

Overzichten

Cytochroom-P450 afhankelijk geneesmiddelmetabolisme: invloed van genetische aanleg, co-medicatie, ziekte, dieet en roken op CYP-enzymactiviteit

J. van der WEIDE en L.S.W. STEIJNS

Het cytochroom-P450 (CYP) enzymstelsel is betrokken bij het metabolisme en de eliminatie van een groot aantal veel toegepaste geneesmiddelen. De capaciteit van het stelsel verschilt per persoon. Dit leidt ertoe dat niet iedereen op een bepaalde dosis van een geneesmiddel hetzelfde reageert. Het tempo waarin een geneesmiddel uit het lichaam wordt uitgescheiden is immers bepalend voor de serumconcentratie die ontstaat, hetgeen weer van invloed kan zijn op het effect.

De interindividuele variatie in metabole snelheid is grotendeels genetisch bepaald. Sommige CYP-enzymen, waaronder CYP2D6 en CYP2C19, zijn genetisch polymorf. Er komen mutante allelen voor, resulterend in een veranderde enzymactiviteit. Daarnaast zijn factoren als roken, dieet, ziekte en co-medicatie van invloed op de activiteit van de CYP-enzymen.

Dit artikel geeft een overzicht van de specifieke invloed van zowel genetische als externe factoren op CYP-enzymactiviteit, alsmede van de veranderde effectiviteit en bijwerkingen van geneesmiddelen die hierdoor kunnen optreden.

Trefwoorden: cytochroom-P450; genetisch polymorfisme; geneesmiddelmetabolisme

Wanneer in een populatie aan iedereen dezelfde dosis van een bepaald geneesmiddel wordt gegeven, kan de effectiviteit van dat middel van patiënt tot patiënt sterk verschillen. Dit komt veelal doordat de serumconcentratie van het middel, die ontstaat na het bereiken van "steady-state", per persoon varieert. Bij sommigen loopt deze spiegel zo hoog op, dat het therapeutisch effect van het middel overschaduw wordt door ongewenste toxische neveneffecten, terwijl de concentratie bij anderen met eenzelfde dosering subtherapeutisch blijft. De "steady-state" serumconcentratie van een geneesmiddel is afhankelijk van ondermeer de mate van de absorptie en de capaciteit van de lever om het desbetreffende middel om te zet-

ten. De meeste geneesmiddelen ondergaan immers biotransformatie oftewel metabolisme, voordat ze uitgescheiden worden. Dit gebeurt voor het grootste gedeelte in de lever en met name de verschillen in activiteit van de leverenzymen die bij het metabolisme van het geneesmiddel betrokken zijn, zijn bepalend voor de interindividuele variatie in farmacokinetiek.

Het hepatische cytochroom-P450 (CYP) stelsel, een grote familie van metaboliserende enzymen - de CYP-enzymen -, speelt een belangrijke rol bij de eliminatie van een groot aantal veel toegepaste geneesmiddelen. De metabole capaciteit van dit enzymstelsel is vanwege genetische polymorfismen individueel bepaald. Voor veel geneesmiddelen is onderscheid te maken tussen zogenaamde trage, normale en snelle metabolisatoren. Daarnaast kan de activiteit van de CYP-enzymen door factoren als rookgewoonten, alcoholgebruik, dieet, leeftijd, co-medicatie en ziekte worden beïnvloed. In dit artikel wordt de specifieke invloed zowel van genetische aanleg als van enkele externe factoren op CYP-enzymactiviteit nader uitgewerkt. Tevens worden de veranderde effectiviteit en bijwerkingen van geneesmiddelen, die hiermee gepaard kunnen gaan, beschreven. In het algemeen kan worden gesteld dat wanneer de metaboliserende enzymen onder invloed van één of meer genoemde factoren niet of niet optimaal functioneren, de klaring van een geneesmiddel dat voor biotransformatie van deze enzymen afhankelijk is, aanzienlijk is vertraagd. Het toegediende geneesmiddel en/of de metabolieten hopen op en de halfwaardetijd neemt toe, omdat de eliminatie afhankelijk wordt van directe filtratie van de moederverbinding of omdat de biotransformatie wordt omgeleid via enzymen met een lagere affiniteit voor het substraat. Wanneer door bepaalde factoren, bijvoorbeeld sommige geneesmiddelen en roken, metabole enzymactiviteit geïnduceerd, dus verhoogd wordt, leidt dit tot een snellere metabole klaring en een lagere serumconcentratie. Zowel vertraagde als versnelde enzymactiviteit heeft gevolgen voor het klinisch effect van een geneesmiddel. Er kunnen hogere concentraties van de werkende stof (moederverbinding of actieve metabolieten) ontstaan en daarmee een te sterk, eventueel toxisch effect of de concentratie van de werkende stof wordt juist lager, hetgeen resulteert in verminderde effectiviteit van het middel (1).

Klinisch Chemisch Laboratorium, Psychiatrisch Ziekenhuis Veldwijk, Ermelo

Correspondentie: Dr. J. van der Weide, Psychiatrisch Ziekenhuis Veldwijk, Klinisch Chemisch Laboratorium, Postbus 1000, 3850 BA Ermelo.
Ingekomen: 04.06.96

Tabel 1. Nomenclatuur-systeem van de CYP-enzymen

Familie	subfamilie	individueel gen
CYP1	A B C D . .	1 2 . .
CYP2		
CYP3		
CYP4		
CYP5		
CYP7		
CYP11		
CYP17		
CYP19		
CYP21		
CYP27		

Cytochroom-P450

De belangrijkste eliminatieroute voor lipofiele geneesmiddelen, waaronder vele psychofarmaca, is de cytochroom-P450 afhankelijke oxidatie. CYP medieert biotransformatie in polaire metabolieten, welke vervolgens via de nieren worden uitgescheiden. Het hepatische CYP-systeem bestaat uit een groot aantal nauw verwante isoenzymen met verschillende substraatspecificiteiten, die op basis van hun overeenkomst in aminozuurvolgorde onderverdeeld zijn in families en subfamilies. In humane levers zijn tenminste 11 verschillende CYP-enzymfamilies gevonden, die met arabische cijfers worden aangeduid. Van een aantal van deze families zijn subfamilies bekend, aangegeven met een hoofdletter volgend op de familieaanduiding. Individuele genen, coderend voor een specifiek isoenzym, worden aangegeven met een tweede arabisch cijfer achter de letter. In tabel 1 is de structuur van de nomenclatuur schematisch weergegeven (2,3). De enzymen behorend tot de families CYP1, CYP2 en CYP3 katalyseren de oxidatieve biotransformatie van exogene verbindingen waaronder een groot aantal geneesmiddelen, (pro-) carcinogene en (pro-) mutagene stoffen, natuurlijke plant- en dierproducten en alcoholen. Hierbij zijn de enzymen uit de subfamilies CYP2C, CYP2D en CYP3A vooral actief bij geneesmiddelenoxidatie, terwijl CYP1A1, CYP1A2 en CYP1E2, naast enkele geneesmiddelen, voornamelijk carcinogenen en mutagenen metaboliseren (4). De andere CYP-families zijn vooral betrokken bij het metabolisme van endogene stoffen, zoals steroid- en thyroïdhormonen, vetzuren, vitamine D, etcetera. Tabel 2 geeft een aantal CYP-enzymen uit de eerste drie families weer, met per enzym of per subfamilie enkele geneesmiddelen/geneesmiddelgroepen die voor hun biotransformatie in meer of mindere mate van de betreffende CYP-enzymen afhankelijk zijn (1,4-12). Voor een uitgebreid overzicht van CYP-enzymen en hun substraten wordt naar van der Weide et al. (1996) verwezen (13).

Genetisch polymorfisme

De interindividuele variatie in metabole capaciteit van het CYP-systeem is voor bijna 80% genetisch bepaald (10). Sommige CYP-enzymen zijn genetisch polymorf. Dat wil zeggen dat naast het normale wild-type CYP-gen mutante allelen voorkomen met inserties, deleties of substituties. Deze mutanten kunnen

Tabel 2. Enkele cytochroom-P450 enzymen en substraten

Enzym(en)	(genes)middelen
CYP 1A1/ 1A2	caffeine, clozapine, paracetamol, theofylline
CYP2C19	tricyclische antidepressiva o.a. amitriptyline en clomipramine, barbituraten, diazepam, fluoxetine, omeprazol, (chloor-) proguanil
CYP2D6	<i>anti-arrhythmica</i> o.a. sparteïne <i>β-blokkers</i> <i>tricyclische antidepressiva (TCA's)</i> o.a. amitriptyline, clomipramine, desipramine, nortriptyline <i>neuroleptica</i> o.a. haloperidol, flufenazine, perfenazine, zuclopentixol <i>selectieve serotonine heropnameremmers (SSRI's)</i> o.a. fluoxetine, fluvoxamine, paroxetine, sertraline <i>diversen</i> o.a. amfetamine, codeïne, MAO-remmers, debrisoquine
CYP 3A3/ 3A4/ 3A5/ 3A7	benzodiazepines, fluoxetine, rifampicine

resulteren in een extreem hoge, een extreem lage, of geheel afwezige activiteit van het corresponderende CYP-enzym, en daarmee samenhangend een versnelde of vertraagde substraatelminatie.

CYP2D6

Veel onderzoek is gedaan naar het genetisch polymorfe debrisoquine-4-hydroxylase, oftewel het CYP2D6-enzym (14). Dit enzym katalyseert de oxidatieve biotransformatie van vele geneesmiddelen. Een aantal mutante CYP2D6-allelen, welke doorgaans een afwijkende enzymactiviteit veroorzaken, is geïdentificeerd (15-25). Tabel 3 geeft een overzicht van deze mutanten.

Bij 5 tot 10% van de Kaukasische populatie is als gevolg van genetisch bepaalde factoren het CYP2D6-enzym totaal deficiënt. In Oosterse en Afrikaanse bevolkingsgroepen komt deze deficiëntie veel minder vaak voor. In sommige populaties is de prevalentie zelfs minder dan 1% (7,26). In geval van CYP2D6-deficiëntie is de klaring van geneesmiddelen die door dit enzym worden geoxideerd aanzienlijk afgenomen. De deficiëntie kan worden veroorzaakt door verschillende inactiverende mutaties op het CYP2D6-gen (tabel 3). Een CYP2D6-gen met zo'n mutatie wordt een nul-allel genoemd. Het meest voorkomende nul-allel, CYP2D6B genoemd, heeft onder andere een G → A substitutie van basepaar 1934 op exon 4, waardoor incorrecte splicing plaatsvindt, hetgeen resulteert in de vorming van een niet-functioneel CYP2D6-enzym (18). Het CYP2D6B-allel komt in de Kaukasische

Tabel 3. CYP2D6 allelen

Allel	mutatie	enzym activiteit	allelfrequentie % (Kaukasiërs)
CYP2D6wt (15)	–	normaal	
CYP2D6L (16)	div bp substituties	normaal	34
CYP2D6A (17)	A deletie	afwezig	2
CYP2D6B (18)	o.a. G → A substitutie	afwezig	20
CYP2D6D (19)	gendeletie	afwezig	4
CYP2D6E (20)	A → C substitutie	afwezig	1,5
CYP2D6-T1795 (21)	T deletie	afwezig	1
CYP2D6C (22)	3 bp deletie	verminderd	<1,5
CYP2D6J (23)	div bp substituties	verminderd	
CYP2D6W (24)	div bp substituties	verminderd	
CYP2D6Ch (25)	div bp substituties	verminderd	3
(CYP2D6L) ₂ (16)	duplicatie van 2D6L	verhoogd	1
(CYP2D6L) ₁₂ (16)	multiplificatie van 2D6L	verhoogd	<1

populaties voor met een frequentie van 10 à 20% en vertegenwoordigt circa 75% van alle nul-allelen. Van de CYP2D6A-variant is sprake bij 5% van deze mutanten. CYP2D6A heeft een deletie van basepaar 2637 op exon 5, waardoor frameshift translatie en zodoende vorming van een onvolledig enzym plaatsvindt (17). Het CYP2D6D-allel, waarbij het gehele coderende gebied van CYP2D6 afwezig is, zodat in het geheel geen CYP2D6-enzym gevormd wordt, neemt 15% van de nul-allelen voor zijn rekening (19). De overige CYP2D6-nul-allelen tenslotte worden veroorzaakt door diverse sporadisch voorkomende mutaties. (20,21).

Homozygoot of onderling heterozygoot voorkomend resulteren al deze mutante CYP2D6-allelen in totale deficiëntie van CYP2D6-activiteit. Dit leidt tot vertraagd metabolisme van een groot aantal veel toegepaste geneesmiddelen, waaronder diverse psychofarmaca en cardiovasculaire stoffen (zie tabel 2). Farma-cokinetisch gezien zijn personen met een CYP2D6-deficiëntie met betrekking tot deze middelen gelijk aan patiënten met levercirrose (8).

De mate waarin het metabolisme wordt vertraagd in geval van CYP2D6-deficiëntie is niet voor alle CYP2D6-substraten gelijk, maar hangt af van het relatieve belang van CYP2D6 voor de eliminatie van het middel. Kan de metabole route eenvoudig omgeleid worden via andere enzymen, of wordt maar een klein gedeelte van het middel via CYP2D6 omgezet, dan zal deficiëntie van CYP2D6-enzymactiviteit het totale eliminatieproces niet zo heel erg vertragen. Speelt CYP2D6 echter bij de klaring van een bepaald geneesmiddel een prominente rol en hebben andere metaboliserende enzymen een veel lagere affiniteit voor het middel, dan zal CYP2D6-deficiëntie een sterk vertraagde eliminatie veroorzaken. Bij heterozygoten, met één nul-allel en één wildtype allel, is het metabolisme van een dergelijk middel slechts gedeeltelijk vertraagd. Zij worden niet als trage metaboliseerders aangemerkt (5). Naar schatting is 35-43% van de bevolking heterozygote drager van een mutant allel.

Naast nul-allelen komen diverse mutanten voor, die niet tot totale afwezigheid van CYP2D6-activiteit leiden, maar waarbij het corresponderende enzym wel verminderd actief is. Mensen die homozygoot zijn voor CYP2D6J of CYP2D6Ch bijvoorbeeld hebben, in vergelijking met mensen die homozygoot zijn voor het wildtype allel, een iets trager metabolisme. Ook zij worden echter niet als trage metaboliseerders beschouwd (23,25).

Naast gevallen van vertraagd metabolisme zijn ook extreem snelle metaboliseerders beschreven. Zowel op exon 6 als op exon 9 van het CYP2D6-gen zijn mutaties gevonden, resulterend in aminozuursubstituties, die voorkomen bij verhoogde enzymexpressie (27). Bij enkele patiënten die zelfs bij hoge doseringen van psychofarmaca geen aantoonbare serumspiegels vormden werd een CYP2D6-gen met deze mutaties, dat CYP2D6L wordt genoemd, gevonden. Aanwezigheid van CYP2D6L wijst echter niet automatisch op snel metabolisme; wel is het CYP2D6L-gen, ten opzichte van de wildtype CYP2D6-variant, relatief vaak onderhevig aan duplicatie of multiplicatie. Daarbij ontstaan twee of meer kopieën van het CYP2D6-gen op hetzelfde allel, wat verhoogde enzymexpressie en zodoende versneld metabolisme tot gevolg heeft. Eén CYP2D6L-gen per allel, dus wanneer geen multiplicatie heeft plaatsgevonden, resulteert in normale CYP2D6-activiteit (16). De frequentie van het geduplicateerd/gemultiplificeerd CYP2D6-gen bedraagt in de Kaukasische populatie 1 tot 7% (26,28).

CYP2C19

Een tweede CYP-enzym dat onderhevig is aan genetisch polymorfisme is het S-mephenytoïne-hydroxylase, oftewel CYP2C19 (29). Dit enzym is compleet deficiënt bij 2 tot 6% van de Kaukasische en bij 18 tot 23% van de Oriëntaalse populatie (26). In beide bevolkingsgroepen wordt de deficiëntie in 75-85% van de gevallen veroorzaakt door een puntmutatie op exon 5 van het CYP2C19-gen. Dit heeft de vorming van een niet-functioneel CYP2C19-enzym tot gevolg.

Bij personen die homozygoot zijn voor deze mutatie is het metabolisme van verschillende barbituraten, een aantal antidepressiva en andere CYP2C19-substraten (tabel 2) sterk vertraagd. De mutatie(s) die verantwoordelijk zijn voor de overige gevallen van CYP2C19-deficiëntie zijn, afgezien van een defect dat alleen bij Japanners is gevonden, tot op heden nog niet geïdentificeerd.

Andere CYP-enzymen

Ook CYP1A1 en CYP1A2 zijn genetisch polymorf. Er komen mutante allelen voor, welke resulteren in veranderde enzymactiviteit of veranderde gevoeligheid voor inductie van de enzymactiviteit door onder andere sigarettenrook (7,30). Omdat de CYP1A-enzymen voornamelijk betrokken zijn bij de biotransformatie van carcinogene en mutagene stoffen, zoals bestanddelen van tabaksrook en neurotoxines, worden bepaalde mutanten, vanwege versnelde of vertraagde activering of detoxificatie van deze stoffen, geassocieerd met verhoogde of juist verminderde vatbaarheid voor o.a. long- en blaaskanker (30,31). Door roken, dat inductie van zowel CYP1A1 als CYP1A2 veroorzaakt, worden deze effecten beïnvloed. Of de polymorfismen ook effect hebben op de eliminatiesnelheid van middelen als clozapine en fluvoxamine, die eveneens CYP1A-substraten zijn, is niet bekend. Evenals CYP1A1 en CYP1A2 is ook het CYP2E1-enzym genetisch polymorf (30). Een bepaalde mutant blijkt onder longkankerpatiënten minder voor te komen, een andere mutant beschermt, vanwege de rol die CYP2E1 bij de detoxificatie van ethanol speelt, tegen het ontwikkelen van leverafwijkingen bij alcoholisten (7,32). Aangezien het CYP2E1-enzym bij de biotransformatie van geneesmiddelen nauwelijks is betrokken, zal dit polymorfisme bij de interindividuele variatie in effectiviteit van farmaca niet van belang zijn. Van de isoenzymen behorend tot de subfamilies CYP3A en CYP2B zijn geen genetische polymorfismen beschreven (9).

Invloed van diverse factoren op de activiteit van CYP-enzymen

Co-medicatie

Naast genetische factoren kan ook co-medicatie de metabole capaciteit van het CYP-systeem beïnvloeden. Wanneer twee of meer geneesmiddelen in combinatie worden toegediend, kan als gevolg van remming of inductie van CYP-enzymen interactie tussen de middelen optreden. Neuroleptica als perfenazine, flufenazine en haloperidol bijvoorbeeld hebben een sterk remmende werking op het metabolisme van onder andere tricyclische antidepressiva (TCA's). Dit komt omdat beide geneesmiddelgroepen voor een belangrijk deel door CYP2D6 worden gemetaboliseerd. Er treedt competitie op voor het enzym, waarbij het neurolepticum een hogere affiniteit voor CYP2D6 heeft (9,33). Kinidine, dat zelf geen CYP2D6-substraat is, en selectieve serotonine heropnameremmers (SSRI's) als fluoxetine, norfluoxetine, paroxetine, sertraline en in mindere mate fluvoxamine en citalopram zijn potente CYP2D6-remmers

(12,34,35). Mensen met normale CYP2D6-activiteit, dus zonder genetisch bepaalde deficiëntie, veranderen, wanneer tegelijkertijd met een SSRI een middel dat voor zijn eliminatie van CYP2D6 afhankelijk is (tabel 2) wordt toegediend, in trage metabolisierders voor laatstgenoemde middelen (36,37). De klaring neemt af en de serumspiegels kunnen hoog oplopen, wat vooral bij TCA's en MAO-remmers vanwege hun geringe therapeutische breedte ernstige intoxicatieverschijnselen kan geven (36,38). Hierbij moet gedacht worden aan verergering van anticholinerge bijwerkingen en toxische effecten zoals convulsies en delier (39).

Het gevaar voor optreden van geneesmiddelinteracties is het grootst wanneer twee geneesmiddelen worden gegeven die via hetzelfde CYP-enzym gemetaboliseerd worden. Wanneer eliminatie via verschillende enzymen van het CYP-systeem geschiedt, is deze kans overigens niet afwezig, omdat bepaalde CYP-enzymen duidelijk structureel met elkaar verwant zijn. Elk CYP-substraat kan potentiëel optreden als competitieve inhibitor en zodoende het metabolisme van een ander CYP-substraat vertragen (12).

Roken

De activiteit van CYP1A1 en CYP1A2 wordt door bestanddelen van tabaksrook geïnduceerd (30). Omdat deze enzymen betrokken zijn bij de metabole bioactivering van een groot aantal pro-carcinogene en pro-mutagene verbindingen hebben rokers mede hierdoor meer kans op ziekten als longkanker. Op de activiteit van het CYP2D6-enzym heeft roken geen effect.

Verder is bekend dat door roken de metabole klaring van geneesmiddelen kan worden beïnvloed. Van een aantal psychofarmaca is aangetoond dat de eliminatiesnelheid bij mensen die roken hoger is dan bij niet-rokers (40).

Dieet

Wanneer tegelijkertijd met een geneesmiddel bepaalde voedingsstoffen worden geconsumeerd kan interactie optreden, waardoor de effectiviteit van het middel kan worden beïnvloed. Een voorbeeld hiervan is de gelijktijdige inname van het neurolepticum clozapine en het nuttigen van cafeïnehoudende dranken als koffie en cola, waarbij allerlei bijwerkingen optreden (41). Omdat zowel clozapine als cafeïne voor biotransformatie afhankelijk zijn van het CYP1A2-enzym, zijn de stoffen in staat om elkaars eliminatie te remmen, met als gevolg versterking van hun effect (42).

Van sommige groenten zoals broccoli, kool, radijs, rapen en knollen is bekend dat ze de activiteit van bepaalde CYP-enzymen induceren (43). Ook dit kan effect op het metabolisme van bepaalde geneesmiddelen hebben.

Ziekte

Leveraandoeningen, zoals cirrose, hepatocarcinoom, chronische hepatitis, leverischemia en het Budd-Chiari-syndroom kunnen veranderde effectiviteit en bijwerkingen van geneesmiddelen veroorzaken. Door

deze ziekten kunnen bepaalde leverfuncties gestoord zijn, waardoor CYP-afhankelijke biotransformatie van medicijnen wordt vertraagd. Bij mensen met een porfyrie, waarbij de capaciteit van de haemsynthese is verminderd, kan door sommige geneesmiddelen, vanwege het feit dat ze voor hun eliminatie van het CYP-enzymstelsel afhankelijk zijn, een aanval van porfyrie worden uitgelokt.

De farmacokinetische consequenties van een afwijking aan de lever kunnen gelijk zijn aan die van genetisch polymorfisme of van sommige geneesmiddelinteracties. Uitsluiting van genetisch bepaalde enzymdeficiënties door middel van genotypering kan bij de diagnostisering van leverziekten behulpzaam zijn (8).

Etnische oorsprong

Effectiviteit of bijwerkingen van geneesmiddelen zijn bij verschillende etnische groepen niet gelijk. Er bestaan interetnische verschillen in geneesmiddelmetabolisme. Zoals eerder vermeld, is er tussen de diverse bevolkingsgroepen verschil in prevalentie van CYP2D6- en CYP2C19-deficiëntie (26).

Verder is bij Aziaten in vergelijking met Kaukasiërs de metabole klaring van CYP2D6-substraten zoals TCA's, haloperidol en codeïne over het algemeen trager. Deze middelen worden bij patiënten van Aziatische origine in lagere doseringen voorgeschreven omdat bij normale doses heel vaak bijwerkingen ontstaan (37,44). De oorzaak van dit tragere metabolisme is de hoge frequentie van het CYP2D6Ch-allel in deze populatie. CYP2D6Ch heeft ten opzichte van het wildtype een aantal puntmutaties, waarvan er één, C → T substitutie van bp 188, leidt tot expressie van een meer instabiel genproduct, hetgeen verminderde enzymactiviteit tot gevolg heeft. Uit genetisch onderzoek is gebleken dat bij Chinezen, Koreanen en Japanners de CYP2D6Ch-variant met een frequentie van meer dan 50% het meest voorkomende CYP2D6-allel is. Bij Kaukasiërs is de CYP2D6Ch-allel frequentie slechts 3% (26). De lagere metabole capaciteit, de lagere optimale dosering en de verhoogde kans op bijwerkingen in Aziatische bevolkingsgroepen kunnen op deze manier worden verklaard (6,25). De interetnische verschillen in effectiviteit van geneesmiddelen worden dus, ten minste voor een deel, veroorzaakt door genetisch bepaalde variatie in activiteit van de metaboliserende enzymen.

Bepaling van het genotype

Door aan te tonen of bepaalde mutaties op de CYP-genen al dan niet aanwezig zijn kunnen mensen met een traag, normaal en snel CYP-afhankelijk geneesmiddelmetabolisme worden onderscheiden. In de Kaukasische populatie kan tegenwoordig circa 95% van de trage debrisoquine- en 80% van de trage mephenytoïne-metaboliseerders door middel van genotypering worden opgespoord.

Voor de patiënt is genotypering weinig belastend, er is slechts een geringe hoeveelheid bloed voor nodig. Hieruit wordt DNA geïsoleerd, waarna de meeste mutanten met op polymerase chain reaction (PCR) gebaseerde testen snel en relatief eenvoudig gedetecteerd

kunnen worden. Genotypering is een belangrijk hulpmiddel bij het bepalen van de juiste medicatie en de juiste dosering. Bij psychofarmaca als imipramine, desimipramine, nortriptyline, amitriptyline en clomipramine bijvoorbeeld, waarbij een nauwe relatie tussen spiegel en effect is aangetoond (38), dient de dosis bij patiënten met een deficiëntie van CYP2D6-enzym-activiteit lager te zijn dan bij normale metaboliseerders om toxische effecten zoals het serotoninesyndroom, dat veroorzaakt wordt door serotonerge hyperstimulatie (45), te voorkomen. Bij snelle metaboliseerders is juist een hogere dosis dan normaal nodig om een therapeutische serumspiegel te bereiken. Wanneer een geneesmiddel van het deficiënte enzym afhankelijk is voor de omzetting in actieve metabolieten doet het tegenovergestelde zich voor. Bij trage metaboliseerders moet het middel in hogere dosering worden toegediend, terwijl snelle metaboliseerders in dit geval risico lopen op toxiciteit en dus een lagere dosis dan normaal dienen te krijgen (8).

Methode

Voor het opsporen van het CYP2D6B-allel wordt exon 4 van het CYP2D6-gen, waarop zich de voor CYP2D6B kenmerkende mutatie bevindt, met geschikte primers geamplificeerd. Vervolgens wordt een digestie uitgevoerd met het restrictie-enzym BstNI. Dit enzym heeft in geval van CYP2D6B, dus wanneer G → A substitutie van basepaar 1934 heeft plaatsgevonden, géén knipplaats meer op het PCR-product. Na elektroforese van het digest kan aan de hand van het verkregen restrictieprofiel vastgesteld worden of bij de patiënt het CYP2D6B-allel, hetzij heterozygoot, hetzij homozygoot, aanwezig is (46). CYP2D6A en de puntmutatie op exon 5 van het CYP2C19-gen zijn op soortgelijke wijze te detecteren. Deletie van basepaar 2637 op exon 5, karakteristiek voor het CYP2D6A-allel, wordt aangetoond volgens de methode beschreven door Wolf et al. (47). Na amplificatie wordt gedigesteerd met het restrictie-enzym MspI, dat alléén op de CYP2D6A-mutant een extra knipplaats heeft. CYP2C19-genotypering wordt, met enige aanpassingen, uitgevoerd volgens DeMoraes et al. (29). Na PCR op exon 5 wordt geknipt met SmaI. Dit enzym heeft, wanneer de deficiëntie-veroorzakende G → A substitutie op het CYP2C19-gen aanwezig is, geen knipplaats meer.

Wanneer sprake is van een CYP2D6D-allel, waarbij het gehele coderende gebied voor CYP2D6 afwezig is, zal PCR met de primerparen, die gebruikt worden om CYP2D6A of CYP2D6B op te sporen, geen product geven. Met behulp van restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyse kan de aanwezigheid van CYP2D6D worden bevestigd. Voor het aantonen van een gedupliceerd of gemultipliceerd CYP2D6-gen, dat tot verhoogde CYP2D6-activiteit en dus versneld geneesmiddelmetabolisme leidt, is RFLP-analyse eveneens noodzakelijk (16,27).

Conclusie

De cytochroom-P450 enzymen CYP2D6 en CYP2C19 zijn betrokken bij het metabolisme en de eliminatie van een groot aantal veel toegepaste geneesmiddelen.

Beide enzymen zijn genetisch polymorf, waardoor hun activiteit van persoon tot persoon kan verschillen. Daarnaast zijn diverse externe factoren van invloed op de activiteit van de enzymen. Deze inter-individuele variatie in enzymactiviteit kan ertoe leiden dat met een bepaalde dosis van een geneesmiddel niet bij iedereen hetzelfde effect wordt bereikt, met name wanneer het relatieve belang van de enzymen in het totale eliminatieproces van het middel groot is en wanneer het middel een geringe therapeutische breedte heeft.

Om de kans op bijwerkingen of het uitblijven van therapeutische respons te minimaliseren zou bij iedere patiënt standaard vòòr aanvang van de therapie het genotype van CYP2D6 en CYP2C19 moeten worden bepaald. De meest voorkomende nul-allelen van CYP2D6 en CYP2C19 zijn relatief eenvoudig op te sporen. Wanneer van tevoren bekend is of bij iemand een bepaalde enzymdeficiëntie aanwezig is, kunnen meteen bij het begin van de behandeling de keuze van psychofarmaca en de dosering zodanig worden aangepast, dat de kans op een positief klinisch effect maximaal is. Daarnaast moet rekening worden gehouden met de mogelijke effecten van comedicatie. Tenslotte kan regelmatige controle van de serumspiegel van geneesmiddelen, naast klinische evaluatie uiteraard, als hulpmiddel dienen voor het optimaliseren van een individuele therapie.

Literatuur

- Faber ED. Cytochrom-P450-isoenzymen. *Pharm Sel* 1995; 11: 73-77.
- Nebert DW, Nelson DR, Coon MJ, et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA Cell Biol* 1991; 10: 1-14.
- Murray M. P450-enzymes: Inhibition mechanisms, genetic regulation and effects of liver disease. *Clin Pharmacokin* 1992; 23: 132-146.
- Gonzalez FJ, Idle JR. Pharmacogenetic phenotyping and genotyping. *Clin Pharmacokin* 1994; 26: 59-70.
- Cholerton S, Daly AK, Idle JR. The role of individual human cytochromes P450 in drug metabolism and clinical response. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 434-439.
- Dahl ML, Bertilsson L. Genetically variable metabolism of antidepressants and neuroleptic drugs in man. *Pharmacogenetics* 1993; 3: 61-70.
- Daly AK, Cholerton S, Gregory W, Idle JR. Metabolic polymorphisms. *Pharmac Ther* 1993; 57: 129-160.
- Brockmøller J, Roots I. Assessment of liver metabolic function. *Clin Pharmacokin* 1994; 27: 216-248.
- Coutts RT. Polymorphism in the metabolism of drugs, including antidepressant drugs: comments on phenotyping. *J Psychiatr Neurosci* 1994; 19: 30-44.
- May DG. Genetic differences in drug disposition. *J Clin Pharmacol* 1994; 34: 881-897.
- Kroemer HK, Eichelbaum M. Molecular bases and clinical consequences of genetic cytochrome P450 2D6 polymorphism. *Life Sciences* 1995; 56: 2285-2298.
- Nemeroff CB, DeVane CL, Pollock BG. Newer antidepressants and the cytochrome P450 system. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 311-320.
- Weide J van der, Steijns LSW, Kuipers T. Klinisch effect van genetisch bepaalde variatie in geneesmiddelmetabolisme. Submitted.
- Maghoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man. *Lancet* 1977; 2: 584-586.
- Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzales FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D6) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 889-904.
- Johansson I, Lundqvist E, Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11825-11829.
- Kagimoto M, Heim M, Kagimoto K, Zeugin T, Meyer UA. Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine: study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J Biol Chem* 1990; 265: 17209-17214.
- Gough AC, Miles JS, Spurr NK, et al. Identification of the primary gene defect at the cytochrome P450 CYP2D locus. *Nature* 1990; 347: 773-776.
- Gaedigk A, Blum M, Gaedigk R, Eichelbaum M, Meyer UA. Deletion of the entire cytochrome P450 CYP2D6 gene as a cause of impaired drug metabolism in poor metabolizers of the debrisoquine/sparteine polymorphism. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 943-950.
- Evert B, Griese EU, Eichelbaum M. A missense mutation in exon 6 of the CYP2D6 gene leading to a histidine 324 to proline exchange is associated with the poor metabolizer phenotype of sparteine. *Naunyn - Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1994; 350: 434-439.
- Saxena R, Shaw GL, Relling MV, et al. Identification of a new variant CYP2D6 allele with a single base deletion in exon 3 and its association with the poor metabolizer phenotype. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 923-926.
- Tyndale R, Aoyama T, Broly F, et al. Identification of a new variant CYP2D6 allele lacking the codon encoding Lys-281: possible association with the poor metabolizer phenotype. *Pharmacogenet* 1991; 1: 26-32.
- Yokota H, Tamura A, Furuya H, et al. Evidence for a new variant CYP2D6 allele CYP2D6J in a Japanese population associated with lower in vivo rates of sparteine metabolism. *Pharmacogenet* 1993; 3: 256-263.
- Wang SL, Huang JD, Lai MD, Liu BH, Lai ML. Molecular basis of genetic variation in debrisoquine-hydroxylation in Chinese subjects: polymorphism in RFLP and DNA sequence of CYP2D6. *Pharmacol Ter* 1993; 53: 410-418.
- Johansson I, Oscarson M, Yue QY, Bertilsson L, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M. Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: characterization of variant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation. *Mol Pharmacol* 1994; 46: 452-459.
- Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, et al. Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquine and S-mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 1992; 51: 388-397.
- Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, et al. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet* 1993; 341: 63.
- Agundez JAG, Ledesma MC, Ladero JM, Benitez J. Prevalence of CYP2D6 geneduplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 265-269.
- DeMoraes SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 1994; 269: 15419-15422.
- Batt AM, Magdalou J, Vincent-Viry M, et al. Drug metabolizing enzymes related to laboratory medicine: cytochromes P-450 and UDP-glucuronosyltransferases. *Clin Chim Acta* 1994; 226: 171-190.

31. Daly AK, Cholerton S, Armstrong M, Idle JR. Genotyping for polymorphisms in xenobiotic metabolism as a predictor of disease susceptibility. *Environ Health Perspect* 1994; 9P: 55-61.
32. Ingelman-Sundberg M, Johansson I, Yin H, et al. Ethanol-inducible cytochrome P4502E1: genetic polymorphism, regulation and possible role in the etiology of alcohol-induced liver disease. *Alcohol* 1993; 10: 447-452.
33. Jerling M, Bertilsson L, Sjöqvist F. The use of therapeutic drug monitoring data to document kinetic drug interactions: an example with amitriptyline and nortriptyline. *Ther Drug Monit* 1994; 16: 1-12.
34. Skjelbo E, Brosen K. Inhibitors of imipramine metabolism by human liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol* 1992; 34: 256-261.
35. Preskorn SH, Beber JH, Faul JC, Hirschfeld RMA. Serious adverse effects of combining fluoxetine and tricyclic antidepressants. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 532.
36. Gram LF. Fluoxetine. *N Engl J Med* 1994; 331:1354-1361.
37. Meyer UA, Amrein R, Balant LP, et al. Antidepressants and drug-metabolizing enzymes - expert group report. *Acta Psychiatr Scand* 1996; 93: 71-79.
38. Moleman P, Bruijn JA, Tulen JHM. Het nut van bepaling van bloedspiegels van antidepressiva in de klinische praktijk. *Tijdschr Psychiatr* 1996; 38: 16-29.
39. Verhoeven WMA, Noten JBG, Tuinier S, Schendel FME van. Het serotoninesyndroom; een miskende complicatie van antidepressiva. *Ned Tijdschr Geneesk* 1995; 139: 2073-2075.
40. Goff DC, Baldessarini RJ. Drug interactions with antipsychotic agents. *J Clin Psychopharmacol* 1993; 13: 57-67.
41. Vainer JL, Chouinard G. Interaction between caffeine and clozapine. *J Clin Psychopharmacol* 1994; 14: 284-285.
42. Carillo JA, Jerling M, Bertilsson L. Comments to "Interaction between caffeine and clozapine". *J Clin Psychopharmacol* 1995; 15: 376-377.
43. Kall M, Vang O, Andersen O, Clausen J. In vivo induction of human phase I and phase II enzymes by diet [abstract]. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 19A: 197.
44. Vries SE de. Transculturele verschillen in het gebruik van psychofarmaca. *COBO* 1994; 1: 20-24.
45. Sternbach H. The serotonin syndroom. *Am J Psychiatry* 1991; 148: 705-713.
46. Weide J van der, Leusink D. Opsporing van trage en snelle metaboliseerders van psychofarmaca met behulp van PCR. *Tijdschr NVKC* 1994; 19: 149-152.
47. Wolf CR, Moss JE, Miles JS, Gough AC, Spurr NK. Detection of debrisoquine hydroxylation phenotypes. *Lancet* 1990; 336: 1452-1453.

Summary

Cytochrome-P450 dependant drug metabolism. Weide J van der and Steijns LSW. Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 290-296.

The cytochrome-P450 (CYP) enzyme system is involved in the metabolism and elimination of numerous widely used drugs. The capacity of this system varies from one person to another, leading to variable drug excretion rates and intersubject differences in the final serum drug concentrations. Due to this, therapeutic response and side effects vary widely between patients treated with the same dose.

The intersubject variability in metabolic rate is merely determined by genetic factors. Some CYP enzymes including CYP2D6 and CYP2C19 are genetically polymorphic. Several mutant alleles causing impaired or increased enzyme activity have been described. Environmental factors such as smoking, diet, and co-administration of medications might also influence the CYP enzyme activity.

In this article the effects of both genetic and external factors on CYP enzyme activity, as well as their effect on effectiveness and side effects of drugs are discussed.

Keywords : cytochrome-P450 ; genetic polymorphism ; drug metabolism