

Arzneimittelsicherheit

Prädiktive Gendiagnostik in den Händen des Apothekers

Theo Dingermann und Ilse Zündorf, Frankfurt/Main / Nicht immer wirkt ein Medikament bei zwei Patienten gleich. Das kann am individuellen Krankheitsverlauf, am Zeitpunkt der Verabreichung oder an einer ungleichen Stoffwechsellage liegen. Der Grund kann aber auch eine unterschiedliche genetische Ausstattung – eine relevante Mutation – sein.

Nach der Beschreibung des kompletten menschlichen Genoms im Frühjahr 2001 ist bekannt, dass ein menschliches Genom aus etwa 3,2 Milliarden Basenpaaren besteht (12, 15). Damit enthält eine diploide menschliche Zelle etwa 6,5 Milliarden DNA-Bausteine, die in den 46 Chromosomen (23 Chromosomenpaaren) – 44 Autosomen und die beiden Gonosomen X und Y – kovalent miteinander verknüpft sind.

Mutationen, also Veränderungen in der DNA, treten im Schnitt bei jeder 1000. Base auf. Das ist eine gewaltige Frequenz, denn es bedeutet, dass circa 6,5 Millionen Bausteine variabel sind. Diese Mutationen hat man geerbt oder erworben, beispielsweise durch äußere Einflüsse wie Exposition mit radioaktiver Strahlung, UV-Strahlung, mutagenen Chemikalien oder nach Infektion mit bestimmten Viren. Viele, jedoch längst nicht alle Mutationen werden durch effektive Reparatursysteme korrigiert, so dass sich das Genom ein Leben lang leicht verändert. Ein Großteil dieser Variabilität ist entweder unschädlich, »ganz normal« oder gar von Vorteil.

○ Ein Teil der Variabilität ist unschädlich, weil nur etwa 1,1 Prozent des Genoms aus wirklich informativen Bereichen bestehen. Jede Mutation in den nicht informativen Bereichen ist biologisch neutral.

○ Andere Veränderungen sind »ganz normal«, weil sie sich in Genombereichen befinden, die dafür verantwortlich sind, dass sich Individuen in ihrem Aussehen unterscheiden.

○ Selten sind Mutationen sogar von Vorteil. So sind Menschen mit einem mutierten Gen für Thalassämien (inklusive der Sichelzellanämie) oder mit einer Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Defizienz besser vor Malariaerregern geschützt (11). Es sind auch Mutationen bekannt, die sehr effektiv vor einer HIV-Infektion schützen (7).

Somit muss nur ein relativ kleiner Rest der variablen Positionen als pathologisch oder potenziell pathologisch angesehen werden. Selbst wenn eine Mutation in einem Gen auftritt, kann der Defekt vielfach durch eine intakte Kopie dieses Gens (Allel) auf dem Partnerchromosom kompensiert werden. Allerdings erhöhen derartige Mutationen das Risiko, zu erkranken – dann, wenn auch das (noch) intakte Allel mutiert.

Man schätzt, dass bei 5 bis 10 Prozent aller Erkrankungen Veranlagungen, das heißt eine genetische Vorkonditionierung, eine entscheidende Rolle spielen. Dabei werden folgende Mutationen unterschieden (Abbildung 1):

- Genommutationen, zum Beispiel Chromosomenzahl-Anomalien (Aneuploidien),
- Chromosomenmutationen, zum Beispiel Amplifikationen, Deletionen (Mikroaneuploidien) oder Translokationen von Chromosomenteilen,
- Genmutationen, zum Beispiel Punktmutationen (single nucleotide polymorphism, SNP).

Krank durch Genvariationen

Auf Basis dieser Mutationstypen kann man fünf Arten genetischer Erkrankungen definieren.

Störungen in der Chromosomenzahl (Aneuploidien) spielen am Anfang des menschlichen Lebens eine entscheidende Rolle. 10 bis 15 Prozent aller festgestellten Schwangerschaften enden durch Spontanaborte. Bei etwa der Hälfte ist eine Chromosomenanomalie dafür verantwortlich, denn nur wenige dieser Störungen sind mit dem Leben vereinbar. In aller Regel ver-

Zum Thema „Prädiktive Gendiagnostik in den Händen des Apothekers: Werkzeuge für mehr Arzneimittelsicherheit“ hielt Professor Dr. Theo Dingermann am 12. Februar einen Vortrag beim Pharmacon in Davos.

ursachen sie schwere Krankheitsbilder. Beispiele sind die Trisomie 21, das Klinefelter-Syndrom (YXX) und das Turner-Syndrom (X). In erfahrenen Händen lassen sich derartige Mutationen in mehr als 90 Prozent der Fälle durch Ultraschalluntersuchungen oder durch Blutmarker während der Schwangerschaft identifizieren.

Sehr kleine, im Lichtmikroskop kaum noch erfassbare Chromosomenanomalien (Mikroaneuploidien) lassen sich mit Hilfe so genannter Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungen (FISH) und anderen Techniken identifizieren (18). Bei Mikroaneuploidien

sind immer mehrere Gene betroffen, wobei diese entweder deletiert (fehlend) oder (seltener) amplifiziert (vervielfältigt) sind. Fast immer führen diese Läsionen zur geistigen Behinderung. Beispiele sind das Prader-Willi- oder das Angelman-Syndrom, die durch Mikrodeletionen auf einem der beiden Chromosomen 15 verursacht werden. Erstaunlicherweise ist beim Prader-Willi-Syndrom immer das väterliche und beim Angelman-Syndrom immer das mütterliche Chromosom von der Mutation betroffen, was zeigt, dass selbst homologe Chromosomen durchaus funktionell unterschiedlich sind.

Zu den Chromosomenmutationen gehören auch Translokationen, bei denen Teile zweier Chromosomen ihre Plätze tauschen. Derartige Mutationen treten spontan oder auch durch Wirkstoffe wie Etoposid induziert auf und sind Ursache verschiedener Leukämie-Erkrankungen.

Monogenetische Krankheiten werden durch Mutationen, zum Teil durch Punktmutationen, in einem einzelnen Gen verursacht. Zu den bekanntesten gehören Hämophilien, die zystische Fibrose (Mukoviszidose), der erbliche Brust- oder Dickdarmkrebs.

Zu den multifaktoriellen Erkrankungen zählen unter anderem Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Schlaganfall, Diabetes, Krebs, Schizophrenie und Alzheimer, aber auch Fehlbildungen wie angeborene Herzfehler.

Mitochondriale Erkrankungen werden durch Mutationen im Erbgut der Mitochondrien verursacht. Da das menschliche mitochondriale Genom relativ klein ist, sind derartige Krankheiten selten. Beispielsweise führt die Lebersche hereditäre Opticus-Neuropathie (LHON) im frühen Erwachsenenalter zu Störungen des Sehnervs und in der Folge zur Erblindung (16). Da nicht alle Mitochondrien die Mutation tragen müssen (Heteroplasmie), ist diese nur schwer diagnostizierbar.

Die drei letztgenannten Erkrankungen lassen sich auf Genomebene nicht mehr strukturell durch Chromosomenanalyse nachweisen. Dafür benötigt man moderne molekulargenetische Methoden, darunter vor allem Chip-Analysen – sofern die zu Grunde liegenden Mutationen überhaupt bekannt sind.

Prinzip der Chip-Analyse

Mit Chip-Analysen werden zwei prinzipiell unterschiedliche Strategien verfolgt.

Zum einen wird der Expressionsstatus von Zellen und Geweben mit Hilfe von Biochips analysiert. Dies macht man zum Beispiel, um qualitative Unterschiede in der Expression bestimmter Gene in pathologisch veränderten Zellen, zum Beispiel Krebszellen, im Vergleich zu gesunden Zellen festzustellen (17). Oder man versucht, Expressionsprodukte zu identifizieren, die

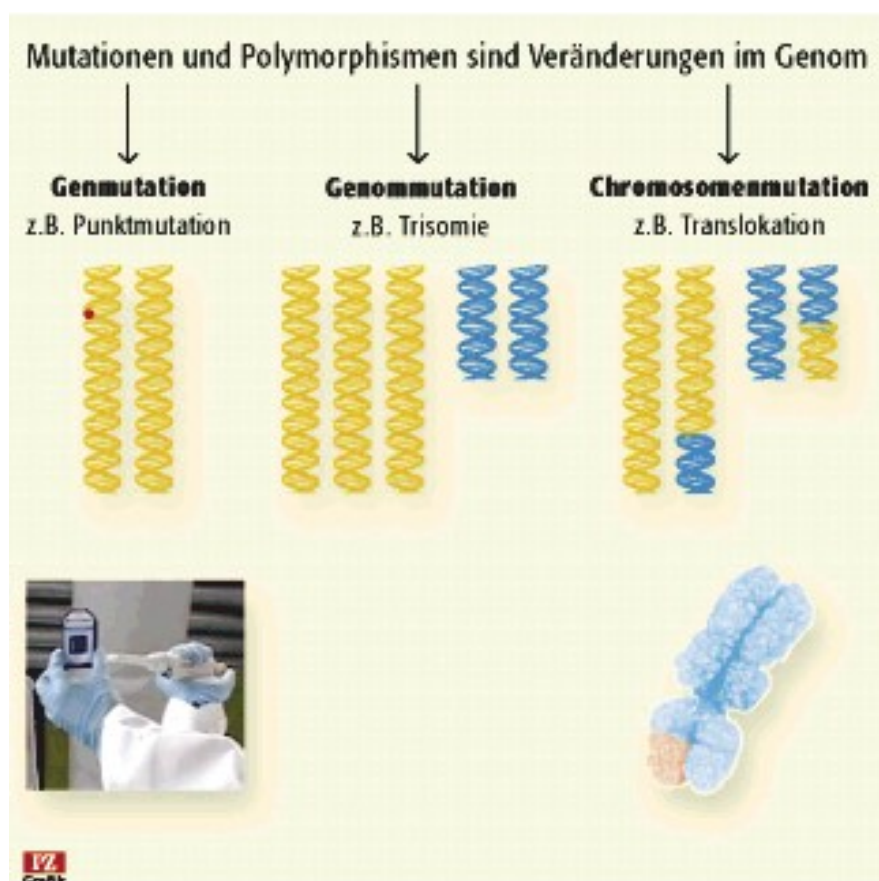


Abbildung 1: Mutationen und Polymorphismen im Genom

in einer gesunden Zelle gar nicht vorhanden sein sollten, und kommt damit zum Beispiel pathogenen Bakterien oder Viren auf die Spur (2). Schließlich kann man auch den Einfluss von Medikamenten auf das Expressionsmuster von Zellen und Geweben untersuchen (Pharmakogenomik) (5).

Zum anderen verwendet man Biochips zur Suche nach bestimmten Mutationen innerhalb von Genen. Dabei spielt das Expressionsverhalten eine untergeordnete Rolle. So kann man nach Mutationen su-

chen, die für die Entstehung von Krankheiten, zum Beispiel für Chorea Huntington, verantwortlich sind oder die als Krankheitsveranlagungen von Bedeutung sind, zum Beispiel Mutationen in den so genannten Brustkrebsgenen BRCA1 und BRCA2 (14). In der Pharmakogenetik werden Mutationen aufgespürt, die für die Wirksamkeit von Medikamenten eine Rolle spielen oder bei gleichzeitiger Einnahme mehrerer Medikamente Verträglichkeitsprobleme verursachen können (6).

Die Analysen werden auf einem Chip durchgeführt, dessen Reaktionsfeld etwa die Größe eines Daumnagels besitzt. Insgesamt ist er ungefähr so groß wie ein Objektträger (Abbildung 2).

Expressionsstudien werden mit Biochips durchgeführt, an die sehr große einzelsträngige DNA-Fragmente, meist in Form von cDNAs (c: copy) fixiert sind (Abbildung 3, links). Dies sind DNA-Abschriften von mRNAs, was zweierlei Vorteile bietet. Zum einen werden nur Genombereiche auf dem Chip fixiert, die auch für Proteine kodieren, und zum anderen verwendet man die deutlich stabilere DNA anstatt der extrem labilen RNA.

Für Mutationsanalysen verwendet man hingegen Chips, auf denen 25 bis 30 Basen lange DNA-Oligonukleotide fixiert sind (Abbildung 3, rechts). Sie enthalten eine Vielzahl von Genteilsequenzen, die an bestimmten Positionen bekannte oder vermutete Mutationen tragen. Die Oligonu-



Abbildung 2: Im Bereich der Pharmakotoxikologie ist der AmpliChip® CYP450-Test bisher der einzige kommerziell verfügbare Chip. Foto: Roche

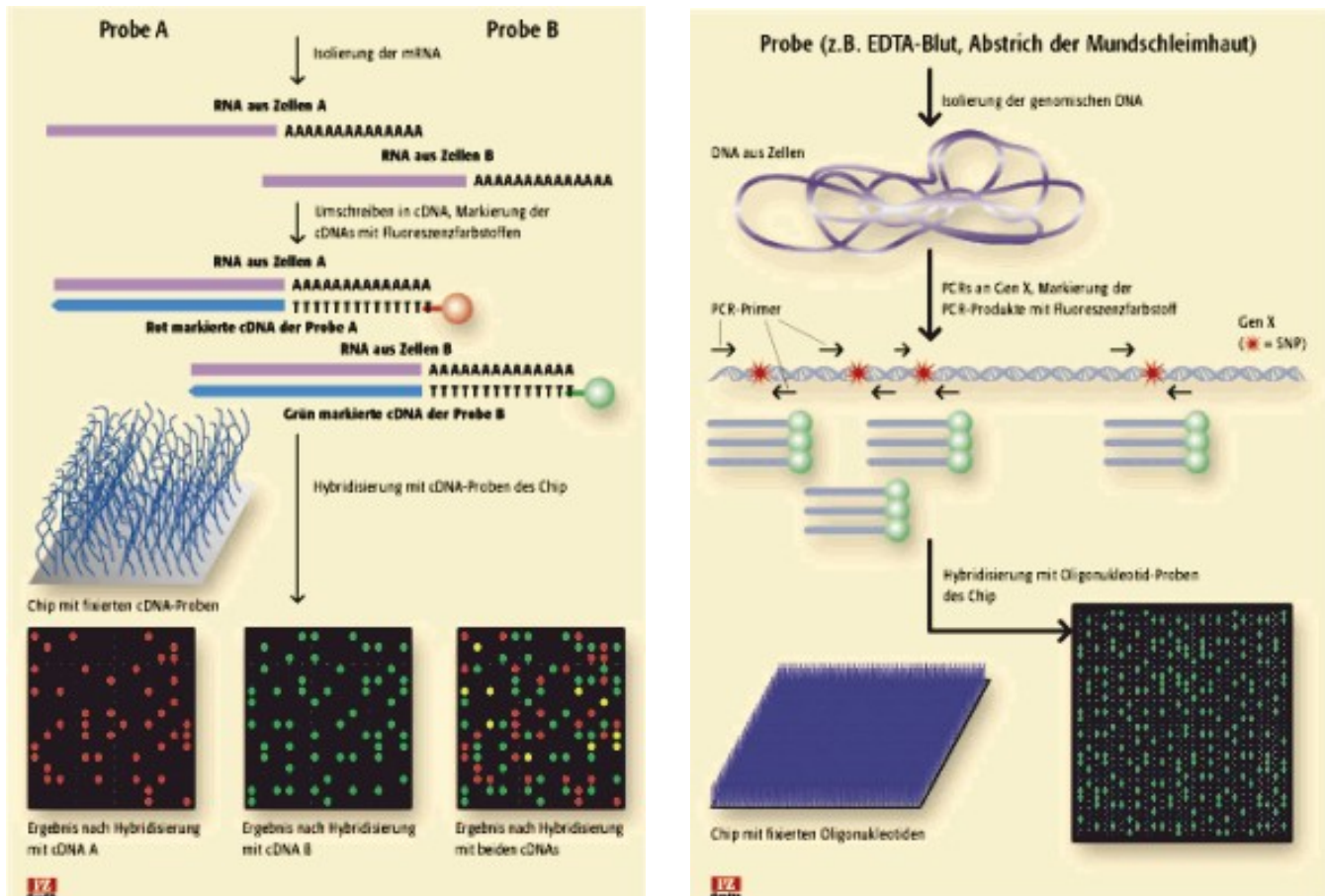


Abbildung 3: Prinzip der Expressionsanalyse (links) und der Mutationsanalyse (rechts, Erklärung siehe Text)

kleotide werden in einem komplexen Verfahren direkt auf den Chip synthetisiert. Bis zu 300 000 einzelne DNA-Sonden haben auf einem Chip Platz.

Als Probe wird immer DNA verwendet, die mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion amplifiziert wurde, um ausreichende Mengen für einen empfindlichen Nachweis zu haben. Die Amplifikation erfolgt entweder an mRNA (bei der Expressionsanalytik) oder an genomischer DNA (bei der Mutationsanalytik). Ausgangsmaterialien sind in der Regel Blut- oder Gewebezellen. Die Proben-DNA wird mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert, um das Testergebnis automatisch auslesen zu können. Bei Expressionsvergleichsanalysen werden für die zu vergleichenden Proben zwei verschiedene Farbstoffe verwendet. Man kann die beiden cDNA-Proben mischen und gemeinsam mit den Sonden auf dem Chip hybridisieren. Man erhält beispielsweise grüne oder rote Signalpunkte, wenn ein Gen nur in einer der beiden Zelltypen exprimiert wird, oder einen gelben Mischfarbepunkt, wenn die mRNA in beiden Zelltypen vorhanden war.

Diagnostik als Problem

Die modernen Analyseverfahren eröffnen neue Optionen für die Diagnostik, werfen aber auch neue Fragen auf. Wurde Diagnostik bisher als Verfahren zur Erhärtung einer Krankheitsvermutung gesehen, die

unverzichtbar ist, um angemessene therapeutische Maßnahmen einzuleiten, ist sie dank der kumulierenden Datenmenge mehr und mehr in der Lage, bedenkliche Zustände im Vorfeld einer Krankheit oder einer Therapie aufzudecken. Dies wird als prädiktive Diagnostik bezeichnet.

► Ein prädiktiver Test zielt darauf ab, genetische Veränderungen (Mutationen) zu identifizieren, die sich nicht unmittelbar, sondern zukünftig auswirken können. Entweder kommt es wegen der Genommutation zu einem späteren Zeitpunkt mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit zu einer Krankheit, zum Beispiel im Fall einer Chorea Huntington (prädiktiv-deterministische Diagnostik), oder das Eintreten einer bestimmten Krankheit, zum Beispiel von familiärem Brustkrebs oder Morbus Alzheimer, wird zu einem bestimmten Grad wahrscheinlicher als das normalerweise der Fall wäre (prädiktiv-problematische Diagnostik).

Gentests – vor allem, wenn sie als prädiktive Tests angelegt sind – beruhen meist auf dem Nachweis von Polymorphismen (Abbildung 3, rechts). Dies sind relativ »unscheinbare« Mutationen, die oft nur durch den Austausch einer einzelnen Base an einer bestimmten Stelle der DNA entstehen. Aus technischer Sicht sind solche Nachweisverfahren inzwischen unproblematisch. Sie sind äußerst effizient, wenn auch nicht gerade kostengünstig. Sehr viel schwieriger

sind dagegen die zuverlässige Interpretation der Daten und ein angemessenes Testdesign. Bei der Dateninterpretation stehen drei Fragen in Vordergrund:

- Wie relevant ist ein bestimmter Polymorphismus für ein mögliches Krankheitsbild?
- Wie wahrscheinlich ist das Eintreten der Krankheit auf der Basis des detektierten molekularen Risikos?
- Ist die Gesellschaft bereit, die Kosten einer präventiven Therapie gesunder Menschen zu übernehmen, wenn dadurch ein detektiertes Risiko reduziert wird?

Zur ersten Frage ist zu sagen, dass weitaus mehr Polymorphismen entdeckt als deren physiologische und pathophysiologische Bedeutung aufgeklärt werden. Während dieses Problem sicherlich lösbar ist, wird es bezüglich der zweiten Frage für die Betroffenen sicher nie gänzlich zufrieden stellende Antworten geben. Denn die detektierte Mutation lässt lediglich auf eine erhöhte Wahrscheinlichkeit eines unerwünschten Ereignisses schließen, quantifiziert diese aber kaum. Die Frage, ob die Gesellschaft letztlich bereit und in der Lage ist, auf der Basis einer Risikoanalyse auch die Therapie von »Gesunden« zu bezahlen, ist noch völlig offen.

Die Wahrnehmung der prädiktiven Diagnostik als Problemfeld im modernen Gesundheitsmanagement birgt die Gefahr, dass Diagnostik generell als Problem

gesehen wird. Dieser Entwicklung kann nur mit einem ständigen kritischen Dialog begegnet werden.

Mehr Arzneimittelsicherheit

Dass prädiktive oder besser gesagt »vorsorgliche« Gendiagnostik auch offensichtlichen Nutzen bieten kann, zeigt sich im Bereich der Pharmakotoxikologie. Durch eine möglichst umfassende Typisierung des Metabolisierungsinventars eines Menschen ließen sich vermutlich viele Probleme bei der individuellen Arzneimittelwirksamkeit und -verträglichkeit weitgehend vermeiden, so dass die prädiktive Gendiagnostik hier einen Gewinn für die Volksgesundheit böte.

Bei dieser Diagnostik wird der Mutationsstatus von Genen analysiert, deren Produkte Zielstrukturen von Arzneistoffen darstellen oder bei der Aufnahme und Metabolisierung der Wirkstoffe eine wichtige Rolle spielen. Man kann sich leicht vorstellen, dass Arzneistoffe nicht wirken können, wenn ihre Bindestelle, zum Beispiel ein Rezeptor oder Ionenkanal, durch eine Mutation so verändert ist, dass eine spezifische Interaktion bei der üblichen Wirkstoffkonzentration nicht stattfinden kann. Ebenso können erhebliche Probleme auftreten, wenn Medikamente wesentlich schneller oder langsamer verstoffwechselt werden als »normal«, deren Dosis aber nicht angepasst wird.

Mit dem AmpliChip® CYP450-Test steht erstmals ein Verfahren zur Verfügung, das es ermöglicht, Polymorphismen des CYP2D6-Gens einschließlich Gendupli-

kationen und -deletionen sowie die wichtigen Polymorphismen des CYP2C19-Gens zu diagnostizieren (Abbildung 2). Daraus könnten Ärzte und Apotheker Konsequenzen bei einer Arzneimitteltherapie ziehen.

► Da Apothekerinnen und Apotheker in unserer Gesellschaft für Arzneimittelwirksamkeit und -verträglichkeit und damit für den optimierten Einsatz von Medikamenten mitverantwortlich sind, sollten sie diese Möglichkeiten kennen und zu einer entsprechenden Diagnostik Zugang haben. Da es sich bei den Mutationen um ererbte Variationen handelt, die in jeder Zelle vorhanden und bei der Geburt schon ausgeprägt sind, kann der Test mit jeder beliebigen Zelle und in jedem Alter durchgeführt werden; das Ergebnis gilt ein Leben lang.

Ein Test wird wie folgt durchgeführt (Abbildung 4):

○ Die Probe, eine normale EDTA-Blutprobe oder ein Abstrich der Mundschleimhaut, wird an ein qualifiziertes Labor versandt.

○ Genomische DNA wird isoliert; ausgewählte DNA-Segmente werden mit spezifischen Primern in einer Polymerasekettenreaktion amplifiziert (siehe Abbildung 3, rechts).

○ Die amplifizierten DNA-Segmente (PCR-Produkte) werden auf den Chip aufgetragen, der dann in eine spezielle Hybridisierungskammer eingesetzt wird. Dort kommt es zur Bindung zwischen den komplementären Basenpaaren der DNA-Fragmente der Probe und denen der Oligonukleotide auf dem Chip. Die Bedingungen sind so gewählt, dass nur »perfekte« Anla-

gerungen stabil sind und ein Signal ergeben.

○ Die auf dem Chip gebundenen DNA-Fragmente werden mit einem Fluoreszenzfarbstoff angefärbt.

○ Der Chip wird in ein Lesegerät eingesetzt und die Signale werden mit einer speziellen Software ausgewertet.

○ Die schriftliche Testauswertung zeigt, welche CYP2D6- und CYP2C19-Variationen vorhanden sind. Der Bericht gibt außerdem den durch Analyse der genetischen Variationen ermittelten prädiktiven Phänotyp an (langsamer, intermediärer, extensiver oder ultraschneller Metabolisierer für das CYP2D6-Gen beziehungsweise langsamer, intermediärer oder extensiver Metabolisierer für das CYP2C19-Gen).

○ Der Bericht wird dem Apotheker oder Arzt übermittelt, die auf der Basis des Ergebnisses eine wirksame und möglichst verträgliche Arzneimitteltherapie vorschlagen oder verordnen können.

Die CYP450-Genfamilie

Von den vielen Mitgliedern der Cytochrom-P450-Genfamilie sind einige für den Arzneimittelstoffwechsel besonders bedeutend. Am häufigsten kommt in der Leber das Enzym CYP3A4 vor. Es ist am Metabolismus von mehr Medikamenten beteiligt als die anderen Isoenzyme, wird jedoch eher durch Umweltfaktoren wie Ernährung und Begleitmedikation beeinflusst als durch erbliche Variationen. Daher ist eine genetische Diagnostik hier weniger indiziert.

Dagegen kommen bei den CYP2D6- und CYP2C19-Enzymen genetisch variante Isoformen vor, die für die individuelle Verträglichkeit und Wirksamkeit vieler Arzneistoffe eine Rolle spielen. Hier stellen sich die Fragen: Ist die Person bezüglich CYP2C19 ein langsamer, intermediärer oder extensiver Metabolisierer? Ist sie im Fall des CYP2D6 ein langsamer, intermediärer, extensiver oder ultraschneller Metabolisierer? Das Ergebnis eines entsprechenden Gentests beschreibt den so genannten prädiktiven Phänotyp (Tabelle 1).

○ Langsame Metabolisierer (poor metabolizers; PM) besitzen keine Genkopie, die für ein aktives CYP-Isoenzym codiert, das den Arzneistoff ab- oder umbaut. Nehmen sie aktive Wirkstoffe in einer Standarddosierung ein, werden die Patienten unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) verspüren, da eine individuell zu hohe Dosierung gewählt wurde. Werden jedoch Prodrugs in Standarddosierung verabreicht, bleiben Wirkungen aus, da das Prodrug nicht in den aktiven Wirkstoff umgewandelt wird.

○ Intermediäre Metabolisierer (intermediate metabolizers; IM) besitzen entweder zwei Genkopien, die für ein Enzym mit reduzierter Aktivität kodieren (homozygot

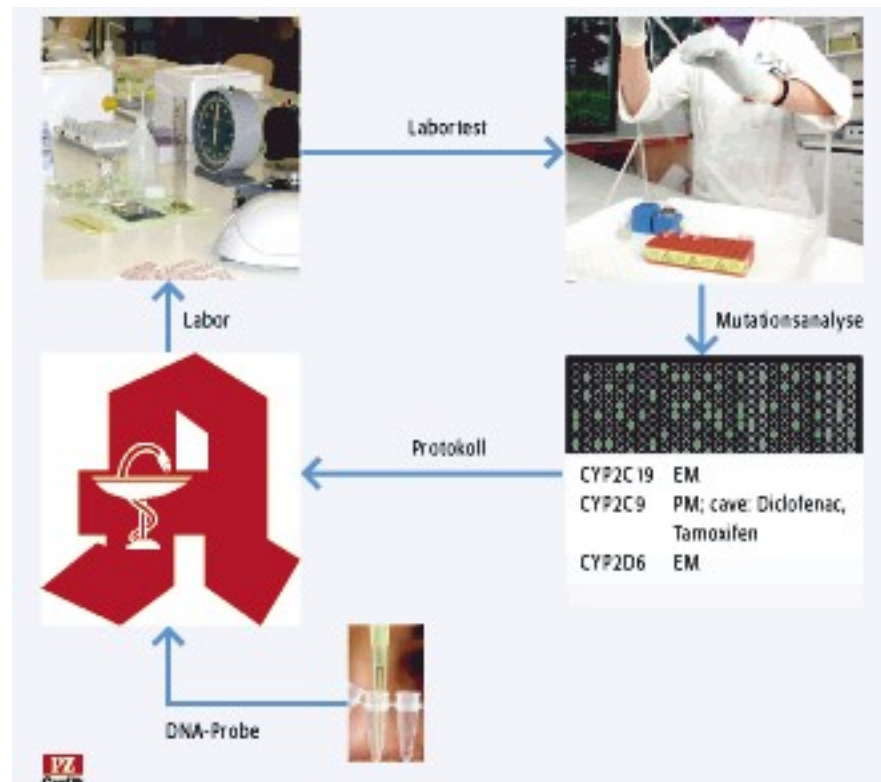


Abbildung 4: Möglicher Ablauf eines prädiktiven Tests

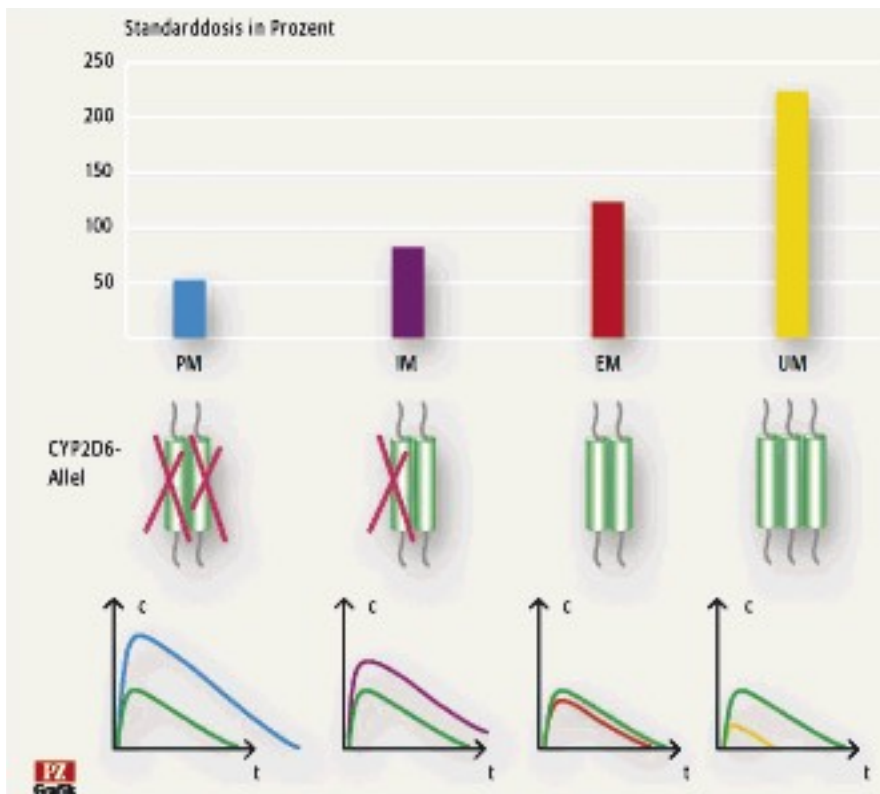


Abbildung 5: Konsequenzen aus der pharmakogenetischen Typisierung bezüglich der CYP2D6-Ausstattung eines Menschen.

Oben: Das Diagramm zeigt die benötigten Arzneistoffdosen für „poor“ (langsame, PM), intermediäre (IM), extensive (EM) und ultraschnelle (UM) Metabolisierer. Unten: Die Konzentrationszeit-Kurven zeigen, welche Arzneistoff-Plasmaspiegel bei Gabe der Standarddosierung erzielt werden (Normspiegel: grüne Kurve).

pro Zeiteinheit zu viel Prodrug in den aktiven Wirkstoff überführt wird und toxische Konzentrationen an aktivem Wirkstoff erreicht werden.

Je nach Phänotyp resultieren also der Norm entsprechende oder davon abweichende Wirkstoffspiegel im Serum, wenn die Patienten ein Medikament erhalten, das über CYP2D6 oder -2C19 metabolisiert wird. Bei langsamen, intermediären und ultraschnellen Metabolisierern sollte die Dosis angepasst werden (Abbildung 5).

Relevanz der CYP-Modifikationen

Man schätzt, dass 10 bis 30 Prozent aller stationären Krankenhauspatienten wegen unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW) eingeliefert wurden. In den USA liegen bei 6,7 Prozent dieser Fälle (2,2 Millionen) schwere Nebenwirkungen vor; jährlich sterben 100 000 Patienten daran. In Deutschland schätzt man die Zahl der Toten auf Grund von unerwünschten Arzneimittelwirkungen pro Jahr auf etwa 17 000.

Mit dem AmpliChip® CYP450-Test steht ein Verfahren zur Verfügung, das einen Einstieg in die Arzneimittel-bezogene Gendiagnostik ermöglicht. Dieser Chip unterscheidet zwischen 29 Polymorphismen des CYP2D6-Gens einschließlich der Genduplikationen und -deletionen sowie zwei der wichtigsten Polymorphismen des CYP2C19-Gens.

Die Relevanz dieser Isoenzyme erkennt man, wenn man sich vergegenwärtigt, dass beispielsweise der Anteil an ultraschnellen Metabolisierern für das CYP2D6-Gen auf durchschnittlich 3 Prozent (1 bis 5 Prozent) der kaukasischen Bevölkerung geschätzt wird. Die Zahl der ultraschnellen Metabolisierer soll in Europa immerhin mehr als 20 Millionen betragen. Weltweit betrachtet wird die Heterogenität für verschiedene CYP2D6-Allele noch deutlicher. Die Frequenz an langsamen Metabolisierern (PM) für CYP2D6 unter der kaukasischen Bevölkerung wird auf 10 bis 20 Prozent geschätzt. Bisher sind 15 Subtypen des

für diese defekte Variante) oder ein normales und ein mutiertes Allel (heterozygot für eine defekte Variante). Die Patienten werden ähnliche, aber weniger stark ausgeprägte Effekte verspüren wie langsame Metabolisierer.

○ Extensive Metabolisierer (extensive metabolizers; EM) sind homozygot für das Wildtyp-Allel (normale Allelform); es werden also voll funktionsfähige Proteine in physiologischer Menge gebildet. Sie kön-

nen die Effekte erwarten, die einer Standarddosis entsprechen.

○ Ultraschnelle Metabolisierer (ultra-rapid metabolizers; UM) besitzen mehr als zwei aktive Allele. Erhalten die Patienten einen aktiven Wirkstoff, bleibt die erwartete Wirkung aus, da der Arzneistoff so schnell metabolisiert wird, dass keine wirksamen Plasmaspiegel erreicht werden. Wird hingegen ein Prodrug verabreicht, werden die Patienten UAWs verspüren, da

CYP-Phänotyp	Definition	Mögliche Konsequenz bei Einnahme einer aktiven Substanz	Mögliche Konsequenz bei Einnahme eines Prodrugs
Langsame Metabolisierer (PM)	Keine Enzymaktivität, zwei inaktive Allele	Mehr Nebenwirkungen bei normaler Dosis, da reduzierter Metabolismus und erhöhte Plasmakonzentration	Kein Ansprechen auf die Therapie, da weniger aktiver Metabolit als erwartet
Intermediäre Metabolisierer (IM)	Verminderte Enzymaktivität, ein inaktives Allel oder zwei mutierte Allele	Ähnliche, aber abgeschwächte Konsequenzen wie bei PM	Ähnliche, aber abgeschwächte Konsequenzen wie bei PM
Extensive Metabolisierer (EM)	Normale Enzymaktivität, zwei Wildtyp-Allele	Erwartetes Ansprechen auf die Standarddosis	Erwartetes Ansprechen auf die Standarddosis
Ultraschnelle Metabolisierer (UM)	Sehr hohe Enzymaktivität, duplizierte aktive Allele	Wegen verstärktem Metabolismus werden therapeutische Plasmakonzentrationen mit der Standarddosis nicht erreicht	Mehr Nebenwirkungen bei der normalen Dosis, da erhöhte Plasmakonzentration des aktiven Metaboliten

Tabelle 1: Mögliche Konsequenzen des CYP-Phänotyps bei Gabe eines Arzneistoffs oder Prodrugs

Haupt-Alleltyp	Mutation	Konsequenz	Allelfrequenz (in Prozent der Bevölkerung)			
			Kaukasier	Asiaten	Schwarz-Afrikaner	Äthiopier und Saudis
CYP2D6*2xn	Genduplikation/ Multiduplikation	Gesteigerte Enzymaktivität	1 - 5	0 - 2	2	10 - 16
CYP2D6*4	Spleißdefekt	Inaktives Enzym	12 - 21	1	2	1 - 4
CYP2D6*5	Gendeletion	Kein Enzym	2 - 7	6	4	1 - 3
CYP2D6*10	P34S, S486T	Instabiles Enzym	1 - 2	51	6	3 - 9
CYP2D6*17	T107I, R296C, S486T	Veränderte Substrataffinität	0	0	20 - 35	3 - 9

Tabelle 2: Haupt-Allelvarianten für CYP2D6 und globale Verteilung dieser Allele; nach (8)

Gens bekannt, die den PM-Phänotyp hervorrufen können, wobei 75 Prozent der Träger dieses Phänotyps den Subtyp CYP2D6*4 homozygot aufweisen (Allelhäufigkeit unter Kaukasiern: 12 bis 21 Prozent). Als nächst häufigster Subtyp tritt mit 2 bis 7 Prozent CYP2D6*5 auf, bei dem das CYP2D6-Gen völlig fehlt (Totaldeletion) (Tabelle 2; 8).

Vom CYP2C19-Gen wurden bisher elf verschiedene Allele gefunden, von denen neun für inaktive Versionen des Enzyms kodieren. Das Wildtyp-Allel wird als CYP2C19*1 bezeichnet, alle weiteren Allele als CYP2C19*2 bis -*8. Alle Individuen, die ein (heterozygot) oder zwei (homozygot) Wildtyp-Allel(e) besitzen, werden als schnelle Metabolisierer (EM) eingestuft. Homozygotie für Defektallele ergeben den Phänotyp »langsamer Metabolisierer« (PM). Während nahezu 20 Prozent aller Asiaten den Phänotyp CYP2C19-PM besitzen, sind es unter Kaukasiern je nach Bevölkerungsgruppe lediglich 2 bis 5 Prozent.

Bei Asiaten sind die Allele CYP2C19*2 und -*3 zusammen für 100 Prozent der PM-Fälle verantwortlich. Bei Kaukasiern liegt das Allel CYP2C19*2 homozygot vor. Die Allele CYP2C19*3 bis -*8 kommen dagegen extrem selten vor. Für die übrigen 15 Prozent der CYP2C19-PM werden bisher noch unentdeckte Allele verantwortlich gemacht.

Die CYP2C19-Allele eines Patienten können den Erfolg einer medikamentösen Behandlung in hohem Maß beeinflussen. So hat zum Beispiel der Protonenpumpenhemmer Omeprazol bei Menschen mit PM-Phänotyp eine signifikant längere Halbwertszeit. Als Folge davon hatten Patienten, die bezüglich eines der defizienten Allele heterozygot sind, eine verbesserte Heilungsrate bei Helicobacter-pylori-Infektionen nach Omeprazol- und Antibiotika-Behandlung (60 Prozent gegenüber 28,6 Prozent). Bei Patienten mit zwei defizienten Allelen lag die Heilungsrate bei 100 Prozent. Dies zeigt, dass ein PM-Status keineswegs immer einen Nachteil bedeutet.

Mit CYP2D6 und CYP2C19 wurden für das »Design« des Chips zwei wichtige Enzyme gewählt, für die Genvariationen innerhalb und zwischen Ethnien gut dokumentiert sind. Außerdem sind viele wichtige Wirkstoffe Substrate dieser beiden Enzyme. So spielt das vom CYP2D6-Gen kodierte Enzym eine wichtige Rolle im Stoffwechsel von Arzneimitteln zur Behandlung von schweren Depressionen, Schizophrenie, kardiovaskulären Erkrankungen (Betablocker und Antiarrhythmika), Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung (ADHD) und anderen Erkrankungen (Tabelle 3). Das vom CYP2C19-Gen kodierte Enzym metabolisiert viele Antiepileptika, Protonenpumpenhemmer, Benzodiazepine und Malaria Mittel (Tabelle 4). Beide Enzyme sind am Stoffwechsel bestimmter trizyklischer Antidepressiva beteiligt.

Wünschenswert wäre es, den Chip möglichst bald um Isoformen des CYP2C9 zu erweitern. Bei diesem Cytochrom-Enzym sind neben dem Wildtyp-Allel CYP2C9*1 elf weitere Allele bekannt, CYP2C9*2 bis -*12. Die aus den mutanten Allelen CYP2C9*2 und -*3 resultierenden Proteine zeigen nur etwa 12 sowie 5 Prozent der enzymatischen Aktivität des Wildtypproteins. In der kaukasischen Bevölkerung sind etwa 19 Prozent heterozygot für die Allele CYP2C9*1/*2 und 3 Prozent homozygot CYP2C9*2/*2. Das Allel CYP2C9*3 ist etwas seltener: 15 Prozent der Bevölkerung sind heterozygot CYP2C9*1/*3 und nur etwa 1 Prozent homozygot CYP2C9*3/*3. Insgesamt wird der Anteil der langsamen Metabolisierer in der kaukasischen Bevölkerung auf 1 bis 3 Prozent geschätzt; die Liste der relevanten Substrate ist beachtlich (Tabelle 5).

Natürlich können auch genetische Polymorphismen in anderen Enzymen die Arzneimittelverträglichkeit entscheidend beeinflussen. Daher wäre es wünschenswert, wenn Sonden für solche Mutationen (3) auf dem Chip integriert würden, um teils schwere Arzneimittelunverträglichkeiten schon im Vorfeld einer Arztherapie zu erkennen und somit vermeiden zu können (Tabelle 6).

Schließlich könnte man auch Mutationen für Targetstrukturen in einen Chip aufnehmen. Dies wäre eine Annäherung an die

Arzneistoffgruppe	Beispiele
Betablocker	Carvedilol, S-Metoprolol, Propafenon, Timolol
Antidepressiva	Amitriptylin, Clomipramin, Desipramin, Imipramin, Paroxetin
Antipsychotika	Haloperidol, Perphenazin, Risperidon, Thioridazin
Andere	Aprenolol, Amphetamin, Aripiprazol, Atomoxetin, Bufuralol, Chlorpheniramin, Chlorpromazin, Codein, Debrisoquin, Dexfenfluramin, Dextromethorphan, Duloxetin, Encainid, Flecaïnid, Fluoxetin, Fluvoxamin, Lidocain, Metoclopramid, Methoxyamphetamin, Mexiletin, Minaprin, Nevibolol, Nortriptylin, Ondansetron, Perhexilin, Phenacetin, Phenformin, Propranolol, Spartein, Tamoxifen, Tramadol, Venlafaxin

Tabelle 3: CYP2D6-Substrate (<http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm>)

Arzneistoffgruppen	Beispiele
Protonenpumpen-Hemmer	Lansoprazol, Omeprazol, Pantoprazol
Antiepileptika	Diazepam, Phenytoin, S-Mephenytoin, Phenobarbital
Andere	Amitriptylin, Carisoprolol, Citalopram, Clomipramin, Cyclophosphamid, Hexobarbital, Imipramin, Indomethacin, Moclobemid, Nelfinavir, Nilutamid, Primidon, Progesteron, Proguanil, Propranolol, Teniposid, R-Warfarin

Tabelle 4: CYP2C19-Substrate (<http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm>)

Arzneistoffgruppen	Beispiele
NSAIDs	Diclofenac, Ibuprofen, Piroxicam, Meloxicam, Naproxen, Suprofen
Sulfonylharnstoffe	Glibenclamid, Glimepirid, Glipizid, Tolbutamid
Angiotensin-II-Bocker	Irbesartan, Losartan
Andere	Amitriptylin, Celecoxib, Fluoxetin, Fluvastatin, Glyburid, Nateglinid, Phenytoin, Rosiglitazon, Sulfamethoxazol, Tamoxifen, Torasemid, Warfarin

Tabelle 5: CYP2C9-Substrate (<http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm>)

Problematik der Non-Response. Immerhin schätzt man den Anteil an Non-Respondern bei einer Therapie mit ACE-Hemmern auf 10 bis 30 Prozent, bei Betablockern auf 15 bis 35 Prozent, bei Statinen auf 10 bis 60 Prozent, bei SSRI auf 10 bis 25 Prozent und bei Trizyklika auf 20 bis 25 Prozent.

Selbstverständlich lassen sich längst nicht alle diese Reaktionen durch Genotypisierung voraussagen. Allerdings ist hier eine Entwicklungsrichtung vorgegeben, in die mit Sicherheit konsequent gegangen wird.

Was ist zu tun?

Da es hier um Arzneimittelsicherheit und -wirksamkeit geht, stellt sich die Frage, ob die Apothekerschaft nicht eine führende Rolle bei dieser Entwicklung beanspruchen sollte.

Man mag einwenden, dass Diagnostik – und erst recht Gendiagnostik – in die Hand der Ärzte gehören. Das ist richtig und unbestritten, solange es sich um das Erkennen von Krankheiten und Krankheitsrisiken handelt. Bei der prädiktiven Gendia-

gnostik unter dem Aspekt »Pharmakotoxikologie« handelt es sich jedoch um eine diagnostische Maßnahme zur Vorhersage von Arzneimittelwirksamkeit und -verträglichkeit. Dies sind zweifelsfrei Kompetenzgebiete der Apotheker.

Allerdings ist die Forderung nach einem Arztvorbehalt bei diagnostischen Verfahren sehr ernst zu nehmen, weil der Laie mit dem Begriff Diagnostik unwillkürlich Krankheiten verbindet. So sieht es auch das in Diskussion befindliche Gendiagnostik-Gesetz, das ebenfalls einen strengen Arztvorbehalt definiert. Allerdings haben die modernen Methoden der Molekularbiologie dazu geführt, dass Diagnostik heute auch auf andere Bereiche als auf Krankheiten angewendet werden kann. Dies gilt es mit Nachdruck zu vermitteln, um die Apotheker nicht von diesen wichtigen neuen Werkzeugen abzukoppeln.

Will man sich auf diesem Gebiet erfolgreich engagieren, müssen verschiedene Voraussetzungen geschaffen werden:

- Es muss eine umfassende Fortbildung zu dem Thema, gegebenenfalls auch Weiterbildung, angeboten werden. Dies liegt im Aufgabenbereich der Kammern.
- Die anspruchsvolle Analytik muss bereitgestellt werden.
- Informationssysteme müssen geschaffen werden, die Handlungsoptionen bei bestimmten Testergebnissen in Form von Dosisanpassung (9, 10) oder Alternativwirkstoffen anbieten, die dann dem behandelnden Arzt vorgeschlagen und mit ihm diskutiert werden können.

Da die Analytik zu aufwendig und zu anspruchsvoll ist, um sie vor Ort in den Apotheken durchzuführen, sollte der Berufsstand für eine Infrastruktur sorgen, auf die qualifizierte Apotheken zugreifen können. Nachdrücklich Interesse an dieser Aufgabe hat das Zentrallaboratorium Deutscher Apotheker (ZL) bekundet, das bereits zwei Expertengespräche unter der Regie seines wissenschaftlichen Leiters, Professor Dr. Manfred Schubert-Zsilavecz, organisiert hat. Besonders bemerkenswert war die Anwesenheit von Professor Dr. med. Bruno Müller-Oerlinghausen, Vorsitzender der Arzneimittelkommission der Deutschen Ärzteschaft, bei einem dieser Gespräche. Ein Schulterchluss mit den Ärzten ist aus gesundheitspolitischen Gründen besonders wichtig.

Schließlich ist die ABDATA gefordert, ihre Expertendatenbank um Fragen und Antworten, die sich aus der Gendiagnostik zur Arzneimittelwirksamkeit und -sicherheit ergeben, zu erweitern.

Werden diese Handlungsoptionen entschlossen und intelligent verfolgt, könnte die Apothekerschaft ihre Kompetenz um eine moderne und äußerst nützliche Komponente zum Nutzen der Patienten erweitern. /

Enzym	Substrate (Beispiele)	Klinische Bedeutung
Alkohol-Dehydrogenase	Ethanol	Alkoholunverträglichkeit
Aldehyd-Dehydrogenase	Cyclophosphamid, Ifosfamid	Nebenwirkungsprofil
(Arylamin-)N-Acetyltransferase-2	Dapson, Isoniazid, Procainamid, Amrinon, Sulfamethoxazol, Hydralazin	große Variabilität bei Wirkung, Nebenwirkungen und Interaktionen
Dihydropyrimidin-Dehydrogenase	5-Fluorouracil, einige Virustatika	verstärkte Toxizität
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	Sulfonamide, Primaquin, Chloroquin, Dapson, Nitrofurantoin, Chinidin, Thiopental, Probenecid, ASS und viele andere	Hämolyse
Mikrosomale Epoxidhydrase	Carbamazepin, Phenytoin	Nebenwirkungsprofil
Met-Hämoglobin-Reduktase	Anilin, Chloramphenicol, Nitrate, Sulfonamide und viele andere	Methämoglobinämie
Pseudocholinesterase	Succinylcholin	Prolongierte Atemlähmung
Thiopurin-S-Methyltransferase	Azathioprin, 6-Mercaptopurin	erhöhte Toxizität
Thiol-S-Methyltransferase	D-Penicillamin, Captopril	große Variabilität bei Wirkung, Nebenwirkungen und Interaktionen
Catechol-O-Methyltransferase	L-Dopa, Alpha-Methyldopa	Variabilität bei Wirkung
Glutathiontransferase	Umweltgifte, halogenhaltige, Lösungsmittel, NO-liberierende Pharmaka	erhöhte Toxizität

Tabelle 6: Genetische Polymorphismen und deren klinische Bedeutung außerhalb des Cytochrom-Systems; modifiziert nach (13)

Die Autoren



Theodor Dingermann studierte Pharmazie in Erlangen. Nach der Approbation 1976 folgten Promotion und 1987 Habilitation. Seit 1991 ist er geschäftsführender Direktor des Instituts für Pharmazeutische Biologie an der Goethe-Universität Frankfurt am Main. Dingermann war von 2000 bis 2004 Präsident der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, arbeitet in zahlreichen wissenschaftlichen Gremien, leitet seit 1992 die Arbeitsgruppe „Biotechnologisch hergestellte Arzneimittel“ der Arzneibuch-Kommission beim BfArM und ist bis 2010 Mitglied der Kommission. Kürzlich berief ihn der hessische Ministerpräsident Roland Koch als Beauftragten für Biotechnologie in den neu gegründeten

Technologiebeirat des Landes. Die Apotheker kennen ihn zudem als Referenten bei Fortbildungstagungen sowie als Autor und Co-Autor mehrerer Lehrbücher. Seine Hauptforschungsgebiete umfassen Konzepte für die Verbesserung heutiger Gentherapie-Vektoren sowie die Identifizierung von Zielproteinen von Arzneistoffen durch Arzneistoff-Proteomik.



Ilse Zündorf studierte Biologie von 1984 bis 1990 an der Universität Erlangen. Nach einem Forschungsaufenthalt an der University of Kentucky, Lexington, USA, wurde sie 1995 am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Frankfurt promoviert. Seitdem ist Dr. Zündorf als Akademische Rätin an diesem Institut tätig.

Literatur

- (1) Richtlinien zur prädiktiven genetischen Diagnostik. Dt. Ärzteblatt 100, Nr. 19 (2003) A1297-A1305.
- (2) Bryant, P. A., et al., Chips with everything: DNA microarrays in infectious diseases. *Lancet Infect Dis.* 4 (2004) 100-111.



- (3) Collette, D., Thütmann, P. A., Unerwünschte Arzneimittelwirkungen: Erbliche Unterschiede im Arzneistoffmetabolismus. *Dtsch. Med. Wschr.* 127 (2002) 1025-1028.
- (4) Ebbesen, J., et al., Drug-related deaths in a department of internal medicine. *Arch. Int. Med.* 161 (2001) 2317-2323.
- (5) Fielden, M. R., et al., Preclinical drug safety analysis by chemogenomic profiling in the liver. *Am. J. Pharmacogenomics* 5 (2005) 161-171.
- (6) Guzey, C., Spigset, O., Genotyping of drug targets: a method to predict adverse drug reactions? *Drug Saf.* 25 (2002) 553-560.
- (7) Huang, Y., et al., The role of a mutant CCR5 allele in HIV-1 transmission and disease progression. *Nat. Med.* 2 (1996) 1240-1243.
- (8) Ingelman-Sundberg, M., Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics* 5 (2005) 6-13.
- (9) Kirchheiner, J., et al., CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr. Scand.* 104 (2001) 173-192.

- (10) Kirchheiner, J., et al., Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol. Psychiatry* 9 (2004) 442-473.
- (11) Kwiatkowski, D. P., How malaria has affected the human genome and what human genetics can teach us about malaria. *Am. J. Hum. Genet.* 77 (2005) 171-192.
- (12) Lander, et al., Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 (2001) 860-921.
- (13) Roots, I., Brockmüller, J., Pharmakogenetik. In: Rietbrock, N., Staib, A. H., Loew, D. (Hrsg.), *Klinische Pharmakologie – Arzneitherapie*. 4. Aufl., Steinkopf-Verlag Darmstadt 2001, S. 64-79.
- (14) Speicher, M. R., Carter, N. P., The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat. Rev. Genet.* 6 (2005) 782-792.
- (15) Venter, J. C., et al., The sequence of the human genome. *Science* 291 (2001) 1304-1351.
- (16) Wallace, D. C., et al., Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 242 (1988) 1427-1430.
- (17) Wang, Y., Gene expression-driven diagnostics and pharmacogenomics in cancer. *Curr. Opin. Mol. Ther.* 7 (2005) 246-250.
- (18) Werner, M., et al., Interphase cytogenetics in pathology: principles, methods, and applications of fluorescence in situ hybridization (FISH). *Histochem. Cell Biol.* 108 (1997) 381-390.

Anschrift der Verfasser

Professor Dr. Theo Dingermann und Dr. Ilse Zündorf, Institut für Pharmazeutische Biologie, Biozentrum, Marie-Curie-Straße 9, 60439 Frankfurt
E-Mail: Dingermann@em.uni-frankfurt.de