

Betydning av genetisk variasjon i CYP2D6 for serumkonsentrasjon av risperidon og aripiprazol



Magnus Knape

Masteroppgave ved Farmasøytisk institutt,
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Mai 2011

Betydning av genetisk variasjon i CYP2D6 for serumkonsentrasjon av risperidon og aripiprazol

Masteroppgave i farmakologi for graden *Master i farmasi* ved
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap, Farmasøytisk institutt,
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet,
Universitetet i Oslo

Oppgaven ble utført ved Senter for Psykofarmakologi,
Diakonhjemmet Sykehus, Oslo



Veiledere:

Professor Espen Molden

Senter for Psykofarmakologi, Diakonhjemmet Sykehus
Avdeling for farmasøytisk biovitenskap,
Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo

Cand. pharm. Magnhild Hendset

Senter for Psykofarmakologi, Diakonhjemmet Sykehus

Magnus Knape

Mai 2011

© Magnus Knape

2011

Betydning av genetisk variasjon i CYP2D6 for serumkonsentrasjon av risperidon og aripiprazol

Magnus Knape

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Forord

Jeg vil først rette en stor takk til mine veiledere Magnhild Hendsset og Espen Molden. Takk for alle faglige diskusjoner og veiledning både før og under skriveprosessen. Dere har vært til stor inspirasjon og uvurderlig hjelp for sluttproduktet.

Jeg vil også takke alle ansatte ved Senter for Psykofarmakologi, Diakonhjemmet sykehus, for all hjelp og støtte. Jeg har hatt et flott år sammen med dere. En spesiell takk til Ida Mari Haugom og Linda Hårstad Uthus for stor hjelp med de genetiske reanalysene. I tillegg vil jeg takke Håvard Bentsen for mange inspirerende og faglig interessante diskusjoner.

Til slutt vil jeg takke familie og venner for all interesse og moralsk støtte. En spesiell takk til min samboer Ida for korrekturlesing, tålmodighet og forståelse gjennom året.

Blindern, 15. mai 2011

Magnus Knape

Forkortelser

5-HT_{2A} – Serotonin-2A-reseptoren

9-OHRIS – 9-hydroksyrisperidon

ARI – Aripiprazol

AUC – Areal under plasmakonsentrasjonskurve

C_{ss} – Steady-state concentration (likevevtskonsentrasjon)

C/D-ratio – Serumkonsentrasjon/dose

CV – Nøyaktighets- og variasjonskoeffisient

CYP – Cytokrom P450

D₂ – Dopamin-2-reseptoren

DARI – Dehydroaripiprazol

def – Variantallel med påviste mutasjoner som koder for defekt enzymaktivitet

EM – Extensive metabolizer (homozygot raske omsettere)

HEM – Heterozygous extensive metabolizer (heterozygot raske omsettere)

IM – Intermediate metabolizer (intermediære omsettere)

LLOQ – Laveste kvantifiseringsgrense

OD – Odds ratio

PET – Positronemisjonstomografi

P-gp – Permeabilitetsglykoprotein

PM – Poor metabolizer / homozygot langsomme omsettere

PCR – Polymerasekjedereaksjon

RIS – Risperidon

red – Variantallel med påviste mutasjoner som koder for redusert enzymaktivitet

SFP – Senter for Psykofarmakologi

SNP – Enkeltnukleotidpolymorfisme

$t_{1/2}$ – Halveringstid

TDM – Therapeutic drug monitoring (terapeutisk legemiddelmonitorering)

UM – Ultra rapid metabolizer (ultrarask omsetter)

QTc – Korrigert QT-intervall (tidsintervall mellom Q-takk og slutten av T-bølgen i et EKG)

Sammendrag

Bakgrunn: Risperidon (Risperdal[®]) og aripiprazol (Abilify[®]) er atypiske antipsykotiske legemidler som metaboliseres via det genetisk polymorfe enzymet cytokrom P450 2D6 (CYP2D6). Hensikten med denne masteroppgaven var å sammenlikne dosejusterte serumkonsentrasjon (C/D-ratio) og metabolitratio av risperidon og aripiprazol blant pasienter med ulik *CYP2D6*-genotype med spesiell fokus på fenotype i undergruppen med kombinasjonen av et defekt og et redusert variantallel.

Metode: Serumkonsentrasjon og *CYP2D6*-genotype fra pasienter behandlet med risperidon- og aripiprazoltabletter ble hentet ut fra en *therapeutic drug monitoring* (TDM)-database ved Senter for Psykofarmakologi, Diakonhjemmet Sykehus. De inkluderte pasientene (risperidon n=146, aripiprazol n=197) ble stratifisert i undergrupper basert på *CYP2D6*-genotype: **1/*1* x N (oppkopiering av *CYP2D6*-genet; risperidon n=6, aripiprazol n=7), **1/*1* (to funksjonelle alleler; risperidon n=49, aripiprazol n=80), **1/red* (et funksjonelt og et redusert allel; risperidon n=21, aripiprazol n=31), **1/def* (et funksjonelt og et defekt allel; risperidon n=44, aripiprazol n=48), *red/red* (to reduserte alleler; risperidon n=6, aripiprazol n=4), *def/red* (et redusert og et defekt allel; risperidon n=10, aripiprazol n=10) og *def/def* (to defekte alleler; risperidon n=10, aripiprazol n=17). Sekundært ble subgruppene med reduserte variantalleler videre splittet i forhold til tilstedeværelse av **41* eller **9/10*. C/D-ratio og metabolitratio av risperidon og aripiprazol mellom ulike *CYP2D6*-genotyper ble sammenliknet ved ikke-parametrisk *Kruskal Wallis test* og *Dunn`s multiple comparison post test* (signifikansgrense $p < 0.05$). Sekundært ble tilsvarende fenotypiske endepunkter sammenliknet innad i de ”reduserte” subgrupper med de samme statistiske testene.

Resultat: Median C/D ratio i gruppen med to funksjonelle alleler var for risperidon 1.3 nM/mg [spredning 0.17-27 nM/mg]. Til sammenlikning var median C/D-ratio av risperidon i *red/red*-, *def/red*- og *def/def*-undergruppene signifikant forskjellig fra referansegruppen (henholdsvis 8.5, 11.5 og 12.3 ganger høyere medianverdier ($p < 0.05$)). Median C/D-ratio i gruppen med to funksjonelle alleler var for aripiprazol 22 nM/mg [spredning 4.6.-72 nM/mg]. Til sammenlikning var median C/D-ratio av aripiprazol i *def/red*- og *def/def*-undergruppene signifikant forskjellig fra referansegruppen (henholdsvis 2.2 og 1.7 ganger høyere medianverdier ($p < 0.05$)). Det var ingen signifikante forskjeller i C/D-ratio for modersubstans og metabolitratio for risperidon eller aripiprazol mellom *def/red*- og *def/def*-gruppene. Innad i

gruppen med *def/red*-genotypen var observert median C/D-ratio av risperidon 2.5 ganger høyere med **41* som redusert variantallel sammenliknet med **9/10* ($p>0.05$). For aripiprazol var median C/D-ratio 1.5 ganger høyere ved **41* vs. **9/10* ($p>0.05$).

Konklusjon: Denne masteroppgaven bekrefter at *CYP2D6*-genotype har stor betydning for serumkonsentrasjon av risperidon og aripiprazol. Resultatene indikerer at personer med en kombinasjon av et defekt og et redusert variantallel har en fenotype som ikke skiller seg vesentlig fra personer med to defekte variantalleler, såkalte '*poor metabolizers*', og støtter dermed at analyse av reduserte variantalleler har potensiell nytteverdi ved genotyping av *CYP2D6* i klinisk praksis. Undersøkelsen av den relative betydningen av ulike reduserte variantalleler for *CYP2D6*-aktivitet kan tyde på at **41*-mutasjonen gir lavere *CYP2D6*-aktivitet sammenliknet med **9*- og **10*-mutasjonene, men dette bør undersøkes nærmere i fremtidige studier.

Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon	1
1.1	Variasjon i legemiddelrespons.....	1
1.2	Verktøy for individtilpasning av legemiddelterapi.....	2
1.2.1	Serumkonsentrasjonsanalyser	2
1.2.2	Farmakogenetiske analyser	3
1.3	Cytokrom P450-systemet	4
1.3.1	CYP2D6	5
1.3.2	<i>CYP2D6*41</i>	6
1.4	Antipsykotika.....	7
1.4.1	Risperidon	8
1.4.2	Aripiprazol	10
1.5	Hensikt.....	11
2	Materiale og metode.....	12
2.1	Datamateriale.....	12
2.2	Serumkonsentrasjonsanalyser.....	13
2.3	Genotyping	14
2.4	Statistiske analyser og endepunkter.....	14
3	Resultater.....	17
3.1	Inkludert datamateriale	17
3.2	Risperidon og <i>CYP2D6</i> -genotype	17
3.2.1	Genotypene <i>def/red</i> vs. <i>def/def</i>	20
3.2.2	Relativ betydning av reduserte variantalleler.....	21
3.3	Aripiprazol og <i>CYP2D6</i> -genotype.....	22
3.3.1	Genotypene <i>def/red</i> vs. <i>def/def</i>	25
3.3.2	Relativ betydning av reduserte variantalleler.....	26
3.4	Allelfrekvenser	27
4	Diskusjon.....	28
5	Konklusjon	34
	Litteraturliste	35

1 Introduksjon

1.1 Variasjon i legemiddelrespons

Til tross for kontinuerlige framskritt i utvikling og design av legemidler er interindividuell variasjon i legemiddelrespons fortsatt en stor utfordring i klinisk praksis [1]. Samme dose av et gitt legemiddel administrert til friske frivillige kan gi 5-10 ganger variasjon i likevektskonsentrasjon (eng. 'Steady-state', C_{ss}) [1]. Ser man på hele befolkningen er variabiliteten betydelig større, og én og samme dose kan gi 50-100 ganger forskjell i C_{ss} [1]. På grunn av stor variasjon i legemiddelrespons kan legemiddelbehandling i mange tilfeller være ineffektiv og medføre at pasienter ikke oppnår ønsket effekt av en gitt standarddose [2]. I motsatt fall kan pasienter få toksiske effekter av standarddoser av det samme legemidlet [3]. Spear *et al.* har observert at responsraten for mange legemidler ligger på 50-70 % [4]. Data fra USA har vist at alvorlige legemiddelbivirkninger bidrar til 6-7 % av alle sykehusinnleggelser, samt forårsaker over 100 000 dødsfall årlig [5]. Valg av rett legemiddel i optimal dose er spesielt utfordrende innen psykiatrien hvor sykdomsbildet er sammensatt og respons på gitt legemiddel kan være vanskelig å skille fra svingninger i sykdomstilstand [3].

Årsakene til variasjon i legemiddelrespons er sammensatte [2]. Ofte vil det være et samspill mellom variasjon i farmakokinetiske prosesser (absorpsjon, distribusjon, metabolisme og eliminasjon), som bestemmer konsentrasjon av virkestoff på virkested, og variasjon i den farmakodynamiske prosessen, for eksempel i interaksjonen mellom virkestoff og målprotein [6]. Det er observert stor interindividuell variasjon i de biologiske prosessene bak et legemiddels farmakokinetikk og farmakodynamikk [7]. Dette skyldes blant annet forskjeller i kjønn, alder, morbiditet, livsstil (røyking og diett), interaksjoner og genetiske faktorer [2, 7]. I tillegg er sviktende etterlevelse av den forskrevne legemiddelbehandlingen en ikke-biologisk årsak til interindividuell variabilitet i legemiddelrespons [2]. På grunn av den store variasjonen i legemiddelrespons ved en og samme dose er det viktig med verktøy for tilpassing av den enkeltes legemiddelbehandling.

1.2 Verktøy for individtilpassing av legemiddelterapi

1.2.1 Serumkonsentrasjonsanalyser

Ønskede og uønskede effekter av et legemiddel er avhengig av konsentrasjonen på virkestedet. Legemiddelkonsentrasjon i hjernen er det avgjørende for effekt av antipsykotika. På grunn av praktiske utfordringer med å måle legemiddelkonsentrasjoner direkte i hjernen brukes i stedet serumkonsentrasjonsanalyser (eng. 'therapeutic drug monitoring', TDM) som et indirekte mål på eksponering i sentralnervesystemet. TDM er basert på konseptet om at en målt legemiddelkonsentrasjon i blod (plasma/serum) reflekterer konsentrasjonen av legemiddelet på virkestedet bedre enn det administrerte dose gjør [2]. TDM forutsetter imidlertid at det er en sammenheng mellom serumkonsentrasjon og klinisk effekt [2]. Fra positronemisjontomografistudier (PET-studier) er det for en rekke antipsykotiske legemidler observert at *occupancy* av dopamin-2 (D_2)-reseptorer korrelerer bra med serumkonsentrasjon, og bedre enn hva doser gjør [8].

TDM kan brukes som et verktøy til å fange opp individuelle variasjoner i farmakokinetikk slik at man kan optimalisere legemiddelbehandling på individnivå ved å tilpasse dosen til den enkelte pasient [7]. Informasjon om døgndose, komedikasjon og tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning er viktige parametre for å kunne dra nytte av serumkonsentrasjonsmålinger [6]. Referanseområder baserer seg på likevektskonsentrasjoner [6]. Likevektskonsentrasjonen til et legemiddel i serum er beskrevet med følgende sammenheng mellom dose og substansens farmakokinetiske parametre:

$$C_{ss} = \frac{F \times D}{\tau \times CL}$$

der F er biotilgjengeligheten, D er døgndosen, τ er doseringsintervallet og CL er *clearance* av legemiddelet [7]. Blodprøve bør tas minst 4-5 halveringstider ($t_{1/2}$) etter oppstart eller dosejustering av legemiddelet for å sikre at likevektskonsentrasjon er oppnådd. Blodprøven bør tas i den terminale eliminasjonsfasen etter siste doseinntak for å sikre at absorpsjonsprosessen er avsluttet. Prøvetakning rett før neste dose vil være hensiktsmessig for de fleste legemidler [6]. Påviste serumkonsentrasjoner sammenliknes med legemiddelets terapeutiske konsentrasjonsområde der dette er etablert. For legemidler der det ikke er etablert sammenheng mellom serumkonsentrasjon og effekt blir påviste serumkonsentrasjoner

sammenliknet med serumkonsentrasjonsintervaller (referanseområder) som vanligvis observeres ved respektive doser [9].

TDM brukes hyppig i psykiatrien på grunn av den store interindividuelle variabiliteten som er observert for farmakokinetikk av psykofarmaka generelt [10]. Mange psykotrope legemidler har også et smalt terapeutisk konsentrasjonsområde og relativt høy bivirkningsprevalens [2]. Psykiatriske pasienter bruker ofte en kombinasjon av flere legemidler og dårlig etterlevelse er vanlig [2, 11]. TDM kan brukes som et verktøy for å unngå/forklare uønskede bivirkninger på grunn av høye serumkonsentrasjoner, samt redusere risiko for terapivikt på grunn av lave serumkonsentrasjoner [7]. TDM er et nyttig verktøy for å avdekke sviktende etterlevelse, fange opp interaksjoner og følge opp legemiddelterapi hos pasienter med lever- og/eller nyresvikt. TDM vil også fange opp genetisk betinget variasjon i farmakokinetikk [7].

Ved metabolisme av legemidler kan det dannes aktive og/eller inaktive metabolitter. For legemidler som brytes ned til aktive metabolitter i en tilstrekkelig mengde med en viss farmakologisk aktivitet bestemmes både serumkonsentrasjon av modersubstans og aktive metabolitter. Ved serumkonsentrasjonsanalyser er det vanlig at summen av disse relateres til et konsentrasjonsområde der legemiddelet vanligvis har god terapeutisk effekt [12]. Forholdet mellom modersubstans og metabolitt kan også gi additiv informasjon om pasientens etterlevelse, farmakokinetiske interaksjoner og farmakogenetisk status i legemiddelmetaboliserende enzymer [9].

1.2.2 Farmakogenetiske analyser

Variasjon i gener som koder for legemiddelmetaboliserende enzymer, legemiddeltransportører og målproteiner kan potensielt ha stor innvirkning på et legemiddels farmakokinetikk og farmakodynamikk [13]. Det er estimert at genetiske faktorer generelt står for 15-30 % av interindividuell farmakokinetisk og farmakodynamisk variabilitet [14].

Farmakogenetiske analyser er spesielt relevant hvis det aktuelle legemiddelet eller dets aktive metabolitt i all hovedsak metaboliseres av polymorfe enzymer [9]. Kjennskap til pasientens genotype før behandlingsstart gir muligheten til å tilpasse medikamentvalg og oppstartsdose. Dette kan redusere tiden fra oppstart av legemiddel til optimal behandling er etablert [15]. Andre indikasjoner for farmakogenetiske analyser er blant annet hvis TDM har vist stor variasjon i serumkonsentrasjon, det skal brukes legemidler med et smalt terapeutisk

konsentrasjonsområde eller at pasienten lider av en kronisk lidelse som krever livslang behandling [9].

Sammenliknet med genetisk variasjon i legemiddeltransportører og målproteiner har mutasjoner i alleler som koder for legemiddelmetaboliserende enzymer, spesielt cytokrom P450-systemet (CYP), vist seg å ha størst betydning for interindividuelle forskjeller i legemiddelrespons [16]. Det har blitt estimert at genetisk variasjon i legemiddelmetaboliserende enzymer påvirker behandlingsresultatet i 20-25 % av alle initierte legemiddelterapi [17].

1.3 Cytokrom P450-systemet

Enzymer som tilhører klassen cytokrom P450 (CYP) representerer de viktigste fase 1-metaboliserende enzymene hos mennesker. Disse enzymene oksiderer et stort antall endogene substanser og fremmedstoffer til mer hydrofile forbindelser [18]. CYP-enzymene er hovedsakelig lokalisert i leveren, men en betydelig andel finnes også i ekstrahepatiske vev som for eksempel tynntarm, lunge, nyre, hjerne, morkake, neselimhinne og hud. Tynntarm er det kvantitativt viktigste ekstrahepatiske vevet med tanke på metabolisme av legemidler [19].

I menneske er det identifisert 57 funksjonelle gener fordelt på 18 familier som koder for CYP-enzym [20]. Kun et fåtall av disse familiene, hovedsakelig CYP1, CYP2 og CYP3, bidrar til metabolisme av legemidler [21]. CYP-enzym står for ca. 80 % av all oksidativ legemiddelmetabolisme, og ca. 50 % av alle legemidler elimineres av ett eller flere av disse enzymene [21].

De fleste CYP-enzym kan induseres og hemmes slik at legemiddeleksponering kan variere både inter- og intraindividuell avhengig av miljøfaktorer, inkludert interaksjoner [20]. I tillegg spiller genetisk variasjon en viktig rolle for enzymaktiviteten til isoenzymene CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 og CYP2D6 [16]. De vanligste mutasjonene i gener som koder for CYP-enzym er såkalte enkeltnukleotidpolymorfismer (eng. 'single nucleotide polymorphisms', SNPs) [19], men også bortfall og multiplikasjon av gener kan oppstå [16]. Den fenotypiske konsekvensen av mutasjoner i gener som koder for legemiddelmetaboliserende enzym kan gi opphav til defekt, redusert eller økt enzymaktivitet [19]. På den andre siden kan enkelte mutasjoner være såkalte "stille"

mutasjoner, dvs. at de ikke har noen innvirkning på fenotype [22]. Betydningen av genetisk variasjon vil imidlertid være substratavhengig [20].

1.3.1 CYP2D6

Genet som koder for CYP2D6-enzymet finnes på kromosom 22. Isoenzymet CYP2D6 uttrykkes primært i lever og består av 497 aminosyrer [19]. Det er ikke vist at enzymet har en viktig endogen funksjon [23]. I motsetning til andre CYP-enzymene reguleres ikke CYP2D6-ekspresjonen av kjente miljøfaktorer, ei heller induseres ekspresjonen av hormoner [20]. CYP2D6 kan derimot være utsatt for hemming som kan resultere i redusert legemiddelmetabolisme [20]. Blant de polymorfe CYP-enzymene hvor enzymaktiviteten påvirkes av genetiske faktorer er CYP2D6 generelt sett det viktigste enzymet og metaboliserer ca. 25 % av legemidlene som er på markedet i dag [20]. Et legemiddel kan helt eller delvis metaboliseres av CYP2D6. Betydningen av CYP2D6-polymorfismer og CYP2D6-hemmere for serumkonsentrasjon vil derfor kunne variere avhengig av hvor viktig enzymet er for metabolismen av det aktuelle legemiddelet [20].

Til dags dato er det påvist 81 ulike muterte variantalleler av CYP2D6-genet, samt en rekke subvarianter (haplotyper) [24]. Variantalleler tegnes med en stjerne og et tall, for eksempel *CYP2D6*1*. Basert på hvilken genotype som uttrykkes kan aktiviteten i CYP2D6 være normal, helt fraværende, redusert, eller økt [23]. *CYP2D6*1* betegnes som antatt villtypeallel, og har homozygot fravær av kjente mutasjoner som koder for endret enzymaktivitet [20]. *CYP2D6*3*, **4*, **5* og **6* defineres som 'nullalleler', dvs. alleler som koder for fraværende (defekt) enzymaktivitet. Disse såkalte 'nullallelene' representerer >95 % av alle variantallelene som koder for defekt enzymaktivitet av CYP2D6 i den kaukasiske befolkningen [20]. Genetisk betinget defekt enzymaktivitet kan skyldes SNPs eller små innsetninger/slettinger som interfererer med leserammen eller spleiseprosessen i proteinsyntesen [20]. Dette fører til dannelse av inaktive proteiner [20]. Defekt enzymaktivitet på grunn av **5*-mutasjonen skyldes derimot bortfall av hele CYP2D6-genet [20].

*CYP2D6*9*, **10* og **41* utgjør til sammen majoriteten av variantalleler som koder for redusert enzymaktivitet [25]. Redusert enzymaktivitet skyldes delesjonspolymorfisme (**9*) og SNPs (**10* og **41*) [20, 24, 25], og gir proteiner med nedsatt stabilitet, redusert affinitet mellom substrat og enzym eller nedsatt ekspresjon av proteinet [20, 25]. I en oversiktsartikkel har Ingelman-Sundberg *et al.* anslått restaktivitet i CYP2D6 basert på tilstedeværelse av

variantalleler som koder for redusert CYP2D6-aktivitet [16]. Variantallelene *CYP2D6*9*, **10* og **41* oppgis til å ha henholdsvis 70, 20 og 50 % aktivitet sammenliknet med villtypeallelet uten påviste mutasjoner [16].

Det er også observert oppkopiering av CYP2D6-genet (**X/*X x N*) [26]. Dette kan resultere i funksjonelle, delvis funksjonelle og ikke-funksjonelle enzymer ettersom hvilket variantallel som er oppkopiert [26]. Det er observert individer som har 13 funksjonelle alleler av CYP2D6 (**1/*1 x 13*) [27].

På bakgrunn av ulike kombinasjoner av CYP2D6-variantalleler kan populasjonen deles inn i genotyper som predikerer fenotype [16]. Gruppen med to defekte CYP2D6-variantalleler betegnes som homozygot langsomme omsettere (eng. '*poor metabolizer*', PM). Gruppen som er homozygot bærere av villtypeallelet, eller rettere sagt ikke-påviste mutasjoner, betegnes homozygot raske omsettere (eng. '*extensive metabolizer*', EM). Gruppen med flere enn to ikke-muterte genkopier av CYP2D6 betegnes ultraraske omsettere (eng. '*ultrarapid metabolizer*', UM) [16]. En fjerde fenotypisk gruppe betegnes intermediære omsettere (eng. '*intermediate metabolizer*', IM). Dette er genotypisk en heterogen gruppe bestående av heterozygot bærere av defekte alleler i kombinasjon med villtypeallel (betegnes også som heterozygot raske omsettere, HEM), samt ulike genotyper av reduserte variantalleler. [16, 28].

Forekomst av CYP2D6-variantalleler varierer i stor grad mellom etniske grupper [20]. Blant den hvite populasjonen er frekvensen av genetisk bestemte PMs, EMs, UMs og IMs henholdsvis 7-10, 70-80, 3-5 og 10-15 % [28]. PMs finnes hovedsakelig i Europa, og UMs i Nord-Afrika og Oseania. Høyest forekomst av IMs finner man i Asia [23]. Frekvensen av *CYP2D6*10* i den kaukasiske IM-gruppen er 10-20 % [25]. *CYP2D6*41* har en høy frekvens i den kaukasiske IM-gruppen, og 50-70 % av denne fenotypen uttrykker et **41*-variantallel [29].

1.3.2 CYP2D6*41

Zanger *et al.* observert i 2001 at **41*-mutasjonen i kombinasjon med et defekt variantallel ga en ca. fem ganger lavere metabolsk fenotype av CYP2D6 sammenliknet med en fenotype kodet av en heterozygot defekt genotype [30]. Selv om det er observert en polymorfisme som karakteriserer **41*-variantallelet (2988 G>A), har selve mekanismen bak den markante nedgangen i ekspresjonen av CYP2D6 lenge vært uklar [25, 28]. To studier har imidlertid

rapportert at 2988 G>A er ansvarlig for lav ekspresjon av CYP2D6, og at SNPen forårsaker spleisedefekt under proteinsyntesen [28, 31].

1.4 Antipsykotika

CYP2D6 er viktig for metabolismen av mange antipsykotiske legemidler [32]. Antipsykotiske legemidler inndeles i gruppene typiske (førstegenerasjons) og atypiske (andregenerasjon). Tidligere var førstegenerasjons antipsykotika som klorpromazin og haloperidol gullstandarden i behandlingen av schizofreni [33].

Schizofreni kjennetegnes både av kognitiv dysfunksjon og positive/negative symptomer. Positive symptomer karakteriseres som tap av selvinnsett, hallusinasjoner (spesielt det å høre stemmer) og vrangforestillinger, mens negative symptomer utarter seg som emosjonell utflating, tap av initiativ og motivasjon og sosial tilbaketrekning [33-35]. Ut i fra teorien om at schizofreni skyldes en ubalanse av dopaminnivåer i hjernen er det framsatt en hypotese om at de positive symptomene skyldes en hyperdopaminerg tilstand i den mesolimbiske signalveien. Negative symptomer og kognitiv dysfunksjon er derimot et resultat av en hypodopaminerg tilstand i den mesokortikale signalveien [35].

Førstegenerasjons antipsykotika er antagonist med høy affinitet for D₂-reseptoren [35]. Antagonisme av D₂-reseptorer i det limbiske system har vist god effekt av disse legemidlene på positive symptomer ved schizofreni. Derimot har de vist dårlig effekt på negative symptomer og kognitiv dysfunksjon [35]. Behandling med førstegenerasjons antipsykotika har også vist seg å gi uønskede bivirkninger som har ført til dårlig etterlevelse og økt insidens av tilbakefall [33].

Andregenerasjons antipsykotika har bedre effekt mot negative symptomer og kognitiv dysfunksjon, samt en bedre bivirkningsprofil, enn førstegenerasjons antipsykotika [35]. En mulig forklaring på dette er at disse i større grad hemmer serotonin-2A (5-HT_{2A})-reseptoren sammenliknet med D₂-reseptorer [36]. Det er observert høy tetthet av 5-HT_{2A}-reseptorer i cortex og basalgangliene [37]. På bakgrunn av den hypodopaminerge tilstanden i den mesokortikale signalveien ved schizofreni kan de atypiske antipsykotiske legemidlenes effekt mot kognitiv dysfunksjon og negative symptomer forklares ut i fra økt dopaminfrigjøring som en respons på 5-HT_{2A}-reseptorblokade [36]. Bedre bivirkningsprofil er satt i sammenheng med at atypiske antipsykotika har lavere affinitet for D₂-reseptorer sammenliknet med typiske

antipsykotika [38]. Blokaden er sterk nok til å gi antipsykotisk effekt, men på grunn av rask dissosiasjon fra reseptoren reduseres risikoen for ekstrapyramidale bivirkninger som kommer til uttrykk ved høyere grad av reseptorblokkade [38].

1.4.1 Risperidon

Risperidon klassifiseres som et atypisk antipsykotikum og brukes til behandling av schizofreni, akutte bipolare lidelser og vedvarende aggresjon hos f. eks. pasienter med Alzheimers` sykdom [39]. Tall fra Reseptregisteret viser at bruken av risperidon er økende. I 2010 brukte i overkant av 8200 personer i Norge risperidon, enten som tabletter (Risperdal[®]) eller depotinjeksjon (Risperdal Consta[®]), mens tilsvarende tall for 2005 var i underkant av 7700 personer [40].

Farmakodynamikk

Risperidon er en reseptorantagonist med høy affinitet for serotoninreseptorene 2A (5-HT_{2A}) og 7 (5-HT₇) og dopaminreseptoren D₂ [41]. Blokade av D₂-reseptoren er sett på som den viktigste farmakologiske egenskapen for antipsykotisk effekt samt bivirkninger som ekstrapyramidale symptomer og hyperprolaktinemi [38]. Risperidons affinitet for D₂-reseptoren er ca. 1/3 sammenliknet med haloperidol (førstegenerasjons antipsykotika) [42], og affiniteten for 5-HT_{2A}-reseptoren er ca. 10 ganger høyere enn for D₂-reseptoren [38]. Risperidon vil også til en viss grad kunne blokkere andre dopaminreseptorer, histaminreseptorer og α -adrenerge reseptorer [38, 42].

Det er beskrevet liknende farmakodynamisk aktivitet for risperidons farmakologisk aktive metabolitt (9-hydroksyrisperidon) som for modersubstansen [43]. Det er derfor sumkonsentrasjonen av modersubstans og farmakologisk aktiv metabolitt som regnes som det mest relevante målet på risperidons kliniske respons [44]. *In vitro*-studier har imidlertid vist at modersubstans og metabolitt har til dels ulike affiniteter for målreseptorer [38]. Risperidon har for eksempel ca. 25 % lavere affinitet for D₂-reseptoren, og ca. 10 ganger høyere affinitet for 5-HT_{2A}-reseptoren sammenliknet med 9-hydroksyrisperidon [45]. Risperidon er også rapportert til å være over tre ganger mer potent antagonist av alfa-1-reseptorer sammenliknet med 9-hydroksyrisperidon [45].

Mauri *et al.* har observert en lineær sammenheng mellom serumkonsentrasjon og klinisk forbedring av positive og negative symptomer i schizofrene pasienter for sumkonsentrasjon av risperidon og 9-hydroksyrisperidon [46]. Andre studier har imidlertid ikke funnet en direkte sammenheng mellom serumkonsentrasjon og effekt/bivirkninger [47, 48]. På grunn av motstridende data har det ikke blitt etablert et klart terapeutisk serumkonsentrasjonsområde for risperidonbehandling [41].

Farmakokinetikk

Risperidon metaboliseres hovedsaklig til 9-hydroksyrisperidon (ca. 30 % av dosen *in vivo*), og bare i noen grad til metabolitter via N-dealkylering (ca. 10 % av dosen *in vivo*) og 7-hydroksylering (1-5 % av dosen *in vivo*) [49]. Ved terapeutiske doser er CYP2D6 det viktigste enzymet i metabolismen av risperidon til 9-hydroksyrisperidon [50], mens CYP3A4-enzymet bidrar i mindre grad [41, 51]. Halveringstiden ($t_{1/2}$) for risperidon og 9-hydroksyrisperidon har blitt rapportert til å være henholdsvis ca. 3 og 20 timer i EMs [52].

Store interindividuelle variasjoner i farmakokinetikk er vanlig for antipsykotiske legemidler [53]. CYP2D6-enzymet er ansett som den viktigste enkeltfaktoren bak interindividuelle variasjoner i risperidons farmakokinetikk [38]. Tidligere studier har rapportert at likevektskonsentrasjonen av risperidon og 9-hydroksyrisperidon i serum er tett knyttet til genetisk betinget variasjon i CYP2D6-metabolisme [54-58]. Det er også vist at CYP2D6-hemmere og legemidler som inducerer CYP3A4 påvirker serumkonsentrasjonen av risperidon og metabolitten i vesentlig grad [54, 59]. Ved samtidig behandling med legemidler som inducerer CYP3A4 blir dette enzymet relativt sett viktigere i metabolismen av risperidon [51].

Det er også beskrevet at risperidon er et substrat for efflukspumpen P-glykoprotein (P-gp), et protein som blant annet uttrykkes i blod-hjerne-barrieren (BBB) [60]. I rotter har det imidlertid blitt observert at P-gp har høyere affinitet for 9-hydroksyrisperidon sammenliknet med risperidon [61]. Dette kan forklare hvorfor høye serumkonsentrasjoner av risperidon er ansett som mer "hjernetoksiske" enn 9-hydroksyrisperidon [54]. Det er observert at polymorfismer i genet som koder for P-gp har moderat effekt på serumkonsentrasjon av 9-hydroksyrisperidon, men ingen effekt på serumkonsentrasjon av risperidon [62]. Hvorvidt genetiske variasjoner i P-gp påvirker lokal hjerneeksponering og klinisk effekt av risperidon er foreløpig uklart [63].

I en studie der 9-hydroksyrisperidon ble administrert peroralt til mennesker skiltes substansen i all hovedsak ut uforandret i urin (ca. 60 %) [64]. Det ble ikke rapportert om forskjeller i serumkonsentrasjon mellom CYP2D6 PMs og EMs i denne studien [64].

1.4.2 Aripiprazol

Aripiprazol klassifiseres også som et atypisk antipsykotikum og har indikasjon for behandling av schizofreni og moderate til alvorlige maniske episoder ved bipolar lidelse [65]. Tall fra Reseptregisteret viser at bruken av aripiprazol i Norge er økende. I 2010 brukte i underkant av 4400 personer legemiddelet, mens tilsvarende tall fra 2005 var i overkant av 1300 personer [40].

Farmakodynamikk

Virkningsmekanismen til aripiprazol skiller seg både fra andre typiske og atypiske antipsykotika. I motsetning til andre antipsykotiske legemidler som er fullantagonister av D₂-reseptoren, er aripiprazol en partiell agonist [66]. Dette regnes som en gunstig egenskap fordi aripiprazol aktiverer dopaminreseptorer i mindre grad enn dopamin selv [35]. Den partielle antagonismen/agonismen innebærer at aripiprazol fungerer som en antagonist for D₂-reseptorer ved hyperdopaminerg aktivitet, og som agonist ved hypodopaminerge tilstander [66]. Aripiprazol er også en partiell agonist for dopamin-3 (D₃)-reseptoren og serotonin-1A (5-HT_{1A})-reseptoren, samt antagonist for 5-HT_{2A}-reseptoren [67]. Aripiprazols interaksjon med serotoninreseptorer kan forklare legemiddelets gunstige effekt mot kognitiv dysfunksjon og negative symptomer ved schizofreni [35]. Aripiprazol har ikke vist seg å ha antikolinerg aktivitet, og affiniteten for α_1 -adrenerge reseptorer og histamin-1 (H₁)-reseptorer er lav [35].

Den farmakologisk aktive metabolitten (dehydroaripiprazol) har i likhet med modersubstansen affinitet for D₂-reseptoren, og antas derfor å ha liknende farmakologiske egenskaper som aripiprazol [68]. Dehydroaripiprazols bidrag til den totale effekten av aripiprazol er imidlertid uklar [66].

Det er foreløpig gjort få studier på sammenhengen mellom serumkonsentrasjon og effekt for aripiprazol [41]. I en studie utført av Kirschbaum *et al.* har det imidlertid blitt observert at serumkonsentrasjon av aripiprazol i området 150 til 300 ng/ml (335-669 nmol/L) gir best klinisk effekt [69].

Farmakokinetikk

Aripiprazol metaboliseres i all hovedsak i leveren ved hydroksylering, dehydrogenering og N-dealkylering av CYP-enzymene 2D6 og 3A4 [66]. Det relative bidraget av CYP2D6 og CYP3A4 i metabolismen av aripiprazol til den farmakologisk aktive metabolitten dehydroaripiprazol er rapportert til å være omtrentlig likeverdig [70]. CYP3A4 er imidlertid rapportert til å være viktigst for N-dealkylering av aripiprazol [66]. Halveringstiden til aripiprazol og dehydroaripiprazol har blitt rapportert til å være henholdsvis ca. 55 og 85 timer [71].

Det er observert stor individuell farmakokinetisk variabilitet av aripiprazol [72]. Flere kliniske studier har vist at denne variabiliteten er knyttet til *CYP2D6*-genotype [70, 71, 73]. I psykiatriske pasienter er det for eksempel observert om lag 2 ganger høyere serumkonsentrasjon av aripiprazol hos *CYP2D6* PMs sammenliknet med EMs [74]. Det er også vist at hemmere av *CYP2D6* og hemmere/indusere av *CYP3A4* påvirker serumkonsentrasjonen av aripiprazol [70, 75, 76]. Induksjon av *CYP3A4* har også vist seg å redusere serumkonsentrasjon av dehydroaripiprazol [77]. Dette indikerer at *CYP3A4* også er av betydning for den videre metabolismen av dehydroaripiprazol.

Aripiprazol og dehydroaripiprazol har begge blitt identifisert som substrater for P-gp [78]. Det er imidlertid observert at dehydroaripiprazol har større affinitet for P-gp sammenliknet med aripiprazol [78]. Genetisk variasjon i P-gp-proteinet, samt legemidler som interagerer med P-gp, kan derfor påvirke distribusjonen av aripiprazol og farmakologisk aktiv metabolitt til hjernen [78].

1.5 Hensikt

Hensikten med denne masteroppgaven var å undersøke betydningen av genetisk betinget variasjon i *CYP2D6*-metabolisme for serumkonsentrasjon av risperidon og aripiprazol, samt deres respektive aktive metabolitter. Videre var det av spesiell interesse å i) sammenlikne *CYP2D6*-fenotype blant pasienter med genotypkombinasjon av et defekt og et redusert variantallel opp mot homozygot bærere av defekte variantalleler (PMs), og ii) undersøke den relative betydningen av ulike reduserte variantalleler for *CYP2D6*-aktivitet *in vivo*.

2 Materiale og metode

2.1 Datamateriale

Retrospektive data fra TDM-databasen ved Senter for Psykofarmakologi (SFP), Diakonhjemmet sykehus, ble inkludert i studien. Labdatasystemet *Swisslab II* ble brukt til innhenting av datamaterialet. Programmet har en søkefunksjon som gjorde det mulig med kombinasjonssøk etter pasienter som både hadde fått utført farmakogenetiske analyser og serumkonsentrasjonsmålinger. Studien inkluderte alle pasienter som både hadde utført farmakogenetisk analyse av CYP2D6 og målt serumkonsentrasjon av risperidon eller aripiprazol i tidsrommet 1.januar 2006 til 1. april 2010. I tillegg til CYP2D6-genotype ble informasjon om målte serumkonsentrasjoner av risperidon, 9-hydroksyrisperidon, aripiprazol, dehydroaripiprazol, tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning, dosering, alder, og kjønn hentet ut fra labdatasystemet. Studiematerialet ble gjennomgått med tanke på kjente faktorer som kan påvirke serumkonsentrasjonen av risperidon og aripiprazol for å sikre at serumkonsentrasjonene i størst mulig grad gjenspeilte metabolismekapasitet i CYP2D6.

Prøver ble ekskludert etter følgende kriterier:

- intramuskulær administrasjon (gjaldt risperidon)
- manglende informasjon om dosering
- tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning var > 30 timer for aripiprazolprøver og utenfor et intervall på 10-14 timer for risperidonprøver
- det forelå informasjon på rekvisisjonsskjemaet om samtidig bruk av legemidler som er klassifisert som potente hemmere av CYP2D6, eller andre legemidler hvor interaksjoner med risperidon eller aripiprazol er rapportert
- legemiddelkonsentrasjonen til modersubstans og/eller metabolitten ikke var påvist eller lå under kvantifiseringsgrensen for den aktuelle analysemetoden
- påvisning av multiplikasjon i CYP2D6-genet hos pasienter med samtidig påvisning av heterozygot defekt eller redusert varianttallet
- informasjon på rekvisisjonsskjemaet om sviktende etterlevelse

I tilfeller der det hadde blitt utført flere målinger på én og samme pasient ble den nyeste serumkonsentrasjonsmålingen, som ikke brøt med eksklusjonskriteriene, inkludert. De respektive rekvisisjonsskjemaene som de inkluderte pasientene var basert på ble så

gjennomgått for å undersøke om pasientene brukte andre legemidler som kunne påvirke serumkonsentrasjonen av risperidon eller aripiprazol. Der det var opplysninger om samtidig bruk av andre legemidler i tillegg til risperidon og aripiprazol ble legemiddelkombinasjonene sjekket i interaksjonsdatabasene www.CYP450.no, www.interaksjoner.no og www.janusinfo.se¹. Prøver ble ekskludert i tilfeller der det forelå informasjon om at pasienten ble behandlet med legemidler som klassifiseres som potente hemmere av CYP2D6, eller andre legemidler hvor interaksjoner med risperidon eller aripiprazol har blitt rapportert.

Studien ble forhåndsgodkjent av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (Ref. nr. 2010/1282a), Personvernombudet og Forskningsutvalget ved Diakonhjemmet sykehus.

2.2 Serumkonsentrasjonsanalyser

Serumkonsentrasjon av risperidon, 9-hydroksyrisperidon, aripiprazol og dehydroaripiprazol ble bestemt ved bruk av validerte og sertifiserte metoder ved SFP. De respektive analysemetodene er beskrevet i detalj i interne kvalitetsdokumenter. I korthet ble serumprøvene først opparbeidet ved proteinfelling. Supernatanten ble avpipettert og injisert på en 'ultra-high performance liquid chromatography' (UPLC-kolonne) koblet til en tandem massespektrometrisk (MS/MS) detektor. Serumkonsentrasjoner av de aktuelle analyttene ble kvantifisert ved hjelp av standardkurver som baserer seg på fem kalibreringsløsninger med kjente konsentrasjoner.

Standardkurvene til risperidon og 9-hydroksyrisperidon utviste god linearitet ($R^2 = 0.99$ for begge kurvene) i konsentrasjonsområdene 1-200 nM og 2.5-300 nM. Laveste validerte konsentrasjon ble brukt som laveste kvantifiseringsgrense (eng. 'lower limit of quantification' LLOQ). Variasjon i reproduserbarhet og presisjon (eng. 'coefficient of variation', CV) var < 8 % for begge analyttene. Metodens nøyaktighet (prosentvis avvik mellom teoretisk og målt verdi) for risperidon og 9-hydroksyrisperidon var henholdsvis 3.3 og 4.3 %.

Standardkurvene for aripiprazol og dehydroaripiprazol utviste også linearitet ($R^2 = 0.99$ for begge kurvene) og var validert i områdene 25-3000 nM og 12.5-1200 nM. Metodens CV-

¹ Fra 01.03.11 er ikke Janusinfo lenger tilgjengelig fra norske IP-adresser.

verdier var < 9 % for begge analytter, og nøyaktigheten for aripiprazol og dehydroaripiprazol var henholdsvis 3.1 og -1.2 %.

2.3 Genotyping

Genotyping av CYP2D6 ble utført ved bruk av validerte og sertifiserte metoder ved SFP. Ved genotyping av CYP2D6 analyseres det for variantallelene *3, *4, *5, *6, *9, *10 og *41, samt eventuell oppkopiering av CYP2D6-genet som fører til ultrarask metabolisme. Analyse av *9 og *10 ble imidlertid implementert i rutinen først 1. september 2008. Inkluderte prøver som var analysert tidligere enn denne datoen ble reanalysert med tanke på tilstedeværelse av disse variantallelene.

I forkant av denne studien ble det i tillegg utviklet en ny metode for deteksjon av variantallelet CYP2D6*41. -2988G>A-mutasjonen ble detektert ved hjelp av *Applied Biosystems 7900HT Real-Time PCR System* (Applied Biosystem, Foster city, CA, USA). PCR-metoden ble satt opp med et kommersielt kit og ferdige reagenser fra *Applied Biosystems (TaqMan[®] Drug Metabolism Genotyping Assay)*. Det fantes ingen referansemetode for metoden, så riktigheten ble validert ved hjelp av sekvensering. Et utvalg av prøver bestående av normale, heterozygot*41 og homozygot*41 ble sendt til sekvensering ved *Eurofins MWG Operon* i Tyskland. Resultatene fra sekvenseringen ble benyttet som referanse ved vurdering av riktighet, sensitivitet og spesifisitet for analysen.

DNA-ekstrakter hentet ut fra diagnostisk biobank ('DNA-prøver for mutasjonsanalyse av legemiddelmetaboliserende enzymer') ved SFP ble brukt for reanalyser av CYP2D6*9, *10 og *41. I tilfeller hvor DNA-ekstrakter ikke ble funnet, eller at reanalysen indikerte at ekstraktet var av for dårlig kvalitet, ble blodprøver for de aktuelle pasientene ekstrahert og analysert på nytt.

2.4 Statistiske analyser og endepunkter

Statistikkprogrammet GraphPad Prism versjon 4 (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, USA) ble brukt i de statistiske analysene og for utarbeidelse av grafiske framstillinger. Dosejusterte serumkonsentrasjoner (C/D-ratio: nM/mg per dag) ble beregnet for å kunne sammenlikne serumkonsentrasjonene mellom pasienter som ble behandlet med ulike doser. Serumkonsentrasjon av risperidon og aripiprazol er vist å være doseproporsjonal ved

terapeutiske doser [39, 69]. Betydning av *CYP2D6*-genotype for serumkonsentrasjon ble evaluert basert på endepunktene dosejusterte serumkonsentrasjoner og metabolittratio (modersubstans/farmakologisk aktiv metabolitt). Det ble regnet ut C/D-ratio for modersubstans, farmakologisk aktiv metabolitt samt summen av modersubstans og farmakologisk aktiv metabolitt for både risperidon og aripiprazol.

Studiepopulasjonen ble stratifisert i syv undergrupper for å evaluere betydning av *CYP2D6*-genotype: **1/*1* (homozygot fravær av analyserte mutasjoner [antatt "villtype"]), **1/red* (red: et variantallel med påvist **9*-, **10*- eller **41*-mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet i *CYP2D6*), **1/def* (def: et variantallel med påvist **3*-, **4*-, **5* eller **6*-mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet i *CYP2D6*), *red/red*, *def/red* og *def/def*. Undergruppen med homozygot fravær av analyserte mutasjoner (**1/*1*) ble brukt som referansegruppe.

Studiens endepunkter ble evaluert via ikke-parametrisk *Kruskal Wallis test* og *Dunn`s multiple comparison post test*. Resultatene presenteres derfor som median og variansen oppgis som minste og laveste verdi i testgruppen. *Kruskal Wallis test* og *Dunn`s multiple comparison post test* ble valgt fordi den ikke forutsetter normalfordeling og lik varians mellom undergruppene. Datamaterialet i de ulike undergruppene viste seg å ha en relativt stor varians og var stort sett ikke normalfordelt. Antall observasjoner (n) i enkelte av undergruppene var i tillegg lav. Normalfordeling i undergruppene ble sjekket visuelt ved å plote observasjonene i histogrammer og ved hjelp av *D`Agostino & Pearson omnibus normality test*.

Samme statistiske metode ble brukt for de samme endepunktene ved sammenlikning av *CYP2D6*-genotypene *def/red* og *def/def*.

Den relative fenotypiske betydningen av variantalleler som koder for redusert *CYP2D6*-metabolisme ble undersøkt ved å sammenlikne median C/D-ratio av modersubstans og metabolittratio for pasientprøver med påvist **41*-mutasjon mot **9*- og **10*-mutasjonene. Genotypene **1/red*, *red/red* og *def/red* ble splittet opp i to grupper basert på hvilken redusert mutasjon som var påvist, enten **41*-mutasjonen eller **9/10*-mutasjonene. Genotypene **1/*41*, **41/*41* og *def/*41* ble sammenliknet mot henholdsvis **1/red*, *red/red* og *def/red*, der **41*-mutasjonen var utelatt. Dette ble gjort for både risperidon og aripiprazol. Den statistiske evalueringen ble utført via *Kruskal Wallis test* og *Dunn`s multiple comparison post test*.

Videre ble fordelingen innad i undergruppene for både risperidon og aripiprazol evaluert med tanke på parametere som alder, kjønn, døgndose og tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning. Alder er observert til å være en mulig klinisk relevant kovariat for eliminering av risperidon og 9-hydroksyrisperidon [53, 79]. Fordeling av alder, døgndose og tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning ble evaluert ved ikke-parametrisk *Kruskal Wallis test* og *Dunn`s multiple comparison test*. Kjønnfordelingen ble evaluert ved å sammenlikne fordelingen innad i undergruppene med referansegruppen (*1/*1) via *Fisher`s exact test*. Signifikansgrensen for de statistiske analysene ble satt til $p < 0.05$.

Allelfrekvensen i datamaterialet etter eksklusjon ble estimert ved å kalkulere andelen av hvert enkelt variantallel av totalt antall alleler (antall inkluderte pasientprøver x 2). Frekvensen av hvert enkelt variantallel ble så summert på tvers av *CYP2D6*-genotyper. Et 95 % konfidensintervall ble regnet ut for andelen av de ulike variantallelene etter følgende formel:

$$\hat{p} \pm m$$

der \hat{p} er frekvensen av variantallelene og m er feilmarginen. Feilmarginen er gitt ved formelen:

$$m = z^* \cdot SE_{\hat{p}}$$

der z^* er verdien for standard normal tetthetskurve med areal mellom $-z^*$ og z^* (for 95 % konfidensintervall er $z^* = 1,96$) og standardfeilen til \hat{p} ($SE_{\hat{p}}$) er gitt ved formelen:

$$SE_{\hat{p}} = \sqrt{\frac{\hat{p}(1 - \hat{p})}{n}}$$

Der n er totalt antall alleler i studiematerialet.

3 Resultater

3.1 Inkludert datamateriale

Totalt ble 602 pasientprøver hvor det både hadde blitt utført farmakogenetisk analyse av CYP2D6 og serumkonsentrasjonsanalyser av risperidon (n=337) eller aripiprazol (n=265) i tidsrommet 1. januar 2006 til 1. april 2010 gjennomgått. Etter eksklusjon av pasientprøver iht. definerte kriterier (se *tabell 3.1*), ble i alt 343 prøver inkludert (risperidon n=146, aripiprazol n=197). Alle inkluderte prøver hadde fått påvist serumkonsentrasjoner over LLOQ og lå innenfor de validerte konsentrasjonsområdene.

Tabell 3.1 Oversikt over prøver som ble ekskludert fra studien.

	Risperidon	Aripiprazol
Antall pasientprøver inkludert etter kombinasjonssøk	337	265
Grunn til eksklusjon		
Informasjon om sviktende etterlevelse	1	6
Ikke angitt tid mellom siste dose og prøvetagning > 30 timer siden siste doseinntak (aripiprazol)	33	28
Prøve tatt utenfor 10-14 timer etter siste dose (risperidon)	31	
Depotinjeksjon (Risperdal Consta®)	101	
Serumkonsentrasjon utenfor validerte konsentrasjonsområder	12	
Rekvisisjon ikke funnet		6
Dose ikke oppgitt	8	5
DNA-ekstrakt/blodprøve ikke funnet		1
Tilleggsbehandling med interagerende legemidler	3	5
Usikkerhet rundt hvilket varianttall som var oppkopiert	2	4
Antall pasientprøver etter gjennomgang av eksklusjonskriteriene	146	197

3.2 Risperidon og CYP2D6-genotype

Totalt ble 146 prøver fra pasienter som brukte risperidontabletter inkludert. Fordelingen av antall pasientprøver i de respektive undergruppene samt deskriptive data er presentert i *tabell 3.2*. Det var ingen signifikante forskjeller mellom undergruppene med tanke på alder, kjønn, dose og tid mellom siste doseinntak og prøvetakning. Median alder i risperidongruppen totalt sett var på 37 år [spredning 8-87 år]. Kjønnsdistribusjonen mellom menn/kvinner var 73/73, median dose var 3 mg/døgn [spredning 0.5-10 mg/døgn] og median tid mellom siste doseinntak og prøvetakning var på 13 timer [spredning 10-14 timer].

Tabell 3.2 Deskriptive data for de inkluderte pasientene som ble behandlet med risperidontabletter stratifisert etter *CYP2D6*-genotype.

GENOTYPE (n)	*1/*1 x N (6)	*1/*1 (49)	*1/red (21)	*1/def (44)	red/red (6)	def/red (10)	def/def (10)
Alder (år)¹	30 [18-61]	39 [18-85]	39 [19-86]	37 [8-87]	31 [24-80]	32 [18-78]	36 [23-86]
Kjønn (menn), n	6 (5)	49 (29)	21 (10)	44 (20)	6 (1)	10 (5)	10 (3)
Dose (mg/døgn)¹	4.5 [3.0-6.0]	3.0 [0.50-8.0]	2.0 [0.50-8.0]	3.3 [0.50-10]	3.0 [0.50-6.0]	3.8 [0.50-6.0]	3.0 [0.50-4.0]
Prøvetakningstid (t)^{1,2}	13 [12-13]	13 [10-14]	13 [11-14]	13 [11-14]	13 [11-14]	12 [12-14]	12 [11-14]

¹ Tallene er presentert som median [spredning]; ² Tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning; *1: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; red: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; def: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

Median C/D-ratio av risperidon i referansegruppen med homozygot fravær av analyserte mutasjoner (*1/*1) var 1.3 nM/mg [spredning 0.17-27 nM/mg]. Til sammenlikning var median C/D-ratio av risperidon i red/red, def/red og def/def undergruppene signifikant forskjellig fra referansegruppen, henholdsvis 8.5, 11.5 og 12.3 ganger høyere. Det ble ikke observert signifikante forskjeller mellom de andre *CYP2D6*-genotypene sammenliknet med referansegruppen (tabell 3.3, figur 3.1 a).

Median C/D-ratio av 9-hydroksyrisperidon var signifikant lavere i def/def-gruppen sammenliknet med referansegruppen (5.8 vs. 15 nM/mg). Det var imidlertid ingen signifikante forskjeller mellom referansegruppen og de øvrige gruppene (tabell 3.3, figur 3.1 b).

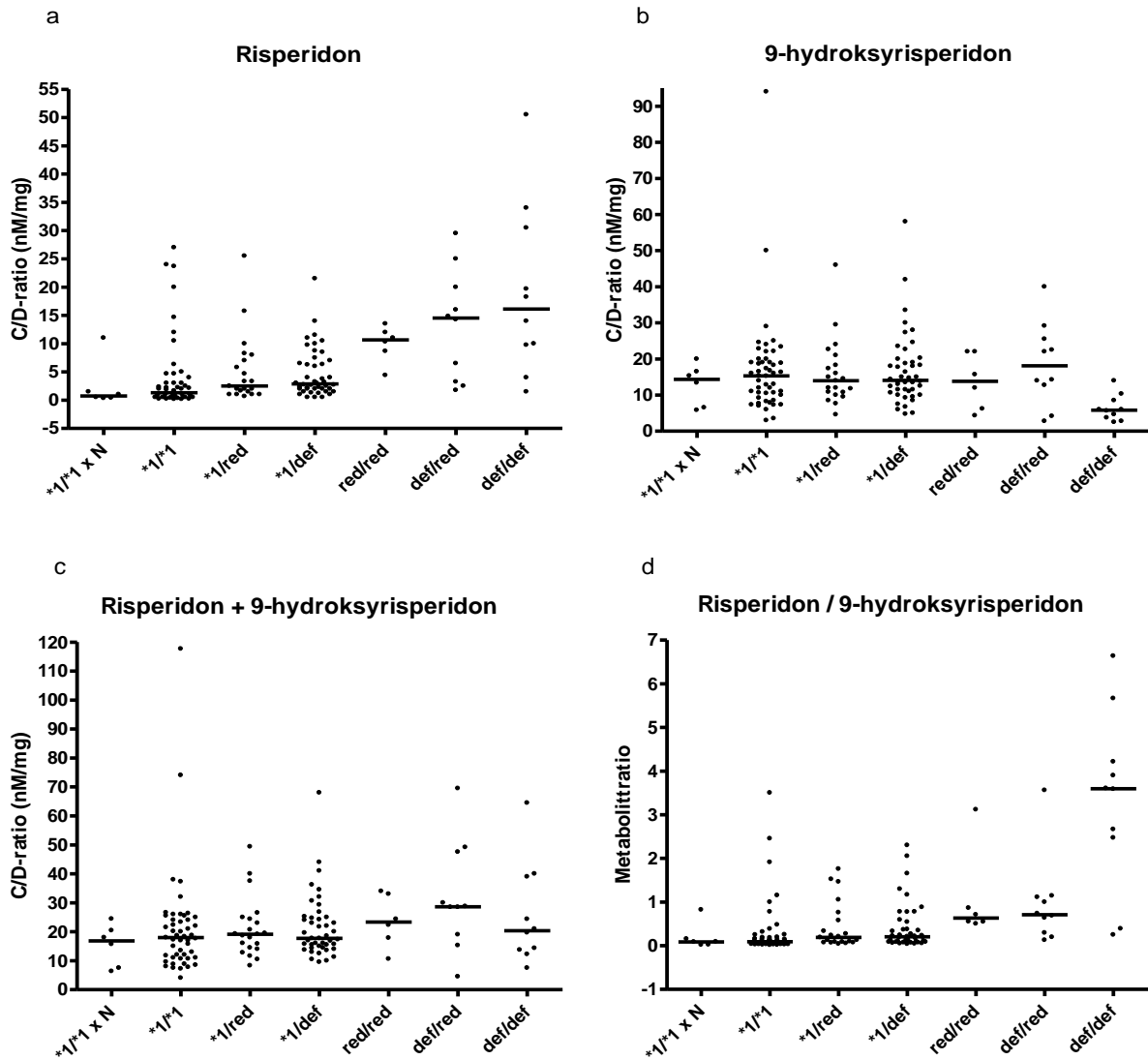
Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom noen av undergruppene sammenliknet med referansegruppen for sum av risperidon og 9-hydroksyrisperidon (tabell 3.3, figur 3.1 c).

Metabolitratio var signifikant høyere i undergruppene red/red, def/red og def/def sammenliknet med referansegruppen, henholdsvis 6.9, 7.8 og 39.6 ganger høyere. Det ble ikke observert signifikante forskjeller mellom de øvrige *CYP2D6*-genotypene sammenliknet med referansegruppen (tabell 3.3, figur 3.1 d).

Tabell 3.3 Effektmål. Dataene er stratifisert i undergrupper basert på *CYP2D6*-genotype.

GENOTYPE (n)	<i>*I</i>/<i>*I</i> x N (6)	<i>*I</i>/<i>*I</i> (49)	<i>*I</i>/<i>red</i> (21)	<i>*I</i>/<i>def</i> (44)	<i>red</i>/<i>red</i> (6)	<i>def</i>/<i>red</i> (10)	<i>def</i>/<i>def</i> (10)
C/D-ratio RIS (nM/mg)¹	0.75 [0.33-11]	1.3 [0.17-27]	2.5 [0.67-26]	2.9 [0.50-22]	11 [4.4-14] ^a	15 [1.8-30] ^a	16 [1.5-51] ^a
C/D-ratio 9- OHRIS (nM/mg)¹	14 [5.8-20]	15 [3.0-94]	14 [4.6-46]	14 [4.8-58]	14 [4.3-22]	18 [2.8-40]	5.8 [2.5-14] ^a
C/D-ratio RIS + 9-OHRIS (nM/mg)¹	17 [6.3-24]	18 [4.0-118]	19 [8.3-49]	18 [9.5-68]	23 [11-34]	29 [4.5-70]	20 [7.5-65]
Metabolitratio (RIS/9-OHRIS)¹	0.088 [0.02-0.82]	0.091 [0.013-3.5]	0.19 [0.042-1.8]	0.20 [0.036-2.3]	0.63 [0.50-3.1] ^a	0.71 [0.13-3.6] ^a	3.6 [0.25-6.6] ^a

¹ Tallene er presentert som median [spredning]. ^a Signifikant forskjellig ($p < 0.05$) fra referansegruppen uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet (**I*/**I*). C/D: dosejusterte serumkonsentrasjoner; RIS: risperidon; 9-OHRIS: 9-hydroksyrisperidon; **I*: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; *red*: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.



Figur 3.1 Dosejusterte serumkonsentrasjoner (C/D-ratio) av (a) risperidon, (b) 9-hydroksyrisperidon, (c) summen av risperidon og 9-hydroksyrisperidon samt (d) metabolitratio i de ulike undergruppene. Horisontale linjer indikerer median. **1*: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; *red*: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

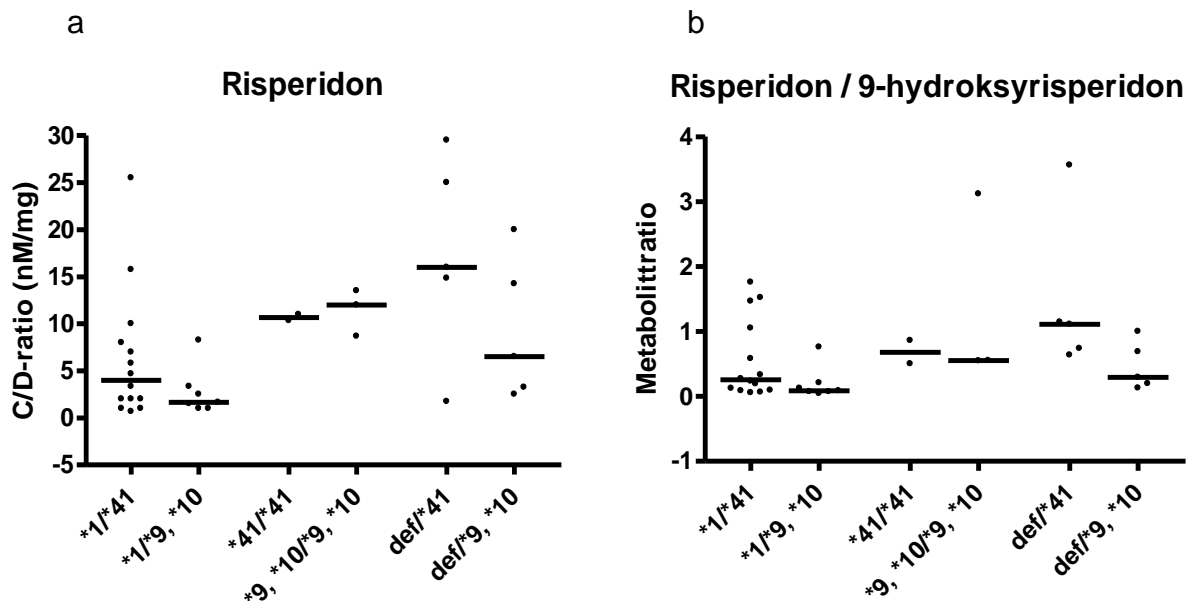
3.2.1 Genotypene *def/red* vs. *def/def*

Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom *CYP2D6*-genotypene *def/red* og *def/def* for endepunktene når det gjaldt C/D-ratio av risperidon, sum av risperidon og 9-hydroksyrisperidon eller metabolitratio av risperidon/9-hydroksyrisperidon (tabell 3.3, figur 3.1 a, c og d). *CYP2D6*-genotypen *def/def* var derimot signifikant lavere for median C/D-ratio av 9-hydroksyrisperidon sammenliknet med *def/red*-genotypen (5.8 vs. 18 nM/mg) (tabell 3.3, figur 3.1 b).

3.2.2 Relativ betydning av reduserte variantalleler

I samlegruppen med **1/red*-genotype av CYP2D6 ble det observert en høyere median C/D-ratio av risperidon i **41*-gruppen sammenliknet med **9/10*-gruppen, henholdsvis 4.0 og 1.7 nM/mg (*fig. 3.2 a*), men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p > 0.05$). Tilsvarende ble det innad i *def/red*-gruppen observert en ikke-signifikant 2.5 ganger høyere median C/D-ratio for **41*-bærere sammenliknet med **9/10*-bærere (*fig. 3.2 a*). Til sammenlikning ble det i samlegruppene med homozygot *red/red*-genotyper av CYP2D6 ikke observert åpenbare forskjeller mellom **41/*41*-subgruppen og homozygot **9/10*-subgruppen (11 vs. 12 nM/mg) (*fig. 3.2 a*).

Når det gjaldt effektmaßet metabolitratio av risperidon og 9-hydroksyrisperidon ble det observert i samlegruppen med **1/red*-genotype av CYP2D6 en høyere median metabolitratio i **41*-gruppen sammenliknet med **9/10*-gruppen, henholdsvis 0.25 og 0.085 (*fig. 3.2 b*), men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p > 0.05$). Innad i *def/red*-gruppen ble det observert en ikke-signifikant 3.7 ganger høyere median metabolitratio for **41*-bærere sammenliknet med **9/10*-bærere (*fig. 3.2 b*). Til sammenlikning ble det i samlegruppene med homozygot *red/red*-genotyper av CYP2D6 også for median metabolitratio ikke observert åpenbare forskjeller mellom **41/*41*-subgruppen og homozygot **9/10*-subgruppen (0.68 vs. 0.55) (*fig. 3.2 b*).



Figur 3.2 Dosejustert serumkonsentrasjon av (a) risperidon og (b) metabolitratio i subgrupper av *CYP2D6*-genotyper i forhold til type redusert variantallel, henholdsvis **41* og **9/10*, i kombinasjon med antatt villtype (**1*, til venstre), redusert variantallel (midten) og defekt variantallel (høyre). Horisontale linjer indikerer median. **1*: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; **9*, **10*: pasientprøvene hadde enten påvist **9*- eller **10*-mutasjon; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

3.3 Aripiprazol og *CYP2D6*-genotype

Totalt ble 197 pasientprøver som brukte aripiprazoltabletter inkludert. Fordelingen av antall pasientprøver i de respektive undergruppene samt deskriptive data er presentert i *tabell 3.3*. Det var ingen signifikante forskjeller mellom ulike *CYP2D6*-genotyper med tanke på alder, kjønn, dose og tid mellom siste doseinntak og prøvetakning. Totalt sett var median alder i aripiprazolgruppen på 32 år [spredning 10-86 år]. Kjønnsdistribusjonen mellom menn/kvinner var 90/107, median dose var 15 mg/døgn [spredning 2.5-45 mg/døgn] og median tid mellom siste doseinntak og prøvetakning var på 23 timer [spredning 11-29 timer].

Tabell 3.4 Deskriptive data for de inkluderte pasientene som ble behandlet med aripiprazoltabletter stratifisert etter *CYP2D6*-genotype.

GENOTYPE (n)	*1/*1 x N (7)	*1/*1 (80)	*1/red (31)	*1/def (48)	red/red (4)	def/red (10)	def/def (17)
Alder (år)¹	32 [23-48]	32 [14-79]	41 [12-86]	30 [10-70]	29 [15-47]	35 [19-44]	27 [16-71]
Kjønn (menn), n	7 (3)	80 (32)	31 (14)	48 (27)	4 (1)	10 (4)	17 (9)
Dose (mg/døgn)¹	20 [10-30]	15 [2.5-45]	15 [5.0-30]	15 [5.0-30]	15 [10-20]	15 [7.5-30]	15 [5.0-30]
Prøvetakningstid (t)^{1,2}	18 [13-26]	23 [12-28]	24 [12-29]	23 [12-29]	14 [12-24]	24 [11-26]	24 [12-29]

¹ Tallene er presentert som median [spredning]; ² Tidsintervall mellom siste doseinntak og prøvetakning; *1: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; red: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; def: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

Median C/D-ratio av aripiprazol i referansegruppen (*1/*1) var 22 nM/mg [spredning 4.6-72 nM/mg]. Til sammenlikning var median C/D-ratio av aripiprazol i *def/red* og *def/def* undergruppene signifikant høyere enn referansegruppen, henholdsvis 2.2 og 1.7 ganger høyere. Det ble ikke observert signifikante forskjeller mellom de øvrige *CYP2D6*-genotypene sammenliknet med referansegruppen (*tabell 3.5, figur 3.3 a*).

Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom de ulike *CYP2D6*-genotypene i median C/D-ratio av den farmakologisk aktive metabolitten sammenliknet med referansegruppen (*tabell 3.5, figur 3.3 b*).

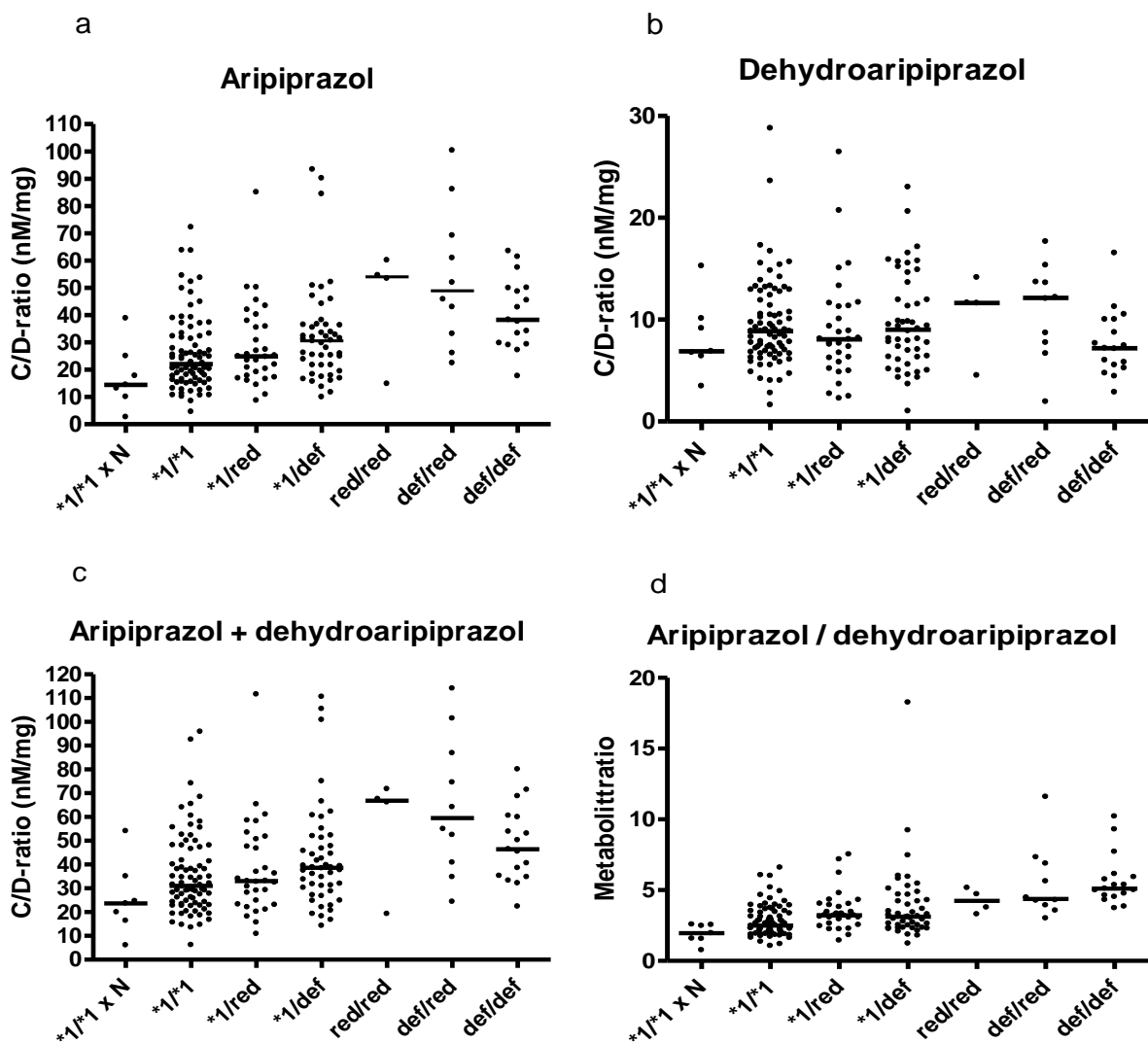
CYP2D6-genotypene *def/red* og *def/def* hadde signifikant høyere median C/D-ratio av summen av aripiprazol og dehydroaripiprazol sammenliknet med referansegruppen, henholdsvis 1.9 og 1.6 ganger høyere. Det ble ikke observert signifikante forskjeller mellom øvrige genotyper sammenliknet med referansegruppen (*tabell 3.5, figur 3.3 c*).

Aripiprazol/dehydroaripiprazol-ratio i referansegruppen var 2.5 [spredning 1.1-6.6]. Sammenliknet med referansegruppen ble det påvist statistisk signifikante forskjeller i *def/red*- og *def/def*-gruppen. Disse var henholdsvis 1.8 og 2.0 ganger høyere enn gruppen med to funksjonelle variantalleler. Det ble ikke observert signifikante forskjeller sammenliknet med referansegruppen for de øvrige genotypene (*tabell 3.5, figur 3.3 d*).

Tabell 3.5 Effektmål. Dataene er stratifisert i undergrupper basert på *CYP2D6*-genotype.

GENOTYPE (n)	<i>*I</i>/<i>*I</i> x N (7)	<i>*I</i>/<i>*I</i> (80)	<i>*I</i>/<i>red</i> (31)	<i>*I</i>/<i>def</i> (48)	<i>red</i>/<i>red</i> (4)	<i>def</i>/<i>red</i> (10)	<i>def</i>/<i>def</i> (17)
C/D-ratio ARI (nM/mg)¹	14 [2.6-39]	22 [4.6-72]	25 [8.6-85]	31 [10-93]	54 [15-60]	49 [22-100] ^a	38 [18-63] ^a
C/D-ratio DARI (nM/mg)¹	6.9 [3.5-15]	8.9 [1.6-29]	8.1 [2.3-26]	9.0 [1.0-23]	12 [4.5-14]	12 [1.9-18]	7.2 [2.9-17]
C/D-ratio ARI + DARI (nM/mg)¹	24 [6.1-54]	31 [6.2-96]	33 [11-112]	39 [14-111]	67 [19-72]	60 [24-114] ^a	46 [22-80] ^a
Metabolitratio (ARI/DARI)¹	2.0 [0.76-2.6]	2.5 [1.1-6.6]	3.2 [1.4-7.5]	3.1 [1.2-18]	4.2 [3.3-5.2]	4.4 [3.0-12] ^a	5.1 [3.7-10] ^a

¹ Tallene er presentert som median [spredning]; ^a Signifikant forskjellig ($p < 0.05$) sammenliknet med referansegruppen *CYP2D6***I*/**I*; C/D, dosejusterte serumkonsentrasjoner; ARI, aripiprazol; DARI, dehydroaripiprazol; **I*: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; *red*: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.



Figur 3.3 Dosejusterte serumkonsentrasjoner (C/D-ratio) av (a) aripiprazol, (b) dehydroaripiprazol, (c) summen av aripiprazol og dehydroaripiprazol samt (d) metabolittratio i de ulike undergruppene. Horisontale linjer indikerer median. **1*: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; *red*: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

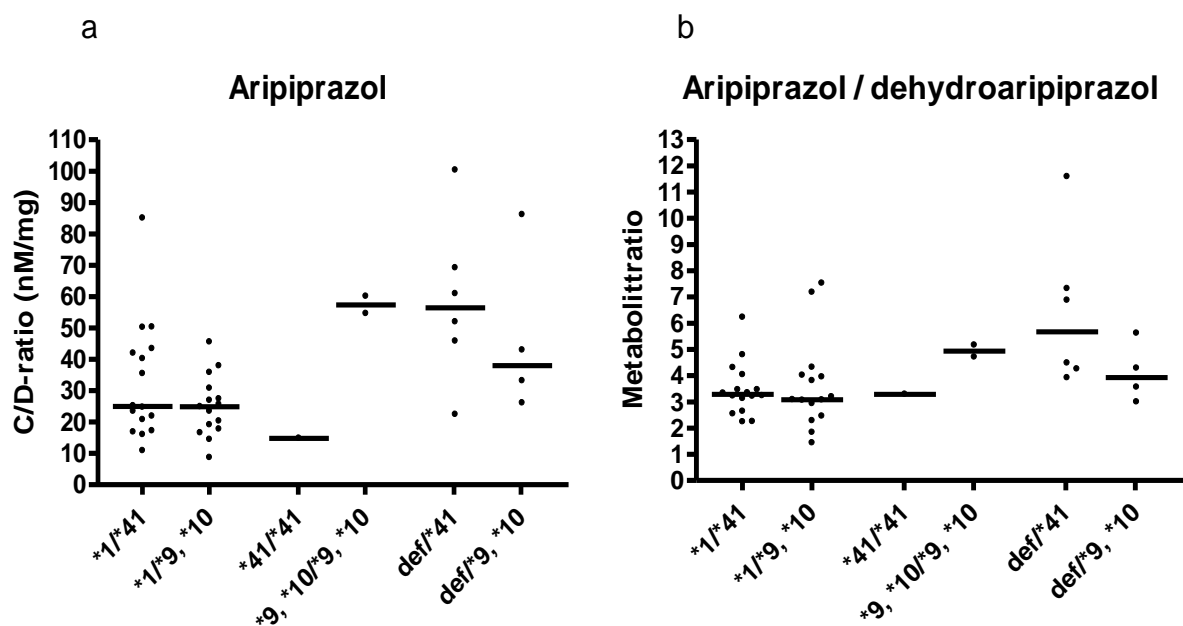
3.3.1 Genotypene *def/red* vs. *def/def*

Det ble ikke påvist signifikante forskjeller mellom *CYP2D6*-genotypene *def/red* og *def/def* for noen av endepunktene for aripiprazol (tabell 3.5, figur 3.3 a, b, c og d).

3.3.2 Relativ betydning av reduserte variantalleler

I samlegruppen med **1/red*-genotype av CYP2D6 ble det ikke observert åpenbare forskjeller mellom C/D-ratio av aripiprazol i **41*-gruppen sammenliknet med **9/10*-gruppen, henholdsvis 25 og 25 nM/mg (*fig. 3.4 a*). Innad i *def/red*-gruppen ble det observert en ikke-signifikant 1.5 ganger høyere median C/D-ratio for **41*-bærere sammenliknet med **9/10*-bærere (*fig. 3.4 a*). Til sammenlikning ble det i samlegruppene med homozygot *red/red*-genotyper av CYP2D6 observert en lavere median C/D-ratio av aripiprazol i *41/*41*-subgruppen (kun én prøve) og homozygot **9/10*-subgruppen (15 vs. 57 nM/mg), men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p>0.05$) (*fig. 3.4 a*).

Når det gjaldt metabolittratio av aripiprazol og dehydroaripiprazol ble det observert i samlegruppen med **1/red*-genotype av CYP2D6 en høyere median metabolittratio i **41*-gruppen sammenliknet med **9/10*-gruppen, henholdsvis 3.3 og 3.1 (*fig. 3.4 b*), men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p>0.05$). Innad i *def/red*-gruppen ble det observert en ikke-signifikant 1.5 ganger høyere median metabolittratio for **41*-bærere sammenliknet med **9/10*-bærere (*fig. 3.2 b*). I samlegruppene med homozygot *red/red*-genotyper av CYP2D6 ble det også for metabolittratio av aripiprazol observert en lavere median C/D-ratio i *41/*41*-subgruppen (kun én prøve) og homozygot **9/10*-subgruppen (3.3 vs. 4.9), men forskjellen var ikke statistisk signifikant ($p>0.05$) (*fig. 3.4 b*).



Figur 3.4 Dosejustert serumkonsentrasjon av (a) aripiprazol og (b) metabolitratio i subgrupper av *CYP2D6*-genotyper i forhold til type redusert variantallel, henholdsvis **41* og **9/10*, i kombinasjon med antatt villtype (**1*, til venstre), redusert variantallel (midten) og defekt variantallel (høyre). Horisontale linjer indikerer median. **1*: variantallel uten påviste mutasjoner som gir endring i enzymaktivitet; **9*, **10*: pasientprøvene hadde enten påvist **9*- eller **10*-mutasjon; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

3.4 Allelfrekvenser

Allelfrekvensen med tilhørende 95 % konfidensintervall i det inkluderte datamaterialet er presentert i *tabell 3.6*.

Tabell 3.6 Frekvens av ulike *CYP2D6*-alleler i det inkluderte datamaterialet (n=343 personer).

ALLEL	ANTALL DETEKTERT	ANDEL	95 % KI
VT (<i>*1</i>) ^a	428	0.624	(0.588-0.660)
<i>*3</i> (def)	11	0.016	(0.007-0.025)
<i>*4</i> (def)	126	0.184	(0.155-0.213)
<i>*5</i> (def)	26	0.038	(0.024-0.052)
<i>*6</i> (def)	3	0.004	- ^b
<i>*9</i> (red)	24	0.035	(0.021-0.049)
<i>*10</i> (red)	19	0.028	(0.016-0.040)
<i>*41</i> (red)	49	0.071	(0.052-0.090)

KI, konfidensintervall. ^a Antall villtype (VT, **1*) basert på fravær av detekterte variantalleler; ^b Utregning av KI krever $n \geq 5$; *red*: variantallel med påvist mutasjon som koder for redusert enzymaktivitet; *def*: variantallel med påvist mutasjon som koder for defekt enzymaktivitet.

4 Diskusjon

Tidligere studier har vist at *CYP2D6*-genotype er av avgjørende betydning for dosejustert serumkonsentrasjon av risperidon [54-58] og aripiprazol [70, 71, 73]. Resultatene fra vår studie bekrefter dette, og i tråd med tidligere studier hadde *CYP2D6*-genotype større innvirkning på serumkonsentrasjon av risperidon enn aripiprazol. Median C/D-ratio av umetabolisert risperidon var >10 ganger høyere hos pasienter med homozygot defekte mutasjoner (*def/def*-gruppen) sammenliknet med pasienter uten påviste mutasjoner i *CYP2D6* (**1/*1*-gruppen). Tilsvarende forskjell for umetabolisert aripiprazol var ca. 2 ganger. Den samme forskjellen i relativ betydning av *CYP2D6*-genotype for metabolitratio av risperidon og aripiprazol ble observert. Når det gjelder dette endepunktet var det en ca. 40 ganger differanse i medianverdier på tvers av ulike genotyper for risperidon, mens en faktor 2 i forskjell ble observert for aripiprazol.

En mulig forklaring på ulik relativ betydning av *CYP2D6*-genotype for C/D-ratio og metabolitratio av de to studerte legemidlene er variabel grad av *CYP2D6*-involvering i deres totale eliminering. Tidligere studier har vist at ved terapeutiske konsentrasjoner av risperidon representerer *CYP2D6* den viktigste metabolismeveien i dannelsen av den farmakologisk aktive metabolitten 9-hydroksyrisperidon [50, 57]. *CYP3A4* er også involvert, men bidrar i mindre grad [50]. Til sammenlikning er *CYP2D6* og *CYP3A4* rapportert til å være av likeverdig betydning i dehydrogenering av aripiprazol til den farmakologisk aktive metabolitten dehydroaripiprazol [70].

Effekten av *CYP2D6*-genotype på serumkonsentrasjon av de respektive metabolittene var relativt sett mindre sammenliknet med modersubstansene. Det ble kun påvist signifikante forskjeller i serumkonsentrasjon av 9-hydroksyrisperidon mellom referansegruppen (**1/*1*) og *def/def*-gruppen, mens det for dehydroaripiprazol ikke ble observert signifikante forskjeller mellom noen av subgruppene. Basert på resultatene for modersubstansene kunne en ha forventet at median C/D-ratio for de farmakologisk aktive metabolittene var lavere blant de muterte genotypene, og da spesielt *red/red*-, *def/red*- og *def/def*, sammenliknet med referansegruppen. Tilsvarende observasjoner er imidlertid rapportert tidligere, blant annet i en studie utført av Mannheimer *et al.* der betydning av kombinasjonsbehandling med *CYP2D6*-hemmere for serumkonsentrasjon av risperidon og 9-hydroksyrisperidon ble undersøkt [80]. Analogt til funnene i denne studien ble det observert at *CYP2D6*-hemming, dvs. en

miljøbetinget reduksjon i metabolismekapasitet i CYP2D6, medførte økt serumkonsentrasjon av risperidon (ca. 3 ganger økning), mens serumkonsentrasjon av 9-hydroksyrisperidon var uendret [80]. En mulig forklaring på hvorfor metabolittdannelse av risperidon (og aripiprazol) ikke reduseres i tråd med de økte serumverdier hos personer med redusert metabolismekapasitet i CYP2D6 kan være at metabolittkonsentrasjonen primært er bestemt av videre eliminering og ikke dannelse via CYP2D6. Renal eliminering regnes som mest sentralt i elimineringen av 9-hydroksyrisperidon (ca. 60 %) [64], mens CYP3A4 antas å være viktigst i metabolisme av dehydroaripiprazol [70].

I denne studien ble det ikke observert signifikante forskjeller mellom ulike *CYP2D6*-genotyper i median C/D-ratio av sumkonsentrasjonen av risperidon og 9-hydroksyrisperidon, noe som også er i overensstemmelse med tidligere studier [56, 81]. I motsetning til risperidon var det for sumkonsentrasjon av aripiprazol signifikante forskjeller mellom referansegruppen og henholdsvis *def/red*- og *def/def*-gruppene (1.9 og 1.6 ganger høyere median C/D-ratio). En mulig forklaring på hvorfor det ikke ble observert forskjeller i sum av risperidon og 9-hydroksyrisperidon kan være at ved C_{ss} er metabolitten tilstede i mye høyere konsentrasjoner enn modersubstansen i serum (median C/D-ratio i **I/*I*-gruppen: 1.3 (RIS) og 15 nM/mg (9-OHRIS)). Dermed blir endringer i serumkonsentrasjon av metabolitten styrende for endringer i sumkonsentrasjon. Når det gjelder aripiprazol er imidlertid forholdet motsatt (median C/D-ratio i **I/*I*-gruppen: 22 (ARI) og 8.9 nM/mg (DARI)), og endringer i serumkonsentrasjon av modersubstans får en relativt større innvirkning på sumkonsentrasjonen.

Ettersom både risperidon og aripiprazol har farmakologisk aktive metabolitter, og summen av modersubstans og metabolitt påvirkes i liten grad av CYP2D6-aktivitet, er det omdiskutert i hvilken grad genetisk betinget variasjon i CYP2D6-metabolisme er av klinisk betydning for risperidon [56, 81] og aripiprazol [32]. Teoretisk vil man kunne tenke seg at når den farmakologisk aktive fraksjonen ikke endres vesentlig med *CYP2D6*-genotype, har dette ingen innvirkning på det kliniske utfallet av behandlingen, jamfør preparatomtalen til Risperdal® [39]. På den andre siden kan det stilles spørsmålsteget ved at marginale endringer i sumkonsentrasjon av modersubstans og farmakologisk aktiv metabolitt tilsier at *CYP*-genotype har liten klinisk nytteverdi. En studie utført av de Leon *et al.* har imidlertid rapportert at pasienter med en CYP2D6 PM-fenotype har økt risiko for bivirkninger (OR: 3.4) og bivirkningsassosierte seponeringer av risperidon (OR: 6.0) [82]. Dette funnet støttes av

kasusrapporter der bivirkninger har blitt assosiert til defekt CYP2D6-metabolisme av risperidon [83] og aripiprazol [84].

Selv om modersubstans og metabolitt for risperidon refereres til som ekvipotente i litteraturen [56, 85], kan CYP2D6 PMs plasmaprofil være mer toksisk enn andre fenotyper [51]. Videre har Llerena *et al.* rapportert om økt risiko for QTc-forlengelse blant CYP2D6 PMs sammenliknet med EMs under risperidonbehandling [86]. På den andre siden har det motsatte blitt rapportert, nemlig noe lavere frekvens av bivirkninger (somnolens) i CYP2D6 PMs sammenliknet med EMs [52]. Sistnevnte var imidlertid basert på data fra friske frivillige forsøkspersoner, og totalt sett synes det som at publiserte kliniske data indikerer økt risiko for bivirkninger av risperidon hos personer med redusert CYP2D6-fenotype.

Det kan være flere årsaker til at klinisk respons påvirkes av genetisk variasjon i CYP2D6-metabolisme, til tross for at serumkonsentrasjonen til den farmakologisk aktive fraksjonen er lite følsom for denne variasjonen. Hendset *et al.* har satt spørsmålsteget ved praksisen om å summere modersubstans og farmakologisk aktiv metabolitt er den beste indikatoren på det kliniske utfallet [87]. For det første er ekvipotens et relativt begrep. Det er for eksempel rapportert at risperidon har ca. 25 % lavere affinitet for D₂-reseptoren, og ca. 10 ganger høyere affinitet for 5-HT_{2A}-reseptoren sammenliknet med 9-hydroksyrisperidon [45]. Et annet viktig poeng i denne sammenheng er at bivirkninger kan medieres gjennom andre proteiner enn målproteinet [87]. Risperidon er for eksempel >3 ganger så potent α_1 -reseptorantagonist sammenliknet med 9-hydroksyrisperidon [88], og endret plasmaprofil av metabolittratio kan derfor tenkes å bidra til endret bivirkningsprofil knyttet til signalveier via disse reseptorene (for eksempel regulering av blodtrykk og hjertefrekvens). Videre vil modersubstans og metabolitt ha ulik evne til å penetrere blod-hjerne-barrieren (BBB) [61], og farmakologisk aktiv fraksjon i serum vil nødvendigvis ikke speile farmakologisk aktiv fraksjon i hjernen. Dette ser ut til å være tilfelle for risperidon, der risperidon penetrerer hjernen hos mus i mye større grad enn 9-hydroksyrisperidon [61], trolig på grunn av ulik relativ lipofilisitet og ulik affinitet for efflukspumpen P-gp i BBB [61, 87]. Når det gjelder aripiprazol har det også blitt rapportert at farmakologisk aktiv metabolitt har høyere affinitet for P-gp sammenliknet med modersubstansen [78].

Et av målene med denne studien var å undersøke betydningen av CYP2D6-genotypen *def/red* sammenliknet med *def/def*-genotypen. Locatelli *et al.* rapporterte nylig i en studie om CYP2D6-genotypers effekt på serumkonsentrasjon av risperidon at IM- (hvorav fem av seks

observasjoner hadde *CYP2D6 def/red*-genotype) og PM-gruppen for summen av risperidon og 9-hydroksyrisperidon var henholdsvis 1.6 og 3.3 ganger høyere sammenliknet med EM-gruppen [55]. På bakgrunn av disse funnene konkluderte forfatterne at for å redusere risikoen for ekstrapyramidale bivirkninger bør IMs og PMs få lavere dose av risperidon enn EMs [55]. Observasjonene til Locatelli *et al.* er i tråd med vår studie der det ble observert signifikant høyere verdier av både median C/D-ratio av modersubstans og metabolitratio i *def/red*- og *def/def*-genotypene sammenliknet med referansegruppen (**1/*1*). Det ble derimot ikke påvist signifikante forskjeller mellom *def/red*- og *def/def*-gruppene for de samme endepunktene. Det ble heller ikke for aripiprazol vist signifikante forskjeller mellom *CYP2D6*-genotypene *def/red* og *def/def* for endepunktene median C/D-ratio av modersubstans og metabolitratio. Resultatene kan derfor tyde på at *def/red*-genotypen har liknende fenotype som *def/def*-genotypen.

Flere studier har konkludert med at intermediære genotyper er av klinisk betydning [89-91]. Dette begrunnes med at det er observert flere farmakokinetiske likhetstrekk med PMs enn for EMs. I tidligere studier har man imidlertid i liten grad skilt mellom gruppene innad i den intermediære gruppen, dvs. personer med et villtype og et redusert variantallel (**1/red*), et villtype og et defekt variantallel (**1/def*), to reduserte variantalleler (*red/red*) og et defekt og et redusert variantallel (*def/red*). Resultatene fra vår studie indikerer at det er betydelige forskjeller i hvilken serumkonsentrasjon som oppnås av en gitt dose for risperidon og aripiprazol innad i den intermediære gruppen. En mulig forklaring på hvorfor IMs har blitt rapportert til å ha farmakokinetiske likhetstrekk med PMs kan skyldes bidraget fra *CYP2D6*-genotypen *def/red*. Basert på resultatene fra vår studie kan det tyde på at *def/red*-gruppen fenotypisk bør betraktes nærmere PMs enn de andre fenotypene.

I denne studien ble det noe overraskende observert at homozygot bærere av reduserte variantalleler hadde C/D-ratioer av risperidon og aripiprazol som ikke skilte seg vesentlig fra homozygot bærere av defekte variantalleler (PMs). En tidligere studie med aripiprazol av Kubo *et al.* har vist at ved gjentatt eksponering var modersubstansen og sum av aktiv fraksjon ca. tre ganger høyere hos IMs (homozygot bærere av *CYP2D6*10*-allelet) sammenliknet med EMs [73]. På bakgrunn av disse resultatene konkluderte forfatterne at *CYP2D6* IMs kun trenger 1/2-1/3 av aripiprazoldosen sammenliknet med EMs [73]. Forskjellen i denne studien mellom de respektive gruppene var litt mindre enn omtalt over (ca. faktor 2 i medianverdi), men antallet homozygot bærere av reduserte variantalleler som hadde målt

serumkonsentrasjon av aripiprazol og metabolitt var begrenset (fire personer). I tillegg kan det være av vesentlig betydning for fenotype hvilket redusert variantallel som er uttrykt.

I en oversiktsartikkel av Ingelman-Sundberg *et al.* [16] er *CYP2D6*10* rapportert som det reduserte variantallelet med minst metabolsk restaktivitet (ca. 20 %). *CYP2D6*10* er svært vanlig i asiatiske populasjoner [25], mens *CYP2D6*41* (ca. 50 % metabolsk restaktivitet) er hyppigst forekommende variantallelet som koder for redusert metabolisme blant kaukasiere [29]. Resultatet fra vår studie indikerte derimot at **41*-mutasjonen gir lavere enzymaktivitet i *CYP2D6* sammenliknet med **9*- og **10*-mutasjonene. Innad i *def/red*-gruppen for risperidon ble det blant annet observert en 2.5 ganger høyere median C/D-ratio for **41*-bærere sammenliknet med **9/10*-bærere, og en 3.7 ganger forskjell i metabolittratio mellom de samme undergruppene. I *def/red*-gruppen behandlet med aripiprazol var tilsvarende endepunkter 1.5 ganger høyere i **41*-gruppen sammenliknet med **9/10*-gruppen. Det ble imidlertid ikke påvist signifikante forskjeller i endepunkter mellom noen av gruppene som ble sammenliknet, verken for risperidon eller aripiprazol. Antall observasjoner i undergruppene var lave, og studier med et høyere antall observasjoner vil være nødvendig for å trekke sikre konklusjoner om en eventuell lavere restaktivitet av **41*-mutasjonen sammenliknet med de andre variantallelene som gir opphav til redusert *CYP2D6*-aktivitet (**9*, **10*).

En mulig forklaring på hvorfor **41*-mutasjonen i denne studien så ut til å gi en lavere restaktivitet sammenliknet med **10*-mutasjonen kan være at de respektive polymorfismene har ulike mekanismer for koding av redusert enzymaktivitet. *CYP2D6*10* resulterer i et ustabil protein med redusert enzymaktivitet [20], mens det er rapportert at **41*-mutasjonen forårsaker spleisedefekt under proteinsyntesen av *CYP2D6*, og nedsatt ekspresjon av proteinet [28, 31]. Andre mutasjoner som gir opphav til spleisedefekt under proteinsyntesen av *CYP2D6* har blitt rapportert til å gi defekt enzymaktivitet [24]. Basert på at **41*-mutasjonen gir opphav til spleisedefekt kan en mulig teori være at **41*-mutasjonen gir lavere restaktivitet i *CYP2D6* sammenliknet med de andre variantallelene som gir opphav til redusert *CYP2D6*-aktivitet (**9*, **10*).

Denne studien er basert på datamateriale hentet fra en rutinedatabase med TDM-prøver. En metodologisk fordel med denne typen studier er at de tar utgangspunkt i analysesvar/prøver fra reelle pasienter i en naturalistisk sammenheng, i motsetning til studier utført på friske frivillige der forsøkspersonene rent fysiologisk og sosiodemografisk (for eksempel livsstil, legemiddelbruk, røykevaner osv.) kan skille seg fra pasientene som faktisk bruker

legemidlene. Sannsynligheten for at resultatene fra en naturalistisk studie reflekterer den faktiske virkeligheten er derfor større. I tillegg vil en TDM-basert studie ha større mulighet til å inkludere et relativt stort prøvemateriale sammenliknet med kontrollerte kliniske studier. Sett i et etisk perspektiv vil man også slippe å utsette friske frivillige for ”unødvendig” legemiddeleksponering.

På den andre siden er retrospektive studier basert på TDM-prøver også beheftet med metodologiske svakheter. Det ene er at serumkonsentrasjoner for pasientene er basert på enkeltmålinger der både doseintensitet og tid mellom siste dose og prøvetaking vil variere. Sammen med potensiell mangelfull etterlevelse er dette ikke-biologiske faktorer som vil bidra til variasjon og ”støy” i datamaterialet. Dette med etterlevelse regnes som det spesielt relevant innen psykiatrien, ikke minst ved bruk av antipsykotika hvor det er rapportert at pasientgruppen i gjennomsnitt kun tar om lag halvparten av forskrevet døgndose [11, 92]. I tillegg til det som allerede er nevnt av konfunderende faktorer vil interaksjoner og somatiske sykdommer (for eksempel lever-, nyre- eller hjertesvikt) kunne bidra til variasjon utover den enkeltfaktoren man ønsker å undersøke i naturalistiske studier.

5 Konklusjon

Denne masteroppgaven bekrefter at *CYP2D6*-genotype er av stor betydning for serumkonsentrasjonen av risperidon og aripiprazol. TDM-data for risperidon og aripiprazol indikerer at kombinasjonen av et defekt og et redusert variantallel har liknende fenotype som 'poor metabolizers' (to defekte variantalleler). Undersøkelsen av den relative betydningen av ulike reduserte variantalleler for *CYP2D6*-aktivitet kan tyde på at *41-mutasjonen gir lavere enzymaktivitet i *CYP2D6* sammenliknet med *9- og *10-mutasjonene, spesielt der *41 opptrer sammen med et defekt variantallel. Det trengs imidlertid flere studier med et høyere antall observasjoner for å undersøke dette nærmere. Resultatene fra denne masteroppgaven støtter at analyse av reduserte variantalleler har potensiell nytteverdi ved genotyping av *CYP2D6*, og bør inngå ved CYP-testing i klinisk rutinepraksis.

Litteraturliste

1. Bengtsson, F., *Therapeutic drug monitoring of psychotropic drugs - TDM "Nouveau"*. Therapeutic Drug Monitoring, 2004. **26**(2): p. 145-151.
2. Gervasini, G., J. Benítez, and J. Carrillo, *Pharmacogenetic testing and therapeutic drug monitoring are complementary tools for optimal individualization of drug therapy*. European Journal of Clinical Pharmacology, 2010. **66**(8): p. 755-774.
3. Kirchheiner, J., A. Seeringer, and R. Viviani, *Pharmacogenetics in Psychiatry - A Useful Clinical Tool or Wishful Thinking for the Future?* Current Pharmaceutical Design, 2010. **16**(2): p. 136-144.
4. Spear, B.B., M. Heath-Chiozzi, and J. Huff, *Clinical application of pharmacogenetics*. Trends in Molecular Medicine, 2001. **7**(5): p. 201-204.
5. Lazarou, J., B.H. Pomeranz, and P.N. Corey, *Incidence of Adverse Drug Reactions in Hospitalized Patients*. JAMA: The Journal of the American Medical Association, 1998. **279**(15): p. 1200-1205.
6. Jaquenoud Sirot, E., et al., *Therapeutic Drug Monitoring and Pharmacogenetic Tests as Tools in Pharmacovigilance*. Drug Safety, 2006. **29**(9): p. 735-768.
7. Hiemke, C., *Therapeutic drug monitoring in neuropsychopharmacology: does it hold its promises?* European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience, 2008. **258**(0): p. 21-27.
8. Hiemke, C., et al., *Therapeutic monitoring of new antipsychotic drugs*. Ther Drug Monit, 2004. **26**(2): p. 156-60.
9. Baumann, P., et al., *The AGNP-TDM expert group consensus guidelines: therapeutic drug monitoring in psychiatry*. Pharmacopsychiatry, 2004. **37**(6): p. 243-65.
10. Hiemke, C., *Clinical utility of drug measurement and pharmacokinetics – therapeutic drug monitoring in psychiatry*. European Journal of Clinical Pharmacology, 2008. **64**(2): p. 159-166.
11. Goff, D.C., M. Hill, and O. Freudenreich, *Strategies for improving treatment adherence in schizophrenia and schizoaffective disorder*. J Clin Psychiatry, 2010. **71 Suppl 2**: p. 20-6.
12. Hendset, M. and M. Hermann, *[Why measure drug metabolites?]*. Tidsskr Nor Laegeforen, 2007. **127**(13): p. 1786-8.
13. Zhou, S.F., et al., *Clinical Pharmacogenetics and Potential Application in Personalized Medicine*. Current Drug Metabolism, 2008. **9**(8): p. 738-784.
14. Eichelbaum, M., M. Ingelman-Sundberg, and W.E. Evans, *Pharmacogenomics and Individualized Drug Therapy*. Annual Review of Medicine, 2006. **57**(1): p. 119-137.
15. Rudberg, I., D.K. Solberg, and H. Refsum, *[CYP genotyping in psychopharmacological treatment]*. Tidsskr Nor Laegeforen, 2005. **125**(21): p. 2953-5.
16. Ingelman-Sundberg, M., et al., *Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: Pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects*. Pharmacology & Therapeutics, 2007. **116**(3): p. 496-526.
17. Ingelman-Sundberg, M., *Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future*. Trends in Pharmacological Sciences, 2004. **25**(4): p. 193-200.
18. Nebert, D.W. and D.W. Russell, *Clinical importance of the cytochromes P450*. The Lancet, 2002. **360**(9340): p. 1155-1162.
19. Zhou, S.-F., J.-P. Liu, and B. Chowbay, *Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact*. Drug Metabolism Reviews, 2009. **41**(2): p. 89-295.

20. Zhou, S.F., *Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I*. Clin Pharmacokinet, 2009. **48**(11): p. 689-723.
21. Wilkinson, G.R., *Drug Metabolism and Variability among Patients in Drug Response*. New England Journal of Medicine, 2005. **352**(21): p. 2211-2221.
22. Ma, Q. and A.Y.H. Lu, *Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine*. Pharmacological Reviews, 2011.
23. Ingelman-Sundberg, M., *Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity*. Pharmacogenomics J, 2004. **5**(1): p. 6-13.
24. Ingelman-Sundberg, M., A.K. Daly, and D.W. Nebert. *Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee* [cited 2010 27.10.2010]; Available from: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>.
25. Zanger, U., S. Raimundo, and M. Eichelbaum, *Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry*. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2004. **369**(1): p. 23-37.
26. Gaedigk, A., et al., *Cytochrome P4502D6 (CYP2D6) Gene Locus Heterogeneity: Characterization of Gene Duplication Events*. Clin Pharmacol Ther, 2007. **81**(2): p. 242-251.
27. Johansson, I., et al., *Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90**(24): p. 11825-9.
28. Raimundo, S., et al., *A novel intronic mutation, 2988G>A, with high predictivity for impaired dunction of cytochrome P450 2D6 in white subjects[ast]*. Clin Pharmacol Ther, 2004. **76**(2): p. 128-138.
29. Toscano, C., et al., *Impaired expression of CYP2D6 in intermediate metabolizers carrying the *41 allele caused by the intronic SNP 2988G>A: evidence for modulation of splicing events*. Pharmacogenet Genomics, 2006. **16**(10): p. 755-66.
30. Zanger, U.M., et al., *Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6*. Pharmacogenetics, 2001. **11**(7): p. 573-85.
31. Rau, T., et al., *The 2988G>A polymorphism affects splicing of a CYP2D6 minigene*. Clin Pharmacol Ther, 2006. **80**(5): p. 555-558.
32. Zhou, S.F., *Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II*. Clin Pharmacokinet, 2009. **48**(12): p. 761-804.
33. Rattehalli, R.D., M.B. Jayaram, and M. Smith, *Risperidone versus placebo for schizophrenia*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2010(1).
34. Picchioni, M.M. and R.M. Murray, *Schizophrenia*. BMJ, 2007. **335**(7610): p. 91-95.
35. Gründer, G., et al., *Aripiprazole: Pharmacodynamics of a Dopamine Partial Agonist for the Treatment of Schizophrenia*. Pharmacopsychiatry, 2006. **39**(S 1): p. 21,25.
36. Meltzer, H.Y., et al., *Serotonin receptors : their key role in drugs to treat schizophrenia*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2003. **27**(7): p. 1159-1172.
37. Hoyer, D., J.P. Hannon, and G.R. Martin, *Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors*. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2002. **71**(4): p. 533-554.
38. de Leon, J., N.B. Sandson, and K.L. Cozza, *A Preliminary Attempt to Personalize Risperidone Dosing Using Drug-Drug Interactions and Genetics: Part I*. Psychosomatics, 2008. **49**(3): p. 258-270.

39. SPC - Risperdal. 24.03.2011 [cited 2011 02.05]; Available from: http://www.legemiddelverket.no/custom/Preparatsok/prepSearch_80333.aspx?SearchID=1be815fb-e2b3-484a-a36d-649a37d02a5a.
40. Folkehelseinstituttet. *Nasjonalt reseptbasert legemiddelregister*. [cited 2011 30.04]; Available from: <http://www.reseptregisteret.no>.
41. Mauri, M.C., et al., *Clinical Pharmacokinetics of Atypical Antipsychotics: A Critical Review of the Relationship Between Plasma Concentrations and Clinical Response*. Clinical Pharmacokinetics, 2007. **46**: p. 359-388.
42. Möller, H.-J., *Risperidone: a review*. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 2005. **6**(5): p. 803-818.
43. Megens, A.A., et al., *Survey on the pharmacodynamics of the new antipsychotic risperidone*. Psychopharmacology (Berl), 1994. **114**(1): p. 9-23.
44. Heykants, J., et al., *The pharmacokinetics of risperidone in humans: a summary*. J Clin Psychiatry, 1994. **55 Suppl**: p. 13-7.
45. Richelson, E. and T. Souder, *Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors: Focus on newer generation compounds*. Life Sciences, 2000. **68**(1): p. 29-39.
46. Mauri, M.C., et al., *Long-term treatment of chronic schizophrenia with risperidone: a study with plasma levels*. European Psychiatry, 2001. **16**(1): p. 57-63.
47. Olesen, O.V., et al., *Serum concentrations and side effects in psychiatric patients during risperidone therapy*. Ther Drug Monit, 1998. **20**(4): p. 380-4.
48. Lane, H.Y., et al., *Risperidone in acutely exacerbated schizophrenia: dosing strategies and plasma levels*. J Clin Psychiatry, 2000. **61**(3): p. 209-14.
49. Mannens, G., et al., *Absorption, metabolism, and excretion of risperidone in humans*. Drug Metabolism and Disposition, 1993. **21**(6): p. 1134-1141.
50. Yasui-Furukori, N., et al., *Different Enantioselective 9-Hydroxylation of Risperidone by the Two Human CYP2D6 and CYP3A4 Enzymes*. Drug Metabolism and Disposition, 2001. **29**(10): p. 1263-1268.
51. Rodríguez-Antona, C., et al., *CYP2D6 genotyping for psychiatric patients treated with risperidone: considerations for cost-effectiveness studies*. Pharmacogenomics, 2009. **10**(4): p. 685-699.
52. Novalbos, J.P., et al., *Effects of CYP2D6 Genotype on the Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Safety of Risperidone in Healthy Volunteers*. [Article].
53. Feng, Y., et al., *Population pharmacokinetic analysis for risperidone using highly sparse sampling measurements from the CATIE study*. British Journal of Clinical Pharmacology, 2008. **66**(5): p. 629-639.
54. Leon, J.d., et al., *A Study of Genetic (CYP2D6 and ABCB1) and Environmental (Drug Inhibitors and Inducers) Variables That May Influence Plasma Risperidone Levels*. Pharmacopsychiatry, 2007. **40**(03): p. 93,102.
55. Locatelli, I., et al., *A population pharmacokinetic evaluation of the influence of CYP2D6 genotype on risperidone metabolism in patients with acute episode of schizophrenia*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010. **41**(2): p. 289-298.
56. Scordo, M.G., et al., *Cytochrome P450 2D6 genotype and steady state plasma levels of risperidone and 9-hydroxyrisperidone*. Psychopharmacology, 1999. **147**(3): p. 300-305.
57. Fang, J., M. Bourin, and G.B. Baker, *Metabolism of risperidone to 9-hydroxyrisperidone by human cytochromes P450 2D6 and 3A4*. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 1999. **359**(2): p. 147-151.

58. Hendset, M., et al., *Impact of CYP2D6 genotype on steady-state serum concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in patients using long-acting injectable risperidone*. J Clin Psychopharmacol, 2009. **29**(6): p. 537-41.
59. Llerena, A., et al., *Determination of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in human plasma by liquid chromatography: application to the evaluation of CYP2D6 drug interactions*. Journal of Chromatography B, 2003. **783**(1): p. 213-219.
60. Boulton, D.W., et al., *In vitro P-glycoprotein affinity for atypical and conventional antipsychotics*. Life Sciences, 2002. **71**(2): p. 163-169.
61. Wang, J.-S., et al., *The brain entry of risperidone and 9-hydroxyrisperidone is greatly limited by P-glycoprotein*. The International Journal of Neuropsychopharmacology, 2004. **7**(04): p. 415-419.
62. Gunes, A., et al., *ABCB1 polymorphisms influence steady-state plasma levels of 9-hydroxyrisperidone and risperidone active moiety*. Ther Drug Monit, 2008. **30**(5): p. 628-33.
63. de Leon, J., N.B. Sandson, and K.L. Cozza, *A Preliminary Attempt to Personalize Risperidone Dosing Using Drug-Drug Interactions and Genetics: Part II*. Psychosomatics, 2008. **49**(4): p. 347-361.
64. Vermeir, M., et al., *Absorption, Metabolism, and Excretion of Paliperidone, a New Monoaminergic Antagonist, in Humans*. Drug Metabolism and Disposition, 2008. **36**(4): p. 769-779.
65. SPC - Abilify. [cited 2011 02.05]; Available from: http://www.legemiddelverket.no/custom/Preparatsok/prepSearch_80333.aspx?SearchID=bc91733d-e101-4328-9e91-7aec995f2a32.
66. Caccia, S., *Pharmacokinetics and metabolism update for some recent antipsychotics*. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. **0**(0): p. 1-18.
67. Stip, E. and V. Tourjman, *Aripiprazole in schizophrenia and schizoaffective disorder: A review*. Clinical Therapeutics, 2010. **32**(Supplement 1): p. S3-S20.
68. Swainston Harrison, T. and C.M. Perry, *Aripiprazole: a review of its use in schizophrenia and schizoaffective disorder*. Drugs, 2004. **64**(15): p. 1715-36.
69. Kirschbaum, K.M., et al., *Serum levels of aripiprazole and dehydroaripiprazole, clinical response and side effects*. World Journal of Biological Psychiatry, 2008. **9**(3): p. 212-218.
70. Kubo, M., et al., *Influence of itraconazole co-administration and CYP2D6 genotype on the pharmacokinetics of the new antipsychotic ARIPIPRAZOLE*. Drug Metab Pharmacokinet, 2005. **20**(1): p. 55-64.
71. Kim, J.R., et al., *Population pharmacokinetic modelling of aripiprazole and its active metabolite, dehydroaripiprazole, in psychiatric patients*. Br J Clin Pharmacol, 2008. **66**(6): p. 802-10.
72. Molden, E., et al., *Pharmacokinetic variability of aripiprazole and the active metabolite dehydroaripiprazole in psychiatric patients*. Ther Drug Monit, 2006. **28**(6): p. 744-9.
73. Kubo, M., et al., *Pharmacokinetics of aripiprazole, a new antipsychotic, following oral dosing in healthy adult Japanese volunteers: influence of CYP2D6 polymorphism*. Drug Metab Pharmacokinet, 2007. **22**(5): p. 358-66.
74. Hendset, M., et al., *Impact of the <i>CYP2D6</i> genotype on steady-state serum concentrations of aripiprazole and dehydroaripiprazole*. European Journal of Clinical Pharmacology, 2007. **63**(12): p. 1147-1151.
75. Castberg, I. and O. Spigset, *Effects of Comedication on the Serum Levels of Aripiprazole: Evidence from a Routine Therapeutic Drug Monitoring Service*. Pharmacopsychiatry, 2007. **40**(03): p. 107,110.

76. Waade, R.B., et al., *Influence of comedication on serum concentrations of aripiprazole and dehydroaripiprazole*. Ther Drug Monit, 2009. **31**(2): p. 233-8.
77. Citrome, L., et al., *Pharmacokinetics of aripiprazole and concomitant carbamazepine*. J Clin Psychopharmacol, 2007. **27**(3): p. 279-83.
78. Kirschbaum, K.M., et al., *Pharmacokinetics of acute and sub-chronic aripiprazole in P-glycoprotein deficient mice*. Neuropharmacology, 2010. **59**(6): p. 474-479.
79. Aichhorn, W., et al., *Influence of age and gender on risperidone plasma concentrations*. Journal of Psychopharmacology, 2005. **19**(4): p. 395-401.
80. Mannheimer, B., et al., *Impact of multiple inhibitors or substrates of cytochrome P450 2D6 on plasma risperidone levels in patients on polypharmacy*. Ther Drug Monit, 2008. **30**(5): p. 565-9.
81. Vermeulen, A., V. Piotrovsky, and E. Ludwig, *Population Pharmacokinetics of Risperidone and 9-Hydroxyrisperidone in Patients with Acute Episodes Associated with Bipolar I Disorder*. Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, 2007. **34**(2): p. 183-206.
82. de Leon, J., et al., *The CYP2D6 poor metabolizer phenotype may be associated with risperidone adverse drug reactions and discontinuation*. J Clin Psychiatry, 2005. **66**(1): p. 15-27.
83. Köhnke, M.D., et al., *Cytochrome P450 2D6 Deficiency and its Clinical Relevance in a Patient Treated with Risperidone*. Pharmacopsychiatry, 2002. **35**(03): p. 116,118.
84. Oosterhuis, M., G. Van de Kraats, and D. Tenback, *Safety of Aripiprazole: High Serum Levels in a CYP2D6 Mutated Patient*. Am J Psychiatry, 2007. **164**(1): p. 175-.
85. Huang, M.-L., et al., *Pharmacokinetics of the novel antipsychotic agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects*. Clin. Pharm. Ther., 1993. **54**(3): p. 257-268.
86. Llerena, A., et al., *QTc Interval, CYP2D6 and CYP2C9 Genotypes and Risperidone Plasma Concentrations*. Journal of Psychopharmacology, 2004. **18**(2): p. 189-193.
87. Hendset, M., et al., *The complexity of active metabolites in therapeutic drug monitoring of psychotropic drugs*. Pharmacopsychiatry, 2006. **39**(4): p. 121-7.
88. Leon, J.d., G. Wynn, and N.B. Sandson, *The Pharmacokinetics of Paliperidone Versus Risperidone*. Psychosomatics, 2010. **51**(1): p. 80-88.
89. Dalen, P., et al., *10-hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes[ast]*. Clin Pharmacol Ther, 1998. **63**(4): p. 444-452.
90. Rau, T., et al., *Effect of the CYP2D6 genotype on metoprolol metabolism persists during long-term treatment*. Pharmacogenetics, 2002. **12**(6): p. 465-72.
91. Barclay, M.L., et al., *Correlation of CYP2D6 genotype with perhexiline phenotypic metabolizer status*. Pharmacogenetics, 2003. **13**(10): p. 627-32.
92. Cramer, J.A. and R. Rosenheck, *Compliance With Medication Regimens for Mental and Physical Disorders*. Psychiatr Serv, 1998. **49**(2): p. 196-201.