

UTJECAJ POLIMORFIZAMA *CYP3A4/5* I *CYP2D6* NA SERUMSKE KONCENTRACIJE RISPERIDONA I 9-OH RISPERIDONA KOD PACIJENATA NA TERAPIJI PRIPRAVKOM RISPERIDONA S PRODULJENIM OSLOBAĐANJEM

Lana Ganoci, Mila Lovrić, Maja Živković, Marina Šagud, Nada Božina

Odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku

Klinički bolnički centar Zagreb



8. kongres HDMBLM s međunarodnim sudjelovanjem. Rijeka, 2015.



Pripravak risperidona s produljenim oslobađanjem

- antipsihotik druge generacije
- u obliku injekcije za i.m. primjenu (interval doziranja - 14 dana)
- indiciran je za terapiju održavanja u liječenju shizofrenije
- kod bolesnika koji su stabilizirani oralnim antipsihotikom



Pripravci antipsihotika s produljenim oslobađanjem smanjuju rizik povrata simptoma zbog (ne)suradljivosti pacijenata u odnosu na oralne pripravke.

Risperidal® CONSTA®: 25 mg, 37.5 mg, 50 mg

Doza od 75 mg u kliničkim ispitivanjima nije pokazala bolju učinkovitost od doze od 50 mg, ali je imala veću učestalost nuspojava.

Pripravak risperidona s produljenim oslobađanjem

- smatra(o) se sigurnim i učinkovitim lijekom,
- međutim :
 - iskustva iz kliničke prakse
 - podaci iz znanstvene literature
 - prijave HALMED o nedjelotvornosti



varijabilnosti učinkovitosti
promjene intervala doziranja

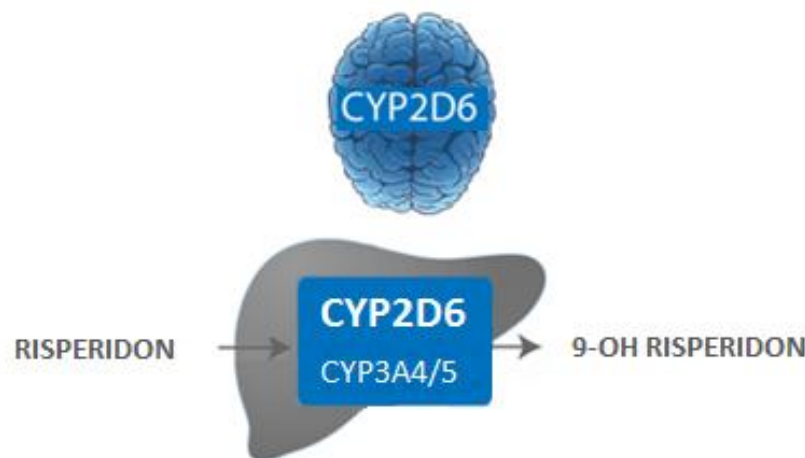
? farmakogenetički biljezi

**koji bi mogli pridonijeti optimizaciji terapije
s ciljem poboljšanja učinkovitosti i sigurnosti primjene lijeka**

? farmakogenetički biljezi

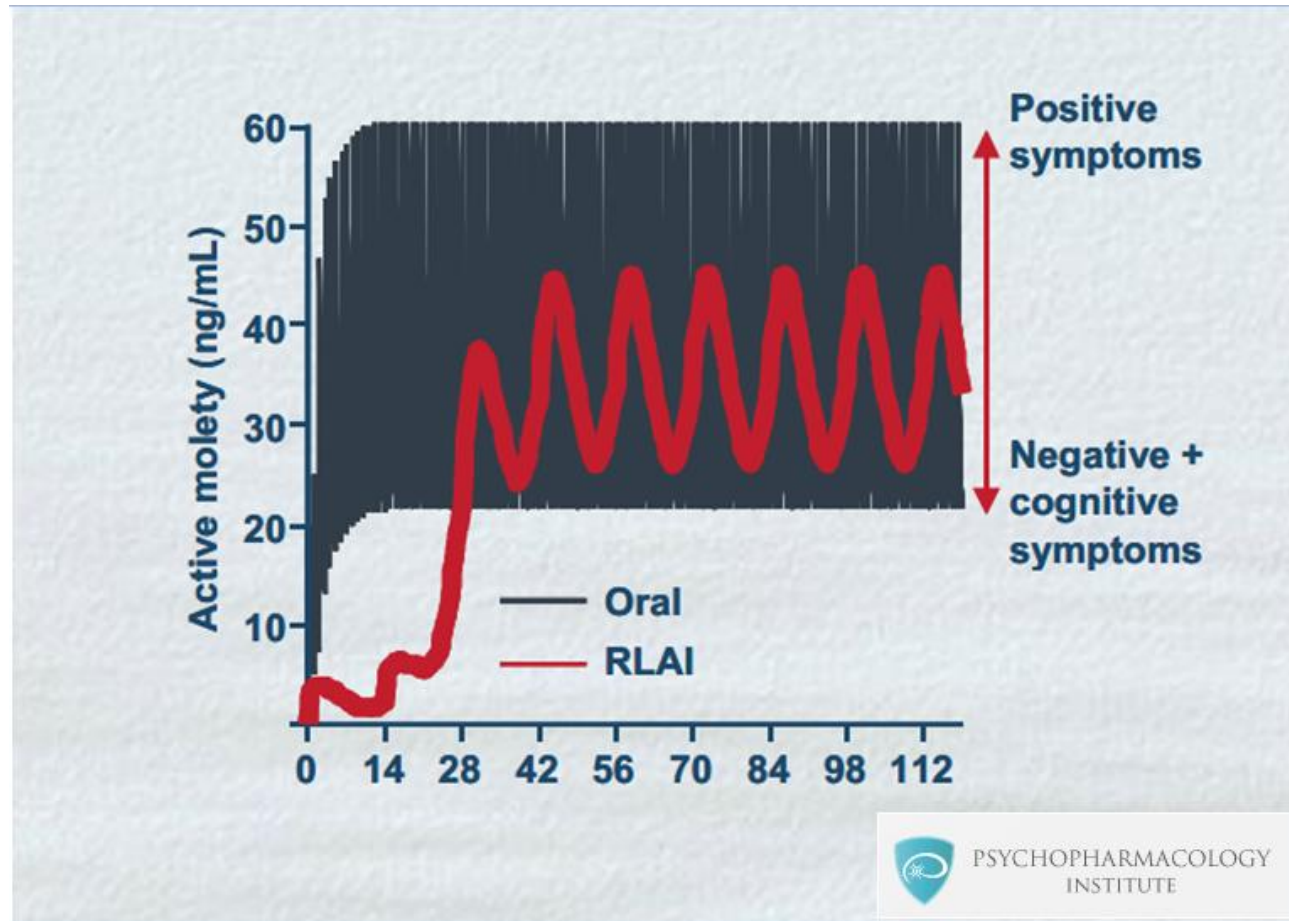
- risperidon se metabolizira se u aktivni oblik 9-OH risperidon:
 - uglavnom putem polimorfnog metaboličkog enzima **CYP2D6**:
*dupl, *3, *4, *5, *6 i *41
 - u manjoj mjeri putem **CYP3A4/5**:
CYP3A4*22 i CYP3A5*3

važni su za farmakokinetiku risperidona što se može odraziti i na ukupan terapijski odgovor u psihijatrijskih bolesnika



antipsihotični učinak pripisuje se zajedničkom djelovanju risperidona i 9-OH risperidona:
RIS + 9-OHRIS

Farmakokinetika



Preporučeni terapijski raspon*: **50-150 nmol/L (RIS + 9-OHRIS)**
20–60 ng/mL (RIS + 9-OHRIS)

CYP2D6

CYP2D6 genotip / fenotip

❑ SPORI METABOLIZATORI poor metabolizer (PM)

nosioi dva mutirana alela
(izostanak enzimske aktivnosti)

❑ SREDNJE BRZI METABOLIZATORI intermediate metabolizer (IM)

nosioi jednog mutiranog alela
ili dva alela smanjene funkcije
(smanjena enzimaska aktivnost)

❑ BRZI METABOLIZATORI extensive metabolizer (EM)

nosioi dva funkcionalna alela,
ili jednog funkcionalnog i jednog
alela smanjene funkcije
(normalna enzimaska aktivnost)

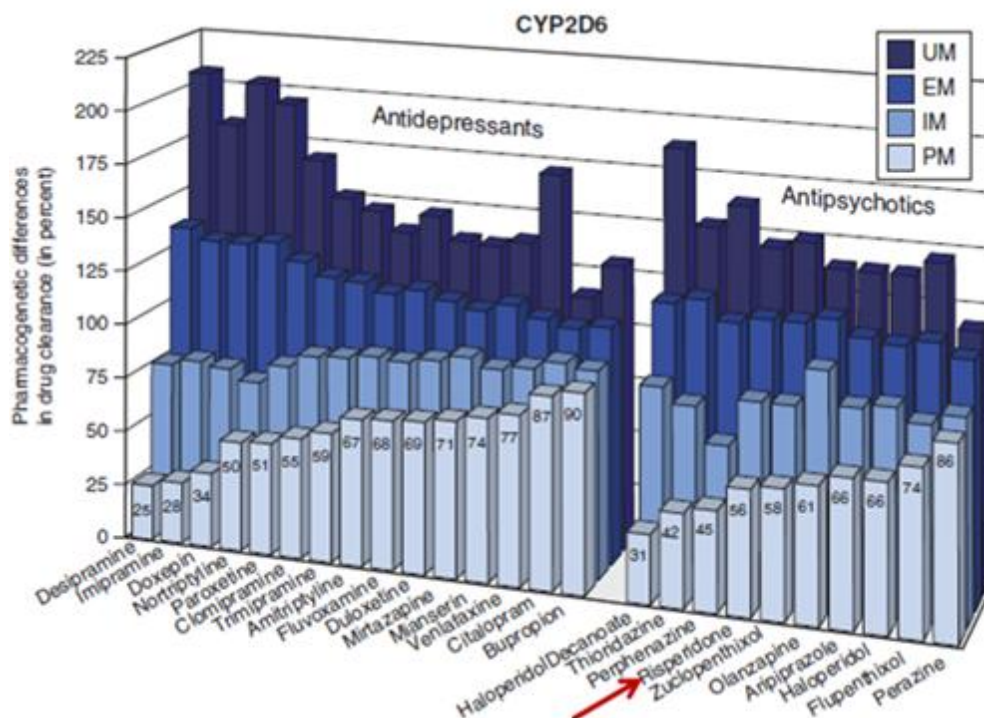
❑ VRLO BRZI METABOLIZATORI ultrarapid metabolizer (UM)

nosioi više od dva funkcionalna alela
(povišena enzimaska aktivnost)

Nefunkcionalni aleli: *3, *4, *5, *6

Alel smanjene funkcije: *41

Duplikacije gena: *dupl



Dutch Pharmacogenetics Working Group Guideline for risperidone and CYP2D6

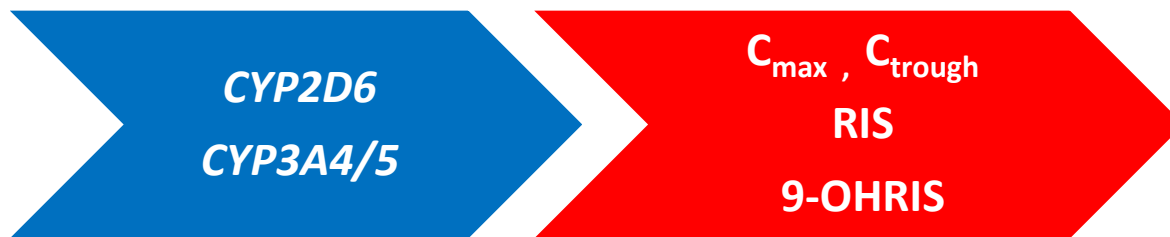
Phenotype (Genotype)	Therapeutic Dose Recommendation	Level of Evidence	Clinical Relevance
PM (two inactive (*3-*8, *11-*16, *19-*21, *38, *40, *42) alleles)	Insufficient data to allow calculation of dose adjustment. <u>Select alternative drug</u> (e.g., quetiapine, olanzapine, clozapine) or be extra alert to ADEs and adjust dose to clinical response.	Published controlled studies of good quality* relating to phenotyped and/or genotyped patients or healthy volunteers, and having relevant pharmacokinetic or clinical endpoints.	Clinical effect (S): long-standing discomfort (> 168 hr), permanent symptom or invalidating injury e.g. failure of prophylaxis of atrial fibrillation; venous thromboembolism; decreased effect of clopidogrel on inhibition of platelet aggregation; ADE resulting from increased bioavailability of phenytoin; INR > 6.0; neutropenia 0.5-1.0x10 ⁹ /l; leucopenia 1.0-2.0x10 ⁹ /l; thrombocytopenia 25-50x10 ⁹ /l; severe diarrhea.
IM (two decreased-activity (*9, *10, *17, *29, *36, *41) alleles or carrying one active (*1, *2, *33, *35) and one inactive (*3-*8, *11-*16, *19-*21, *38, *40, *42) allele, or carrying one decreased-activity (*9, *10, *17, *29, *36, *41) allele and one inactive (*3-*8, *11-*16, *19-*21, *38, *40, *42) allele)	Insufficient data to allow calculation of dose adjustment. <u>Select alternative drug</u> (e.g., quetiapine, olanzapine, clozapine) or be extra alert to ADEs and adjust dose to clinical response.	Published controlled studies of good quality* relating to phenotyped and/or genotyped patients or healthy volunteers, and having relevant pharmacokinetic or clinical endpoints.	Clinical effect (S): long-standing discomfort (48-168 hr) without permanent injury e.g. failure of therapy with tricyclic antidepressants, atypical antipsychotic drugs; extrapyramidal side effects; parkinsonism; ADE resulting from increased bioavailability of tricyclic antidepressants, metoprolol, propafenone (central effects e.g. dizziness); INR 4.5-6.0; neutropenia 1.0-1.5x10 ⁹ /l; leucopenia 2.0-3.0x10 ⁹ /l; thrombocytopenia 50-75x10 ⁹ /l.
UM (a gene duplication in absence of inactive (*3-*8, *11-*16, *19-*21, *38, *40, *42) or decreased-activity (*9, *10, *17, *29, *36, *41) alleles)	Insufficient data to allow calculation of dose adjustment. <u>Select alternative drug</u> (e.g., quetiapine, olanzapine, clozapine) or be extra alert to ADEs and adjust dose to clinical response.	Published controlled studies of good quality* relating to phenotyped and/or genotyped patients or healthy volunteers, and having relevant pharmacokinetic or clinical endpoints.	Clinical effect (S): long-standing discomfort (48-168 hr) without permanent injury e.g. failure of therapy with tricyclic antidepressants, atypical antipsychotic drugs; extrapyramidal side effects; parkinsonism; ADE resulting from increased bioavailability of tricyclic antidepressants, metoprolol, propafenone (central effects e.g. dizziness); INR 4.5-6.0; neutropenia 1.0-1.5x10 ⁹ /l; leucopenia 2.0-3.0x10 ⁹ /l; thrombocytopenia 50-75x10 ⁹ /l.

Cilj studije

Ispitati utjecaj farmakogenetičkih biljega **CYP2D6 *dupl,*3, *4, *5, *6**

uključujući i dodatne analize **CYP2D6 *41, CYP3A4*22 i CYP3A5*3**

na vršne ($C_{\max}$) i ostatne (C_{trough}) serumske koncentracije **RIS i 9-OHRIS**
u stanju dinamičke ravnoteže kod pacijenata sa shizofrenijom
na terapiji pripravkom risperidona s produljenim oslobađanjem



Dizajn studije

- prospektivna, nerandomizirana, opservacijska

Regrutacija ispitanika u dva centra:

Neuropsihijatrijska bolnica “dr. Ivan Barbot”, Popovača
Klinika za psihijatriju, KBC Zagreb

Metode i tijek studije:

- uzorkovanje krvi za **određivanje koncentracije lijeka i genotipizaciju**
- ocjena simptoma bolesti i uspješnosti liječenja
- ocjena ekstrapiramidnih simptoma i drugih nuspojava

polimorfizam → sistemska izloženost → djelotvornost/sigurnost



Studija je izvedena u skladu s odredbama Helsinške deklaracije i Dobre klinčke prakse.
Protokol studije je odobren od strane etičkih tijela u svakom od centara.
Svi ispitanici su dali informirani pristanak za sudjelovanje u ovoj studiji.

Ispitanici

- **70 ispitanika**

Uključni kriteriji:

- dijagnoza shizofrenije prema WHO ICD-10* and DSM-IV**
- postoji indikacija za liječenje risperidonom s produljenim otpuštanjem
- dob 18-60 godina

Isključni kriteriji:

- dijagnosticirana ozbiljna organska bolest
- dijagnosticirana ozbiljna neurološka bolest
- teža trauma glave
- ovisnost bilo koje vrste u zadnjih 6 mjeseci

*kriteriji Svjetske zdravstvene organizacije ICD-10

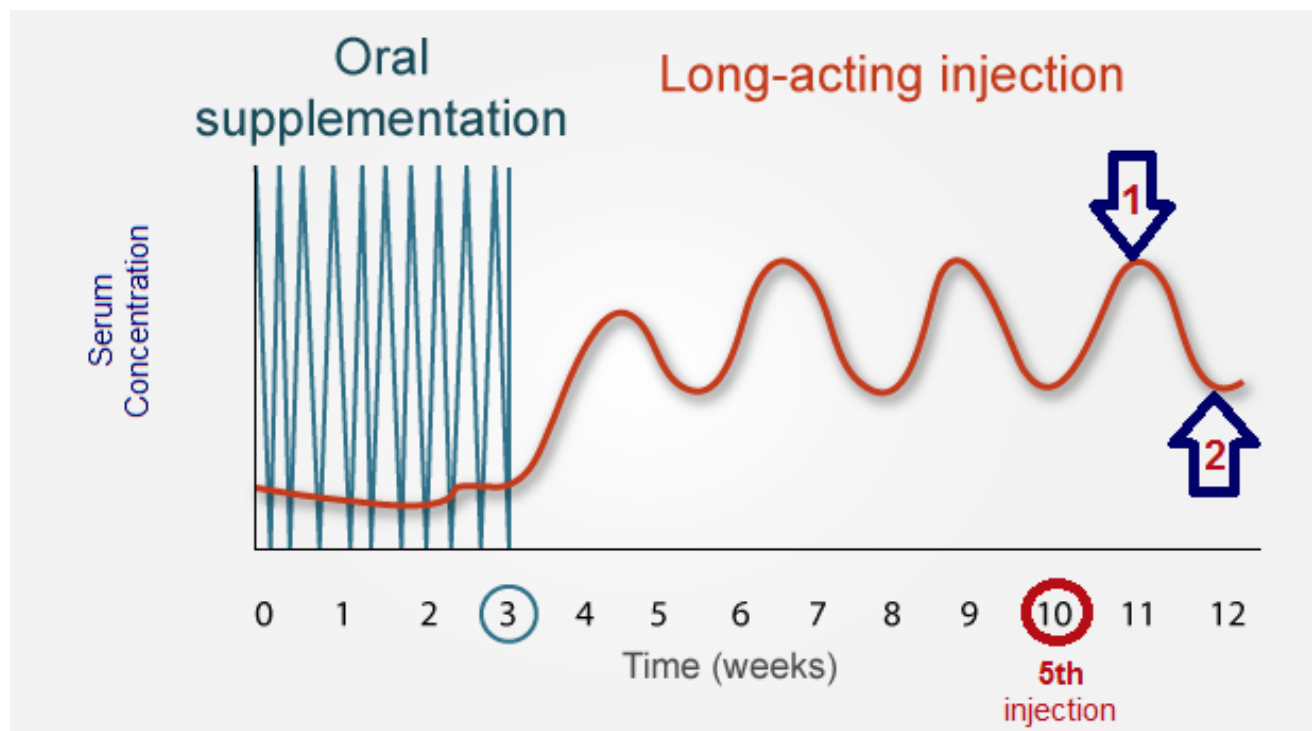
International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD), produced by the World Health Organization (WHO)

**kriteriji Američkog psihijatrijskog društva DSM-IV

DSM-IV = Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition, by the American Psychiatric Association

Uzorkovanje krvi

uzorak za genotipizaciju (1 epruveta, antikoagulant EDTA) bilo kada



uzorkovanje za konc. u 2 točke u stanju dinamičke ravnoteže (eng. *steady state*)

1

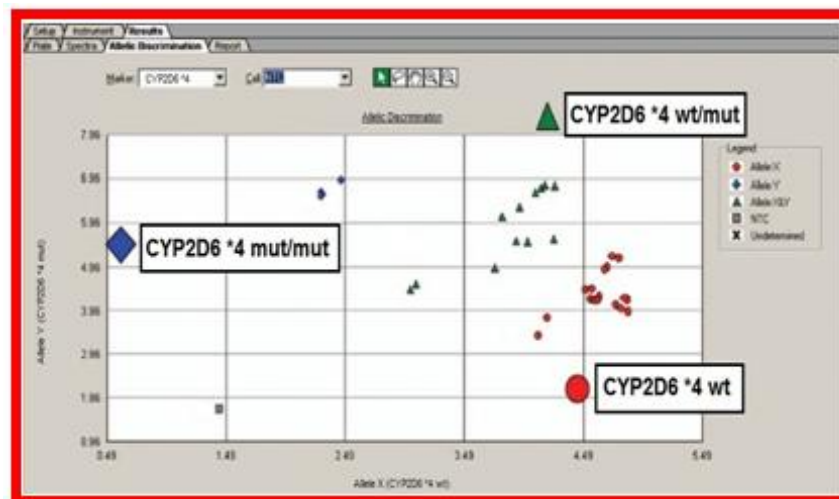
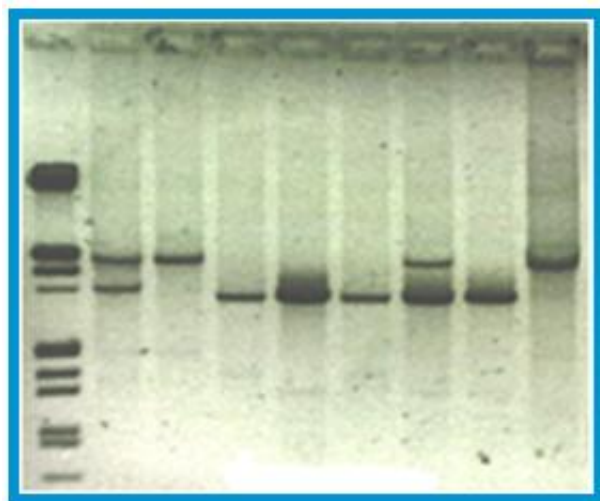
u vrijeme očekivane vršne ekspozicije ($C_{\max}$) – 5. dan nakon 5. injekcije

2

neposredno prije iduće doze injekcije (C_{trough}) – 14. dan nakon 5. injekcije

Farmakogenetičke analize

- Metode:
 - ➔ *long-range* PCR - CYP2D6 *2 (dupl), *5 (del)
 - ➔ *real-time* PCR *TaqMan*[®] – CYP2D6 *3, *4, *6, *41
CYP3A4 *22, CYP3A5*3

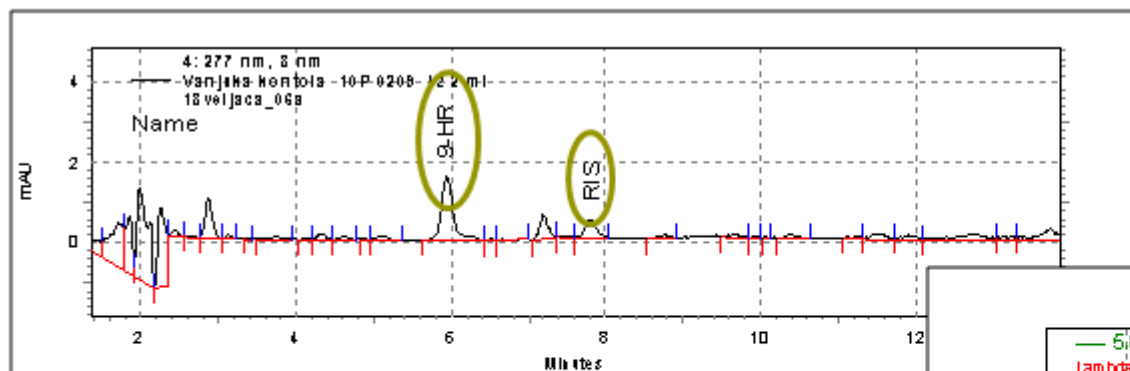


Sve metode genotipizacije redovito sudjeluju u vanjskoj procjeni kvalitete *RfB DGKL*.
Metode akreditirane prema ISO15189: CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP3A4*22, CYP3A5*3.

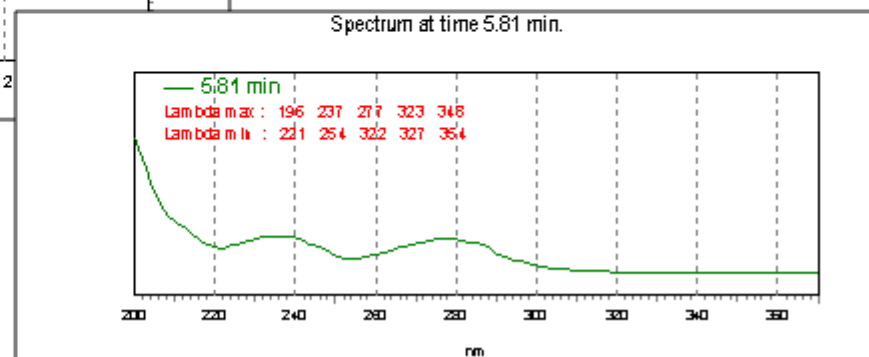
Serumske koncentracije RIS i 9-OH RIS

Metoda*:

tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti s DAD detektorom (HPLC-DAD)
na uređaju (Shimadzu SCL-10A)



Serumske koncentracije
dose/corrected koncentracije (C/D)
Metabolički omjer RIS/9-OHRIS



Uzorkovanje - mjerenje konc. u 2 točke:

(C_{max}) – 5. dana nakon injekcije

(C_{trough}), tj. **ujutro 14. dana**

* Bozina N et al. Ther Drug Monit. 2008;30(6):748-51. Rutinska TDM metoda s redovitim sudjelovanjem u vanjskoj procjeni kvalitete LGC.

Rezultati

Medijan zbroja koncentracija (RIS + 9-OHRIS)

5. dan = 76.4 nmol/L (95%CI=56.8-102.2)

14. dan = 42.3 nmol/L (95%CI=34.1-52.4)

dose/corrected koncentracije (C/D) na 14. dan su bile značajno niže u odnosu na 5. dan:

RIS(p=0.0005)

9-OH RIS (p<0.0001)

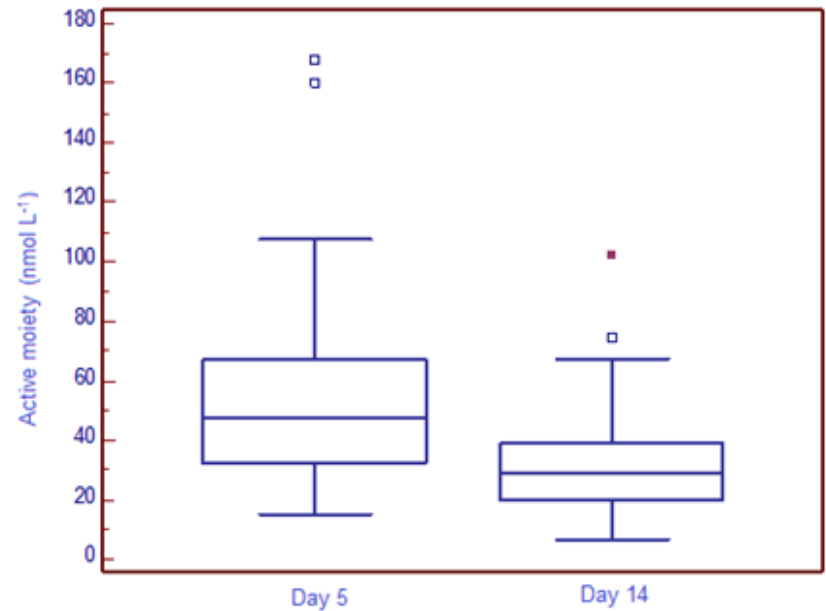
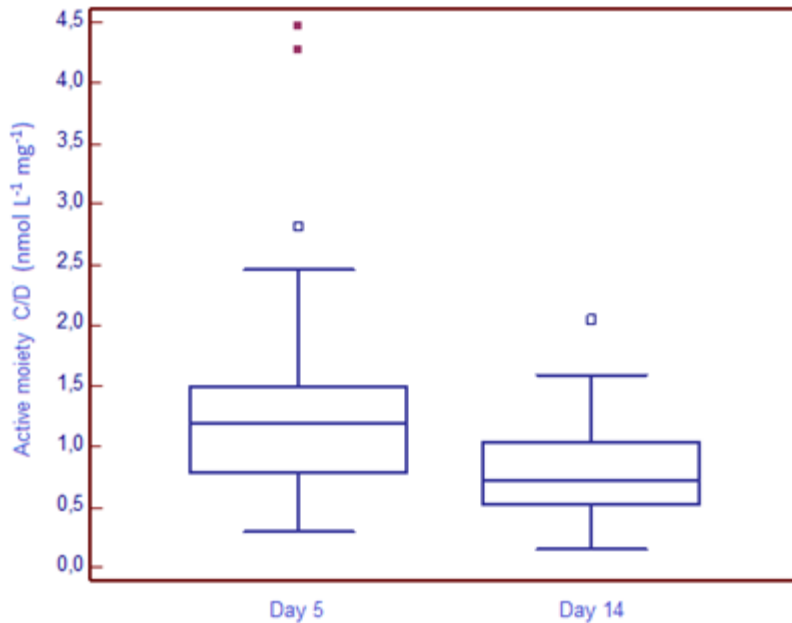
RIS + 9-OH RIS (p<0.0001)

serumske koncentracije na 14. dan su bile značajno niže u odnosu na 5. dan:

RIS(p=0.0003)

9-OH RIS (p<0.0001)

RIS + 9-OH RIS (p<0.001)



Mann -Whitney U test, p <0.05

Rezultati

Distribucija genotipa *CYP2D6* :

Genotipizacijom alela *41
identificirano je dodatna
3 spora metabolizatora (PM) i
3 intermedijarna metabolizatora (IM)

Genotip <i>CYP2D6</i>	Genotip <i>CYP2D6</i> u ispitanika	Ispitanici (n=70)	Ispitanici (%)	*Genotip <i>CYP2D6</i> u populaciji (%)
PM	*3/*4 (n=1) *4/*4 (n=1) *5/*41 (n=1) *4/*41 (n=2)	5	7,1	3,1
IM	*1/*3 (n=4) *1/*4 (n=16) N x *1/*4 (n=4) *41/*41 (n=3)	27	32,9	32,7
EM	*1/*1 (n=26) *1/*41 (n=8) N x *1/*41 (n=1)	35	48,6	60,1
UM	N x *1/*1	3	4,3	4,1

Rezultati

Razlike u konc. i metaboličkom omjeru RIS i 9-OHRIS ovisno o genotipu *CYP2D6*:

Genotip / fenotip	Ispitanici (n=70)	konc. RIS (nmol/L) 5. dan	konc. 9-OHRIS (nmol/L) 5. dan	konc. RIS + 9-OHRIS (nmol/L) 5. dan	*Metabolički omjer RIS/9-OHRIS 5. dan	konc. RIS (nmol/L) 14. dan	konc. 9-OHRIS (nmol/L) 14. dan	konc. RIS + 9-OHRIS (nmol/L) 14. dan	*Metabolički omjer RIS/9-OHRIS 14. dan
<i>CYP2D6</i>									
PM	5	86,0	44,5	124,4	1,8	51,8	37,0	85,7	1,2
IM	27	25,0	50,2	78,8	0,8	14,2	28,2	44,6	0,5
EM	35	17,2	43,7	67,4	0,4	10,2	30,3	39,5	0,3
UM	3	10,3	38,6	48,9	0,3	8,8	29,7	38,5	0,3
								p = 0.042	

Koncentracije su izražene kao medijan uz 95% -tni interval pouzdanosti (CI) ovisno o genotipu - Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$).

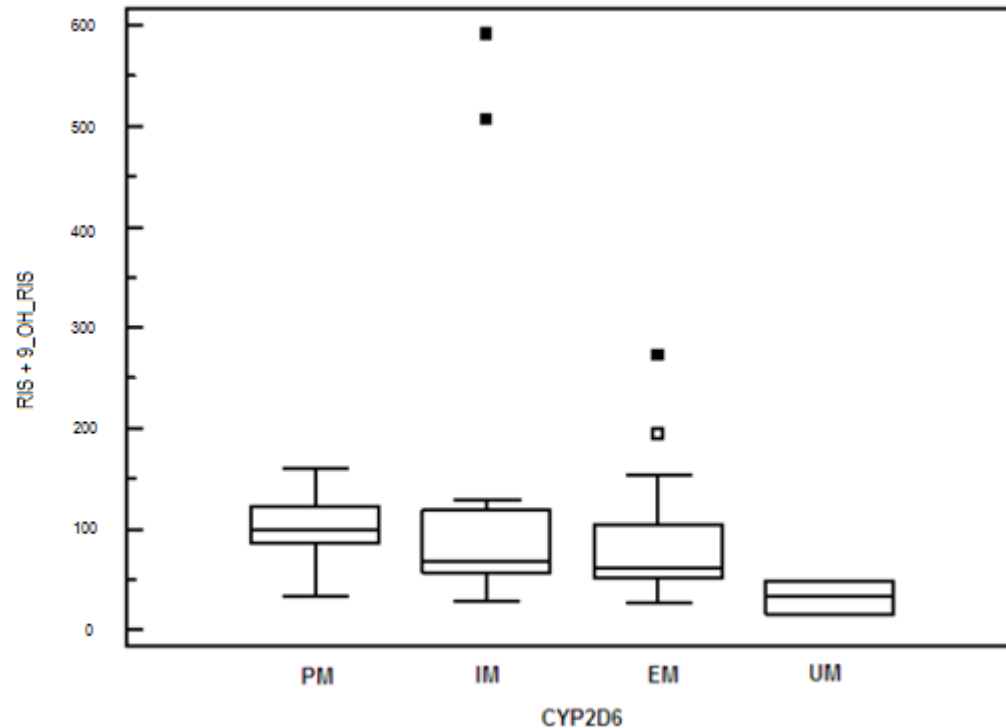
Koncentracije RIS + 9-OHRIS na 14 dan su se statistički značajno razlikovale ovisno genotipu *CYP2D6*

! polimorfizmi *CYP3A422 i *CYP3A5**3 nisu pokazali utjecaj na ravnotežne koncentracije RIS i 9-OHRIS**

Rezultati

Serumske ravnotežne koncentracije (RIS + 9-OHRIS) ovisno o genotipu *CYP2D6*

Medijan zbroja koncentracija (RIS + 9-OHRIS) na 5. dan



PM = spori metabolizatori, IM = srednje brzi metabolizatori, EM = brzi metabolizatori, UM = vrlo brzi metabolizatori

Zaključci

Genotip *CYP2D6* je pokazao značajan utjecaj na ravnotežne koncentracije RIS i 9-OHRIS

- koncentracije RIS i 9-OHRIS kod *CYP2D6* vrlo brzih metabolizatora (UM) na 5. i 14. dan su bile **značajno niže i izvan preporučenog terapijskog raspona**
- ispitanici koji su *CYP2D6* brzi (EM) ili *CYP2D6* vrlo brzi metabolizatori (UM) su bili poddozirani te su izloženi većem riziku relapsa bolesti

Genotipizacija *CYP2D641 je važna za dodatno otkrivanje :**

***CYP2D6* sporih metabolizatora (PM) i *CYP2D6* srednje brzih metabolizatora (IM)**

*CYP3A4**22 i *CYP3A5**3 nisu pokazali utjecaj na ravnotežne koncentracije RIS i 9-OH RIS



Koncentracije RIS i 9-OHRIS pokazale su velike interindividualne razlike.

Prilagodbe doza prema genotipu mogu doprinjeti optimizaciji i individualizaciji terapije.

Zahvale

- **prof.dr.sc. Nada Božina**

Odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije, KZLD, KBC Zagreb
Zavod za farmakologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu



- dr.sc. Mila Lovrić

Odjel za multidisciplinarnu primjenu kromatografije, KZLD, KBC Zagreb



- dr.sc. Maja Živković, Neuropsihijatrijska bolnica "dr. Ivan Barbot", Popovača

- doc. dr.sc. Marina Šagud, Klinika za psihijatriju, KBC Zagreb





Hvala na pažnji !

lana.pejnovic@gmail.com