

# Overdracht van *CYP2D6*-genotyperingsuitslagen naar huisarts en openbare apotheek

Mirjam Simoons<sup>abc</sup>, Hans Mulder<sup>ad\*</sup>,  
Robert A. Schoevers<sup>c</sup>, Henricus G. Ruhé<sup>ce†</sup> en  
Eric N. van Roon<sup>bf†</sup>

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

<sup>b</sup> Vakgroep Farmacotherapie, -epidemiologie & -economie, Afdeling Farmacie, Rijksuniversiteit Groningen.

<sup>c</sup> Afdeling Psychiatrie, Rijksuniversiteit Groningen, Universitair Medisch Centrum Groningen.

<sup>d</sup> GGZ Drenthe, Assen.

<sup>e</sup> Afdeling Psychiatrie, Warneford Ziekenhuis, Universiteit van Oxford, Verenigd Koninkrijk.

<sup>f</sup> Afdeling Klinische Farmacie en Klinische Farmacologie, Medisch Centrum Leeuwarden.

\* Correspondentie: hans.mulder@wza.nl.

† Deze auteurs hebben gelijkwaardig bijgedragen aan dit onderzoek. Geen belangenverstrengeling gemeld. H.G. Ruhé wordt financieel ondersteund door een NWO/ZonMW VENI-Grant 016.126.059. Gebaseerd op het promotieonderzoek van M. Simoons. Dit artikel is een bewerkte vertaling van: Simoons M, Mulder H, Schoevers RA, Ruhé HG, van Roon EN. Availability of *CYP2D6* genotyping results in general practitioner and community pharmacy medical records. *Pharmacogenomics*. 2017 jun;18(9):843-851.

Citeer als: Simoons M, Mulder H, Schoevers RA, Ruhé HG, van Roon EN. Overdracht van *CYP2D6*-genotyperingsuitslagen naar huisarts en openbare apotheek. *Nederlands Platform voor Farmaceutisch Onderzoek*. 2017;2:a1654.

## Kernpunten

- Dit eerste onderzoek naar de overdracht van *CYP2D6*-genotyperingsuitslagen naar de eerste lijn laat zien dat voor minder dan 6% van de – voornamelijk psychiatrische – patiënten de *CYP2D6*-genotyperingsuitslag nog beschikbaar was bij huisarts of openbare apotheek.
- We vonden geen significante verschillen in dosering van *CYP2D6*-substraat-psychofarmaca tussen de *CYP2D6*-fenotypegroepen sinds de genotypering, wat aangeeft dat er waarschijnlijk geen aanpassingen van de farmacotherapie werden gedaan op basis van het *CYP2D6*-fenotype.
- De overdracht van genotyperingsuitslagen naar huisartsen en apothekers moet worden verbeterd, om te voorkomen dat nog langer waardevolle informatie voor *personalized medicine* op grote schaal verloren gaat.

## ABSTRACT

*Availability of CYP2D6 genotyping results in general practitioner and community pharmacy medical records*

### OBJECTIVE

To investigate the availability of *CYP450-2D6* (*CYP2D6*) genotyping results in general practitioner (GP) and/or community pharmacy records, and the influence thereof on psychotropic *CYP2D6* substrate dosing.

### DESIGN

A retrospective survey with cross-sectional analysis.

### METHODS

Primary outcome was the percentage of patients genotyped for *CYP2D6* with their genotype/phenotype registered in GP and/or pharmacy records. Secondary outcome was the number of defined daily doses of psychotropic *CYP2D6* substrates prescribed after genotyping.

### RESULTS

For 216 out of 1307 eligible patients, medication overviews could be obtained. Genotyping results were available at GPs for 3.1% and at pharmacies for 5.9%. The average psychotropic *CYP2D6* substrate dose was not different between any non-extensive metabolizer group and the extensive metabolizer group (all  $P \geq 0.486$ ).

### CONCLUSION

Valuable information for individualizing psychiatric pharmacotherapy is lost on a large scale.

## Inleiding

*CYP450-2D6* (*CYP2D6*)-genotypering is waarschijnlijk de meest bekende toepassing van genotyperen in de psychiatrische praktijk [1,2]. *Poor metabolizers* voor *CYP2D6* (PM; circa 5-10% van de kaukasische populatie) hebben geen enzymactiviteit en *ultrarapid metabolizers* (UM; circa 1-10% van de kaukasische populatie) hebben door genduplicaties hoge *CYP2D6*-enzymactiviteit [3]. *Intermediate metabolizers* (IM; circa 30-35% van de kaukasiërs) hebben een metabole capaciteit tussen een PM en een ‘normale’ *extensive metabolizer* (EM) in [3]. Eerder onderzoek toonde aan dat 52% van de psychiatrische patiënten ten minste één geneesmiddel gebruikte dat wordt gemetaboliseerd door *CYP2D6*, waarvan 62% een antidepressivum of antipsychoticum was [4]. Deze cijfers duiden erop dat een substantieel

deel van de psychiatrische patiënten een verhoogd risico heeft om zonder inachtneming van het CYP2D6-fenotype niet optimaal te worden behandeld met psychofarmaca.

In Nederland zijn richtlijnen beschikbaar voor de keuze en dosering van geneesmiddelen op basis van het CYP2D6-fenotype, geschreven door de KNMP/WINAp-werkgroep Farmacogenetica [5,6]. Deze aanbevelingen zijn opgenomen in de geautomatiseerde medicatiebewakings-systemen van artsen en apothekers. Om optimaal gebruik te kunnen maken van genotyperingsuitslagen, is het adequaat vastleggen van de uitslagen in het medisch dossier van patiënten en overdracht naar andere betrokken zorgverleners essentieel.

Recentelijk toonde onze groep aan dat er relevante tekortkomingen zijn in de beschikbaarheid van het actuele medicatiegebruik in de medische dossiers van psychiatrische patiënten [7]. Naar de beschikbaarheid van genotyperingsuitslagen in de eerste lijn is eerder nog geen onderzoek gedaan. Gezien de potentieel levenslange voordelen van een CYP2D6-genotypering, onderzochten wij primair de beschikbaarheid van CYP2D6-genotyperingsuitslagen in de medische dossiers bij huisartsen en apothekers. Het secundaire doel was het onderzoeken of registratie van de CYP2D6-genotyperingsuitslag de dosering van psychofarmaca die door CYP2D6 gemetaboliseerd worden beïnvloedt, zoals voorgesteld in de KNMP/WINAp-richtlijnen.

## Methoden

De genetische unit van het Wilhelmina Ziekenhuis Assen (WZA) is één van de centra in Nederland die genotyperingen uitvoert. Ongeveer 90% van alle genotyperingen worden direct of via een laboratorium aangevraagd door psychiaters van GGZ-instellingen. Het CYP2D6-fenotype wordt bepaald op basis van genotypering van CYP2D6 \*3, \*4, \*5, \*6, \*10, \*17 en \*41, zoals eerder beschreven [8]. Genotyperingsuitslagen worden inclusief genotype en fenotype op papier overgedragen naar de aanvrager.

Patiënten van 18 jaar of ouder waren geschikt voor het onderzoek als hun CYP2D6-genotype was bepaald door de genetische unit van het WZA tussen 1 februari 2010 en 1 mei 2015. De startdatum van 1 februari 2010 was gekozen omdat er vanaf die datum KNMP/WINAp-richtlijnen beschikbaar waren voor alle psychofarmaca die gemetaboliseerd worden door CYP2D6. Patiënten met zowel het IM-fenotype als duplicaties van het CYP2D6-gen werden geëxcludeerd, omdat hun metabole capaciteit niet goed kan worden voorspeld.

Op de genotyperingsaanvraag staan niet standaard de namen van huisarts en apotheek. Om deze zorgverleners te traceren, screenen we het elektronisch patiëntendossier van het WZA en het Landelijk Schakelpunt. Daarnaast vroegen we getraceerde huisartsen en apotheken om aanvullingen voor hun patiënten.

Gegenotypeerde patiënten werden geïncludeerd als hun actuele medicatieoverzicht van hun huisarts en/of apotheek

beschikbaar was. Als daarnaast de medicatiehistorie van de apotheek beschikbaar was, werden patiënten ook geïncludeerd voor het tweede onderzoeksdoel.

De regionale toetsingscommissie Leeuwarden (rTPO) verklaarde dit onderzoek niet-WMO-plichtig. Omdat het een kritische evaluatie van het dagelijks handelen betrof, was toestemming vragen aan de patiënten niet nodig, zoals bevestigd door de medisch-ethische toetsingscommissie.

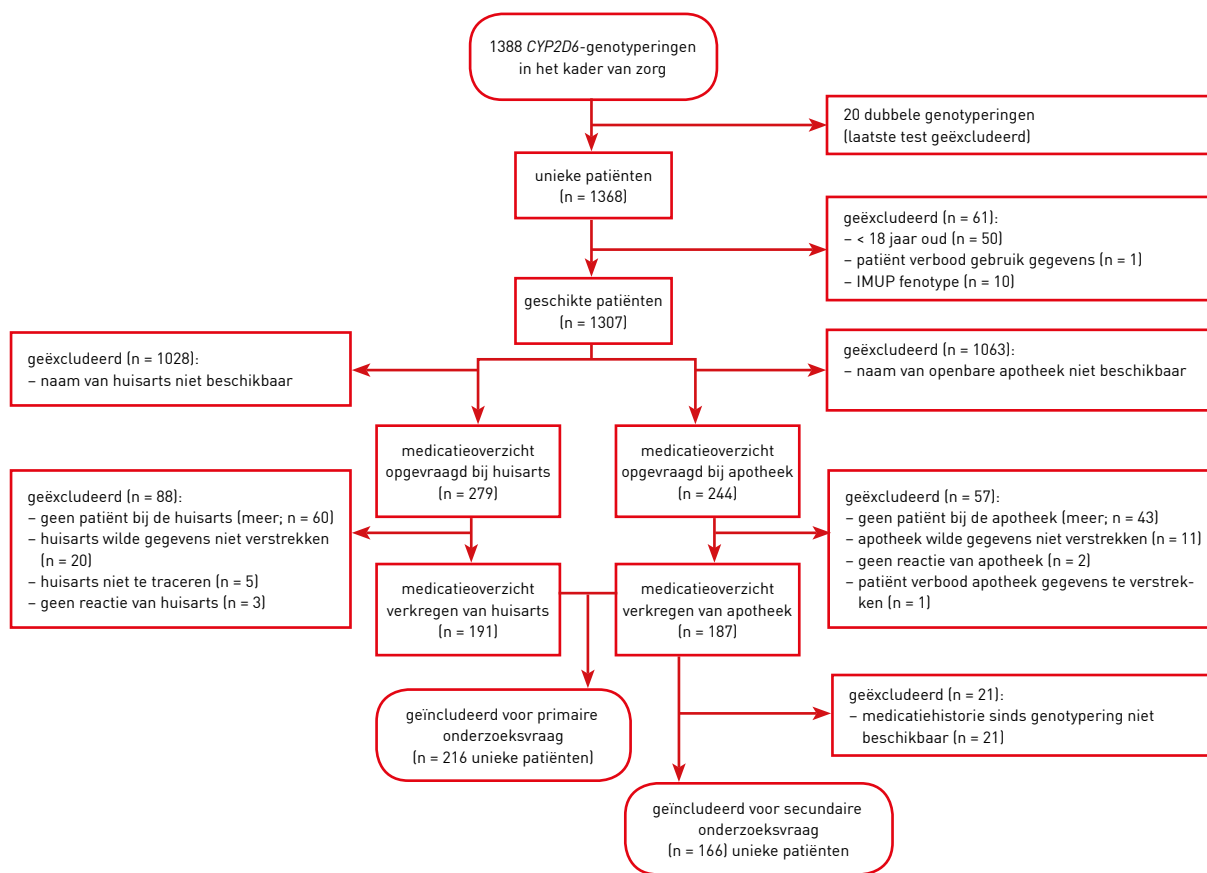
We bepaalden de primaire uitkomst cross-sectioneel: het percentage patiënten bij wie de CYP2D6-genotyperingsuitslag nog bekend was bij huisarts en/of apotheek (dat wil zeggen: het genotype of fenotype aanwezig op het actuele medicatieoverzicht). We vergeleken de beschikbaarheid van de genotyperingsuitslagen tussen patiënten met EM- en non-EM-fenotypes middels logistische regressie-analyse, met een correctie voor de tijd tussen de datum van genotyperen en van het maken van het medicatieoverzicht.

In een retrospectieve analyse bepaalden we de secundaire uitkomst: het gemiddelde aantal *defined daily doses* (DDD's) per patiëntjaar van gebruik van CYP2D6-substraat-psychofarmaca vanaf de genotypering tot aan 1 mei 2015 (of overlijdensdatum, wanneer deze eerder voorkwam). Tot de CYP2D6-substraat-psychofarmaca rekenden we de psychofarmaca waarvoor in de KNMP/WINAp-richtlijnen een therapeutische interventie wordt geadviseerd bij een afwijkend CYP2D6-fenotype, bijvoorbeeld kies ander middel of pas dosis aan. Dit zijn dertien middelen: amitriptyline, aripiprazol, atomoxetine, clomipramine, doxepine, haloperidol, imipramine, nortriptyline, paroxetine, pimozide, risperidon, venlafaxine en zuclopentixol. We onderzochten het verschil in DDD's per patiëntjaar tussen patiënten bij wie de genotyperingsuitslag wel en niet bekend was bij huisarts en/of apotheek met behulp van een lineair regressiemodel met een correctie voor de observatieperiode. In dit model onderzochten we de data ook op mogelijke effectmodificatie door het CYP2D6-fenotype met de interactieterm 'beschikbaarheid\*fenotype'. In alle analyses gebruikten we  $P < 0,05$  als significantieniveau.

## Resultaten

Figuur 1 toont het stroomdiagram van de patiëntinclusie. Van 1307 unieke, geschikte patiënten konden we voor 279 patiënten data opvragen bij de huisarts en voor 244 patiënten bij de apotheek. Voor 216 unieke patiënten ontvingen we actuele medicatieoverzichten van huisarts en/of apotheek. De karakteristieken van de geïncludeerde patiënten zijn samengevat in tabel 1. Voor 166 patiënten verkregen we daarnaast de medicatiehistorie van de apotheek over de periode vanaf de genotypering tot 1 mei 2015.

Genotyperingsuitslagen waren beschikbaar in het medische dossier van de huisarts bij 6 van de 191 patiënten (3,1%) en bij de apotheek voor 11 van de 187 (5,9%; tabel 2). Omdat het totale aantal beschikbare uitslagen klein was en geen van de EM-uitslagen overgedragen was, werd voor statistische analyse gebruik gemaakt van chi-kwadraatanalyse

**Figuur 1** Stroomdiagram van patiëntinclusie en dataverzameling


CYP2D6: cytochroom P450 2D6, IMDUP: *intermediate metabolizer* met duplicaties van het CYP2D6-gen.

in plaats van logistische regressie. Daarbij kon niet gecorrigeerd worden voor de tijd tussen de genotyperingsdatum en de datum van het maken van het medicatieoverzicht. Non-EM-fenotypes (PM, IM en UM samengenomen) werden vaker overgedragen naar huisartsen en naar apotheken dan EM-fenotypes (beide  $P \leq 0,010$ ; tabel 2). Nota bene, EM-fenotypes werden nooit overgedragen; alleen IM- en PM-fenotypes bleken overgedragen te worden.

De fenotypeverdeling van de patiënten van wie we de medicatiehistorie konden verkrijgen ( $n = 166$ ) was vergelijkbaar met die van de totale studiebevolking ( $N = 216$ ). De helft van deze patiënten (87/166) had tijdens de observatieperiode geen CYP2D6-substraat-psychofarmaca gebruikt. Risperidon was gebruikt door 24 patiënten (14,5%), nortriptyline door 21 patiënten (12,7%), venlafaxine door 18 patiënten (10,8%) en aripiprazol en haloperidol elk door 12 patiënten (7,2%). De overige middelen waren gebruikt door acht patiënten of minder ( $\leq 4,8\%$ ).

De mediane follow-up was 862 dagen (spreiding 3-1884). Patiënten voor wie de genotyperingsuitslag bekend was bij huisarts en/of apotheek hadden gemiddeld, gecorrigeerd, 133 DDD's CYP2D6-substraat-psychofarmaca per

patiëntjaar meer voorgeschreven gekregen dan patiënten van wie de uitslag niet beschikbaar was. Dit verschil was echter niet statistisch significant ( $P = 0,341$ ). Doordat geen van de EM- of UM-uitslagen bekend was bij huisarts of apotheek, kon geen potentiële effectmodificatie door het CYP2D6-fenotype worden onderzocht, in verband met collineariteit. Als alternatieve analyse is in een lineair regressiemodel onderzocht of de CYP2D6-substraat-psychofarmacodosis (in DDD's per patiëntjaar) verschilde tussen de verschillende non-EM-fenotypegroepen ten opzichte van de EM-groep – gecorrigeerd voor de follow-up, maar ongeacht de beschikbaarheid van de genotyperingsuitslag bij huisarts en/of apotheek. De gemiddelde gecorrigeerde CYP2D6-substraat-psychofarmacodosis was 184 DDD's per patiëntjaar (95%-betrouwbaarheidsinterval [95%-BI] = 57-310). Deze dosis nam af met toenemende CYP2D6-metabole capaciteit met 253 DDD's per patiëntjaar voor PM's (95%-BI = 98-605) en 112 DDD's per patiëntjaar voor UM's (95%-BI = -443-666) zonder lineair verband ( $P = 0,514$ ) of significant verschil tussen de non-EM-fenotypegroepen en de EM-groep (alle  $P$ -waarden  $\geq 0,486$ ).

**Tabel 1** Karakteristieken van de onderzoekspopulatie (N = 216)

Variabele	Aantal
Aantal vrouwen	91 (42,1%)
Leeftijd in jaren (standaarddeviatie)	41,8 (13,8)
Jaar van de (eerste) CYP2D6-genotypering	
• 2010 (vanaf 1 februari)	33 (15,3%)
• 2011	41 (19,0%)
• 2012	46 (21,3%)
• 2013	49 (22,7%)
• 2014	32 (14,8%)
• 2015 (tot 1 mei)	15 (6,9%)
CYP2D6-fenotype	
• <i>poor metabolizer</i>	19 (8,8%)
• <i>intermediate metabolizer</i>	77 (35,6%)
• <i>extensive metabolizer</i>	114 (52,8%)
• <i>ultrarapid metabolizer</i>	6 (2,8%)

## 4 Beschuwing

Om de levenslange voordelen van genotyperingsuitslagen voor psychiatrische patiënten ten volle te kunnen benutten, is het essentieel dat deze uitslagen overgedragen worden naar andere zorgverleners. Uit dit onderzoek blijkt dat de overdracht van CYP2D6-genotyperingsuitslagen naar huisartsen en apotheken lacunair is en dat er op grote schaal verlies van deze belangrijke informatie optreedt.

De sterkte van dit onderzoek is de grote onderzoekspopulatie van verschillende (geestelijke) gezondheidszorginstellingen door heel Nederland. Een van de beperkingen is de exclusie van vele geschikte patiënten. De belangrijkste oorzaak hiervan was het ontbreken van de naam van de huidige huisarts of apotheek. We konden echter aantonen dat de geïncludeerde en geëxcludeerde patiënten niet verschilden voor wat betreft leeftijd ( $P = 0,881$ ), fenotype ( $P = 0,693$ ) of jaar van genotypering ( $P = 0,596$ ). Desalniettemin zou eventuele bias door ontbrekende data

waarschijnlijk resulteren in een overschatting van de mate van overdracht van CYP2D6-genotyperingsuitslagen in ons onderzoek, omdat dossiers zonder naam van huisarts en/of apotheek mogelijk ook matig geüpdatet worden voor wat betreft genotyperingsuitslagen. Desondanks verminderde de exclusie van patiënten de *power* van onze analyse. Bovendien hinderden het kleine aantal PM- en UM-patiënten en het feit dat geen van de UM's en EM's geregistreerd was onze oorspronkelijke doelstellingen. Toch vonden we significante verschillen in de overdracht van het CYP2D6-fenotype. Bovendien vonden we geen verschillen tussen de dosering van CYP2D6-substraat-psychofarmaca voor de verschillende fenotypegroepen. Gelijktijdig gebruik van CYP2D6-remmers en *therapeutic drug monitoring* (TDM) zouden mogelijke verklaringen hiervoor kunnen zijn. Echter, in een *post-hoc*-analyse waarbij we alle patiënten excludeerden die gelijktijdig een sterke non-paroxetineremmer (bupropion, cinacalcet, fluoxetine, kinitidine, mirabegron, ritonavir en terbinafine [9];  $n = 5$ ) hadden gebruikt, vonden we nog steeds geen verschillen in de dosering van CYP2D6-substraat-psychofarmaca tussen de fenotypegroepen ( $P \geq 0,454$ ) en ook geen lineair verband ( $P = 0,479$ ). Als alternatief voor genotypering zou adequate TDM een manier zijn om de CYP2D6-substraatdosering aan te passen aan het CYP2D6-fenotype. Na exclusie van CYP2D6-substraat-psychofarmaca waarvoor TDM wordt geadviseerd (amitriptyline, clomipramine, imipramine en nortriptyline) vonden we opnieuw geen verschillen in de dosering van CYP2D6-substraat-psychofarmaca tussen de fenotypegroepen ( $P > 0,888$ ) en ook geen lineair verband ( $P = 0,866$ ). Dit overtuigde ons dat in onze onderzoekspopulatie geen dosisaanpassingen waren gedaan op basis van het CYP2D6-fenotype.

Een andere beperking is dat we geen onderscheid konden maken tussen oorzaken voor de matige beschikbaarheid van CYP2D6-genotyperingsuitslagen bij huisartsen en apotheken. De uitslag zou door de aanvrager niet doorgegeven kunnen zijn aan andere zorgverleners, maar doorgegeven uitslagen zouden ook niet ingevoerd kunnen zijn in

**Tabel 2** Beschikbaarheid van genotyperingsuitslagen bij huisartsenpraktijken en openbare apotheken

Genotyperingsuitslag beschikbaar?	Huisarts		Openbare apotheek		Huisarts of openbare apotheek	Huisarts en openbare apotheek
	aantal	P-waarde*	aantal	P-waarde*	aantal	aantal
EM	0/101 (0,0%)	0,010†	0/95 (0,0%)	0,001†	0/82 (0,0%)	0/82 (0,0%)
Non-EM	6/90 (6,7%)		11/92 (12,0%)		3/80 (3,8%)	6/74 (7,5%)
<b>Totaal</b>	<b>6/191 (3,1%)</b>		<b>11/187 (5,9%)</b>		<b>3/162 (1,9%)</b>	<b>6/162 (3,7%)</b>

\* Pearson chi-kwadraattoets of Fisher's exacttoets – welke van toepassing was. Deze heeft betrekking op de vergelijking tussen EM en non-EM.

† Significant ( $P < 0,05$ ).

EM: *extensive metabolizer*, non-EM: *non-extensive metabolizer*-fenotypes.

het elektronische patiëntendossier bij de huisarts/apotheek.

Dit is het eerste onderzoek naar de mate van overdracht van genotyperingsuitslagen naar huisartsen en apothekers – bij uitstek de levenslange eerstelijnszorgverleners voor elke patiënt in Nederland. Onze resultaten zijn slechter dan de registratie van *CYP2D6*- en *CYP2C19*-genotyperingsuitslagen binnen een Deens centrum voor psychiatrie: bij 53 van de 101 patiënten werd het PM- en/of UM-fenotype voor *CYP2D6* en/of *CYP2C19* genoemd in het medisch dossier [10].

Hoewel *CYP2D6*-genotyperingen mogelijk de effectiviteit van behandelingen kunnen verbeteren door het individualiseren van (psycho)farmacotherapie [11], benadrukken wij dat daarvoor de overdracht van dergelijke genotyperingsuitslagen naar andere relevante zorgverleners substantieel zou moeten worden verbeterd. De beste oplossing voor dit probleem is waarschijnlijk een directe, digitale overdracht van de genotyperingsuitslag van het lab naar de elektronische dossiers van de huisarts en apotheek, naast het rapport voor de aanvrager. In Nederland verhindert privacywetgeving echter een dergelijke directe overdracht vooralsnog. Een alternatief zou een genetisch paspoort met een persoonlijk, farmacogenetisch profiel kunnen zijn, aan de patiënt gegeven door het genetisch laboratorium [12]. Dit kaartje zou digitaal leesbaar gemaakt kunnen worden voor medicatiebewakingssystemen van huisartsen en apotheken [12]. Hiernaast is het belangrijk om de kennis van zorgverleners over farmacogenetica te verhogen, om de waardering en toepassing van genotyperingsuitslagen te verbeteren [13].

## Conclusie

Wij concluderen dat de overdracht van genotyperingsuitslagen in Nederland verbeterd dient te worden om optimaal gebruik te kunnen maken van de klinische voordelen van *CYP2D6*- (en andere) genotyperingen. Dit zal waardevolle informatie opleveren voor het individualiseren van farmacotherapie en verder grootschalig verlies van informatie over (psychiatrische) patiënten voorkomen. ■

## Literatuur

1. Preissner SC, Hoffmann MF, Preissner R, Dunkel M, Gewiess A, Preissner S. Polymorphic cytochrome P450 enzymes (CYPs) and their role in personalized therapy. *PLoS One*. 2013;8:e82562.
2. Gaedigk A. Complexities of *CYP2D6* gene analysis and interpretation. *Int Rev Psychiatry*. 2013;25:534-553.
3. De Leon J, Armstrong SC, Cozza KL. Clinical guidelines for psychiatrists for the use of pharmacogenetic testing for *CYP450 2D6* and *CYP450 2C19*. *Psychosomatics*. 2006;47:75-85.
4. Mulder H, Heerdink ER, van Iersel EE, Wilmink FW, Egberts AC. Prevalence of patients using drugs metabolized by cytochrome P450 2D6 in different populations: a cross-sectional study. *Ann Pharmacother*. 2007;41:408-413.
5. Swen JJ, Wilting I, de Goede AL, et al. Pharmacogenetics: from bench to byte. *Clin Pharmacol Ther*. 2008;83:781-787.
6. Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, et al. Pharmacogenetics: from bench to byte – an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89:662-673.
7. Simoons M, Mulder H, Risselada AJ, et al. Medication discrepancies at outpatient departments for mood and anxiety disorders in the Netherlands: risks and clinical relevance. *J Clin Psychiatry*. 2016;77:1511-1518.
8. Mulder H, Herder A, Wilmink FW, Tamminga WJ, Belitser SV, Egberts AC. The impact of cytochrome P450-2D6 genotype on the use and interpretation of therapeutic drug monitoring in long-stay patients treated with antidepressant and antipsychotic drugs in daily psychiatric practice. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2006;15:107-114.
9. Interactiemechanismen: Cytochrom P450 enzymen. In: Borgsteede SD, red. *Commentaren Medicatiebewaking*. 31e ed. Houten: Stichting Health Base; 2016.
10. Jurgens G, Jacobsen CB, Rasmussen HB, Werge T, Nordentoft M, Andersen SE. Utility and adoption of *CYP2D6* and *CYP2C19* genotyping and its translation into psychiatric clinical practice. *Acta Psychiatr Scand*. 2012;125:228-237.
11. Altar CA, Carhart J, Allen JD, Hall-Flavin D, Winner J, Dechairo B. Clinical utility of combinatorial pharmacogenomics-guided antidepressant therapy: evidence from three clinical studies. *Mol Neuropsychiatry*. 2015;1:145-155.
12. Blagec K, Romagnoli KM, Boyce RD, Samwald M. Examining perceptions of the usefulness and usability of a mobile-based system for pharmacogenomics clinical decision support: a mixed methods study. *PeerJ*. 2016;4:e1671.
13. Stanek EJ, Sanders CL, Taber KA et al. Adoption of pharmacogenomic testing by US physicians: results of a nationwide survey. *Clin Pharmacol Ther*. 2012;91:450-458.