

# FARMAKOGENETIKA A PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA

22. 2. 2017

---

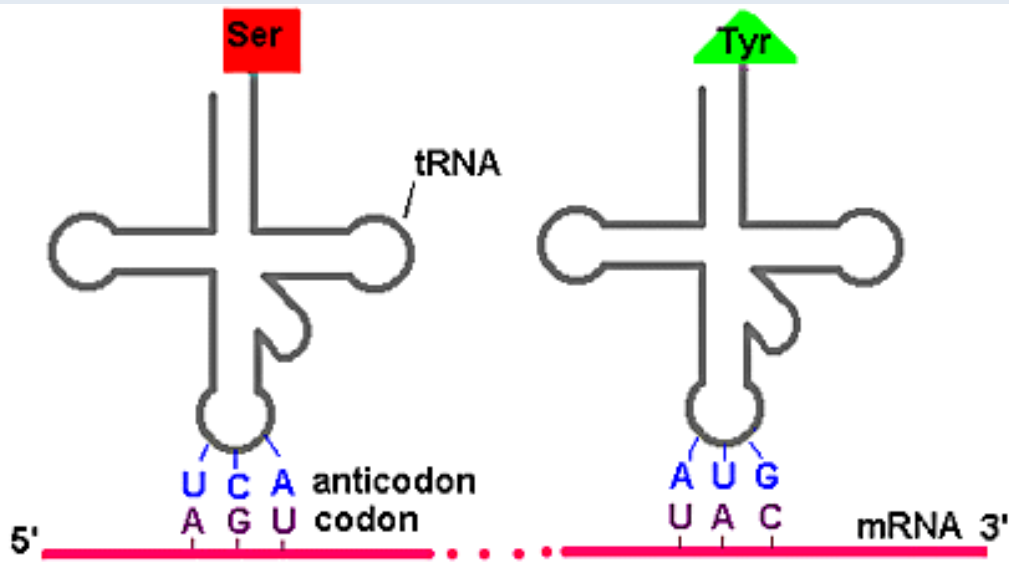
# ZÁKLADNÍ TERMINOLOGIE

---

- × Gen
- × Lokus
- × Alela
- × Genotyp (homozygot, heterozygot)
- × Haplotyp
- × Genom

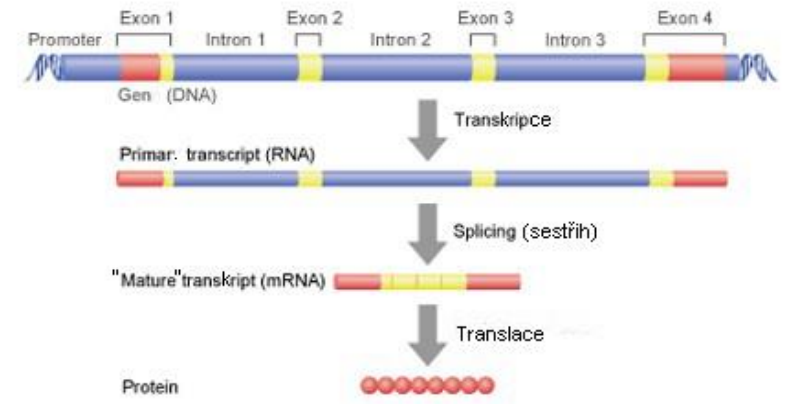


- × Fenotyp



2nd base in codon

	<b>U</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>G</b>		
<b>1st base in codon</b>	<b>U</b>	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr <b>STOP</b> <b>STOP</b>	Cys Cys <b>STOP</b> Trp	<b>UCA</b> <b>UAG</b>
	<b>C</b>	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	<b>UCA</b> <b>UAG</b>
	<b>A</b>	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	<b>UCA</b> <b>UAG</b>
	<b>G</b>	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	<b>UCA</b> <b>UAG</b>
					<b>3rd base in codon</b>	



# The Genetic Code

# GENETIKA

---

- + specializovaný biologický obor zabývající se **variabilitou** a **dědičností**
- + **klinická genetika**
  - × zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí (nejen u pacienta ale celé rodiny!)
  - × genetické poradenství
- + **lidská genetika**
  - × studuje variabilitu a dědičnost u člověka
- + **cytogenetika**
  - × studium chromozomů
- + **molekulární genetika**
  - × studium struktury a funkce jednotlivých genů
- + **populační genetika**
  - × studium proměnlivosti populací
- + **komparativní a evoluční genetika**
  - × mezidruhové srovnání a studium evoluce druhů

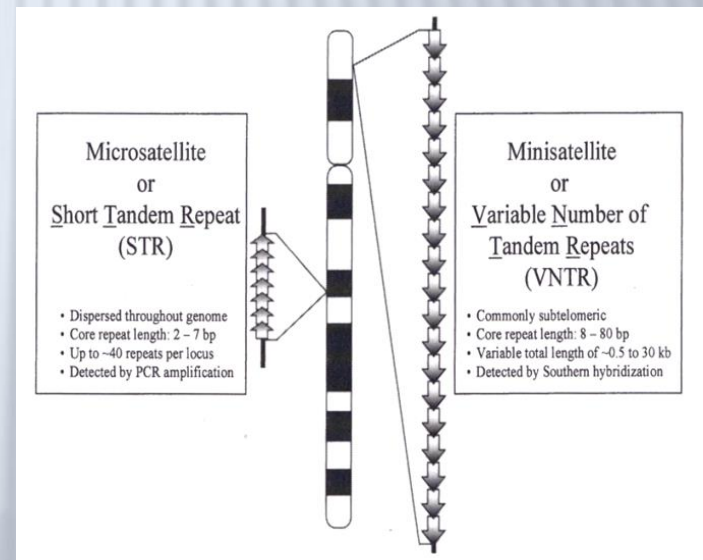
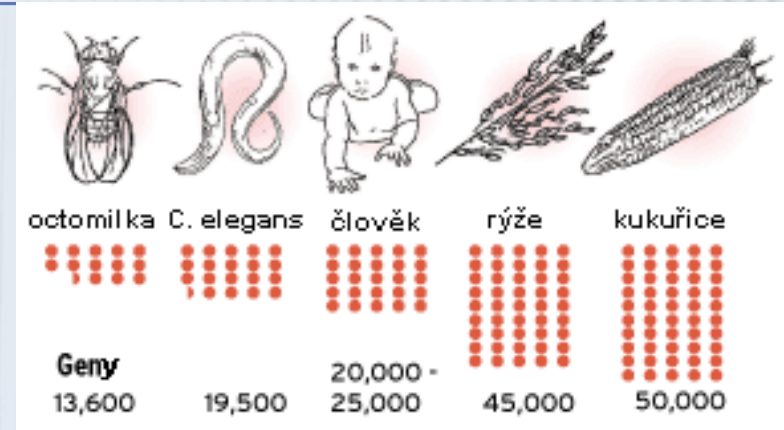
# GENOMIKA

---

- + studuje strukturu a funkci genomů pomocí genetického mapování, sekvenování a funkční analýzy genů
- + snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
  - × **strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
    - \* konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů příslušných organismů
    - \* reprezentovala zejména iniciální fázi analýzy genomů; konečným cílem byla kompletní znalost DNA sekvence (např. HUGO projekt)
  - × **funkční genomika** = studium funkce genů a ostatních částí genomu
    - \* využívá poznatků strukturní genomiky a snaží se o poznání funkce genů; velmi často k tomu využívá modelové organismy (myš, kvasinka, nematoda, Drosophila aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)
  - **bioinformatika**

# LIDSKÝ GENOM

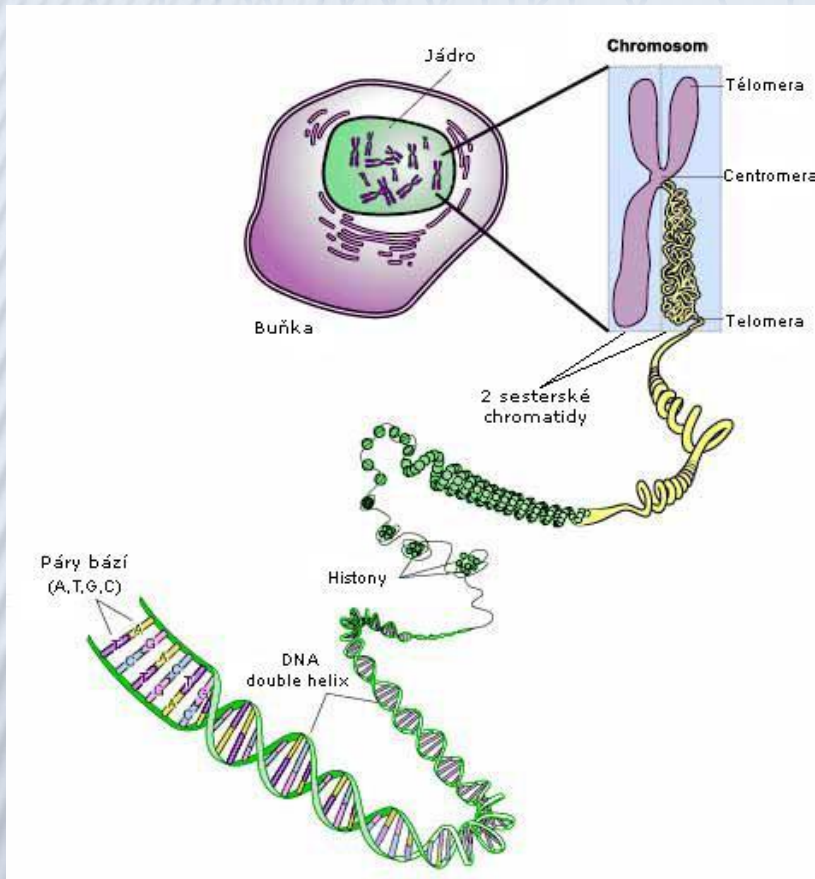
- × Human Genome Project (HUGO)
- × hustota genů na jednotlivých chromosomech dost heterogenní
  - + pouze ~10% kódující sekvence
  - + ~75% se skládá z jedinečné (neopakující se) sekvence
  - + zbytek repetitivní sekvence
    - × nejasná funkce, zřejmě udržují strukturu chromozomů, možná jsou "evoluční" rezervou
    - × typy repetice
      - \* tandemové
        - × mikrosatelity
        - × minisatelity
      - \* Alu-repetice
      - \* L1-repetice
- × mitochondriální DNA
  - + několik desítek genů kódujících proteiny zapojené v mitochondriálních procesech
  - + přenos pouze od matky!



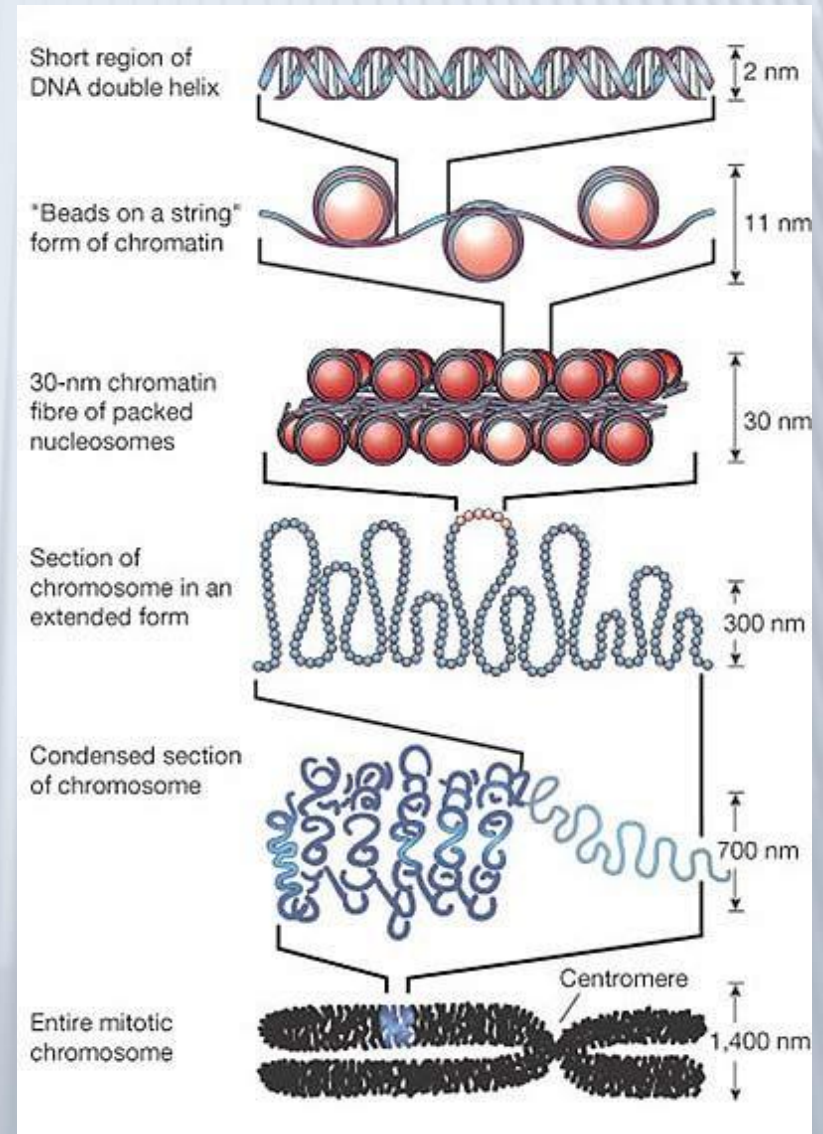
# GENOM VE ZDRAVÍ A NEMOCI

- × Genetická výbava jedince (souhrn všech genů=genom) je sice osudově zadána v okamžiku zplazení, ale není pro další život konečná, protože v průběhu života se může měnit
- × pod vlivem *faktorů epigenetických (indukovaných faktory prostředí)*
- × pod vlivem *dalších faktorů genetických* (např. mutacemi somatických buněk v průběhu maligní transformace)
- × Všechny tyto faktory se mohou uplatňovat také v interakci.

# CHROMATIN A CHROMOZOM



- × v nedělicí se buňce je chromatin rozprostřen volně v jádře
- × u dělicí se organizuje do viditelných chromozomů





# „DOSTUPNOST“ CHROMATINU

- × DNA je normálně svinuta do B-DNA= jeden pravotočivý závit na 10,5 bp. Toto svinutí ovlivňují topoizomerázy, vazba proteinů, transkripce, replikace, změny v iontovém složení.
- × Zvýšené zavinutí („positive supercoiling stress“)
- × Snížené zavinutí („negative supercoiling stress“)
- × **Euchromatin – relaxovaný, transkripčně aktivovatelný**
- × **Heterochromatin –kondenzovaný, relativně nedostupný**

# EPIGENETIKA

---

- × = stabilní a heritabilní změny v genové expresi, které nezahrnují změny v sekvenci DNA
- × Epigenetické procesy řídí genovou expresi během buněčného cyklu, vývoje a v odpovědi na modifikace prostředím nebo biologickými faktory

# CHROMOSOMOVÉ A GENOVÉ ABERACE

---

- × Chromosomové aberace

Strukturní

Numerické

- × Genové mutace

**Vzácné alely** (méně než 1% v populaci)

- ✓ jsou výrazně patologické a tudíž jsou z populace odstraňovány selekcí

- ✓ nebo vznikly nedávno a nestačily se v populaci rozšířit)

**Polymorfismy** (nad 1 % v populaci)

# GENOVÉ MUTACE

---

Z hlediska patogeneze nemocí je důležité, zda se jedná o

- × **mutace v somatických buňkách**, které vznikají v průběhu života, většinou jsou buněčně nebo tkáňově specifické a nepřenášejí se na potomstvo, nebo zda jde o
- × tzv. **zárodečné mutace**, které vznikají v zárodečných buňkách (vajíčko nebo spermie), stávají se součástí vrozené genetické predispozice, jsou obsaženy ve všech buňkách a přenášejí se na potomstvo.

# GERMINATIVNÍ VS. SOMATICKÉ MUTACE

---

- × Germinativní mutace přítomny ve všech buňkách. V průběhu života se nemění (*genetická predispozice?*)
- × Somatické mutace vznikají v somatických buňkách v průběhu života (*maligní transformace*).

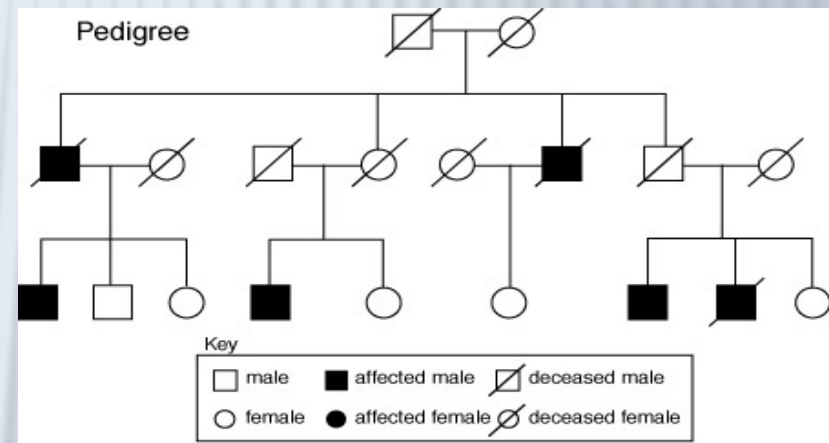
# MONOGENNÍ NEMOCI

---

- × Rozvoj molekulárně biologických metod umožnil detailní analýzu genetického podkladu mnoha mendelisticky děděných, tzv. **monogenních nemocí**.
- × U těchto chorob se dědičný podklad uplatňuje jako **velký faktor**, tj. je přítomen prakticky u všech nemocných a jedná se prokazatelně o faktor příčinný (např. defekty v dystrofinovém genu u muskulárních dystrofií), k němuž se přidávají jen jako **přidatné další faktory** genetické i faktory zevního prostředí. Příčinou těchto nemocí bývají především tzv. vzácné alely

# MONOGENNÍ NEMOCI

- × Monogenní choroby jsou primárně, i když ne výlučně, **chorobami dětského věku.**
- × Méně než 10% z nich se manifestuje po pubertě a pouhé 1% se objeví po skončení reprodukčního věku.
- × V populační studii na 1 milionu živě narozených dětí byla incidence vážných monogenních chorob odhadnuta na 0,36%, u 6-8% hospitalizovaných dětí se uvažuje o monogenních chorobách.



# MODELY MONOGENNÍ DĚDIČNOSTI (HWE!)

× Dominantní/ recesivní ) - 2 fenotypy

(AA + Aa) vs aa; aa vs (AA+Aa)

× Kodominantní – 3 fenotypy

AA vs Aa vs aa

× Výhoda heterozygota

Aa vs (AA+ aa)

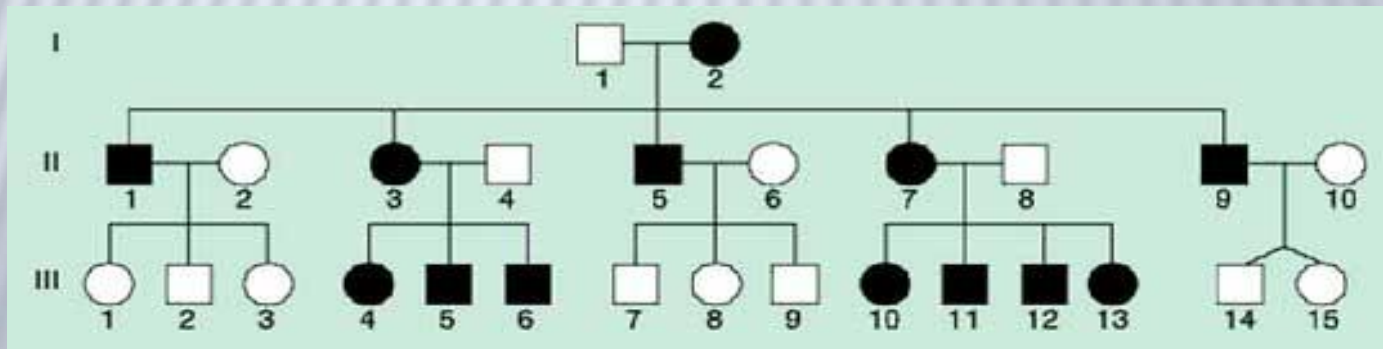
× Výhoda alely – 2 fenotypy

A vs a



# MITOCHONDRIÁLNÍ DĚDIČNOST

- × Z hlediska genetiky je zásadní fakt, že **mtDNA je předávána další generaci výhradně matkou (matroklinní dědičnost), když po oplodnění jsou zachovány pouze mitochondrie lidského vajíčka**. To patrně není pouhým důsledkem nepoměru počtu mitochondrií lidského oocyty (cca 100 000) a spermie (50-70), ale předpokládá se aktivní proces, který po oplození zlikviduje mitochondrie paternálního původu. Tomu odpovídá i typický maternální přenos chorob způsobených mutacemi mtDNA v rodokmenu (viz obrázek). Pokud je heteroplazmická mutace zděděna nebo k ní dojde v časných fázích embryogeneze, normální i mutovaná varianta jsou náhodně předávány při buněčném dělení dceřinným buňkám (mitotická i meiotická segregace). Distribuce a zastoupení mutované mtDNA v jednotlivých orgánech jsou proto patrně závislé na čase a vzniku mutace a rovněž na typu postižené buňky.



# POLYMORFISMY V DNA

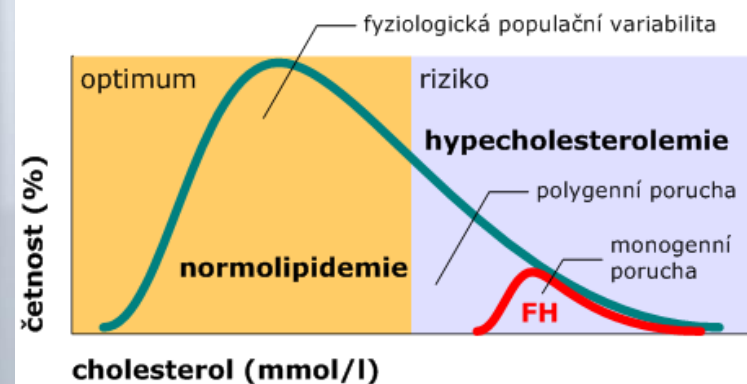
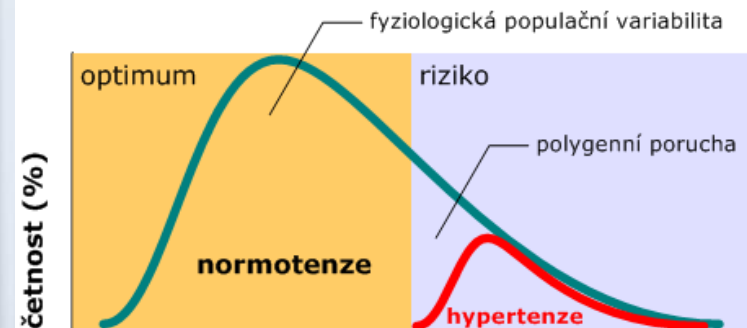
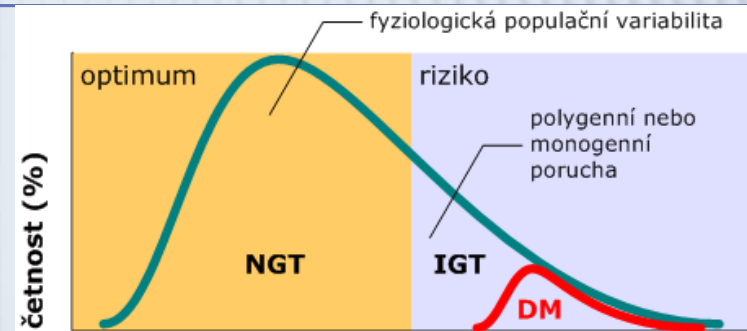
- × Jako **polymorfismy** v DNA se označují přirozeně se objevující změny v sekvenci DNA s více než jednou variantou-alelou, s populační frekvencí více než 1 %. Objevují se v průměru jednou na každých 1000 párů bází genomové DNA.
- × Asi 90 % z nich jsou polymorfismy se záměnou jednoho nukleotidu („single nucleotide polymorphisms“ - **SNP**), jejichž podstatou je substituce jedné báze.
- × Většina těchto polymorfismů leží v nekódujících (intronových) sekvencích, na jejichž funkční význam existují odlišné názory.
- × Kromě SNP se vyskytují také **minisatelitní** a **mikrosatelitní** polymorfismy, které vznikají v důsledku variace v tzv. tandemových repetitivních sekvencích. Minisatelitní polymorfismy jsou obvykle dlouhé 0,1-20 kilobází, zatímco mikrosatelitní často méně než 100 párů bází.
- × Většina mikrosatelitních polymorfismů jsou dinukleotidové opakovací (repeat) sekvence, jako je např. opakování motivu CA. SNP jsou obvykle bialelické (existují jen dvě alely), mikrosatelitní polymorfismy multialelické (existuje více než dvě alely). Ačkoliv většina polymorfismů je zřejmě funkčně neutrální, část z nich zřejmě má alelicky specifické účinky na regulaci genové exprese nebo funkce kódovaného proteinu, což determinuje **interindividuální variabilitu v biologických znacích i vnímavost vůči nemoci.**

# KOMPLEXNÍ (MULTIFAKTORIÁLNÍ, MULTIGENNÍ) NEMOCI

- × Na odhalení nejobecnějších principů genetiky multifaktoriálních nemocí se na rozdíl od genetiky nemocí mendelistických v současné době stále ještě čeká. Také z tohoto důvodu zatím v klinické praxi často kolísá názor na výsledky genetických studií, které se snaží odhalit genetický podklad komplexních nemocí, od neodůvodněného očekávání nad nalezenými geny velkého účinku až po velkou skepsi vzhledem k existenci genetického podkladu v populaci četných nemocí (nad 1%), jako je v kardiologii např. esenciální hypertenze. Jisté je, že pokud choroba má prokazatelně familiární výskyt, musíme očekávat podíl genetického podkladu na její manifestaci, a to i v tom případě, že není dosud dobře definován nebo dosavadní znalost nepovažujeme za přesvědčivou.
- × Jinak řečeno, v 21. století již *musíme počítat s tím, že fakticky každá choroba má nějaké genetické pozadí, jehož podíl na manifestaci dané choroby je různý.*
- × Své genetické pozadí mají i tak relativně vzdálené *proximální fenotypy*, jako je např. kvalita života u nemocných s chronickým kardiovaskulárním onemocněním, kožními onemocněními, tumory apod.

# KOMPLEXNÍ CHOROBY

- × choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
  - + fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- × **predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminují jednoznačně jeho přítomnost
  - + je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**)
    - × dieta, fyzická aktivita, kouření, ....
  - + a **interakcí genů** mezi sebou
- × komplexní onemocnění jsou charakterizována:
  - + Polygenní dědičností
  - + Významnou interakcí s vnějším prostředím
  - + Změnou epigenetických regulací (metylace, acetylace histonů)
- × nejčastější komplexní nemoci
  - + diabetes (1. i 2. typu)
  - + dyslipidemie
  - + esenciální hypertenze
  - + hypersenzitivity, autoagrese
  - + sporadické tumory



# KOMPLEXNÍ CHOROBY- CHARAKTERISTIKA

---

- + Polygenní dědičnost
- + Významná interakce s vnějším prostředím
- + Změna epigenetických regulací (metylace, acetylace histonů)
- × nejčastější komplexní nemoci
  - + diabetes (1. i 2. typu)
  - + dyslipidemie
  - + esenciální hypertenze
  - + hypersenzitivity, autoagrese
  - + sporadické tumory

# GENETICKÉ STUDIE

---

- × Základní debata nad genetickým podkladem nemocí logicky začíná od strategie výběru tzv. kandidátních genů. Tato otázka je podstatně jednodušší u mendelisticky děděných nemocí, kde se změní funkce jednoho genu snadněji identifikuje.
- × Kandidátní gen může být asociován:
  - × s intermediálním fenotypem
  - × s klinickou manifestací nemoci
  - × s klinickou závažností nemoci
  - × s odpovídavostí nemoci na léčbu (farmakogenetika)

# GENETICKÉ STUDIE

---

- × Dalším významným momentem je výběr statistické metodologie, která zhodnotí sílu asociace genů s chorobami. Možnosti jsou v zásadě dvě: linkage (vazebná) analýza a asociační studie. K detekci specifických genetických oblastí a genů, které se účastní v transmisi nemoci, je v principu možné použít obě metody.
- × Linkage (vazebná) analýza testuje kosegregaci genového markeru a fenotypu nemoci v rodině. Čili marker a nemoc se v dané rodině mají vždy vyskytovat spolu.

# GENETICKÉ STUDIE

---

Asociační studie vyšetřují souvýskyt markeru a nemoci na populační úrovni, tj. u nepříbuzných jedinců, obvykle srovnáním frekvencí markerů u nepříbuzných nemocných a kontrolních subjektů (studie case-control). Statistickou sílu asociace je možno dále zvýšit obohacením o další kritéria, jako jsou klinické subtypy nemoci (studie case-case), závažnost nemoci, časný začátek nemoci, rizikové faktory pro nemoc včetně pohlaví a vhodné biologické znaky (např. plasmatické hladiny cytokinů při asociaci genetických polymorfismů v cytokinových genech; studie genotyp-fenotyp).



# DNA MARKERY

- × U komplexních nemocí se ukazuje, že je možno asociovat alely mnohých polymorfismů s výskytem komplexní nemoci nebo některými intermedialními znaky onemocnění (hladiny proteinů, rodinná anamnéza aj.) *statisticky* asociovat, čili přinejmenším najít genetický marker, s touto nemocí asociovaný.
- × Určitý genotyp nebo alela daného polymorfismu tak představuje vyšší (nižší) riziko pro nemoc.

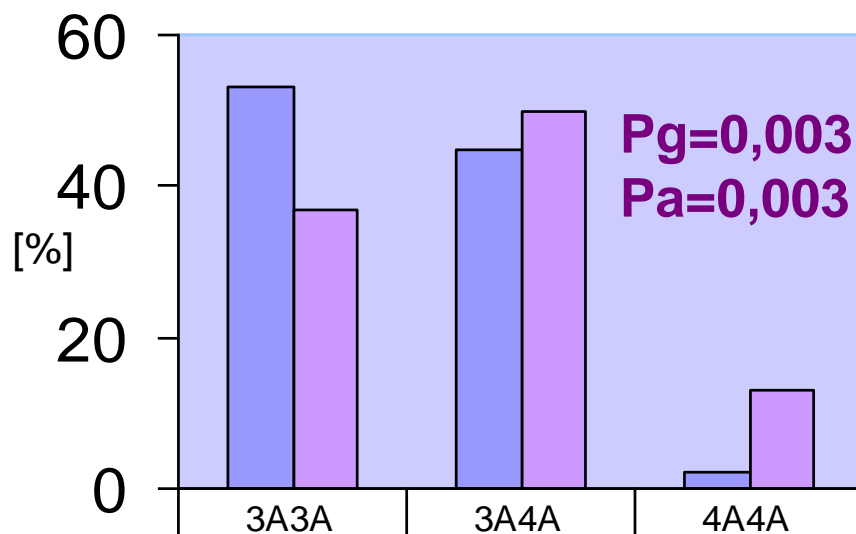
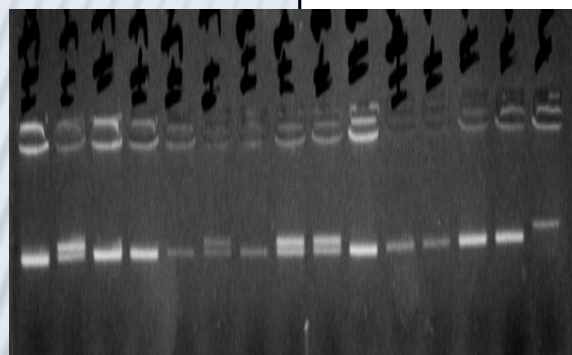


Odds ratio (OR):

$$\frac{\text{Počet nemocných s riz. genotypem} \times \text{počet zdravých bez riz. genotypu}}{\text{Počet nemocných bez riz. genotypu} \times \text{počet zdravých s riz. genotypem}}$$

Senzitivita, specifita (nad 80%) a síla testu (nad 80%).

# ZDRAVÍ ČEŠTÍ DOBROVOLNÍCI STŘEDNÍHO VĚKU (41-50 LET) POLYMORFISMUS -3A/-4A V GENU PRO ENDOTELIN-1 (EDN1) KOUŘENÍ

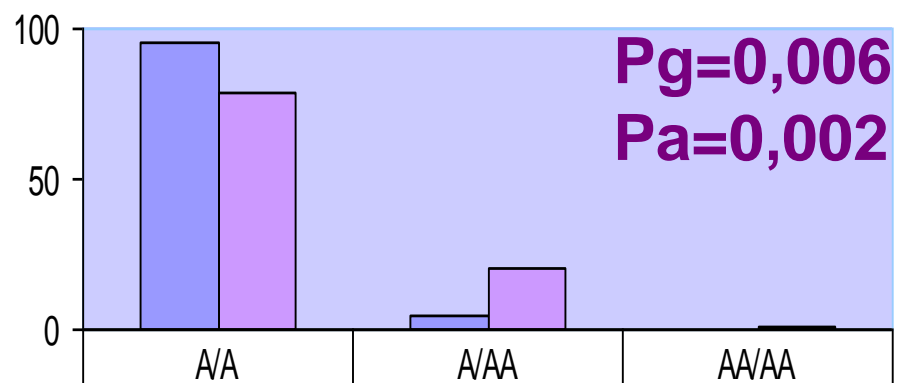
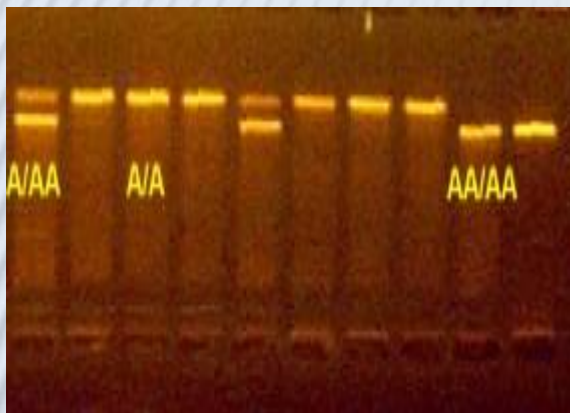


	3A3A	3A4A	4A4A
Muži - kuřáci (102)	53	45	2
Muži - nekuřáci (90)	37	50	13

■ Muži - kuřáci (102) ■ Muži - nekuřáci (90)

Genotypy 3A3A a 3A4A jsou častější u zdravých mužů kuřáků oproti mužům nekuřákům ( $OR = 7,69$ ,  $95\% KI 1,67-35,38$ ,  $P=0,002$ ).

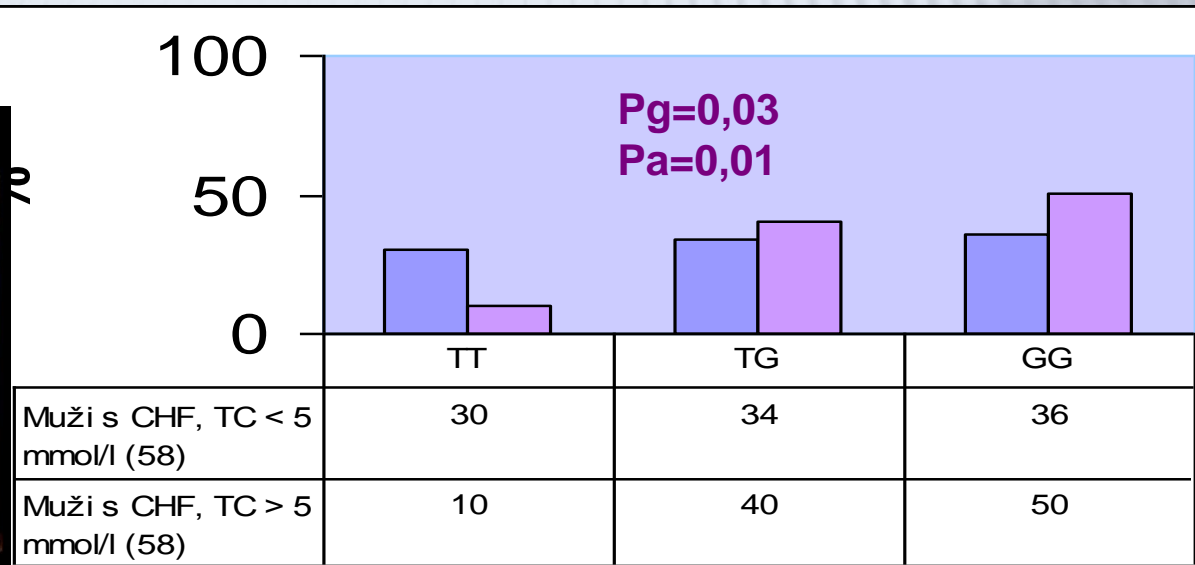
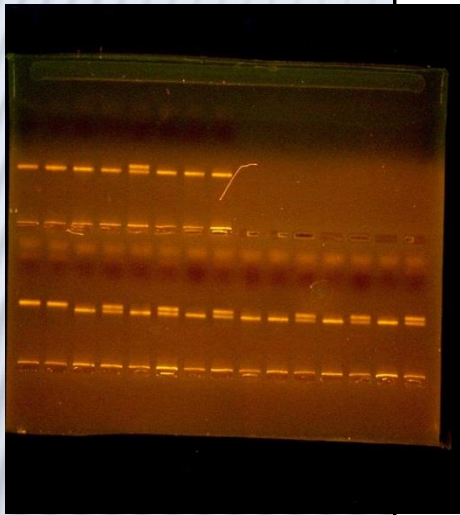
# CHRONICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ POLYMORFISMUS RXR $\alpha$ 39526 A/AA KREVNÍ SKUPINY ABO



	A/A	A/AA	AA/AA
Pacienti s CHF - KS A (84)	95	5	0
Pacienti s CHF - KS nonA (117)	79	20	1

Alela AA přináší **5x vyšší OR** pro pacienty s CHF a krevní skupinou nonA (B+AB+O): **OR=5,16; 95%KI 1,72-15,50; P=0,0009**

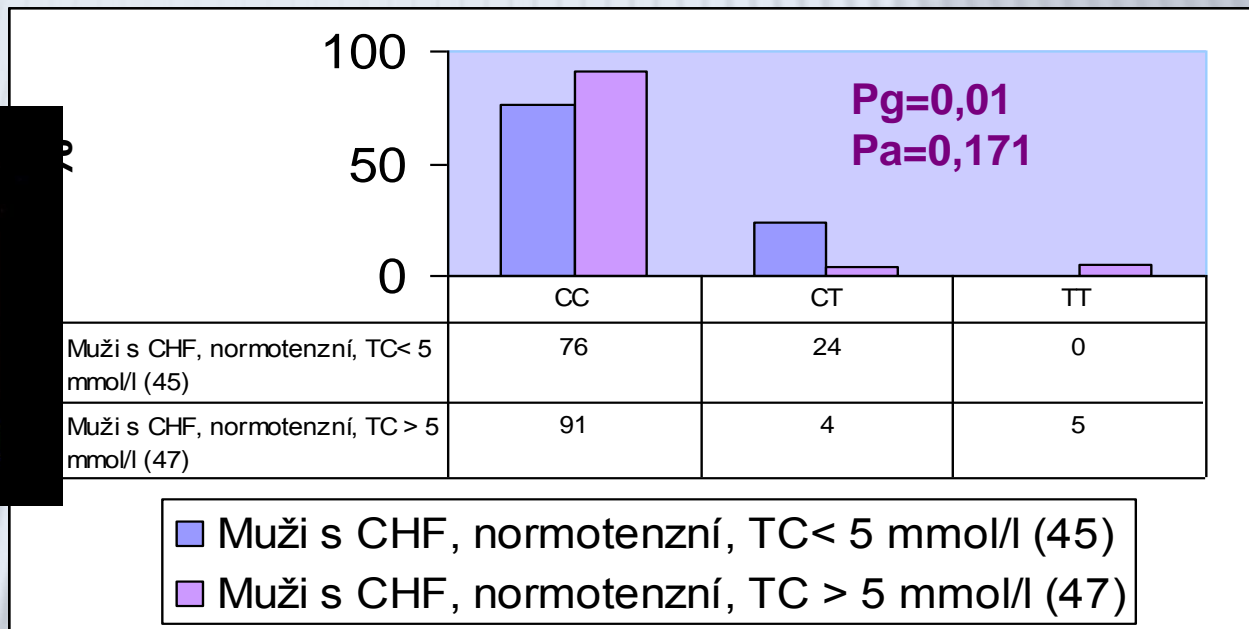
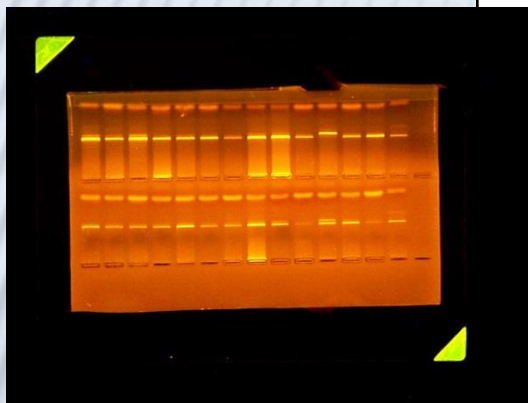
# CHRONICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ POLYMORFISMUS -790T/G V GENU PRO MMP-2 CELKOVÝ CHOLESTEROL



■ Muži s CHF, TC < 5 mmol/l (58)  
■ Muži s CHF, TC > 5 mmol/l (58)

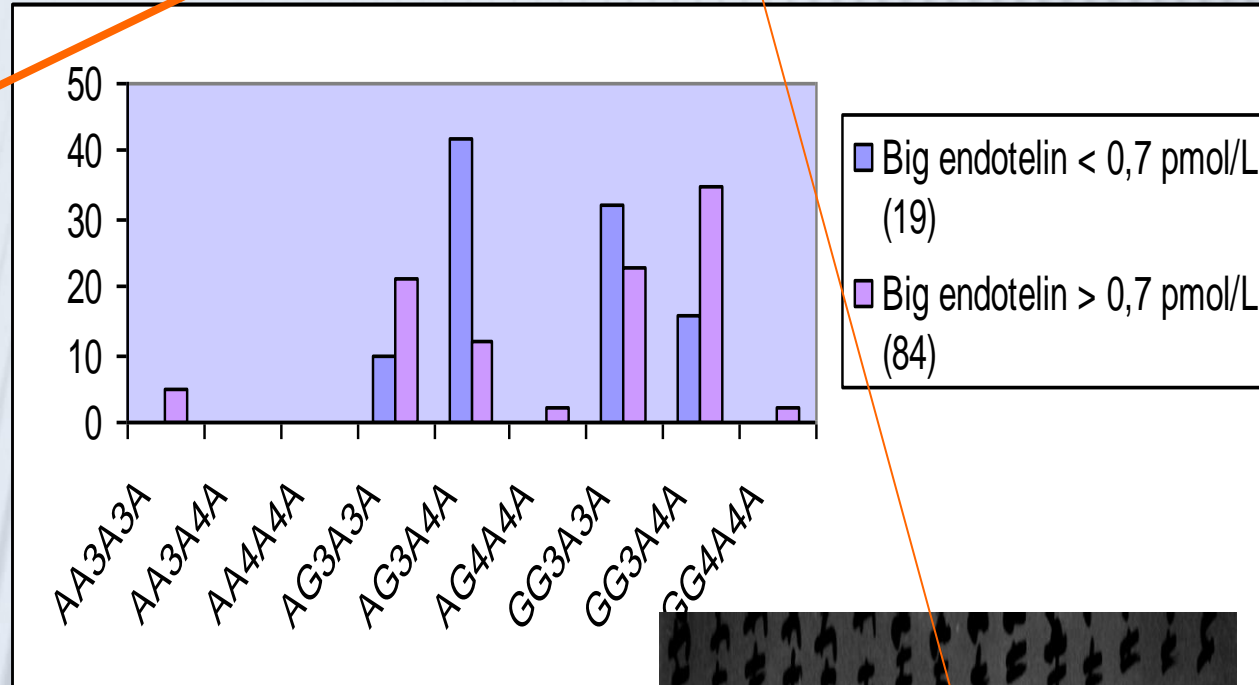
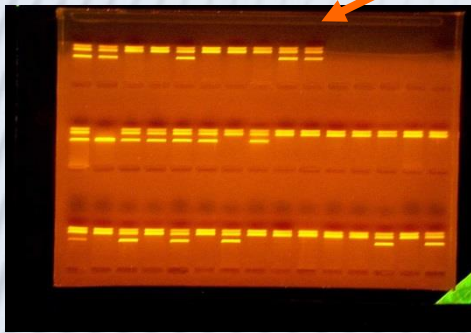
Genotypy TG + GG přinášejí **3,59x vyšší OR** pro muže s CHF a vyšší hladinou celkového cholesterolu: **OR=3,59; 95% KI 1,30-9,93; P=0,009**

# CHRONICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ POLYMORFISMUS -735C/T V GENU PRO MMP-2 HYPERTENZE CELKOVÝ CHOLESTEROL



Genotyp CT přináší **7,28 x vyšší OR** pro muže s CHF, normotenzí a vyšší hladinou celkového cholesterolu: **OR=7,28; 95% KI 1,51-35,03; P=0,006**

# CHRONICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ ASOCIOVANÝ GENOTYP 8002 G/A A -3A/-4A EDN-1 BIG ENDOTELIN

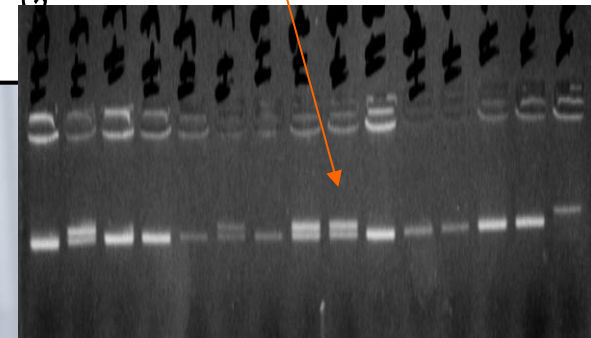


Asociovaný genotyp AG3A4A nese 5x vyšší OR pro chronické srdeční selhání ve skupině s nízkou hladinou big endotelinu oproti skupině pacientů s vysokou hladinou:

**OR = 5,38;**

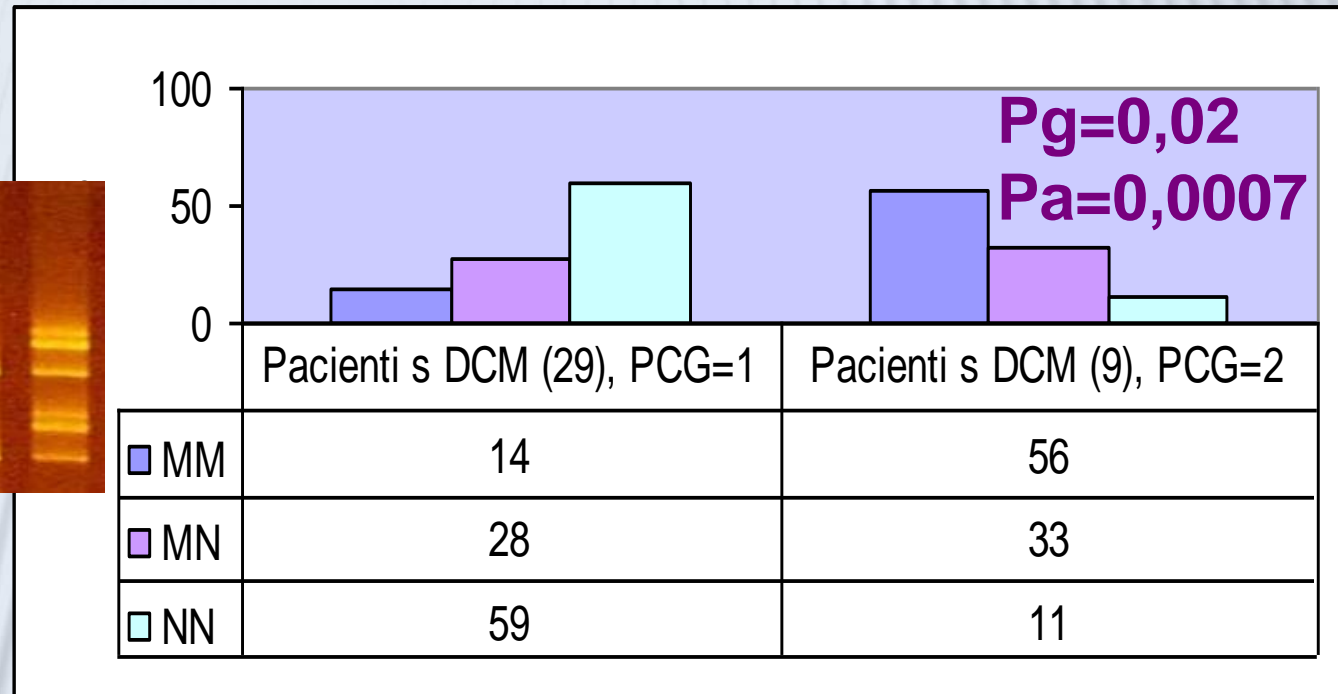
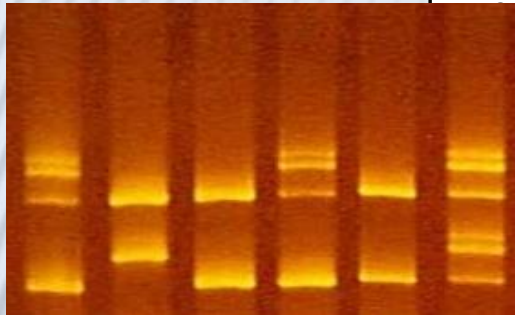
**95% KI = 1,75-16,58;**

**P= 0,005**



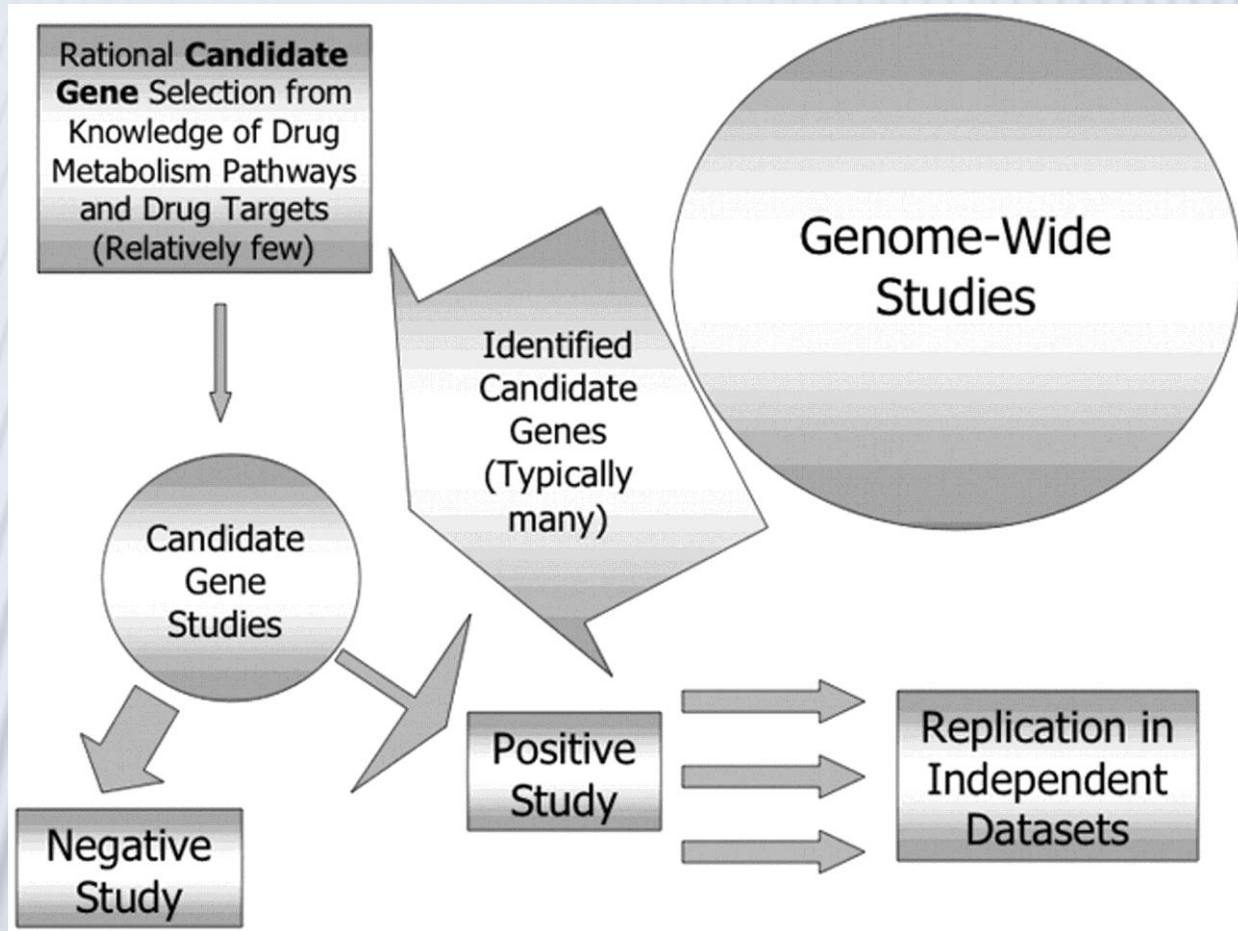
# CHRONICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ DILATAČNÍ KARDIOMYOPATIE (DCM), PLICNÍ MĚSTNÁNÍ (PCG)

3. TACE



Genotyp MM nese **8x vyšší OR** pro DCM s PCG=2 oproti DCM s PCG=1: **OR=7,81, 95% KI = 1,45-42,17, P=0,02**

**Figure 2. Relationship between genome-wide and candidate gene pharmacogenetic studies**



**Davies, S. M. Hematology 2006;2006:111-117**



# SROVNÁNÍ STRATEGIÍ GENETICKÉHO VÝZKUMU: KANDIDÁTNÍ GENY VS. „GENOME-WIDE „ STUDIE

---

## × Studie kandidátních genů

- Racionální (patofyziologická) selekce genů bez možnosti objevit nové (je možno ovšem objevit nové klinicky validní markery uvnitř genu)
- Limitovaný počet genů snižuje riziko falešné positivity výsledků
- Redukované náklady, pokud je tento přístup úspěšný (vede k signifikantním výsledkům=klinicky validním markerům).
- Je možno se dopracovat statisticky adekvátně velkým souborům vyšetřených osob

# SROVNÁNÍ STRATEGIÍ GENETICKÉHO VÝZKUMU: KANDIDÁTNÍ GENY VS. „GENOME-WIDE „ STUDIE

---

- × Studie „genome-wide“
  - Analýza celých genomů může vést k identifikaci dosud neznámých genetických souvislostí
  - Zvyšuje se riziko nepravdivého výsledku
  - Zvýšené náklady, také na základě zvýšeného počtu signifikantních výsledků
  - Statisticky adekvátně četných souborů je možno dosáhnout jen obtížně

# GENOVÁ TERAPIE

---

- Zahrnuje jakoukoliv proceduru, určenou k léčení nemoci genetickou modifikací buněk pacienta.
- Do buněk se transferují: geny, jejich části nebo oligonukleotidy.
- Genová terapie *in vivo*: transfer přímo do buněk pacienta
- Genová terapie *in vitro*: genové modifikace probíhají mimo organismus
- Genová terapie *ex vivo*: modifikované buňky se vracejí do organismu

# GENOVÁ TERAPIE: TYPY NEMOCÍ

---

- × Infekční nemoci
- × Rakoviny
- × Vrozené nemoci
- × Nemoci imunitního systému

# GENOVÁ TERAPIE

---

- × Virové a nevirové vektory.
- × Různé terapeutické strategie:
- × „**gene-based**“ (tumor suppressor genes, suicide genes, antiangiogenic genes, cytokine a oxidative stress-based genes)
- × „**RNA-based**“ (antisense oligonucleotides and RNA interference) přístupy.
- × „**immune response-based**“ strategies (dendritic cell- and T cell-based therapy) se rozvíjejí v terapii tumorů.

# GENOVÁ TERAPIE

---

- **Klasická genetická terapie** (dopřavit geny do vhodných cílových buněk, aby bylo dosaženo optimální exprese vnesených genů) s cílem:
  - 1. zajistit produkci látky, která chybí
  - 2. aktivovat buňky imunitního systému ve snaze pomoci odstranit nemocné buňky

# TECHNOLOGIE KLASICKÉ GENETICKÉ TERAPIE

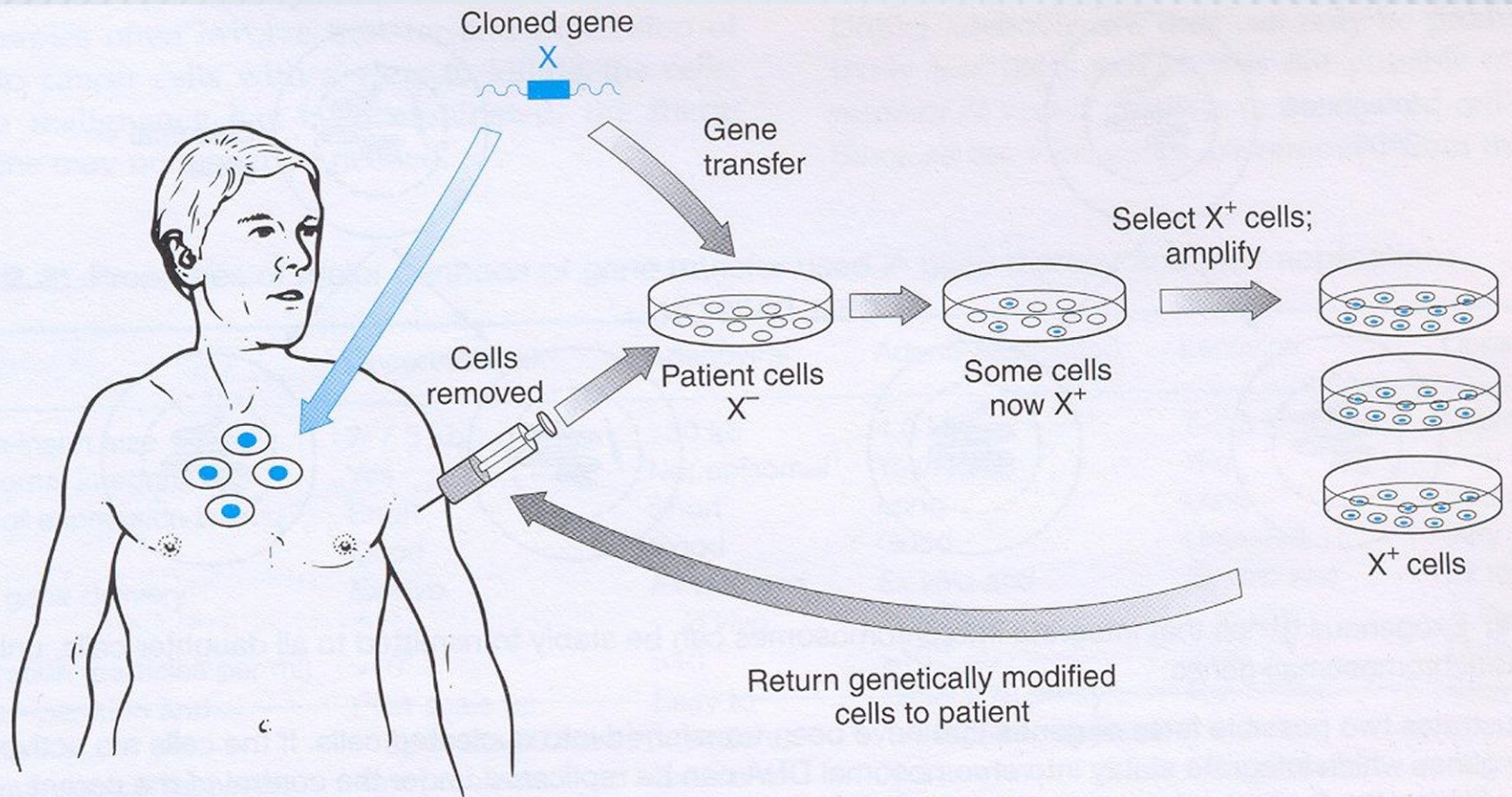
- ✘ Jedná se o zacílení buněk nemocné tkáně
- Geny mohou inzertovány do buněk pacienta přímo a nepřímo
- Inzertované geny se mohou
  - ✓ Integrovat do chromozomů
  - ✓ Zůstat extrachromozomálně (epizomy)

# PRINCIPY GENETICKÉHO TRANSFERU

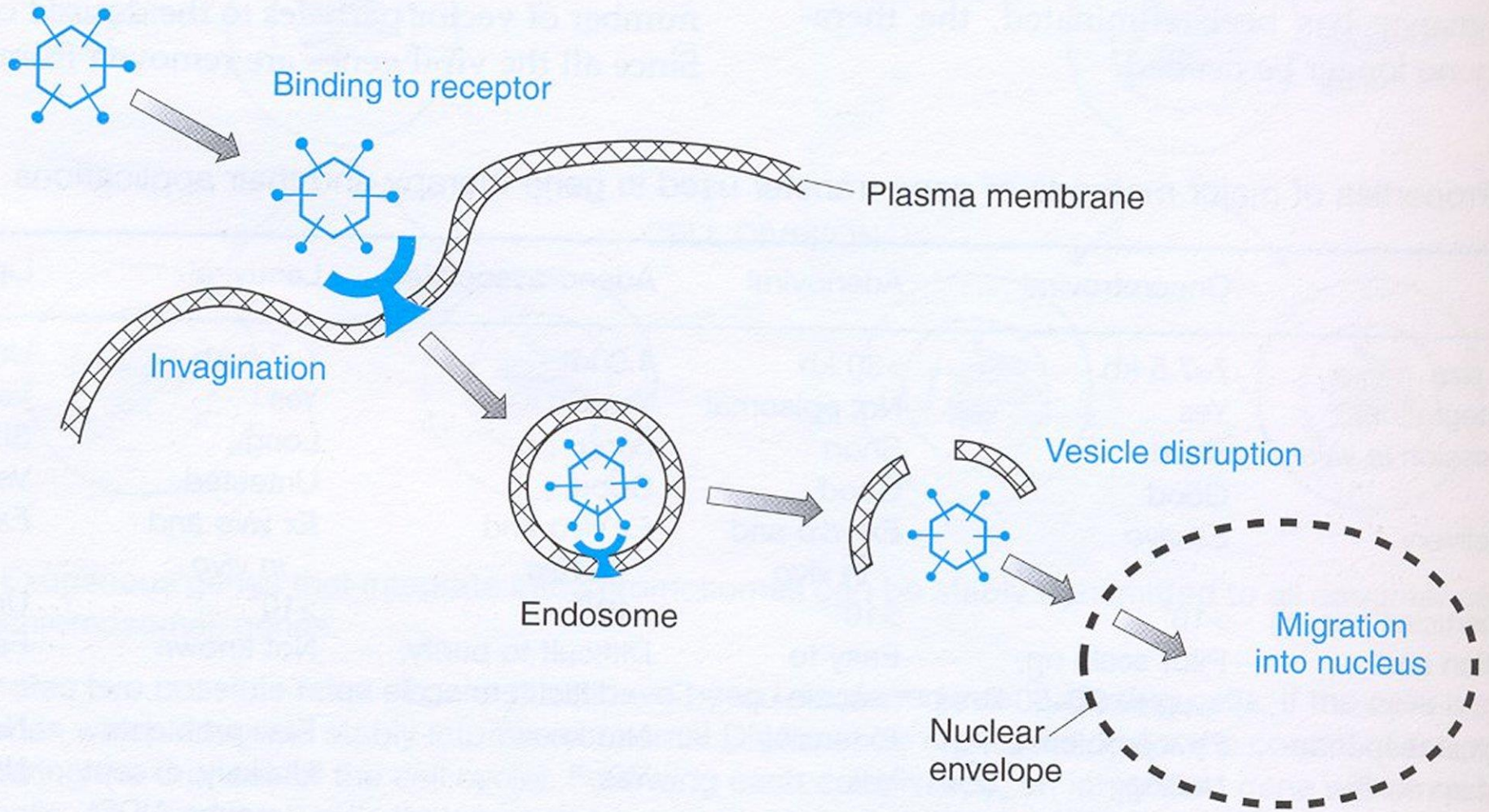
---

- cDNA s kompletní DNA kódující sekvencí je modifikována k zajištění vysoké hladiny exprese, např. pomocí silného virového vektoru. Následná inserce genu se děje
  - **A) do chromozomu**
    - gen se bude rozšiřovat do dalších buněk
    - zajištěna vysoká úroveň exprese (kmenové buňky)
    - náhodná inserce-různá lokalizace –různá úroveň exprese-smrt jednotlivé buňky-rakovina (aaktivace onkogenu, deaktivace supresorového nebo apoptotického genu-výhoda transferu ex vivo.
  - **B) extrachromozomálně** – nevýhoda nejistého dlouhodobého účinku





**Figure 22.3:** *In vivo* and *ex vivo* gene therapy.



Adenoviruses enter cells by receptor-mediated endocytosis.

# NEKLASICKÁ GENOVÁ TERAPIE

- Inhibice exprese genů asociovaných s patogenezou
- Korekce genetického defektu a obnovení normální genové exprese
- Současná genová terapie se omezuje na terapii **somatických** mutací.
- Etické problémy s potenciální terapií **zárodečných** mutací.

## GENOVÁ TERAPIE A JINÉ TERAPEUTICKÉ MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ PŘÍSTUPY

---

- Rekombinantní proteiny a „genetically engineered“ vakcíny
- Expresním klonováním produktů normálního genu (klonované geny jsou exprimovány v mikroorganismech nebo transgenních organismech), které slouží k tvorbě velkých množství medicínsky cenných produktů
- Produkci geneticky „engineering“ protilátek (geny pro protilátky jsou manipulovány k tvorbě nových částečně nebo plně humanizovaných protilátek) pro terapeutické použití
- Produkci „genetically engineered“ vakcín-především proti tumorům a infekčním agens.

# REKOMBINANTNÍ BÍLKOVINY JE MOŽNO PRODUKOVAT EXPRESNÍM KLONOVÁNÍM V MIKROORGANISMECH NEBO V TRANSGENNÍCH ZVÍŘATECH

## **V mikroorganismech:**

- Výhody: dostatečná množství produkovaných látek
- Nevýhody:
  - × pozměněné produkty v důsledku odlišných posttranslačních úprav bílkovin se stejnou primární strukturou (glykosylace)
  - × problémy s purifikací

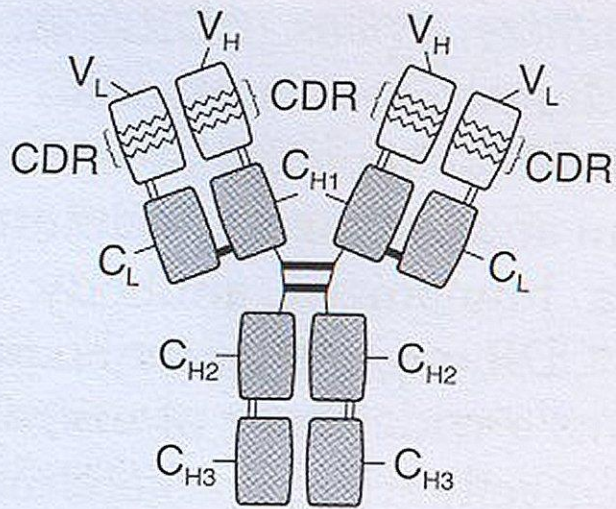
## **V transgenních zvířatech:**

- možnost navodit podobné posttranslační systémy jako u člověka

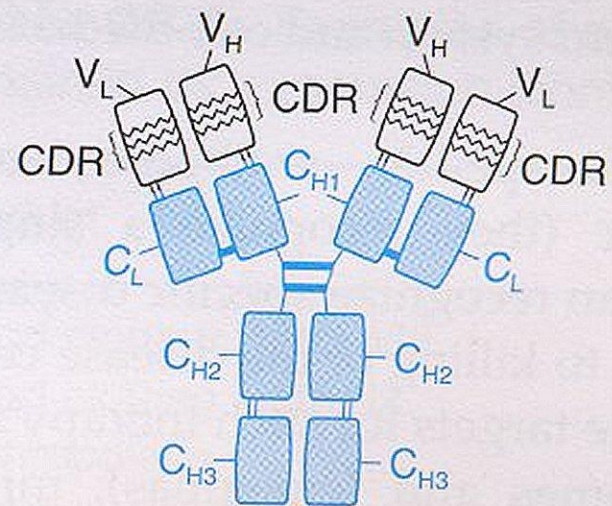
# CHIMERICKÉ A HUMANIZOVANÉ PROTILÁTKY

---

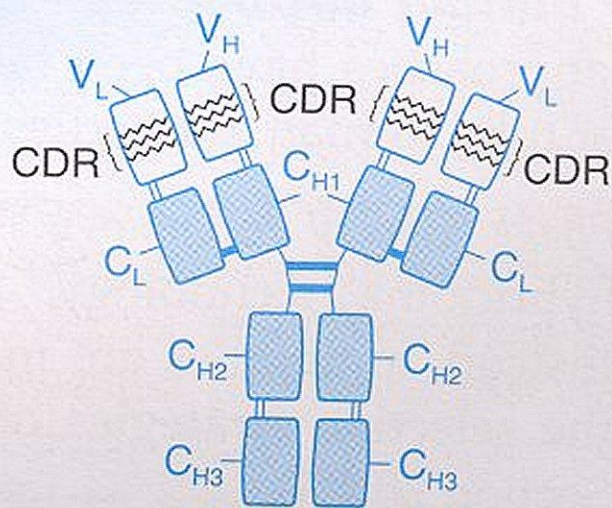
- Rekombinantní protilátky humánní-hlodavčí
- Humanizace hlodavčích mAb umožňuje získat velké množství protilátek a zároveň zabránit imunitní odpovědi lidského příjemce:
  - chimerické V/C protilátky)
  - CDR (complementarity determining regions) graft protilátky
  - Infekční patogeny a antigeny nádorových buněk



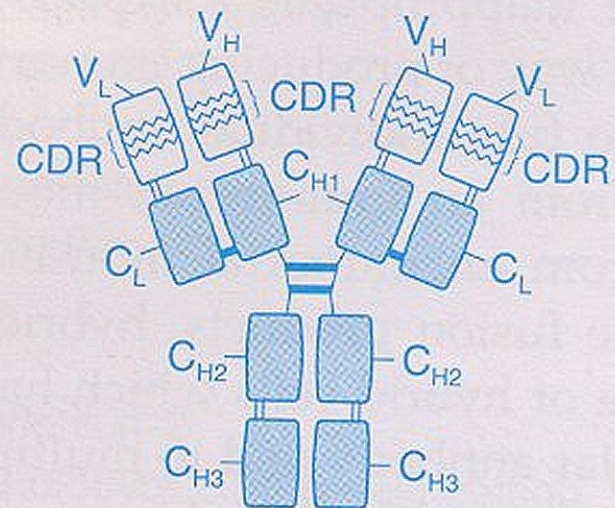
All-rodent antibody



Chimeric (V/C) antibody



Humanized antibody



Fully human antibody

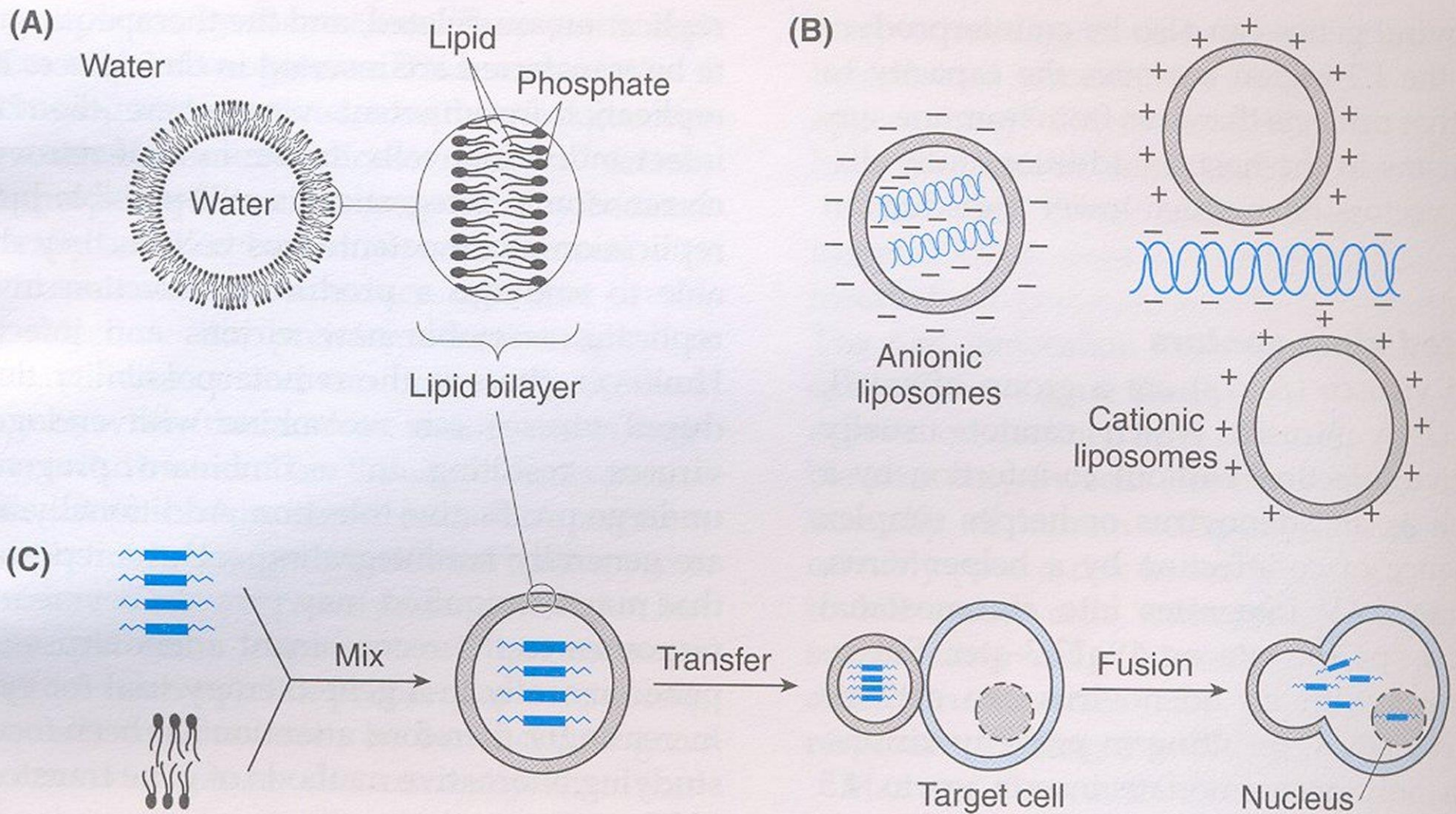
Genetically engineered antibodies.

# „GENETICKY ENGINNERED“ VAKCÍNY

---

- Genetická modifikace antigenu – např. fúze cytokinu s antigenem ke zvýšení antigenicity
- Genetická modifikace virů- virové vektory
- Genetické modifikace mikroorganismů, které způsobí:
  - odstranění genů nutných pro patogenezu
  - expresi exogenního genu v bakteriích nebo parazitech po jeho inzerci do těchto organismů





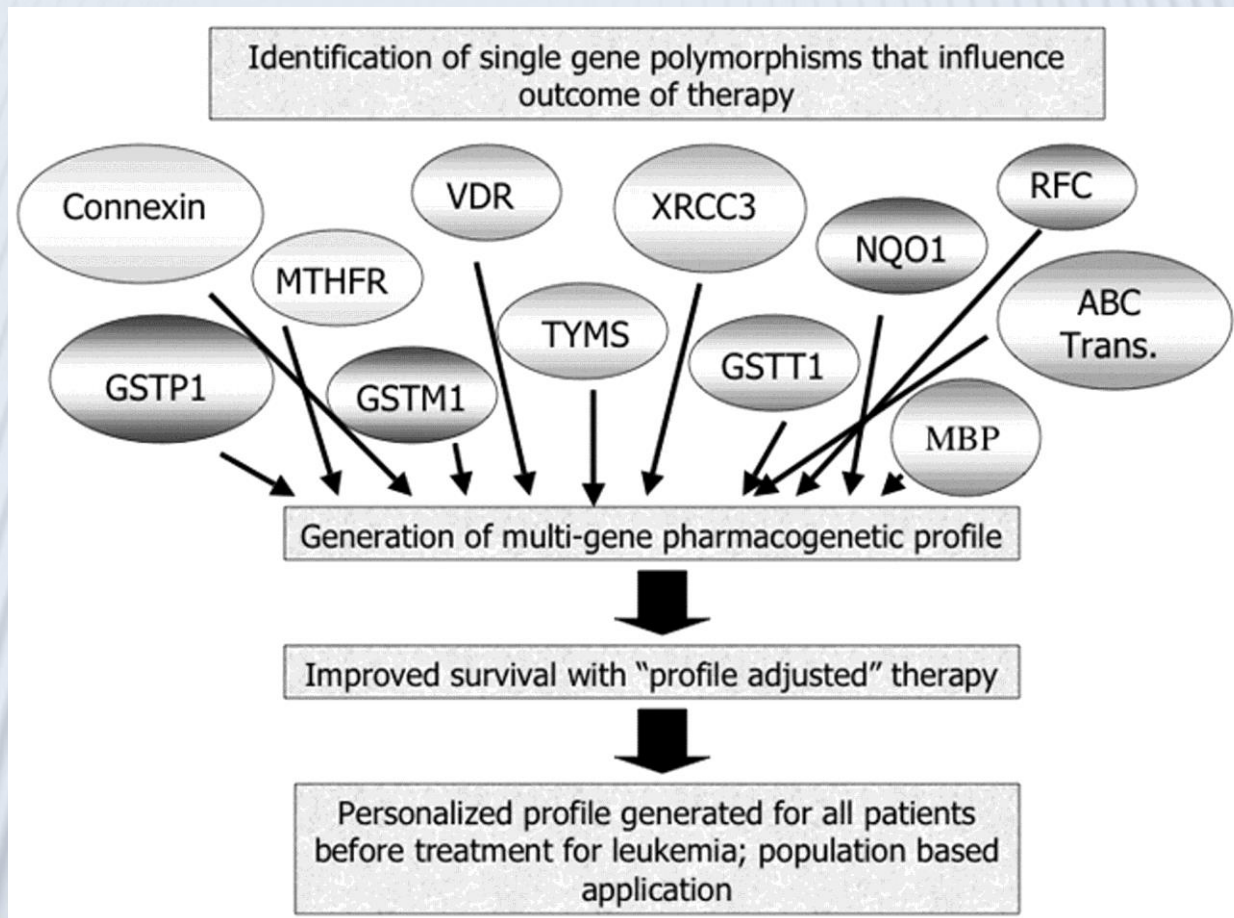
**6:** *In vivo* liposome gene delivery.

# PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA

---

- × Umožňuje zlepšovat účinnost terapie na základě vysokého respektu k interindividuální variabilitě pacienta
- × Zdroje:
- × Klinicky relevantní znalost genetického podkladu nemocí
- × Buněčná terapie
- × Genová terapie
- × Farmakogenetika
- × Farmakoeconomické aspekty

**Figure 1. The hoped-for pathway of development of personalized medicine for the treatment of leukemia**

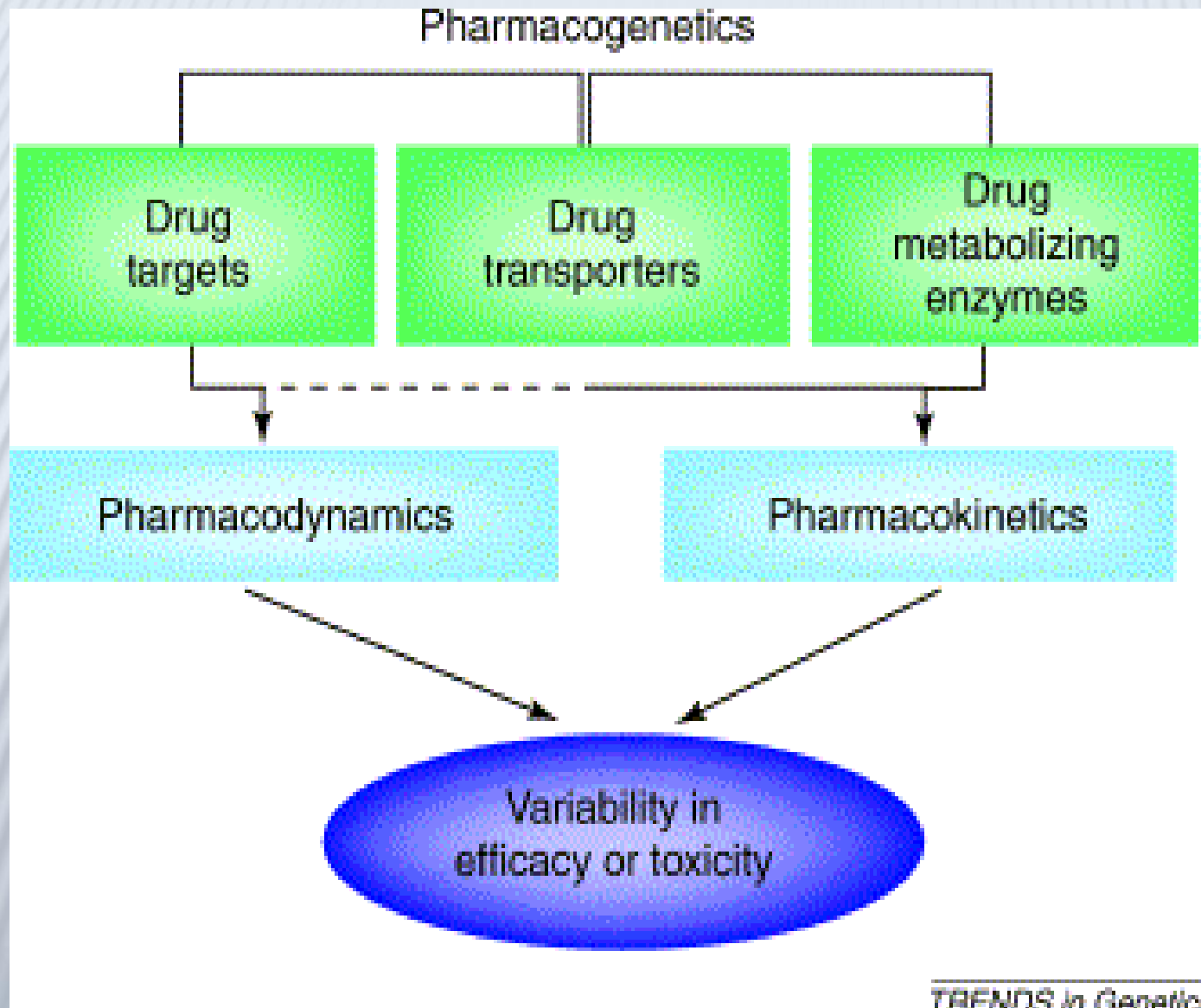


**Davies, S. M. Hematology 2006;2006:111-117**

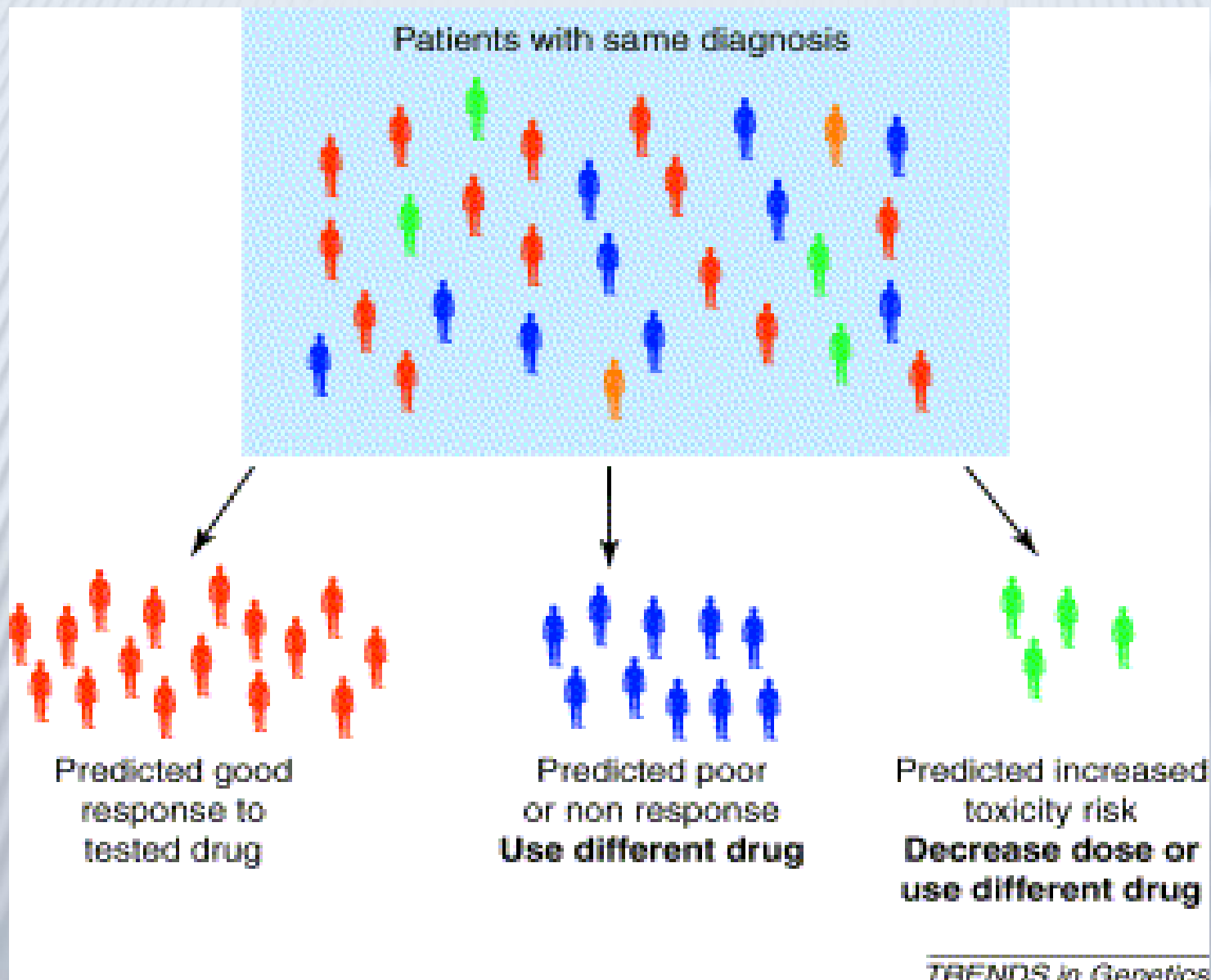
# FARMAKOGENETIKA - CÍLE

- × Popsat vliv dědičnosti na odpověď organismu na různé látky s využitím interdisciplinárního přístupu
- × **Farmakogenomika**
- × **Farmakodynamika:** popisuje žádoucí či nežádoucí účinky léků na organismus  
(lék → organismus)
- × **Farmakokinetika:** se zabývá hladinami léků a jeho metabolitů v různých tkáních a vstřebáváním léků, jejich distribucí, metabolismem a eliminací  
(organismus → lék)

# Klíčové složky farmakogenetiky



# Klinický potenciál farmakogenetiky



# FARMAKODYNAMIKA X FARMAKOGENOMIKA

---

- × Různá odpověď pacientů téže populační skupiny na tentýž lék
- × Různá odpověď pacientů na kombinace těchto léků
- × Geneticky determinovaná přecitlivělost na danou látku

# FARMAKOKINETIKA

---

- × **Absorpce** (GIT, motilita?, pH žaludeční sekrece?, intestinální flóra?, místo absorpce)
- × **Distribuce** (frakce léčiva vázaná na bílkoviny séra, afinita jednotlivých léčiv k BS – fenylbutazon-warfarin)
- × **Metabolismus** (indukce, inhibice metabolizujících enzymů... rifampicin-orální kontraceptiva)
- × **Eliminace** (pH moči, lithium-thiazidy)



# FARMAKOKINETIKA X FARMAKOGENOMIKA

- × Rozdílné hladiny léku v séru pacientů téže skupiny, váhy, atd. po podání stejné dávky
- × Rychlejší x pomalejší nástup účinku
- × Různá doba eliminace léčiva z organismu
- × Interakce (alkohol, tabák, barbituráty)

# FARMAKOGENETIKA A VÝVOJ LÉKŮ

- × Nutnost přesné diagnózy (k fenotypicky podobným stavům mohou vést různé patobiochemické mechanismy).
- × Individuální odpověď jedince na terapii může záležet na genech, vstupujících do interakce s metabolismem léku nebo jeho působením.
- × Polovina všech dosud používaných léků je metabolizována enzymy P450.

# P450

---

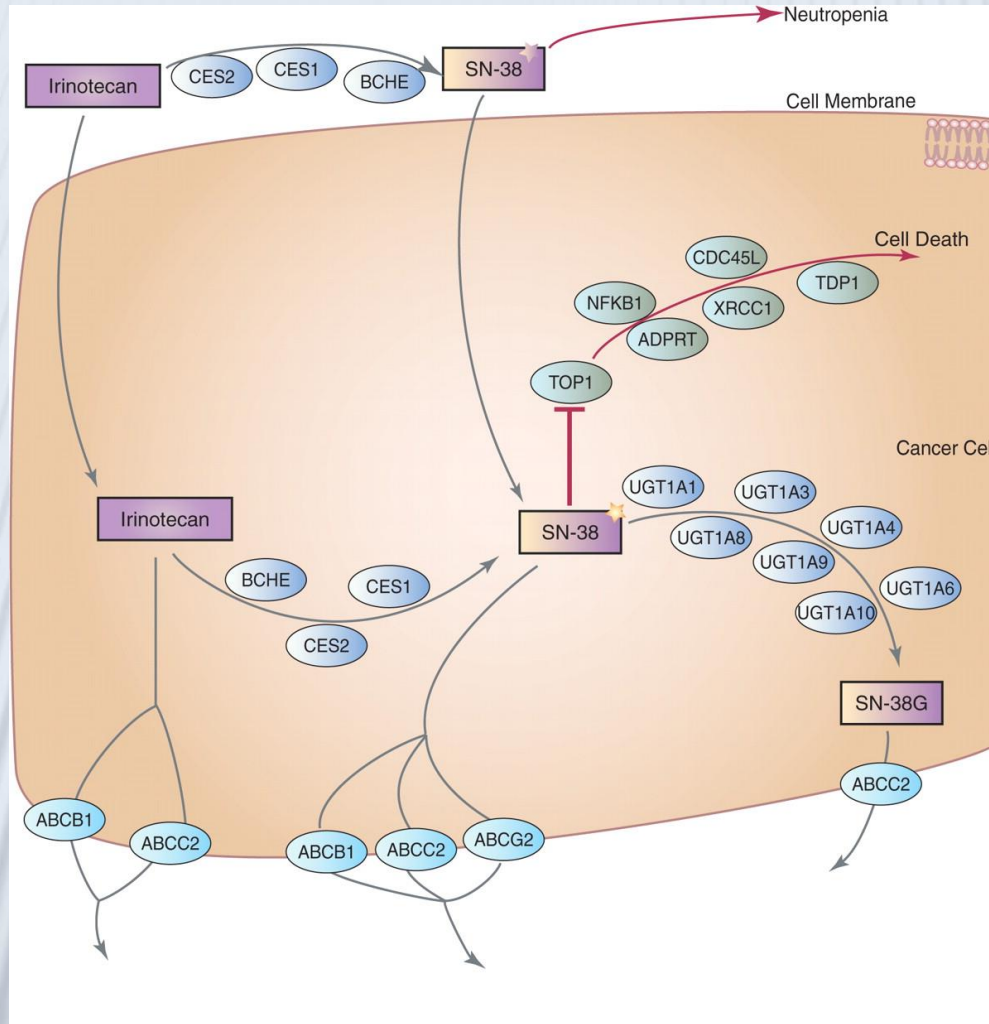
- × CYP3A4 – 50% metabolizovaných léků
- × CYP2D6 – 20%
- × CYP2D9 + CYP2D19- 15 %
- × CYP2D6, CYP2D9, CYP2D19 a CYP2A6 byly prokázány jako funkčně polymorfní

# CYP

---

- × Specificky geograficky vázané CYP geny
- × Defektní alely CYP2C9, CYP2C19 a CYP2D6 se objevují všude; někde mají extrémně vysoké frekvence.
- × CYP2C9 se sníženou metabolickou aktivitou je obvyklý v Evropě, CYP2C19 ve východní Asii,
- × Zvýšená metabolická aktivita CYP2D6 v centrální Africe a v některých oblastech východní Asie.
- × Frekvence CYP3A5\*3 (nejčastější defektní alela) je 20 % v Africe, v Evropě je nejčastější, téměř fixní v některých oblastech.

# PharmGKB Irinotecan Pathway



PharmGKB Copyright 2004

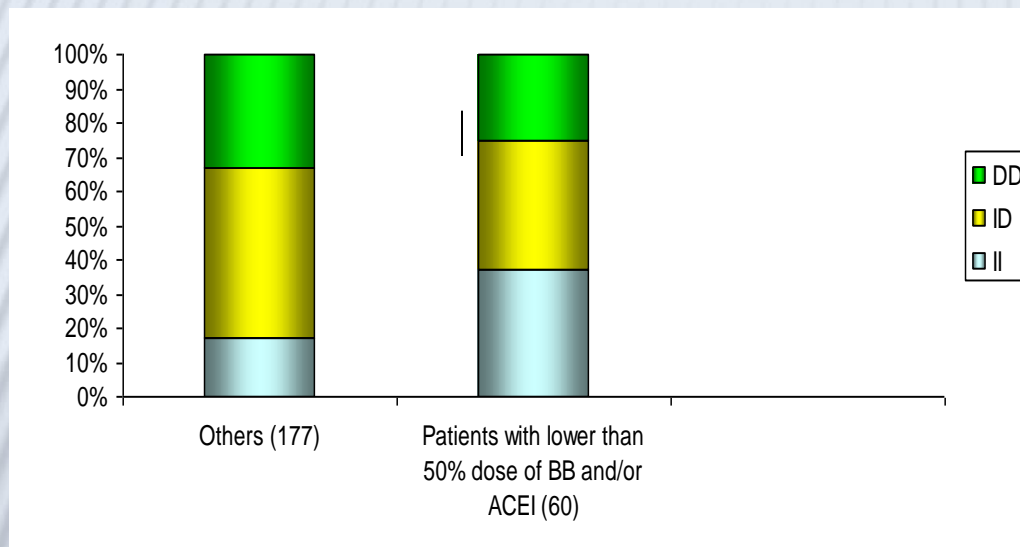
Hernandez-Boussard, T. et al. Nucl. Acids Res. 2007 0:gkm1009v1-1009;  
doi:10.1093/nar/gkm1009

Nucleic Acids Research

## TO THE PREVIOUS PICTURE:

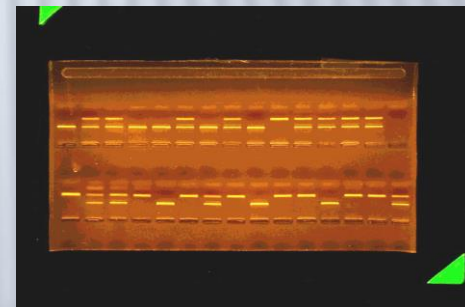
- × Irinotekan pathway. Model of human liver with blood, bile and intestine compartments.
- × Drug-purple frames
- × Genes-transporters-turquoise ovals
- × Metabolic enzymes-blue ovals
- × Interactive pathway
- × (see [www.pharmgkb.org/search/pathway/irinotecan/liver/jsp](http://www.pharmgkb.org/search/pathway/irinotecan/liver/jsp)).

# CHRONICKÉ SRDEČNÍ SELHÁNÍ FARMAKOGENETICKÉ ROZDÍLY V DÁVKOVÁNÍ BETA BLOKÁTORŮ A ACEI- I/D ACE

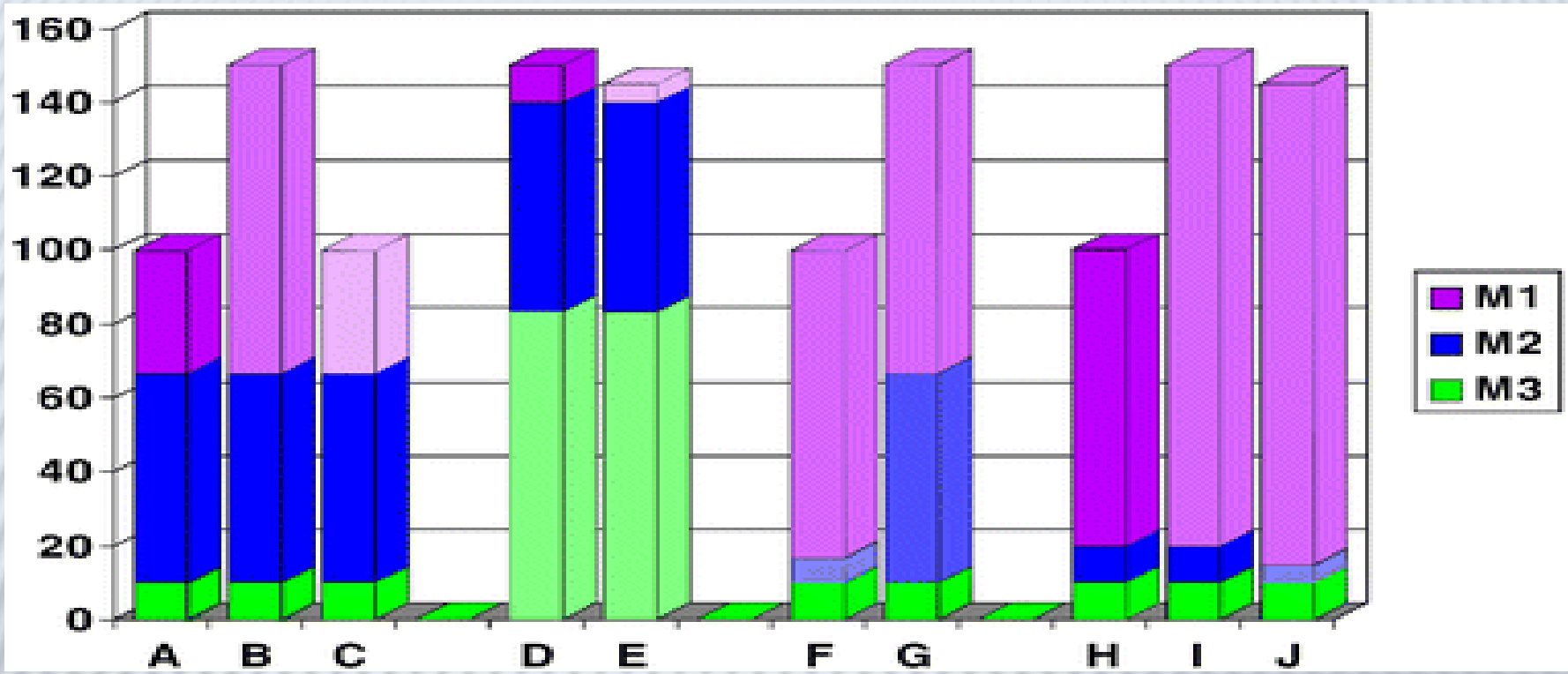


**OR pro genotyp II u pacientů s nižší než 50% dávkou proti doporučené je (BB+ACEI) je 2,84, P=0,002**

**P<sub>g</sub>=0,006, P<sub>a</sub>=0,009**



# MODEL TERAPIE HYPERTENZE (PODLE LINDPAINTERA, BŘEZEN 2003)



**A**=fyziologický stav: tři molekulární mechanismy (M1, M2, M3) se podílejí na determinaci znaku (TK), **B**=hypertenze D1: selhání M1 (příčina/účast)  
**C**=hypertenze D1: kauzální terapie T1 (cílená na M1), **D**= hypertenze D3: selhání M3 (příčina účast), **E**=hypertenze D3, léčení T1: terapie není kauzální, **F**=hypertenze D1, paliativní terapie T2, cílená na M2, **G**=hypertenze D1, terapie T2, refrakterní varianta na T2 v M2, **H**= fyziologický stav: odlišný podíl M1 a M2 na normálním znaku, **I** = varianta hypertenze D1: selhání M1; **J** =varianta hypertenze D1: terapie T2



# DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST

