



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The impact of non-genetic factors on drug metabolism: towards better phenotype predictions

Jong, L.M. de

Citation

Jong, L. M. de. (2025, June 5). *The impact of non-genetic factors on drug metabolism: towards better phenotype predictions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4249242>

Version: 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/1887/4249242>

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

Appendices

Nederlandse samenvatting
Curriculum Vitae
List of publications

Nederlandse samenvatting

Niet iedereen reageert zoals gewenst op een geneesmiddelbehandeling. Bij 20–70% van de patiënten die geneesmiddelen gebruiken, wordt niet het beoogde effect bereikt of treden er bijwerkingen op. De traditionele ‘one-size-fits-all’-aanpak voor het doseren van geneesmiddelen is daarom achterhaald. Gepersonaliseerde farmacotherapie wordt gezien als de vervanging van deze aanpak, met als doel zowel de werkzaamheid als de veiligheid van geneesmiddelen te verbeteren. Bij gepersonaliseerde farmacotherapie worden de unieke genetische, biologische en klinische kenmerken van een individuele patiënt meegenomen in de selectie van een juist geneesmiddel en de juiste dosering. Zo is bekend dat bijwerkingen kunnen worden verminderd als de dosering wordt afgestemd op het genetische profiel van een patiënt. Dit komt onder andere doordat er variatie bestaat in de activiteit van leverenzymen, zoals de cytochroom P450 (CYP) enzymen, die verantwoordelijk zijn voor de afbraak van geneesmiddelen. Sommige mensen breken een geneesmiddel sneller af dan anderen. Deze verschillen in afbraaksnelheid zijn gedeeltelijk terug te vinden in het DNA. Op basis van de activiteit van CYP-enzymen worden er vier verschillende fenotypen onderscheiden: snelle (*ultra rapid*), normale (*normal*), verlaagde (*intermediate*) of langzame (*poor*) metaboliseerders. Door met deze fenotypes rekening te houden kan een betere dosering worden vastgesteld of kan overgegaan worden op een ander passend medicijn. Voor specifieke combinaties van geneesmiddelen en genetische varianten zijn inmiddels richtlijnen beschikbaar die in de kliniek worden toegepast voor een meer gepersonaliseerde behandeling. Toch kan niet alle variabiliteit in de respons op geneesmiddelen worden verklaard door genetica. Naast erfelijke eigenschappen wordt de capaciteit van de lever om geneesmiddelen af te breken ook beïnvloed door niet-genetische factoren, zoals het gebruik van comedicatie, of de aanwezigheid van een infectie of chronische ontstekingsziekte. Deze niet-genetische factoren kunnen ervoor zorgen dat iemands werkelijke capaciteit om geneesmiddelen af te breken (fenotype) afwijkt van wat op basis van het DNA-profiel zou worden verwacht (genotype). Dit fenomeen wordt fenoconversie genoemd.

Om de invloed van niet-genetische factoren in de voorspellingen van het leverfenotype op te nemen, is het essentieel om een kwantitatief inzicht te krijgen in de omvang en duur van fenoconversie als gevolg van deze factoren. In dit proefschrift wordt de impact van niet-genetische factoren op het metabolisme van geneesmid-

delen in de lever onderzocht. In **deel I** wordt ingegaan op de invloed van comedica-tie op de voorspelling van het leverfenotype op basis van genetische informatie. In **deel II** worden de veranderingen die optreden in het geneesmiddelmetabolisme in de lever tijdens ontsteking behandeld. Dit deel omvat ten eerste een samenvat-ting van het preklinische bewijs voor de invloed van ontstekingsmediatoren op de levercapaciteit om geneesmiddelen af te breken. Vervolgens onderzoeken we in een in vitro levermodel hoe ontstekingsmediatoren de activiteit van verschillende enzymfamilies beïnvloeden die betrokken zijn bij de afbraak van geneesmiddelen. Ten derde creëren we een systematisch overzicht van de klinische en niet-klinische bewijsvoering voor het omkeren van ontstekingsgerelateerde veranderingen in de metabole capaciteit van de lever na behandeling met immunomodulerende therapieën. **Deel III** richt zich op de CYP-fenotyperingsmethode, waarmee ver-anderingen in enzymactiviteit bij mensen worden onderzocht. Hierbij wordt een cocktail van verschillende modelgeneesmiddelen gebruikt om de enzymactiviteit te meten. In dit deel wordt onderzocht hoe nauwkeurig deze methode veranderin-gen in enzymactiviteit kan detecteren, ook bij patiënten met ontstekingsziekten.

Sectie I – De invloed van comedica-tie op de genetische voorspelling van het leverfenotype

Het gebruik van comedica-tie kan de nauwkeurigheid van de dosering van geneesmiddelen op basis van genetica verminderen. Dit komt doordat sommige geneesmiddelen de activiteit van CYP-enzymen beïnvloeden. Remmers zorgen voor een verminderde metabole activiteit van het betreffende enzym, inductoren verhogen juist de metabole activiteit. Hierdoor verandert de metabole lever-capaciteit die op basis van genetica was voorspeld (fenoconversie). Een groot klinisch onderzoek toonde aan dat 32–47% van de fenoconversie voor CYP2C19 en CYP2D6 kon worden toegeschreven aan gelijktijdig medicijngebruik met een remmer of inductor. Het integreren van kennis over genetica en comedica-tie om zo een goede voorspelling van de levercapaciteit te doen blijft echter een complexe uitdaging. Om concrete doseringsaanbevelingen voor deze potentiële geneesmiddel-geneesmiddel-genotype interacties te kunnen geven, is het cruciaal om inzicht te krijgen in de fenoconversie die optreedt na toediening van remmende of inducerende comedica-tie en om te bekijken of deze interactie verschillend is voor verschillende genotypen. Daarom hebben we in **hoofdstuk 2**, met behulp

A

van humane levermicrosomen (kleine blaasjes die enzymen uit het endoplasmatisch reticulum van levercellen bevatten), de fenoconversie gekwantificeerd in verschillende CYP2C19-genotypegroepen na toediening van een sterke remmer (fluvoxamine), matige remmer (omeprazol of voriconazol) of zwakke remmer (pantoprazol) van CYP2C19. De relatieve inhibitie van de CYP2C19-activiteit door de remmers was consistent voor alle genotypen, maar de mate van fenoconversie verschilde per genotype; voriconazol veroorzaakte bijvoorbeeld een verlaagd of langzaam CYP2C19 fenotype bij 50% van de genetisch voorspelde normale metaboliseerders, maar bij slechts 14% van de genetisch voorspelde snelle metaboliseerders. Wij concludeerden vervolgens dat de mate van fenoconversie afhankelijk is van: 1) de sterkte van de remmer, aangezien fenoconversie naar een lager metabool fenotype vaker voorkwam bij sterkere CYP2C19-remmers, en: 2) de basale CYP2C19-activiteit, die deels wordt voorspeld door het genotype, maar ook sterk afhankelijk is van o.a. de aanwezigheid van leverziekten. Het meewegen van de invloed van comedicaatie in fenotypevoorspellingen is dus essentieel voor de optimalisatie van op farmacogenetica gebaseerde gepersonaliseerde therapieën.

Sectie II – (Pre)klinische evaluatie van ontstekingsgerelateerde veranderingen in het metabolisme van geneesmiddelen

Een andere niet-genetische factor die het metabolisme van de lever beïnvloedt, is de aanwezigheid van een ontsteking. Dit kan een ontsteking zijn ten gevolge van een acute infectie, zoals COVID-19, maar ook ten gevolge van een chronische inflammatoire aandoening zoals reuma. De invloed van ontstekingen op het metabolisme van geneesmiddelen wordt algemeen erkend, maar nog niet goed begrepen. Een beter begrip van de invloed van ontsteking op de werking van geneesmiddelafbrekende enzymen begint bij het samenvatten van wat er nu bekend is in de literatuur. Dat is gepresenteerd in **hoofdstuk 3**. In het bijzonder bespreken we het bewijs dat verzameld is met behulp van humane in vitro modellen voor het effect van ontstekingsmediatoren op de hoeveelheid en activiteit van klinisch relevante CYP-enzymen. Hieruit bleek dat CYP-enzymen een uiteenlopende gevoeligheid vertonen voor de effecten van ontstekingsmediatoren, waarbij CYP3A4 het meest wordt beïnvloed door inflammatie. De mate van remming blijkt ook sterk afhankelijk van de ontstekingsmediator. Ook hebben we in dit hoofdstuk samengevat wat de mechanismes zijn die veranderingen in levermetabolisme bewerkstelligen.

Onderdrukking van CYP-enzymen tijdens ontsteking kan plaatsvinden door: 1) transcriptionele downregulatie van nucleaire factoren en andere transcriptiefactoren die de CYP's reguleren; 2) interferentie met dimerisatie of translocatie van deze (nucleaire) transcriptiefactoren; 3) verandering in de signalering van leververrijkte CCAAT-enhancer-bindende eiwitten (C/EBP); 4) directe regulatie van CYP-expressie door Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells (NF- κ B), of; 5) post-transcriptionele mechanismen. Hierin is de algemeen aanvaarde opvatting dat transcriptionele veranderingen de belangrijkste regulerende mechanismes zijn die verantwoordelijk zijn voor veranderde CYP-activiteit tijdens ontsteking. Uiteindelijk kan een beter begrip van door inflammatie geïnduceerde fenoveranderingen bijdragen aan het optimaliseren van de behandeling voor de individuele patiënt.

De effecten van ontsteking op de CYP-enzymen zijn het meest onderzocht. Echter, ook andere enzymfamilies, zoals de uridine difosfaat-glucuronosyltransferases (UGT's), flavine-bevattende monooxygenasen (FMO's) en carboxylesterases (CES's), spelen een belangrijke rol bij de afbraak van geneesmiddelen. De mate waarin deze enzymfamilies gevoelig zijn voor de invloed van ontsteking is nog onvoldoende bekend. Daarom gebruiken we in **hoofdstuk 4** het HepaRG levermodel om te bestuderen hoe verschillende geneesmiddelmetaboliserende enzymfamilies gevoelig zijn voor de effecten van de ontstekingsmediatoren interleukine (IL)-6 en IL-1 β , en stellen een hiërarchie vast van hun sensitiviteit. Concluderend toonde onze studie aan dat UGT-, FMO- en CES-enzymen minder gevoelig zijn voor de effecten van de pro-inflammatoire cytokinen IL-6 en IL-1 β dan CYP-enzymen. Daarnaast benadrukken de resultaten dat transcriptieveranderingen in de expressie van geneesmiddel-metaboliserende enzymen sterk voorspellend zijn voor veranderingen in enzymactiviteit. Dit pleit tegen het belang van inflammatiegerelateerde post-transcriptionele modificaties. Patiënten met acute of chronische inflammatoire aandoeningen lopen dus mogelijk risico op veranderingen in hun geneesmiddelmetabolisme, waarbij de omvang van deze veranderingen waarschijnlijk afhangt van de betrokken enzymfamilies die verantwoordelijk zijn voor de afbraak van het geneesmiddel.

Immunomodulerende therapieën, zoals monoklonale antilichamen die gericht zijn tegen specifieke cytokines of hun receptoren, worden steeds vaker gebruikt om inflammatoire ziekten te behandelen. Deze therapieën werken door de immuun-

respons te beïnvloeden en te reguleren, waardoor ontstekingen in het lichaam worden verminderd. Aangezien inflammatoire mediators een sleutelrol spelen in de downregulatie van geneesmiddelmetaboliserende enzymen, kan remming van inflammatie deze effecten op de lever omkeren, wat leidt tot herstel van de metabole activiteit van CYP-enzymen. In **hoofdstuk 5** vatten we systematisch samen wat het preklinische en klinische bewijs is voor deze mogelijke interactie, en of het als risico wordt opgenomen in de geneesmiddellabels uitgegeven door de United States Food and Drug Administration (FDA) en de European Medicines Agency (EMA). Daartoe worden in deze review de resultaten van klinische studies met monoklonale antilichamen en tyrosinekinaseremmers samengevat, waarbij de potentiële veranderingen in geneesmiddelblootstelling na interventie met immunomodulerende therapieën worden onderzocht. Hieruit bleek dat het interactierisico afhankelijk is van zowel de cytokine die de ontstekingsziekte drijft als de ontstekingsziekte zelf. Het grootste interactierisico werd gedocumenteerd voor de monoklonale antilichamen die de effecten van IL-6, TNF- α en IL-1 β neutraliseren bij ziekten met systemische ontsteking, alhoewel voor de laatste twee klinisch bewijs ontbreekt. Hoe tyrosinekinaseremmers die de effecten van ontsteking tegengaan de metabole capaciteit van de lever beïnvloeden, is nog niet onderzocht in patiënten en het interactierisico is dus onbekend. Uit analyse van de geneesmiddellabels bleek dat er in 62% van de gevallen discrepanties bestaan tussen de vermelde risico's door de EMA en FDA en dat de autoriteiten hun risicobeoordeling niet altijd baseren op hetzelfde beschikbare niet-klinische en klinische bewijs. Over het algemeen is de FDA conservatiever in zijn aanpak, en vermeldt de FDA sneller een risico voor een interactie in de geneesmiddellabels.

Sectie III – In vivo-tools om veranderingen in enzymactiviteit tijdens (ontstekings)ziekten te bestuderen

Om te kwantificeren in welke mate de enzymactiviteit tijdens ziekte verandert in patiënten, wordt vaak de CYP-fenotyperingscocktail toegepast. Met deze aanpak krijgen patiënten een cocktail van modelsubstraten voor bepaalde CYP-enzymen toegediend, waarna de plasmaklaring van dit substraat gebruikt wordt als indicatie voor de activiteit van het desbetreffende CYP-enzym. De klaring van midazolam wordt bijvoorbeeld gebruikt als indicatie voor CYP3A4-activiteit. De fenotyperingsaanpak gaat ervan uit dat veranderingen in de plasmaklaring van modelsub-

straten louter worden veroorzaakt door veranderingen in CYP-enzymactiviteit. De plasmaklaring wordt echter eveneens beïnvloed door factoren als eiwitbinding van het modelsubstraat, de bloed-tot-plasma-verhouding en de hepatische bloedtoevoer, die allen beïnvloed kunnen worden door ziekten. Het is daarom van belang om te bestuderen in hoeverre veranderingen in plasmaklaring inderdaad direct te herleiden zijn naar veranderingen in enzymactiviteit in patiënten met bijvoorbeeld een ontstekingsziekte. **Hoofdstuk 6** gaat in op deze vraag. Door middel van een hepatisch *physiologically-based pharmacokinetic* (PBPK) model konden we aantonen dat de plasmaklaring van CYP-modelsubstraten inderdaad zeer gevoelig is voor veranderingen in CYP-activiteit. Veranderingen in enzymactiviteit van -90% tot +150% leidden vrijwel proportioneel tot dezelfde veranderingen in plasmaklaring. Echter is de plasmaklaring van modelsubstraten eveneens gevoelig voor veranderingen in eiwitbinding. Dit geldt voornamelijk voor modelsubstraten die sterk gebonden zijn aan plasma-eiwitten. Omdat eiwitbinding kan veranderen tijdens inflammatoire omstandigheden, moeten we hiervoor corrigeren wanneer we klaring van modelsubstraten gebruiken als indicatie voor CYP-activiteit in patiënten. Dit kan gedaan worden met het bijgeleverde R-script in hoofdstuk 6.

Conclusie

Dit proefschrift onderstreept het belang van het uitbreiden van CYP-fenotypevoorspellingen door, naast genetische informatie, ook de invloed van niet-genetische factoren zoals comediatie en inflammatoire status mee te wegen. Hoewel de implementatie van farmacogenetica aanzienlijke vooruitgang heeft geboekt in het personaliseren van farmacotherapie, blijft het een uitdaging om deze voorspellingen verder te verfijnen, zodat ze de levercapaciteit om geneesmiddelen af te breken beter weerspiegelen. Dit proefschrift draagt bij aan een dieper kwantitatief inzicht in hoe ontsteking en comediatie het geneesmiddelmetabolisme beïnvloeden. Hiermee levert het uiteindelijk een bijdrage aan de ontwikkeling van nauwkeurigere leverfenotypevoorspellingen en de optimalisatie van gepersonaliseerde behandelstrategieën.