

Pharmakogenetik in der Praxis: warum, wie, wann?

Teil 2

Anne B. Taegtmeyer^{a, b}, Alessandro Ceschi^{a, c}, Gerd A. Kullak-Ublick^a, Alexander Jetter^a

^a Klinik für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, UniversitätsSpital Zürich

^b aktueller Arbeitsort: Abteilung für Klinische Pharmakologie & Toxikologie, Universitätsspital Basel

^c aktueller Arbeitsort: Schweizerisches Toxikologisches Informationszentrum STIZ, Zürich

Quintessenz

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

Pharmakogenetik in der Inneren Medizin

Gerinnungssystem

Bei der Gerinnungshemmung mit Coumarinderivaten und der Thrombozytenaggregationshemmung mit Clopidogrel sind pharmakogenetische Einflüsse klinisch relevant. So wurde für das im englischsprachigen Raum hauptsächlich verwendete Warfarin vielfach nachgewiesen, dass 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 besteht, und es wurden Algorithmen zur genotypbasierten Dosisindividualisierung entwickelt [1, 2].

Das im deutschsprachigen Raum gebräuchliche Phenprocoumon hat eine geringere Abhängigkeit vom CYP2C9-Genotyp, da es auch über CYP3A4 abgebaut wird. Für dieses Enzym wurden bislang keine relevanten genetischen Einflüsse festgestellt. Kürzlich wurde ein genotypbasierter Algorithmus für die Phenprocoumon-Dosierung entwickelt, durch den fast 60% der Variabilität erklärt werden können. Die Nützlichkeit des Algorithmus für die Festlegung von Initial- und Erhaltungsdosen von Phenprocoumon wird in randomisierten Studien untersucht [1].

Clopidogrel wird über zwei Schritte bioaktiviert, die durch mehrere Cytochrom-P450-Enzyme vermittelt werden. Der Einfluss genetischer Polymorphismen insbesondere im CYP2C19-Enzym wird 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].

Protonenpumpenhemmer

Die Protonenpumpenhemmer Omeprazol, Esomeprazol (S-Enantiomer von Omeprazol), Rabeprazol und Pantoprazol sind Substrate und unterschiedlich starke Hemmer von CYP2C19. In Ostasien wurde nachgewiesen, dass ein substanzieller Einfluss der CYP2C19-Genotypen auf den Erfolg einer Triple-Ulkustherapie, die Omeprazol enthielt, besteht. Dies legt eine CYP2C19-Genotypisierung vor Beginn einer solchen Therapie nahe. Allerdings sind funktionsmindernde CYP2C19-Varianten in der europäischen Bevölkerung eher selten (2%), so dass die CYP2C19-Genotypisierung Patienten vorbehalten bleibt, bei 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 1B1» (OATP1B1) und der Entwicklung einer Myopathie unter Simvastatin bemerkenswert [4]. OATP1B1 ist verantwortlich für die Aufnahme aller Statine in die Leberzelle. Bei reduzierter Aufnahme erhöht sich die Statinkonzentration im Kreislauf und dadurch auch die Muskel-Exposition und -Toxizität. Die Häufigkeit eines funktionsmindernden Allels (SLCO1B1*5) betrug bei Herzinfarkt-Patienten aus Grossbritannien 15%. 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 Statin-Therapie wird aber noch nicht empfohlen, da prospektive Daten bislang fehlen. Zur Ursachenklärung bei statininduzierter Myopathie kann eine Genotypisierung aber auch jetzt schon sinnvoll sein.

Tuberkulostatische Therapie

Das Tuberkulostatikum Isoniazid wird, ebenso wie Dapsone, Sulfasalazin und Procainamid, durch die N-Acetyltransferase 2 (NAT2) abgebaut. Die Aktivität dieses En-



Anne B. Taegtmeyer

Die Autoren haben keine finanzielle Unterstützung und keine anderen Interessenkonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

zyms ist genetisch reguliert und in der europäischen Bevölkerung mit langsamen und schnellen Acetylierern (50–70% bzw. 30–50%) bimodal verteilt; die asiatische Bevölkerung besteht fast ausschliesslich aus schnellen Acetylierern. Entsprechend wurde gezeigt, dass bei Eu-

Eine Genotypisierung vor Beginn einer Statin-Therapie wird nicht empfohlen, da prospektive Daten bislang fehlen; zur Ursachenklärung bei statininduzierter Myopathie kann eine Genotypisierung aber sinnvoll sein

ropäern bei Beginn einer Isoniazid-Therapie eine Dosisadaptation an den NAT2-Genotyp sinnvoll sein kann, um Unter- und Überdosierungen zu vermeiden [5]. Eine Dosisadaptation ist ausserdem sinnvoll zur Abklärung oder Vermeidung unerwünschter Wirkun-

Immunsuppression mit Thiopurinanaloga

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 Thiopurindeaktivierung beteiligt. Eine verminderte TPMT-Aktivität führt zur Akkumulation von 6-TGN und zu einer Knochenmarksuppression unter üblichen Thiopurinindosierungen. 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 von Blutbild, Leberwerten und Thiopurinmetaboliten-Konzentrationen empfehlenswert, da eine Knochenmarkssuppression unter Thiopurinanaloga mit einer Latenz von mehreren Wochen auftreten kann [10].

Therapie der HIV-Infektion

Die Auswahl der antiretroviralen Therapie beinhaltet heute in den meisten Fällen ein Screening der HI-Viren auf resistenzbegründende Mutationen. Daneben sind Cytochrom-P450-Enzyme für den Metabolismus der meisten antiretroviralen Wirkstoffe wichtig. Bei den Proteaseinhibitoren stehen vor allem Wechselwirkungen im Vordergrund, während relevante genetische Einflüsse auf die Pharmakokinetik bei den nichtnukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren Efavirenz und Nevirapin gefunden wurden [11]. Die Bestimmung von Plasmakonzentrationen der antiretroviralen Substanzen zur

Therapieindividualisierung ist gut etabliert, aber genetische Untersuchungen der an Stoffwechsel und Transport beteiligten Proteine werden nicht routinemässig durchgeführt.

Forschungsausblicke

Pharmakogenetik der Arzneistofftransporter

Die Rolle der Arzneistofftransporter für erwünschte und unerwünschte Wirkungen wird zunehmend erkannt. Arzneistofftransporter gehören zu zwei Familien: Die «ATP-binding-cassette»-Transporter (ABC) dienen der Eliminierung von Stoffen aus Zellen, die «solute-linked-carrier»-Transporter (SLC) erleichtern die Aufnahme von Stoffen in Zellen. Mehr als 34 verschiedene Arzneimitteltransporter sind in Darm und Leber charakterisiert worden [12].

Polymorphismen im wichtigsten Efflux-Transporter-Gen ABCB1 (codiert das «multidrug resistance protein 1» MDR1, auch P-Glycoprotein genannt) und im wichtigen Aufnahmetransporter-Gen SLCO1B1 (codiert 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 erwähnte Einfluss auf die Statin-Toxizität belegt ist, stehen für viele weitere Transporter-Polymorphismen noch keine Forschungsergebnisse zur Verfügung, die den Einsatz von entsprechenden Tests in der Routine rechtfertigen würden.

Im Gegensatz dazu kann bei Verdacht auf eine angeborene intrahepatische Cholestase, die zum Beispiel durch die Gabe eines Medikaments exazerbiert und demaskiert worden ist, oder bei Verdacht auf eine Schwangerschaftscholestase eine Sequenzierung der Gene für die Gallensäuretransporter «multidrug resistance protein 3» (MDR3), «Gallensäure-Export-Pumpe» (Bile Salt Export Pump, BSEP) und «familial intrahepatic cholestasis 1» (FIC1) hilfreich sein [18].

Toxikogenomik und medikamentöse Leberschädigung

Die Toxikogenomik untersucht mit Gen-Expressions-Analysen die Wirkmechanismen verschiedener Noxen auf biologische Systeme [19, 20]. Die drei Hauptziele der Toxikogenomik bestehen darin, 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 Bestimmung von Plasmakonzentrationen der antiretroviralen Substanzen zur Therapieindividualisierung ist gut etabliert, genetische Untersuchungen der an Stoffwechsel und Transport beteiligten Proteine werden aber nicht routinemässig durchgeführt

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 unter anderem 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 einer Therapie mit Amoxicillin/Clavulansäure (Augmentin®) demonstriert [26]. Allerdings bleibt ein medikamentöser Leberschaden glücklicherweise ein sehr seltenes Phänomen, bei dem meist erst das Zusammenspiel mehrerer Noxen die Leberschädigung bewirkt [23]. Daher wird die präventive Untersuchung prädisponierender Gene vor Beginn einer potentiell hepatotoxischen Therapie selbst in Fällen klarer Assoziationen nicht als effektiv eingeschätzt.

In der Routinediagnostik werden zur Genotypisierung häufig Polymerase-Kettenreaktionen mit nachfolgender Gelelektrophorese oder Real-Time-PCR-Technologien angewendet

Die Mechanismen, die idiosynkratischen Reaktionen zugrunde liegen, stehen im Fokus der Forschung; es besteht die 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, «Array»-Techniken oder Real-Time-PCR-Technologien angewendet. Zudem können beispielsweise 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 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 Forschungsfragen 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 im klinischen Kontext empfohlen wird. Die derzeit verfügbaren Guidelines befassen sich mit Warfarin, Thiopurinen [9] sowie mit Clopidogrel und CYP2C19-Polymorphismen [3]. Es ist zu erwarten, dass weitere pharmakogenetische Leitlinien erarbeitet werden: dies sowohl aufgrund technischer Entwicklungen, die mit sinkenden Kosten und einer breiteren Verfügbarkeit von Gentests einhergehen, als auch wegen präziserer Forschungsergebnisse, die den Stellenwert pharmakogenetischer Untersuchungen zur Verbesserung der Wirksamkeit und zur Vermeidung von Nebenwirkungen valider beschreiben. Die Umsetzbarkeit dieser Leitlinien in der ärztlichen Praxis wird auch davon abhängen, ob sinnvolle pharmakogenetische Untersuchungen von der obligatorischen Krankenversicherung erstattet werden.

In der Schweiz sind aktuell genetische Tests vor Beginn einer Therapie mit Carbamazepin und mit Abacavir vorgeschrieben

Korrespondenz:

PD Dr. med. Alexander Jetter
Klinik für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
UniversitätsSpital Zürich
Rämistrasse 100
CH-8091 Zürich
[alexander.jetter\[at\]usz.ch](mailto:alexander.jetter[at]usz.ch)