



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Potential role of pharmacogenetics for optimalization of drug therapy in rheumatoid arthritis

Kooloos, W.M.

Citation

Kooloos, W. M. (2009, December 9). *Potential role of pharmacogenetics for optimalization of drug therapy in rheumatoid arthritis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/14497>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/14497>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Reumatoïde artritis (RA) komt in ongeveer 1 procent van de algemene populatie voor ongeacht etnische achtergrond. Kenmerkend voor deze immunologische ziekte is de aanwezigheid van een symmetrische ontsteking en schade aan de gewrichten, die leidt tot algehele functiebeperking en uiteindelijk tot evt. invaliditeit. Daarnaast RA patiënten een verhoogd risico op andere (ernstige) aandoeningen, zoals hart-en vaatziekten.

Ongeacht het toenemende inzicht in het ontstaan, verloop en ontwikkeling van reumatoïde artritis, heeft men een genezende therapie nog niet gevonden. Daarom is de huidige behandeling met het beste resultaat gericht op het verminderen van de ziekteactiviteit. Deze reductie kan worden behaald met behulp van geneesmiddelen als 'disease modifying antirheumatic drugs' (afgekort DMARDs) met een werkingsmechanisme, dat de immuunreactie betrokken bij RA onderdrukt. Toch zijn in de praktijk de resultaten suboptimaal bij het gebruik van DMARDs, zoals methotrexaat (MTX) en anti-TNFalfa middelen. Er worden namelijk grote verschillen in responsepercentages waargenomen in de klinische praktijk evenals in klinische studies, die de effectiviteit van DMARDs hebben onderzocht.

Farmacogenetica beschrijft de invloed van genetische factoren (DNA) op behandelingsuitkomst van geneesmiddelen. DNA is de drager van erfelijke informatie en bevat basen (chemische bouwstenen van het DNA) die coderen voor de productie van verschillende eiwitten waaronder enzymen. Bij de verschillende processen in het lichaam, waaronder de omzetting van geneesmiddelen of ontstaan van een ziekte, spelen eiwitten een belangrijke rol. De complete DNA volgorde van de mens bestaat uit 3.1 miljoen basenparen. Bij niet verwante personen is ongeveer 99.9% van deze basenparen identiek. Slechts 0.1% van de basenparen verschilt van mens tot mens en dit kan leiden tot ziekte of verschillen in uitkomst na behandeling met geneesmiddelen. De meest voorkomende variatie in DNA (90%) zijn zgn. 'single nucleotide polymorphisms' (afgekort SNPs), waarbij 1 base is veranderd. SNPs kunnen leiden tot een wijziging in de DNA sequentie waardoor alternatieve enzymen kunnen worden gevormd. SNPs, die deze veranderingen in enzymfunctie of anderszins in eiwitten veroorzaken, worden functionele SNPs genoemd. Aangezien enzymen/eiwitten betrokken zijn bij omzettingen en werking van geneesmiddelen, kunnen SNPs leiden tot verschillen in behandeling-suitkomst.

Het doel van dit proefschrift is om de invloed van genetica (SNPs) op de behandelingsuitkomst bij patiënten met RA die behandeld worden met MTX en/of het anti-TNFalfa middel adalimumab, te onderzoeken. Hierbij is dit proefschrift ingedeeld twee delen: de rol van farmacogenetica bij de behandeling met MTX (deel 1) en de rol van farmacogenetica bij de behandeling met adalimumab (deel 2).

Methotrexaat

In het eerste hoofdstuk van dit deel werd een literatuuroverzicht gepresenteerd van onderzoeken die genetische variatie in behandelingsuitkomst van MTX in RA hebben onderzocht. Hiervan hebben de meeste onderzoeken slechts kleine patiëntenpopulaties bekeken, waardoor het eigenlijk niet goed mogelijk is om werkelijke associaties met therapie-uitkomst aan te kunnen wijzen. Ook andere factoren, zoals niet-genetische factoren, etniciteit of onduidelijke eindpunten bemoeilijken dit. Daarom kunnen definitieve conclusies over de rol van genetische factoren bij de respons op MTX niet worden getrokken op basis van de huidige literatuur (hoofdstuk 1).

Enerzijds is het werkingsmechanisme van MTX mogelijk te verklaren doordat MTX enzymen uit de folaat cyclus remt, anderzijds is gebleken uit studies dat MTX ook zou kunnen werken via het vrijzetten van adenosine, een anti-ontstekingsstof. Met deze hypothese werd in hoofdstuk 3 de relatie tussen SNPs in genen (DNA) coderend voor eiwitten, die betrokken zijn bij het vrijzetten van adenosine, en behandelingsuitkomst met MTX onderzocht in 205 patiënten met vroege (d.w.z. korter dan 2 jaar durende symptomen van) RA. Deze patiënten waren afkomstig uit het 'BeSt cohort'. De resultaten lieten associaties zien tussen genetische variatie in de genen coderend voor adenosine monophosphate deaminase (*AMPD*), 5-aminoimidazole-4-carboxamide transformylase (*ATIC*) en inosine triphosphate pyrophosphatase (*ITPA*) en klinische effectiviteit bij behandeling met MTX. Patiënten die namelijk drager waren van het *AMPD1* T-allel, het *ATIC* CC genotype en het *ITPA* CC genotype hadden een 2-3 maal grotere kans op een gunstige klinische response (gedefinieerd als 'disease activity score'- DAS ≤ 2.4 punten) na 6 maanden MTX therapie. Daarnaast verbeterden de responspercentages aanzienlijk wanneer patiënten alle drie de genotypen hadden. Daarnaast werd gekeken naar associaties met bijwerkingen als gevolg van MTX therapie. Een relatie werd gevonden met het *ATIC* G-allel dragerschap. Er werden geen associaties gevonden tussen SNPs in genen coderend voor methionine synthase of methionine synthase reductase en effectiviteit of bijwerkingen.

Tot nu toe zijn de meeste genetische varianten voor farmacogenetische analyse met MTX geselecteerd op basis van een mogelijk werkingsmechanisme van MTX of het ontstekingsproces bij RA (hoofdstukken 2 en 3). Maar in het ideale geval worden functionele SNPs gekozen, die verandering in enzym- of eiwitfunctie veroorzaken en op deze wijze de werking van MTX beïnvloeden. In hoofdstuk 4 is de relatie tussen functionele SNPs en de effectiviteit en bijwerkingen van MTX therapie bestudeerd in patiënten met vroege RA afkomstig uit het BeSt cohort. Het optreden van bijwerkingen na MTX therapie bleek geassocieerd met 2 SNPs in de genen *ABCB1* en *TLR4*. Geen associatie werd gevonden tussen de effecten van MTX en functionele SNPs in de genen *DHFR*, *ABCB1*, *ITPA* IVS2, *HLA-G*, *IMPDH2*, *TGFB1* and *TLR4*. Daarnaast werden resultaten van eerder onderzoek gerepliceerd in ons RA patiënten cohort. Deze replicatie analyses zijn erg belangrijk omdat farmacogenetische onderzoeken een hoge kans hebben op het vinden van vals positieve bevindingen. Maar de associaties, die in eerdere studies gevonden werden, konden wij niet bevestigen in het BeSt cohort.

Kort geleden is door onderzoekers van onze groep een klinisch farmacogenetisch predictiemodel ontwikkeld om de effectiviteit van MTX in patiënten met vroege RA te kunnen voorspellen. Het model bestond uit verschillende niet-genetische en genetische factoren waarvan was aangetoond dat ze van invloed zijn op de effectiviteit van MTX: geslacht, reumafactor, rookstatus, DAS bij aanvang van behandeling en 4 SNPs in de genen *MTHFD1*, *AMPD1*, *ITPA* en *ATIC*. Met dit model werd oorspronkelijk een positief voorspellend waarde van 95% en een negatief voorspellende waarde van 86% gevonden. In totaal kon op deze manier 60% van de patiënten gegroepeerd en dus voorspeld worden. In hoofdstukken 5 en 6 werd het model gevalideerd door replicatie in respectievelijk een ander Nederlands en een Zweeds cohort RA patiënten.

In hoofdstuk 5 werd gezien dat het farmacogenetisch model minder goed presteerde in patiënten met die al langer RA hadden dan in patiënten met vroege RA. De positief voorspellende waarde en negatief voorspellende waarde waren respectievelijk 47% en 81%. Het verschil ten opzichte van het oorspronkelijke onderzoek kan mogelijk worden verklaard door langere RA ziekteduur, DMARD gebruik in het verleden, de afwezigheid van bewezen associatie met de 4 SNPs in the model; de afwezigheid van nauwgezette behandelingstrategieën met RA en door lagere doseringen MTX en lagere responspercentages.

In hoofdstuk 6 werd het model getest in een Zweeds cohort met RA patiënten, die nooit eerder een DMARD hadden gebruikt, vroege (korter dan 1 jaar durende symptomen van) RA hadden en die afkomstig waren uit de Swefot trial. Evenals in hoofdstuk 5, waren de voorspellende waarden lager

dan in het oorspronkelijke onderzoek. De positief voorspellende waarde en negatief voorspellende waarden in de Zweedse groep waren 70% en 68%. Echter, de resultaten voor de accuraatheid, het aantal patiënten gegroepeerd en onderscheidend vermogens (gedefinieerd als area under the curve-AUC) waren overeenkomstig.

Over het algemeen laten de resultaten van hoofdstuk 5 en 6 zien dat de effectiviteit in een groot deel van RA patiënten met MTX therapie voorspeld zou kunnen worden met het klinisch-farmacogenetisch model, maar dat het model het best toegepast zou kunnen worden in patiënten zonder eerder DMARD gebruik en met een korte ziekteduur. Replicatie van deze resultaten in een onderzoek met een prospectieve studieopzet is (ideaal gezien) nodig om de meest betrouwbare resultaten te kunnen verkrijgen.

In hoofdstuk 7 wordt een relatie van het haplotype, bestaande uit de SNPs *MTHFR* 1298 A>C en *MTHFR* 677 C>T, met behandelingsuitkomst van MTX in het BeSt cohort bestudeerd. Een haplotype is een combinatie van allelen, die vaker dan door toeval in combinatie voorkomen in de algemene populatie. Eerder bleek dat de SNPs *MTHFR* 1298 A>C en *MTHFR* 677 C>T en hun haplotype bestaande uit de allelen *MTHFR*1298A en *MTHFR* 677C geassocieerd te zijn met effectiviteit van MTX therapie. Hieruit bleek dat met het dragen van 0, 1 of 2 haplotypen *MTHFR*1298A-677C belangrijke verschillen in response percentages werden waargenomen. Met behulp van het toevoegen van het aantal haplotypen (0,1 of 2), die bestaan uit de allelen *MTHFR*1298A en *MTHFR* 677C, werd geprobeerd om het farmacogenetisch predictiemodel uit te breiden en zo te verbeteren. Verder wordt in dit hoofdstuk het voorspellend vermogen ('discriminative ability') van het aantal haplotypen met de combinatie *MTHFR*1298A-677C geanalyseerd en vergeleken met de 4 SNPs in de genen *MTHFD1*, *AMPD1*, *ITPA* en *ATIC* uit het model. Resultaten lieten zien dat met de toevoeging van het aantal haplotypen als extra factor het model niet werd verbeterd. Ook bleek dat het voorspellend vermogen van het aantal haplotypen (0,1 of 2) minder was dan het voorspellend vermogen van de 4 SNPs in de genen *MTHFD1*, *AMPD1*, *ITPA* of *ATIC*. Deze resultaten suggereren dat een voorspellende rol voor MTX therapie door middel van verschillen in dragerschap van dit haplotype afwezig is. Toekomstig onderzoek zal uitgevoerd moeten worden om de exacte farmacogenetische rol van de SNPs *MTHFR* 1298 A>C en *MTHFR* 677 C>T nader te kunnen bepalen.

Adalimumab

Aan het begin van het tweede deel van dit proefschrift (hoofdstuk 8) werd een overzicht gepresenteerd van onderzoeken die genetische variatie in behandelingsuitkomst van anti-TNFalfa middelen (etanercept, infliximab en adalimumab) in RA hebben onderzocht. In overeenstemming met de studies die de relatie van genetische variatie met MTX beschreven, zijn ook de farmacogenetische studies met anti-TNFalfa middelen meestal uitgevoerd met te kleine patiëntgroepen om definitieve conclusies te kunnen trekken.

In hoofdstuk 9 werd het selecteren van genetische varianten voor farmacogenetische onderzoeken beschreven. Aansluitend werd een farmacogenetische aanpak gepresenteerd waarbij met behulp van criteria op systematische wijze interessante SNPs geselecteerd kunnen worden. Deze criteria zijn gebaseerd op bepaalde eigenschappen, zoals bewezen kwaliteit en frequentie van SNPs. Met het gebruik van deze systematische aanpak kan op verbeterde wijze een objectieve selectie van SNPs worden bereikt. Op deze manier werden 186 SNPs in 111 genen uit een aantal van 51.793 SNPs in 124 genen gekozen. De genen waaruit de selectie is gemaakt, coderen voor enzymen en eiwitten die gerelateerd zijn aan het werkingsmechanisme van anti-TNFalfa middelen of het ontstekingsproces dat een rol speelt bij RA.

Deze benadering heeft een aantal voordelen boven de gebruikelijke selectiemethoden. Voornamelijk als het werkingsmechanisme (en de betrokken enzymen en eiwitten) van het desbetreffende geneesmiddel nog onbekend is, is deze methode bruikbaar.

Deze selectiemethode werd in de praktijk gebracht in hoofdstuk 10: de effectiviteit van adalimumab therapie werd geassocieerd met SNPs die geselecteerd waren volgens de beschreven wijze. Naast deze SNPs werden in dit hoofdstuk ook genetische varianten onderzocht die in eerder onderzoek bleken geassocieerd te zijn met de effecten van anti-TNFalfa middelen (etanercept, infliximab en adalimumab) en/of genetische varianten die waren geassocieerd met het ontstaan van de ziekte RA. Effectiviteit was onderverdeeld in de eindpunten: EULAR goede respons, EULAR remissie en een procentuele daling in DAS. Resultaten lieten zien dat 19 SNPs, 11 SNPs en 8 SNPs associeerden met respectievelijk EULAR goede respons, EULAR remissie en een procentuele daling in DAS. Vier SNPs in genen coderend voor CD40LG, KDR, TANK en VEGFA waren het sterkst gerelateerd met de effectiviteit van adalimumab therapie, omdat deze 4 SNPs associeerden met alle drie de gekozen eindpunten. De resultaten beschreven in dit hoofdstuk moeten gerepliceerd worden in een tweede onafhankelijk cohort om de waarde ervan voor het voorspellen van de effectiviteit van adalimumab therapie bij RA te kunnen bepalen.

Conclusie

Het in dit proefschrift beschreven onderzoek heeft geleid tot de identificatie van een aantal genetische varianten die geassocieerd zijn met de behandelingsuitkomst bij therapie met MTX en adalimumab in RA patiënten. De bevindingen zullen gerepliceerd moeten worden alvorens de resultaten in de praktijk toepasbaar zijn. Het eerder door ons ontwikkelde farmacogenetisch predictiemodel voor MTX bleek bij replicatie wisselend succesvol. Nader onderzoek is nodig om het voorspellend vermogen en dus de waarde van het predictiemodel te kunnen bepalen.

Tenslotte blijkt uit dit onderzoek dat genetische verschillen een rol kunnen spelen ten aanzien van de behandelingsuitkomst voor RA patiënten die met MTX of adalimumab worden behandeld. Daarmee is nieuwe kennis toegevoegd aan het relatief jonge vakgebied van de farmacogenetica dat hopelijk in de toekomst leidt tot een betere behandeling van patiënten met RA.

