



*Sveriges lantbruksuniversitet*  
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper

# Farmakogenomikens betydelse för individvariationen avseende biverkningar och resultat vid Paclitaxel behandling av hund

Angelika Olsson

*Uppsala*

*2009*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2009:30*

SLU  
*Sveriges Lantbruksuniversitet*

# Farmakogenomikens betydelse för individvariationen avseende biverkningar och resultat vid Paclitaxel behandling av hund

Angelika Olsson

*Handledare: Henrik von Euler, Institutionen för kliniska vetenskaper*  
*Biträdande handledare: Patricio Rivera, Institutionen för kliniska vetenskaper*  
*Examinator: Bernt Jones, Institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2009*  
*Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap*  
*Institutionen för kliniska vetenskaper*  
*Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp*

*Nyckelord: Farmakogenomik, Cytokrom P450, paccal vet, paklitaxel, cytostatikabehandling av hund*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>*  
*ISSN 1652-8697*

Examensarbete  
2009:30

*Till min älskade sambo,  
utan vars hjälp och stöd  
det aldrig hade blivit ett  
examensarbete*

## Innehållsförteckning

Abstract	5
Sammanfattning	7
Syfte	8
Bakgrund	9
Introduktion	10
Cytostatikabehandling av hund	10
Introduktion och grundfakta	10
Paklitaxel	10
Farmakogenomik	11
Grundfakta och historik	11
Att lägga upp en farmakogenomisk studie	11
Vad är polymorfism och hur polymorft är genomet?	12
Polymorfa geners påverkan på läkemedelsmetabolism	12
Viktiga enzymssystem för bl.a. paclitaxelmetabolism	12
Farmakogenomik och cancerbehandling	14
Exempel på hur farmakogenomiktester används idag	14
Material och metod	16
Paccal vet	16
Patientgrupp	16
Analyser	16
Metodbeskrivning	19
Kandidatgenerna	19
Preparation av DNA	20
Primerdesign	20
Resultat	21
Diskussion	22
Källförteckning	24

# Abstract

## Purpose

The purpose of this study is to evaluate the treatment results and adverse drug effects for 14 dogs receiving a new paclitaxel preparat named Paccal vet. The evaluated dogs are chosen to enter a pharmacogenomical study. Therefore, this paper intends to give an introduction to pharmacogenomics. Finally this study also aims at finding the homologue genesequences in dogs to seven genes that are important for metabolism of paclitaxel in humans.

## Materials and metods

The dogs went through 2-4 cycles of paclitaxel treatment, they received a new water-soluble formula named Paccal vet, at dosages of 100-150mg/m<sup>2</sup>. Treatment results and adverse effects are listed for each dog in table 1. Gastrointestinal side effects are listed once per dog, bone marrow suppression is listed for each cycle.

The dogs' DNA is prepared from frozen EDTA-bloodsamples. As a result of the creation of different breeds, dogs have very long haplotypes, in which no recombination occurs. Therefore there can't be an easily accessed map of haplotypes. Instead, one have to assume that by using at least five SNPs per gene of interest all different haplotypes can be covered. After deciding which SNPs to use, the primers for amplifying can be designed by help of different computer programmes.

## Results

All dogs tolerated the substance well; no sensitivity reactions were observed. The most frequent side-effects were bone marrow depression and gastrointestinal upset.

At an initial search for the homologue sequences of the chosen genes, only a few were found. The same sequence also showed up for different genes, thus revealing that it may be quite complicated to find the desired homologues, much due to the fact that some of the genes are very similar to each other.

## Conclusions

The fact that dogs seem to tolerate Paccal vet, and the side-effects being manageable, gives a promising future to further studies following up on this small pilot study. It is the first cytostatica made particularly for dogs and also the first paclitaxel preparat tolerated by dogs.

However it is a study of very few dogs whom varied greatly in gender, breed, age and size. They also suffered from different diseases in different stages which makes the results unreliable.

The further farmacogenomic study of these dogs can although it is small be of great importance. It can show whether the canine genome shows polymorphism in those genes or not. If so, analysis of the results may strengthen the hypothesis that this polymorphism is strongly responsible for the individual variations in dogs as well.

The concept of individualizing cancer therapy is one of great appeal, and world wide scientists are digging in to farmacogenomics. Only the future can answer how it will be applied in veterinary medicine. First we need to establish that polymorphism of interesting genes span over breed boundaries, thus it is unrealistic to keep one gene map per breed. However, if this is the case, farmacogenomic testing can prove to be of great value.

For dogs with cancer, euthanasia often is a considered alternative, which puts the pet owner and sometimes also the veterinarian in a tough position. It would be of immeasurable value if a simple test could be taken, that answers the question whether this patient has a low or high probability to benefit from treatment.

## Sammanfattning

Syftet med det här arbetet är dels att sammanställa behandlingsresultat och biverkningar för de hundar som ingått i försök med ett nytt paclitaxelpreparat vid namn paccal vet. Arbetet syftar också till att belysa ämnet farmakogenomik då de utvalda hundarna ska genomgå en fortsatt farmakogenomikstudie. Därutöver syftar arbetet även till att analysera homologa sekvenser hos hund för föreslagna gener av betydelse för paclitaxelmetabolismen från humansidan.

Hundarna har alla genomgått 2-4 cykler med paccal vet, ett nytt vattenlösligt paclitaxelpreparat framtaget specifikt för hund. Doseringen var 100-150 mg/m<sup>2</sup>, resultat och biverkningsfrekvens inklusive gradering finns listat för varje hund i tabell 1.

DNA-preparerades från fruset EDTA-blod. För att täcka in alla förkommande haplotyper av de aktuella generna väljs minst 5 SNPs för varje gen ut. Primers för amplifiering kan sedan designas med hjälp av olika dataprogram.

Alla hundar i studien tålde preparatet väl, inga överkänslighetsreaktioner observerades. De mest frekventa biverkningarna var benmärgsdepressioner och gastrointestinala biverkningar.

En initial sökning efter homologa gensekvenser hos hund för de föreslagna kandidatgenerna gav endast resultat för två av sju gener och listade samma resultat för två olika men besläktade gener.

Att hundarna tålde preparatet gör framtiden lovande för uppföljande studier. Paccal vet är det första cytostatikapreparat framtaget för hund, det är också det första paclitaxelpreparat som är möjligt att behandla hundar med.

Det är dock en liten studie med stor variation mellan patienterna avseende ålder kön och ras, de har också flera olika diagnoser.

Trots ovanstående kan den fortsatta farmakogenomikstudien komma att vara av stor betydelse, den kan visa om polymorfi av aktuella gener förekommer på hund och i så fall eventuellt stärka teorin att det är denna polymorfi som i hög grad är ansvarig för individvariationen avseende behandlingsresultaten.

Att kunna individualisera cancerterapi är ett av forskningens stora mål, farmakogenomiken spelar där en stor roll.

Vid cancerbehandling av hund är ofta avlivning ett alternativ. Att kunna ta ett blodprov för farmakogenomisk analys och därigenom säga hurvida patienten sannolikt svara bra eller dåligt på eventuell behandling skulle vara ovärderligt.

## Syfte

Syftet med det här arbetet är att som en del av en större studie, sammanställa och kommentera resultaten av cytostatikabehandling med [Paccal vet](#). De fjorton hundar som studerats är utvalda för att ingå i en fortsatt farmakogenetisk studie, arbetet syftar därför också till att i form av en litteraturstudie ge en introduktion till ämnet farmakogenomik. Syftet med arbetet är även att undersöka homologa sekvenser hos hund till föreslagna kandidatgener från humansidan, av betydelse för paclitaxelmetabolism.



## Bakgrund

Under de senaste åren har en studie av ett nytt cytotstatikapreparat ([Paccal](#) vet) [pågått](#). Studien har [utförts vid onkologimottagningen vid SLU/UDS](#) och omfattat 35 hundar. Kriterierna för inkluderande i studien var att hunden hade en inoperabel eller metastatisk tumörsjukdom.

[Varje](#) hund skulle genomgå tre cykler, med behandling var 21:a dag. Vissa hundar genomgick dock bara en eller två cykler och några hundar genomgick fyra cykler. Huvudsyftet med den här studien var att studera säkerhet, toxicitetsreaktioner och farmakokinetik för [Paccal](#) vet.

[Paccal](#) vet är ett [vattenlösligt](#) paclitaxelpreparat och det första [parenterala](#) cytotoxiska läkemedlet framtaget specifikt för hund.

På humansidan har studier i farmakogenomik och paclitaxelbehandling nyligen gett intressanta resultat tydande på att polymorfism i olika gener kan ha stor påverkan på farmakokinetiska och farmakodynamiska variabler. Intresse finns därför för pilotstudier av farmakogenomik och paclitaxelbehandling även på hundsidan. Det här arbetet är en del i den studien. 14 av de hundar som ingick i den ursprungliga Paccalstudien har valts ut, de har alla genomgått minst två cykler och DNA från dem finns sparad i form av fryst EDTA-blod.

# Introduktion

## Cytostatikabehandling av hund

### Introduktion och grundfakta

Det första som behöver poängteras är att cytostatikabehandling av hund syftar ofta ej till att bota utan främst till att bromsa tumörutvecklingen, samt leda till ett förlängt liv med bibehållet god livskvalité efter sjukdomsupptäckten. (Dobson & Lascelles, 2003)

Allt fler djurägare är intresserade av möjligheter att behandla sina djur även efter en cancerdiagnos. (Hayes, 2005)

Förstahandsval av terapi för hundar med tumörer är [oftast](#) kirurgi. För flertalet fall är kirurgi dock varken möjligt eller lämpligt. Exempelvis är lymfom inte möjligt att behandla kirurgiskt. Tumörer som på grund av storlek och/eller lokalisering inte är möjliga att avlägsna med tillräckliga marginaler vid eventuell kirurgi, snabbt recidiverande, aggressiva juvertumörer samt metastaserande cancer är andra exempel på tumorsjukdomar där cytostatikabehandling kan vara indikerat. (Dobson & Lascelles, 2003)

Cytostatikabehandling av hundar med malignt lymfom medför att överlevnadstiden efter insatt behandling ökar till 6-12 mån jämfört med ca 1 mån för obehandlade hundar. (Engelbrekt-Skarman, 2001)

Cellgifter som används på hund är bland annat L-aspariginas, vincristin, cyclofosfoamid och doxorubicin ofta kombinerat med prednisolon eller annat cortisonpreparat. (Engelbrekt-Skarman, 2001)

Oftast genomgår ett djur bara en cancerbehandling, när symptomen återkommer är det vanligt att djuret avlivs inom en kort tid. (Engelbrekt-Skarman, 2001)

Att standardisera kriterierna för bland annat hur olika biverkningar ska graderas är ett viktigt steg för att kunna jämföra resultat från olika studier och mellan olika behandlingsprotokoll. Veterinary Co-operative Oncology Group (VCOG) har tagit fram en kriterielista med graderingar i fem steg från mild reaktion till dödsfall, där de vanligaste oönskade effekterna efter behandling med bla cytostatika finns upptagna. (VCOG, 2004).

Det finns ett fastställt samband mellan förekomst av gastrointestinala biverkningar och kortare överlevnadstid vid cytotoxisk behandling av cancersjukdommar. (Dobson & Lascelles, 2003)

### Paclitaxel

Paclitaxel används inom humanmedicinen för behandling av, bröst-, äggstocks- och lungcancer. Substansen är ett cytostatikum, vilket verkar genom att stabilisera mikrotubulisystemet. (Green, 2008) Paclitaxel hör till läkemedelsgruppen taxaner, [substansen isolerades först från](#) idegransbark. Paclitaxel finns registrerat under preparatnamnet Taxol, det är en emulsion med Chremophor EL (ricinolja) och dehydrerad alkohol. (Rivera, 2009b)

Hundar tolererar Chremophor EL emulsionen dåligt. I en studie sågs så mycket som 64 % överkänslighetsreaktioner och 12 % dödsfall. I försök har man därför gett Taxol-infusionen mycket långsamt, över flera timmar. Kraftigt premedicinering krävs dessutom för att minska

riskerna för överkänslighetsreaktioner. För att kunna behandla hundar med paclitaxel behövs en annan läkemedelsform. (Rivera, 2009b)

Stor individvariation har setts avseende biverkningsfrekvens, grad av biverkningar samt behandlingsresultat vid paclitaxelbehandling på människa. (Green, 2008)

Paclitaxel metaboliseras av CYP2C8 och CYP3A4 (leverenzym, förklaring följer i texten) till 6 $\alpha$ -OH-paclitaxel respektive 3'-p-OH-paclitaxel. CYP2C8 är mer aktiv i metabolismen av paclitaxel än CYP3A4 men renderar en mindre effektiv metabolit (Monzo et al, 2008) Flera membrantransportproteiner påverkar också paclitaxelmetabolismen. (Huang, 2007)

Allelvariationer inom CYP2C8 som visat sig ha betydelse för paclitaxelmetabolismen är CYP2C8\*2 och CYP2C8\*3. Patienter som är heterozygota för CYP2C8\*3 allelen har signifikant lägre frekvens 6 $\alpha$ -OH-paclitaxel jämfört med patienter som bär på "vildtyp" CYP2C8. (Monzo et al, 2008)

## Farmakogenomik

### Grundfakta och historik

Termen farmakogenomik innebär studier av genetiska faktorer som påverkar kroppens reaktioner på läkemedel och kemikalier. Förutom demografiska faktorer har även individens genetiska konstitution stor betydelse för hur ett läkemedel fungerar. Målet med farmakogenomiska studier är således att individanpassa val av terapi (Marsh, 2007b).

På femtiotalet fick forskarna den första insikten om att skillnader i patienters metabolism av läkemedel sannolikt var kopplat till deras genuppsättning. Sedan dröjde det dock till 1997 innan de första läkemedlen som var framtagna efter studier på särskilda genetiska faktorer kom ut på marknaden. Man lanserade då ett preparat designat för att bekämpa bröstcancer där tumörcellerna uttryckte receptorn HER2 i kraftigt ökad mängd. (Service, 2005)

Farmakogenomiken kan ge svar på genomets betydelse för individskillnaden avseende läkemedelsrespons. Lyckas man individualisera terapin, kan man minska de oönskade läkemedelsreaktionerna och förbättra behandlingsresultaten. (Marsh & McLeod 2006) Utmaningen idag är att hitta säkra och effektiva genetiska markörer för att förutspå utvecklingen av en sjukdom, svar på en specifik behandling samt risk för toxicitetsreaktioner hos den individuella patienten (Monzo et al, 2008)

Användningsområdena för farmakogenomik är många men mest uppenbart är kanske möjligheten att gentesta en patient innan insatt behandling, med avseende att förutspå följden av en eventuell behandling. (Marsh & McLeod 2006)

### Att lägga upp en farmakogenomisk studie

En studie av farmakogenomik kan delas upp i fem steg. Först måste man fastställa att genetisk variation (så kallad polymorfism) är av betydelse för egenskapen man vill studera. Detta görs bla med arvarhetsstudier, där egenskapen får ett värde mellan noll och ett, ett innebär 100 procentig arvarhet. Steg två är att identifiera och screena genetiska markörer som påverkar fenotypen, därefter måste resultaten från steg två replikeras och valideras. I steg fyra utvärderas den kliniska nyttan av testet. Specificitet och sensitivitet att hitta allelen samt att det går att testa en individ och få svar inom en kliniskt relevant tidsram är viktiga faktorer. Det sista steget är att utvärdera den ekonomiska aspekten, och utifrån det fatta beslut om vilken generell testpolicy som ska råda. De flesta studier av farmakogenomik befinner sig i

dagsläge i steg två och tre. Stora framsteg har dock nåtts de senaste åren. (Huang & Ratain 2009)

Traditionellt sett har läkemedel utvärderats på vävnads- och kropps nivå och dos har länkats till dödlighet och toxiska reaktioner. Forskningen har gjort framsteg varför nya krav ställs på utvärdering av effekt och toxikologi på molekyl- och cellnivå. Då blir genetisk information mycket viktig. Farmakogenomiken studerar vilken roll genetiska variationer spelar för interaktionen mellan ett läkemedel och den exponerade organismen eller vävnaden. (Bozina et al, 2009)

#### Vad är polymorfism och hur polymorft är genomet?

Polymorfism är definierat som en mutation vilken förekommer hos minst en procent av befolkningen. (Marsh, 2007b) Polymorfism innebär nukleotidvariationer i den genetiska koden som ansvarar för modulering av kroppens svar på externa stimuli. (Monzo et al, 2008) 90 % av DNA-variationerna utgörs av SNPs (Single Nucleotide Polymorfism), resterande del av *insertions and deletions*, tandemrepetitioner och microsatelliter. Det finns över 5 miljoner validerade SNPs i det humana genomet. (Marsh, 2007a) De kan vara antingen ickesyntonyma eller synonyma; mellan ickesyntonymer föreligger ändring av aminosyrasekvensen. Synonyma SNPs har oförändrad aminosyrasekvens men kan ändå påverka funktionen tex genom att RNA får en annan sekundärstruktur eller att allelen blir mer eller mindre stabil, vilket påverkar genuttrycket. (Marsh, 2007b)

Frekvensen av en viss allel i populationen samt alleleffekt på resultatet påverkar i vilken grad man kan räkna den polymorfismen som ansvarig för resultatvariationen. Till exempel kan en allel som förekommer i hög grad ha signifikant betydelse, även om den bara ger en dubblad eller trefald ökning av en risk. En allel som förekommer i mycket låg grad behöver däremot ha en stor effekt för att ge samma genomslagskraft. (Ansari & Krajcinovic, 2007)

#### Polymorfa geners påverkan på läkemedelsmetabolism

När ett läkemedel binder till en receptor och transporteras i en cell påverkas det på många sätt, både av enzymer som producerar nya metaboliter, och av transportzymer som utsöndrar dessa. Det återstående läkemedlet samt eventuella aktiva metaboliter binder sedan till målproteinet. En förändring i genomet (polymorfism) som kodar för något av dessa proteiner förändrar sannolikt cellens interagerande med läkemedlet. (Monzo et al, 2008)

Cytostatika absorberas, metaboliseras och distribueras i både tumörceller och normala celler. Toxicitet beror på hur dessa processer är modifierade i de normala cellerna, kemoresistens påverkas av hur de är modifierade i tumörcellerna. SNPs i gener som kodar för enzym involverade i fas I eller II reaktioner (metabolism) samt transportsystems-zymer är generellt kopplade till biverkningsreaktioner. SNPs i gener som kodar för DNAreparationsystemet har oftast med läkemedelsresistens att göra. (Monzo et al, 2008)

#### Viktiga enzymssystem för bl.a. paclitaxelmetabolism

De viktigaste enzymerna som påverkar icke kroppsegna ämnen är uppdelade i fas I (oxidativa) och fas II (konjugerande) metaboliserande enzymer, samt fas III transportproteiner som utsöndrar läkemedlet ur cellen. Fas I och II reaktionerna är nödvändiga för att transformera ett lipofilt ämne till ett hydrofilt, möjligt att utsöndra via urinen. (Bozina et al, 2009)

*Cytokrom P450 (CYP) familjen*

Cytokrom P450 (CYP) enzymfamiljen representerar det viktigaste systemet involverat i biotransformering av många exo- och endogena lipofila substanser, (Bozina et al, 2009) CYP-enzymerna är i huvudsak bundna till det endoplasmatiske retikulumet (Downie et al, 2004). CYP ansvarar för 80 % av reaktionerna i fas I. SNPs här har därför stor effekt på hur läkemedlet metaboliseras. Framför allt finns CYP:ar i levern även om de förekommer i andra organ och ibland även i tumörceller. (Monzo et al, 2008) Olika enzymssystem är även involverade i oönskade läkemedelsreaktioner, 59 % av de läkemedel som gett oönskade reaktioner metaboliseras av fas I enzymer och 89 % av dem av olika CYP:ar (Bozina et al, 2009)

CYP-familjen är indelad i tre huvudgrupper; familj 5-51 har hög affinitet för sina substrat och i hög grad har bevarats oförändrad genom evolutionen. Familj 4 metaboliserar i huvudsak fettsyror, familj 1-3 har lägre affinitet för sina substrat jämfört med familj 5-51 men är mer föränderliga uppvisar och i många fall polymorfism. Familj 1-3 står för 70-80 % av alla fas I reaktioner som involverar läkemedel. De viktigaste enzymerna för metabolism av läkemedel är CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 och CYP3A4. Mest CYP-enzym uttrycks i det centrilobulära delarna av levern, vilka är extra känsliga för t.ex. läkemedel och alkohol vilka funderar som CYP-substrat. (Bozina et al, 2009)

Ett flertal olika studier, både på cellinjer och på patienter, har utförts. En större studie på 19 cancercellinjer där 12 gener studerades visade att tumörens fenotyp (i.e. uttrycket av enzymer) var klart länkad till behandlingsresultatet. Man har också visat att bröstcancertumörer som uttrycker CYP3A4 dåligt svarar bättre på behandling eftersom CYP-enzymet inaktiverar läkemedlet, samt att osteosarcom som uttrycker mycket CYP3A4 i högre grad är kopplade till metastaser och dålig prognos. (Rodriguez-Antona & Ingelman-Sundberg, 2006)

Många cytotoxiska läkemedel inaktiveras av CYP-enzym, medan andra läkemedel som utformats som *prodrugs* aktiveras av CYP-enzym. (Rodriguez-Antona & Ingelman-Sundberg, 2006)

#### *Membrantransportproteiner, ABC- och SLC-familjen*

Membrantransportproteiner har nyligen visat sig vara viktiga för att förutspå hur verksamt ett läkemedel kommer vara. Uppskattningsvis 4 % av det mänskliga genomet kodar för transportproteiner och man har slagit fast att det finns en stor andel polymorfism i dessa gener. Transportproteiner uttrycks i hög grad på tarmceller, leverceller, celler i njurtubuli och i blodhjärnbarriären. Hur läkemedlet och membrantransportproteinerna interagerar är direkt kopplat till läkemedlets effekt i kroppen. Mycket är dock fortfarande okänt rörande dessa interaktioner. (Huang, 2007)

Det finns två huvudfamiljer av membrantransportproteiner, ATP-binding cassette (ABC-familjen) och *solute carrier* (SLC-familjen). ABC-enzymerna är ofta associerade med minskat upptag och ökad kemoresistens, detta då de fungerar som uttransportörer ur cellen. Normalt sett syftar dem till att skydda kroppens celler mot toxiner från omgivningen. Mängden ABC-enzymen en individ normalt uttrycker varierar upp till 50-falt mellan individer. Uttrycket är i sin tur starkt kopplat till polymorfism i de kodande generna. SLC-enzymerna är istället associerade med ökat cellulärt upptag och minskad kemoresistens, då de transporterar in ämnen i cellen. Låg aktivitet hos SLC-enzymerna kan därför vara en orsak till resistens hos cellen. Transportproteiner kan även påverka känsligheten mot läkemedlet indirekt genom att förse tumörceller med näring eller förändra den elektrokemiska gradienten över ett membran. (Huang, 2007)

### Farmakogenomik och cancerbehandling

Det finns många exempel på polymorfism i gener med betydelse för cancerfarmakogenomik. Kunskap om sådan funktionell polymorfism är en bra start för att testa en farmakogenomisk hypotes. (Marsh 2007b) Trots att omfattande studier genomförts för att ta fram effektiva terapier mot cancer är de ofta bara verksamma hos en liten del av patienterna. (Ishikawa, 2006) För flera cancerformer finns multipla behandlingsstrategier, varför ett stort behov av verktyg för att guida terapivalet föreligger. (Marsh 2007b)

Merparten av alla läkemedel ger individskillnader avseende terapeutisk effekt. Dock har variationen extra stor betydelse när det kommer till kemoterapi, då det terapeutiska fönstret är smalt och det är av stor vikt att distribuera optimal dos av läkemedlet. Vid administration av suboptimal dos finns risk för selektion av mer resistent och aggressiva cancerceller. Då behandling idag sätts in efter standardprotokoll utan hänsyn till individuella variationer är sådan selektion en klart överhängande risk. (Huang, 2007)

Att kalkylera en optimal dos av ett kemoterapeutiskt läkemedel är ofta svårt. Vanligtvis baseras beräkningarna på patientens kroppsytta, dessa beräkningar speglar dock preparatets farmakokinetik dåligt. En persons kroppsytta korrelerar väl till dess blodvolym och njurfiltreringshastighet. Dessa faktorer påverkar dock inte läkemedlets effekt i lika stor utsträckning som leverfunktion och variationer i proteiner som metaboliserar läkemedlet, eller i dess målprotein. En 5-20-faldig variation i farmakokinetik ses mellan patienter som fått doser beräknade utifrån kroppsytta. Genetiska skillnader hos patienterna utvärderas med målsättningen att bättre förstå den farmakodynamiska och farmakokinetiska variation som uppstår (Walko & McLeod, 2009)

Ett av cancerforskningens största mål är att ta fram läkemedel specifikt riktade mot tumörcellerna. Detta kan möjliggöras genom identifikation av CYP-zymer som uttrycks i tumörceller men inte i omgivande vävnad samt administration av *prodrugs* som aktiveras av målcellen. (Rodriguez-Antona & Ingelmann-Sundberg, 2006) Flera studier har visat att just CYP1B1 är ett sådant enzym. Enzymet uttrycks i flera tumörformer som tex, bröst-, testikel-, colon- och hudcancer men förekommer endast i försumbar mängd i normal vävnad. (Downie et al, 2004)

### Exempel på hur farmakogenomiktester används idag

De senaste tre åren har FDA utfärdat fyra rekommendationer avseende tillägg till läkemedelsinformationen, baserat på vilken inverkan patientens genetiska komposition har på läkemedlet. 2003 skrevs den första läkemedelstexten som innehöll uppgifter om farmakogenomikens betydelse för utvecklingen av toxiska reaktioner mot läkemedlet. Det gällde thiopurin antimetaboliter, ett DNA-inhibitor preparat som används mot leukemi och autoimmuna sjukdomar. Polymorfism i genen som kodar för thiopurin-5-metyltransferas gör att vissa patienter har en alleltyp som renderar ett enzym vilket bryts ner mycket fort och därför inte deltar i läkemedelsmetabolismen. Dessa patienter får mycket höga blodkoncentrationer och drabbas av svåra biverkningar. (Walko & McLeod, 2009)

Farmakogenomiken kan vara ett viktigt hjälpmedel vid dosoptimering av ett läkemedel. Till exempel kan det blodförtunnande medlet Warfarin nämnas. Optimal dos kan variera med upp till 120 gånger mängden mellan individer. Vilket kan förklaras av att olika individer har olika enzymprofil avseende de enzymer som bryter ner warfarin. Genom att studera den gen som

kodar för ett av dessa enzym har man kunnat dela upp patienter i grupper som behöver låg, medelhög eller hög dos. (Service, 2005)

Idag tillämpas farmakogenomiktester kliniskt för att bestämma dosering av preparatet irinotecan vid cancerbehandling, då risken för allvariga biverkningar ökar kraftigt vid homozygoti för en viss alleltyp. (Marsh, 2007b)

## Material och metod

### Paccal vet

Hundarna i studien har behandlats med [Paccal](#) vet, ett nytt ännu ej registrerat paclitaxel preparat. [Paccal](#) vet kan komma att bli det första [parenterala](#) cytostatikapreparatet på marknaden registrerat för hund. Paccal vet är uppbyggt av miceller vilket renderar ett vattenlösligt preparat, det innehåller därför ej Cremophor EL. Hundarna fick preparatet som en infusion över 15-30 min, alla hundar var lätt sederade under infusionen men ingen annan premedicinering administrerades.

Doseringen av paclical vet beräknades utifrån hundarnas kroppsytta, och varierade från 100mg/m<sup>2</sup> till 150mg/m<sup>2</sup>. Koncentrationen av lösningen var 1mg/ml. Blodkoncentrationen paclical vet uppmättes pre infusion, post infusion, 15 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 12 h samt 24 h efter behandlingen på åtta patienter. (Vissa avvikelser i tider förelåg för enstaka patienter som ändå räknades.)

### Patientgrupp

Av de 25 hundar som fullföljde behandlingsstudien med paclical vet valdes 14 hundar ut för den här farmakogenomiska studien. Hundarna var av varierande ålder (1-15 år), storlek (<10- >40 kg), ras och kön. De var diagnostiserade med flera olika cancersjukdomar. Alla i studien inkluderade hundar genomgick minst 2 behandlingar. För två hundar försämrades tillståndet allvarligt under behandlingsperioden varför beslut fattades att avliva hundarna istället för att inleda den tredje cykeln. Tre hundar genomgick fyra cykler och resterande hundar genomgick tre cykler. De hundar som hade mammartumörer (MT) hade alla komplicerande faktorer som omöjliggjorde kirurgi som enda metod.

### Analyser

Blodprover för kontroll av vit blodbild, hematokrit samt i vissa fall lever och njurvärden togs dag 4 och 7 i varje cykel (behandlingsdagen räknad som dag 1). Övriga biverkningar journalfördes noggrant. Namn, ras, diagnos, behandlingsresultat och biverkningar presenteras i tabell 1.

Hematokritvärde, totalantal vita blodceller, totalantal neutrofiler och VCOG-grad neutropeni är angivet för varje cykel, vilket ger 2-4 tabellrader per hund. Jag har valt att ange de mest avvikande värdena för varje hund och cykel, oberoende av om dessa uppträtt vid dag fyra eller dag sju i cykeln. Har vissa värden varit sämst dag sju och vissa dag fyra har jag valt att använda den dag då neutropenin var mest uttalad. Således har jag inte använt värden från olika dagar för samma hund och samma cykel, utan valt antingen dag fyra eller dag sju.

De gastrointestinala biverkningarna har bedömts utifrån duration, severitet och hurvida de var återkommande vid flera cykler eller ej. Som inga biverkningar har enstaka lös avföring men ej diarré och endast lindrigt påverkad eller opåverkad aptit räknats. Lindriga biverkningar utgjordes av hundar med enstaka kräkningar, sämre aptit under ett par dagar eller matvägran enstaka mål. Måttliga biverkningar hade hundar med diarré någon dag och upprepade kräkningar, eller som helt matvägrat en kort period. Här har jag vägt in symtomens duration, samt om de återkommit under flera cykler. Således kan både hundar med flera kräkningar och



anorexi men bara under ett dygn och hundar med mildare symptom men långvariga eller återkommande återfinnas här. Kraftiga symptom var de hundar som kräktes under flera dagar, drabbades av blodiga diarréer, eller inte fick behålla vatten. Varje hund har bara fått en klassning av gastrointestinala biverkningar oavsett hur många cykler den genomförde. För vissa hundar hade VCOG-grader kunnat användas för anorexi, diarré och kräkningar. Ofta var dock journalinformationen varken tillräckligt exakt, eller formulerad i siffror. Varför jag valt att göra en egen gradering. En del hundar fick även mild till måttlig alopeci, ffa i ansiktet, detta har inte tagits med i tabellen.

Alla hundar som uppvisade leukopeni eller neutropeni sattes på förebyggande behandling mot sepsis (baytril och vetrimoxin).

Behandlingsresultatet bedömdes som progressiv sjukdom, ingen förändring (stabil sjukdom), partiell respons eller fullständig respons. Som partiell respons räknas mer än 50 % men mindre än 100 % minskning av tumörens storlek utan uppkomst av nya metastaser eller tillväxt av befintliga. Som fullständig respons räknas försvinnande av tumör och/eller alla mätbara symptom på malignitet.

Förklaring till tabellen: MT = mammar tumör, Totalantal neutrofiler är angivet i  $\times 10^9/l$ , HTKR = hematokrit, angivet i procent, TPK = totalantal trombocyter, WBC = white blood cells, leverparametrar är ALAT och ALP, njurparametrar är kreatinin.

Ortel 1	Ortel 2	Ortel 3	Ortel 4										
IL No.	Breed	Sex	Disease PAC+	Response	Total/initial neutrophils	VCO2 -post neutropeni	HTK	TPK	Total WBC	leucopeni x 3	leucopeni x 2	leucopeni x 1	CR-steroider
PAX 1	Boxer	Disney	neoplasti mediastinum	Ingen förändring	1,3	2	41,8% u.a		1,7	u.a	u.a	u.a	kräftig
					0,33	4	80,8% u.a		1,88	u.a	u.a	u.a	
					0,38	4	87,00% u.a		1,8	-	-	-	
PAX 2	Bayersk vittsbårhund	Molly	MT	Ingen förändring	0,8	3	28,8% u.a		2,65	ALT <10 (µg/L), ALP u.a	u.a	u.a	fram
					1,18	2	67,7% u.a		2,79	-	-	-	
					0,7	3	47% u.a		2,1	-	-	-	
PAX 3	Blandras	Zoro	Mastocytom grad II	Partiell respons	1,7	1	47% 118 (µg/L)		2,1	-	-	-	svår
					0,18	4	48% 104 (µg/L)		1,91	-	-	-	
					0,81	3	34,7% 80 (µg/L)		2,37	-	-	-	
PAX 4	Boxer	Bettan	Malignt lymfom	Partiell respons	7,8	ingen	35,7% u.a		9,18	u.a	u.a	u.a	kräftig
					4,07	ingen	40,3% u.a		14,61	u.a	u.a	u.a	
					1,8	1	34% u.a		36,7	-	-	-	
					8,5	ingen	28% u.a		50	u.a	u.a	u.a	
PAX 5	Vorsteher	Chesa	MT	Progressiv sjuk	8,3	ingen	38% u.a			ALT 2,8 (µg/L), ALP 8,6 (µg/L)	u.a	u.a	kräftig
					8,1	ingen	39% u.a		10,9	ALT 2,8 (µg/L), ALP 8,3 (µg/L)	u.a	u.a	
PAX 6	Storvuddel	Anak Blue	MT	Partiell respons	0,05	4	50,8% 143 (µg/L)		1,04	u.a	u.a	u.a	kräftig
					0,1	4	68% u.a		2,4	-	-	-	
					0,14	4	65,4% 191 (µg/L)		2,01	-	-	-	
PAX 7	West Highland Terrier	Molly	MT	Progressiv sjuk	0,28	4	41,8% 94 (µg/L)		2,12	ALP 342 (µg/L)	u.a	u.a	fram
					0,18	4	41,8% 170 (µg/L)		2,79	-	-	-	
PAX 8	Blandras	Molly	MT	Fulständig resp	0,8	3	43% 801 (µg/L)		3,3	ALP 8,2 (µg/L)	u.a	u.a	kräftig
					0,58	3	43,8% u.a		2,84	-	-	-	
					0,2	4	38% u.a		2,1	-	-	-	
PAX 9	Boxer	Buster	Mastocytom grad II	Fulständig resp	0,2	4	40% u.a		2,4	-	-	-	kräftig
					0,42	4	43,8% u.a		2,85	-	-	-	
					0,28	4	44% u.a		2,81	u.a	u.a	u.a	
					0	4	81% u.a		3,8	-	-	-	
PAX 10	Irländsk setter	Melou	Oralt SCC	Fulständig resp	0,28	3	41% u.a		2,88	-	-	-	kräftig
					0,3	ingen	42,8% u.a		10,09	-	-	-	
					3,31	ingen	48,7% 187 (µg/L)		8,88	u.a	u.a	u.a	
PAX 11	Blandras	Valcoria	anal/skivcellscarcinom	Progressiv sjuk	kräftig neutropeni x 3				kräftig leucopeni x 3				fram
PAX 12	Rhodesian ridgeback	Asta	Mastocytom grad II	Partiell respons	2,48	1	45,4% 61 (µg/L)		3,84	u.a	u.a	u.a	fram
					2,3	1	43% 61 (µg/L)		3,2	u.a	u.a	u.a	
					3,31	ingen	44% 65 (µg/L)		6,28	-	-	-	
PAX 13	Basset	Tyson	Oralt melanom	Partiell respons	0,4	4	48% u.a		4,1	u.a	u.a	u.a	kräftig
					0,82	3	40,8% 170 (µg/L)		2,78	u.a	u.a	u.a	
					0,2	4	47% u.a		3,3	u.a	u.a	u.a	
					0,4	4	42,1 168 (µg/L)		3,78	-	-	-	
PAX 14	Tollare	Dennis	Malignt lymfom	Partiell respons	12,8 (µg/L)	ingen	37% u.a		20	-	-	-	kräftig
					1,8	1	38,8% u.a		8,84	-	-	-	
					2,2	1	44% u.a		2,8	-	-	-	

## Metodbeskrivning

### Kandidatgenerna

Det är inte praktiskt möjligt att kostnadseffektivt scanna hela genomet. Troligtvis skulle det inte heller vara fördelaktigt med ett sådant hav av information. Det är därför viktigt att noga välja ut vilka gener man vill analysera med avseende på eventuell polymorfism. För den här studien har sju kandidatgener valts ut, ABCB1, CYP2C8, CYP3A4, SLCO1B1, SLCO1B3, CYP3A5 och ABCG2. Detta är gener som har betydelse för paclitaxelmetabolismen på människa, samt gener som är närbesläktade med dessa och kan vara av betydelse på hund.

ABCB1 kodar för proteinet P-glykoprotein (mdr-1, multi drug resistance protein). Detta protein transporterar ut paclitaxel från hepatocyterna samt hindrar återupptag i tunntarmen. P-glykoprotein uttrycks även som resistensmekanism i tumörceller. SNP G2677T/a har korrelerats till PK och överlevnad, SNP G1199A till OS. (Green, 2009)

CYP2C8 är huvudmetaboliserande enzym för paklitaxel. Allelvaranterna \*3 och \*4 påverkar PK hos människa. Det finns även ett antal andra SNPar som ger noll-aktivitet hos enzymet, dock förekommer de i låg frekvens (och inte hos Kaukasier). (Green, 2009)

CYP3A4 metaboliserar paklitaxel hos människa, men i mindre utsträckning än CYP2C8. Det är däremot huvudmetaboliserande enzym för docetaxel, det andra preparatet inom taxan-klassen. CYP3A4 uppvisar en stor interindividuell variabilitet hos människa, vilken dock inte kan förklaras på genetisk basis. (Green, 2009)

SLCO1B1 är ett transportprotein som transporterar ämnen från blodbanan in i hepatocyterna. (P-glykoprotein sköter sedan uttransporten till gallan.) Studier indikerar att SNP T521C korrelerar med överlevnad, C varianten tycks nämligen transportera paklitaxel vilket inte wild type allelen av SLCO1B1 gör. (Green, 2009)

SLCO1B3 är också en intransportör, på humansidan är SLCO1B3 huvudsaklig intransportör av paclitaxel. (Green, 2009)

CYP3A5 är närbesläktad med CYP3A4, men metaboliserar inte paklitaxel hos människa. Det är däremot vanligt att CYP3A4 och CYP3A5 transporterar samma substrat, varför CYP3A5 kan vara transportör av paclitaxel hos hund. Det finns dessutom en vanlig polymorfi i genen som ger en splicing med noll enzymaktivitet som följd. (Green, 2009)

ABCG2 är precis som ABCB1 en ut-transportör ur hepatocyterna. ABCG2 anses vara den näst viktigaste transportören för paklitaxel, men på humansidan har hittills ingen effekt in vivo kunnat visas. (Green, 2009)

I nedanstående tabell redovisas GenID på människa samt i de fall det lokaliserats GenID och genens position på hund. Upptäckta polymorfier på människa som är av intresse att försöka detektera även hos hund redovisas i den högra kolumnen för flertalet kandidatgener.

**Tabell 2**

<b>Gennamn</b>	<b>GeneID Homo Sapiens</b>	<b>GeneID Canine</b>	<b>Position i det canina genomet</b>	<b>Polymorfier av intresse</b>
ABCB1	5243	NM_001003215	chr14:16594870-	G1199A

			16692599	C1236T G2677T/A C3435T
CYP2C8	1558			*3: 416G>A & 1196A>G (R139K & K399R) *4: 792C>G (I264M)
CYP3A4	1576			
SLCO1B1	10599			388 A->G Asn130Asp 411 G->A Ser137Ser 463 C->A Pro155Thr 521 T->C Val174Ala
SLCO1B3	28234	NM_001166047	chr27:29434520-29495166	334 T->G S112A 699 G->A M233I
CYP3A5	1577			*3: 6986A>G splice defekt
ABCG2	9429	NM_001048021	chr32:14404055-14450399	

#### Preparation av DNA

DNA preparerades från sparat och fryst EDTA-blod. Ett färdigt kit tex QIAamp Blod Mini Kit användes och DNA preparerades enligt medföljande instruktioner. (Rivera, 2009a)

#### Primerdesign

På humansidan hade SNPs inom de föreslagna generna kunnat sökas med tagSNP som scannar HapMap databasen. Någon liknande databas finns inte för hund. Skapandet av många olika raser har lett till att hundar har väldigt långa haplotyper (ca 1 Mb stora). Innebärande att de flesta gener vilar i block där ingen rekombination har skett sedan rasen konsoliderades. För att kunna nyttja tagSNPs skulle vi således behöva en genmapp med haplotyper för varje ras. På hundsidan kan man istället anta att genom att använda minst fem SNP per gen man vill studera, borde alla förväntade haplotyper täckas in. För att hitta SNPs finns en SNP-mapp med över 2,5 millioner beskrivna SNPs i det canina genomet. Uppskattningsvis så går det en SNP på tusen kodande baser. När man har valt sina SNPs är nästa steg att designa primers för amplifiering. Detta kan göras med hjälp av t.ex. dataprogrammet Mass ARRAY Assay Design v.3.1 (Rivera, 2009a)

## Resultat

Plasmakoncentrationerna som uppmättes visade på ett typiskt tvåkomponents mönster med en alfafas och en betafas.

Generellt var de administrerade doserna (100-150mg/m<sup>2</sup>) väl tolererade och inga av de fjorton hundarna inkluderade i studien uppvisade överkänslighetsreaktioner.

De vanligaste biverkningarna var benmärgsdepression samt gastrointestinala störningar.

Fem av fjorton hundar (36 %) uppvisade kraftiga GI biverkningar. Fyra av dessa krävde stationärvård med intravenös vätsketillförsel. Sju av fjorton hundar (50 %) uppvisade inga eller lindriga GI biverkningar.

Av 43 behandlingar resulterade 26 i neutropeni grad 3 eller 4 (60 %) Tio av hundarna (71 %) drabbades av neutropeni grad 3 eller 4 vid minst en behandling. Ingen hund fick feber eller uppvisade tecken på sepsis, vilket troligen beror delvis på den snabba insättningen av antibiotika hos de hundar som drabbades av benmärgsdepression. För hund nr 11 finns inga värden, endast journalanteckningar om kraftig leukopeni med kraftig neutropeni vid alla tre behandlingarna, vilket har uppskattats motsvara VCOG-grad 3-4. Hunden är därför medräknad i ovan nämnda antal och procentsatser.

Resultatet för nio av fjorton hundar (64,3 %) bedömdes som partiell eller fullständig respons.

Ett par av de hundar som kräktes och upplevde illamående behandlades med tagamet 200 mg med gott resultat.

Gemensamt för de hundar som enbart genomgick två cykler var att de utvecklade snabbt växande lungmetastaser med andningsproblem som följd.

De tre hundar som hade mastocytom grad II hade alla ett positivt behandlingsresultat (två partiell respons och en fullständig respons). En fas III-studie av paccal vet har nyligen inletts, i vilken hundar med just mastocytom ska inkluderas.

Bland de hundar som fick neutropeni grad fyra återfinns hundar ur alla kategorier av respons. Detta gäller även de hundar som drabbades av kraftiga GI-biverkningar.

För biverkningsprofil och respons per individ se tabell 1

Vid en [initial](#) sökning på generna i tabell 2 hittades homologerna hos hund endast för ABC-generna. För CYP-generna hittades först inga homologer, sedan listades samma sekvens hos hund för två av de olika CYP-generna. Likaså kom samma sekvens som för SLCO1B3 upp igen vid sökning efter sekvensen för SLCO1B1. Att finna alla homologer hos hund kommer att kräva en grundlig utredning, mycket på grund av att de olika generna är så pass lika. (CYP-gener av samma subfamilj innehåller minst 55 % identisk aminosyresekvens (Bozina et al, 2009) )

## Diskussion

Den vidare farmakogenomikstudien kommer att vara utformad som en liten pilotstudie. Det kommer vara en retrospektiv studie, där genetisk information från de här fjorton hundarna analyseras.

Det finns flera potentiella felkällor att peka på. För det första är det ett väldigt litet patientmaterial och några statistiskt signifikanta skillnader kan man inte vänta sig att hitta. Det är heller inte målet utan det som efterfrågas är eventuella intressanta indicier att gå vidare med.

Vidare hade hundarna flera olika diagnoser och var i olika stadier av sjukdomsförloppet vid studiens början. De var också av flera olika raser och varierade i storlek från under tio till över fyrtio kilo. Både tikar och hanar fanns representerade, liksom både intakta och kastrerade individer.

Då både kraftig benmärgsdepression och kraftiga GI-biverkningar uppträdde hos hundar med partiell, fullständig och ingen respons samt även hos en med progressiv sjukdom, tycks graden av biverkningar inte vara korrelerad till behandlingsresultatet.

Avseende behandling av olika tumörtyper är det svårt att bedöma något eventuellt resultat. Dock har alla tre hundar med mastocytom svarat positivt.

Det man kan sluta sig till är att paccal vet tycks vara ett lovande preparat för framtida cytostatikabehandling av hund. Att kunna utesluta all premedicinering, ge infusionen under en relativt kort tid och slippa alla överkänslighetsreaktioner är stora fördelar. En annan stor fördel med paccal vet-behandling är att den kräver relativt få behandlingar och besök. Tre cykler med vardera tre besök, samt ett inledande besök och ett uppföljande ger totalt elva veterinärbesök. Då paccal vet är det första paclitaxelpreparatet som fungerar att ge till hund ger det veterinärmedicinen tillgång till en tidigare outnyttjad klass av cytofarmaka.

Även om strax över en tredjedel av hundarna upplevde kraftiga biverkningar, var 50 % i det närmsta biverkningsfria och hos de hundar som fick tagamet reducerades dessutom biverkningarna. Vid framtida behandlingar kunde det därför vara idé att ge alla djurägare tagamet att sätta in vid nedsatt aptiten eller kräkningar.

Trots ovan nämnda begränsningar har studien stora möjligheter att öppna dörrar. Analyser av dessa individers DNA kan ge en indikation om hurvida det föreligger polymorfism hos de föreslagna generna även på hundsidan. Visar det sig att generna är polymorfa, är nästa steg att analysera resultaten för att testa hypotesen att individvariationen även på hundsidan är starkt kopplad till genetisk polymorfism.

Traditionellt har farmakogenomik använts för att studera individskillnader, (dvs skillnad mellan patient A och patient B) Ett lika intressant område skulle kunna vara att studera eventuella allelprofilskillnader mellan olika grupper. (Gandara et al, 2007) På hundsidan är ett möjligt användningsområde att kategorisera farmakogenomiska skillnader mellan raser.

Förutom att guida terapival och beslut kring behandling kan farmakogenomiken komma att spela stor roll för hur kliniska försök läggs upp. Genom att informera forskarna om vilka patienter som mest sannolikt kommer att svara positivt på substansen skulle man kunna

optimera försöksgrupperna, vilket skulle göra att färre läkemedel föll bort i de sista stora studierna. Idag är studierna designade så att dosen väljs efter vad alla i gruppen tolererar. Om 10 % endast tål en mkt låg dos innebär detta att 90 % av patienterna inte får optimal dos varför studien sannolikt inte ger ett bra resultat. (Service, 2005) Huruvida dylika optimeringar kan påverka och förändra djurförsöken inom läkemedlesindustrin kan endast framtiden svara på.

Den tekniska utvecklingen går snabbt framåt och har lett till goda möjligheter att snabbt få fram farmakogenomisk information. För att fullt ut kunna nyttja detta krävs dock validering av markörerna. Det saknas också resultat från stora kontrollerade studier. Idag finns mest pilotstudier liknande denna, vilket gör att resultaten i många fall är osäkra och indicieartade.

Kommer farmakogenomiken bara ur startgroparna så ser framtiden mycket ljus ut, här finns helt klart möjligheter att revolutionera både läkemedlesforskningen och den kliniska medicinska verksamheten.

Konceptet att kunna individualisera läkemedelsterapin är mycket lockande, värden över satsar forskargrupper på temat. (Gandara et al, 2007)

Farmakogenomik är ett väldigt nytt forskningsområde och hur det ska appliceras på veterinärmedicin är i dagsläget oklart. Det faktum att hundar förekommer i mer än 350 olika raser kan göra att deras genetik är mer komplex än vi förväntar oss. Det är orealistiskt att göra 350 genmappar med SNPs och haplotyper, alltså förutsätter farmakogenomikstudier på hund att polymorfi av intressanta gener går utanför rasbegränsningarna.

Farmakogenomik kan komma att bli mycket viktigt för framtida behandlingar av hund. Inom veterinärmedicin finns till skillnad från inom humanmedicin alltid avlivning som alternativ till behandling. Detta är ofta ett svårt och traumatiskt beslut för djurägaren, det kan också vara en svår situation för veterinären att råda om. Att i det läget kunna ta ett blodprov för farmakogenetisk analys och få en säkrare bild av huruvida djuret framför oss kommer att dra fördel av en eventuell behandling skulle vara till stor hjälp. Det kan minska lidandet och våndan för djurägaren och guida oss i vår rådgivande roll. Att de mest lämpade patienterna väljs ut för behandling leder i förlängningen också till minskat djurlidande, bättre behandlingsresultat och minskade veterinärkostnader.

Som alltid vid behandling av svåra sjukdomar och med preparat som riskerar att ge allvarliga biverkningar finns det etiska dilemman att ta hänsyn till. Djurskyddslagen är det enda skydd våra husdjur har, juridiskt sett är en hund likställd med en möbel, bil eller annan ägodel. Det är därför viktigt att vi inte låter oss svepas med av utvecklingen och dess möjligheter. Vi bör inte fråga oss hur långt vi kan gå, utan alltid hur långt vi bör gå.

Farmakogenomikstudier öppnar dock inte direkt för dessa etiska dilemman då det enbart syftar till att välja ut vilka patienter som ska behandlas och inte berör frågan om behandling eller inte behandling. Då begreppet avelshygien är accepterat och till och med önskvärt på hundsidan behöver heller inte debatten om genetisk diskrimination (som på humansidan går hög) beröras.

## Källförteckning

- Dobson, J. M. and X. Lascelles, B. D. (eds) (2003) *BSAVA manual of Canine and Feline Oncology*, 2.ed. Haryana, Replica Press
- Hayes, A. M. (2005) Cancer management in dogs and cats. [Recension av boken *BSAVA manual of Canine and Feline Oncology*] *The veterinary record* March 12.
- Marsh, S. (2007a) Impact of pharmacogenomics on clinical practice in oncology. *Molecular diagnosis & therapy* 11, 79-82
- Downie, D et al. (2004) Pharmacogenomics of cytochrome P450 enzymes in tumours. *Current pharmacogenomics* 2, 243-254
- Ansari, M. & Krajcinovic, M. (2007) Pharmacogenomics in cancer treatment defining genetic bases for inter-individual differences in response to chemotherapy. *Current opinion in pediatrics* 19, 15-22
- Gandara, D. R. et al. (2007) Moving toward personalized therapy of lung cancer through pharmacogenomics. *Clinical lung cancer* 8, 355
- Walko, C. M. & McLeod, H. (2009) Pharmacogenomic progress in individualized dosing of key drugs for cancer patients. *Nature clinical practice oncology* 6, 153-162
- Rodriguez-Antona, C. & Ingelman-Sundberg, M. (2006) Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene* 25, 1679-1691
- Bozina, N. et al. (2009) Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arhiv za higijenu rada I toksikologiju* 60, 217-242
- Huang, Y. (2007) Pharmacogenetics/genomics of membrane transporters in cancer chemotherapy. *Cancer and metastasis reviews* 26, 183-201
- Marsh, S. & McLeod, H. L. (2006) Pharmacogenomics: from bedside to clinical practice. *Human molecular genetics* 15, 89-93
- Service, R. F. (2005) Pharmacogenomics- Going from genome to pill. *Science* 308, 1858-1860
- Ishikawa, T. (2006) Pharmacogenomics in cancer chemotherapy. *Cancer letters* 234, 1
- Monzo, M. et al. (2008) Pharmacogenomics: a tool for improving cancer chemotherapy. *Clinical and translational oncology* 10, 628-637
- Marsh, S. (2007b) Pharmacogenomics. *Annals of oncology* 18, 24-28
- Huang, R. S. & Ratain, M. J. (2009) Pharmacogenetics and pharmacogenomics of anticancer agents. *CA-A Cancer journal for clinicians* 59, 42-55
- Green, H (2008) Pharmacogenomics of importance for paclitaxel chemotherapy. *Pharmacogenomics* 9, 671-674



Rivera, P. J. (2009a) Canine mammary tumors: a candidate gene approach. *Cancer res* 69,

*Veterinary co-operative oncology group (VCOG) (2004) Veterinary co-operative oncology group- common terminology criteria for adverse events following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.0. Blackwell Publishing Ltd*

Engelbrekt-Skarman, E. (2001) *Cytostatikabehandling av malignt lymfom hos hund.* (examensarbete veterinärprogrammet) SLU Uppsala, institutionen för kliniska vetenskaper.

Rivera, P. J. (2009b) *Efficacy and Toxicity of a new Formulation of Paclitaxel in a phase I+II study for the treatment of malignant tumors in dogs.* Unpublished manuscript, SLU institutionen för kliniska vetenskaper

Green, H (2009) mailkonversation angående kandidatgener.