



**FARMAKOGENETIKA,  
FARMAKOGENOMIKA  
a její  
klinické aplikace**

Doc. RNDr. Ladislava Bartošová, Ph.D.  
Farmakologický ústav, Lékařská fakulta MU Brno

# FARMAKOLOGIE – I



## Obsah dnešní přednášky:

1. Co je farmakogenetika a co farmakogenomika a jejich teoretická východiska
2. Molekulárně biologická podstata genového polymorfismu a jejich možný dopad na pacienta
3. Příklady klinicky významných genových polymorfismů
4. Možnosti využití farmakogenetiky a farmakogenomiky v klinické praxi, rizika a omezení

**1. Co je farmakogenetika a co farmakogenomika a jaká jsou jejich teoretická východiska**

# Něco málo z historie



**Termín: „Farmakogenetika“**

**1959 Friedrich Vogel**



**Termín: „Farmakogenomika“**

**1997 ??**



*Nastává exponenciální nárůst  
prací s touto tematikou*

PubMed: přes 27 tisíc vědeckých publikací, téměř 600 od počátku roku



# TEORETICKÁ VÝCHODISKA

## **FARMAKO** *genetika*

Věda zabývající působením  
léčiva na živý organismus  
a naopak

Věda o dědičnosti

## **FARMAKO** *genomika*

Podobor mol. biologie  
zabývající se lidským genomem  
jako celkem



# DEFINICE



## FARMAKOGENETIKA A FARMAKOGENOMIKA

jsou

obory zabývají se otázkami FARMAKOLOGIE

- ❖ jak působí lék na pacienta (farmakodynamika)
- ❖ jak působí pacient na lék (farmakokinetika)

z úhlu pohledu genetiky, resp. genomiky



### *FARMAKOGENETIKA*

Studium jednotlivých genů  
zapojených do  
farmakologických procesů



### *FARMAKOGENOMIKA*

Studium celého genomu a  
jeho ovlivnění léčivem





**DEFINICE**



**FARMAKOGENETIKA**

**X**

**FARMAKOGENOMIKA**

**Oba pojmy jsou někdy zaměňovány....**



# DEFINICE



**FARMAKOGENETIKA** studuje rozdílné účinky léčiva u rozdílných pacientů *in vivo*, které jsou dány přítomností dědičných variant genů.

*Farmakogenetika se zaměřuje na variabilitu pacientů*

**FARMAKOGENOMIKA** studuje rozdílné účinky potenciálních léčiv *in vivo* i *in vitro* na genovou expresi jako celek. Hodnotí expresní profily.

*Farmakogenomika se zaměřuje na variabilitu potenciálních léčiv*



## **2. Molekulárně biologická podstata genového polymorfismu a následky mutací**



# JAKÁ JE PODSTATA VARIABILITY GENŮ?



Je to existence  
několika **ALELOVÝCH VARIANT** každého genu,  
které vznikly během evoluce **mutací**  
a dědí se z rodičů na děti

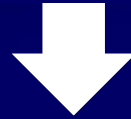
**Jednotlivé variantní alely genů se liší v DNA struktuře**



**Tyto rozdílné „variantní“ alely kódují rozdílné „variantní proteiny“**

(enzymy, receptory, iontové kanály, strukturní proteiny, membránové transportéry....)

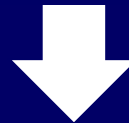
**ALELOVÁ VARIANTA S FREKVENCÍ > 1%**



**COMMON GENE POLYMORPHISM**  
**(běžný genový polymorfismus)**

Polymorfní (variantní) alela

**ALELOVÁ VARIANTA S FREKVENCÍ < 1%**

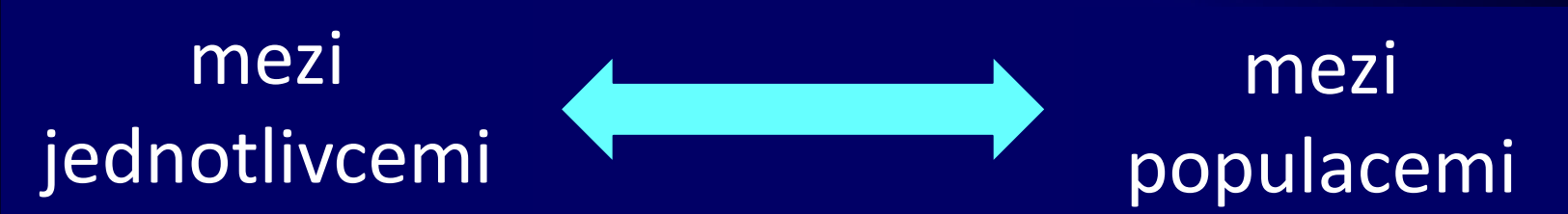


**VZÁČNÁ ALELOVÁ VARIANTA**

Mutantní alela



**VÝSKYT  
alelových variant se liší**



**Rozdíly mezi populacemi komplikují farmakogenetické klinické studie**

# Příklad populačních rozdílů

## Relativní alelická frekvence CYP2D6 variantních alel (v %)

	Alelická frekvence (%)				
	Kavkazská populace	Asijská populace	Afro-americká populace	Arabská populace	
CYP2D6	*3	2-3	0,2	0,2	0
	*4	12-21	1	2	1-4
	*5	2-7	6	4	1-3
	*6	1	0	0	0,7
	*10	1-2	51	6	3-9
	*17	0	0	20-35	3-9
	PM	7 %	1 %	5 %	1 %

Schimizu et al. Drug Metab. Pharmacokinet. 18 (1): 48-70, 2003.

Ingelman-Sundberg. Pharmacogenomics J. 5(1): 6-13, 2005.





# ALELOVÉ VARIANTY VZNIKAJÍ MUTACÍ



## 1) BODOVÉ MUTACE

- **záměnové** (substituce)
- **posunové** (delece, inserce) - frameshift

Nejčastější mutací je záměna jediného nukleotidu =  
= **single nucleotide polymorphism** = **SNP** (přes 90 %)  
= *jednonukleotidový polymorfismus*

**V současné době nalezeno asi 2 miliony SNPs-ů**



# ALELOVÉ VARIANTY VZNIKAJÍ MUTACÍ

## 2) TANDEMOVÉ REPETICE

### - minisatelitey (VNTR)

(10-60 nukleotidů, vznikají inzercí několika kopií)

### - mikrosatelitey (STR)

(2-6 nukleotidů opakující se až 60x)

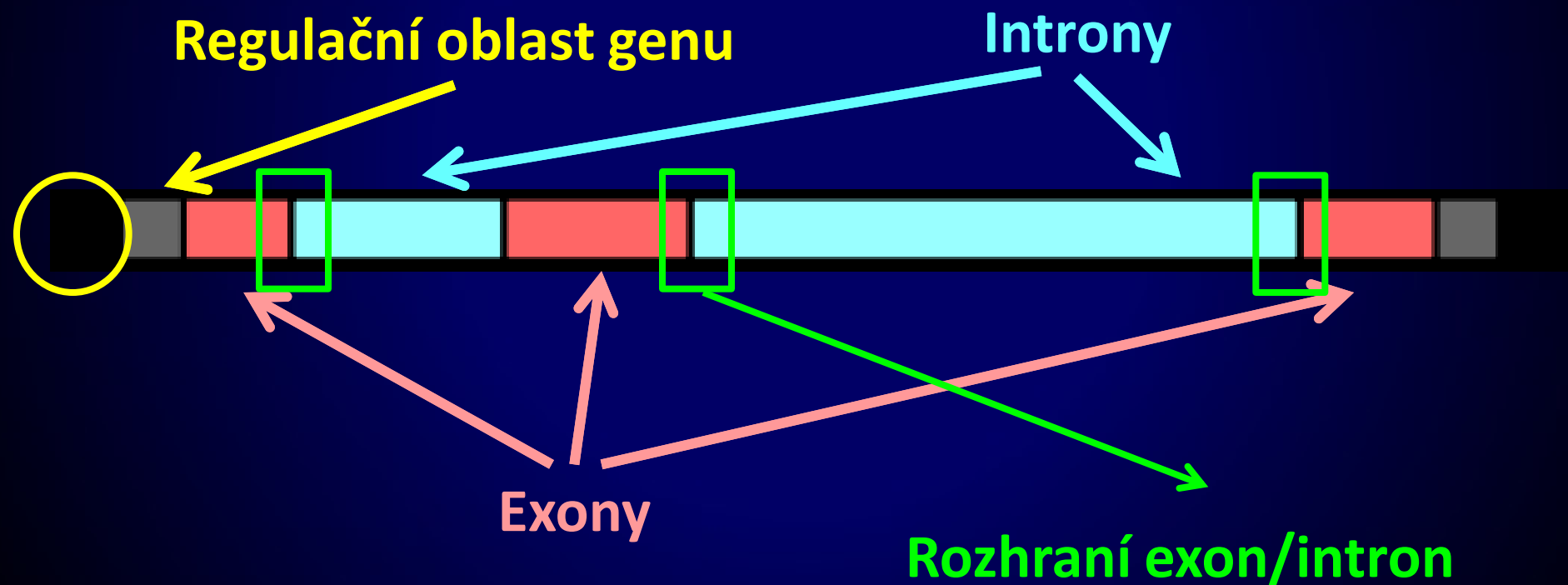
Nejběžnější typ: **CACACACA**... tvoří 30-60%  
dinukleotidových repetit



Klinické následky mutace  
závisí na její  
LOKALIZACI

1. Mutace v oblasti **kódující části** genu (exonu)
2. Mutace **v regulačních oblastech** genu  
(obecně 5' úseku genu)
3. Mutace v oblasti **rozhraní exonu a intronu**
4. Mutace v **nekódujících** oblastech genu  
(intronu)

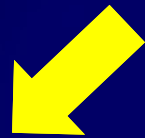
**Klinické následky mutace  
závisí na její  
LOKALIZACI**



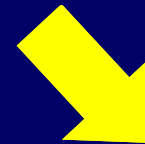


# CO MÁ VĚTŠÍ DOPAD NA FUNKČNOST KÓDOVANÉHO PROTEINU

## ZÁMĚNA NUKLEOTIDU (záměnové mutace)



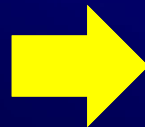
Vede ke změně **jediné** AK  
nesynonymní nebo nonsense  
mutace



**Nevede** ke změně AK  
(synonymní (tichá; silent) mutace)

## DELECE, INZERCE (posunové mutace)

Změna **čtecího rámce**



změna **všech** AK od místa mutace,  
případně předčasný vznik stopkodónu

# ZÁMĚNA (SUBSTITUCE) NUKLEOTIDU(-Ů) LOKALIZOVANÁ

- ❖ na rozhraní exonu a intronu
- ❖ v regulačních oblastech genu

**Mají stejný klinický dopad na funkčnost kódovaného proteinu jako posunové mutace**



**Synonymní (tiché) mutace**  
**Nesyonymní mutace**

**Nonsense mutace**

	U		C		A		G	
U	UUU	fenylalanin	UCU	serin	UAU	tyrosin	UGU	cystein
	UUC	fenylalanin	UCC	serin	UAC	tyrosin	UGC	cystein
	UUA	leucin	UCA	serin	UAA	stop	UGA	stop
	UUG	leucin	UCG	serin	UAG	stop	UGG	tryptofan
C	CUU	leucin	CCU	prolin	CAU	histidin	CGU	arginin
	CUC	leucin	COC	prolin	CAC	histidin	CGC	arginin
	CUA	leucin	CCA	prolin	CAA	glutamin	CGA	arginin
	COG	leucin	COG	prolin	CAG	glutamin	CGG	arginin
A	AUU	izoleucin	ACU	treonin	AAU	asparagin	AGU	serin
	AUC	izoleucin	ACC	treonin	AAC	asparagin	AGC	serin
	AUA	izoleucin	ACA	treonin	AAA	lysin	AGA	arginin
	AUG	metionin	ACG	treonin	AAG	lysin	AGG	arginin
G	GUU	valin	GCU	alanin	GAU	kys.	GGU	glycin
	GUC	valin	GCC	alanin	GAC	asparagová	GGC	glycin
	GUA	valin	GCA	alanin	GAA	kys.	GGA	glycin
	GUG	valin	GCG	alanin	GAG	glutamová	GGG	glycin



# NÁSLEDKY MUTACÍ



## 1. Mutace v oblasti kódující části genu (exonu)



### změna AK v proteinovém řetězci

- změna aktivity metabolických enzymů, vazebná afinita k substrátu
- změna transportní aktivity membránových proteinů
- změna ve struktuře receptorů, buněčných strukturách
- změna elektrofyzologie iontového kanálu
- změna v proteinech signálních kaskád

# NÁSLEDKY MUTACÍ



## 2. Mutace v regulačních oblastech genu

(promotor nebo obecně 5' úseku genu)



**změna genové exprese**

- **nedostatek nebo nadbytek kódovaného proteinu**  
(enzym, strukturní protein, receptorový nebo kanálový protein...)



# NÁSLEDKY MUTACÍ



## 3. Mutace v oblasti rozhraní exonu a intronu



chybný sestřih primárního transkriptu  
pre-mRNA na mRNA

- zkrácení nebo prodloužení proteinového řetězce  
⇒ ztráta nebo omezení funkčnosti kódovaného proteinu, výjimečně nabytí nové funkce.



# NÁSLEDKY MUTACÍ



## 4. Mutace v nekódujících oblastech genu



**Přímý vliv na proteinový řetězec nemají, přesto mohou mít zprostředkovaný klinický dopad**

**Až 97% genomu člověka jsou tzv. nekódující oblasti. Některé úseky jsou velmi konzervativní a mají regulační funkce. („Ostrovky genetické stability“). Jsou velmi důležité pro přežití jedince**





# SHRNUTÍ



Rozdílná genetická výbava je zodpovědná za individuální rozdíly ve **farmakokinetice/farmakodynamice:**

- ❖ Účinnost/neúčinnost podávaného léčiva
- ❖ Výskyt závažných nežádoucích účinků

**Genový (genetický) polymorfismus**



Řada genů je polymorfních, ovšem **NE** každý genový polymorfismus má klinicky viditelný dopad

## **GENOVÉ POLYMORFISMY**

- 1. Ovlivňující farmakokinetiku**
- 2. Ovlivňující farmakodynamiku**
- 3. Asociované s rizikem výskytu patologií**



# Ovlivňující FARMAKOKINETIKU

## ABSORPCE, DISTRIBUCE A EXKRECE LÉČIV

### Geny kódující transportéry a membránové přenašeče

- **Aniontové, kationtové a peptidové přenašeče**  
např. OAT1 až 3, OATP8, OCTN2, PepT1, OATP1B1 (SLCO1B1)
- **Proteinové transportéry s multidrug rezistencí**  
MRP1 až MRP6
- **P-glykoproteinové transportéry s multidrug rezistencí**  
MDR1 (ABCB1 gen), MDR3, SPGP...

### KLINICKÝ DOPAD:

- Tvorba pozměněných, nefunkčních transportérů
- Nedostatečné množství transportních proteinů
- Změna vazebné afinity přenašečů k substrátům



# Ovlivňující FARMAKOKINETIKU

## METABOLISMUS LÉČIV

### Geny kódující biotransformační enzymy

#### Enzymy I. biotransformační fáze

★ Enzymy cytochromu P 450: CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4

📖 MTHFR (metylen tetrahydrofolát reduktáza)

📖 DPD (dihydropyrimidin dehydrogenáza) (5-FU)

#### Enzymy II. biotransformační fáze

📖 TPMT (thiopurin S-methyl transferáza)

📖 NAT1, NAT2 (N-acetyl transferázy)

📖 UGT1A1 (uridin-difosfát glukuronosyl transferáza 1A1)

## KLINICKÝ DOPAD:

- Snížení / zvýšení aktivity daného enzymu
- Změna vazebné afinity k substrátům

## SNÍŽENÍ AKTIVITY enzymu

**Zpomalení** metabolických dějů →

→ **zpomalené** odbourávání léčiva →

→ **hromadění** léčiva v organismu →

→ **růst nežádoucích účinků až intoxikace**

**U PROLÉČIVA** může snížená aktivita enzymu znamenat vytvoření **nedostatečného** množství aktivního metabolitu a nedostatečnou účinnost léčiva

## KLINICKÝ DOPAD:

- Snížení / zvýšení aktivity daného enzymu
- Změna vazebné afinity k substrátům

## ZVÝŠENÍ AKTIVITY enzymu

**Zrychlení** metabolických dějů →

→ **zrychlené** odbourávání léčiva →

→ **nedostatečné množství** léčiva v organismu →

→ **nedostatečná účinnost** léčiva



# GENOVÉ POLYMORFISMY versus LÉKOVÉ INTERAKCE

**Pozor na situaci, kdy enzymová aktivita již snižená geneticky je dále utlumena přítomností **INHIBITORU** může být velmi nebezpečné především za situace, že neexistuje alternativní cesta odbourávání léčiva jiným enzymem.**

**Lékové interakce mohou být klinicky závažnější u pacientů s variantními alelami v genech kódujících biotransformační enzymy**





# DVA DŮLEŽITÉ POJMY...



**GENOTYPIZACE** je stanovení genotypu  $\Rightarrow$  homozygot pro standardní alelu, heterozygot, homozygot pro variantní alelu

**FENOTYPIZACE** je zařazení pacienta na základě výsledků měření aktivity enzymu (TDM) mezi ultrarychlé, rychlé, střední, pomalé metabolizéry dle metabolické aktivity daného enzymu nebo izoenzymu

**OBA PŘÍSTUPY MAJÍ VÝHODY I NEVÝHODY**

# GENOTYPIZACE (Laboratoř lékařské genetiky)

## Výhoda:

Genotyp se po celý život člověka nemění, jeho stanovení lze udělat jednou na celý život

## Nevýhoda:

Samotné určení genotypu v daném genu nám nic neřekne o

- **interakci s vnějším prostředím** (interagující další léčiva nebo složky potravy)
- **kompensační schopnosti organismu** (přítomnost dalších genových polymorfismů??)

# FENOTYPIZACE (TDM monitoring)

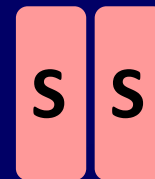
## Výhoda:

Stanovení fenotypu (aktivity enzymu) v jednom konkrétním čase je schopno zachytit všechny vlivy současně (genetické i negenetické)

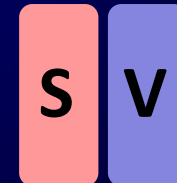
## Nevýhoda:

Skutečná aktivita enzymu je velice proměnlivá v čase (z hlediska negenetických faktorů), je nezbytné provádět stanovení opakovaně.

**RM**s – rapid metabolisers



**IM**s – intermediate metabolisers



**PM**s – poor metabolisers



S = standardní a.  
V = variantní a.



# Ovlivňující FARMAKODYNAMIKU

## GENY KÓDUJÍCÍ PROTEINY, KTERÉ JSOU CÍLOVÝMI STRUKTURAMI LÉČIV

- **Receptorové proteiny**

$\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , receptory, dopaminový, serotoninový receptor...  
Receptor pro angiotenzin II, sulfonylureu, estrogenový r.,  
glukokortikoidní r. ryanodinový r.

- **Cílové enzymy („drug targets“ pro léčiva)**

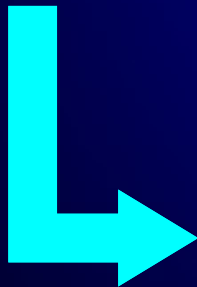
VKORC-1, ACE, ALOX5, ...

## PROTEINOVÉ SLOŽKY SIGNÁLNÍCH KASKÁD

Podjednotky G-proteinu:  $\alpha$ ,  $\beta_3$

## KLINICKÝ DOPAD:

- Snížená afinita léčiva k pozměněnému receptoru
- Chybná regulace obnovy receptoru
- Nefungující nebo alternativně fungující signální kaskáda
- Nedostatek/nadbytek endogenního produktu
- Pozměněný nebo chybějící cílový protein (strukturní, enzym...)



**LÉČIVO MÁ SNÍŽENOU  
ÚČINNOST NEBO JE NEÚČINNÉ**



# Asociované s rizikem výskytu patologií



## GENY KÓDUJÍCÍ PROTEINY S VÝZNAMNOU FUNKCÍ :

- **v metabolismu endogenních látek**

**ALOX5 + LTC4 syntáza.** Enzymy katalyzující tvorbu leukotrienů. Polymorfismy asociovány s výskytem **ASTMATU**.

**Cholesterol-7- $\alpha$ -hydroxyláza.** Enzym katalyzující přeměnu cholesterolu na žlučové kyseliny. Jeho hladina nepřímo koreluje s hladinou cholesterolu v plazmě  $\Rightarrow$  **HYPERCHOLESTEROLÉMIE**.

**AMPD = adenosin monofosfát deamináza.** Klíčový enzym pro katabolismus adeninu a adenosinu. Má význam pro metabolismus svalů  $\Rightarrow$  **METABOLICKÁ MYOPATIE**.



## ■ v buněčné signalizaci

Receptor pro LDL částice  $\Rightarrow$  **FAMILIÁRNÍ HYPERCHOLESTEROLÉMIE**

CCR5 receptor  $\Rightarrow$  **REZISTENCE K AIDS**

Gen LQT3 (SCNA) pro  $\alpha$ -podjednotku  $I_{Na}$   $\Rightarrow$  **BRUGADŮV SYNDROM**

Gen LQT1 (KCNQ1) pro  $\alpha$ -podjednotku  $I_{Ks}$   $\Rightarrow$  **TĚŽKÝ PRŮBĚH LQTS**

## ■ v aktivaci/inaktivaci imunitního systému

produkce cytokinů, proces adheze leukocytů, ...

Glykoprotein ICAM1  $\Rightarrow$  **ZÁNĚTLIVÁ ONEMOCNĚNÍ**

HLA systém  $\Rightarrow$  **PREDISPOZICE** např. **SLE** nebo **K CELIAKII**

NOD2/CARD15  $\Rightarrow$  **CROHNOVA CHOROBA**

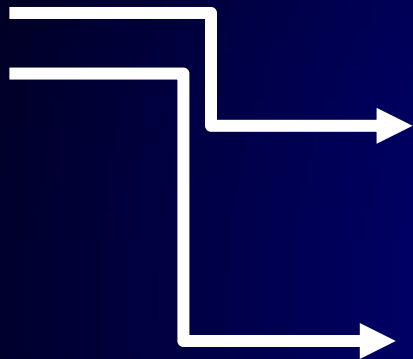
## KLINICKÝ DOPAD:

U nositelů variantních alel (zvl. u homozygotů) je signifikantně vyšší riziko **VZNIKU** patologického stavu, případně hrozí **ZÁVAŽNĚJŠÍ PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ**

### **3. Příklady klinicky významných genových polymorfismů**

# ZNAČENÍ GENOVÝCH POLYMORFISMŮ

## 1. Triviální značení - SNP (substituční mutace)



na úrovni **PROTEINOVÉHO** řetězce

**Gly389Arg**

**G389R**

na úrovni **NUKLEOTIDOVÉHO** řetězce

**G20967A**

**20967G>A**

## 2. FASTA formát (pro účely práce s databází)

**rs45625835** = reference sequence

V databázi uvedeny kromě vlastního polymorfismu i okolní sekvence



# ENZYMY CYTOCHROMU P 450

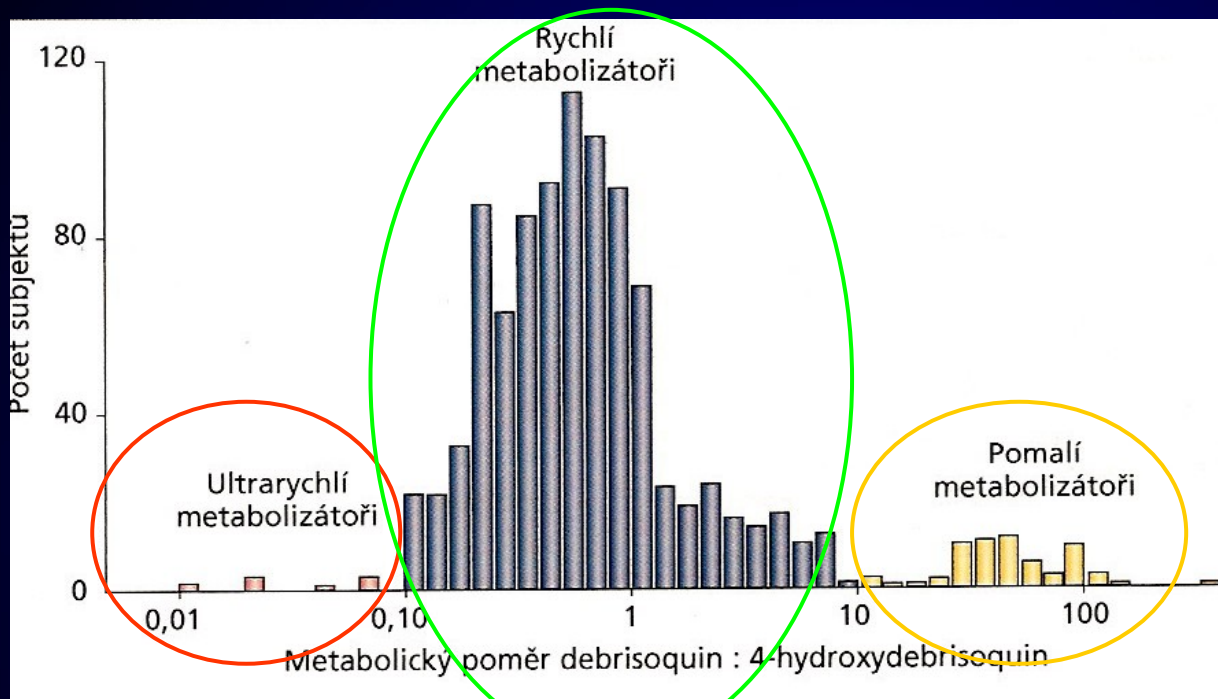


## CYP2D6

Představuje sice pouze 4 % aktivity všech izoenzymů, ale biotransformuje téměř 25 % klinicky používaných léčiv. Genové polymorfismy mají významnější klinický dopad tam, kde metabolismus nemá alternativní cesty.

V genu pro **CYP2D6** bylo identifikováno více jak 100 polymorfismů, které vedou od **úplné deficiencie enzymu**, přes jeho **sníženou aktivitu** až k **ultrarychlému metabolismu**.

# Rozdělení populace podle fenotypu v CYP2D6



## Pomalí metabolizéři (PMs)

Homozygotní nositelé variantních alel snižujících aktivitu enzymu, příp. vedoucích k inaktivaci enzymu

## Rychlí metabolizéři (RMs)

Většinová populace, tj. nositelé standardních alel + heterozygoti pro alely snižující aktivitu

## Ultrarychlí metabolizéři (URMs)

Nositelé duplikovaných a multiduplikovaných genů

# CYP2D6

## Standardní (wild) alely:

CYP2D6\*1 a CYP2D6\*2

## Variantní alely:

\*3, \*4, \*5 - kódují **inaktivní** enzymy

\*10, \*17 - kódují enzymy **se sníženou aktivitou**

**Variantní alela CYP2D6\*4** (G1934A ⇒ chybný sestřih)

V Kavkazské populaci - 12-21%, Asiaté 1%, Afroameričané 2%

**Variantní alela CYP2D6\*10** (substituce C188T ~ Pro34Ser)

V Kavkazské populaci - 1-2% , Asiaté až 51%, Afroameričané 6%

## Duplikace až multiplikace genu CYP2D6

(může být 2,3,4,5, až 13 kopií genu za sebou). Jsou **příčinou ultrarychlého metabolismu.**

Nejvyšší výskyt v populacích Středního východu a na severu Afriky.



# CYP2D6

7% populace patří mezi lidi s nízkou aktivitou, kolem 1% s vysokou aktivitou enzymu CYP2D6

## Klinické důsledky snížené aktivity CYP2D6

- Desetinásobné zvýšení plazmatické koncentrace **ATOMOXETINU** u dětí při stejné dávce  $\Rightarrow$  vyšší riziko NÚ (terapie ADHD)
- Smrt dítěte léčeného **FLUOXETINEM** (antidepressivum) přičítána předávkování v důsledku polymorfismu v genu CYP2D6)
- Nedostatečný analgetický účinku **TRAMADOLU** (analgetikum) v menší míře se tvoří metabolit, který má ještě větší analgetický účinek než samotná látka tramadol.
- Rezistence k analgetickému účinku **KODEINU** (5-10% kodeinu se přeměňuje na morfin demetylací enzymem CYP2D6)

## Klinické důsledky zvýšené aktivity CYP2D6

- Vyšší procento metabolizace **KODEINU** na **MORFIN** ⇒ intoxikace
- Riziko recidivy u pacientek s nádorovým onemocněním prsu léčených **TAMOXIFENEM**, který je rychle metabolizován

**CYP2D6** genové polymorfismy mohou mít vliv na závažnost otrav amfetaminy, opioidními analgetiky a antidepressivy

(Haufroid V, Hantson P. 2015)

Extáze je také substrát enzymu CYP2D6

# SNAHA O INDIVIDUALIZACI TERAPIE



změna doporučeného dávkování  
**ANTIDEPRESIV (risperidon...)** u  
pacientů s genovými polymorfismy v  
genu pro CYP2D6.

CYP2D6	
Amitriptylin	Imipramin
Cinnarizin	Methoxyamfetamin
Ajmalin	Metoprolol
Bupranolol	Mexiletin
Chlorpromazin	Mianserin
Desipramin	Nortriptylin
Flunarizin	Ondansetron
Dextromethorphan	Paroxetin
Fluphenazin	Perfenazin
Fluoxetin	Propafenon
Fluvoxamin	Propranolol
Citalopram	Risperidon
Haloperidol	Thioridazin
Captopril	Timolol
Clomipramin	Tramadol
Kodein	Trimepranol
Hydrocodon	Tropisetron

...“Může dojít ke změně doporučeného dávkování až o 80 % pro PM  
Pro pacienty s fenotypem URM jsou zatím známá ojedinělá data, která  
naznačují nutnost zvýšit dávkování některými antidepresívy 2–3krát“....

# DALŠÍ IZOENZYMY CYTOCHROMU P 450

významné z hlediska přítomnosti genových polymorfismů

## CYP2C9

Podílí na metabolismu např. **warfarinu (S-izoforma)**, fenytoinu, nesteroidních antiflogistik, losartanu, karbamazepinu, diclofenaku...

### Standardní (wild) alela:

CYP2C9\*1

### Variantní alely:

- |    |                                       |                          |
|----|---------------------------------------|--------------------------|
| *2 | - redukce afinity enzymu k substrátu. | Výskyt: 8-13 % Kavkazanů |
| *3 | - změna substrátové specifity         | Výskyt: 6-9 % Kavkazanů  |

Pacienti s genovými polymorfismy v **CYP2C9** potřebují pro udržení stejného INR 2-3 nižší dávky **WARFARINU**. A to 5-6 x.

Situace je komplikována stereoizomerií warfarinu.

**S-warfarin** majoritně metabolizován CYP2C9

**R-warfarin** metabolizován CYP3A4 a CYP1A2

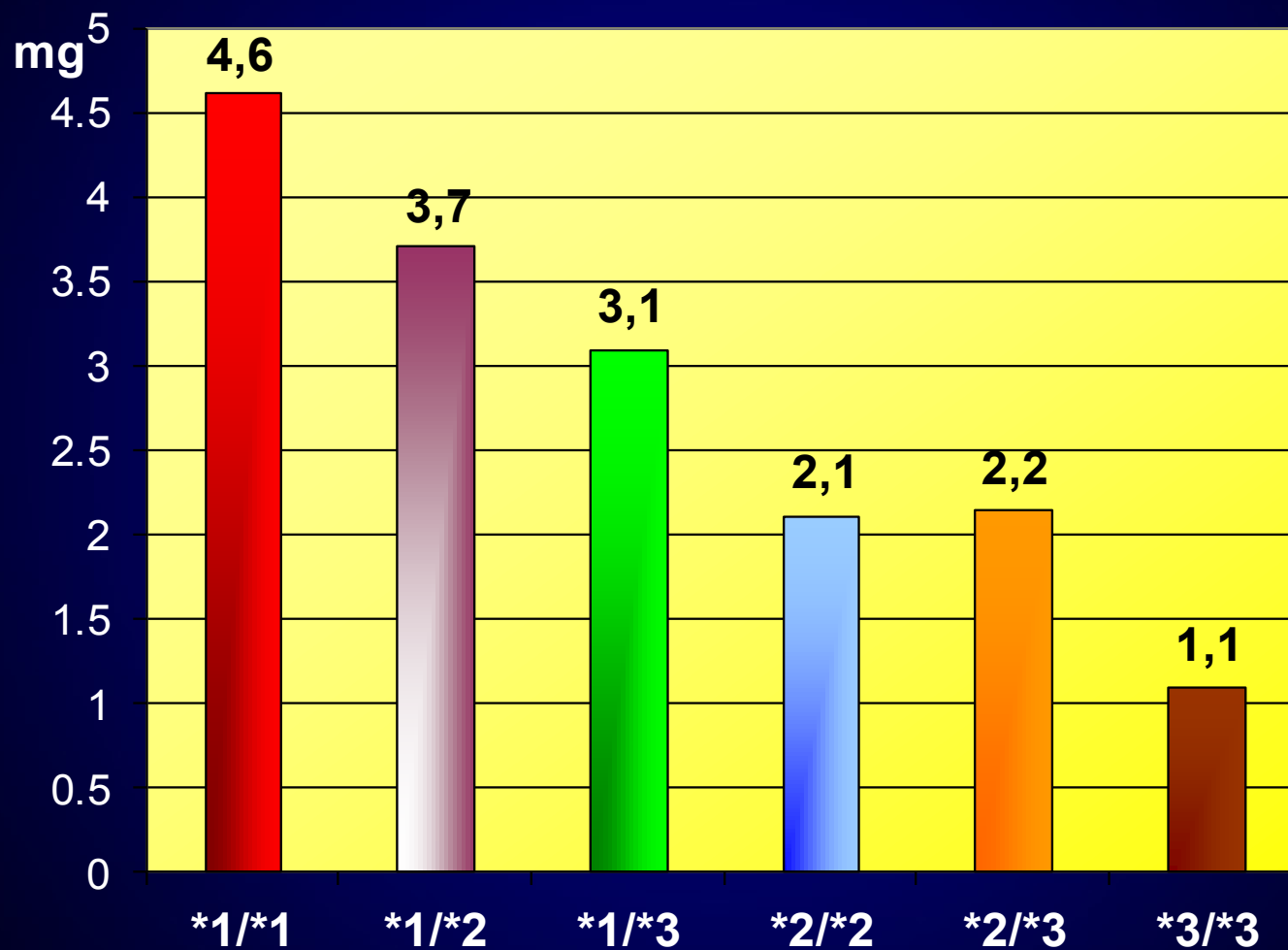
Poměr S:R v plazmě se může měnit.

#### CYP2C9

Amitriptylin  
Carbamazepin  
Diclofenac  
Flurbiprofen  
Glibenclamid  
Glimepirid  
Glipizid  
Ibuprofen  
Indometacin  
Losartan  
Phenytoin  
Piroxicam  
Tolbutamid  
Torsemid  
Warfarin

Komplikace mohou být u hypoglykemizujících **ANTIDIABETIK** (deriváty sulfonylmočoviny) která jsou metabolizovaná **CYP2C9**. Snížený metabolismus  $\Rightarrow$  **výrazná hypoglykémie**

# Průměrná denní dávka warfarinu u jednotlivých genotypů CYP2C9 pro dosažení cílového INR





## CYP2C19

Podílí se na metabolismu např. **omeprazolu** (minoritně i CYP3A4) **citalopramu** (ze 60 %), **diazepamu**...rovněž se podílí na konverzi proléčiva **klopidogrelu** na jeho aktivní metabolit.

**Standardní (wild) alela:** CYP2C19\*1

### **Variantní alely:**

CYP2C19\*2      **inaktivní** enzym (aberrantní splicing)

Výskyt: 15 % Kavkazanů 12-23 % Asiatů

CYP2C19\*3      **inaktivní** enzym (\* stop kodónu)

Výskyt: 0,4% Kavkazanů 1% Asiatů

CYP2C19\*17 (rs12248560) **ultrarychlý** metabolismus

Výskyt: až 21 % Kavkazanů, 2,7 % Asiatů

Asi 3% Evropanů má **kompletní deficit** CYP2C19 (\*2 \*2)

# Léčba omeprazolem + amoxicilinem

	<u>Cure Rate</u>
– Rapid metabolizers	28.6%
– Intermediate metabolizers	60%
– Poor metabolizers	100%

Furuta, T. et. al. Ann Intern Med 1998;129:1027-1030

**Odezva pacienta na léčbu je nejlepší u PMs.**

**CYP2C19** katalyzuje přeměnu antimalarika **PROQUANILU** na vlastní aktivní metabolit ⇒ nedostatečně efektivní terapie malárie u PMs (v asijských populacích až 20 % PMs.)

Popsány případy **neúčinnosti antiagregační terapie (KLOPIDOGREL, TIKLOPIDIN)** u jedinců s variantními alelami, ale také při **současnému užívání s OMEPRAZOLEM** ⇒ **ZVÝŠENÉ RIZIKO KVS PŘÍHOD**

#### CYP2C19

Amitriptylin

Citalopram

Clomipramin

Diazepam

Imipramin

Lansoprazol

Mephenytoin

Moclobemid

Omeprazol

Proguanil

Propranolol

Trimipramin

V takovém případě je doporučeno nahradit omeprazol rabeprazolem (nebo lansoprazolem, pantoprazolem ) nebo klopido-grel prasugrelem (nebo ticagrelorem)

## N-acetyl transferáza 2 (NAT2)

V genu NAT2 popsáno 7 genových polymorfismů charakteru záměny (substituce).

Nositelé \*4 a \*12C jsou **rychlí metabolizéři**

Nositelé ostatních variantních alel **pomalí metabolizéři**

### Klinický důsledek snížené aktivity NAT2 ⇒ vzrůstá riziko NÚ

- **IZONIAZID** ⇒ periferní neuropatie
- **SULFONAMIDY** ⇒ hypersenzitivní reakce
- **HYDRALAZINY** ⇒ syndrom podobný jako lupus (SLE)
- **AMONAFID** (proléčivo - inhibitor topoizomerázy II) ⇒ rychlí acetylátoři ohroženi výraznou leukopenií

# DPD (dihydropyrimidin-dehydrogenáza)-gen DPYD

Katalyzuje fluoropyrimidiny, např. **5-FU** na neaktivní metabolit. Význam pro účinnost + toxicitu protinádorových léčiv obsahujících 5-FU.

Standardní (wild) alela: \*1

## Variantní alely:

- \*2A - chybné rozpoznání místa sestřihu. Vzniká krátký protein ⇒ **inaktivní enzym**
- \*13 - snížená aktivita enzymu.

Výskyt: 1-5,8 % Kavkazanů má polymorfismus ovlivňující funkci enzymu DPD

## **MTHFR (methylen-tetrahydrofolát-reduktáza)**

Katalyzuje konverzi 5,10 methylen-tetrahydrofolátu na 5-methyl-tetrahydrofolát.

Variantní alely vedou ke snížení aktivity enzymu ⇒ zpomalená metylace homocysteinu na methionin ⇒ akumulace homocysteinu v plazmě ⇒ kardiovaskulární riziko

### Nejznámější polymorfismy:

**C677T**

**A1298C**

- Zvýšená prevalence tromboembolických poruch u nositelů
- U homozygotních nositelek variantních alel zvýšené riziko spontánních abortů
- Zvýšená toxicita cytostatika **CMF** (cyklofosfamid, MTX, 5-FU)

# UGT1A1 (uridin difosfát glukuronosyl transferáza)

Tento enzym detoxifikuje rozdílné endogenní substance včetně **bilirubinu** a podílí se na biotransformaci **IRINOTECANU\*** na netoxické metabolity.

Genový polymorfismus je na úrovni promotoru ⇒ snížená exprese  
⇒ **SNÍŽENÁ AKTIVITA**



- **FAMILIÁRNÍ HYPERBILIRUBINÉMIE** (cca 12% populace)
- **VYSOKÉ RIZIKO TOXICITY** (myelotoxicita, průjmy) u pacientů užívajících **IRINOTECAN**

---

\* **IRINOTECAN** se používá v terapii nádorových onemocnění např. u kolorektálního karcinomu.



# TPMT (thiopurin S-methyl transferáza)

TPMT se podílí na metabolismu thiopurinových léčiv (AZATHIOPRIN, MERKAPTOPURIN (6-MP), THIIOGUANINY).



**11 %** Evropanů má sníženou katalytickou aktivitu TPMT

**0,3 %** Evropanů má kompletní deficit tohoto enzymu

léčba akutní lymfoblastické leukemie, imunosupresivum, léčba IBD... např. Crohnova choroba.

Standardní alela: **TPMT\*1**

Variantní alely jsou SNP

**TPMT\*2:** G238C  
**TPMT\*3B:** G460A  
**TPMT\*3C:** A719G  
**TPMT\*3A:** kombinace  
G460A + A719G

## VÝSKYT VARIANTNÍCH ALEL V POPULACÍCH

**Kavkazská** - TPMT\*3A, TPMT\*3C, TPMT\*2

**Africká** - TPMT\*3C

**Afro-americká** - TPMT\*3C, TPMT\*2

**Asijská** - TPMT\*3C

# TPMT (thiopurin S-methyl transferáza)

Přítomnost variantních alel ⇒ **snížení aktivity** enzymu TPMT

těžké, život ohrožující **toxicity** při užívání thiopurinů

zvl. pro **KREVNÍ KMENOVÉ BUŇKY**

## Standardní (wild) alela:

Standardní dávka

## Variantní alely:

Heterozygoté: 65 % standardní dávky

Homozygoté: 6-10 % standardní dávky

**MYELOSUPRESE**

**FATÁLNÍ LEUKOPENIE**

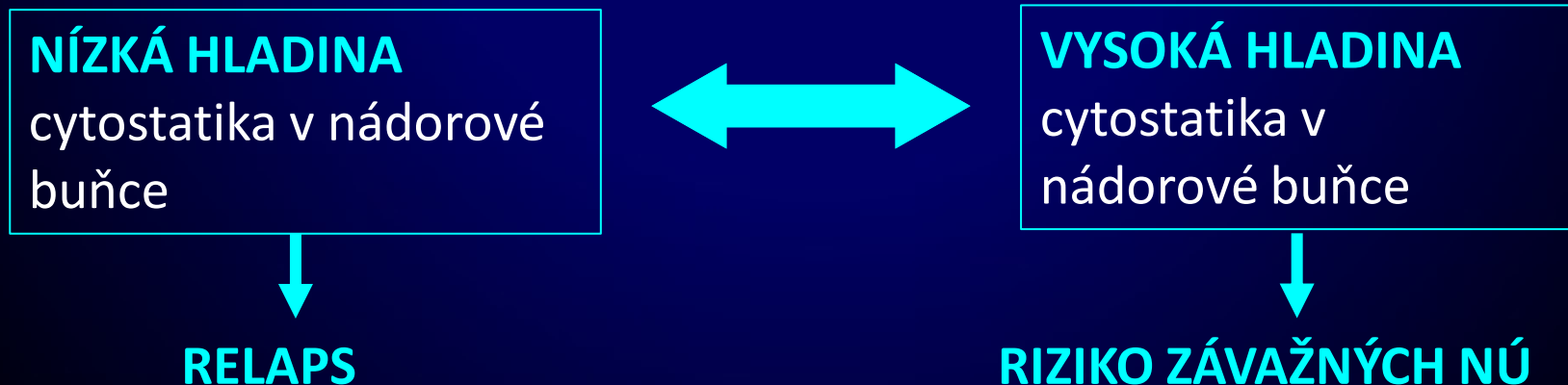
Genetické testování TPMT je dnes v klinické praxi rutinní

# TRANSPORTÉRY

- **ABC transportéry** proteinové a P-glykoproteinové povahy (MDR, MRP, BCRP, P-gp, LRP)
- **SLC transportéry** (SLC2A1, SLCO,...OAT, OATP, OCT,OCTN) (aniontové, kationtové a polypeptidové transportéry)

**Pro farmakokinetiku léčiv jsou nejvýznamnější genové polymorfismy v ABC transportérech.**

Přítomnost polymorfismů v genech kódujících transportéry ovlivňují efflux léčiva z buňky (nádorové buňky)



## MDR1 (ABCB1)

kóduje ATP-dependentní effluxovou P-glykoproteinovou pumpu. Chrání buňky proti xenobiotikům. Velkým problémem je zvýšená exprese v nádorových buňkách ⇒ **multidrug rezistence**

### Nejvíce studované polymorfismy v tomto genu:

- **1236C>T**
- **2677G>T/A**
- **3435C>T**

### Studovány jsou obvykle společně.

Ovlivňují biologickou dostupnost cytostatik, kinetiku takrolimu, ondansetronu, popsáno vyšší riziko CML a neefektivita terapie, náchylnost k UC, vznik kortikorezistence.....

# DALŠÍ PŘÍKLADY transportérů...

## BCRP (ABCG2)

Breast Cancer Resistance Protein.

Funguje jako effluxová pumpa ve tenkém střevě.

Nejběžnější SNP je **C421A** (u Asiatů výskyt až kolem 30 %)

Nalezena byla jeho asociace s zvýšenou biologickou dostupností perorálně podávaného **SUNITINIBU** (a jiných TKI) ⇒ **ZÁVAŽNÝ VÝSKYT NÚ**

## OATP1B1 (SLCO1B1)

Organic Anion Transporting Polypeptide

Transportér je na bazolaterální membráně hepatocytů a podílí se na příjmu např. bilirubinu, **STATINŮ**, **METOTREXÁTU**

Haplotyp s variant. alelami \*15, \*16 a \*17 ⇒ zvyšuje AUC **SIMVASTATINU**  
⇒ **VYŠŠÍ RIZIKO SIMVASTATINEM INDUKOVANÁ MYOPATIE**

## VKORC1

# Účinnost WARFARINU

= gen kódující C1 podjednotku transmembránového proteinu - „vitamin K epoxid reduktáza“ -VKOR. V genu jsou známy dva polymorfismy vyskytující se v těsné vazbě.

**C1173T** (v intronu)

– **G1639A** (v promotoru)

⇒ homozygotní nositelé variantních alel **AA** mají až 10,5 x **vyšší** riziko předávkování warfarinem.



**Efekt je ještě potencován přítomností variantních alel v genu pro CYP2C9 nebo lékovými interakcemi.**

**Iniciální dávka WARFARINU podle CYP2C9 a VKORC1 genotypů, doporučeno CPIC a upraveno z FDA materiálů**

<i>VKORC1</i>	<i>CYP2C9</i>					
	<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*1/*3</i>	<i>*2/*2</i>	<i>*2/*3</i>	<i>*3/*3</i>
GG	5-7 mg	5-7 mg	3-4 mg	3-4 mg	3-4 mg	0.5-2 mg
AG	5-7 mg	3-4 mg	3-4 mg	3-4 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg
AA	3-4 mg	3-4 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg	0.5-2 mg

Rozpětí jsou odvozena mnoha publikovaných klinických studií

**Konsorcium pro zavádění farmakogenetických poznatků do klinické praxe (CPIC - Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium)**

doporučuje používat tuto dávkovací tabulku pokud nelze použít farmakogenetický algoritmus na stránkách

<http://www.warfarindosing.org> **Ten predikuje optimální dávku warfarinu i s ohledem na další faktory.**





# GENETICKY MODIFIKOVANÉ CÍLOVÉ STRUKTURY LÉČIV

**ALOX-5** (arachidonát 5 lipoxygenáza) - polymorfní úseky v promotor. oblasti

Polymorfismus v tomto enzymu se vyskytuje u pacientů s bronchiálním astmatem.

Redukce terapeutické odpovědi na **ZILEUTON** - inhibitor ALOX-5.

**ACE** (angiotenzin konvertující enzym) - delece/inzerce repetit. s.

Jedinci se dvěma delečními alelami mají 2x vyšší hladinu ACE v plazmě → predispozice k hypertenzi, špatná prognóza v případě srdečního selhání a **slabá terapeutická odpověď na ACE inhibitory.**

## DEFICIT G6PD

**Glukóza - 6 - fosfát dehydrogenáza** katalyzuje redukci  $\text{NADP}^+$  na  $\text{NADPH}$   $\Rightarrow$  ochrana buněk před oxidačním stresem, zvl. u erytrocytů. Pokud chybí hrozí hemolýza erytrocytů.

**V genu, který je na chromozomu X bylo identifikováno více než 180 variantních alel (90 % SNPs). Výskyt variatních alel zvl. v oblastech s výskytem malárie.**

**U jedinců s mutací (hemizygotní chlapci, homozygotní dívky) je zvýšené riziko akutní hemolýzy 24-72 hodin po podání léčiv:** acetylsalicylová kys. ASA, nitrofurantoin, sulfametoxazol, chloramfenikol, ciprofloxacin,....

# ÚČINNOST FARMAKOTERAPIE MŮŽE BÝT KOMPLIKOVANÁ I V PŘÍPADECH

## FAMILIÁRNÍ HYPERCHOLESTEROLÉMIE

- V genu pro LDL receptor bylo popsáno víc než 680 mutací po celém genu. Vedou ke zkrácení receptorového proteinu nebo jeho úplnému chybění
- SNP v genu kódujícím cholesterol-7- $\alpha$ -hydroxylázu  $\Rightarrow$  odchylky LDL částic.

## FAMILIÁRNÍ HYPERINZULINÉMIE

Nalezeny mutace v ATP-draslíkovém kanále, který je součástí receptoru pro sulfonylureu (SUR) – delece, substituce, alternativní sestřih – vznikají nefunkční formy receptoru

# Polymorfismy asociované s rizikem výskytu patologií

Mutace v  **genu NOD2 /CARD15** predisponují svého nositele k nespecifickým střevním zánětům IBD, zvl. **CROHNOVA CHOROBA**

Přítomnost obou variantních alel  **genu ICAM-1 (CD54)** zvyšuje u svého nositele pravděpodobnost vzniku zánětlivých onemocnění (často autoimunitní etiologie)



NÁS      LABORATOŘE      PACIENT      LÉKAŘ

AESKULAB Brno, Ostrava  
Crohnova choroba: stanovení mutací R702W, G908R, 3020insC v genu NOD2/CARD15

Crohnova choroba se spolu s ulcerózní kolitidou (UC) řadí mezi nespecifické střevní záněty (IBD-Inflammatory Bowel Disease). Obě tyto klinické jednotky se vzájemně liší anatomicou lokalizací, intenzitou a rozsahem postižení. Projevy CD mohou být nalezeny v jakékoli části trávicího traktu, nejčastěji však v oblasti spojení tenkého a tlustého střeva. Pro toto onemocnění je typické, že zánět postihuje střevní stěnu v celé šířce a následně se mohou tvořit stenózy střeva, abscesy a píštěle.

Hlavními symptomy onemocnění jsou bolesti v podbřišku, hubnutí, únava, zvýšená teplota a průjmy, většinou bez krve. CD může mít projevy i mimo trávicí ústrojí, např. kožní vyrážky, kloubní záněty, oční záněty či výskyt aftózní stomatitidy. Přestože příčina CD není přesně známa, všeobecně se usuzuje, že se jedná o nemoc autoimunitního charakteru. Náchyllost k onemocnění je dána geneticky. Spouštěcím faktorem u citlivých osob mohou být různé environmentální vlivy. Při rozvoji CD se také uplatňují faktory infekční a následně imunologické. Mnozí pacienti mají příznaky řadu let před stanovením diagnózy.

Nemoc, která vykazuje velmi podobné příznaky jako CD, je UC. Stanovit, o kterou z těchto klinických jednotek se jedná, je poměrně složité, ale velmi důležité vzhledem k odlišnému způsobu léčby každé z nich.

S citlivostí k CD je spojováno několik kandidátních genů. Ty jsou umístěny na různých chromozómech (např. na chromozómu 5p13.1, 6p21). Statisticky nejvýznamnějším z genů se v současnosti jeví NOD2/ CARD15, nacházející se na chromozómu 16q12.

Tři mutace, které mohou být v uvedeném genu nalezeny (R702W, G908R, 3020insC) představují až 82% mutací nalezených u pacientů s CD.

Uvádí se, že relativní riziko rozvoje CD je 2-4x vyšší u přenašečů jedné mutace (heterozygoti) a až 4-35x vyšší u přenašečů dvou mutací (homozygoti, složení homozygoti). V naší laboratoři vyšetřujeme všechny tři uvedené mutace v NOD2/CARD15 genu.

# „TROMBOFILNÍ“ GENY

Jsou to geny, jejichž variantní alely **predisponují své nositele k hluboké žilní trombóze (HŽT), tromboembóliím** a jiným poruchám rovnováhy mezi prokoagulačními a antikoagulačními faktory.

**Faktor V**

**Faktor II (protrombin)**

**Faktor XIII**

**Protein C (PROC) = přirozený antikoagulační faktor (MTHFR)**

Studovány z hlediska trombofilií jsou také polymorfismy v dalších genech: gen pro PAI-1, receptor PROC, gen pro TNF- $\alpha$

## **FAKTOR V**      **Leidenská mutace**

Podstatou je bodová mutace **G1691A** → záměna AK **Arg506Gln** ve štěpných resp. inaktivačních místech aktivovaného C proteinu (APCR)

Změna tohoto štěpného místa ⇒ snížení degradace faktoru V a VIII.

### **Výskyt**

5% Evropanů. Nevyskytuje se mimo Evropu!

4-8x zvýšené riziko vývoje žilní trombózy u heterozygotů

50-80x vyšší riziko u homozygotů.

V kombinaci s užíváním hormonální antikoncepce riziko ještě mnohem vyšší.

**Mutace je asociována s rekurentními časnými potraty (Recurrent Pregnancy Loss – RPL)**

## FAKTOR II- PROTROMBIN

Substituční mutace **G20210A**. Přítomnost zvyšuje riziko rozvoje ŽT

### Výskyt:

2% v Kavkazské populaci

Někdy stanovován haplotyp s označením **FV R2 haplotype (H1299R)** = kombinace 4 mutací (3 mutace v genu pro FV, včetně Leidenské + 1 mutace v protrombinu). Bylo zjištěno, že produkty genů v tomto haplotypu ovlivňují protrombinázový komplex.

## FAKTOR XIII

Polymorfismus **V34L** nalezen v kódujícím úseku genu pro podjednotku A faktoru XIII. **Variantní alele připisován protektivní efekt proti HŽT.**



# PROTEIN C

Systém proteinu C (PROC) a proteinu S (PROS) je jeden z nejdůležitějších mechanismů down-regulace procesu krevního srážení. PROC se váže na komplex trombin-trombomodulin  $\Rightarrow$  \*APC.

APC + PROS  $\rightarrow$  proteolýza Va a VIIa.

**Deficit PROC je rizikovým faktorem pro tromboflebitidu, hlubokou žilní trombózu a plicní tromboembolismus.**

V současnosti studovány tři polymorfismy v promotoru genu pro protein C **-1654 C/T, -1641 A/G and -1476 A/T** u nichž byla nalezena korelace s plazmatickou hladinou PROC  $\Rightarrow$  riziko rozvoje HŽT.

**Všechny tři polymorfismy se dědí společně v haplotypu. Některé z haplotypů jsou protektivní, jiné trombofilní**



Určitá kombinace alel genů kódujících **HLA molekuly** predisponuje své nositele k výskytu **CELIAKIE (HLA-DQ2, HLA-DQ8, DRB1)**. **Jedinec může mít rizikový genotyp a po celý život neonemocnět. Je však prakticky vyloučeno, aby jedinec s celiakií neměl rizikový genotyp**

Některé HLA haplotypy asociovány s:

- kožní hypersenzitivitou nebo
- léky indukovaným poškozením jater

**Allopurinol, karbamazepin, abacavir**

## Genetické vyšetření predispozice celiakie

Celiakie je celoživotní geneticky podmíněné autoimunitní onemocnění, které se manifestuje po různé dlouhé době konzumace obilovin s obsahem lepku (glutenu). Vyskytuje se pouze u pacientů s genetickou predispozicí, která je silně asociovaná s HLA-DQA1\*05-DQB1\*02 (HLA-DQ2) a HLA-DQA1\*03-DQB1\*0302 (HLA-DQ8). Test na přítomnost či nepřítomnost alel HLA sérotypů DQ2 a DQ8 je používán jako jeden z markerů potvrzujících diagnózu (pozitivní nález), nebo jako marker pro vyloučení podezřelé diagnózy (negativní nález).

### Indikace k vyšetření na celiakii

- gastrointestinální symptomy (chronický nebo intermitentní průjem, bolesti břicha)
- pozitivní rodinná anamnéza (příbuzní prvního řádu – rodiče, sourozenci)
- deficiencie IgA
- neprospívající děti s růstovou retardací, opožděnou pubertou
- jiná autoimunitní onemocnění (diabetes mellitus I. typu, hepatitida, thyreoiditida)
- infertilita, opakované potraty
- exantém – dermatitis herpetiformis
- osteoporóza nepřiměřená věku
- anémie, především sideropenická
- neuropsychiatrické abnormality (polyneuropatie, ataxie, epilepsie, úzkosti/deprese)
- Downův, Turnerův, Williamsův syndrom

### Výhody genetického vyšetření predispozice celiakie

- vyšetření se provádí jednou za život
- odběr biologického materiálu nezatěžuje pacienta
- výsledek vyšetření neovlivňuje bezlepková dieta
- méně falešně negativních výsledků v porovnání s imunologickými testy
- negativita HLA-DQ2, HLA-DQ8 s celiakií spojených haplotypů umožňuje vyloučit onemocnění celiakii bez bioptického vyšetření
- dle doporučení Evropské společnosti pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu (ESPGHAN) z roku 2012 u pacientů s přesvědčivou klinikou a vysokou pozitivitou protilátek (TG 2 IgA > 10x nad normu) pozitivita HLA-DQ2 nebo DQ8 umožňuje stanovit diagnózu celiakie bez bioptického vyšetření

Přítomnost genového polymorfismu pouze  
ukazuje na **STATISTICKY VYŠŠÍ**  
**PRAVDĚPODOBNOST** výskytu daného jevu  
(patologie, závažného NÚ, neúčinnosti terapie),  
**který ovšem nemusí nastat.**

**Některé genové polymorfismy se sdružují do bloků – haplotypů, které se dědí společně (en block).**

K určení daného haplotypu lze identifikovat jen několik „značek“.  
Jako tyto značky mohou sloužit SNP (jednonukleotidové polymorfismy).

## **HAPLOTYPOVÉ MAPOVÁNÍ LIDSKÉHO GENOMU** (Projekt HapMap).

Již dnes lze hodnotit pomocí tzv. SNP čipů několik set tisíc SNP najednou. Problémem je interpretace a využití obrovského množství takto získaných dat

## **4. Možnosti využití farmakogenetiky a farmakogenomiky v klinické praxi, rizika a omezení**



# KLINICKÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ FARMAKOGENETIKY



## 1. PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA

= multidisciplinární vědní obor, zabývající se optimalizací léčebných a diagnostických postupů u konkrétního pacienta s využitím moderních metod.

**SPRÁVNÁ DIAGNÓZA**  
**SPRÁVNÁ LÉČBA**  
**PRO SPRÁVNÉHO PACIENTA**  
**VE SPRÁVNÉM ČASE**



## 2. INDIVIDUALIZACE FARMAKOTERAPIE

- ✓ farmakoterapie „ušitá na míru“ pro konkrétního pacienta tak, aby byla **NEJEFEKTIVNĚJŠÍ** a měla **NEJMÉNĚ NÚ**
- ✓ výběr vhodné kombinace při **maximálním snížení rizika lékových interakcí**
- ✓ úprava dávkování respektující genový polymorfismus

### IDEÁLNÍ LÉČIVO:

- Efektivní léčba nebo prevence nemoci
- Minimální nežádoucí účinky

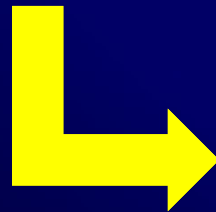
# 3. PREDISPOZICE K PATOLOGICKÝM STAVŮM

- Upřesnění diagnózy
- Predikce rozvoje choroby



**K čemu nám toto zjištění bude ?**

- Vyhnout se vysoce rizikové farmakoterapii
- Úprava životního stylu



**Oddálení nástupu choroby  
Zmírnění projevů nemoci**

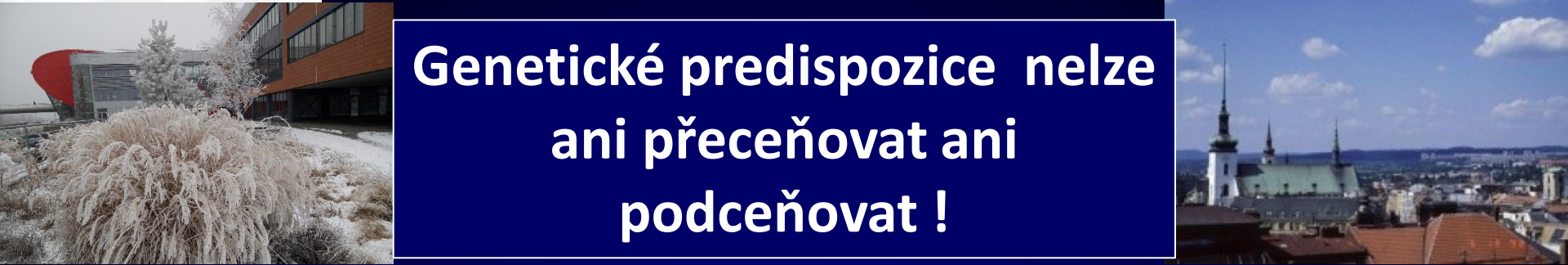
## Pharmacogenetic and Pharmacogenomic Knowledge Base (PharmGKB)

CÍL: vytvořit dokonalý zdroj informací o interakcích mezi genetickou variabilitou a lékovou odpovědí [www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org)

## Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC)

CÍL : vytvořit volně dostupné, recenzně hodnocené **GUIDELINES PRO DÁVKOVÁNÍ LÉČIV** pro ty, kteří mají přístup k preventivnímu genetickému testování

**„CLINOMICS“ (Aplikovaná klinomika)** studuje genomická data společně se souvisejícími daty klinickými



**Genetické predispozice nelze  
ani přeceňovat ani  
podceňovat !**

## **INDIVIDUÁLNÍ RIZIKO KLINICKÝCH KOMPLIKACÍ**

je výsledkem vzájemných interakcí mezi  
**VNĚJŠÍMI FAKTORY + GENETICKÝMI FAKTORY**

## GENETICKÉ FAKTORY

Vytvoří podmínky

- *Genotyp: geny kódující receptory, iontové kanály, metabolické enzymy, transportéry.... a další*

## NEGENETICKÉ FAKTORY

Jsou spouštěčem patogeneze

### Faktory vnějšího prostředí

- *NUTRIČNÍ FAKTORY, životní styl (kouření, konzumace alkoholu, sportovní aktivity) pozitivní myšlení...*
- *DRUG-DRUG INTERAKCE (souběžně podaná léčiva)*
- *Epigenetické změny v DNA (metylace, acetylace)*
- *Rozdílná inaktivace chr. X*
- *Posttranslační modifikace proteinů (alternativní sestřih)*

### Negenetické změny DNA, RNA, proteinů



# FARMAKOGENETICKÝ VÝZKUM

## CÍL:

**Hledání statisticky významných asociací mezi vyjádřením fenotypu a genotypem**

## NÁSTROJE:

### **ASOCIAČNÍ STUDIE S KANDIDÁTNÍMI GENY**

- **Case-control studie** - porovnání výskytu určité alely (genotypu) mezi zdravými a nemocnými lidmi
- **Familiární asociační studie**- zaměřením se na kandidátní gen nebo lokus, který je u „postižených“ jedinců častěji sdílený

## METODY:

Genome-Wide-Human SNP array (chipy), PCR metody, HRM analýza.....



# KOMPLIKACE FARMAKOGENETICKÉHO VÝZKUMU

**Nutnost NAJÍT A IDENTIFIKOVAT významné genové polymorfismy a nutnost STATISTICKY POTVRDIT spojitost mezi polymorfismem v genu a jeho projevem**

- Zdlouhavost
- Existence populačních rozdílů
- Při malé frekvenci výskytu alely je problematické najít dostatečný počet subjektů (pacientů) s daným polymorfismem do klinické studie



# RIZIKA A OMEZENÍ FARMAKOGENETICKÉHO VÝZKUMU

## **POLYGENNOST SLEDOVANÝCH FENOTYPOVÝCH PROJEVŮ**

Sledovaný fenotyp je ovlivněn mnoha geny + vnějšími faktory

## **KOMPLEXNOST LIDSKÉHO GENOMU**

Variabilní je nejen ODPOVĚĎ PACIENTA NA LÉČIVO, ale i jeho VNÍMAVOST NA VNĚJŠÍ FAKTOR (opět daná také geneticky)

## **HAPLOTYPOVÁ DĚDIČNOST**

Haplotyp je skupina genů, které jsou vždy děděny společně od jednoho z rodičů

Některé genetické faktory jsou na sobě NEZÁVISLÉ, jiné jsou ZÁVISLÉ



# KLINICKÉ MOŽNOSTI VYUŽITÍ FARMAKOGENOMIKY

## 1. FARMACEUTICKÝ VÝZKUM A VÝVOJ

**PREDIKCE** účinnosti/toxicity  
potenciálních léčiv na základě změn  
v profilu genové exprese

**IDENTIFIKACE GENŮ** tzv. „**DRUG  
TARGETS**“ spojených s efektivitou léčiva  
⇒ léčiva s novým mechanismem účinku

Nalezení **NOVÝCH GENŮ SPJATÝCH S  
PATOGENEZÍ** určité nemoci ⇒ nové  
možnosti kauzální terapie

80% léčiv, které vstupují  
do VÝVOJOVÝCH fází  
**SELHÁVÁ A NEDOJDE AŽ  
DO FÁZE PRODEJE**

# 1. FARMACEUTICKÝ VÝZKUM A VÝVOJ

## CÍL:

Vyrábět léčiva :

- ❖ **S** vyšší účinností
- ❖ **S** nižšími nežádoucími účinky
- ❖ **S** ohledem na konkrétní genové polymorfismy
- ❖ **PRO** cílenou a kauzální terapii (genovou terapii)

Farmakogenomika může přispět k tomu, aby  
**PROCES VÝROBY LÉČIV BYL „CHYTŘEJŠÍ“**

## 2. Nezbytnost mít na zřeteli genetickou diverzitu subjektů klinických hodnocení

I kvalitní léčivo může být odmítnuto z důvodu nízké účinnosti a vysokého procenta NÚ v případě, že se ve studii náhodně sejde více jedinců určitého variantního genotypu.

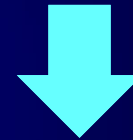
# Spolupráce personalizované medicíny a farmaceutického průmyslu – specificky cílená léčiva

- ✓ **HERCEPTIN:** léčba HER2 pozitivních metastatických nádorů prsu
- ✓ **GLEEVEC:** léčba pacientů s Filadelfským chromozomem – pozitivní chronická myeloidní leukémie
- ✓ **ERLOTINIB:** léčba nemalobuněčného karcinomu plic  
Nejefektivnější v případě, že nádory jsou pozitivní na receptory pro epidermální růstový faktor
- ✓ **ILOPERIDON:** Léčba schizofrenie. Společnost identifikovala genetický marker, který predikuje dobrou odpověď na léčivo
- ✓ **MARAVIROC:** léčba HIV.

# Využití znalostí genových polymorfismů ve farmakoterapii při hledání nových léčiv

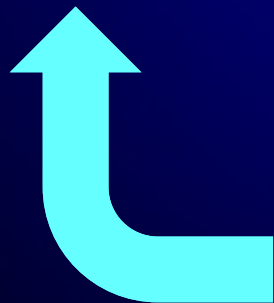
**CCR5** je chemokinový receptor, především na membráně buněk imunitního systému. Mj. zprostředkovává vstup HIV-1 virů do buněk Th lymfocytů.

V genu identifikována **delece 32bp dlouhá** ( $\Delta 32$  alela)  $\Rightarrow$  chybný receptorový protein  $\Rightarrow$  nedostatek receptorů



**Homozygotní nositelé této alely** jsou přirozeně rezistentní vůči infekci kmenem **HIV-1**

Před zahájením léčby nutno provést **TEST TROPISMU!**



**MARAVIROC**  
(antiretrovirotikum)



**M-tropní kmeny HIV-1** (virus R5)  
vstupují přes CCR5 receptory

**T-tropní kmeny HIV-1** (virus X4)  
vstupují přes CXCR4 receptory

**MARAVIROC** (Celsentri) je indikován k léčbě  
pacientů infikovaných  
**jen prokazatelným CCR5-tropním HIV-1 kmenem**





# FARMAKOLOGIE – I



**Děkuji vám za pozornost**

<http://farmakogenomika.cz/index.php?kapitola=uvod>