

DNA-TESTS

Gendiagnostik für eine individualisierte Therapie



Alexander Foit, Ralf Weiner

Die personalisierte bzw. stratifizierte Medizin führt zunehmend zu einer Wandlung im Gesundheitssystem, in dem die individuell richtige und erfolgreiche Behandlung mehr und mehr in den Mittelpunkt rückt. Variationen im Erbgut beeinflussen die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Medikamenten. Jeder Mensch ist aufgrund seiner genetischen Veranlagung einzigartig. Wie aber soll der Arzt bei Behandlungsbeginn wissen, ob der Patient tatsächlich auf das in Erwägung gezogene Medikament anspricht und ob er dieses auch gut verträgt? DNA-Tests noch vor Beginn der Therapie können dem Arzt im Praxisalltag helfen, eine Prognose zu erstellen, ob und wie der Patient auf das Medikament reagiert. Die Konsequenzen einer derart personalisierten und stratifizierten Therapie bringen einen Richtungswechsel mit sich: weg von der Therapie einer Krankheit, hin zur Therapie eines Patienten mit seiner individuellen genetischen Ausstattung. Ziel dieses Fortbildungsmoduls ist es, die Grundlagen und Auswirkungen von DNA-Abweichungen auf die Arzneimittelwirkung darzustellen.



Kirsty/Pargeter - Fotolia

Nicht alle Menschen sprechen gleichermaßen gut auf ein und dasselbe Arzneimittel an. Randomisierte, kontrollierte klinische Studien machen zwar Aussagen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit des Arzneimittels in der jeweiligen Studienpopulation. Während die Mehrzahl der Patienten auf das Arzneimittel anspricht (Responder) gibt es in genügend großen Stichproben (wie z. B. im klinischen Alltag) immer auch einige wenige Patienten, bei denen die gewünschte therapeutische Wirkung entweder abgeschwächt ist oder komplett ausbleibt (partielle Responder oder Non-Responder). Andere Patienten hingegen entwickeln selbst bei korrekter Anwendung und korrekter Dosierung individuelle Überdosierungserscheinungen wie Unverträglichkeit bis hin zu einer klinisch relevanten Toxizität. Alleine im Bereich der Inneren Medizin versterben jährlich ca. 58 000 Patienten an den Folgen unerwünschter Arzneimittelwirkungen [1]. Ein Großteil davon könnte durch eine umsichtiger Therapieplanung vermieden werden. Der behandelnde Arzt identifiziert davon jedoch nur 6 % als arzneimittelinduzierte fatale Nebenwirkung [1].

Die Entwicklung schwerwiegender Nebenwirkungen ist u. a. durch Nichtbeachtung von Arzneimittelwechselwirkungen und mangelnde Berücksichtigung der individuellen Medikamentenverträglichkeit bedingt. Ein wichtiger Faktor ist der Einfluss der genetischen Disposition eines Patienten auf die individuelle Arzneimittelsicherheit und -wirksamkeit. Diese genetischen Unterschiede können therapierelevante Auswirkungen auf nahezu alle Wege des Arzneimittels im Körper haben – von seiner Metabolisierung über seinen Transport bis hin zur Bindung an die Zielstrukturen [2]. Arzneimittelunverträglichkeiten haben meistens ein genetisches Korrelat; sie können aber auch durch äußere Faktoren wie Nikotin, Nahrung oder Begleitmedikamente ausgelöst werden. Bisher gab es jedoch kaum Möglichkeiten, den Patienten mit seiner individuellen genetischen Ausstattung so in eine Therapie-

entscheidung mit einzubinden, wie es eigentlich nötig wäre.

Heute lassen sich mithilfe spezifischer molekulargenetischer Testverfahren konkrete Vorhersagen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit von Arzneimitteln treffen. Die Vorteile gezielter Tests liegen auf der Hand: Durch die Analyse des Genoms könnte man diejenigen Patienten identifizieren, die auch tatsächlich von einem Wirkstoff so profitieren, wie es die klinischen Studien nahelegen. Den übrigen Patienten könnte man unnötige Nebenwirkungen ersparen.

Die insgesamt 3,2 Milliarden Basenpaare der menschlichen DNA und die ca. 22 500 darauf kodierten Gene einschließlich ihrer vielen Polymorphismen sowie deren Auswirkungen sind seit der Entschlüsselung des menschlichen Ge-

Heute kann man mithilfe spezifischer Testverfahren konkrete Vorhersagen zur Wirkung von Medikamenten treffen.

noms im Rahmen des Human-Genom-Projektes bekannt. Zusammen mit dem immer besseren molekularen Verständnis von Krankheiten und Wirkmechanismen moderner Therapeutika lassen sich die molekulargenetischen Kenntnisse bei verschiedenen Krankheitsbildern für eine stratifizierte Medizin nutzen.

Einfluss genetischer Polymorphismen auf den Arzneistoffmetabolismus

Das menschliche Genom weist statistisch gesehen etwa alle 1 000 Basenpaare eine Variation auf und trägt somit ca. 3 Millionen sog. Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs = single nucleotide polymorphisms). Ein SNP ist eine Punkt-

→

TABELLE 1

Abhängig von der genetisch determinierten Aktivität der Enzyme des Cytochrom-P450-Systems lassen sich vier Metabolisierungstypen einteilen (nach [4]):

CYP-Phänotyp	Definition	Potenzielle Folgen nach Einnahme	
		einer aktiven Substanz	eines Prodrugs
Langsame Metabolisierer	Keine Enzymaktivität, zwei inaktive Allele	Reduzierte Metabolisierung, höhere Plasmaspiegel, vermehrte Nebenwirkungen	Reduzierte Umwandlung zum aktiven Metaboliten, geringeres bis kein Ansprechen
Intermediäre Metabolisierer	Verminderte Enzymaktivität, ein inaktives und ein aktives Allel oder zwei eingeschränkt aktive Allele	Ähnliche, aber schwächere Konsequenzen wie beim langsamen Metabolisierer	Ähnliche, aber schwächere Konsequenzen wie beim langsamen Metabolisierer
Extensive Metabolisierer	Normale Enzymaktivität, zwei aktive Allele	Normales Ansprechen auf die Standarddosis	Normales Ansprechen auf die Standarddosis
Ultraschnelle Metabolisierer	Sehr hohe Enzymaktivität, duplizierte aktive Allele	Verstärkte Metabolisierung, keine effektiven Plasmaspiegel bei Standarddosierung	Erhöhte Plasmaspiegel des aktiven Metaboliten, vermehrte Nebenwirkungen

mutation innerhalb eines Basenpaares der DNA. Auch die Gene, die für Enzyme des Cytochrom-P450 (CYP)-Systems, für Transportproteine oder für Rezeptoren kodieren, sind von SNPs betroffen [2]. Da die DNA den Bauplan für die Proteine (z. B. Enzym-, Transport- und Rezeptorproteine) trägt, können schon geringfügige Veränderungen in der Basenabfolge auf der DNA zu Veränderungen der Proteinstruktur und -funktion führen. Manche dieser genetischen Varianten können erhebliche klinische Konsequenzen haben – vor allem wenn Enzyme betroffen sind, die für Umbau, Transport und Entgiftung von Medikamenten benötigt werden. So bestimmen beispielsweise genetische Veränderungen in den Enzymen des CYP-Systems den individuellen Metabolisierungstyp (Tabelle 1) und beeinflussen die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Arzneimitteln beim individuellen Patienten und damit seine Prognose [3]. Auch die Aktivierung einer zunächst inaktiven Substanz (Prodrug) in den aktiven Metaboliten unterliegt dem Einfluss der Gene. Genetische Polymorphismen in Rezeptoren können die Ursache dafür sein, dass ein Medikament nicht mehr an seine Zielstruktur bindet und seine therapeutische Wirkung ausbleibt. Die Darstellung der genetischen Varianten

bildet somit die Grundlage der personalisierten Arzneimitteltherapie.

Nach dem derzeitigen Kenntnisstand sind vor allem die für die Verstoffwechslung von Arzneistoffen relevanten Isoenzyme CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 und CYP3A4/5 von genetischen Polymorphismen betroffen [4]. Bei jedem dieser drei Enzyme sind mehrere Mutationen bekannt, welche die Funktion des exprimierten Enzyms massiv reduzieren. Über CYP2D6 werden etwa 15 bis 25 % aller Arzneimittel me-

Genetische Veränderungen der Enzyme des Cytochrom-P450-Systems beeinflussen die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Medikamenten.

tabolisiert, einschließlich vieler Antidepressiva und Antipsychotika, Tamoxifen, mancher Antipsychotika, Opioidanalgetika und Betablocker (Tabelle 2). Mehr als 50 % aller Arzneimittel werden über CYP3A4/5 verstoffwechselt [4]. Polymorphismen in den Genen der CYP-Enzyme bewirken einen verlangsamten oder beschleunigten Substratmetabolismus, wodurch es zu Unterschieden in der Wirksamkeit und Verträglichkeit von Medikamenten kommen kann, die über diese Enzyme verstoffwechselt werden. Ob phänotypisch eine mittelschwach verminderte (intermediärer Metabolisierer) oder eine stark verminderte Enzymaktivität (langsamer Metabolisierer) vorliegt, hängt von der Kombination funktionseingeschränkter Genkopien ab und davon, ob ein oder zwei Genkopien, also Hetero- oder Homozygotie –, vorhanden sind [4]. Zudem kann es durch eine Überexpression

TABELLE 2

Klinisch relevante Substrate von CYP2D6 (nach [23, 4])

Antiarrhythmika	Flecainid, Mexiletin, Spartein
Antidepressiva	Amitriptylin, Clomipramin, Doxepin, Fluoxetin, Fluvoxamin, Imipramin, Maprotilin, Mirtazapin, Nortriptylin, Opipramol, Trimipramin und Venlafaxin
Betablocker	Bufuralol, Carvedilol, Metoprolol, Propafenon, Propranolol, Timolol
Neuroleptika	Aripiprazol, Risperidon
Andere	Amphetamine (Ecstasy!), Codein, Debrisoquin, Donepezil, Oxycodon, Tamoxifen, Tramadol

aufgrund einer Genduplikation oder Strukturveränderung auch zu einer entgegengesetzten Situation kommen (Ultra Rapid Metabolizer). Diese Personen bauen Medikamente, die über das betroffene Enzym abgebaut werden, so schnell ab, dass sie eine geringe oder gar keine therapeutische Wirkung erzielen. Der Normalfall („Wildtyp“) ist der extensive Metabolisierer mit normaler Enzymaktivität: Bei diesen Personen liegt je ein Allel für ein aktives Enzym auf den beiden homologen Chromosomen vor [4]. Für das CYP2D6 gilt z. B., dass etwa 7 % der Kaukasier zum „Poor Metabolizer“-Typ und 5 % zum „Ultra-Rapid-Metabolizer“-Typ zählen [5]. Ein Patient kann für den einen Wirkstoff ein normaler Metabolisierer und für einen anderen ein langsamer Metabolisierer sein.

Während genetische Varianten der CYP-Enzyme sowie Varianten der in den Arzneimitteltransport involvierten Moleküle indirekt (über die Pharmakokinetik) die Wirksamkeit der Therapie beeinflussen, können Polymorphismen in den Zielmolekülen (z. B. Rezeptoren) die Wirksamkeit auf direktem Weg beeinflussen [2].

Klinische Auswirkungen von genetischen Polymorphismen

Welche klinisch-praktische Bedeutung die Erkennung einer verminderten Medikamentenverträglichkeit hat, wird an folgenden Beispielen deutlich: Der selektive Östrogenrezeptormodulator Tamoxifen, das Blutgerinnungsmittel Clopidogrel, die cholesterinsenkenden Statine sowie die meisten Antidepressiva unterliegen der Verstoffwechslung durch die Enzyme des Cytochrom-P450-Systems. Abhängig von dem individuellen genetischen Profil können Medikamente dieser Wirkstoffgruppen bei einem Teil der Patienten unzureichend wirken oder sogar unwirksam sein, während sie bei anderen Patienten schwere Nebenwirkungen auslösen und abgesetzt werden müssen.

Tamoxifen: Die meisten Patientinnen mit Mammakarzinom haben einen Östrogenrezeptor-positiven Tumor. Früher galt Tamoxifen als Mittel der Wahl für die adjuvante antihormonelle Therapie. Da bei vielen Patientinnen der gewünschte Effekt von Tamoxifen (Vermeidung von Rezidiven und verlängertes Überleben) geringer ausfällt als erwartet, werden als Therapiealternative häufig die nebenwirkungsträchtigeren Aromatasehemmer eingesetzt – entweder als Monotherapie oder als sequenzielle Kombinationstherapie. Dem in-

adäquaten Ansprechen können pharmakogenetische Ursachen zugrundeliegen: Tamoxifen ist ein Prodrug, das im Körper durch verschiedene Enzyme des Cytochrom-P450 (CYP)-Systems in den aktiven Metaboliten Endoxifen umgewandelt wird. Für die Umwandlung spielt das Isoenzym CYP2D6 eine entscheidende Rolle [6, 7]. Von CYP2D6 sind rund 100 verschiedene genetische Varianten bekannt, die eine verminderte oder fehlende Enzymaktivität aufweisen [8]. 16 dieser Genvarianten haben zur Folge, dass das für die Tamoxifen-Wirkung so wichtige CYP2D6-Enzym nur funktionseingeschränkt gebildet wird.

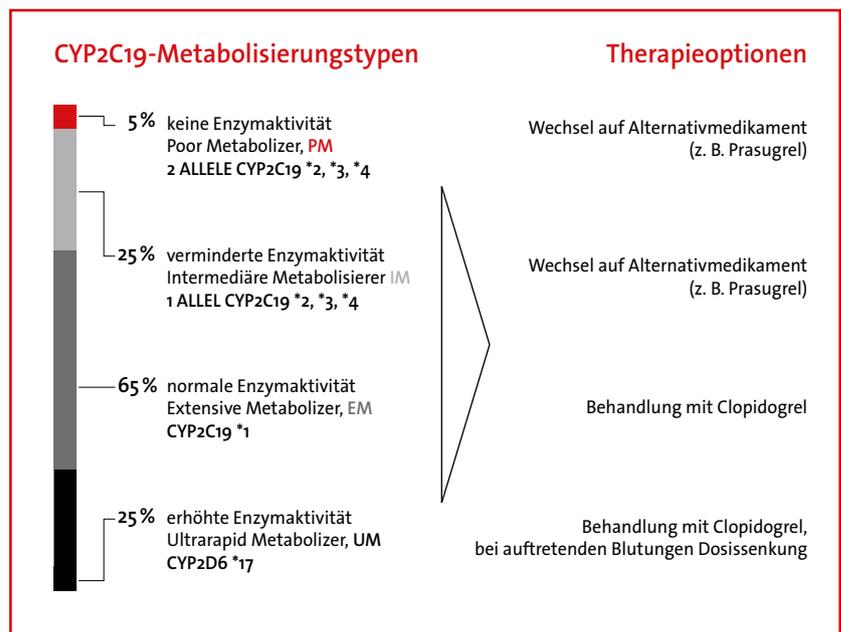


Abb. 1: Empfehlungen für den Einsatz von Clopidogrel basierend auf dem CYP2C19-Metabolisierungsstatus (mod. nach [12, 24, 25, 26, 27])

Rund 7 % der Frauen fehlt die Enzymfunktion komplett. Sie gehören zu den langsamen Metabolisierern und können das unwirksame Prodrug Tamoxifen nur schlecht in den aktiven Metaboliten umwandeln, so dass das Risiko eines Wirkverlustes besteht. Patienten mit fehlender Funktion des CYP2D6 haben eine um ca. 75 % verminderte

Für die Umwandlung des Prodrugs Tamoxifen in das aktive Endoxifen ist CYP2D6 wichtig.

Konzentration an Endoxifen im Vergleich zu Patienten mit normaler CYP2D6-Aktivität [8]. Das Rezidivrisiko ist im Vergleich zu Patientinnen mit normaler Enzymaktivität (extensive Metabolisierer) erhöht und die rezidivfreie Zeit verkürzt [9, 10]. Aufgrund der möglichen Auswirkungen von CYP2D6-Polymorphismen machte die US-ameri- →

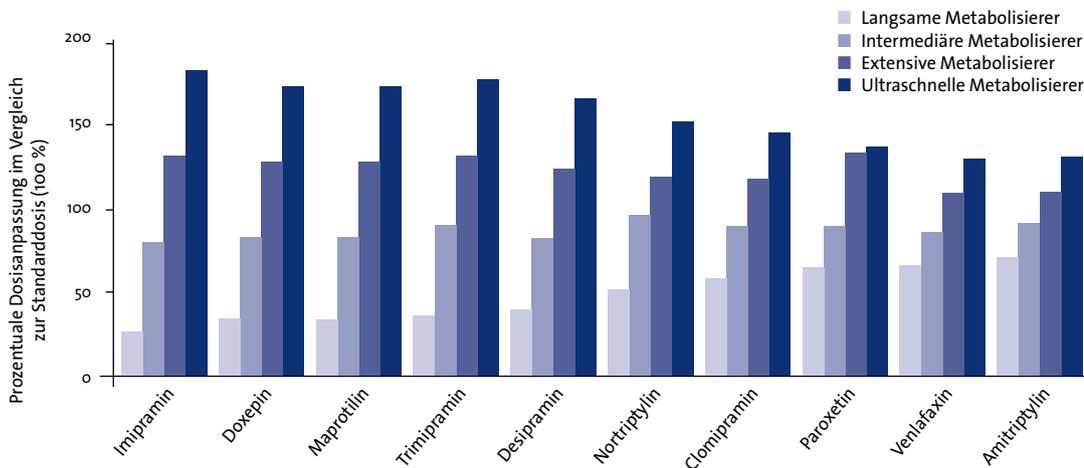


Abb. 2: Empfohlene Dosisanpassung antidepressiver Medikationen in Abhängigkeit vom Metabolisierungstyp des Patienten im CYP2D6 (mod. nach [23])

kanische Zulassungsbehörde FDA (Food and Drug Administration) schon im Jahr 2006 auf die Bedeutung des Metabolisierungsstatus für Brustkrebs-Patientinnen aufmerksam, bei denen eine Tamoxifen-Therapie erwogen wird [11].

Mithilfe von CYP2D6 wird auch eine Reihe anderer Arzneistoffe verstoffwechselt, z. B. Antidepressiva wie Paroxetin, Fluoxetin oder Amitriptylin oder starke Schmerzmittel wie Tramadol und Betablocker wie Metoprolol (Tabelle 2). Wird Tamoxifen zugleich mit einem starken CYP2D6-Inhibitor eingenommen, nimmt im Blut auch die Konzentration von Endoxifen ab, was die Wirksamkeit – unabhängig vom genetisch determinierten Metabolisierungstyp – reduziert und ein Risiko für Therapieversagen darstellt. So sinken die Endoxifen-Spiegel bei Komedikation mit potenten CYP-2D6-Inhibitoren ebenso wie bei Frauen mit fehlender CYP2D6-Aktivität um 75 % [8]. Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) wies in seinem Stufenplanbescheid vom 14.11.2012 ausdrücklich auf das Problem einer möglichen reduzierten Wirksamkeit von Tamoxifen aufgrund des Polymorphismus von CYP2D6 sowie auf Wechselwirkungen mit starken CYP2D6-Hemmern hin [8]. Bei Frauen mit einem verringerten CYP2D6-Stoffwechsel wird eine Tamoxifen-Therapie nicht empfohlen. Eine CYP2D6-Genotypisierung könnte somit helfen, Responder auf eine Tamoxifen-Therapie schon vor Therapiebeginn zu identifizieren.

Clopidogrel: Auch das Blutgerinnungsmittel Clopidogrel ist ein Prodrug. Es wird im Organismus in den aktiven Metaboliten, ein Thiolderivat, umgewandelt, wobei das Isoenzym CYP2C19 eine besondere Rolle spielt [4]. Daher haben Pa-

tienten mit verminderter Aktivität von CYP2C19 (intermediäre Metabolisierer) bzw. CYP2C19-defiziente Patienten (langsame Metabolisierer) ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse [12]. Mittels gezielter pharmakogenetischer Tests lässt sich feststellen, ob Clopidogrel überhaupt wirken kann oder ob sich ein anderer Gerinnungshemmer besser zur Vorbeugung von Herzinfarkt und Schlaganfall eignen würde. Eine Minderfunktion des Enzyms und eine Reduktion der antithrombozytären Wirkung von Clopidogrel kann allerdings auch bei normalen Metabolisierungstypen (extensiven Metabolisie-

Bei der Umwandlung des Prodrugs Clopidogrel in den aktiven Metaboliten spielt CYP2C19 eine wichtige Rolle.

ren) auftreten, wenn sie gleichzeitig CYP2C19-Inhibitoren einnehmen, wie z. B. Phenobarbital, Fluoxetin oder Omeprazol, die die Umwandlung in den aktiven Metaboliten hemmen [4]. Inzwischen enthält die Fachinformation von Clopidogrel entsprechende Hinweise auf das potenzielle Risiko einer verminderten Wirkung bei langsamen Metabolisierern und auf die Möglichkeit einer Bestimmung des CYP2C19-Genotyps [13, 14]. Die FDA warnt explizit vor Clopidogrel-Unwirksamkeit bei Trägern bestimmter Polymorphismen des CYP2C19-Gens [15]. Die European Society of Cardiology (ESC) verweist ebenfalls auf pharmakogenetische Tests, um Clopidogrel-Non-Responder rechtzeitig zu identifizieren [16]. Auch die Deutsche Gesellschaft für Kardiologie



ONLINE

Diesen Beitrag sowie die vollständige Literaturliste finden Sie auch unter

www.allgemeinarzt-online.de

(DGK) hebt hervor, dass die Wirkung der Substanz kritisch von der CYP2C19-Funktion abhängt [17]. Für die Therapie von Patienten mit nachgewiesenen CYP2C19-Polymorphismen gibt das Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) [18] konkrete Handlungsanweisungen (Abb. 1).

Statine: Die Wirksamkeit von Statinen in der Primär- und Sekundärprävention kardiovaskulärer Ereignisse ist umfassend belegt [19 – 21]. Statine hemmen das Enzym HMG-CoA-Reduktase und bremsen dadurch die körpereigene Cholesterinsynthese. Viele Patienten entwickeln unter der Behandlung jedoch Nebenwirkungen wie Myopathien, die Überdosierungserscheinungen gleichkommen und die Adhärenz beeinträchtigen können [22]. Die empfohlene Dosierung ist somit nicht für alle Patienten geeignet. Ursache für die individuell unterschiedliche Verträglichkeit sind ebenfalls Polymorphismen – u. a. in den Genen von Transportproteinen, die an der Resorption und Elimination der Statine beteiligt sind. Die verschiedenen Statine werden zum Teil über unterschiedliche Transportwege resorbiert und ausgeschieden. Das bedeutet, dass sich eine genetische Veränderung nicht bei jedem Statin gleich auswirken muss. Und auch das Ziel-Enzym HMG-CoA-Reduktase selbst unterliegt genetischen Variationen, die sich auf die cholesterinsenkende Wirkung der eingenommenen Statine auswirken. Bei betroffenen Patienten werden die gewünschten Cholesterinspiegel unter Standarddosierung meist nicht erreicht.

Antidepressiva: Auch die Wirkung vieler Antidepressiva zeigt eine ausgeprägte Abhängigkeit von Genvarianten. Die meisten Antidepressiva unterliegen einem komplexen Metabolismus durch ein oder mehrere Cytochrom-P450-Enzyme in der Leber. Eine Schlüsselrolle für den Abbau vieler Antidepressiva sind CYP2C19 und CYP2D6 [4, 23]. Im klinischen Alltag kommt es daher gerade zu Therapiebeginn immer wieder zu Über- oder Unterdosierungen bis hin zur völligen Wirkungslosigkeit bzw. Therapieresistenz. Wer auf welchen Wirkstoff anspricht und diesen auch gut verträgt, muss zuweilen ausprobiert werden. Die Dauer der Therapie- und Dosisfindung kann für einen schwer depressiven Patienten eine kritische Zeitverzögerung darstellen. Patienten, die in Bezug auf CYP2D6 langsame Metabolisierer sind, können Antidepressiva, die über dieses Enzym metabolisiert werden (vgl. Tabelle 2), akkumulieren. Um Ne-

benwirkungen zu vermeiden, muss entweder die Dosis reduziert oder der Wirkstoff gewechselt werden. Im Gegensatz dazu ist bei Patienten vom ultraschnellen Metabolisierungstyp eine Dosiserhöhung dieser Antidepressiva erforderlich (Abb. 2).

Pharmakogenetische Diagnostik zur Therapieoptimierung

Zur Vorhersage der Wirksamkeit und Verträglichkeit einer Arzneimitteltherapie kann im Vorfeld der Therapie eine pharmakogenetische Diagnostik durchgeführt werden. Nachdem ei-

Eine Schlüsselrolle für den Abbau vieler Antidepressiva spielen CYP2D6 und CYP2C19.

ne CYP450-Diagnostik früher nur mittels Gabe von Testsubstanzen und anschließender Dünnschicht-Chromatographie der mit dem Urin ausgeschiedenen Metaboliten möglich war, besteht seit einiger Zeit die Möglichkeit, beim einzelnen Patienten die maßgeblichen Mutationen per DNA-Test nachzuweisen.

Die Erkennung der infrage stehenden Genvarianten erfolgt durch Amplifikation und Sonden-Hybridisierung der aus Blutzellen extrahierten DNA. Es ist möglich, die Normalvarianten der betreffenden Sequenzabschnitte („Wildtyp“) und alle Varianten, die eine Über- oder Unterfunktion von P450-Enzymen begründen können, schnell und zuverlässig ausfindig zu machen. Durch die einmalige Bestimmung des Genotyps eines pharmakologisch relevanten Proteins erhält man eine Aussage mit lebenslanger Gültigkeit bezüglich des Metabolisierungstyps.

Ziel einer pharmakogenetischen Testung ist eine bessere Prädiktion der Arzneimittelwirkungen und -nebenwirkungen im individuellen Patienten, um so dem Arzt die rationale Wahl eines geeigneten Wirkstoffs und die optimale Dosierung zu erleichtern und potenzielle Unverträglichkeitsreaktionen zu vermeiden [2]. Hierdurch kann der behandelnde Arzt den Patienten auf den für ihn am besten geeigneten Wirkstoff in der passenden Dosierung einstellen oder sich für eine alternative Therapieoption entscheiden. →



Dr. med. Alexander Foit (Foto)

Facharzt für Neurologie und Psychiatrie
Facharzt für Physikalische und Rehabilitative Medizin, Sozialmedizin, Rehabilitationswesen und Verkehrsmedizin
78513 Radolfzell

Ralf Weiner

Diplom-Biologe
Humatrix AG
64319 Pfungstadt

INTERESSENKONFLIKTE:

Dr. Foit: keine deklariert,
R. Weiner: Die Humatrix AG ist Technologiepartner und durchführendes Labor der von STADA vertriebenen DNA-Tests.