant allel, som man i dag benævner CYP2C19*1. De hyppigste recessive alleler er to SNP benævnt CYP2C19*2 og CYP2C19*3, hvor førstnævnte er klart den hyppigste. I alt er der beskrevet ni forskellige SNP og andre varianter af CYP2C19 [5], men ved genotypebestemmelse giver undersøgelse for *1, *2 og *3 en sensitivitet på lidt over 90% for diagnostik af *poor metabolizers*. CYP2C19 er hovedenzymet for omdannelse af malariamidlet proguanil, som er et *prodrug*, til den aktive metabolit cykloguanil, og der er kliniske data, der tyder på nedsat virkning hos *poor metabolizers*. Dosis af mange antidepressiva med henblik på opnåelse af et ensartet plasmaniveau afhænger af enten CYP2D6- eller CYP2C19-oxidationspolymorfierne eller begge [6].

CYP2C19 og protonpumpehæmmere

Alle protonpumpehæmmere metaboliseres af CYP2C19 [7], og plasmakoncentrationen udtrykt ved *area under the curve* (AUC) er 3-13 gange højere hos *poor metabolizers* end hos *extensive metabolizers*. Der er en udtalt gen-dosis-effekt, idet heterozygote CYP2C19*1/*2 og CYP2C19*1/*3 i gennemsnit har 2-4 gange højere AUC end homozygote for *1. AUC bestemmer det farmakodynamiske respons udtrykt ved ændret pH i ventriklen, og for omeprazol, lansoprazol og rabeprazol er det vist, at pH er højere hos *poor metabolizers* end hos *extensive metabolizers* [7]. Det har endvidere vist sig, at pH i ventriklen er højere hos de heterozygote *extensive metabolizers* end hos de homozygote *extensive metabolizers*. Den absolutte eradikationsrate af *H. pylori* er ca. 20% højere hos gruppen af heterozygote *extensive metabolizers* og *poor metabolizers* end hos homozygote *extensive metabolizers*. Dette er vist mest tydeligt i studier med omeprazol og lansoprazol [7]. Endelig er det

i to mindre japanske studier vist, at *poor metabolizers* og heterozygote *extensive metabolizers* generelt havde en højere sårhelingsprocent efter otte ugers behandling med lansoprazol end homozygote *extensive metabolizers* [7].

Transportproteiners farmakogenetik

I mange cellemembraner findes der specifikke transportproteiner, som enten aktivt pumper lægemidler ind i eller ud af cellerne og derved påvirker lægemidlernes farmakokinetik markant. Bedst undersøgt i den sammenhæng er *multi drug resistens*-genet, *MDR1*, som udtrykker P-glykoprotein, Pgp. Pgp udtrykkes af tyndtarmsepitel, galdegangsepitel, i de proksimale nyretubulusceller, i syncytiotrofoblast celler og i endotelcellerne af kapillærene i hjernen og testes. Pgp udtrykkes altid ind mod lumen. Proteinet fungerer som en efflukspumpe, og det betyder, at Pgp aktivt pumper lægemidler, der substrater for proteinet, ud af cellerne, efter at de passivt er diffunderet ind i disse. Pgp er således en aktiv komponent i blod-hjerne-barrieren. Den totale interindividuelle variation i Pgp er ca. tifold, og dette skyldes både miljøpåvirkninger, lægemiddelinteraktioner og genetiske forskelle. Der er ikke beskrevet polymorfier karakteriseret ved, at en fraktion af individer har helt ophævet Pgp-funktion. Der er til dato beskrevet knap 30 SNP i *MDR1*; blandt disse har G26777 i exon 21 og C3435T i exon 26 funktionel betydning [8]. Homozygote 3435TT udtrykker i gennemsnit kun den halve mængde Pgp i forhold til homozygote 3435CC i tarmmucosa, men der er en betydelig overlapning imellem de to genotyper. Pgp-substratet digoxin har større biotilgængelighed hos individer, der er 3435TT, end hos individer med genotypen 3435CC.

Konklusion

Den klassiske farmakogenetik har i de seneste knap 30 år været domineret af studier af genetiske polymorfier i CYP, især CYP2D6, CYP2C19 og CYP2C9. Genotypebestemmelse før behandling er i princippet tilrådet for lægemidler, hvis samlede elimination sker via et enkelt polymorft udtrykt CYP, hvis lægemidlet har et snævert terapeutisk interval, og hvor klinisk dosistitrering ikke er mulig eller hensigtsmæssig [9]. For CYP2D6 kunne det dreje sig om tricykliske antidepressiva, enkelte antipsykotika og enkelte antiarytmika. *Poor metabolizers* bør ikke behandles med codein, og de skal have højere doser af tramadol, end *extensive metabolizers* skal. For CYP2C19 er det sandsynliggjort, at homozygote *extensive metabolizers* bør have højere doser af protonpump hæmmere. For CYP2C9 har det været diskuteret, om man skulle genotypebestemme for warfarinbehandling. *CYP*-genotypebestemmelse udføres relativt sjældent eller aldrig i klinisk praksis, til trods for at de teknologiske muligheder er tilvejebragt. Det skyldes for det første, at ingen lægemidler udelukkende elimineres af et enkelt CYP, for det andet at det molekylær-genetiske grundlag for den store interindividuelle variation inden for *extensive metabolizer*-fænotypen kun er ufuldstæn-

digt forstået, for det tredje at CYP-aktiviteten også er bestemt af ikkegenetiske faktorer. Det er således muligt ved inhibition at ophæve forskellen imellem *poor* og *extensive metabolizers* (fænokopi), og fænotypeforskellene kan også påvirkes ved induktion, og for det fjerde at koncentrationen af lægemiddel på receptorniveau også er bestemt af absorption og fordeling, der som nævnt ovenfor kan være reguleret af transportproteiner. Sidst, men ikke mindst kan genetiske forskelle i opbygning af de molekylære *targets*, receptorer, ionkanaler og enzymer være medvirkende til variation i klinisk virkning. Denne overvejende negative konklusion vedrører alene den praktiske anvendelighed af *CYP*-genotypebestemmelse i klinisk praksis. Denne negative konstatering må ikke overskygge den kolossale betydning, som udforskningen af *CYP*-polymorfierne har haft for forståelsen af farmakokinetisk variation og herunder især prædiktions af interaktioner.

I det omfang, det er muligt at ekstrapolere fra *CYP*-farmakogenetik, kan følgende teser opstilles med hensyn til alle former for farmakogenetisk variation:

- Et lægemiddels ønskede og uønskede virkninger er aldrig bestemt af et enkelt gen alene.
- Et lægemiddels ønskede og uønskede virkninger er aldrig bestemt af en gruppe af gener alene.
- Et lægemiddels ønskede og uønskede virkninger er altid bestemt af et samspil imellem arvelige faktorer, miljøfaktorer og konstitutionelle forhold (alder, køn, race etc.).
- Genotypebestemmelse som vejledning for valg af behandling og dosis af lægemiddel er kun relevant for de lægemidler, hvor det præcise samspil imellem arv, miljø og konstitution er kendt og kan bestemmes hos den enkelte patient i klinisk praksis både før og under behandlingen.

Genotypebestemmelse med henblik molekylærgenetisk diagnostik og subklassifikation eller påvisning af molekylære *targets* er et område, der er i rivende udvikling inden for behandling af maligne sygdomme. I hvilket omfang dette også kommer til at gælde for andre typer af sygdomme, må de kommende år vise.

Korrespondance: Kim Brøsen, Syddansk Universitet, Institut for Sundheds-tjenesteforskning, Klinisk Farmakologi, DK-5000 Odense C.
E-mail: kbroesen@health.sdu.dk

Antaget: 28. februar 2005
Interessekonflikter: Ingen angivet

Denne artikel bygger på langt flere referencer end de nævnte. Mange væsentlige originalarbejder er nævnt i [3-9].

Litteratur

1. Andreasen PB, Froland A, Skovsted L et al. Diphenylhydantoin half-life in man and its inhibition by phenylbutazone: the role of genetic factors. *Acta Med Scand* 1973;193:561-4.
2. Rasmussen BB, Brix TH, Kyvik KO et al. The interindividual differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. *Pharmacogenetics* 2002;12:473-8.
3. Daly AK. Pharmacogenetics of the major polymorphic metabolizing enzymes. *Fund Clin Pharmacol* 2003;17:27-41.

4. Brøsen K. Individuelle variationer i lægemidlers oksidative metabolisme. *Ugeskr Læger* 1984;13:955-9.
5. <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/aug2004>.
6. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Molecular Psychiatry* 2004;9:442-73.
7. Klotz U, Schwab M, Treiber M. CYP2C19 polymorphism and proton pump inhibitors. *Bas Clin Pharmacol Toxicol* 2004;95:2-8.
8. Eichelbaum M, Fromm MF, Schwab M. Clinical aspects of the MDR1 (ABCB1) gene polymorphism. *Ther D Monit* 2004;26:180-5.
9. Brøsen K, Gram LF. Clinical significance of the sparteine/debrisoquine oxidation polymorphism. *Eur J Clin Pharmacol* 1989;36:537-47.

Farmakogenetisk assisteret lægemiddeludvikling

Regulatoriske aspekter set fra Lægemiddelstyrelsen

Specialkonsulent Mette Due Theilade

Lægemiddelstyrelsen, Lægemiddelgodkendelsen

Resume

Farmakogenetik giver mulighed for at »skræddersy« lægemiddelbehandling til patienternes individuelle genetiske profil. Lægemidler med farmakogenetisk udgangspunkt er nu under udvikling, og nogle er allerede godkendt. Disse nye behandlinger vil kræve en stor grad af vidensdannelse og fleksibilitet hos de godkendende myndigheder. Før brug af et sådant lægemiddel vil screening for en specifik genotype i en stor patientpopulation ofte finde sted i en tidlig udviklingsfase. De senere kliniske faser vil i mange tilfælde være begrænset til en mindre gruppe af patienter, hvis genotype gør dem behandlingsegnede. Forskellige arbejdsgrupper under den faglige komité for human medicin (CHMP) i Det Europæiske Lægemiddelagentur spiller en rolle i det regulatoriske arbejde med farmakogenetik. En CHMP-farmakogenetik-ekspertgruppe udarbejder skriftlig information til lægemiddelindustrien og andre interessenter. Der eksisterer ikke nogen decideret farmakogenetiske retningslinjer i Europa, men i flere af de kliniske retningslinjer berøres emnet.

I 2000 udstedte EU-Kommissionen en markedsføringstilladelse i samtlige EU-lande for lægemidlet Herceptin. Lægemidlet indeholder det monoklonale antistof trastuzumab, som binder sig til den epidermale vækstfaktorreceptor 2 (HER2) hos mennesker, en receptor, som overudtrykkes hos 20-30% af patienter med primær brystcancer.

Herceptin er et eksempel på et nyt lægemiddel, der er udviklet med farmakogenetisk udgangspunkt. Det betyder, at lægemidlet er rettet mod en patientgruppe med en bestemt genetisk profil, i dette tilfælde brystcancerpatienter, der udtrykker vækstfaktorreceptoren HER2 på overfladen af tumorcellerne. På grund af antistoffets specifikke binding vil det være uvirksomt over for tumorvæv, der ikke udtrykker HER2, og behandling forudsætter derfor, at tumorens genetiske ud-

tryk forinden er bestemt; kun patienter, der overudtrykker HER2, vil blive tilbudt behandlingen.

Samtidig med godkendelsen af Herceptin blev det medicinske udstyr (et assay for genudtryk), der er nødvendigt for at teste, om tumorcellerne overudtrykker HER2, godkendt. HER2-overudtryk detekteres ved en immunhistokemisk vurdering af fikserede tumorblokke. Det er gjort obligatorisk, at tumorvævet fra patienterne undersøges på et specialiseret laboratorium, inden behandlingen påbegyndes.

Andre eksempler på nye lægemidler og behandlinger, der fremhæves for at være udviklet med et farmakogenetisk sigte, er imatinib (Glivec) til behandling af patienter med kronisk myeloid leukæmi og en hypersensitivitetstest for HLA-B*5701-haplotypen hos hiv/aids-patienter, der behandles med abacavir [1-3].

Lægemidler med en »farmakogenetisk udviklingsplan« ser ud til at være undervejs hos en lang række større og mindre medicinalvirksomheder. Cancerbehandlingen fremhæves som et af de områder, hvor der fremover kan forventes nye lægemidler, som er »skræddersyede« til bestemte patientgrupper udvalgt på farmakogenetisk basis.

Disse nye behandlinger vil nødvendiggøre en stor grad af bevågenhed, vidensdannelse og fleksibilitet hos de godkendende myndigheder, ligesom kvaliteten, valideringen og brugen af de specifikke assays til testning for den farmakogenetiske profil vil kræve omhyggelig regulatorisk overvågning. I forbindelse med de kliniske forsøg med lægemidlet afprøves den genetiske test, så det kan dokumenteres, at testresultatet er relevant og har specifik betydning for den pågældende sygdom. Det er således en del af Lægemiddelmyndighedernes regulatoriske vurdering af ansøgningen at sikre sig, at den genetiske test giver et pålideligt resultat.

Hvad er farmakogenetik?

Farmakogenetik beskriver genetiske faktors indflydelse på, hvordan lægemidler virker i organismen. Med farmakogenetik kan man optimere behandlingen ved at give den mest