

Lisa Kurland, med dr, medicincentrum, Akademiska sjukhuset, Uppsala (lisa.kurland@medsci.uu.se)

Lars Lind, professor i kardiovaskulär medicin, Uppsala universitet, och Astra Zeneca R&D, Mölndal

Hans Lithell, professor i geriatrik, institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap, Uppsala universitet

Ann-Christine Syvänen, professor i molekylär medicin, Uppsala universitet

Håkan Melhus, docent, institutionen för medicinska vetenskaper, Uppsala universitet

Farmakogenetik – genvägen till skräddarsydd antihypertensiv terapi

II Variationen i läkemedelssvaret kan till viss del förklaras av genetiska faktorer. Den fantastiska tekniska utvecklingen inom molekylärbiologin, krönt med kartläggningen av det mänskliga genomet och publiceringen av genetisk variation i allmänt tillgängliga databaser, ligger till grund för det stora intresse för farmakogenetik som vi ser idag.

Farmakogenetik

Klassiska fallbeskrivningar av oväntade läkemedelsutlösta reaktioner – t ex förlängd muskelrelaxerande effekt av succinylkolin vid mutationer i enzymet pseudokolinesteras [1], hemolys framkallad av antimalariamedel (såsom primakin) på grund av brist på enzymet glukos-6-fosfatdehydrogenas [2] och biverkningar av isoniazid som följd av låg acetyleringsförmåga [3] – ligger till grund för den tidiga farmakogenetiken. Dessa pionjärarbeten var de första som påvisade ett samband mellan ärftliga enzymvarianter och läkemedelskänslighet.

Termen farmakogenetik myntades på 1950-talet och definieras som läran om hur läkemedelseffekten påverkas av ärftliga faktorer. Farmakogenetik kan indelas i farmakokinetik (hur kroppen påverkar läkemedlet) och farmakodynamik (hur läkemedlet påverkar kroppen) (Figur 1).

Farmakokinetik

Farmakokinetiska studier har hittills mest fokuserat på det metaboliserande cytokrom P450(CYP)-systemet, en enzymfamilj (<http://drnelson.utm.edu/>) som är representerad hos alla arter: från bakterier och växter till människa. De evolutionsbiologiska tidigaste formerna av CYP tros ha utvecklats för kolesterolsyntes och senare för syntes av steroidhormoner. En annan evolutionsbiologisk utvecklingslinje av CYP tros ha drivits fram av växelverkan mellan djur och växter. Djuren var i behov av ett enzymsystem som skyddade dem mot växtgifterna. När de flesta av våra läkemedel härstammar från växter är det inte konstigt att CYP är viktiga vid läkemedelsmetabolism. Lipofila exogena och endogena substanser görs mer hydrofila av CYP och blir därmed lättare att utsöndra.

SAMMANFATTAT

Variationen i läkemedelssvaret kan till viss del förklaras av genetiska faktorer. Läran om detta kallas farmakogenetik, ett begrepp som myntades på 1950-talet.

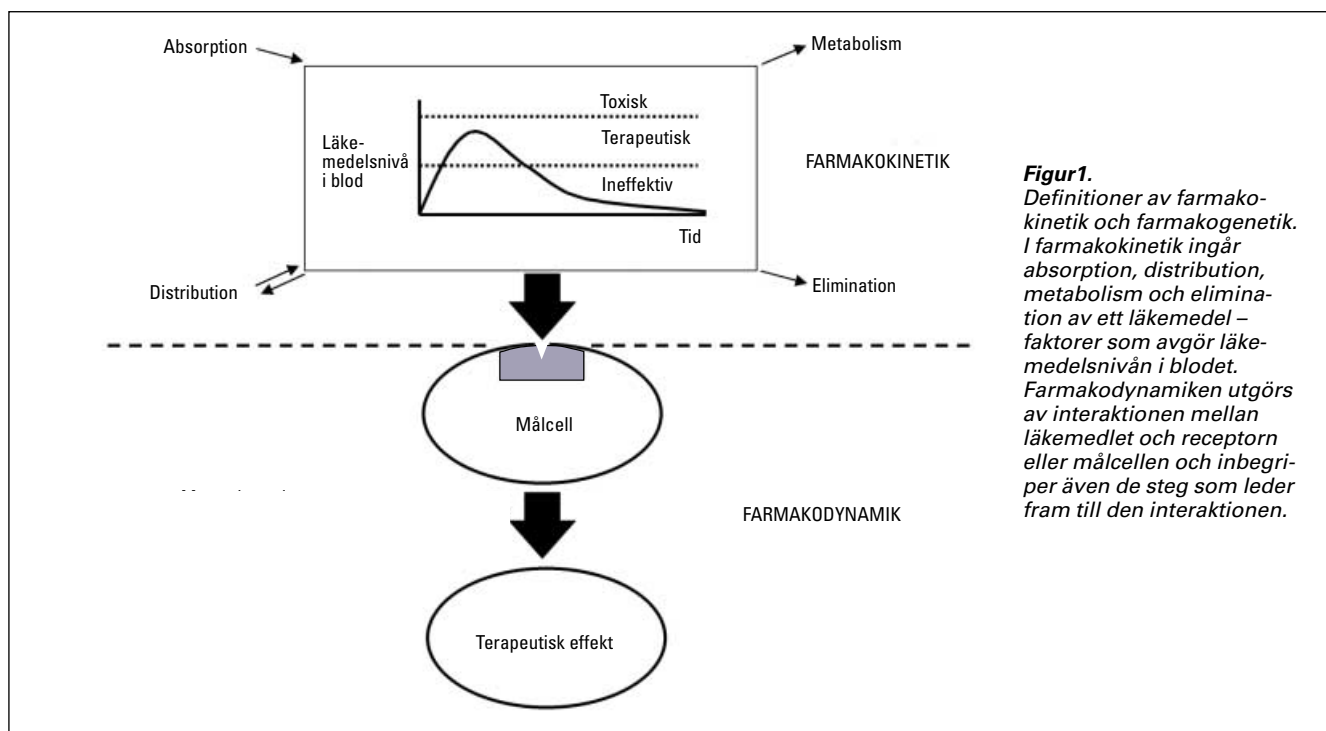
Den fantastiska tekniska utvecklingen inom molekylärbiologin, krönt med kartläggningen av det mänskliga genomet och publiceringen av genetisk variation i allmänt tillgängliga databaser, ligger till grund för det stora intresse för farmakogenetik som vi ser idag.

Framtidens teknologi inger förhoppningar om att de molekylära mekanismer som ligger bakom komplexa sjukdomar såsom hjärt-kärlsjukdom skall kunna kartläggas och att läkemedelsbehandling skall kunna skräddarsys.

Artikeln ger en kort bakgrund till området, med betoning på antihypertensiv behandling.

Se även medicinsk kommentar i detta nummer.

Hos människa finns det ca 50 identifierade CYP-zymer (<http://drnelson.utm.edu/CytochromeP450.html>). CYP3A, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 och CYP1A2 utgör de för läkemedelsmetabolismen viktigaste enzymerna (se interaktionskapitlet, sid 1544–1549, i Fass 2002, särskilt tabell 1, sid 1547). CYP3A4, det vanligast förekommande CYP-enzymet, svarar för metabolism av cirka hälften av våra förskrivna läkemedel. På grund av denna breda substratspecificitet spelar CYP3A4 en viktig roll vid läkemedelsinteraktio-



Figur 1. Definitioner av farmakokinetik och farmakogenetik. I farmakokinetik ingår absorption, distribution, metabolism och elimination av ett läkemedel – faktorer som avgör läkemedelsnivån i blodet. Farmakodynamiken utgörs av interaktionen mellan läkemedlet och receptorn eller målcellen och inbegriper även de steg som leder fram till den interaktionen.

ner, vilket blir viktigt framför allt hos patienter med polyfarmaci.

CYP2D6, det CYP-enzym som har studerats mest i sammanhanget farmakokinetik, uppvisar mer än 70 olika genetiska varianter (www.imm.ki.se/CYPalleles/CYP2D6.htm) och deltar bl a i metaboliseringen av flera antidepressiva läkemedel. Det finns studier som har visat ett samband mellan CYP2D6-genotyp och plasmakoncentration.

För läkemedel med bred klinisk användning men smal terapeutisk bredd är det nödvändigt att kunna identifiera genetiska varianter som kan förklara variationen i läkemedelsmetabolismen. Ett tydligt exempel på detta är variationen i det terapeutiska svaret på Waran-behandling beroende på polymorfier (genetisk variant, mutation som finns representerad hos >1 procent av befolkningen) i CYP2C9. I en intressant studie av Aithal och medarbetare [4] illustreras att det inte enbart är dosen som är associerad med specifika varianter i CYP2C9, utan också att patienter med låg dos (långsamma metaboliserare) uppvisar större risk för blödningskomplikationer.

På <http://medicine.iupui.edu/flockhart/> finns en tabell över CYP-interaktioner, och på www.imm.ki.se/CYPalleles kan man bl a läsa om olika genetiska varianter av CYP-enzym.

Farmakodynamik och antihypertensiv behandling

Genetisk variabilitet i läkemedelsmetaboliserande enzymssystem kan förklara endast en del av den interindividuelle variationen i det totala behandlingssvaret. Flera observationer stöder detta, t ex att man vid antihypertensiv behandling ser flacka dos-responskurvor och svag korrelation mellan läkemedelsnivå och blodtryckssänkande effekt. Dessutom är blodtryckssänkningen av samma storleksordning inom samma läkemedelsgrupp trots varierande farmakokinetik. Utöver detta kvarstår den blodtryckssänkande effekten en tid efter det att läkemedlet satts ut. Farmakodynamiska reaktioner framstår därför som viktiga.

Primär hypertoni tillhör gruppen komplexa sjukdomar, dvs sjukdomar där många gener växelverkar med varandra

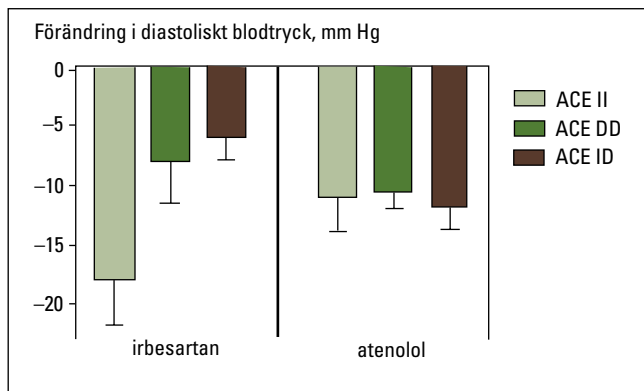
och miljön för att leda fram till fenotypen (de observerade egenskaperna, i det här fallet blodtrycksnivån); 30–60 procent av variansen i blodtrycksnivån i en population förklaras av genetiska faktorer. Blodtrycksnivån i en population uppvisar normalfördelning, och hypertoni motsvarar de högsta blodtrycksnivåerna. På basis av epidemiologiska och kliniska behandlingsstudier har man bestämt en delvis arbiträr nivå som definieras som hypertoni [5].

I västvärlden är prevalensen av hypertoni ungefär en fjärdedel av den vuxna befolkningen. Risken för slaganfall och hjärtinfarkt ökar med ett ökat blodtryck, och genom att sänka blodtrycket sjunker risken för insjuknande. Detta samband gäller över hela »blodtryckskurvan«, vilket medför att det i ett kliniskt perspektiv är viktigt att den enskilde patientens totala kardiovaskulära riskprofil bedöms inför ställningstagande till insättning av farmakologisk behandling.

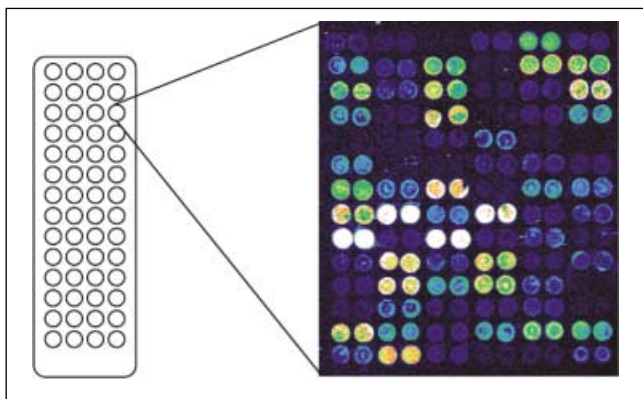
Det har hittills inte funnits stöd för att något av de antihypertensiva läkemedlen är överlägset ett annat när det gäller kardiovaskulär riskreduktion [6, 7], trots att betablockad och tiazider är de mest väldokumenterade, men färsk rön från LIFE-studien indikerar att blockering av renin-angiotensinsystemet (RAAS) med AT₁-receptorantagonisten losartan kan medföra vinster utöver blodtryckssänkningen hos patienter med vänsterkammarrhypertrofi [8].

Blodtrycket är välreglerat hos endast en minoritet av alla hypertoniker, ca 14–25 procent [9]. De olika antihypertensiva läkemedlen ger i medeltal en blodtryckssänkning på 10 mm Hg men uppvisar en stor spridning på fyra till åtta gånger medelresponsen. Endast 30–50 procent av patienterna uppvisar en god respons med ett enskilt antihypertensivt läkemedel, och trots behandling ses en »paradoxal« blodtrycksökning hos 10–20 procent av patienterna.

Som kliniker extrapolerar vi resultaten från behandlingsstudier till våra patienter – kort sagt använder vi oss av populationsmedelvärden i stället för individuella patientprofiler. Försök att använda plasmareninaktivitet och andra variabler för att förutsäga behandlingssvaret har inte varit framgångsrika, vilket leder till frågan: Hur skall vi välja rätt läke-



Figur 2. ACE I/D och diastolisk blodtryckssänkning. Figuren visar förändringen av det diastoliska blodtrycket efter behandling med antingen betablockeraren atenolol eller AT₁-receptorantagonisten irbesartan och ACE I/D-genotyp. I irbesartangruppen var ACE-genotypen associerad med blodtryckssvaret på behandling ($P=0,01$). Staplarna anger medelvärden \pm SEM (från *J Hypertens* 2001;19:1783-7).



Figur 3. Schematisk bild av en mikroarray som framställts på ett vanligt objektglas med en förstörd reaktionsbrunn. På varje mikroarray kan upp till 80 prov analyseras i parallella reaktioner, och i varje reaktionsbrunn kan upp till 200 primers immobiliseras. I den s k minisekvensningsmetoden inkorporeras en fluorescensmärkt nukleotid på den polymorfa positionen, vilket anger genotypen. Färgbilden visar en reaktionsbrunn efter en av reaktionerna med en fluorescensmärkt nukleotid. Fluorescensbilden datorbearbetas sedan för uttolkning av genotypen. Bilden har tillhandahållits av Ulrika Liljedahl, molekylär medicin, institutionen för medicinska vetenskaper, Uppsala universitet.

medel för den enskilde patienten? Förväntningarna är stora på att farmakogenetiken kan komma att ge oss möjlighet att skraddarsy läkemedelsbehandlingar.

Gener i blodtrycksreglerande signalvägar

Både primär hypertoni och den blodtryckssänkande effekten av behandling har en genetisk komponent. Det är därför naturligt att studera gener som reflekterar olika steg i de blodtrycksreglerande signalvägar som antihypertensiva läkemedel påverkar. Vi har valt att studera specifika polymorfier i RAAS. Patienterna hämtades ur en klinisk studie bestående av hypertoniker med ekokardiografiskt verifierad vänsterkammarehypertrofi som behandlades med antingen betablockeraren atenolol eller AT₁-receptorantagonisten irbesartan [10]. Vi har studerat läkemedelssvaret med avseende på blodtrycksrespons [11, 12] och regress av vänsterkammarehypertrofi [13] i relation till RAAS-genotyper.

Resultaten i våra studier visar genomgående en RAAS-genotypberoende respons för de patienter som behandlades med AT₁-receptor-antagonisten irbesartan, men inte för pa-

tienterna som behandlades med atenolol. Detta illustreras tydligt i Figur 2. Patienter med ACE I/I-genotypen uppvisade den mest uttalade blodtryckssänkningen jämfört med ACE I/D- och D/D-varianterna vid behandling med irbesartan. Professorerna Lithell och Karlberg har i liknande studier visat att en kombination av tre specifika genetiska varianter i RAAS gör det möjligt att skilja på patienter med ett bra blodtryckssvar och dem med ett sämre blodtryckssvar vid behandling med ACE-hämmare. Dessa resultat ger en tydlig fingervisning om att farmakogenetisk testning vid hypertoni-behandling är praktiskt möjlig.

Genetisk variation

Växelverkan mellan arv och miljö resulterar i en fenotyp. Den enskilde individens läkemedelssvar utgör i sig en fenotyp, och som beskrivits ovan kan den ärftliga komponenten hänföras till både farmakokinetiska och farmakodynamiska komponenter. Vari består den interindividuella genetiska variationen fysiskt? Det finns många olika typer av förändringar som kan ske i vår arvs massa, men vanligast förekommande är s k singelnukleotidpolymorfimer (SNP), som består av en förändring i en av baserna i DNA-sekvensen. En SNP förekommer i genomsnitt vid var tusende bas i vår arvs massa, som består av ca 3 miljarder baser.

Beroende på arten och lokalisationen kommer en SNP att ha olika konsekvenser för fenotypen och kan t ex ge upphov till en förändrad aminosyrasekvens i ett läkemedelsmetaboliserande enzym eller endast finnas som en genetisk markör utan att förändra fenotypen. Det är dock fortfarande oklart vilka SNP som är funktionellt betydelsefulla.

Stort intresse för SNP

»The SNP Consortium« är en gemensam satsning av 14 ledande företag inom läkemedelsindustrin och människans genomprojekt, »the Human Genome Project«. Dess arbete har resulterat i att drygt 1 miljon SNP har kartlagts i det mänskliga genomet (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP, <http://snp.cshl.org>) [14, 15].

Det stora intresset för SNP stammar ur förhoppningen att de kan användas för att hitta gener som predisponerar för vanliga, multifaktoriella sjukdomar, t ex hjärt-kärlsjukdom. Idag är teknologin begränsande. Det stora antalet analyser som skulle krävas för analyser av hela genomet gör att detta ännu inte är genomförbart i praktiken.

En mer framkomlig väg är att analysera SNP i kandidatgener som man tror är sjukdomsalstrande eller, som i vårt fall, kopplade till läkemedelsresponsen. I en nyligen genomförd studie har vi analyserat 74 SNP i 25 blodtrycksreglerande gener med mikroarraybaserad teknologi [16] i samma kliniska material som beskrivits ovan [10] (Figur 3). Resultaten, som måste bekräftas i större patientmaterial, visar att en kombination av fyra till fem specifika SNP kan förutsäga ca 50 procent av blodtryckssvaret [opubl data]. Denna teknologi kan i framtiden komma att användas för att bestämma den individuella patientens genetiska »fingeravtryck«, vilket i sin tur skulle kunna användas för att förutsäga behandlingssvaret på antihypertensiva läkemedel.

Framtidsperspektiv

Den molekylärbiologiska teknologin kommer att fortsätta att utvecklas, vilket sannolikt kommer att resultera i att det blir möjligt att på ett automatiserat vis analysera ett allt större antal polymorfier samtidigt, och till ett lägre pris än vad som görs idag.

Läkemedelsindustrin visar ett stort intresse för farmakogenetik. Stora resurser som investerats vid läkemedelsframställning går idag till spillo till följd av ogynnsamma läkemedels-

reaktioner som inte kunnat förutsägas. Läkemedel som uppvisar stor interindividuell spridning av behandlingssvaret eller toxiska effekter kommer inte ut på marknaden. Industrin kan spara pengar i samband med kliniska prövningar genom att genotypa de personer som deltar i studierna och därmed minska antalet ingående individer. Farmakokinetiska studier tillämpas vid tidiga fas I-studier, och det finns önskemål om att prov för DNA-analys skall insamlas vid alla större studier. Närmast har vi LIFE-studiens farmakogenetiska resultat att se fram emot. Farmakogenetiken har alltså redan idag sin plats både vid utvecklingen av nya läkemedel och vid läkemedelsprövningar.

Individualiserad läkemedelsbehandling

Läkemedelsbiverkningar har beräknats vara den fjärde till sjätte vanligaste dödsorsaken i USA (1994) [17]. Utöver en mer effektiv behandling kan farmakogenetik komma att medföra att oönskade sidoeffekter minimeras och därav följer en förbättrad ordinationsfölsamhet, sannolikt också en ökad kostnadseffektivitet.

Molekylärgenetiken kan komma att göra det möjligt att identifiera högriskindivider och därmed möjliggöra tidig intervention, dvs innan organskada uppstått. Detta skulle i sin tur underlätta en fokusering av resurserna på dem som mest behöver dem. I framtiden kan medicinsk behandling komma att växla från diagnos till prediktion och från terapi till prevention.

Nästa steg i individualiseringen av läkemedelsbehandlingen är att utveckla praktiska test som enkelt kan användas i den kliniska vardagen. Dessa test skulle bygga på att det genetiska fingeravtrycket gör det möjligt att förutsäga vilken läkemedelsbehandling som är lämpligast för den individuella patienten. Med en skrädarsydd behandling kan polyfarmacin minskas och en större andel hyperteniker nå behandlingsmålet, vilket i sin tur leder till minskad sjuklighet och dödlighet.

*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Lars Lind är, som framgår av författarpresentationen, anställd av Astra Zeneca R&D, Mölndal. För övriga författare har inga potentiella bindningar eller jävsförhållanden uppgivits.

Referenser

1. Kalow W. Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet* 1956;(211):576.
2. Carson P, Flanagan C, Ickes C, Alving A. Enzymatic deficiency in primaquine sensitive erythrocytes. *Science* 1956;124:484.
3. Hughes H, Biehl J, Jones A, Schmidt L. Metabolism of isoniazid in man as related to the occurrence of peripheral neuritis. *American Review of Tuberculosis* 1954;70:266.
4. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999;353(9154):717-9.
5. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension. Guidelines Subcommittee. *J Hypertens* 1999;17(2):151-83.
6. Hansson L, Lindholm LH, Ekblom T, Dahlöf B, Lanke J, Scherstén B, et al. Randomised trial of old and new antihypertensive drugs in elderly patients: cardiovascular mortality and morbidity the Swedish Trial in Old Patients with Hypertension-2 study. *Lancet* 1999;354(9192):1751-6.
7. Neal B, MacMahon S, Chapman N. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. *Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration*. *Lancet* 2000;356(9246):1955-64.
8. Dahlöf B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Julius S, Beevers G, Faire U, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 2002;359(9311):995-1003.
9. Björklund K, Lind L, Lithell H. Twenty-four hour ambulatory blood pressure in a population of elderly men. *J Intern Med* 2000;248(6):501-10.
10. Malmqvist K, Kahan T, Edner M, Held C, Hagg A, Lind L, et al. Regression of left ventricular hypertrophy in human hypertension with irbesartan. *J Hypertens* 2001;19(6):1167-76.
11. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Öhman P, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism predicts blood pressure response to treatment with AT1R antagonist in hypertensive patients. *J Hypertens* 2001;19:1783-7.
12. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Öhman P, et al. Aldosterone synthase polymorphism predicts blood pressure lowering effect to treatment with AT1R antagonist in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2002;15:389-93.
13. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, Kahan T, Malmqvist K, Öhman P. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type 1 receptor gene are related to change in left ventricular mass during anti-hypertensive treatment: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *J Hypertens* 2002;20(4):657-63.
14. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409(6822):928-33.
15. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291(5507):1304-51.
16. Lindroos K, Liljedahl U, Raitio M, Syvänen AC. Minisequencing on oligonucleotide microarrays: comparison of immobilisation chemistries. *Nucleic Acids Res* 2001;29:e69.
17. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients. A meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1200-5.

SUMMARY

Pharmacogenetics pathway to individualized antihypertensive pharmacotherapy

Lisa Kurland, Lars Lind, Hans Lithell, Ann-Christine Syvänen, Håkan Melhus
Läkartidningen 2003;100:600-3

The variations in response to pharmacotherapy can in part be explained by genetic factors. Pharmacogenetics, a term coined in the 1950's, describes these relationships. Great technological advances in molecular biology and computational sciences, crowned by the sequencing of the human genome, have brought forth the current interest in pharmacogenetics. Continued technological developments may lead to the understanding of the molecular mechanisms behind complex diseases like cardiovascular disease, and holds the promise of individualized pharmacotherapy. The article gives a background to the field, with emphasis on antihypertensive therapy, and prospects for the future.

Correspondence: Lisa Kurland, Dept of Internal Medicine, Akademiska sjukhuset, SE-751 85 Uppsala, Sweden (lisa.kurland@medsci.uu.se)