

## Litteratur

1. Koch WH. Technology platforms for pharmacogenomic diagnostic assays. *Nature Rev Drug Discov* 2004;3:749-61.
2. <http://www.agendia.com/common.asp/nov.2004>.
3. Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1999-2009.
4. Ebert BL, Golub TR. Genomic approaches to hematologic malignancies. *Blood* 2004;104:923-32.
5. Liu ET, Karuturi KR. Microarrays and clinical investigations. *N Engl J Med* 2004;350:1595-7.
6. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.
7. Petricoin EF, Hackett JL, Lesko LJ et al. Medical applications of microarray technologies: a regulatory science perspective. *Nat Genet* 2002;32:474-9.
8. Csillag C, Nielsen OH, Borup R et al. Microarrays and Crohn's disease: collecting reliable information. *Scand J Gastroenterol* 2005 (i trykken).
9. <http://www.fda.gov/cder/guidance/5900dft.pdf> /nov. 2004.
10. Branca M. Putting gene arrays to the test. *Science* 2003;300:238.

# Toksikologi og farmakogenetik

Overlæge Kim P. Dalhoff & professor Henrik E. Poulsen

H:S Rigshospitalet, Klinisk Farmakologisk Afdeling Q 7642

Der er stor variation mellem den måde hvorpå forskellige individers responderer på behandling med et lægemiddel – både hvad angår lægemidlets effekt, men også hvad angår lægemidlets toksicitet. Denne variation kan skyldes patogenesen og sværhedsgraden af den sygdom, der behandles, lægemiddelinteraktioner, patientens alder, patientens ernæringsmæssige tilstand, patientens nyre- og leverfunktion samt eventuelle konkurrerende sygdomme. Miljøpåvirkning og livsstil kan også påvirke behandlingsresponsen. I denne statusartikel berøres dog udelukkende de nedarvede faktorer (gener), der spiller en central rolle for lægemidlets effekt og toksicitet. Betydningen er særlig vigtig for lægemidler med et snævert terapeutisk indeks dvs. kort afstand mellem farmakologisk effekt og toksicitet (**Tablet 1**). I mange år har der været fokuseret på forskelle mellem individers evne til at metabolisere lægemidler og de tilhørende genetiske forskelle i de lægemiddelmetaboliserende enzymer. Nedsat *clearance* af et lægemiddel medfører høj plasmakoncentration og mulighed for toksiske bivirkninger. Omvendt medfører øget *clearance* risiko for behandlingssvigt. Man har identificeret patienter med variante alleler af bestemte cytokrom P450-enzym (f.eks. CYP2D6), som resulterer i manglende eller svært nedsat pro-

teinaktivitet. Patienter, som behandles med lægemidler, der er substrat for CYP2D6, og som har manglende funktion af enzymet (*slow metabolizers*), vil være i risiko for at få toksiske bivirkninger pga. høj koncentration af lægemidlet i blodet. Man har anslået, at 2 mio. indlagte patienter i USA årligt får svære lægemiddelbivirkninger på trods af korrekt dosering og administration. En opfølgende undersøgelse har godtgjort, at mere end 50% af de lægemidler, der er involveret i bivirkninger, bliver metaboliseret af et enzym med mindst en variantallel, som medfører nedsat eller ingen aktivitet [1]. Ud over genetiske forskelle på lægemiddelmetaboliserende enzymer er man i de senere år blevet opmærksom på genetiske forskelle på lægemiddeltransporterende proteiner (f.eks. blod-hjerne- eller sinusoid-hepatocyt-galde-transport) og lægemiddelkonjugerende enzymer (fase 2-reaktioner) som årsag til lægemiddel-toksicitet. Manglende funktion af lægemiddeltransportører og konjugeringsenzym kan også medvirke til, at effekten af et lægemiddel ikke altid er som forventet, men at det derimod afstedkommer toksiske bivirkninger.

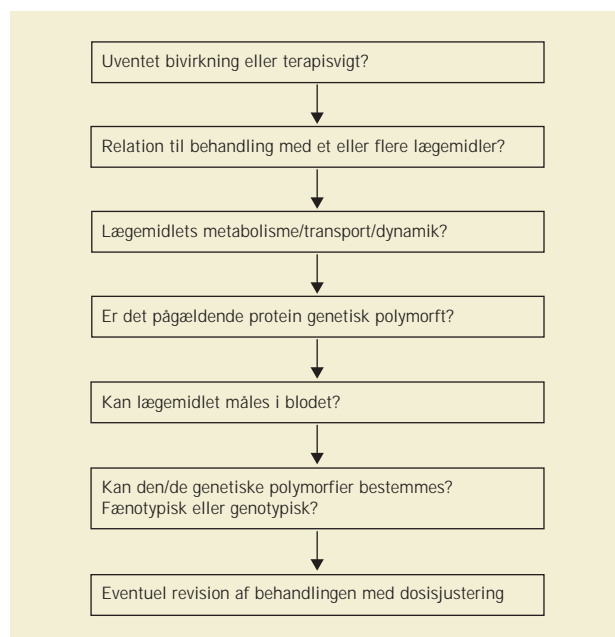
I det efterfølgende gennemgås en række vigtige enzymer med variante alleler, som har eller kan få klinisk betydning for udvikling af toksicitet. Herudover har vi udarbejdet en algoritme (**Figure 1**) for udredning af en farmakogenetisk betinget lægemiddelbivirkning.

## Cytokrom P450-enzym (fase 1-reaktioner)

Cytokrom P450 (CYP) repræsenterer en superfamilie af lægemiddelmetaboliserende enzymer og består af en række gener, som findes i mange forskellige organismer. Nomenklaturen bygger på genetisk homologi og består af CYP efterfulgt af et arabertal, et bogstav og endnu et arabertal, som angiver familie, subfamilie og selve enzymet. CYP2E1 betyder således familie 2, subfamilie E og enzym 1. Dette er tidligere benævnt det mikrosomale ethanolomsættende enzym (MEOS). Genetiske polymorfier i disse enzymer har været genstand for forskning i mange år, og særlig velbeskrevet er debrisoquin hydroxylase (CYP2D6)-polymorfien, som blev klonet og ka-

**Tablet 1.** Eksempler på lægemidler, der har snævert terapeutisk indeks (ratio mellem LD50 og ED50 <2) if. Food and Drug Administration (FDA) (liste i *Scale-Up and Post-Approval Changes for Intermediate Release Products* (SUPAC-IF) og som metaboliseres af proteiner, der har variante alleler.

Lægemiddel	Enzym
Carbamazepin	CYP3A4
Ethinylestradiol	CYP3A4
Kinidin	CYP3A4
Minoxidil	UGT
Phenytoin	CYP2C9
Primidon	CYP2C19
Theophyllin	CYP1A2
Warfarin	CYP2C9



Figur 1. Algoritme for udredning af farmakogenetisk betinget lægemiddelbivirkning.

rakteriseret som den første i 1988. Frekvensen af *slow metabolizers* hos kaukasider er 3-10%. Mange lægemidler (>30) er substrat for CYP2D6, og det har længe været kendt, at en CYP2D6-defekt hos en patient (*slow metabolizer*), der er i behandling med f.eks. tricykliske antidepressiva (TCI), kan medføre svær toksicitet [2]. Omvendt kan CYP2D6-defekte gener også medføre terapivigt, hvis et lægemiddel behøver aktivering af CYP2D6 for at være virksomt (kodein, tramadol).

Klassiske polymorfier findes herudover i CYP2C9-genet, som er særlig relevant for metabolismen af det antitrombotiske lægemiddel warfarin. CYP2C9 metaboliserer den mest aktive enantiomer S-warfarin, hvilket medfører at *slow metabolizers* er i risiko for at opnå uønskede høje S-warfarin-niveauer resulterende i en uhensigtsmæssig kraftig antitrombotisk effekt (svært forlænget international normaliseret ratio (INR)) [3]. Frekvensen af *slow metabolizers* for CYP2C9 hos kaukasider er 2-6%.

CYP2C19-polymorfien (mefenytin 4'-hydroxylase), som findes lige så hyppigt som CYP2C9 (2-6% *slow metabolizers* hos kaukasider), har ligeledes været velkendt i mange år og kan hos *slow metabolizers* resultere i toksiske koncentrationer af lægemidler, som er substrater for CYP2C19 f.eks. betablokeren metoprolol.

CYP3A, som består af CYP3A4, CYP3A5 og CYP3A7, er det kvantitativt mest betydningsfulde cytokrom-P450 i leveren, og det metaboliserer lægemidler inden for alle terapeutiske hovedgrupper. Den interindividuelle variation af CYP3A4 er stor med en ca. ti-fold forskel fra lav til høj aktivitet. Man har hidtil ikke kunnet påvise klinisk betydende polymorfier i CYP3A4-genet. Det har man derimod i CYP3A5-genet, hvor en *single nucleotide polymorphism* (SNP) introducerer en *early*

*stop codon* i mRNA'et med deraf følgende kodning af et ikke-fungerende CYP3A5-protein. Imidlertid er det kun ca. 20% af kaukasiderne, der overhovedet udtrykker CYP3A5, og den kliniske betydning af en eventuel polymorfi med et defekt protein er derfor fortsat uafklaret.

Til dato er der kun identificeret en CYP1A2-variant, CYP1A2\*1C, som til gengæld har en prævalens på 12% i den hvide befolkning. Selv om CYP1A2 kun er den primære omsætningsvej for omkring 5% af alle receptpligtige lægemidler, har man estimeret, at det er involveret i godt 75% af alle de bivirkninger, som er tilskrevet enzymer med variante alleler [1]. Årsagen hertil er ikke klarlagt.

### Enzymkonjugering (fase 2-reaktioner)

Ikke alene oxidation af lægemidler (fase 1-reaktioner) spiller en rolle for metabolisme og detoxifikation, men også konjugering af lægemidler eller lægemiddelmetabolitter (fase 2-reaktioner) har stor betydning. En vigtig familie af konjugeringsenzymmer er uridin 5'-diphosphat-glucuronosyltransferaser (UGTs), som konjugerer mange forskellige lægemidler (morfin, paracetamol, nonsteroidale antiinflammatoriske stoffer (NSAID)) til hydrofile metabolitter, som let udskilles i urin eller galde. Metabolitterne er ikke altid inaktive, men kan også være farmakologisk aktive som f.eks. morfin-6-glucuronat, der er 100 gange mere potent end morfin per se. Det er således klart, at forskelle i UGT-aktivitet også indebærer risiko for toksicitet herunder morfintoksicitet. Mutationer i flere UGT-gener er påvist bl.a. i UGT1 (exon 2-5) med deraf følgende nedsat enzymaktivitet. Disse defekter kan lede til alvorlige og ofte fatale sygdomme i bilirubinstofskiftet, idet bilirubin også er substrat for UGT. Den hyppigste form for bilirubinkonjugeringsdefekt (mutation i UGT1's promotorregion) forløber dog mildere og ofte asymptomatisk (Gilberts syndrom). Til gengæld er denne sygdom hyppig med frekvenser for homozygote på 3-17% hos japanere, skotter og canadiske inuitter. Man har kun i få studier undersøgt risikoen for toksicitet ved at give et lægemiddel, der skal glukuronideres, til en patient med Gilberts syndrom. I en rapport fra 1997 blev det godtgjort, at svære toksiske bivirkninger hos en onkologisk patient i irinotecanbehandling skyldtes akkumulering af en aktiv metabolit som følge af en UGT-defekt. Patienten led også af Gilberts syndrom.

Glutathion-S-transferase (GST) er en familie af isoenzymer, som katalyserer den GSH-afhængige detoxifikation af reaktive lægemiddelmetabolitter f.eks. paracetamol. Familien består af mindst 16 forskellige GST-gener hos mennesket fordelt på otte klasser. Der er en betydelig interindividuel variation i enzymets ekspresion, og herudover er der variante alleler i f.eks. GSTA1 og GSTP1, som medfører nedsat enzymaktivitet. Dette er specielt interessant for alkylerende cytostatika som f.eks. cyclophosphamid, der anvendes i behandlingen af brystcancer. Man har for nylig påvist, at patienter med genotypen GSTA1\*B/\*B (den homozygote variant) var korreleret

til højere overlevelse efter cyclophosphamidbehandling af brystcancer end patienter med vildtypen GSTA1\*A/\*A(7). Dette forklares ved, at den cytotastisk aktive cyclophosphamid-metabolit kun i mindre grad inaktiveres af det defekte enzym. Endnu savnes der undersøgelser, hvori man konfirmerer betydningen af GST-genotypning inden behandling med lægemidler for at undgå toksicitet eller terapivigt.

### Lægemiddeltransportører (fase 3-reaktioner)

Et af de mest velundersøgte transportproteiner er P-glykoprotein (PGP eller ABCB1 eller MDR1), som tilhører familien af *ATP binding cassette (ABC) transporters*. PGP findes i normalt væv bl.a. i lever, nyre, tarm og hjerne og transporterer lægemidler ud i urin, galde og over blod-hjerne-barrieren. PGP indgår i transporten af bl.a. cytostatika, hjerteglykosider, immunsupprimerende lægemidler, glukokortikoider og hiv-1 proteasehæmmere. Der er stor interindividuel variation i proteinets ekspresion [5], man har således for nylig påvist en sammenhæng mellem en SNP i exon 26 [3435C>T] og duodenal PGP-ekspresion. Patienter, der var homozygote for T-allellen, havde en markant lavere PGP-ekspresion end patienter med CC-genotype [6], og i kliniske farmakologiske studier [7] med digoxin - substrat for PGP i tarmen - har man da også fundet en væsentlig højere biotilgængelighed hos patienter med CC-genotype. Hos hiv-patienter har man påvist en sammenhæng mellem PGP-genotype og effekten af nelfinavir og efavirenz på CD4-tal [8].

En anden vigtig gruppe af lægemiddeltransportører er *organic anion transporting polypeptides* (OATP). Der er indtil videre identificeret ni medlemmer af denne familie, de fleste er fundet i leveren, men med betydelig interindividuel variation i ekspresion [9]. OATP er i leveren lokaliseret til den basolaterale membran, hvor den fungerer som transportør af lægemidler fra leversinusoiden til hepatocytten. Talrige lægemidler er substrater for OATP, bl.a. antihistaminer, opioider, kolesterolsænkere, ACE-hæmmere og methotrexat, og transportøren har således stor indflydelse på de pågældende lægemidlers *first pass* effekt.

### Polygenicitet og toksicitet

Den samlede farmakologiske effekt af behandling med et lægemiddel er ikke kun bestemt af, om et enkelt protein har en variantallel med nedsat/ingen funktion af proteinet (monogenicitet). Ofte er effekten bestemt af et samspil af flere gener, der koder for proteiner involveret i lægemidlets metabolisme, disposition og effekt (polygenicitet) [10]. Ud over *single gene action* kan der således være tale om *gene-gene interaction* eller *gene(s)-environment interactions*, hvor de andre tidligere nævnte ydre påvirkninger får indflydelse på den samlede effekt. Denne polygenicitet kan være særdeles vanskelig at bestemme i kliniske studier, særlig hvis lægemidlets metaboliske skæbne og virkningsmekanisme ikke er helt klarlagt.

### Kliniske perspektiver

For at forhindre toksiske bivirkninger under en medicinsk behandling måles koncentrationen af visse lægemidler i blodet. Denne terapistyring (TDM) sikrer, at koncentrationen ligger i det terapeutiske område. Imidlertid er koncentrationen bestemt af en række individuelle egenskaber hos patienten, hvilket kan vanskeliggøre fastlæggelse af den nøjagtige startdosis. Populationskinetiske principper, der f.eks. kan inddrage patientens vægt, alder og nyrefunktion vil i fremtiden kunne danne basis for forudsigelse af den individuelle farmakokinetiske profil efter en given startdosis (*Bayesian forecasting*). Forudsigelsen vil kunne forbedres ved at inddrage flere parametre vedrørende de kinetiske forhold (kovariate), og helt naturligt bliver det at inddrage patientens genotype af f.eks. et lægemiddelmetaboliserende enzym.

Selv om metoderne til bestemmelse af den individuelle genotype er forenklet og billigere end tidligere, er det dog også nødvendigt at vurdere hyppigheden af en given variantalls forekomst i befolkningen og ikke mindst af eventuelle »overlap« mellem fordelinger af to forskellige alleler, idet man kan risikere at kategorisere patienter som falsk positive eller falsk negative *poor metabolizers*.

Korrespondance: Kim P. Dalhoff, Klinisk Farmakologisk Afdeling Q 7642, H:S Rigshospitalet, DK-2100 København Ø. E-mail: dalhoff@rh.dk

Antaget: 21. februar 2005  
Interessekonflikter: Ingen angivet

### Litteratur

1. Phillips KA, Veenstra DL, Oren E et al. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions - a systematic review. *Jama* 2001;286:2270-9.
2. Brosen K, Gram LF, Kraghsorensen P. Extremely slow metabolism of amitriptyline but normal metabolism of imipramine and desipramine in an extensive metabolizer of sparteine, debrisoquine, and mephenytoin. *Ther Drug Monit* 1991;13:177-82.
3. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LML et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *Jama* 2002;287:1690-8.
4. Sweaney C, Ambrosone CB, Joseph L et al. Association between a glutathione S-transferase A1 promoter polymorphism and survival after breast cancer treatment. *Int J Cancer* 2003;103:810-4.
5. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Nat Acad Sci USA* 2000;97:3473-8.
6. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* 2001;11:217-21.
7. Sakaeda T, Nakamura T, Horinouchi M et al. MDR1 genotype-related pharmacokinetics of digoxin after single oral administration in healthy Japanese subjects. *Pharm Res* 2001;18:1400-4.
8. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* 2002;359:30-6.
9. Hagenbuch B, Meier PJ. The superfamily of organic anion transporting polypeptides. *Biochim Biophys Acta-Biomem* 2003;1609:1-18.
10. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487-91.