

Možnosti využití metod molekulární biologie a genetiky v medicíně



Molekulární terapie

Aplikace technik molekulární biologie a genetiky v terapii

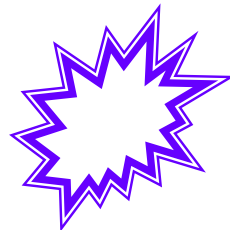


Molekulární medicína

Genová terapie

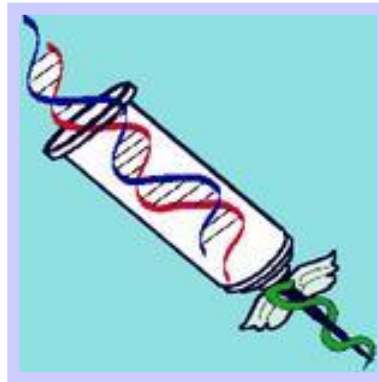
**Molekulárně cílená terapie
(bioterapie)**

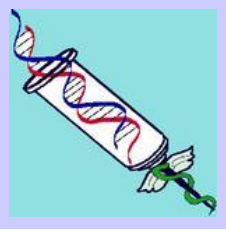
Perzonalizovaná medicína



Genová terapie

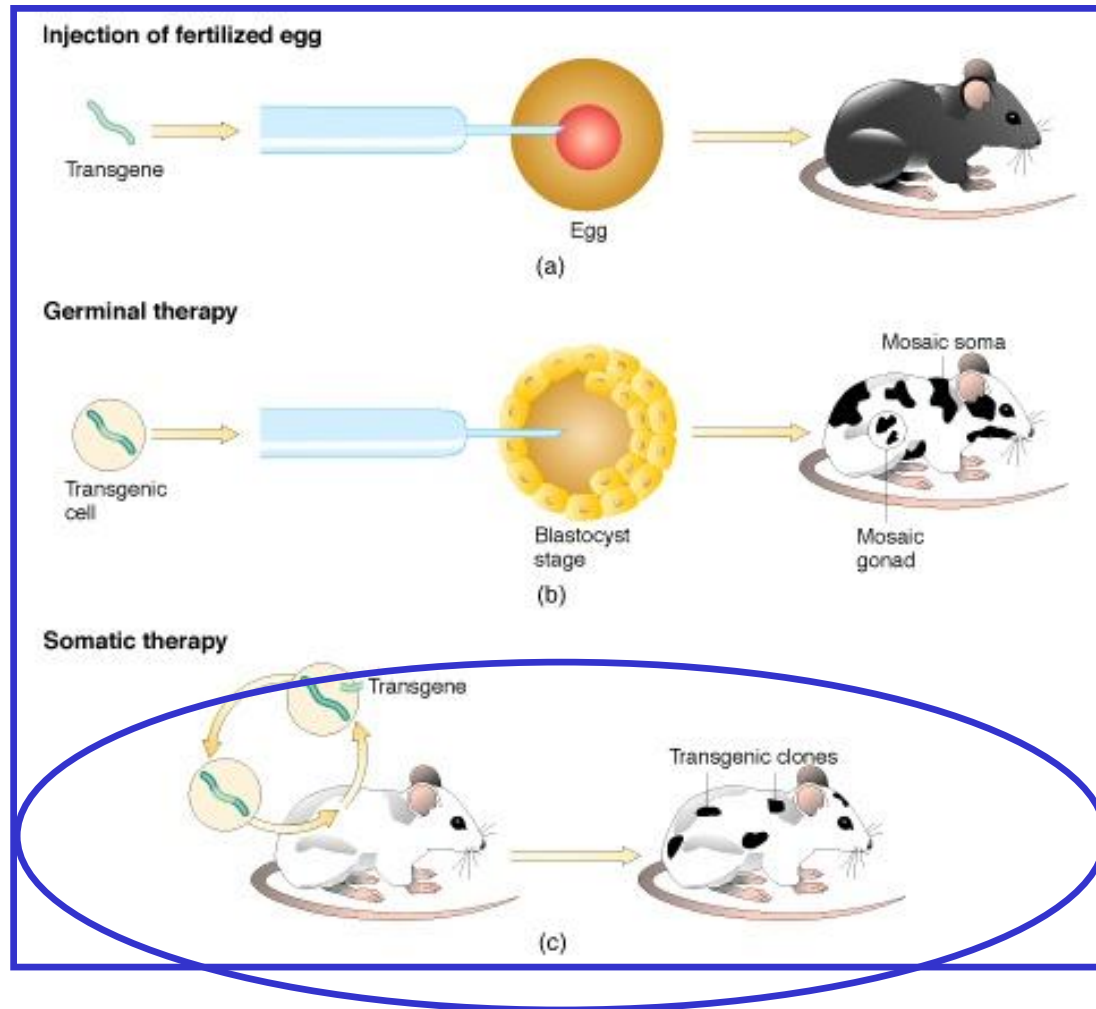
Transfer nového genetického materiálu do buněk jedince za účelem dosažení léčebného efektu





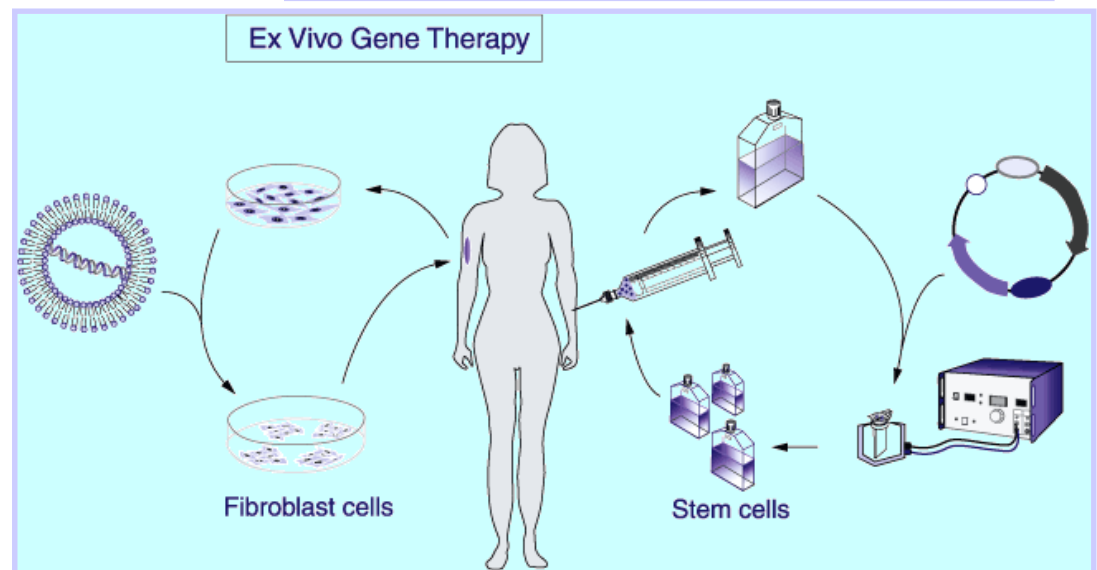
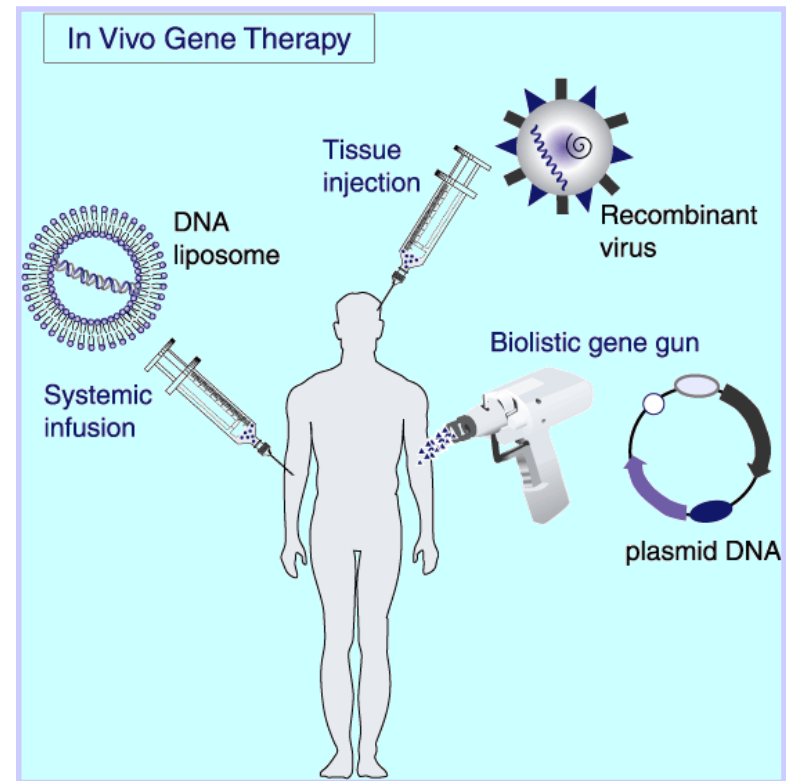
Rozdělení GT

- Terapie somatických buněk
- Terapie buněk zárodečného epitelu nebo buněk embryonálních

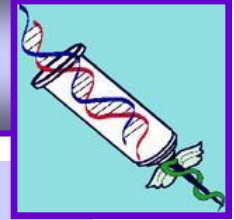


Rozdělení GT

- In vivo
- In vitro (Ex vivo)



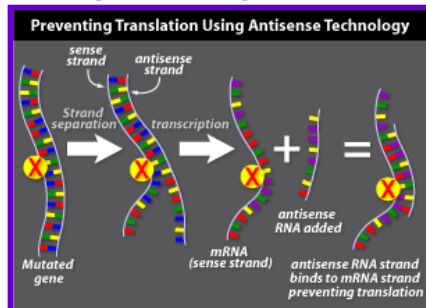
Základní strategie GT



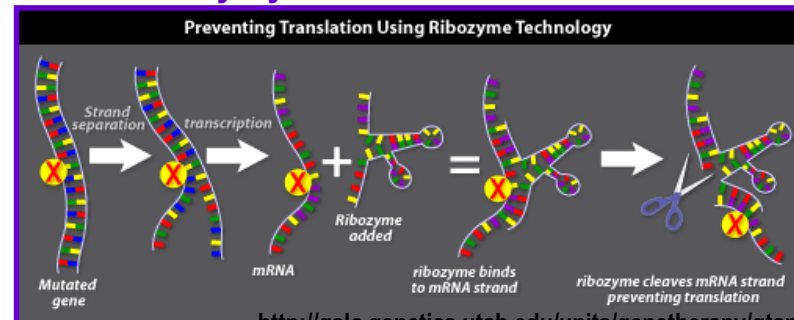
- **Výměna nefunkčního genu za správný**
- Gene augmentation (posílení) – vpravení kopie zdravého genu bez odstranění původního
- Nukleázy - Zinc Fingers (ZFN)
 - TALENs
 - CRISPR/Cas9
- Ribozymy
- siRNA – interferující RNA
- Řízená sebevražda bb (VDEPT – viral directed enzyme production therapy)
- Genetická chirurgie
- Antisense DNA, RNA (protismyslné oligonukleotidy)

Terapeutický gen-vektor - cílová buňka

Protismyslné oligonukleotidy



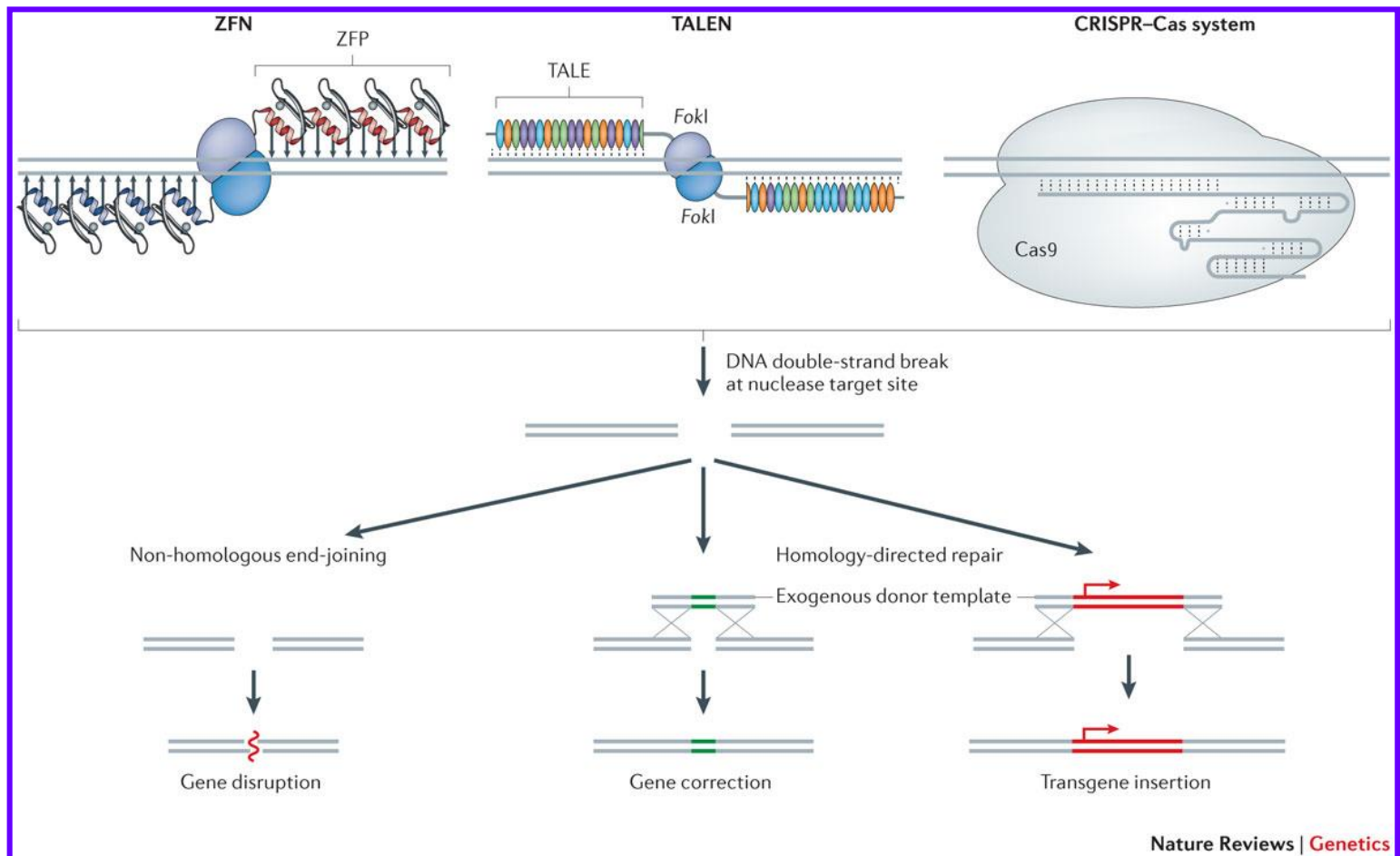
Ribozymy



Nástroje pro editaci genů

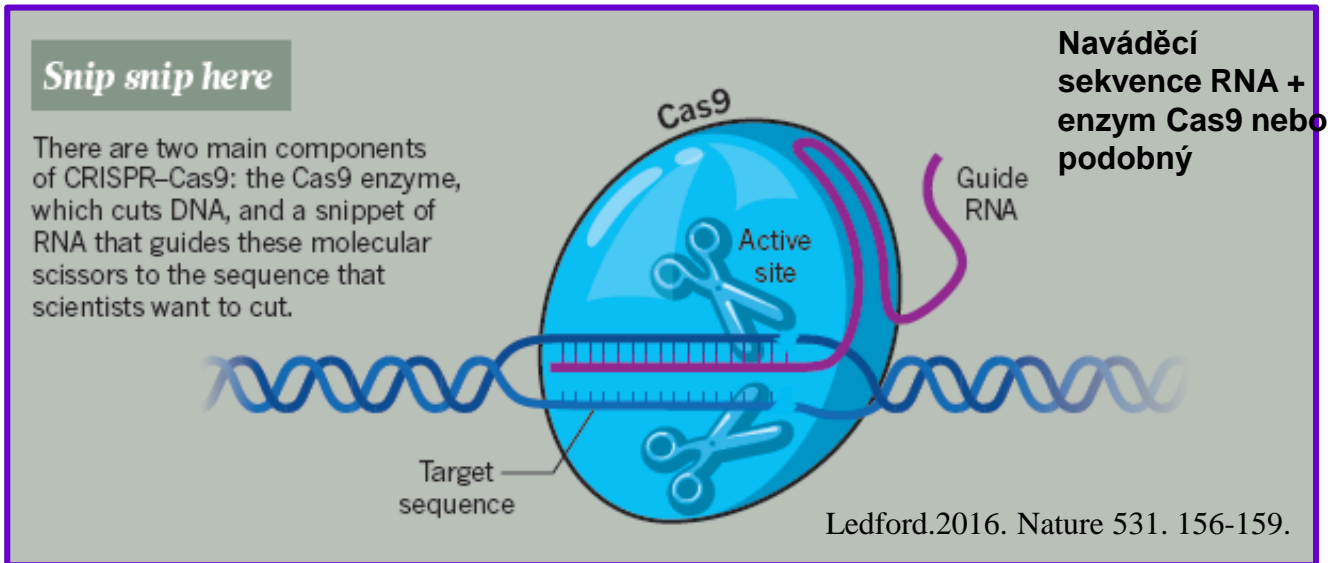
- Zinc Fingers (ZFN)
- TALENs
- CRISPR/Cas9

Vytváří dvouřetězcové zlomy DNA a jejich oprava není přesná – mutovaný, nefunkční gen



CRISPR - Cas9 systém

(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)



Systém umožňující adaptivní imunitu u bakterií. Umožňuje zapamatování si virové DNA a po jeho opětovném ataku CRISPR RNA naváděcí sekvence tuto DNA rozpozná a navede na ni enzym Cas9, který ji štěpí. Opravy takto naštěpené DNA vedou k mutacím.

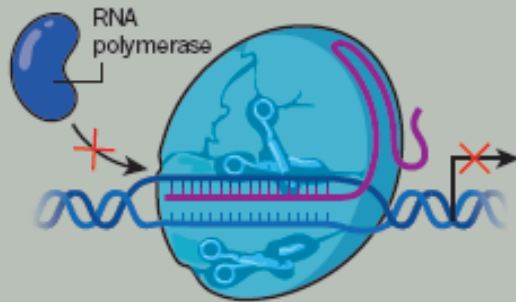
Podobně se dá vytvořit naváděcí sekvence k určitému genu a systém použít k jeho inaktivaci, nebo naopak aktivaci, nebo vložení určité sekvence.....

CRISPR - Cas9 systém

(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)

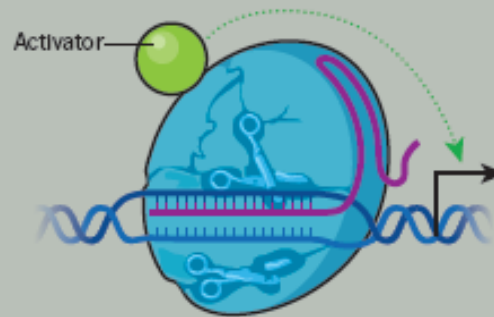
CRISPR inhibition

A broken, or 'dead', Cas9 enzyme will block the binding of other proteins, such as RNA polymerase, needed to express a gene.



CRISPR activation

An activating protein can be attached to a dead Cas9 protein to stimulate expression of a specific gene.



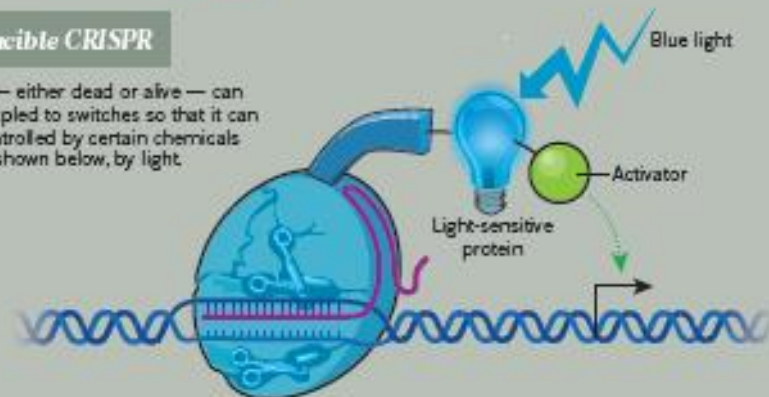
Inhibice – Cas9 je nefunkční, ale brání vazbě RNA polymerázy

Aktivace – na nefunkční Cas9 je navázán protein stimulující expresi daného genu

Inducibilní – aktivita Cas9 může být regulována jiným proteinem nebo chemikálií (světlo, doxyciklin)

Inducible CRISPR

Cas9 — either dead or alive — can be coupled to switches so that it can be controlled by certain chemicals or, as shown below, by light.



Kandidáti genové terapie

- Klasické genetické choroby

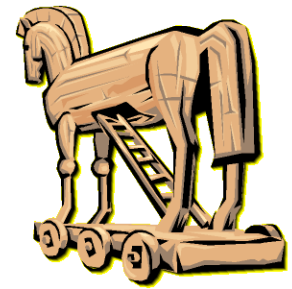
- Vrozené vady metabolismu
- Fenyketonurie
- Hemofilie A,B
- Poruchy srážlivosti
- Poruchy imunity – ADA deficiencie
- Cystická fibroza...

- Komplexní genetické choroby

- Rakovina
- Kardiovaskulární choroby
- Neurodegenerativní choroby
- Diabetes....

- Získané genetické vady – virové nemoci (EBV, HBV, HIV)

Genové transportní systémy



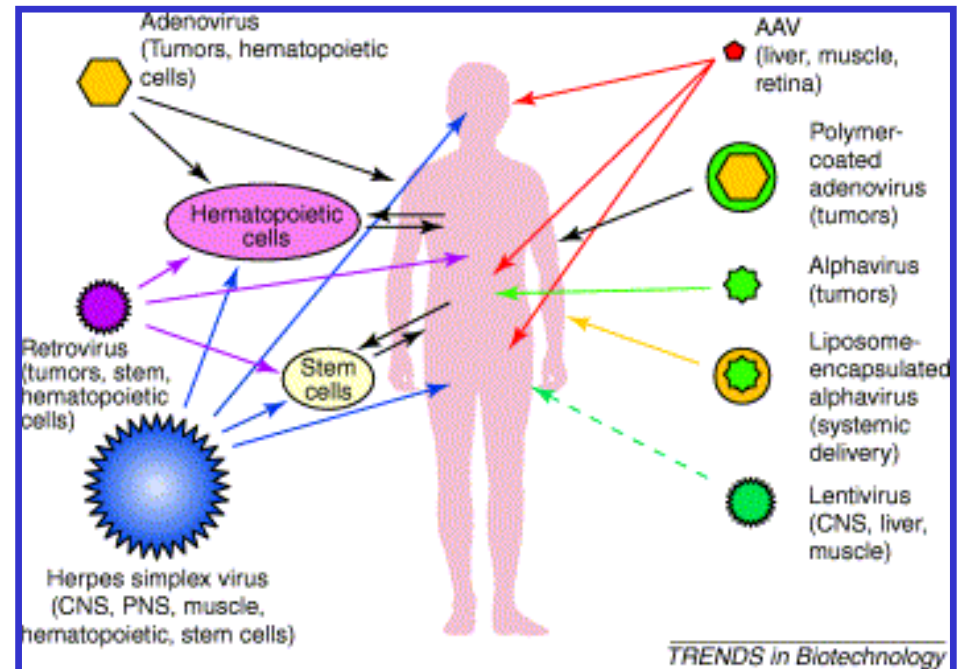
- **Nevirové**

- **Mechanické** – mikroinjekce, particle bombardment - biobalistika, elektroporace, ultrazvuk
- Liposomy (13%) - lipofekce
- Receptorem umožněný transport (liganda)- **Transferin**
- Polykationty

- **Virové – retroviry**

- Adenoviry
- AAV
- Lentiviry
- Vaccinia virus
- Herpes viry (HSV, EBV)
- Papovaviry (SV 40)

Transgen – vnášený gen



Porovnání vektorů

Vektor	Výhody	Nevýhody
Retroviry	Stabilní exprese, relativně bezpečný po odstranění vlastních genů	Vyžaduje dělicí se bb, náhodná integrace, nízký titr
Adenoviry	Všechny typy bb Vysoký titr	Toxicita (virové geny), imunitní odpověď
AAV	Bezpečný (odstranění virových genů), všechny bb, stabilní exprese	Menší inzert pracné
Liposomy	Absence viru Větší DNA	Nestálé, nedostatečný transport do jádra

Genom retroviru

Může obsahovat i onkogen

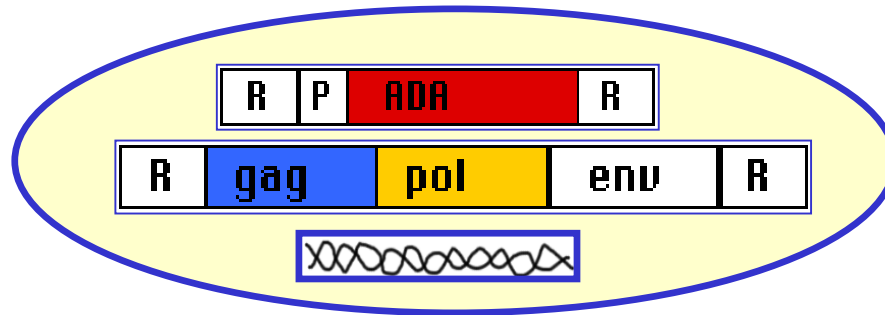


Geny pro kapsidu, polymerázu, obal

Signál pro obalení viru
„psi“

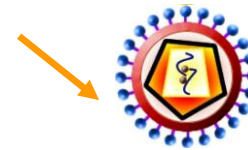
Repetitivní sekvence – obsahují silné promotory a enhancery,
umožňují inzerci

Retrovirový vektor



Packaging cell –
„balící buňka“

„krotký“ (terapeutický) virus – obsahuje požadovaný gen, je schopen tvořit virové částice, není schopen replikace



PACIENT

„pomocný“ virus- není schopen tvořit virové částice, ale obsahuje geny důležité pro vytvoření virové částice a tím pomáhá v replikaci „krotkého viru“





• **Dr. W. French Anderson - National Heart, Lung and Blood Institute**

• **Září 1990 1. klinický experiment (SCID, deficiencie ADA) – 4 letá holčička **Ashanti DeSilva** (NIH), T-lymfocyty, transformovány retrovirovým vektorem – terapie ex-vivo**



X-SCID (Severe Combined Immunodeficiency Syndrom)- „Bublinové děti“



- Nefunkčnost –T i B lymfocytů (chybění γ -c-řetězce a ztráta cytokinového receptoru)
- Infekce
- Klasická léčba - transplantace HLA-identické kostní dřeně
- Po genové terapii (T-lymfocytů) 9 z 11 dětí zlepšení

- Jsou schopny žít doma, ne pouze ve sterilním stanu
- Mají normální počet T lymfocytů CD4 i CD8
- Odpovídají normálně na vakcinaci (diphtheria, tetanus, polio – produkce T lymfocytů a protilátek).
- Produkce pl, je normální nepotřebují infuze imunoglobulinu

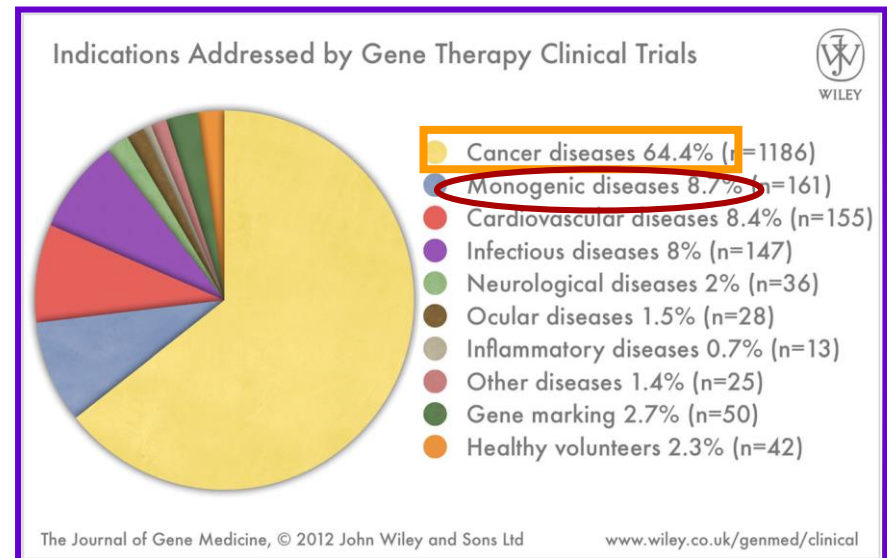
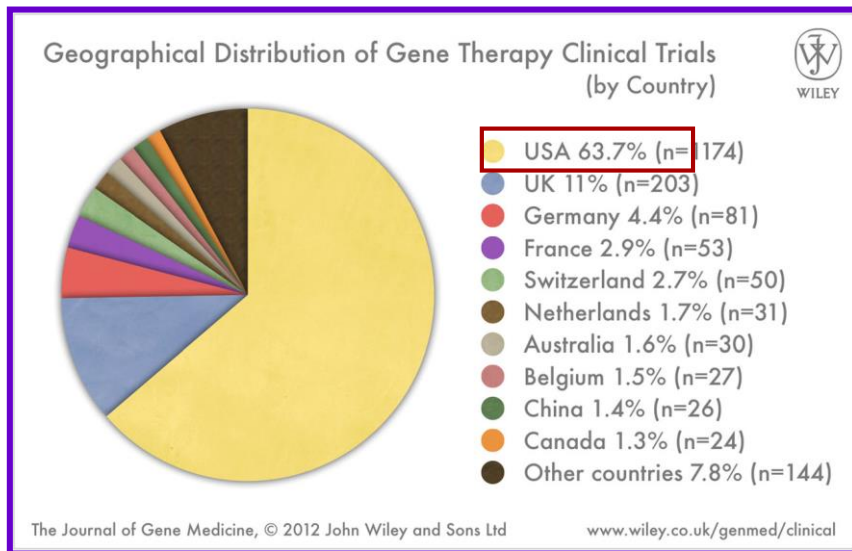


R. Michael Blaese, MD with Ashanthi DeSilva (left) and Cindy Kisik at the IDF 2013 National Conference, June 29.

<https://primaryimmune.org/first-gene-therapy-patients-attend-conference/>

Genová terapie v praxi - země, nemoci

• Do r. 2012 - **1843** klinických protokolů genové terapie v 31 zemích



Genová terapie v praxi

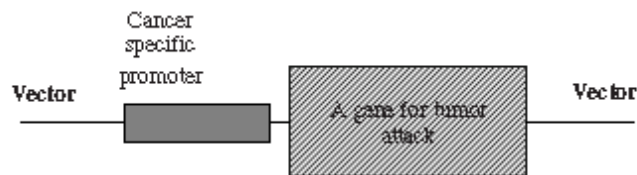
- Léčiva na bázi genové terapie
- 2004 – Čína - **Gendicine C** – adenivirus p53 – skvamózní Ca hlavy a krku
- 2012 -Evropa- **Glybera** (alipogene triparvovec) - familiární deficience lipoprotein lipázy AAV
- 2017 – **Luxturna** – dědičná slepota, mustace v RPE65 genu <https://luxturna.com/>

Table 1. Overview of clinical trials mentioned in the text

	Target cell/injection	Disease	Transgene	Vector	Refs.
In vivo	T-lymphocytes	ADA-SCID	ADA	Gammaretroviral	Blaese et al (1995)
	HSC	ADA-SCID	ADA	Gammaretroviral	Aiuti et al (2002)
		SCID-X1	<i>IL2Rγc</i>	Lentiviral	Cavazzana-Calvo et al (2000)
		WAS	WASP	(\pm SIN design)	Boztug et al (2010) and Aiuti et al (2013)
		X-CGD	<i>gp91^{phox}</i>		Ott et al (2006)
	HSC	β -Thalassaemia	<i>β-Globin</i>	SIN-lentiviral	Cavazzana-Calvo et al (2010)
	HSC	X-ALD	ABCD1	SIN-lentiviral	Cartier et al (2009)
	HSC	MLD	ARSA	SIN-lentiviral	Biffi et al (2013)
	HSC	HIV	ZFNs targeting <i>CCR5</i> (knock out)	Adenoviral	Burnett et al (2012) and Lee et al (2013)
	Hepatocytes	Familial hypercholesterolemia	LDL receptor	Gammaretroviral	Grossman et al (1994)
	T-lymphocytes	B-cell malignancies	Anti-CD19 CAR	SIN lentiviral	Kalos et al (2011), Kochenderfer et al (2010) and Porter et al (2011)
				SB-transposon	Swierczek et al (2012)
	Keratinocytes	Epidermolysis bullosa	<i>laminin 5 β3</i>	Gammaretroviral	Mavilio et al (2006)
In vivo	Intratumoural	Head and neck squamous cell carcinoma	<i>p53</i>	Adenovirus (Gendicine)	Wilson (2005) and Shi & Zheng (2009)
	Intramuscular	LPLD	LPL	AAV1 (Glybera)	Bryant et al (2013) and Kastelein et al (2013)
	Systemic/portal vein	OTCD	OTC	Adenovirus	Raper et al (2002, 2003)
	Subretinal	LCA	RPE65	AAV2	Bainbridge et al, 2008; Hauswirth et al, 2008; Maguire et al, 2008
	Intracerebral (subthal. nucl.)	Parkinson's disease	GAD	AAV2	Kaplitt et al (2007) and LeWitt et al (2011)
	Intracerebral	Canavan disease	ASPA	AAV2	Leone et al (2012)
	Intramuscular, systemic/portal vein	Haemophilia B	FIX	AAV2	Kay et al (2000)
				AAV2, AAV8	Manno et al (2006) Nathwani et al (2011)
	Coronary artery infusion	Heart failure	<i>SERCA2a</i>	AAV1	Jessup et al (2011)

Genová terapie vs. genetická chirurgie

- **Genová terapie** - geny mají za úkol zasáhnout nebo opravit určitou molekulu zásadní pro existenci nádorové buňky



Strategie genové terapie

Strategie genetické chirurgie

- **Genetická chirurgie** - cílem je destrukce nádoru jako takového - využívá vlastnosti společné pro všechny nádory
- Onkolytické viry - sebevražedná GT
- Anti-angiogenní terapie
- Viroterapie - onkolytické viry (reoviry)
- Onkolytické vektory - roznáší protinádorové geny
- RNA interference

Řízená sebevražda buňky - VDEPT

viral directed enzyme production therapy

Vpraven specifickým vektorem za
specifickým promotorem do nádorové
bb

1. Gen HSV-TK

HSV-TK

2. Gancyklovir
„prodrug“

3. GCV triphosphate
Toxický – terminace
syntézy DNA,
DNA fragmentace

4. Smrt buňky

Gancyklovir – analog nukleosidů - je HSV -TK, fosforylován na monofosfát, který je dále dotvořen buněčnými kinázami na trifosfát -vysoce toxický, protože blokuje syntézu DNA.

Rizika a problémy GT

- Onkoviry jako vektory
- Geneticky manipulované bb



- ✓ Přenos virových genů i onkogenů, virem indukovaná mutageneze
- ✓ Imunitní odpověď vůči proteinům virových vektorů
- ✓ Problémy s udržením hladiny genové exprese

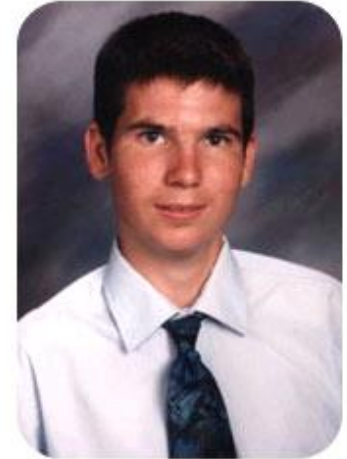
Rizika a neúspěchy GT



září 1999: USA– zemřel mladík s částečným vrozeným deficitem OTC (ornithine transcarbamylase) – aplikována velká dávka **adenovirových částic s OTC genem** -zhoršení druhý den po aplikaci- další den upadl do komatu- syndrom akutní respirační tísně - dva dny později smrt na multiorgánové selhání způsobené anoxií.

Syndrom systémové zánětlivé reakce (SIRS) ačkoli byl virus aplikován do jedné z jaterních cév a měl zůstat v jaterní tkáni, byl nalezen i v ostatních orgánech.

\$ 517000 finanční vyrovnání rodině pacienta, restrikce lékařům, kteří výkon provedli – snížení investic do GT



Jesse Gelsinger's death from a gene therapy clinical trial in 1999 raised many questions concerning the safety of experimental gene therapy treatments.

Francie 2002 – terapie kmenových bb kostní dřeně -

Říjen – prosinec 2002!!!

děti s X-SCID léčené genovou terapií leukémií T-buněk– leukémie - LMO2 gen

V 5 případech z 20 – leukémie

LMO2 = LIM domain transcription regulator angiogeneze

Molekulárně cílená terapie

• Cytotoxické látky používané v terapii rakoviny za účelem postihnout molekulární dráhy zodpovědné za kancerogenezi a udržení nádorového fenotypu.

• Terapie, která **cíleně ovlivňuje pouze rakovinné buňky s minimálním účinkem na buňky normální**

• Mírnější nežádoucí účinky než klasická chemoterapie.

- Inhibitory tyrosin kináz
- Anti-angiogenní a antimetastatické látky
- Inhibitory signální transdukce
- Inhibitory růstových faktorů a jejich receptorů (VEGF a VEGFR; EGFR)
- mTOR inhibitory
- Inhibitory proteasomu
- Inhibitory CDK
- Inhibitory Bcl-2

Protilátky



Molekulárně cílená terapie- Biologická terapie

Biologická terapie (imunoterapie, bioterapie)

Protinádorové vakcíny - stimulují nebo restauroují schopnost imunitního systému postihnout nádor.

2 typy:

1) Preventivní (profylaktické) vakcíny - prevence rakoviny u zdravých.

2006 - the U.S. Food and Drug Administration (FDA)

vakcína **Gardasil® (Silgard)**- chrání proti infekci HPV (human papiloma virus)

— způsobuje asi 70 % Ca čípku děložního

Cervarix® - Evropa

2) Léčebné (terapeutické) vakcíny - léčí rakovinu posílením imunitní reakce.

Oslabené nebo usmrcené nádorové buňky nesoucí nádorový antigen.

Vlastní pacientovy buňky - **autologní vakcína**

Buňky jiných pacientů - **allogenní vakcína**

- Terapie melanomu.

Protilátky v léčbě nádorů

Imunokonjugáty (imunotoxiny)

Protilátky (monoklonální) konjugovány s cytotoxickou látkou, radioisotopem nebo toxin aktivujícím enzymem za účelem jejich dopravení do nádorové buňky.

„Nosiče“ - dopravují cytotoxickou molekulu do nádorových buněk, aniž by poškodily bb normální.

Table 2. Recently carried out clinical trials using engineered antibodies and immunotoxins

Antibody/immunotoxin	Cancer type	Trial phase	Ref
Trastuzumab	Breast	3	
Bevacizumab	Colorectal	3	
Rituximab	Non-Hodgkin lymphoma	3	
Cetuximab	Colorectal	3	
Lintuzumab	Acute myeloid leukaemia	3	
Anti-mesothelin immunotoxin	Ovarian, pancreatic	1	
Anti-CD22Fv	B cell	1	
IL-2R targeted Diphtheria toxin	T-Cell lymphoma	3	
Ricin A chain	Hodgkin's lymphoma	1/2	
Panitumumab	Colorectal	3	
Edrecolomab	Colon	3	

Protilátky v léčbě nádorů

- **Monoklonální pl po vazbě na nádorovou bb mohou:**
- **Zviditelnit nádorovou buňku pro imunitní systém.** **Rituxan** váže se na CD20 antigen na povrchu B lymfocytů - označuje je pro reakci imunitního systému - léčba leukémií
- **Blokovat receptory růstových signálů.** **Cetuximab (Erbix)** - Ca střev, krku a hlavy, váže se na receptory epidermálního růstového faktoru.
- **Dopravení radiace do nádorových bb** - vazba radioaktivní částice na monoklonální protilátku - **Ibritumomab (Zevalin)** - non-Hodgkinův lymfom
- **Dopravení chemoterapeutik do nádorových bb** - **Gemtuzumab** váže se na specifické receptory leukemických buněk.

Kmenové buňky jako mediátory genů v genové terapii

Použití pro obnovu funkce tkání

- nosiče, které dopravují komplexní signály do cílových tkání

iPSC Nobelova
cena 2012 -
Shinya Yamanaka
Transkripční
faktory
Oct4, Sox2,
cMyc, Klf4

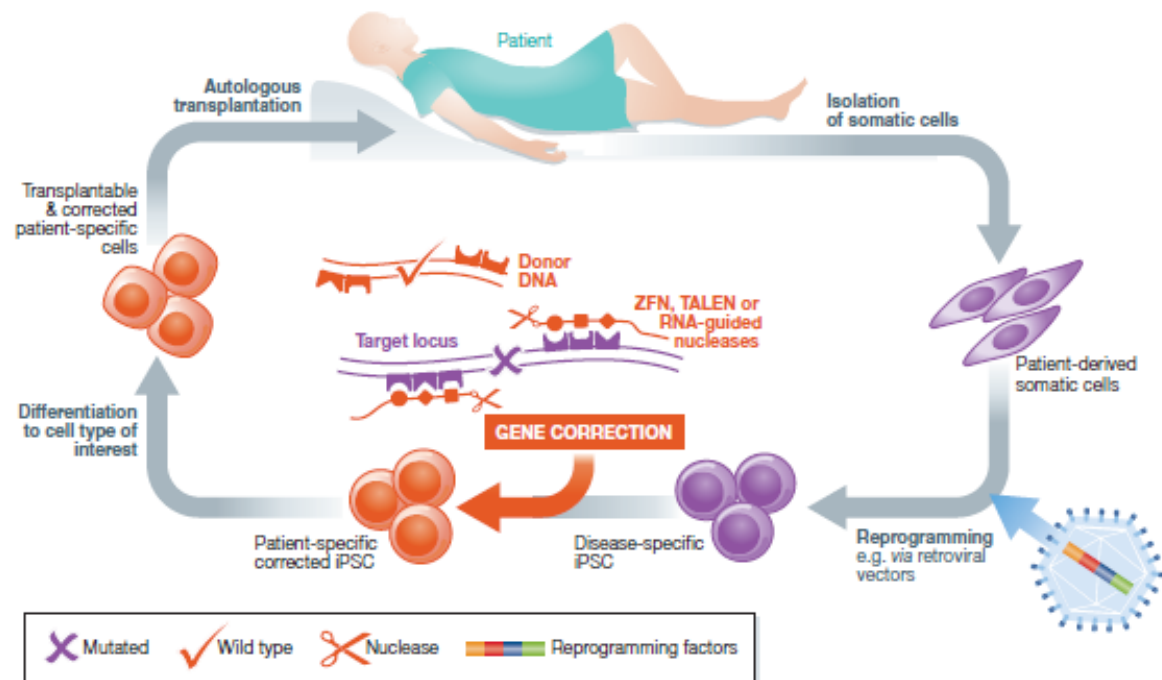
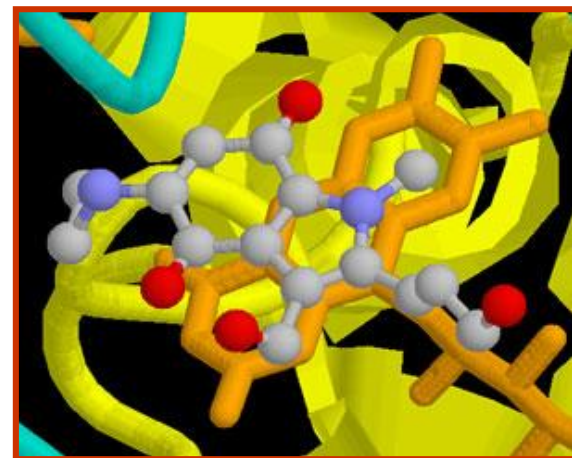


Figure 4. Proposed concept of designer nuclease-mediated correction of patient-specific iPSC for autologous transplantation. Patient-specific iPSC can be generated from somatic cells (e.g. fibroblasts, blood cells) and reprogrammed into pluripotent stem cells as discussed in the text. Targeted gene correction can be mediated via either zinc-finger nucleases (ZFN), transcription activator like effector nucleases (TALEN) or RNA guided-nucleases of patient-derived cells either before or after reprogramming to iPSC. Disease-corrected somatic cells can be derived from the iPSC and reintroduced into the patient as an autologous

Budoucnost - léčba iPSC kombinovaná s genovou terapií ?!



„Rational drug design“
racionální návrh
inhibitorů, Chemická
genetika
Strukturní biologie



**Malé molekuly,
inhibitory kináz**

Three dimensional structure of a protein whose activity is implicated in certain cancers. At right is a close-up view of the structure with a bound inhibitory drug (potential chemotherapeutic).

Počítačová metoda („in silico“) – kombinuje strukturní determinaci a počítačové modelování za účelem identifikace malé molekuly, komplementující se zbytky AMK v aktivním místě enzymu

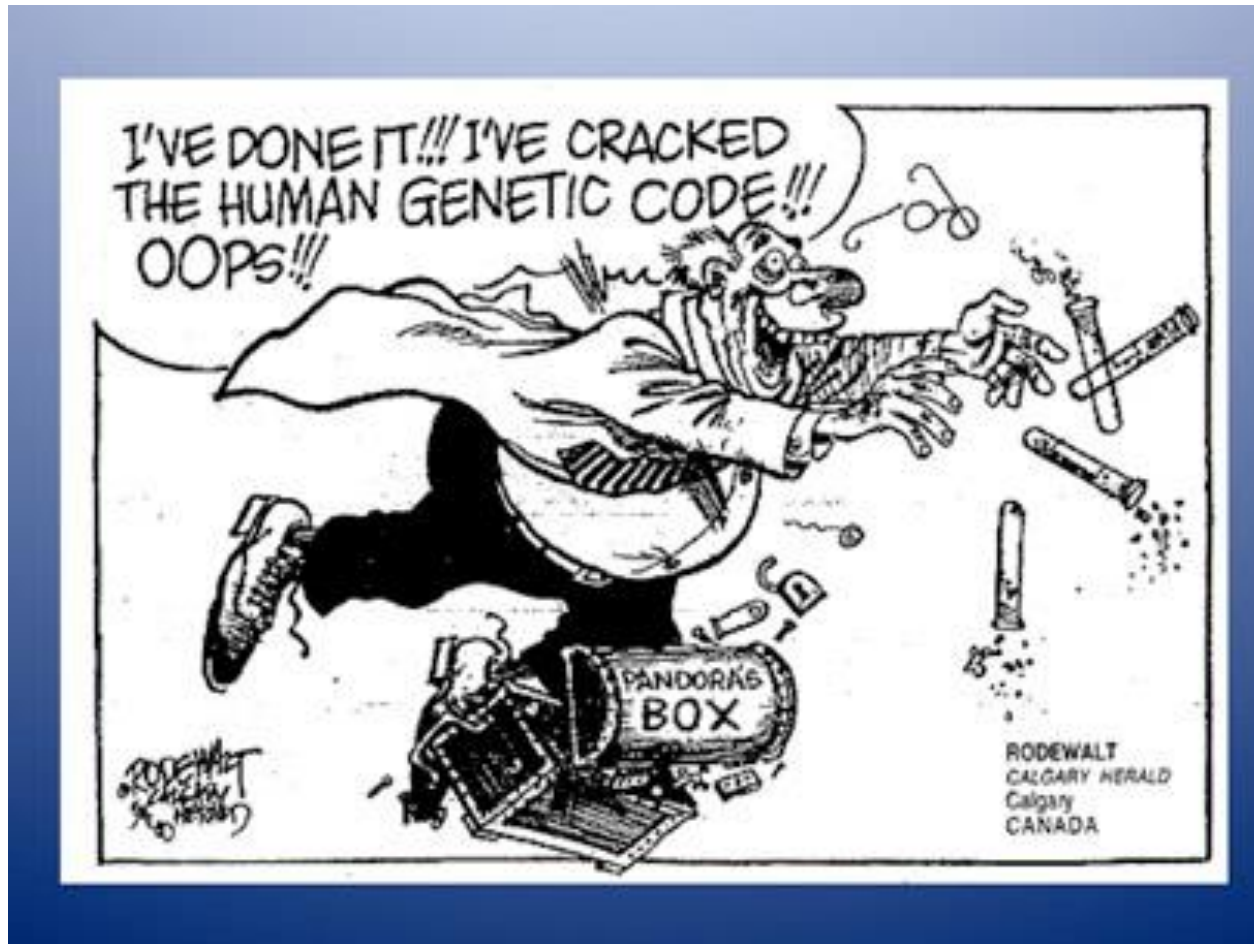
3D – rekonstrukce

Léky na AIDS (Artenase, Viracept) vyvinuty na základě krystalické struktury HIV-proteázy

Léky na rakovinu – Gleevec (Imatinib; BCR-ABL), Tarceva (EGFR)

Léky na chřipku - Relenza, Tamiflu – krystalická struktura neuraminidazy

Post-genomická éra a personalizovaná medicína



Post-genomická éra

- 2003 - HUGO
- Asociační genomické studie (Genome-wide association studies - GWAS)
- Jednonukleotidový polymorfismus (SNP single nucleotide polymorphism)
- Personalizovaná medicína
- Farmakogenetika

Asociační genomické studie (GWAS) :

Studie zabývající se variacemi lidského genomu zaměřené na identifikaci genů asociovaných s určitými znaky nebo výskytem určitých chorob nebo naopak odolností proti těmto chorobám.

Lidský genom obsahuje:

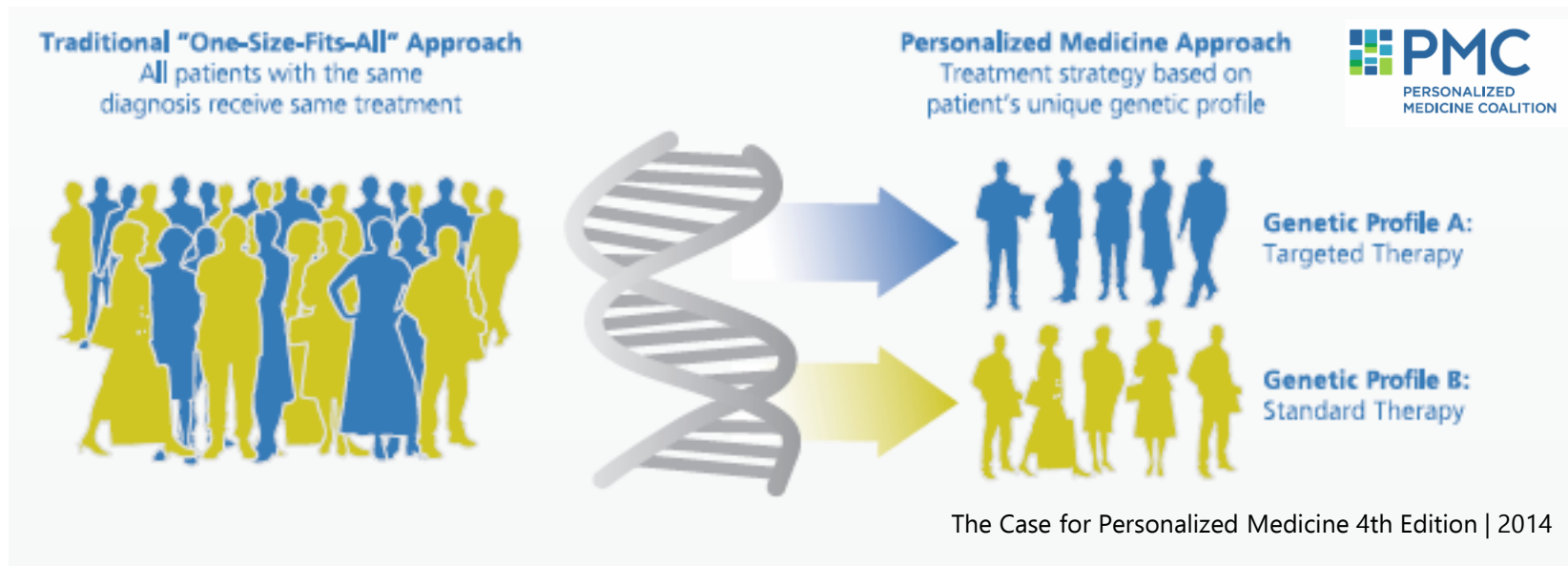
- 21 000 genů kódujících proteiny
- 2 850 genů pro monogenní mendelistické choroby
- 1 100 lokusů ovlivňujících 165 polygenních chorob
- 230 genů souvisejících s rakovinou



Perzonalizovaná medicína

„It's far more important to know what person the disease has than what disease the person has.“ – Hippocrates

Navržení léčby na míru jednotlivým pacientům založené na porozumění molekulárním mechanismům choroby a vyšetření pacienta metodami molekulární biologie.



Perzonalizovaná medicína

Farmakogenetika

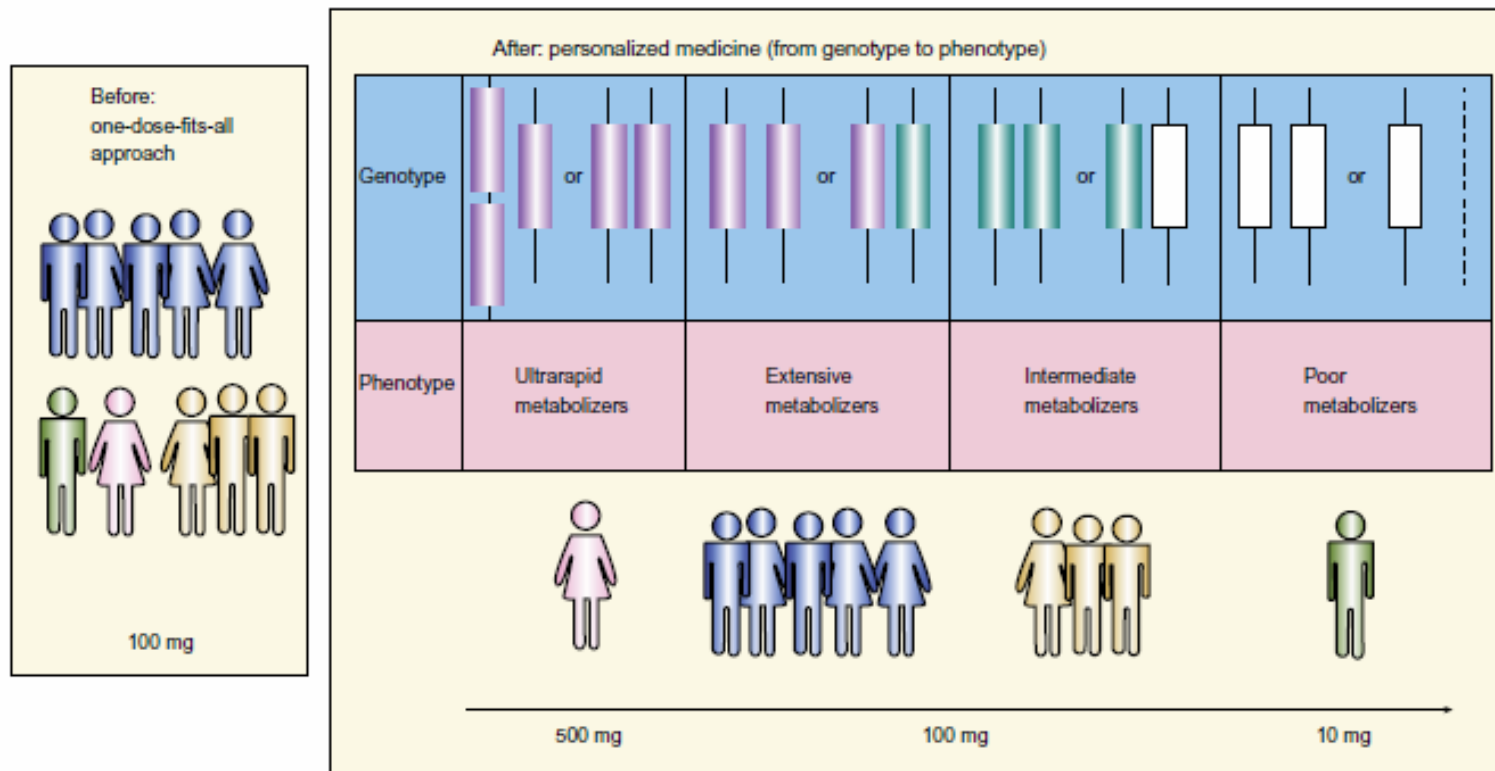
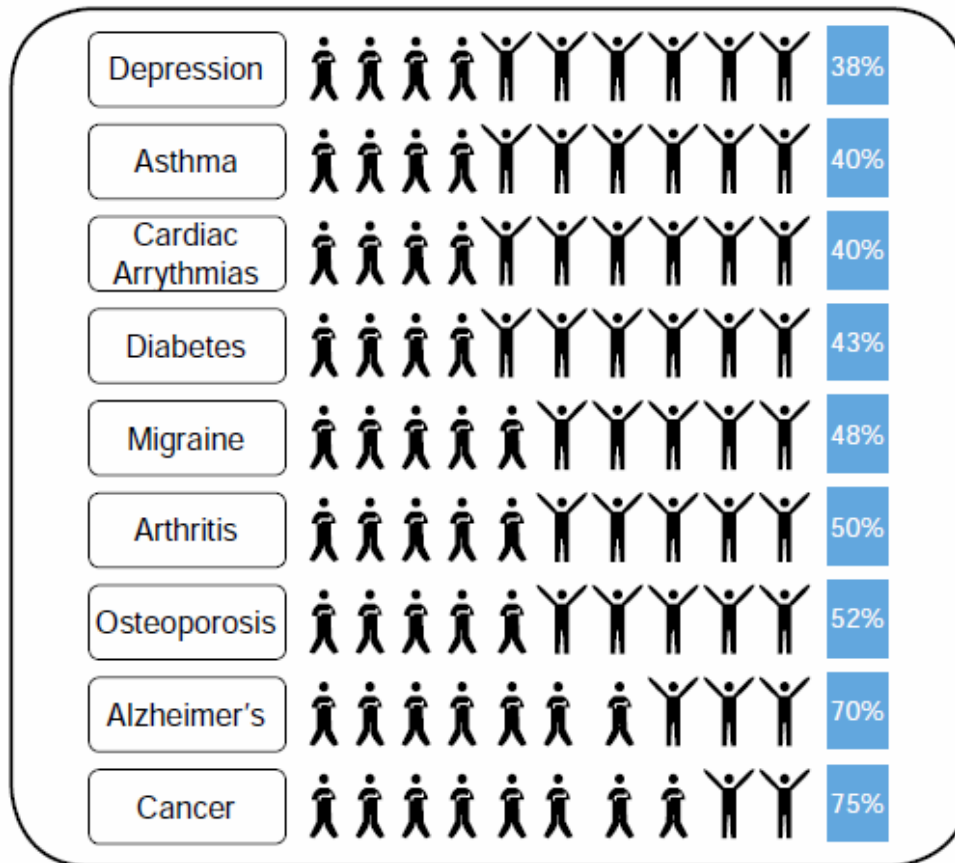


Figure 1. Representation of the trial-and-error or one-dose-fits-all approach versus personalized medicine. The left panel shows a situation in which everyone gets the same dose of a drug, regardless of genotype. The right panel shows a personalized medicine approach in which the dose of the drug is selected based upon genotypical, and therefore phenotypical, variability of the metabolizing enzyme. (Source: Xie, H., Frueh, F.W., (2005). Pharmacogenomics steps toward personalized medicine. *Personalized Medicine*, 2(4), 333.)

Perzonalizovaná medicína



% pacientů, u kterých dané léky nezabírají

Figure 2. Percentage of patients for whom drugs are ineffective. (Source of data: Spear, B.B., Heath-Chiozzi, M., & Huff, J. (2001). Clinical application of pharmacogenetics. *TRENDS in Molecular Medicine*, 7(5), 201-204.) (Note that lack of efficacy in a given patient may reflect a complex interaction of factors and can also result from inadequate or inappropriate dosing regimens of a drug that would otherwise be effective, as well as lack of adequate patient compliance.)

Cílená terapie a diagnostika

Trastuzumab (Herceptin®), Genentech, Inc.) - **Robert Weinberg 1979** objev “**HER-2**” (human epidermal growth factor receptor 2) genu, jehož produkt je zúčastněn v několika drahách řídících růst nádorů - **onkogen**.

20 let studia **Dennis Slamon - Overexprese HER2** se objevuje u **20-25% nádorů prsu**, Květen **1998**, meeting American Society for Clinical Oncology (ASCO), **Slamon** presentoval **Herceptin – protilátku** pro léčbu HER2 pozitivních nádorů – revoluční okamžik – **první molekulárně cílená terapie** - vypnutí funkce HER2 genu a **zpomalující růst nádoru**, aniž by poškozovala zdravé tkáně.

Září **1998**, FDA potvrdila **Herceptin** pro terapii **HER2 pozitivních nádorů prsu**. Ve stejný den uveden do praxe **HercepTest (DAKO)**, in vitro assay detekující HER2 overexpresi = **zároveň vyvinut cílený lék a cílená diagnostika nemoci**

U pacientek bez mutace HER2 je lék neúčinný, nebo může průběh nemoci zhoršit!!!

Vemurafenib (Zelboraf)

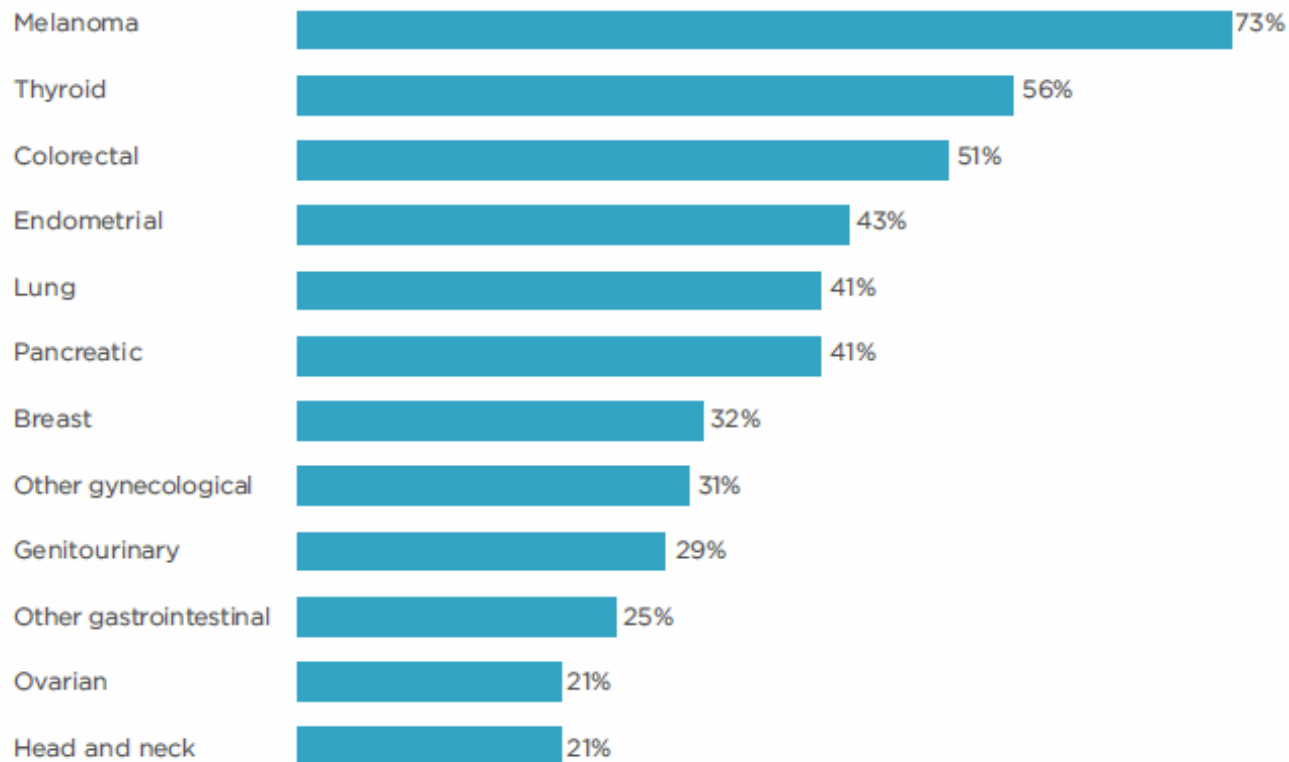
srpen **2011**, FDA současně zavedla **vemurafenib (Zelboraf)** společně s **Cobas 4800 BRAF V600E mutation testem**, pro léčbu **metastatického melanomu**. **Vemurafenib** inhibuje **BRAF V600E** mutaci, ta se vyskytuje asi u **50% pacientů s melanomem**.

Všechny nádory nejsou stejné – ani na nádory 1 orgánu není možno pohlížet jako na 1 nemoc!!!

Nádory se specifickou mutací

FIGURE 2: FORGING A PATH TO PERSONALIZED CANCER CARE

TACKLING TUMORS: Percentage of patients whose tumors were driven by certain genetic mutations that could be targets for specific drugs, by types of cancer.



Source: *Wall Street Journal* Copyright 2011 by DOW JONES & COMPANY, INC. Reproduced with permission of DOW JONES & COMPANY, INC.

Výhody perzonalizované medicíny

Personalized Medicine Improves Health Outcomes

Myelogenous Leukemia
5-Year Survival Rate



Following introduction of imatinib, a targeted therapy¹

Colorectal Cancer
5-Year Survival Rate



Following discovery of molecular receptors associated with tumor growth²

Heart Patient
Hospitalization Rate



Documented when genetic information was used in dosing warfarin³

Personalized Medicine Can Make the Health System More Efficient

Chemotherapy
Use



If women with breast cancer received genetic testing prior to treatment⁴

Colorectal Cancer
Costs



If metastatic colorectal cancer patients received genetic testing prior to treatment⁴

Strokes
Prevented



If a genetic test was used to properly dose blood thinners⁴

Léky

Codeine	<i>CYP2D6</i>	Pain: Some individuals may be ultra-rapid metabolizers because of a specific <i>CYP2D6</i> genotype. These individuals convert codeine into its active metabolite, morphine, more rapidly and completely than other people. This rapid conversion results in higher than expected serum morphine levels. Even at labeled dosage regimens, individuals who are ultra-rapid metabolizers may have life-threatening or fatal respiratory depression or experience signs of overdose (such as extreme sleepiness, confusion, or shallow breathing). Some individuals may be poor metabolizers because of a specific genotype. These individuals do not convert codeine to morphine sufficiently and may have no pain relief.
Carbamazepine (Tegretol®)	<i>HLA-B*15:02</i>	Epilepsy and bipolar disorder: Serious dermatologic reactions are associated with the <i>HLA-B*15:02</i> allele in patients treated with carbamazepine. Patients with ancestry in genetically at-risk populations should be screened for the presence of <i>HLA-B*15:02</i> prior to initiating treatment with Carbamazepine. Patients testing positive for the allele should not be treated with the drug unless the benefit clearly outweighs the risk.
Warfarin (Coumadin®) <i>cf. Table 2</i>	<i>CYP2C9</i>	Patients with one or more variant <i>CYP2C9</i> alleles have decreased S-warfarin clearance. The frequencies of these alleles in Caucasians are approximately 11% and 7% for <i>CYP2C9*2</i> and <i>CYP2C9*3</i> , respectively.
	<i>VKORC1</i>	Certain single nucleotide polymorphisms in the <i>VKORC1</i> gene (e.g., -1639G>A) have been associated with variable warfarin dose requirements.
	Protein C or S deficiencies	Hereditary or acquired deficiencies of protein C or its cofactor, protein S, have been associated with tissue necrosis following warfarin administration.
Imatinib (Gleevec®) <i>cf. Table 2</i>	<i>Philadelphia Chromosome/BCR-ABL</i>	Leukemia: Indicated for the treatment of newly diagnosed adult and pediatric patients with Philadelphia chromosome positive [indicated by presence of <i>BCR-ABL</i>] chronic myeloid leukemia (CML) in chronic phase.
	<i>PDGFR</i> (platelet-derived growth factor receptor)	Myelodysplastic syndrome: Indicated for adult patients with myelodysplastic / myeloproliferative diseases (MDS/MPD) associated with platelet-derived growth factor receptor (<i>PDGFR</i>) gene re-arrangements.
	<i>c-KIT</i>	Stomach cancer: Indicated for the treatment of patients with Kit (CD117) positive unresectable and/or metastatic malignant gastrointestinal
Trastuzumab (Herceptin®) <i>cf. Table 2</i>	<i>HER2 / neu receptor</i>	Breast cancer: Indicated for i) the treatment of <i>HER2</i> overexpressing breast cancer; ii) the treatment of <i>HER2</i> overexpressing metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma.
Vemurafenib (Zelboraf™) <i>cf. Table 2</i>	<i>BRAF V600E</i>	Melanoma: Indicated for the treatment of patients with unresectable or metastatic melanoma with <i>BRAF</i> V600E mutation as detected by an FDA-approved test. The <i>BRAF</i> V600E mutation is found in about half of melanoma patients.

gb PHARM Warfarin

Genetické testy

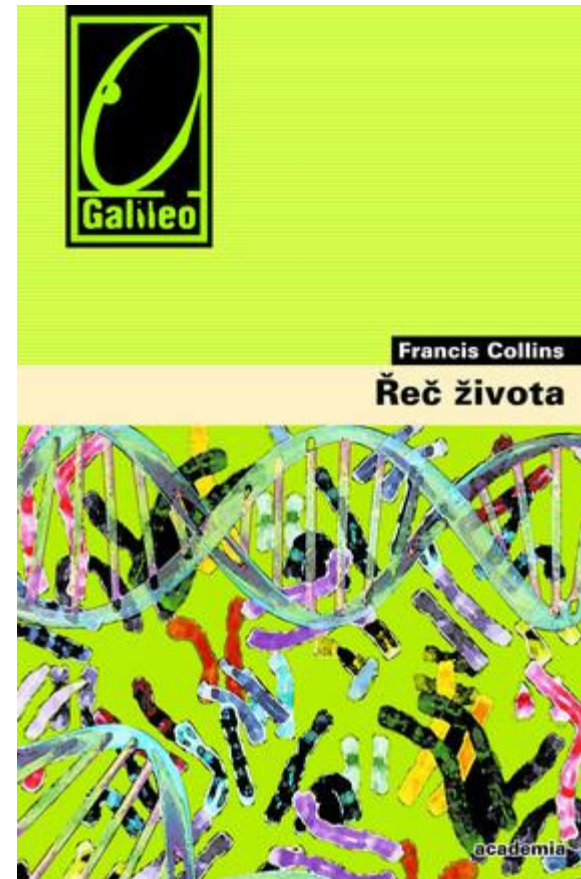
Statins *	SINM PhysioType™	CV: Predicts risk of statin-induced neuro-myopathy, based on a patient's combinatorial genotype for 50 genes.
Warfarin * (Coumadin®)	eQ-PCR LC Warfarin Genotyping kit	Genotyping single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the cytochrome P450 enzyme gene <i>CYP2C9</i> known as <i>CYP2C9*2</i> (C430T), <i>CYP2C9*3</i> (A1075C), and a SNP in the vitamin K epoxide reductase complex 1 gene (<i>VKORC1</i>) known as <i>VKORC1</i> (-1639G>A).
	eSensor Warfarin Sensitivity Test	Detection and genotyping of <i>CYP450 2C9</i> (*2 and *3) and <i>VKORC1</i> (-1639G>A)
	Gentris Rapid Genotyping Assay - <i>CYP2C9</i> & <i>VKORC1</i>	Intended to detect the presence of <i>CYP2C9</i> *2 and *3 and <i>VKORC1</i> 1173 C>T alleles. Information about the <i>CYP2C9</i> and <i>VKORC1</i> genotypes may be used as an aid in the identification of patients with greater risk for warfarin sensitivity.
	INFINITI 2C9 & <i>VKORC1</i> Multiplex Assay for Warfarin	Identify <i>CYP450 2C9</i> and <i>VKORC1</i> genetic variants.
	PGx Predict™	CV: Determines <i>CYP2C9</i> and <i>VKORC1</i> genotypes to predict likelihood of adverse events with warfarin therapy.
	Verigene Warfarin Metabolism Nucleic Acid Test and Verigene System	The two most common alleles of <i>CYP2C9</i> that affect warfarin metabolism are <i>CYP2C9*2</i> (also known as R144C) and <i>CYP2C9*3</i> (also known as I359L). The <i>VKORC1</i> gene, located on the short arm of human chromosome 16 (16p11.2), encodes the <i>VKORC1</i> protein which plays an essential role in gamma-carboxylation of Vitamin K-dependent blood clotting factors.
Dabrafenib * (Tafinlar®)	THxID™ BRAF Kit	Melanoma: Qualitative detection of the <i>BRAF</i> V600E and V600K mutations in human melanoma tissue. It is intended to be used as an aid in selecting melanoma patients whose tumors carry the <i>BRAF</i> V600E mutation for treatment with Dabrafenib.
	Dako <i>TOP2A</i> FISH PharmDx Kit	Breast cancer: Detect amplifications and deletions of the <i>TOP2A</i> gene in human breast cancer tissue. Deletions and amplifications of the <i>TOP2A</i> gene serve as a marker for poor prognosis in high risk breast cancer patients.

gb PHARM Warfarin

Perzonalizovaná medicína - genome-based medicine



<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp1006304>



<http://www.genethernet.com/societies.html>

<http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/cellulargenetherapyproducts/default.htm>

