

## Cytochrom P450 Iso-Enzym (CYP2C9) Genotypisierung

Ab sofort bietet das ZIMCL die Genotypisierung der Allele \*1, \*2 und \*3 des Cytochrom P450 Iso-Enzyms 2C9 (CYP2C9, OMIM-ID \*601130) mittels PCR und nachfolgender Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus(RFLP)-Analyse an.

---

### KURZINFO

Bedeutung von CYP2C9: CYP2C9 ist am oxidativen Metabolismus verschiedener Arzneistoffe beteiligt. Wichtige Substrate von CYP2C9 sind z.B. Phenytoin, Cumarinderivate, NSAIDs oder Antidiabetika.

Bei reduzierter CYP2C9-Aktivität kann es zu erhöhten Plasmaspiegel der genannten Arzneimittel und dadurch zu toxischen Nebenwirkungen (zB Epileptieneigung, motorische Ausfälle und psychische Veränderungen bei Phenytoin oder gesteigertes Risiko für Überantikoagulation und Blutungen bei Warfarin) kommen.

Verminderung der CYP2C9-Aktivität: Unterschiede in der CYP2C9-Aktivität sind genetisch durch Polymorphismen im CYP2C9-Gen bedingt. Die in Europa häufigsten genetischen Varianten, welche eine erniedrigte Enzymaktivität verursachen, sind CYP2C9\*2 (C430T) und CYP2C9\*3 (A1075C). Eine intermediär reduzierte Aktivität tritt in Europa bei ca. 30% der Bevölkerung auf, eine stark reduzierte Aktivität bei 3%.

### Bedeutung der CYP2C9-Genotypen:

Eine verringerte Enzymaktivität kann laut rezenten Studien eine Dosisadaptierung zur Reduktion des Risikos von unerwünschten Arzneimittel-Nebenwirkungen erfordern: So wird zB für Phenytoin die Reduktion der Erhaltungsdosis um 25% bei intermediärer Aktivität sowie um 50% bei stark erniedrigter Aktivität empfohlen, sowie häufigere INR-Kontrollen unter Acenoumarol (Sintrom®) bei gleichzeitiger NSAID-Gabe bzw. unter Phenprocoumon (Marcoumar®) bei Vorliegen der Varianten \*2/\*2, \*2/\*3 oder \*3/\*3.

Genotyp	Empfohlene therapeutische Phenytoin-Dosis
CYP2C9*1/*1	Normale Dosis
CYP2C9*1/*2	Dosisreduktion um 25%
CYP2C9*1/*3	Dosisreduktion um 25%
CYP2C9*2/*2	Dosisreduktion um 50%
CYP2C9*2/*3	Dosisreduktion um 50%
CYP2C9*3/*3	Dosisreduktion um 50%

Empfohlene therapeutische Phenytoin-Dosis in Abhängigkeit des CYP2C9-Genotyps (Swen et al, 2008)

Indikation der CYP2C9-Genotypisierung: Die CYP2C9-Genotypisierung ist indiziert bei Verdacht auf erhöhte Sensitivität gegenüber Phenytoin, Cumarinderivaten, NSAIDs oder Antidiabetika zur Therapieoptimierung und effizienteren Anpassung der Initial- und Erhaltungsdosis sowie zur Vorbeugung von Komplikationen infolge von Überdosierung der genannten Arzneimittel.

Anforderung der CYP2C9-Genotypisierung: Benötigt werden 3ml EDTA-Blut. Bei längeren Transportzeiten (>30 min) ist die Probenanlieferung bei 4-8°C erforderlich (nicht frieren!). Zur Durchführung dieser Analyse ist keine Einverständniserklärung erforderlich. Bei manueller Anforderung im Feld *Zusatzanalytik* „CYP2C9-Genotypisierung“ vermerken oder online unter „CYP2C9-Genotypisierung“ anfordern. Dauer der Untersuchung: 1 Woche nach Probeneingang.

---

**Wissenschaftlicher Hintergrund:**

CYP2C9 codiert für das Cytochrom P450 Iso-Enzym CYP2C9, welches an der Verstoffwechslung von mehreren hundert Medikamenten beteiligt ist. Varianten in diesem Gen können zu veränderter Enzymaktivität und somit verändertem Medikamenten-Abbau führen, was eine Anpassung der Dosierung notwendig machen kann. Durch eine Dosisadaptierung nach erfolgter Genotyp-Bestimmung können so ggf. toxische Medikamentenwirkungen verhindert werden. Genotyp-assoziierte Nebenwirkungen können bei Komedikation von Inhibitoren von CYP2C9 die Rate substanzspezifischer Nebenwirkungen weiter erhöhen (zB führt Fluconazol Komedikation zu einem mehr als fünffachen Anstieg der Plasma-AUC bzw. zu einer mehr als 80%igen Verminderung der Clearance; Amiodaron führt einem mehr als zweifachen Anstieg der Plasma-AUC und zu einer 50-80%igen Verminderung der Clearance), bei Komedikation von „Inducern“ die Wirkung abschwächen.

Die CYP2C Subfamilie besteht aus vier Isoenzymen (CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19). Die Gene der vier Isoenzyme sind auf dem Chromosom 10 in der Region 10q24.2 lokalisiert. Unter den Mitgliedern der CYP2C-Subfamilie stellt das CYP2C9 mit 60 % den Hauptteil der CYP2C-Isoenzyme in der menschlichen Leber bereit. Außerhalb der Leber konnte dieses Enzym bisher in etwa 200-fach geringerer Menge nur noch im Intestinum gefunden werden. Einen Überblick über einige der zahlreichen Substrate bietet die Tabelle 1.

Inhibitoren CYP2C9			Substrate CYP2C9	
Fenofibrat	Fluconazol	→	<u>NSAIDs:</u>	<u>Sulfonylharnstoffe:</u>
Fluvastatin			Diclofenac	Glyburid
Fluvoxamin	Amiodaron		Ibuprofen	Glibenclamid
Isoniazid			Lornoxicam	Glipizid
Phenylbutazon			Meloxicam	Glimeperid
Probenicid			S-Naproxen	Tolbutamid
Sertralin			Norpiroxicam	
Sulfamethoxazol			Suprofen	<u>Weitere Substrate:</u>
Sulfaphenazol				S-Warfarin
Teniposid			<u>Antidiabetika:</u>	Amitriptylin
Voriconazol			Tolbutamid	Celecoxib
Zafirlukast			Glipizid	Fluoxetin
				Fluvastatin
			<u>ATII-Blocker:</u>	Glyburid
			Losartan	Nateglinid
		Irbesartan	Phenytoin-4-OH2	
			Rosiglitazon	
			Tamoxifen	
			Torasemid	

↑ substanzspezifische Nebenwirkungen

Tab. 1: Nach Substanzklassen geordnete Substrate und Inhibitoren von CYP2C9. Quelle: [www.drug-interactions.com](http://www.drug-interactions.com)

Neben dem Wildtyp (\*1/\*1) wurden noch mindestens 5 funktionell unterschiedlich wirksame Allelvarianten von CYP2C9 entdeckt. Während zahlreiche in-vitro- und in-vivo-Arbeiten über den Einfluss der Allele \*2 (430C>T) und \*3 (1075A>C) auf die Pharmakokinetik von Medikamenten veröffentlicht wurden, existieren über die Allele \*4 (1076T>C), \*5 (1080C>G) und \*6 (818delA) nur spärliche in-vitro- bzw. Einzelfall-Studien. Die Prävalenz der einzelnen CYP2C9-Allele unterliegt erheblicher interethnischer Varianz. Während die Allele \*2 und \*3 bei Kaukasiern relativ häufig, jedoch bei Afrikanern und Ostasiaten nur selten vorkommen, wurden die Allele \*4, \*5 und \*6 bisher bei Kaukasiern nicht gefunden.

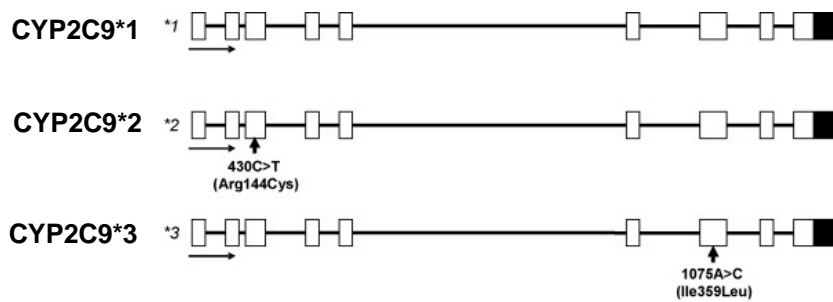


Abb. 1: Schema CYP2C9 Genotypen \*1, \*2, \*3 (Zhou et al., 2009)

Allele von CYP2C9	Anteil bei Kaukasiern	Anteil bei Afrikanern	Anteil bei Asiaten
CYP2C9*1/*1	65 % (49-70 %)	87-97 %	92-98 %
CYP2C9*1/*2	20 % (16-34 %)	2-9 %	0 %
CYP2C9*1/*3	12 % (10-16 %)	1-4 %	2-8 %
CYP2C9*2/*2	0,9 % (0-6 %)	0 %	0 %
CYP2C9*2/*3	1,4 % (1-2 %)	0 %	0 %
CYP2C9*3/*3	0,4 % (0-1 %)	0 %	0 %

Tab. 2: Prozentuelle Anteile des CYP2C9-Genotyps in einzelnen ethnischen Populationen (Lee et al., 2002)

### **Pharmakogenetische Bedeutung der CYP2C9-Polymorphismen \*2 und \*3**

Die Allele \*2 und \*3 entstehen durch einzelne Punktmutationen der chromosomalen DNA (single nucleotide polymorphisms, SNPs), welche den Austausch von jeweils einer Aminosäure an Position 144 bzw. 359 der Aminosäurekette zur Folge haben. Bei CYP2C9\*2 ist im Exon3 an der Stelle 430 Cytosin durch Thymin ersetzt (bewirkt auf Proteinebene Austausch von Arginin144 durch Cystein), bei CYP2C9\*3 ist im Exon7 an der Stelle 1075 Adenosin durch Cytosin ersetzt (verursacht auf Proteinebene Austausch von Isoleucin359 durch Leucin).

Die einzelnen Allelvarianten weisen unterschiedliche Enzymaktivitäten auf. Zahlreiche Arbeiten belegen, dass sowohl Genotyp\*2 als auch Genotyp\*3 die Clearance zahlreicher klinisch relevanter Medikamente in vitro signifikant senken kann. Nebenwirkungen bei Medikamenten mit geringer therapeutischer Breite können eine Senkung der Dosis in vivo erforderlich machen. CYP2C9\*3 bewirkt bei den meisten CYP2C9-Substraten einen deutlich verlangsamten Metabolismus, während CYP2C9\*2 in den meisten klinischen Studien nur geringe Auswirkung auf die Enzymaktivität zeigte. Eine Ausnahme ist jedoch diesbezüglich das CYP2C9-Substrat S-Warfarin (Coumadin®): Träger des Genotyps CYP2C9\*2/\*2 zeigen eine deutlich niedrigere orale S-Warfarin-Clearance sowie ein höheres Blutungsrisiko.

Teilweise existieren also für das CYP2C9\*2 Allel Unterschiede in der Aktivität je nach Medikament. So ist die Aktivität von CYP2C9\*2 Trägern für das Medikament Torasemid gar nicht eingeschränkt, wohingegen für das Medikament Naproxen in der Literatur eine deutliche Einschränkung belegt ist. Für andere Substanzen wie z.B. das in Deutschland und den USA zur oralen Antikoagulation eingesetzte Coumadin® ergeben sich Empfehlungen zur Dosisreduktion im Ausmaß wie für Phenytoin beschrieben; bei manchen Genotypen wie zB \*3/\*3 ein noch höheres Ausmaß der Dosisreduktion.

Genotyp	Empfohlene therapeutische Phenytoin-Dosis
CYP2C9*1/*1	Normale Dosis
CYP2C9*1/*2	Dosisreduktion um 25%
CYP2C9*1/*3	Dosisreduktion um 25%
CYP2C9*2/*2	Dosisreduktion um 50%
CYP2C9*2/*3	Dosisreduktion um 50%
CYP2C9*3/*3	Dosisreduktion um 50%

Tab. 3: Empfohlene therapeutische Phenytoin-Dosis in Abhängigkeit des CYP2C9-Genotyps (Swen et al, 2008)

(⇒ siehe auch [www.pharmgkb.org/](http://www.pharmgkb.org/), [medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/table.asp](http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/table.asp), [www.genemedrx.com/](http://www.genemedrx.com/) und [secure.medicalletter.org/](http://secure.medicalletter.org/))

### **Indikation zur CYP2C9-Genotypisierung:**

- bei Verdacht auf erhöhte Sensitivität auf eines der in Tab. 1 genannten Medikamente zur Therapieoptimierung und effizienteren Anpassung der Initial- und Erhaltungsdosis
- bei Schwierigkeiten in der medikamentösen Einstellung der betroffenen Medikamente zur besseren Einschätzung des individuellen Ansprechens und zur Vermeidung von Komplikationen einer Überdosierung.

### **Literatur:**

- Lee et al. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. Pharmacogenetics. 2002 Apr;12(3):251-63.
- Goldstein JA. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. Br J Clin Pharmacol. 2001 Oct;52(4):349-55.
- Kirchheiner et al. Enantiospecific effects of cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenases 1 and 2. Clin Pharmacol Ther. 2002 Jul;72(1):62-75.
- Yasar et al. The role of CYP2C9 genotype in the metabolism of diclofenac in vivo and in vitro. Eur J Clin Pharmacol. 2001 Dec;57(10):729-35.
- Scordo et al. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance. Clin Pharmacol Ther. 2002 Dec;72(6):702-10.
- Becquemont et al. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. Pharmacogenomics. 2011 Jan;12(1):113-24.
- (Weiterführende Informationen siehe OMIM-ID: \*601130 (CYP2C9), #122700 (Coumarin Resistance))

### **Testprinzip:**

Die Genotypisierung erfolgt nach dem Prinzip der Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus-(RFLP)Analyse. Nach erfolgter PCR werden in einem zweiten Schritt die Amplifikate durch einen jeweils spezifischen Restriktionsenzym-Verdau hinsichtlich des vorliegenden Genotyps durch Vorliegen unterschiedlich langer DNA-Fragmente charakterisiert.

**Probenmaterial:** 3 ml EDTA-Blut. Bei längeren Transportzeiten (>30 min) ist die Probenanlieferung bei 4-8°C erforderlich (nicht frieren!). Zur Durchführung dieser Analyse ist keine Einverständniserklärung erforderlich!

**Anforderung:** Bei manueller Anforderung im Feld *Zusatzanalytik* „CYP2C9-Genotypisierung“ vermerken oder online unter „CYP2C9-Genotypisierung“ anfordern.

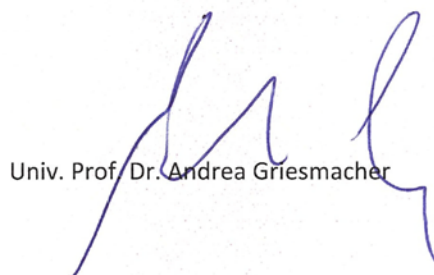
Bei Rückfragen: Tel.: 81590 (Werner Wohlfarter), 81173 (Dr. Loacker), 82549 (Prof. Weigel)

**Dauer der Untersuchung:** Ca. 1 Woche nach Probeneingang.


Für weitere Fragen stehen wir gerne zur Verfügung



Ao. Univ. Prof. Dr. Günter Weigel



Univ. Prof. Dr. Andrea Griesmacher



Mag. pharm. Dr. Gerhard Speer  
Direktor der Anstaltsapotheke

Innsbruck, im Juli 2011

**Anhang:** Empfehlungen der Royal Dutch Association for the Advancement of Pharmacy für CYP2C9 Dosisanpassungen (Swen et al, Clinical Pharmacology & Therapeutics 89, 662-673 (May 2011))

## CYP2C9

Acenocoumarol <sup>a</sup>	6,811	*1/*2	4	F	Yes	Check INR more frequently after initiating or discontinuing NSAIDs	231–249
		*2/*2	4	F	Yes	Check INR more frequently after initiating or discontinuing NSAIDs	231–236, 238–249
		*1/*3	4	F	Yes	Check INR more frequently after initiating or discontinuing NSAIDs	231–250
		*2/*3	4	F	Yes	Check INR more frequently after initiating or discontinuing NSAIDs	232–250
		*3/*3	4	F	Yes	Check INR more frequently during dose titration and after initiating or discontinuing NSAIDs	231–234, 238, 242–245, 247, 250, 251
Glibenclamide	86	*1/*2	3	AA	Yes	No	252–254
		*2/*2	3	AA	Yes	No	252, 254
		*1/*3	3	B	Yes	No	252–255
		*2/*3	3	AA	Yes	No	252, 254, 256
		*3/*3	3	A	Yes	No	254, 256
Gliclazide	912	*1/*2	3	AA#	Yes	No	257–259
		*2/*2	3	AA#	Yes	No	257, 259
		*1/*3	3	AA#	Yes	No	257–260
		*2/*3	3	AA#	Yes	No	257
		*3/*3	3	AA#	Yes	No	257
Drug	Subjects (N)	Genotype or phenotype	Level of evidence	Clinical relevance	Gene–drug interaction	Therapeutic (dose) recommendation	References
Glimepiride	442	*1/*2	3	AA	Yes	No	252, 253, 256, 258
		*2/*2	4	AA	Yes	No	252
		*1/*3	4	AA#	Yes	No	252, 253, 256, 258, 261, 262
		*2/*3	3	D	Yes	No	252, 253, 256
		*3/*3	3	D	Yes	No	256, 262
Phenprocoumon <sup>a</sup>	1,802	*1/*2	4	F	Yes	No	239–242, 263–271
		*2/*2	4	F	Yes	Check INR more frequently	239–242, 264–269, 271
		*1/*3	4	F	Yes	No	239–242, 263–269, 271
		*2/*3	4	F	Yes	Check INR more frequently	239–242, 263–267, 269, 271
		*3/*3	4	D	Yes	Check INR more frequently	264–267, 269
Phenytoin	1,354	*1/*2	4	A	Yes	Standard loading dose. Reduce maintenance dose by 25%. Evaluate response and serum concentration after 7–10 days. Be alert to ADEs (e.g., ataxia, nystagmus, dysarthria, sedation)	272–278
		*2/*2	4	A	Yes	Standard loading dose. Reduce maintenance dose by 50%. Evaluate response and serum concentration after 7–10 days. Be alert to ADEs (e.g., ataxia, nystagmus, dysarthria, sedation)	272–274, 276–278
		*1/*3	4	D	Yes	Standard loading dose. Reduce maintenance dose by 25%. Evaluate response and serum concentration after 7–10 days. Be alert to ADEs (e.g., ataxia, nystagmus, dysarthria, sedation)	272–275, 278–286
		*2/*3	4	A	Yes	Standard loading dose. Reduce maintenance dose by 50%. Evaluate response and serum concentration after 7–10 days. Be alert to ADEs (e.g., ataxia, nystagmus, dysarthria, sedation)	273, 277
		*3/*3	4	D	Yes	Standard loading dose. Reduce maintenance dose by 50%. Evaluate response and serum concentration after 7–10 days. Be alert to ADEs (e.g., ataxia, nystagmus, dysarthria, sedation)	272, 274–276, 286–290
Tolbutamide	544	*1/*2	3	A	Yes	No	252, 291–295
		*2/*2	3	A	Yes	No	252, 291, 293, 294
		*1/*3	3	B	Yes	No	252, 291–297
		*2/*3	3	A	Yes	No	252, 294, 295
		*3/*3	3	A	Yes	No	294–296