

# Pharmakogenetik in der Anästhesie

Thierry Girard

Unterschiede in der Medikamentenwirkung zwischen verschiedenen Personen ist ein bekanntes Problem in der klinischen Medizin und kann sowohl zu Therapieversagen, als auch zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen führen [1]. In der Tat gehören unerwünschte Medikamentenwirkungen zu den häufigsten Todesursachen in den Industrienationen [2]. Die Variabilität einer Medikamentenwirkung kann viele Ursachen haben: Medikamenteninteraktionen, Alter, Ernährungszustand, Leber- oder Nierenfunktionsstörungen, Alkoholgenuss oder Zigarettenkonsum. Zusätzlich zu diesen nicht genetischen Faktoren wird der genetische Einfluss auf die Variabilität von Medikamentenwirkungen auf 20–95% geschätzt [2]. Varianten im genetischen Code können Einfluss haben auf Transporterproteine, metabolisierende Enzyme und Rezeptoren von Pharmaka, wie auch auf Ionenkanäle oder anschliessend an Rezeptorinteraktionen ausgelöste Signalwege.

Diese Problematik gilt für jede klinische Spezialität, die Anästhesie hat aber insofern eine Sonderstellung inne, dass hier potente kurzwirksame Medikamente intravenös appliziert werden, während verschiedenste physiologische Parameter wie Herzfrequenz, Blutdruck, EKG, CO<sub>2</sub>-Produktion, O<sub>2</sub>-Verbrauch, arterielle Sauerstoffsättigung kontinuierlich überwacht sind. Erst kürzlich wurde der Operationssaal als «ideal human physiology and pharmacology laboratory» bezeichnet [3].

Die ersten in der Medizin beschriebenen pharmakogenetischen Krankheitsbilder wurden durch Anästhetika ausgelöst. So liegt der «postoperativen Apnoe» ein Enzymdefekt im Abbau von Succinylcholin mit einer daraus resultierenden Verlängerung der Relaxantienwirkung zugrunde. Ein weiteres Beispiel ist die maligne Hyperthermie. Aufgrund eines veränderten Rezeptors (Ryanodinrezeptor) kommt es zu einem dramatischen Anstieg der myoplasmatischen Kalziumkonzentration. Polymorphismen im Cytochrom P450, in Opioidrezeptoren, Beta-Adrenorezeptoren oder Angiotensin-Converting-Enzyme tangieren ebenfalls die anästhesiologische Praxis. Unsere Forschung in der «Perioperative Patient Safety Group» des Departements Anästhesie konzentriert sich auf die beiden erstgenannten Krankheitsbilder. Unser Ziel ist es, die perioperativen Patientensicherheit weiter zu erhöhen und in Zukunft einen Teil der unerwünschten patientenspezifischen Medikamentennebenwirkungen prospektiv zu verhindern.

## Postoperative Apnoe

Succinylcholin ermöglicht eine rasche Muskelrelaxation und hat eine genügend kurze Wirkungsdauer, um schwere Hypoxien bei entsprechend präoxygenierten Patienten zu verhindern [4]. Wegen möglicher fataler Nebenwirkungen wie Bradykardie, Rhabdomyolyse, Hyperkaliämie oder maligne Hyperthermie ist der routinemässige Gebrauch von Succinylcholin kontinuierlich reduziert und heute auf ausgewählte Indikationen reduziert worden. Die für Succinylcholin typische rasche Anschlagszeit (innerhalb einer Minute) und kurze Wirkungsdauer (wenige Minuten) bleiben einmalig und werden von den neuen Myorelaxantien nicht erreicht. Somit bleibt Succinylcholin das Myorelaxans erster Wahl für Notfallintubationen oder Intubationen bei vollem Magen [5]. Der kurzen Wirkungszeit von Succinylcholin liegt eine rasche Hydrolyse durch die Butyrylcholinesterase (E.C. 3.1.1.8, auch Plasmacholinesterase, Pseudocholinesterase oder *Acylcholine Acylhydrolase* genannt). Die Butyrylcholinesterase (BCHE) wird in der Leber synthetisiert und ist ein aus 4 identischen Untereinheiten zusammengesetztes Tetramer. Jede Untereinheit besteht aus 574 Aminosäuren und hat eine aktive Bindungsstelle [6]. Die physiologische Funktion der BCHE ist bisher unbekannt [7]. BCHE hydrolysiert Esterbindungen in Medikamenten wie Succinylcholin, Mivacurium, Procain, Chlorprocain, Tetracain, Kokain und Heroin [8]. Über 90% des Succinylcholin wird durch die BCHE hydrolysiert, bevor es überhaupt den synaptischen Spalt erreicht. Eine deutliche Verlängerung der Wirkdauer von Succinylcholin hat 1957 zur Entdeckung der ersten pharmakogenetischen Erkrankung geführt, welche von Kalow [9] als «postoperative Apnoe» bezeichnet wurde. Biochemische Tests wurden entwickelt, um die verminderte Aktivität der BCHE nachzuweisen. Eine Hemmung der Aktivität der normalen, jedoch nicht der atypischen BCHE durch Dibucain und Fluoride führten zu einer weiteren Optimierung dieser Methode. Aufgrund von BCHE Aktivität, Dibucain- und Fluoridzahl werden verschiedene «Genotypen» der getesteten Personen determiniert und als *usual* (U), *atypical* (A) und *fluoride resistant* (F) bezeichnet [8]. Die Entdeckung zusätzlicher quantitativer Varianten der BCHE (H-, J-, K-Variante) und die Identifikation verschiedener funktionsunfähiger (*silent*) Varianten hat eine genaue Genotypisierung durch biochemische

Methoden praktisch verunmöglicht. Die Einführung der Molekulargenetik und die Entdeckung des Genlokus für die BCHE auf Chromosom 3q26 [10] ermöglichten eine präzise Genotypisierung. Die kausalen Mutationen für die verschiedenen Varianten wurden identifiziert, zusätzlich wurden über 15 verschiedene Mutationen für die Silent-Varianten gefunden.

In Molekulargenetische Untersuchungen wurde eine sehr hohe Inzidenz der K-Variante bestätigt. Bartels et al. [11] fanden in der kaukasischen Bevölkerung eine Allelfrequenz von 0,128 für die K-Variante, was einer homozygoten Inzidenz von 1 auf 63 entspricht.

Die molekulargenetischen Untersuchungen haben gezeigt, dass biochemische Methoden nicht in der Lage sind, eine korrekte Genotypisierung durchzuführen [8, 12]. Sowohl falsch negative Diagnosen, als auch verpasste Kombinationen mehrerer Varianten sind das Resultat biochemischer Untersuchungen. Während eine erheblich verminderte BCHE Aktivität biochemisch einwandfrei nachgewiesen werden kann, ist diese Methode nicht in der Lage, quantitative Varianten zu unterscheiden, sowie vererbte BCHE-Aktivitätsverminderungen von den erworbenen (medikamenteninduziert, Lebererkrankung, Schwangerschaft, Karzinome) zu unterscheiden.

Wir haben ausgewählte Patienten mit klinisch verlängerter Succinylcholinwirkung untersucht. Bei der Sequenzierung des gesamten Genes der BCHE haben wir verschiedene bekannte Mutationen identifiziert. Zusätzlich fanden wir bei einem Patienten eine neue Mutation, bei welcher der Ersatz eines Thymin durch ein Guanin an der Position 1294 zu einem Stopp-Codon führt [13]. Das BCHE-Protein wird also nach 432 Aminosäuren nicht mehr weiter synthetisiert und ist dadurch sehr wahrscheinlich in seiner Funktion defizient. In Zukunft wollen wir Patienten mit verlängerter Wirkung von Succinylcholin gezielt auf Veränderungen im BCHE-Gen untersuchen und so versuchen, eine Korrelation zwischen verschiedenen Mutationen und der klinischen Wirkungszeit von Succinylcholin herzustellen.

## Maligne Hyperthermie

Einige frühere unerklärte Todesfälle in Allgemeinanästhesie waren wahrscheinlich der malignen Hyperthermie (MH) zuzuschreiben. Erst 1960 wurde die MH als pharmakogenetische Erkrankung mit dominantem Erbgang erkannt. Beim Kontakt mit Triggersubstanzen – dazu gehören neben dem Muskelrelaxans Succinylcholin sämtliche inhalativen Anästhetika – kommt es bei genetisch prädisponierten Personen zu einem massiv gesteigerten Metabolismus in der Skelettmuskulatur. Werden nicht unverzüglich therapeutische Massnahmen eingeleitet, so verläuft

eine MH-Krise letal. Weil es sich bei der MH um eine subklinische Myopathie handelt, kann die Veranlagung in Abwesenheit von Triggersubstanzen klinisch nicht erkannt werden. Als präsymptomatischer diagnostischer MH-Test ist der In-vitro-Muskelkontrakturtest (IVCT) seit den späten 70er Jahren etabliert. Hierzu muss in Regional- oder triggerfreier Allgemeinanästhesie aus dem M. quadriceps eine offene Muskelbiopsie entnommen werden. Diese vitale Muskelbiopsie wird im Labor unter Elektrosimulation den Triggersubstanzen Halothan und Koffein ausgesetzt. Reagiert der Muskel mit einer pathologischen Kontraktur, so kann die Diagnose MH-empfindlich (MH susceptible, MHS) gestellt werden. Kommt es weder unter Halothan noch unter Koffein zur pathologischen Kontraktur, so ist der Patient MH-negativ (MHN). Im Forschungslabor «Perioperative Patient Safety Group» des Departements Anästhesie im Kantonsspital Basel wird seit 1986 das einzige MH-Diagnostiklabor der Schweiz betrieben.

Der IVCT ist als aufgrund seiner Invasivität als Screeninguntersuchung ungeeignet. Zudem ist der IVCT sehr zeit- und personalaufwändig. Aus diesen Gründen beschäftigt sich die Forschung auf dem Gebiet der malignen Hyperthermie mit der Entwicklung und Validierung weniger invasiver Testmethoden.

## Molekulargenetische Untersuchungen

Ein erster wichtiger Schritt in Richtung einer weniger invasiven Diagnostik in der malignen Hyperthermie wird mit der Publikation von Richtlinien der Europäischen MH-Gruppe (EMHG) bezüglich molekulargenetischer Diagnose einer MH-Empfindlichkeit gemacht [14]. Grundlage der molekulargenetischen Diagnostik sind die Kenntnisse über die Anzahl und Häufigkeit von MH-kausativen Mutationen in der zu untersuchenden Bevölkerung. Für die Schweiz haben wir diese Untersuchungen gemacht und konnten bei rund 40% aller MH-Familien eine Mutationen im Ryanodinrezeptor identifizieren. Die Anwendung der genetischen Diagnostik hat in der Zwischenzeit schon rund 30 Mutations-trägern eine invasive Muskelbiopsie erspart [15]. Bei 60% der MH-Familien tappen wir jedoch bezüglich genetischem Hintergrund weiterhin im Dunkeln. Hier sind wir dabei, nach bisher unbekannt Mutationen im Ryanodinrezeptor zu suchen. Sollten in diesem grossen Gen keine Mutationen identifiziert werden können, so werden wir noch auf anderen Chromosomen nach möglichen Ursachen für die MH suchen.

## Kulturen menschlicher Skelettmuskelzellen

Kultivierte menschliche Skelettmuskelzellen von MHS- und MHN-Personen können einerseits einen weiteren Einblick in den Pathomechanismus der MH vermitteln, auf der anderen Seite sind sie möglicherweise auch für diagnostische

Zwecke verwendbar. Anhand menschlicher Skelettmuskelzellen konnte der kausative Effekt einer MH-Mutation bewiesen werden: Mutierte Skelettmuskelzellen reagierten bei signifikant geringeren Halothankonzentrationen mit einem Anstieg der myoplasmatischen Kalziumkonzentration [16]. Skelettmuskelzellen von MH-positiv getesteten Patienten zeigten ebenfalls eine signifikant erhöhte Halothanempfindlichkeit bezüglich myoplasmatischer Kalziumkonzentration [17].

### B-Lymphozyten

Der Skelettmuskeltyp (Typ 1) des Ryanodinrezeptors konnte überraschenderweise auch in B-Lymphozyten nachgewiesen werden [18]. Wir konnten die Expression mutierter Ryanodinrezeptoren in B-Lymphozyten von MHS-Personen bestätigen. Die B-Lymphozyten von MH-positiven Personen sind auf Agonisten des Ryanodinrezeptors empfindlicher, d.h. die zytoplasmatische Kalziumkonzentration steigt im Vergleich zu Lymphozyten von Kontrollpersonen schon bei geringerer Agonistenkonzentration an [19, 20]. Gleichzeitig konnten wir eine im Vergleich zur Kontrollgruppe vermehrte Produktion von Interleukin 1 und 6 nachweisen. Die pathophysiologische Bedeutung dieser vermehrten Interleukinproduktion MH-positiver Lymphozyten ist bisher unklar.

### «Metabolischer Test»

In Würzburg hat eine Gruppe um M. Anetseder den Effekt sehr kleiner Dosen von Halothan und Koffein am Menschen untersucht. MH-positiven und MH-negativen Patienten wurden kleine Dosen dieser Triggersubstanzen intramuskulär injiziert und mittels Mikrodialyse die lokale metabolische Reaktion anhand der CO<sub>2</sub>-Produktion gemessen [21]. MH positive Patienten hatten im Vergleich zur MH negativen Gruppe eine signifikant höhere CO<sub>2</sub>-Produktion.

### Zukunft der MH-Diagnostik

Das Ziel einer weniger invasiven präsymptomatischen MH-Diagnostik ist durch die molekulargenetischen Methoden zumindest teilweise erreicht. Kann jedoch eine Mutation nicht nachgewiesen werden, so muss nach wie vor der IVCT durchgeführt werden. Auch ist uns die genetische Ursache der malignem Hyperthermie in 60% der Schweizer MH-Familien bisher nicht bekannt. Unsere Forschung zielt darauf hin, einerseits den Anteil bekannter MH-Mutationen im Ryanodinrezeptor zu vergrössern und andererseits, andere bei der Entstehung der malignen Hyperthermie involvierte Proteine zu identifizieren.

Menschliche Muskelzellkulturen sowie der «metabolische Test» sind viel versprechende Ansätze, welche aber bis heute nicht in der Lage sind, zweifellos zwischen MH-positiv und MH-negativ zu unterscheiden.

### Zusammenfassung

Die Pharmakogenetik wird für die klinische Anästhesie in Zukunft eine wichtige Bedeutung haben. Vom Moment einer personalisierten Dosierung von Medikamenten sind wir noch einen grossen Schritt entfernt. Wenn es uns jedoch gelingt, Polymorphismen und Mutationen in wichtigen Enzymen, Rezeptoren oder Transportproteinen klinischen Phänotypen zuzuordnen, dann können moderne Methoden der DNA-Analysen den Anästhesisten in Zukunft über patientenspezifische pharmakogenetische Besonderheiten informieren. Ein wichtiger Schritt in der Optimierung von perioperativer Patientensicherheit und eine weitere Qualitätsverbesserung der klinischen Anästhesie.

### Literatur

- Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000;356:1667-71.
- Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics – drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 2003;348:538-49.
- Schwinn DA, Booth JV. Genetics infuses new life into human physiology: implications of the human genome project for anesthesiology and perioperative medicine. *Anesthesiology* 2002;96:261-3.
- Donati F. The right dose of succinylcholine. *Anesthesiology* 2003;99:1037-8.
- White PF. Rapacuronium: why did it fail as a replacement for succinylcholine? *Br J Anaesth* 2002;88:163-5.
- Lockridge O, Bartels CF, Vaughan TA, Wong CK, Norton SE, Johnson LL. Complete amino acid sequence of human serum cholinesterase. *J Biol Chem* 1987;262:549-57.
- Mack A, Robitzki A. The key role of butyrylcholinesterase during neurogenesis and neural disorders: an antisense-5'butyrylcholinesterase-DNA study. *Prog Neurobiol* 2000;60:607-28.
- Pantuck EJ. Plasma cholinesterase: gene and variations. *Anesth Analg* 1993;77:380-6.
- Kalow W, Gunn D. The relation between dose of succinylcholine and duration of apnea in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1957;120:203-14.
- Allderdice PW, Gardner HA, Galutira D, Lockridge O, LaDu BN, McAlpine PJ. The cloned butyrylcholinesterase (BCHE) gene maps to a single chromosome site, 3q26. *Genomics* 1991;11:452-4.
- Bartels CF, Jensen FS, Lockridge O, van der Spek AF, Rubinstein HM, Lubrano T, et al. DNA mutation associated with the human butyrylcholinesterase K-variant and its linkage to the atypical variant mutation and other polymorphic sites. *Am J Hum Genet* 1992;50:1086-103.
- Jensen FS, Schwartz M, Viby-Mogensen J. Identification of human plasma cholinesterase variants using molecular biological techniques. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995;39:142-9.
- Girard T, Ginz HF, Voronkov E, Buehler E, Urwyler A. Cholinesterase Deficiency: Identification of a Novel Mutation (Abstract). *Anesth Analg* 2003;96:S-241.
- Urwyler A, Deufel T, McCarthy T, West S. Guidelines for molecular genetic detection of susceptibility to malignant hyperthermia. *Br J Anaesth* 2001;86:283-7.

## Korrespondenz:

Dr. med. Thierry Girard  
Departement Forschung  
Perioperative Patient Safety  
Labor 408  
Hebelstrasse 20  
CH-4031 Basel  
[thierry.girard@unibas.ch](mailto:thierry.girard@unibas.ch)

- 15 Girard T, Treves S, Voronkov E, Siegemund M, Urwyler A. Molecular Genetic Testing for Malignant Hyperthermia Susceptibility. *Anesthesiology* 2004;100:1076-80.
- 16 Censier K, Urwyler A, Zorzato F, Treves S. Intracellular calcium homeostasis in human primary muscle cells from malignant hyperthermia-susceptible and normal individuals. Effect Of overexpression of recombinant wild-type and Arg163Cys mutated ryanodine receptors. *J Clin Invest* 1998;101:1233-42.
- 17 Girard T, Treves S, Censier K, Mueller CR, Zorzato F, Urwyler A. Phenotyping malignant hyperthermia susceptibility by measuring halothane-induced changes in myoplasmic calcium concentration in cultured human skeletal muscle cells. *Br J Anaesth* 2002;89:571-9.
- 18 Sei Y, Gallagher KL, Basile AS. Skeletal muscle type ryanodine receptor is involved in calcium signaling in human B lymphocytes. *J Biol Chem* 1999;274:5995-6002.
- 19 Sei Y, Brandom BW, Bina S, Hosoi E, Gallagher KL, Wyre HW, et al. Patients with malignant hyperthermia demonstrate an altered calcium control mechanism in B lymphocytes. *Anesthesiology* 2002;97:1052-8.
- 20 Girard T, Cavagna D, Padovan E, Spagnoli G, Urwyler A, Zorzato F, et al. B-lymphocytes from malignant hyperthermia-susceptible patients have an increased sensitivity to skeletal muscle ryanodine receptor activators. *J Biol Chem* 2001;276:48077-82.
- 21 Anetseder M, Hager M, Muller CR, Roewer N. Diagnosis of susceptibility to malignant hyperthermia by use of a metabolic test. *Lancet* 2002;359:1579-80.