

# Associatie van genetische variatie in CYP1A2 en UGT1A4 met metabole stoornissen bij gebruikers van clozapine en olanzapine

Nicole M.G. Looman <sup>a\*</sup>, Maja Matic <sup>b</sup>, Hans Mulder <sup>c</sup>, René van Hulst <sup>a</sup>, Ron H.N. van Schaik <sup>b</sup> en Richard Bruggeman <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Afdeling Klinische Farmacie, Martini Ziekenhuis Groningen.

<sup>b</sup> Afdeling Klinische Chemie, Erasmus MC Rotterdam.

<sup>c</sup> Afdeling Klinische Farmacie, Wilhelmina Ziekenhuis Assen.

<sup>d</sup> Universitair Centrum Psychiatrie, Universitair Medisch Centrum Groningen.

\* Correspondentie: n.looman@mzh.nl.

## KERNPUNTEN

- Metabole stoornissen vormen een probleem bij de toepassing van clozapine en olanzapine.
- Genetische factoren spelen een rol bij het ontstaan van deze bijwerkingen.
- De invloed van polymorfismen van metabole enzymen op het ontstaan van metabole bijwerkingen is onduidelijk.
- Uit dit onderzoek blijkt dat er geen relatie bestaat tussen genetische variatie in CYP1A2 en UGT1A4 en het optreden van metabool syndroom bij gebruikers van clozapine en olanzapine.

## Inleiding

Met het toegenomen gebruik van clozapine en olanzapine bij de behandeling van psychotische stoornissen zijn metabole stoornissen als bijwerkingen van deze middelen steeds meer voor het voetlicht gekomen [1]. Het mechanisme achter het ontstaan van metabole stoornissen is niet volledig opgehelderd. Wel is duidelijk dat genetische factoren bijdragen aan het optreden van dergelijke bijwerkingen. Hoewel er veel genetisch onderzoek is verricht naar de farmacodynamiek van metabole bijwerkingen, is informatie schaars over de invloed die metabole stoornissen ondervinden van polymorfe enzymen die betrokken zijn bij de afbraak van antipsychotica [2]. Dit komt onder meer doordat onduidelijkheid bestaat over een eventuele relatie tussen doseringen en/of bloedspiegels van antipsychotica en het optreden van metabole stoornissen [3-6].

Het metabolisme van clozapine en olanzapine is voor het grootste deel afhankelijk van CYP1A2-activiteit. Daarnaast speelt UDP-glucuronosyltransferase (UGT) een belangrijke rol bij de afbraak van olanzapine [2]. De activiteit van beide enzymen wordt beïnvloed door genetische variatie, welke daarmee hypothetisch de mate van blootstelling aan deze antipsychotica alsmede de mate van receptorbezetting zou kunnen beïnvloeden.

Het doel van dit onderzoek is het analyseren van de associatie tussen genetische variatie in CYP1A2 en UGT1A4 en het optreden van metabole stoornissen bij clozapine en olanzapine.

## ABSTRACT

*Association between genetic variation in CYP1A2 and UGT1A4 and the occurrence of metabolic disorders in patients using clozapine and olanzapine*

### OBJECTIVE

To investigate the association between genetic polymorphisms in enzymes involved in the metabolism of clozapine and olanzapine and the occurrence of metabolic disorders in psychiatric patients using these antipsychotics. CYP1A2 is the main enzyme involved in the metabolism of clozapine. For olanzapine both CYP1A2 and UGT1A4 play a major role in its metabolism. Both enzymes are known to be polymorphic and can therefore influence exposure to these drugs, which may lead to interindividual differences in the occurrence of metabolic side effects.

### DESIGN

Observational, cross-sectional study.

### METHODS

72 Adult patients using clozapine and 94 adult patients using olanzapine were included in the study. Research data, e.g. age, gender, medication data and data on physical well-being, were obtained from an anonymous database. Genetic data on CYP1A2\*1F, CYP1A2\*1C and UGT1A4\*3B were obtained by genotyping samples of included subjects using validated TaqMan and RFLP-PCR assays. The occurrence of metabolic syndrome was the primary endpoint of this study, individual metabolic disorders were the secondary endpoints. Associations between metabolic disorders and polymorphisms were tested by regression analysis.  $P < 0.05$  was regarded as significant.

### RESULTS

No association was found between polymorphisms in CYP1A2 or UGT1A4 and the occurrence of metabolic syndrome in patients using clozapine or olanzapine. For the secondary outcome measures, associations were found for the CYP1A2\*1F allele and glucose and HDL cholesterol levels.

### CONCLUSION

Genetic variation in CYP1A2 and UGT1A4 is not associated with the occurrence of metabolic syndrome in patients using clozapine or olanzapine.

Looman NMG, Matic M, Mulder H, van Hulst R, van Schaik RHN, Bruggeman R. Associatie van genetische variatie in CYP1A2 en UGT1A4 met metabole stoornissen bij gebruikers van clozapine en olanzapine. *PW Wetenschappelijk Platform*. 2013;7:a1310.

TABEL 1

## Patiëntenpopulatie

|                                             | Olanzapine (N = 94) | Clozapine (N = 72) |
|---------------------------------------------|---------------------|--------------------|
| Gemiddelde leeftijd (sd)                    | 37 (10)             | 40 (10)            |
| Geslacht                                    |                     |                    |
| • man                                       | 67 (71%)            | 51 (71%)           |
| • vrouw                                     | 27 (29%)            | 21 (29%)           |
| Gemiddelde dosering in mg (spreiding)       | 13,9 (2,5-40)       | 337 (25-800)       |
| Rookgedrag                                  |                     |                    |
| • roker                                     | 61 (65%)            | 44 (61%)           |
| • niet-roker                                | 33 (35%)            | 28 (39%)           |
| Somatische stoornissen                      |                     |                    |
| • overgewicht (BMI > 25 kg/m <sup>2</sup> ) | 63 (68%)            | 48 (69%)           |
| • obesitas (BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> )    | 22 (24%)            | 31 (44%)           |
| • hypertriglyceridemie†                     | 51 (59%)            | 38 (59%)           |
| • verlaagd HDL-cholesterolgehalte†          | 36 (43%)            | 33 (52%)           |
| • hypertensie†                              | 48 (52%)            | 41 (59%)           |
| • glucose-intolerantie†                     | 30 (34%)            | 36 (55%)           |
| • metabool syndroom†                        | 38 (43%)            | 38 (59%)           |
| Genotypes CYP1A2                            |                     |                    |
| • gegevens ontbreken                        | 2                   | 2                  |
| • WT                                        | 10 (11%)            | 9 (13%)            |
| • WT/*1F                                    | 50 (54%)            | 20 (29%)           |
| • *1F/*1F                                   | 26 (28%)            | 41 (59%)           |
| • *1F/( <sup>*</sup> 1C+ <sup>*</sup> 1F)   | 6 (7%)              | 0 (0%)             |
| Dragerschap UGT1A4*3B                       | 13 (15%)‡           | n.v.t.             |

BMI: body mass index; sd: standaarddeviatie; WT: wildtype.

† Inclusief gebruik van medicatie tegen genoemde aandoeningen.

‡ Onder 89 olanzapinegebruikers waren 12 patiënten heterozygoot voor \*3B en 1 patiënt was homozygoot voor \*3B.

## Methoden

De onderzoekspopulatie bestond uit patiënten van drie psychiatrische instellingen (Universitair Centrum Psychiatrie Groningen, GGZ Friesland en Lentis) die participeerden in de *Pharmacotherapy Monitoring and Outcome Survey* (PHAMOUS). Het onderzoek was opgezet als een observationeel, cross-sectioneel onderzoek. Patiënten werden geïnccludeerd als zij 18 jaar of ouder waren, olanzapine óf clozapine gebruikten op het tijdstip van de meting, van Noord-Europese afkomst waren en schriftelijke toestemming hadden gegeven voor gebruik van gegevens en materiaal voor farmacogenetisch onderzoek. De lokale medisch-ethische toetsingscommissie heeft de studie goedgekeurd als onderdeel van het PHAMOUS-studieprotocol. Onderzoeksgegevens waren beschikbaar via de geanonimiseerde PHAMOUS-database. Onderzoeksdeterminanten bij clozapine en olanzapine waren de genotypen CYP1A2\*1F (−163C>A) en CYP1A2\*1C (−386G>A) en bij olanzapine tevens het dragerschap van het allel UGT1A4\*3B (142T>G). De primaire uitkomstmaat van het onderzoek was aanwezigheid van het metabool syndroom, conform de definitie van het National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel (ATP III), waarbij rekening is gehouden met het

gebruik van fibraten, statines, bloeddrukverlagende medicatie en antidiabetica. Secundaire uitkomstmaat was de aanwezigheid van afzonderlijke metabole stoornissen.

Voor de genotypering van CYP1A2\*1F werd gebruikgemaakt van een gevalideerde TaqMan-assay. Voor de genotypering van CYP1A2\*1C en UGT1A4\*3B is een gevalideerde *restriction fragment length polymorphism*-polymerasekettingreactie (RFLP-PCR) uitgevoerd. De associatie tussen metabole stoornissen en genotypes per gebruikersgroep is onderzocht met lineaire regressie voor continue variabelen en logistische regressie voor dichotome variabelen. Voor de *confounders* leeftijd, geslacht, diagnose, ziekte duur, dosering en roken is gecorrigeerd. Een P-waarde < 0,05 werd als significant beschouwd.

## Resultaten

In totaal zijn 166 patiënten geïnccludeerd voor dit onderzoek: 94 gebruikers van olanzapine en 72 gebruikers van clozapine. Tabel 1 geeft een overzicht van de patiëntkarakteristieken per groep. Het genotyperingsresultaat voor CYP1A2\*1C leverde alleen heterozygote subjecten op, die tegelijkertijd homozygoot waren voor

TABEL 2

## Relatie tussen genotype en metabool syndroom

|                     | Aantal | Metabool syndroom | OR (BI95)      | OR <sub>adj</sub> (BI95)† |
|---------------------|--------|-------------------|----------------|---------------------------|
| <b>Olanzapine</b>   |        |                   |                |                           |
| <i>CYP1A2*1F</i>    |        |                   |                |                           |
| • WT                | 10     | 3 (30%)           | n.v.t.         | n.v.t.                    |
| • heterozygoot *1F‡ | 47     | 20 (43%)          | 1,6 (0,3-7,2)  | 2,1 (0,3-17,0)            |
| • homozygoot *1F‡   | 29     | 14 (48%)          | 1,8 (0,4-9,1)  | 2,7 (0,3-21,4)            |
| • dragerschap *1F‡  | 76     | 34 (45%)          | 1,7 (0,4-7,3)  | 2,4 (0,3-17,4)            |
| <i>UGT1A4*3B</i>    |        |                   |                |                           |
| • WT                | 73     | 29 (40%)          | n.v.t.         | n.v.t.                    |
| • dragerschap *3B‡  | 11     | 6 (55%)           | 1,7 (0,5-6,1)  | 1,0 (0,2-4,6)             |
| <b>Clozapine</b>    |        |                   |                |                           |
| <i>CYP1A2*1F</i>    |        |                   |                |                           |
| • WT                | 9      | 3 (33%)           | n.v.t.         | n.v.t.                    |
| • heterozygoot *1F‡ | 18     | 10 (56%)          | 1,8 (0,3-9,7)  | 2,4 (0,3-22,1)            |
| • homozygoot *1F‡   | 35     | 24 (69%)          | 3,6 (0,7-17,6) | 6,0 (0,8-44,7)            |
| • dragerschap *1F‡  | 53     | 34 (64%)          | 2,8 (0,6-12,6) | 4,5 (0,7-31,1)            |

BI95: 95%-betrouwbaarheidsinterval; OR: odds ratio; WT: wildtype.

† Gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht, diagnose, ziekteduur, dosering van het gebruikte antipsychoticum en roken.

‡ OR berekend met WT-genotype als referentie.

*CYP1A2\*1F*. Omdat de resultaten in de groep \*1F/(*\*1C* + *\*1F*) niet significant afwaken van de resultaten in de groep \*1F/*\*1F*, zijn deze groepen samengevoegd voor de analyses. De gevonden frequentie van het \*1F-allel (67%) is hoger dan de frequentie van het wildtype-allel (*\*1A*) (33%). Dit is in overeenstemming met eerder gerapporteerde bevindingen voor Noord-Europese populaties [7]. Voor *UGT1A4* bleken 13 patiënten in de olanzapinegroep (15%) drager te zijn van het \*3B-allel.

De relatie tussen genotype en metabool syndroom is weergegeven in tabel 2. De waarde van de aangepaste odds ratio (OR<sub>adj</sub>) is tot stand gekomen na correctie voor de *confounders* leeftijd, geslacht, diagnose, ziekteduur, dosering en roken. In de onderzochte populatie werden te weinig inductoren en inhibitoren gebruikt om daarvoor te kunnen corrigeren. Correctie voor duur van de huidige behandeling met olanzapine of clozapine was niet mogelijk vanwege het ontbreken van gegevens voor een groot deel van de onderzoekspopulatie. Uit tabel 2 blijkt dat er geen relatie bestaat tussen het *CYP1A2*-genotype en het optreden van metabool syndroom bij gebruikers van clozapine en olanzapine. Hetzelfde geldt voor de relatie tussen het *UGT1A4*-genotype en het optreden van metabool syndroom onder olanzapinegebruikers.

Voor de secundaire uitkomstmaten werden enkele associaties gevonden. In de olanzapinegroep bleek meer glucose-onregeling op te treden in de \*1F/*\*1F*-groep dan in de referentiegroep ( $P = 0,041$ ). In de clozapinegroep werd een relatie gevonden tussen het *CYP1A2\*1F*-genotype en het niveau van HDL-cholesterol. Draggers van het \*1F-allel hadden een lager HDL-cholesterolgehalte dan wildtype-patiënten ( $P = 0,030$ ).

## Beschouwing

Er is geen associatie aangetoond tussen genetische variatie in *CYP1A2\*1F* of *UGT1A4\*3B* en het optreden van metabool syndroom bij gebruikers van clozapine of olanzapine. Bij de secundaire uitkomstmaten werd voor clozapine een relatie gevonden tussen genetische variatie in *CYP1A2\*1F* en het HDL-cholesterolniveau. Voor olanzapine is een relatie gevonden tussen variatie in ditzelfde enzym en glucose-onregeling.

Deze bevindingen dienen vanwege enkele tekortkomingen van deze studie met voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd. Ten eerste is de grootte van de onderzoekspopulatie beperkt. Op basis van de uitkomsten is achteraf een powerberekening uitgevoerd. Hieruit blijkt dat er voor een significant verschil aanmerkelijk grotere patiëntenaantallen nodig zijn (voor de clozapinegroep circa 300 patiënten, voor de olanzapinegroep circa 1800 patiënten). Het uitblijven van associaties is dus mogelijk het gevolg van een gebrek aan statistische bewijskracht. Daarnaast ontbraken van enkele patiënten de gegevens over de gebruiksduur van olanzapine en clozapine op het tijdstip van meten, waardoor hiervoor niet gecorrigeerd kon worden. Tot slot waren er geen gegevens beschikbaar over bloedspiegels. Deze gegevens hadden een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan de interpretatie van de associaties, gezien de informatie die zij kunnen geven over de relatie tussen dosering, genotype en fenotype. De oorzaak van het niet vinden van een significant resultaat is mogelijk gelegen in deze beperkingen van de studie. Tevens speelt binnen deze patiëntenpopulatie de bijdrage van het onderliggende ziektebeeld aan het optreden van metabole stoornissen een rol. Door homogeni-

teit van de geïncludeerde patiëntengroep ten aanzien van de onderliggende stoornis en correctie voor diagnose en ziekteduur is getracht hiermee zo veel mogelijk rekening te houden.

Bij de clozapinegebruikers is gekeken naar het polymorfe CYP1A2-enzym, het belangrijkste enzym in het metabolisme van clozapine. Van CYP1A2 is bekend dat het CYP1A2\*1F-allel geassocieerd is met een toename van de induceerbaarheid bij rokende patiënten en een afname van de blootstelling aan clozapine [8, 9]. Andere onderzoeken naar de effecten van CYP1A2\*1F onder clozapinegebruikers leverden echter geen resultaat op [7]. Het ontbreken van een associatie tussen genetische variatie in CYP1A2 en het optreden van metabool syndroom bij clozapinegebruikers in dit onderzoek sluit daarbij aan. Wel werd in het huidige onderzoek een relatie gevonden tussen CYP1A2\*1F en het HDL-cholesterolniveau. Gezien de tegenstrijdige resultaten met betrekking tot de invloed van CYP1A2\*1F is in de literatuur gesuggereerd dat een eventueel genetisch effect op de activiteit van CYP1A2 en daarmee op de uiteindelijke blootstelling aan clozapine, mogelijk kleiner is dan andere effecten, waaronder roken [10]. Stratificatie van resultaten op basis van rookgedrag resulteerde in te kleine patiëntenaantallen om hierover op basis van dit onderzoek iets te kunnen zeggen. Voor olanzapine is zowel gekeken naar genetische variatie in CYP1A2 als naar genetische variatie in UGT1A4, omdat beide enzymen een belangrijke rol spelen bij het metabolisme van olanzapine. Hoewel ook voor olanzapine de invloed is beschreven van het \*1F-allel op de induceerbaarheid van CYP1A2, met als gevolg lagere olanzapinespiegels [5], is in dit onderzoek geen relatie naar voren gekomen tussen genetische variatie in CYP1A2 en het optreden van metabool syndroom bij olanzapinegebruikers. Wel werd een relatie gezien tussen CYP1A2\*1F en glucose-ontregeling.

Met betrekking tot genetische variatie in UGT1A4 is bekend dat het variëte G-allel leidt tot een verlaging van de plasmaspiegel van olanzapine [11]. Op basis van het huidige onderzoek blijkt deze variatie echter geen aanleiding te geven tot een hoger risico op metabole stoornissen.

De resultaten van dit onderzoek suggereren dat een relatie tussen genetische variatie in CYP1A2 en UGT1A4 en het metabool syndroom bij gebruikers van clozapine en olanzapine ontbreekt. Deze bevinding sluit aan bij de twijfels die er bestaan omtrent de relatie tussen dosering, spiegels en metabole stoornissen. Wel is toekomstig onderzoek met grotere groepen patiënten nodig om harde uitspraken te kunnen doen, ook met betrekking tot afzonderlijke metabole parameters. Hierbij zouden bloedspiegelgegevens een belangrijke aanvulling kunnen zijn.

Gebaseerd op het registratieonderzoek van N.M.G. Looman.

Met dank aan Tim Visser, Behrooz Alizadeh, Asmar Al Hadithy en Judith Kraaijeveld voor hun bijdrage aan dit onderzoek.

Geen belangenverstrengeling gemeld.

#### LITERATUUR

- 1 Scheepers-Hoeks AMJW, Wessels-Basten SJW, Scherders MJWT, et al. Schizofrenie en antipsychotica: samenhang met het metabool syndroom. Tijdschr Psychiatr. 2008;50(10):645-54.
- 2 Arranz MJ, de Leon J. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of schizophrenia: a review of last decade of research. Mol Psychiatry. 2007 aug;12(8):707-47.
- 3 Melkersson KI, Scordo MG, Gunes A, Dahl ML. Impact of CYP1A2 and CYP2D6 polymorphisms on drug metabolism and on insulin and lipid elevations and insulin resistance in clozapine-treated patients. J Clin Psychiatry. 2007 mei;68(5):697-704.
- 4 Melkersson KI, Dahl ML. Relationship between levels of insulin or triglycerides and serum concentrations of the atypical antipsychotics clozapine and olanzapine in patients on treatment with therapeutic doses. Psychopharmacology (Berl). 2003 nov;170(2):157-66.
- 5 Laika B, Leucht S, Heres S, Schneider H, Steimer W. Pharmacogenetics and olanzapine treatment: CYP1A2\*1F and serotonergic polymorphisms influence therapeutic outcome. Pharmacogenomics J. 2010 feb;10(1):20-9.
- 6 Simon V, van Winkel R, De Hert M. Are weight gain and metabolic side effects of atypical antipsychotics dose dependent? A literature review. J Clin Psychiatry. 2009 jul;70(7):1041-50.
- 7 Zhou SF, Wang B, Yang LP, Liu JP. Structure, function, regulation and polymorphism and the clinical significance of human cytochrome P450 1A2. Drug Metab Rev. 2010 mei;42(2):268-354.
- 8 Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Functional significance of a C→A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. Br J Clin Pharmacol. 1999 apr;47(4):445-9.
- 9 Ghotbi R, Christensen M, Roh HK, Ingelman-Sundberg M, Aklillu E, Bertilsson L. Comparisons of CYP1A2 genetic polymorphisms, enzyme activity and the genotype-phenotype relationship in Swedes and Koreans. Eur J Clin Pharmacol. 2007 jun;63(6):537-46.
- 10 van der Weide J, Steijns LSW, van Weelden MJM. The effect of smoking and cytochrome P450 CYP1A2 genetic polymorphism on clozapine clearance and dose requirement. Pharmacogenetics. 2003 mrt;13(3):169-72.
- 11 Ghotbi R, Mannheimer B, Aklillu E, et al. Carriers of the UGT1A4 142T>G gene variant are predisposed to reduced olanzapine exposure—an impact similar to male gender or smoking in schizophrenic patients. Eur J Clin Pharmacol. 2010 mei;66(5):465-74.