

CYP2D6-genotypen in de Nederlandse populatie, bepaald met de Roche AmpliChip CYP450

R.H.N. van SCHAIK, M.A.C. van FESSEM, P.W. SCHENK en J. LINDEMANS

“Medicijnen op maat” is een term die steeds vaker wordt gebruikt om aan te geven dat niet iedere patiënt het beste af is met een standaard dosering van een bepaald geneesmiddel. Er bestaan interindividuele verschillen in capaciteit om geneesmiddelen te metaboliseren. Toch gaat de hedendaagse geneeskunde ervan uit, dat bij een bepaalde diagnose een behandeling met een standaard dosering van specifieke geneesmiddelen past. Soms wordt het gewicht (of lichaamsoppervlak) gebruikt als corrigerende factor. Het is bekend dat een gestoorde leverfunctie zal leiden tot een verstoring van geneesmiddelmetabolisme, waardoor aanpassing van dosering, of afzien van behandeling met bepaalde medicamenten, noodzakelijk is. Verder kan een vertraagd of versneld metabolisme van geneesmiddelen als gevolg van co-medicatie en/of dieet optreden: de activiteit van de enzymen verantwoordelijk voor de afbraak van geneesmiddelen kunnen worden geïnduceerd of juist geremd, of er kan sprake zijn van competitie van twee geneesmiddelen voor hetzelfde metaboliserende enzym, waardoor de snelheid van afbraak vertraagd kan zijn.

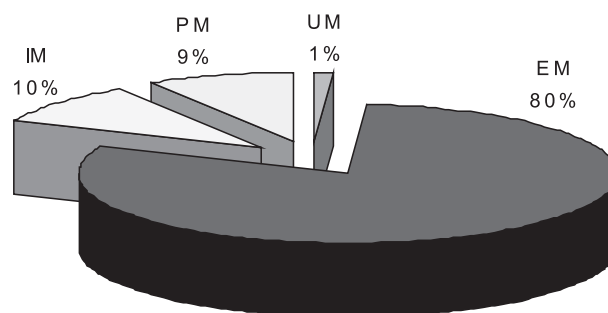
Een tot nu toe ondergewaardeerde factor is echter de genetische constitutie van de patiënt. Het arsenaal aan diverse enzymen die verantwoordelijk zijn voor de afbraak van toxische stoffen, waaronder medicatie, is niet bij iedereen in dezelfde mate aanwezig. Door polymorfismen in het DNA coderend voor deze enzymen heeft een deel van de bevolking een significant lagere, of soms juist een sterk verhoogde metaboliserende activiteit ten opzichte van het gemiddelde van de populatie. Het cytochroom P450 2D6 (CYP2D6) is betrokken bij de afbraak van ongeveer 25% van alle geneesmiddelen, waaronder antipsychotica, antidepressiva, anti-arritmica en beta-blokkers (1). Voor het CYP2D6 bestaan DNA-varianten die coderen voor enzymen die nauwelijks activiteit hebben (de ‘non-functional’ (NF) allelen), danwel een verlaagde activiteit (de ‘decreased function’ (DF) allelen). Ongeveer 5-10% van de Kaukasische bevolking blijkt door aanwezigheid van twee niet-functionele allelen een trage metaboliseerder (‘poor metaboliserer’; PM) te zijn voor CYP2D6, met een metaboliserende snelheid 100-1000x lager dan gemiddeld (extensive metabolisers; EMs). Deze PMs zullen op standaardregime

overdosering en bijwerkingen vertonen. Een groep van ongeveer 2% vertoont juist een hogere CYP2D6 activiteit door verdubbeling van het CYP2D6-gen (‘ultra rapid metabolisers’; UMs). Dit kan leiden tot problemen, zoals ernstige buikpijn bij gebruik van codeïne, als gevolg van de versnelde omzetting in morfine door het CYP2D6 (2). Anderzijds zullen deze patiënten lage geneesmiddelspiegels hebben door hun versnelde metabolisme, wat door de arts foutief geïnterpreteerd kan worden (3).

Om te bepalen of iemand een CYP2D6-PM is, danwel behoort tot de groep UMs, kan een genotypering worden uitgevoerd. Een belangrijk aspect bij de genetische analyse is echter dat de definitie van een actief allel (wild type; *1) een zogenaamde default-waarde is: bij de analyse voor alleen het *4-allel zal bij een negatieve uitslag de patiënt worden gekarakteriseerd als ‘*1/*1’, met als opmerking “past bij normaal metabolisme”. Het zal duidelijk zijn dat de uitslag ‘*1/*1’ een andere waarde heeft wanneer niet één, maar 25 variantallelen zijn onderzocht. De gegevens beschikbaar in de literatuur zijn gebaseerd op de analyse van minder dan 25 variantallelen (4). Met de komst van de AmpliChip CYP450 (Roche Diagnostics), is er een FDA-goedgekeurde test op de markt die snel en accuraat 25 variantallelen van het CYP2D6 kan analyseren, alsmede kan vaststellen of de patiënt een genverdubbeling heeft, en zo ja, welk gen dan verdubbeld is. Met deze DNA-chip kan >99,8% van de CYP2D6-PM’s worden opgespoord.

Materiaal en methoden

Van 91 Kaukasische bloeddonoren werd 250 ng genomisch DNA geïsoleerd met behulp van de



Figuur 1. Voorspeld CYP2D6-fenotype op basis van genotypering voor 25 CYP2D6-variantallelen in de Nederlandse Kaukasische bevolking (n=91).

Tabel 1. CYP2D6-genotype en voorspeld fenotype, op basis van analyse met de Roche AmpliChip P450 (interpretatie fenotype op basis van AmpliChip-CYP450-documentatie) (links) en de bijbehorende allelfrequenties (rechts). F='functional', DF='decreased functional', NF='non-functional', UEM='ultrarapid metaboliser', EM='extensive metaboliser', IM='intermediate metaboliser', PM='poor metaboliser'.

Genotype	Number	%	Alleles	Phenotype	Allele	Activity	Number	%	% in group
*1/*35XN	1	1%	F/F/F	UEM	1	F	63	35%	55%
*2/*41XN	1	1%	F/DF/DF	EM	2	F	37	20%	32%
*1/*1	9	10%	F/F	EM	25	F	0	0%	0%
*1/*2	17	19%	F/F	EM	26	F	0	0%	0%
*1/*35	7	8%	F/F	EM	30	F	0	0%	0%
*2/*2	3	3%	F/F	EM	31	F	0	0%	0%
*2/*35	4	4%	F/F	EM	35	F	15	8%	13%
*1/*10	3	3%	F/DF	EM	9	DF	2	1%	8%
*1/*41	7	8%	F/DF	EM	10	DF	6	3%	23%
*2/*41	4	4%	F/DF	EM	17	DF	0	0%	0%
*35/*41	1	1%	F/DF	EM	29	DF	0	0%	0%
*1/*4	7	8%	F/NF	EM	36	DF	0	0%	0%
*1/*5	3	3%	F/NF	EM	41	DF	18	10%	69%
*2/*4	3	3%	F/NF	EM	3	NF	0	0%	0%
*2/*5	2	2%	F/NF	EM	4	NF	32	18%	78%
*5/*35	1	1%	NF/F	EM	5	NF	9	5%	22%
*4/*35	1	1%	NF/F	EM	6	NF	0	0%	0%
*10/*41	1	1%	DF/DF	IM	7	NF	0	0%	0%
*4/*41XN	1	1%	NF/DF/DF	IM	8	NF	0	0%	0%
*4/*10	2	2%	NF/DF	IM	11	NF	0	0%	0%
*4/*41	3	3%	NF/DF	IM	14	NF	0	0%	0%
*4/*9	1	1%	NF/DF	IM	15	NF	0	0%	0%
*5/*9	1	1%	NF/DF	IM	19	NF	0	0%	0%
*4/*4	6	7%	NF/NF	PM	20	NF	0	0%	0%
*4/*5	2	2%	NF/NF	PM	40	NF	0	0%	0%

Magna Pure LC (Roche Diagnostics). Vervolgens werd geanalyseerd op de CYP2D6-functionele (F) allelen *1, *2, *25, *26, *30, *31, *35, de 'decreased-function' (DF-)allelen *9, *10, *17, *29, *36, *41, en de 'non-functional' (NF-)allelen *3, *4, *5, *6, *7, *8, *11, *14A, *15, *19, *20, *40, alsmede genduplicatie, met behulp van de AmpliChip CYP450 (Roche Diagnostics) gemeten op een Affymetrix Genescanner 3000 (Affymetrix). De analyse neemt twee werkdagen in beslag.

Resultaten

Op basis van deze uitgebreide analyse van 25 variantallelen van *CYP2D6* met behulp van de AmpliChip, bleek de Nederlandse Kaukasische populatie te bestaan uit 80% 'extensive metabolisers' (EMs; normaal metabolisme), 10% 'intermediate metabolisers' (IMs), 9% PMs en 1% UMs. Het meest frequente niet-functionele allel bleek het *CYP2D6**4 (allelfrequentie 18%). *CYP2D6**4 vertegenwoordigde 78% van de NF-allelen, de overige 22% werd gevormd door *CYP2D6**5. Van de DF-allelen kwam het *CYP2D6**41-allel het meeste voor (allelfrequentie 10%; 70% van alle DF-allelen). Voor het identificeren van IMs is analyse van *9, *10 en *41 van belang: bij het niet uitvoeren van deze analyses zal aan ongeveer 9% van de patiënten een te snel metabolisme worden toegekend. Voor de aanwezigheid van de genverdubbeling heeft analyse met de AmpliChip een duidelijke meerwaarde: van de 3 patiënten met een genverdubbeling bleek het in twee gevallen te gaan om verdubbeling van een DF-allel. Hierdoor wordt uiteindelijk slechts 1 van de 3 patiënten geïdentificeerd als een UM. De AmpliChip is tot nu toe de enige methode waarbij in geval van een genduplicatie, ook duidelijk

is welk gen is gedupliceerd. Bij indeling van de resultaten naar gendosering of activiteitsscore (AS) (als maat voor verwachte CYP2D6-activiteit: F=1, DF=0,5 en NF=0) is de verdeling in de Nederlandse populatie: AS>2 = 1%, AS 2= 41%, AS 1,5 = 15%, AS 1,0=19%, AS 0,5=7%, AS 0 = 9%.

Conclusie

CYP2D6-analyse met de AmpliChip CYP450 is een snelle manier om veel CYP2D6-variantallelen te detecteren. In de Nederlandse bevolking is op basis van CYP2D6-genotypering 9% een PM, 10% een IM en 1% een UM, waarbij met analyse van het *CYP2D6**4 (allelfrequentie 18%) en *CYP2D6**5 (allelfrequentie 5%) de meeste PMs kunnen worden detecteerd. Hierbij dient te worden opgemerkt, dat in de huidige studie-opzet allelen met een frequentie <0,5% niet worden gedetecteerd. Voor identificatie van UMs blijkt de chip een duidelijke meerwaarde te hebben boven de gangbare methoden, aangezien kan worden vastgesteld of een functioneel of niet-functioneel allel is geamplificeerd.

Literatuur

1. <http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm>
2. Dalen P, Frengell C, Dahl ML, Sjoqvist F. Quick onset of severe abdominal pain after codeine in an ultra rapid metabolizer of debrisoquine. *Drug Monit* 1997; 19: 543-544.
3. Eichelbaum M, Ingelman-Sunberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med* 2006; 57: 119-137.
4. Gaedigk A, Gotschall RR, Forbes NS, Simon SD, Kearns GL, Leeder JS. Optimization of cytochrome P4502D6 (*CYP2D6*) phenotype assignment using a genotyping algorithm based on allele frequency data. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 669-682.