



Personalizovaná medicína a farmakogenetika

farmakoterapie šitá na míru

doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D., MBA

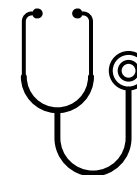
Personalizovaná medicína

– Definice

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

Farmakoterapie respektující individuální predispozice pacienta

- výběr vhodné kombinace léčiv pro dosažení maximální účinnosti a minimalizace rizika lékových interakcí a NÚ
- specifické dávkování



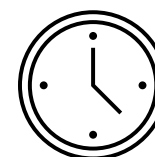
SPRÁVNÁ
DIAGNÓZA



SPRÁVNÉ
LÉČIVO VE
SPRÁVNÉ
DÁVCE



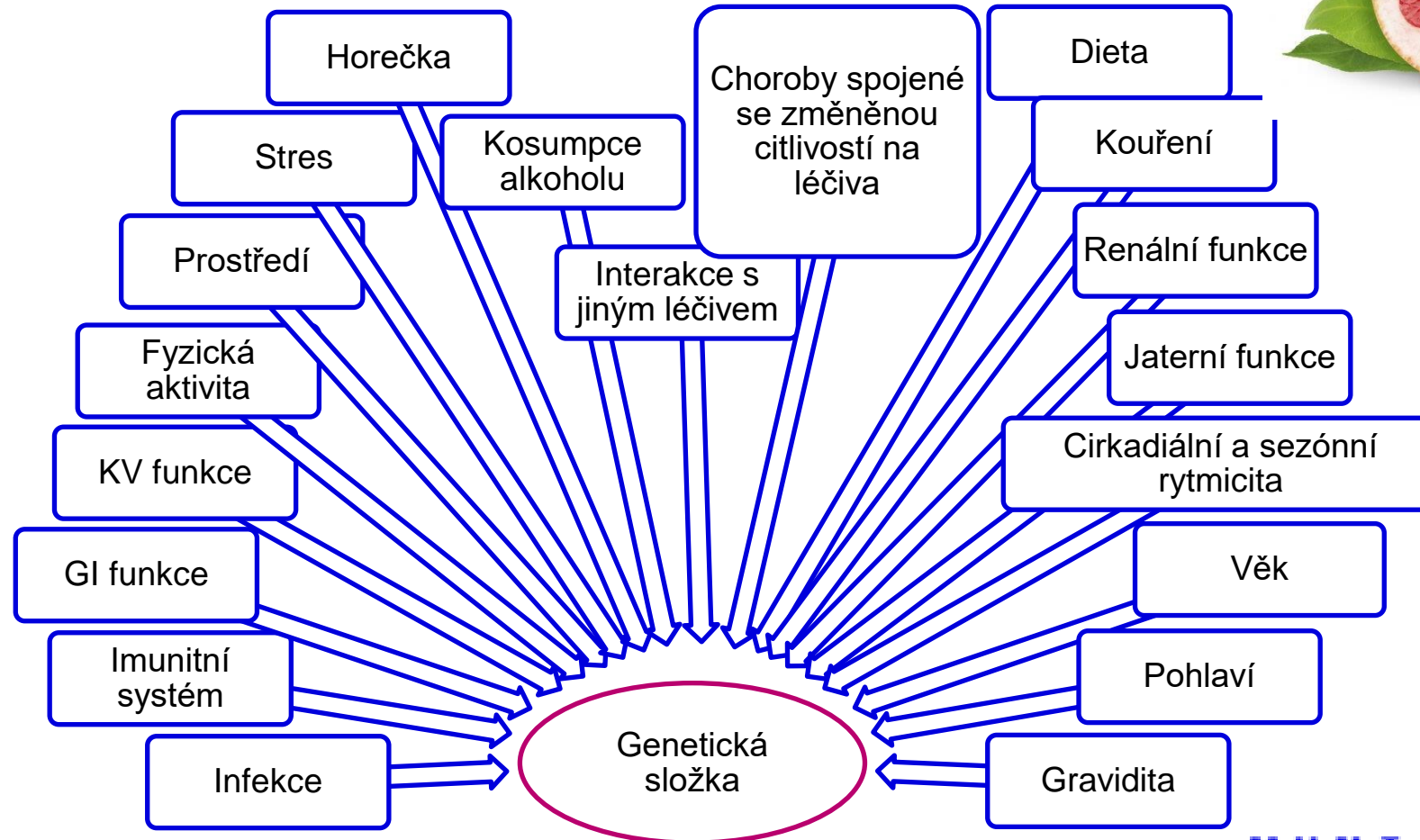
PRO
SPRÁVNÉHO
PACIENTA



VE SPRÁVNÉM
ČASE

Farmakoterapie

– Faktory ovlivňující účinnost a bezpečnost



Farmakoterapie

– Odpovídavost

– Příčiny

- vnější (adherence k léčbě...)
- vnitřní (vrozená predispozice...)

○ MTHFR

Nonrespondér
NÚ



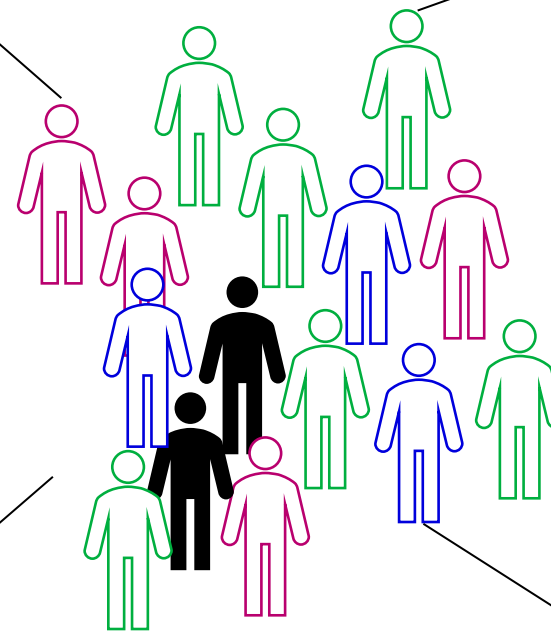
Respondér
bez NÚ



Respondér
NÚ

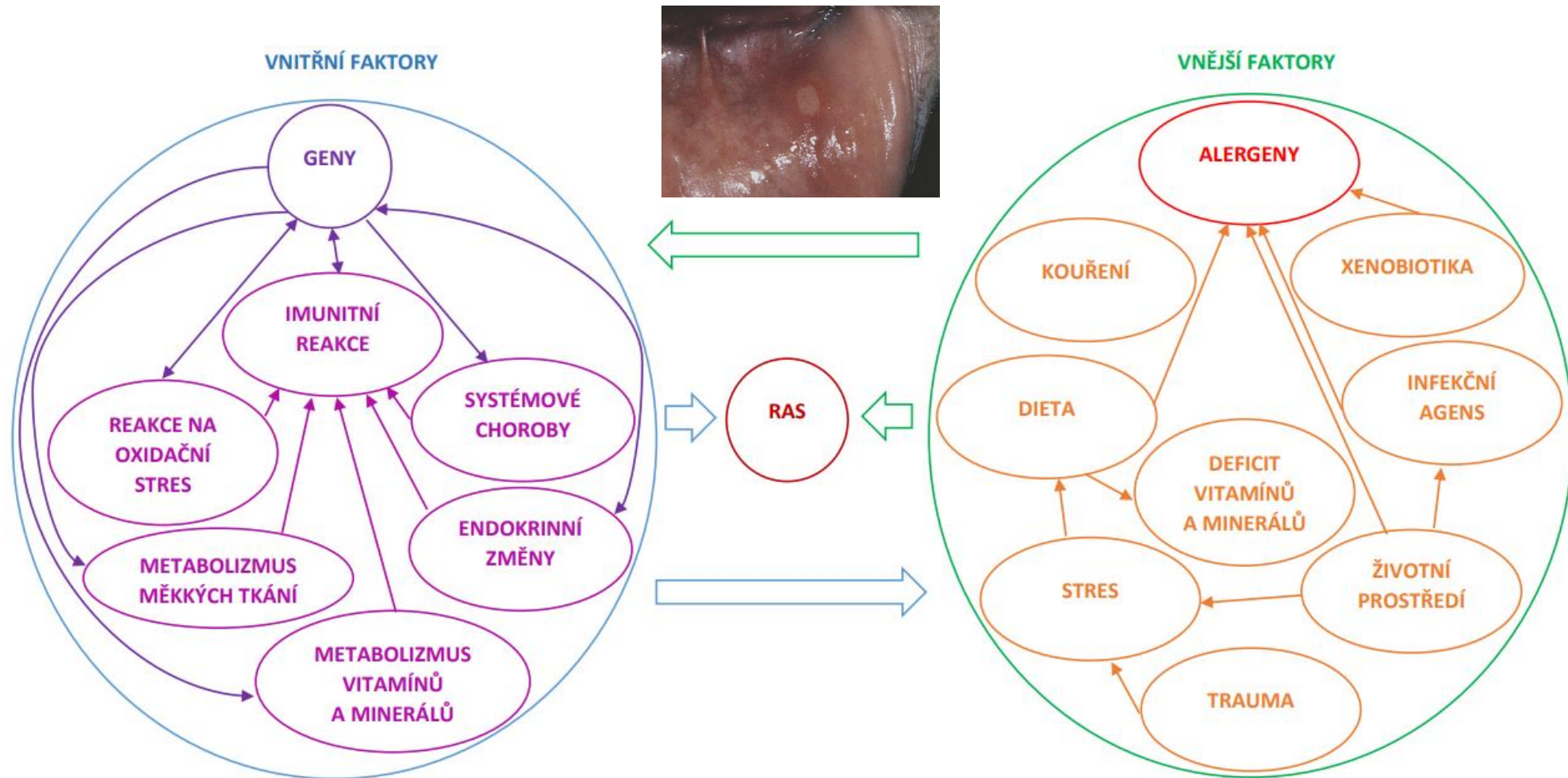


Nonrespondér
bez NÚ



MUNI | RECETOX

Recidivující aftózní stomatitida



Terapie

– RAS

– symptomatická terapie, podpůrná terapie – **Škachova kúra**

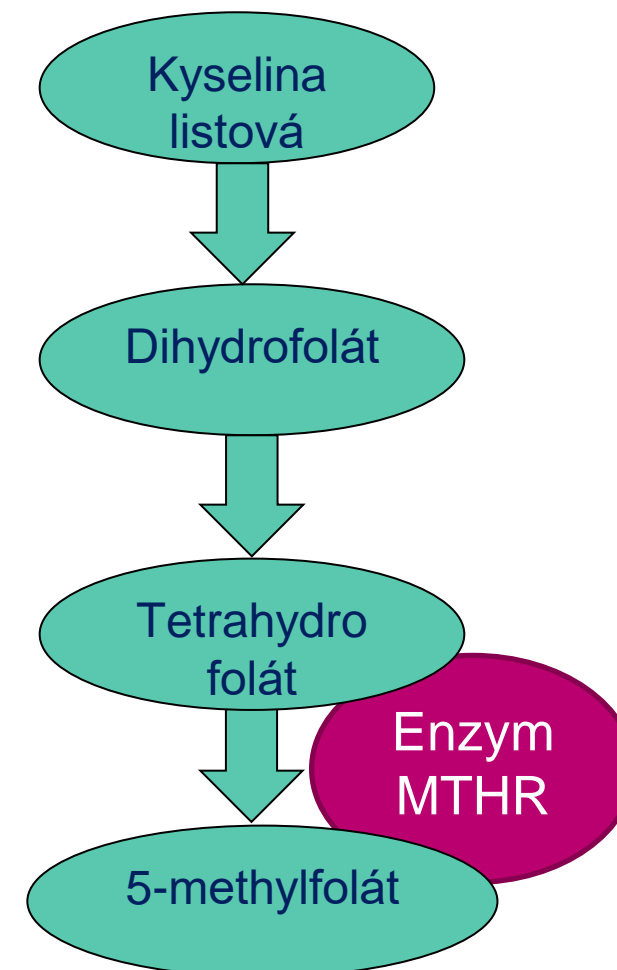
kyselina listová, pyridoxin

– kyselina listová je pouze prekurzorem biologicky aktivní látky – folátu označeného jako vitamin B₉




– glukosaminová sůl 5-methylfolátu (4. generace) - oproti 3. generaci je dlouhodobě stabilní, má vysokou rozpustnost ve vodě, lepší biologickou dostupnost a bezpečnost

Kyselina listová

- MTHFR (methylen-tetrahydrofolát-reduktáza)
- polymorfizmy: C677T, A1298C
- geneticky podmíněná snížená aktivity enzymu
 - zpomalená metylace homocysteinu na methionin
 - akumulace homocysteinu v plazmě
 - KV riziko
- ❖ Zvýšená prevalence tromboembolických poruch u nositelů
- ❖ u homozygotních nositelek variantních alel zvýšené riziko spontánních abortů
- ❖ výšší toxicita cytostatika CMF (cyklofosfamid, MTX, 5-FU)



Pilotní studie – PGx RAS

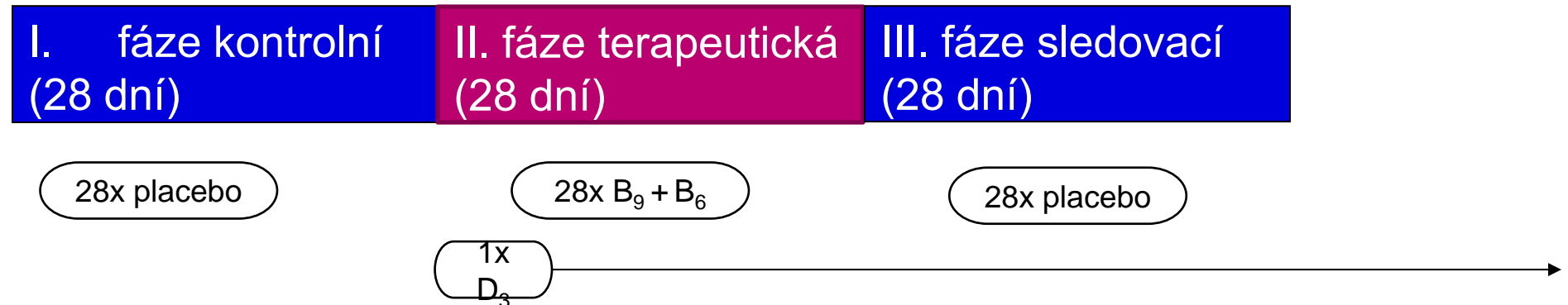
SNP		A1298C <i>MTHFR</i> (rs1801131) MAF (C)=34 %			
	genotyp	AA	AC	CC	
	funkce enzymu MTHFR	100 %	80-100 %	60 %	
	frekvence v EUR populaci	43 %	45 %	12 %	
C677T <i>MTHFR</i> (rs1801133) MAF (T)=31 %	CC	--/--	--/+-	--/++	
	100 %	100%	80%	60%	
	46 %	EM	EM	IM	
	CT	+--/--	+--/+-	+--/++	
	65 %	65%	50%	30%	
	44 %	IM	IM	PM	
	TT	++/--	++/+-	++/++	
	20 %-30 %	<30%	<30%	<10%	
	10 %	PM	PM	PM	

**haplogenotyp
funkce enzymu MTHFR
předpokládaný fenotyp
osoby s RAS v naší studii**

Pilotní studie – PGx RAS

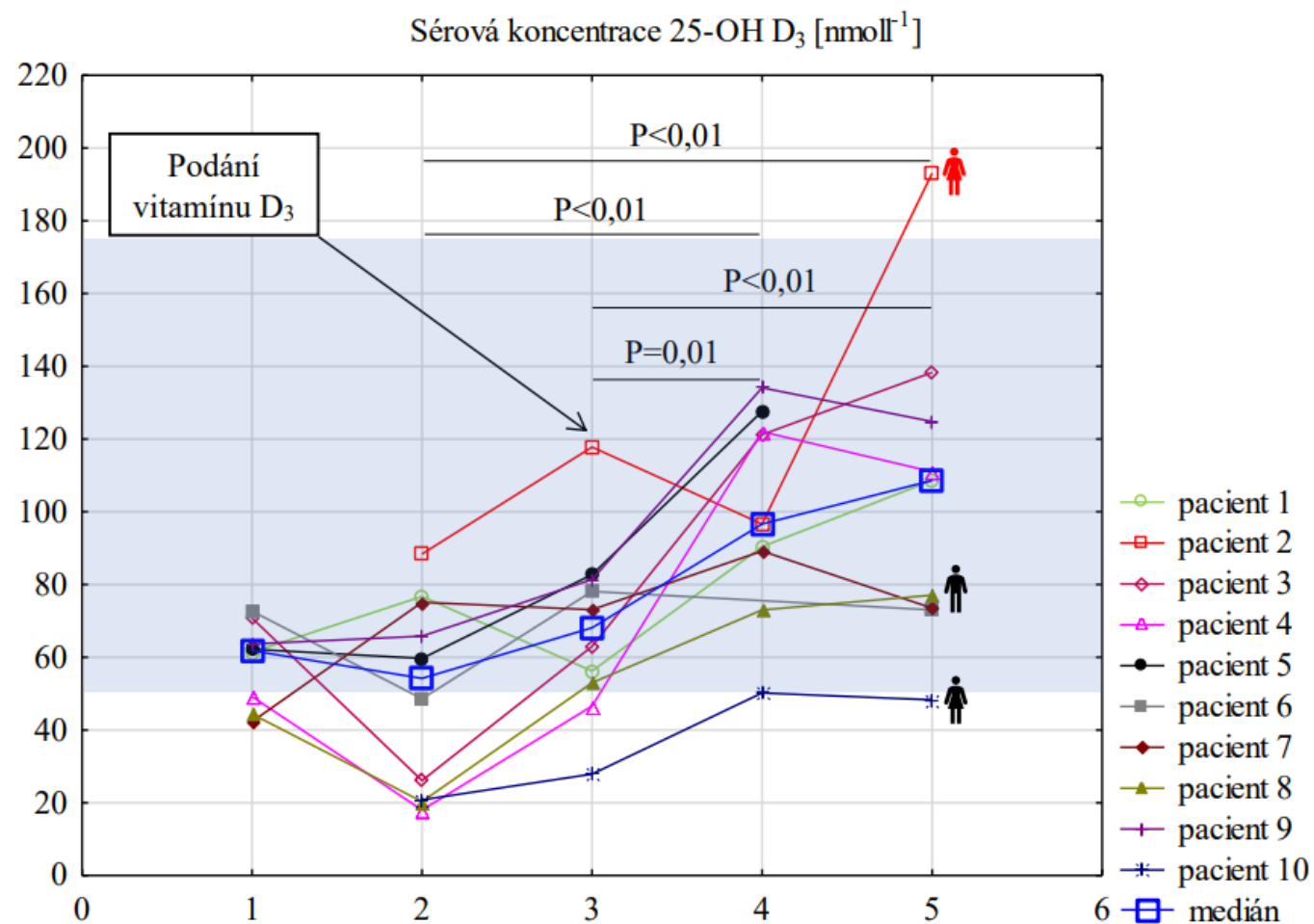
– Design

- 10 pacientů – genotypizování na haplogenotypy v genu MTHFR (IM a PM)
- Farmakoterapie v upraveném designu dvojitě zaslepené zkřížené studie (cross-over design) probíhala od jara 2018 v délce trvání 3 měsíců.
- Pacientům byl ve třífázovém schématu podáván aktivní folát (glukosaminová sůl 5-methylfolátu), vitamíny B₆ a D₃



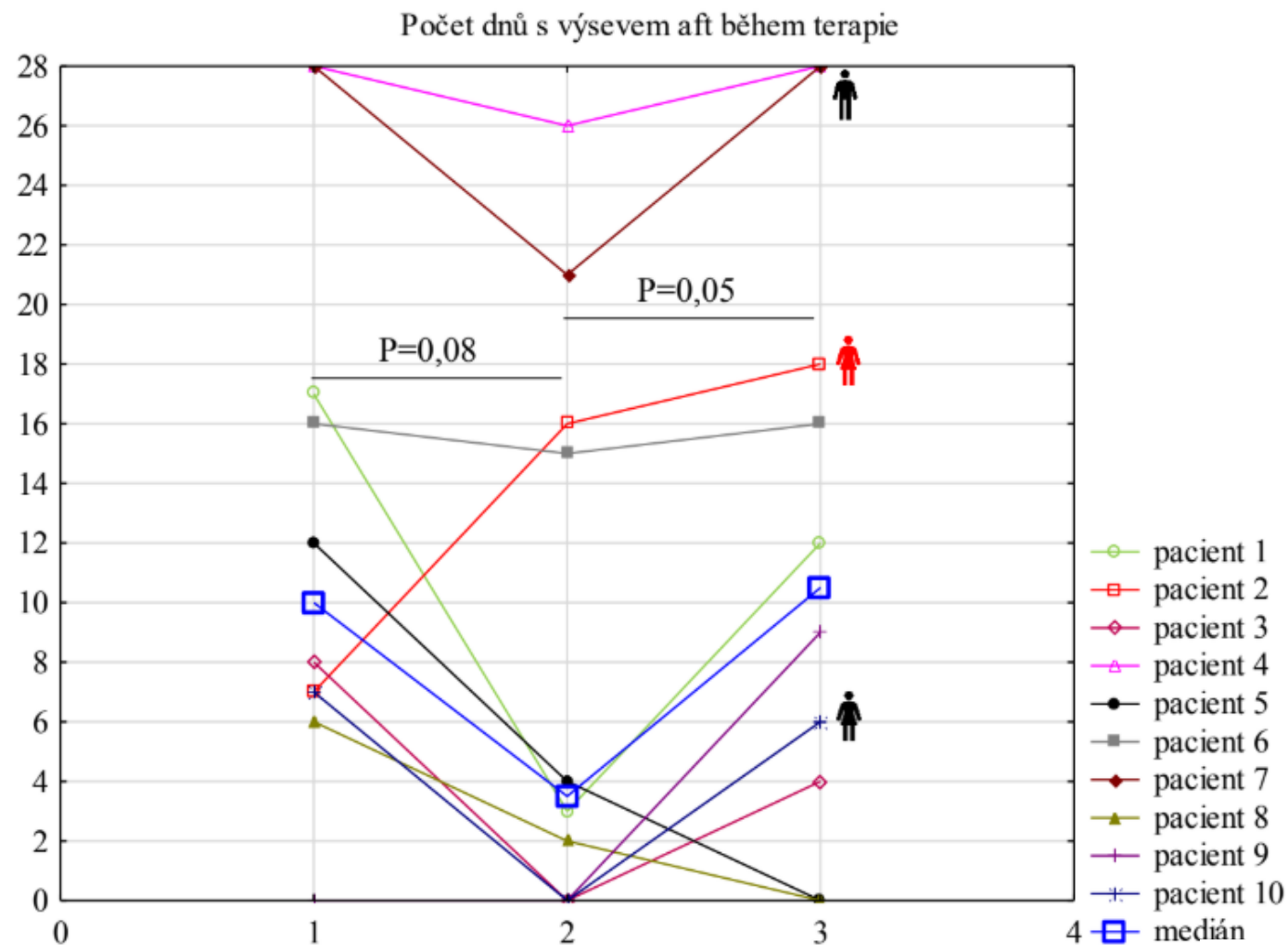
Pilotní studie – PGx RAS

Výsledky



Pilotní studie – PGx RAS

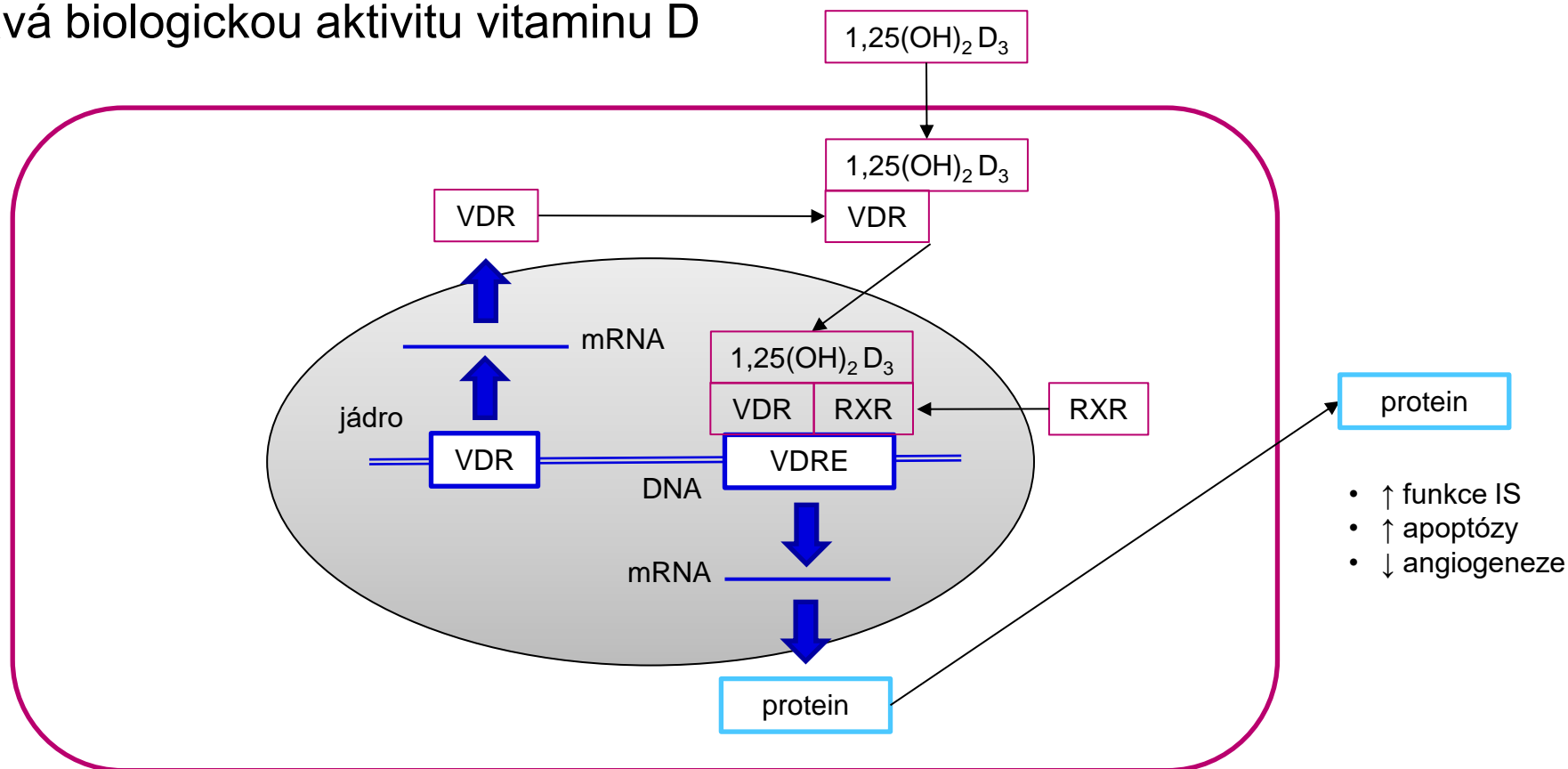
– Výsledky



Pilotní studie – PGx RAS

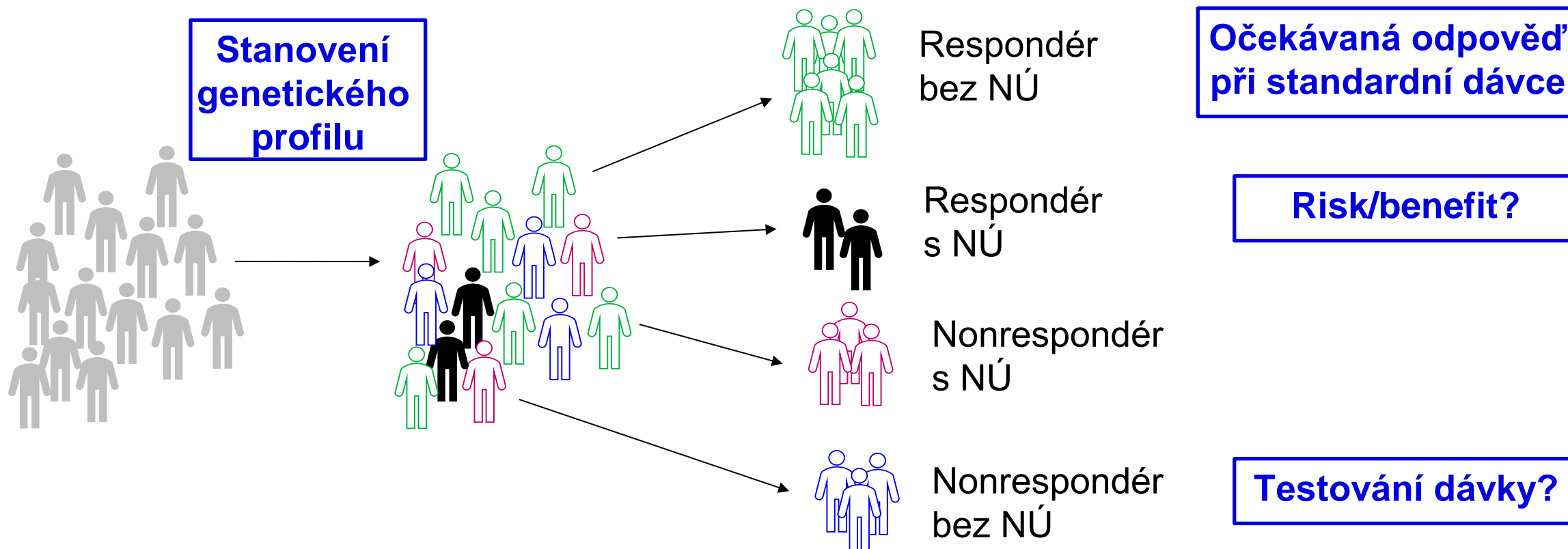
– VDR

– zprostředkovává biologickou aktivitu vitamínu D



Farmakoterapie

– Individualizace farmakoterapie – klinické hodnocení léčiva



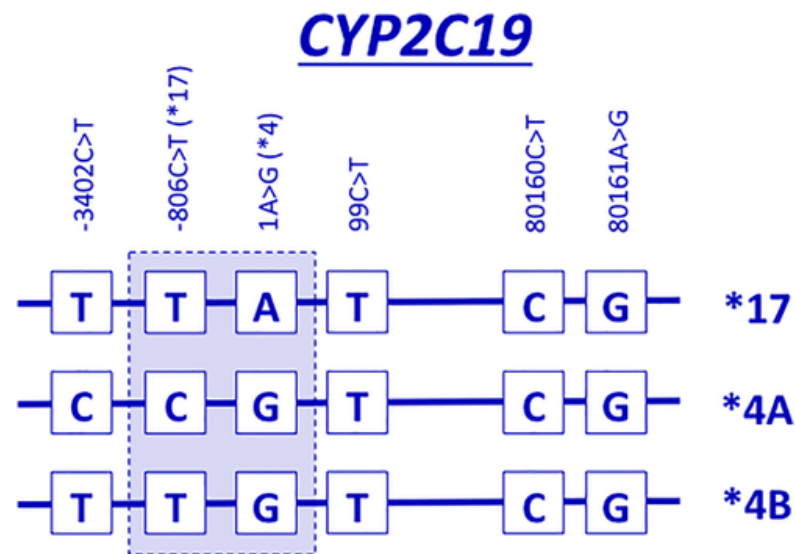
Farmakoterapie

– Limitace

– Genetické faktory

- nezbytná předchozí identifikací **významných genových polymorfizmů** na základě dlouhodobých **klinických výzkumů**
- variabilita lékové odpovědi není obvykle dána jen variabilitou jednoho genu (monogenní variabilita) ale variabilitou mnoha genů (**multigenní variabilita**)
- některé genetické faktory jsou na sobě nezávislé, jiné závislé

- Haplotypová dědičnost – některé genové polymorfizmy se sdružují do bloků – **haplotypů**, které se dědí společně



[Klein a Ritchie, 2017](#)

MUNI | RECETOX

Farmakoterapie

- Limitace
- **Negenetické faktory** – faktory vnějšího prostředí
 - genotyp sice není citlivý na vnější faktory, ovšem interakce **drug-drug** (léčivo s léčivem) a léková odpověď pacienta mohou být těmito vnějšími faktory ovlivněny.
- Genetické a negenetické faktory vedou k **individuální odpovědi na léčivo**.
- Přítomnost genového polymorfizmu pouze ukazuje na **statisticky vyšší pravděpodobnost** výskytu daného jevu (patologie, závažného NÚ, neúčinnosti terapie), který ovšem nemusí nastat.
- Terapeutické monitorování léčiv – opakovaná fenozypizace

Farmakogenetika vs. farmakogenomika (PGx)

- Definice

- Farmako – věda zabývající se působením léčiva na živý organizmus a naopak

- Genetika – věda o dědičnosti

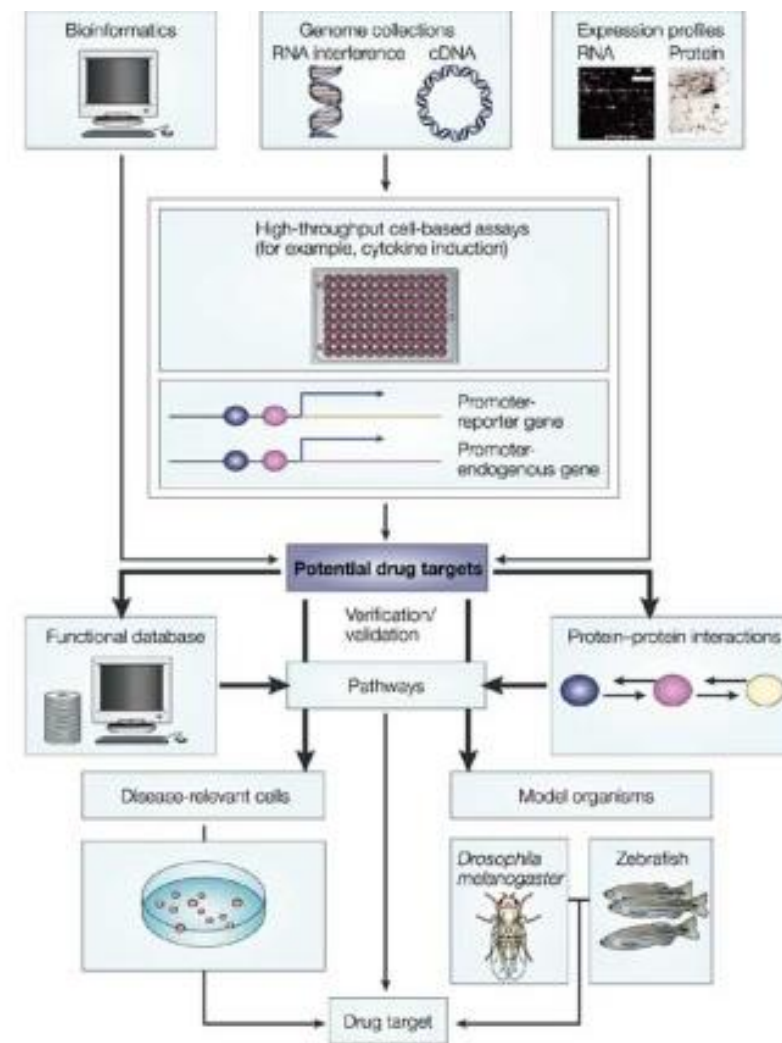
Farmakogenetika se zaměřuje na variabilitu odpovědi na léčivo vyvolanou jednotlivými genovými polymorfizmy.

- Genomika – podobor molekulární biologie zabývající se lidským genomem jako celkem

Farmakogenomika se zaměřuje na variabilitu odpovědi na léčivo vyvolanou variabilitou v genomu.

Farmakogenomika

- Definice
- 1997 A. Marshall [Marshall, 1997](#)
- identifikace a genetické určení tzv. „**drug targets**“ (cílových struktur léčiva) - vývoj účinnějšího léčiva s menším počtem nežádoucích účinků
- studuje rozdílné účinky potenciálních léčiv *in vivo* i *in vitro* na genovou expresi jako celek, hodnotí expresní profily
- zkoumá vztah účinku léku na úrovni celého genomu, resp. transkriptomu



Farmakogenetika

– Definice

– 1959 F. Vogel [Vogel, 1959](#)

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

– hledání vztahu mezi metabolismem, případně efektivitou léčiva, a přítomností polymorfizmů genů

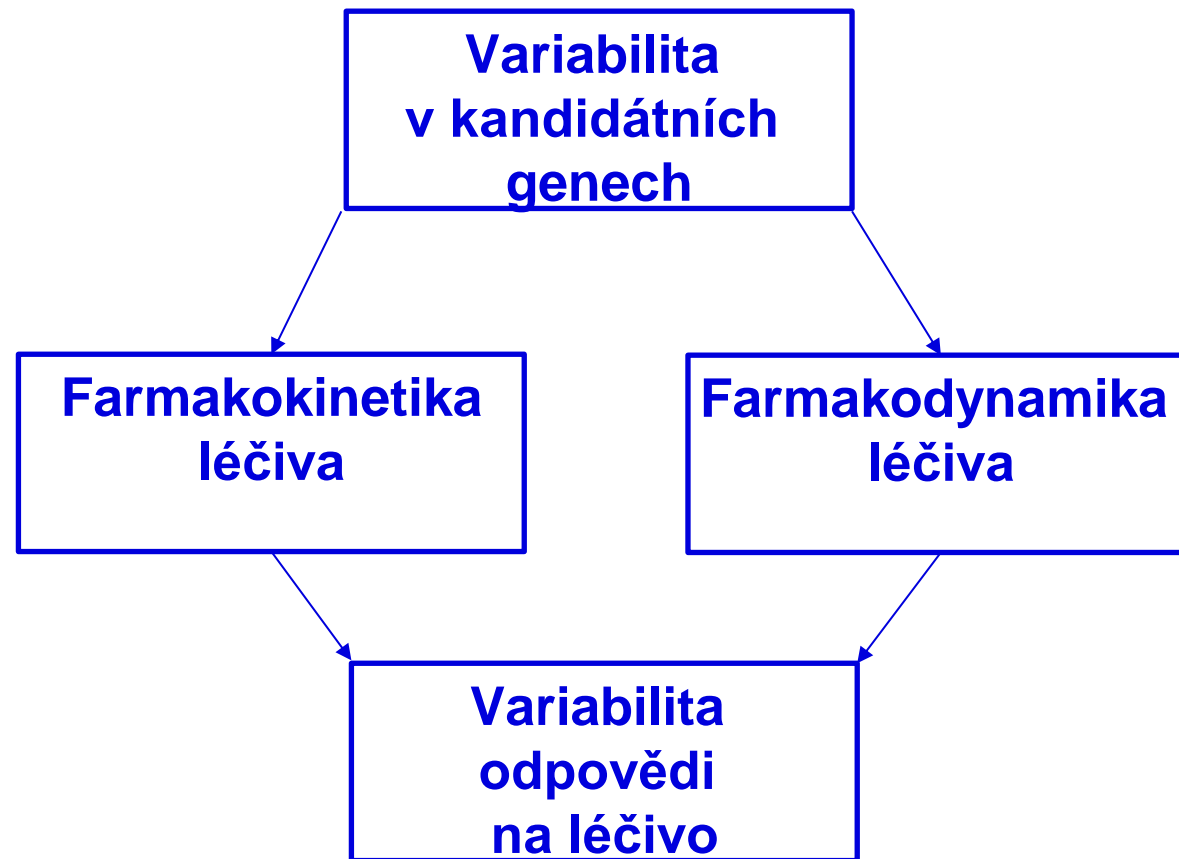
– pro určení, který dostupný lék bude mít u konkrétního pacienta **největší terapeutický benefit**, zatímco **nežádoucí účinky** budou **minimální**

Farmakogenetika

– Kandidátní geny

Geny, které kódují:

- enzymy, zapojené v metabolizaci léčiva
- receptorové proteiny
- membránové transportéry
- proteiny iontových kanálů



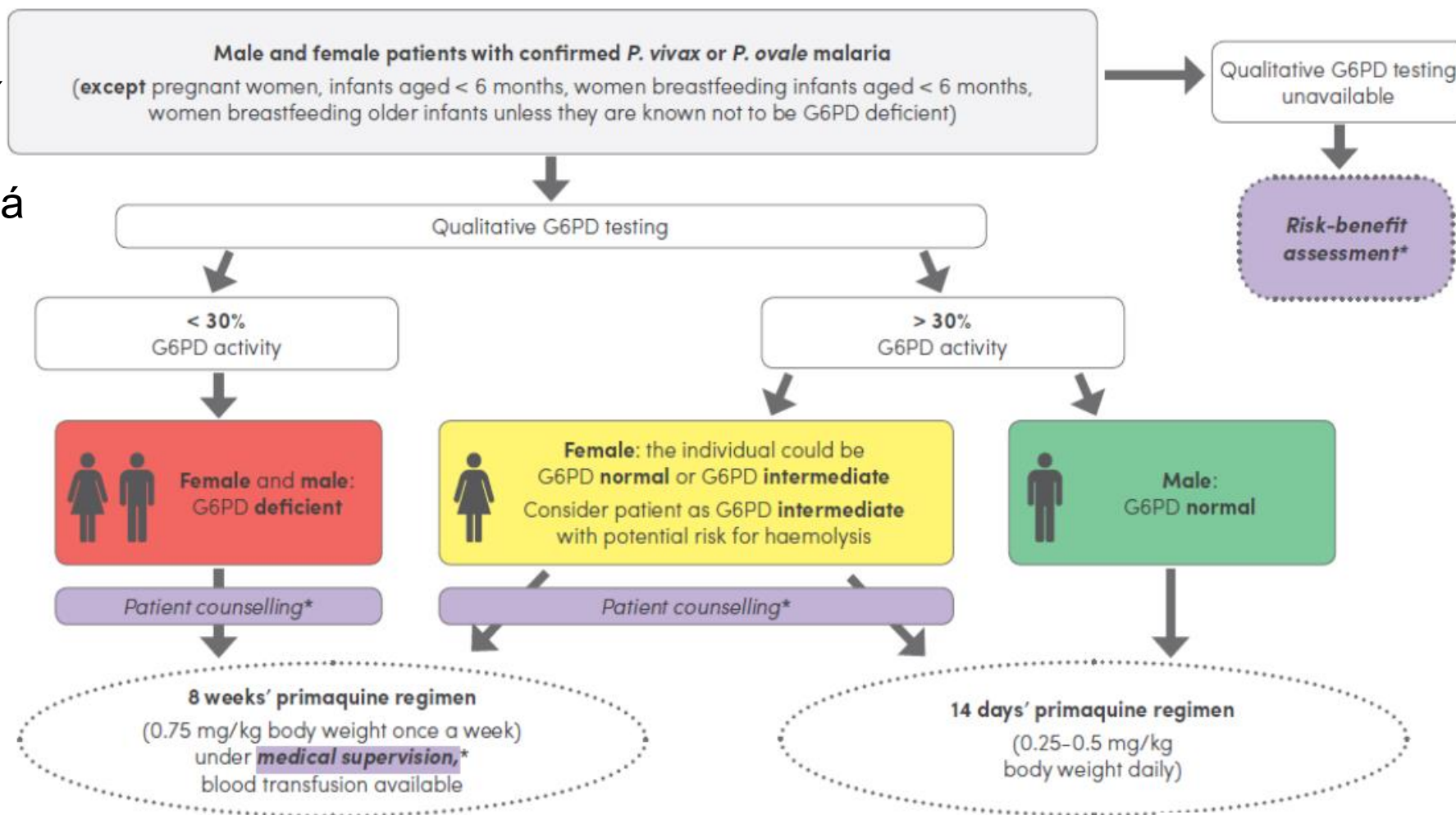
Farmakogenetika

- Variabilita genomu
- Frekvence v populaci: vzácná mutace x polymorfismus
- Variabilita mezi jedinci i mezi populacemi
- Individuální rozdíly ve farmakokinetice/farmakodynamice

Reference	Ethnic group (population)	CYP2C19*17 MAF (%)
Hernandez-Suarez et al., 2018	Mixed (Latin Americans, Puerto Rico)	14.1
Fricke-Galindo et al., 2016	Caucasians (Sweden, Norway, Finland, Denmark)	20.8
Fricke-Galindo et al., 2016	Caucasians (Greece, Italy, Portugal, Spain)	42.0
Arici et al., 2016	Mixed (Turkey)	25.0
Jin et al., 2015	Chinese (Tibet)	1.56
Dehbozorgi et al., 2018	Mixed (Iran)	27.1

Farmakogenetika

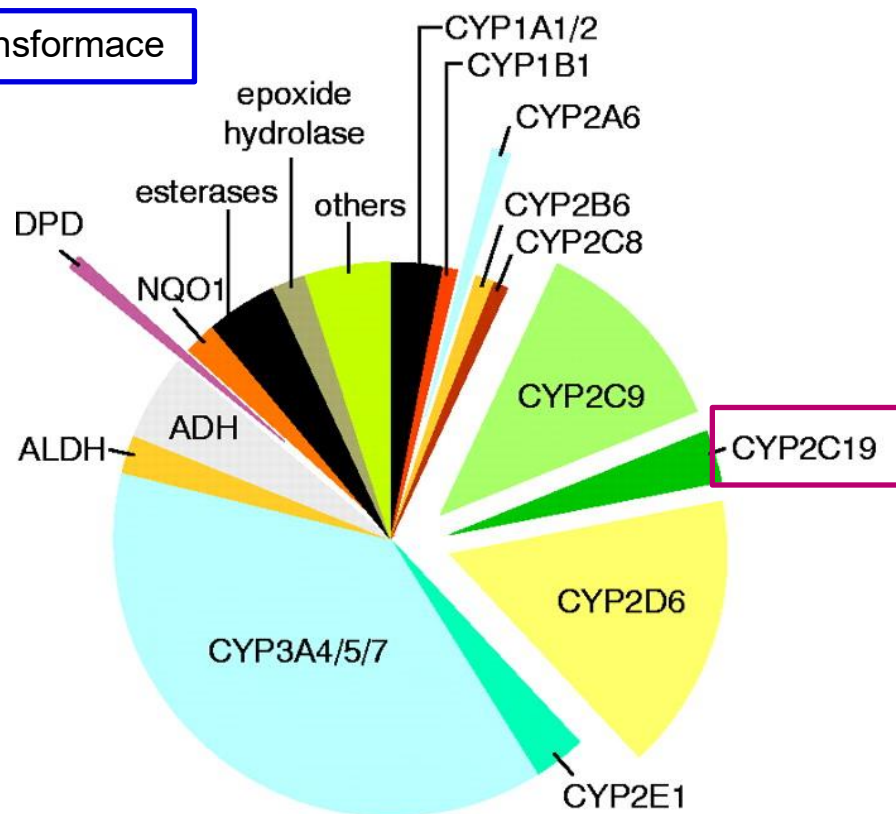
- Primachin
- X recesivní
- Hemolytická anémie



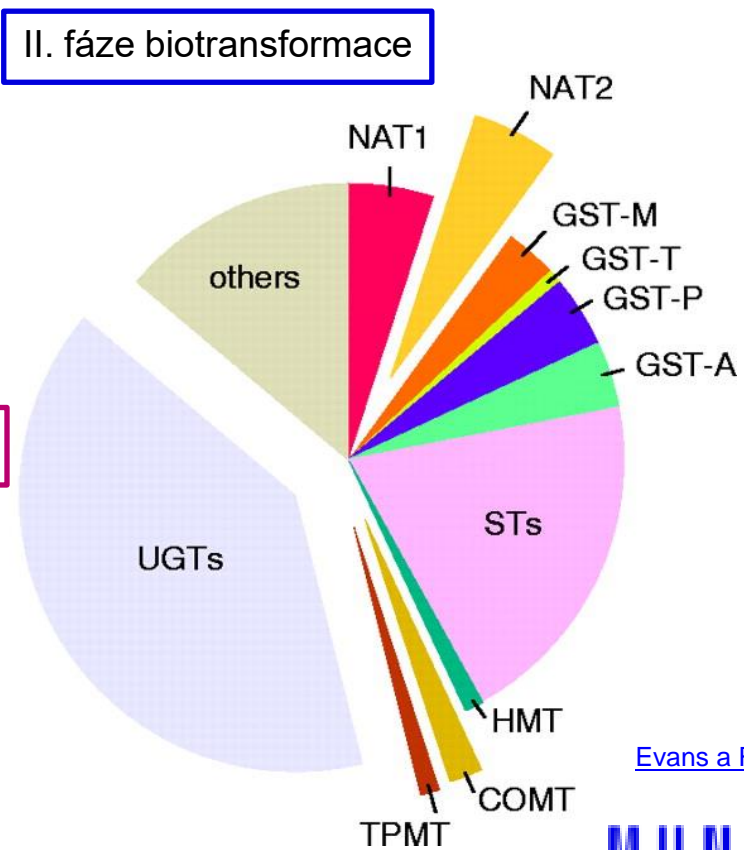
Farmakokinetická variabilita

- Kandidátní geny – enzymy, zapojené v metabolizaci léčiva – biotransformační enzymy
- mtb xenobiotik (zvýšení polarity, konjugace s glutathionem, kys. glukuronovou)

I. fáze biotransformace



II. fáze biotransformace



Evans a Relling, 1999

Farmakokinetická variabilita

– Biotransformační enzymy

– Snížení aktivity daného enzymu

Zpomalení metabolických dějů

→ **zpomalené** odbourávání léčiva

→ **hromadění léčiva** v organismu

→ **růst NÚ** až intoxikace

– U proléčiva může snížená aktivita enzymu znamenat

vytvoření **nedostatečného množství aktivního**

metabolitu a nedostatečnou účinnost léčiva.

– Zvýšení aktivity daného enzymu

Zrychlení metabolických dějů

→ **zrychlené** odbourávání léčiva

→ **nedostatečná koncentrace**

léčiva v organismu

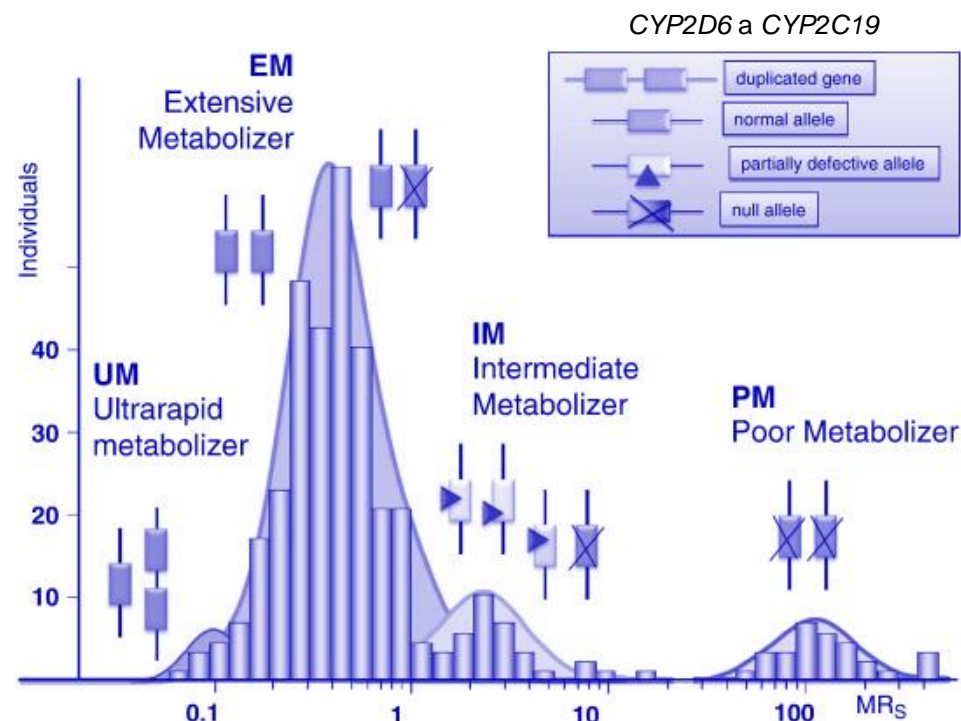
→ **nedostatečná účinnost léčiva**

– Změna genové exprese

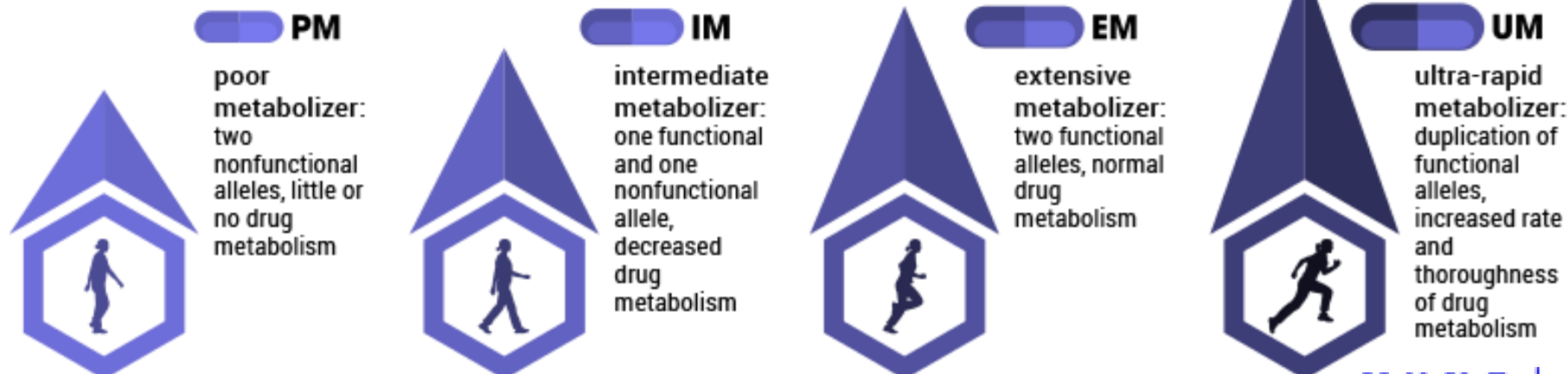
– Změna vazebné afinity k substrátům

Farmakogenetika

- Kategorizace pacientů – predikce farmakokinetiky
- Špatný metabolizér (poor, PM)
- Intermitentní metabolizér (intermediate, IM)
- Normální metabolizér (normal/extensive, EM)
- Rychlý/ultrarychlý metabolizér (rapid/ultra rapid, UM)



[Zanger a Schwab, 2013](#)

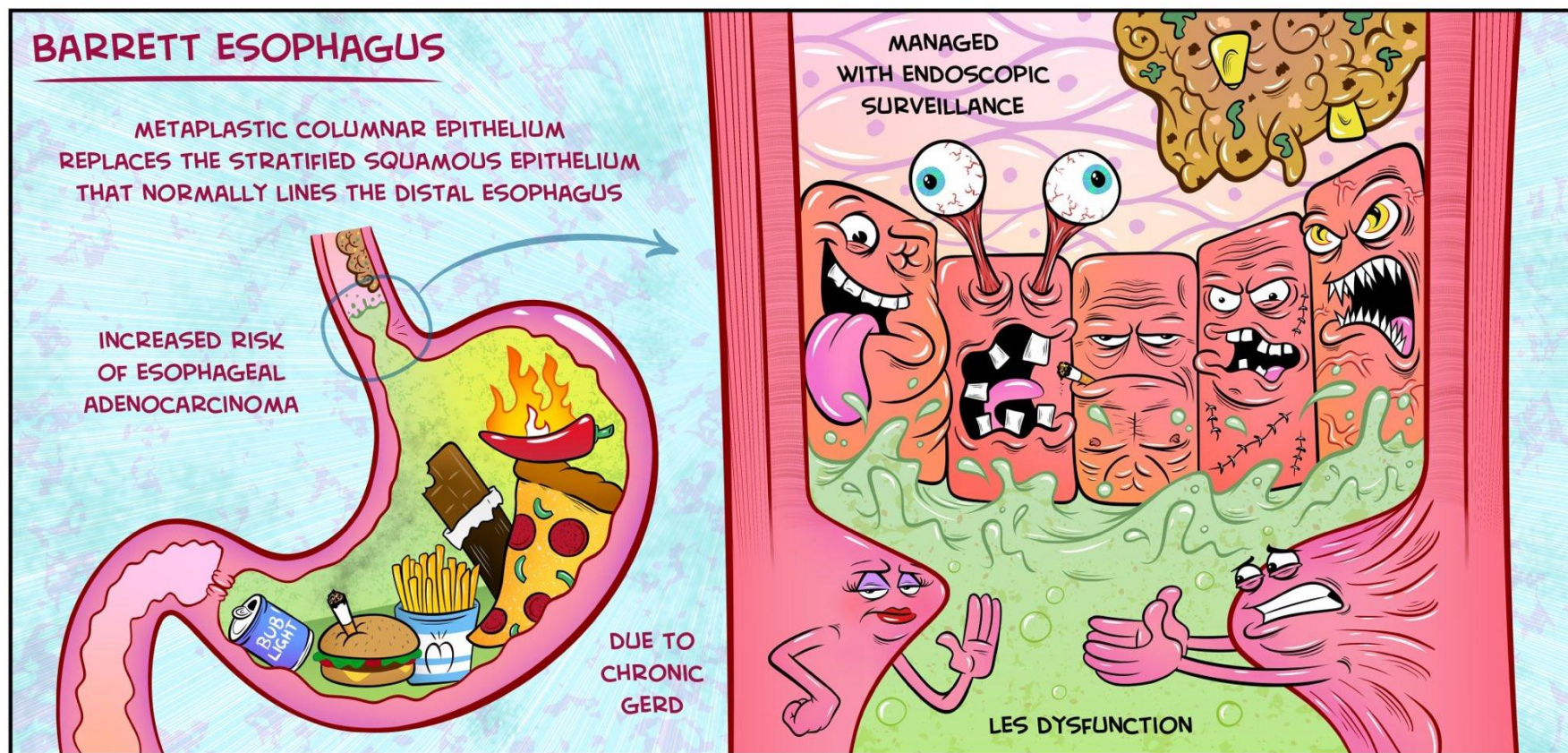


Refluxní choroba jícnu

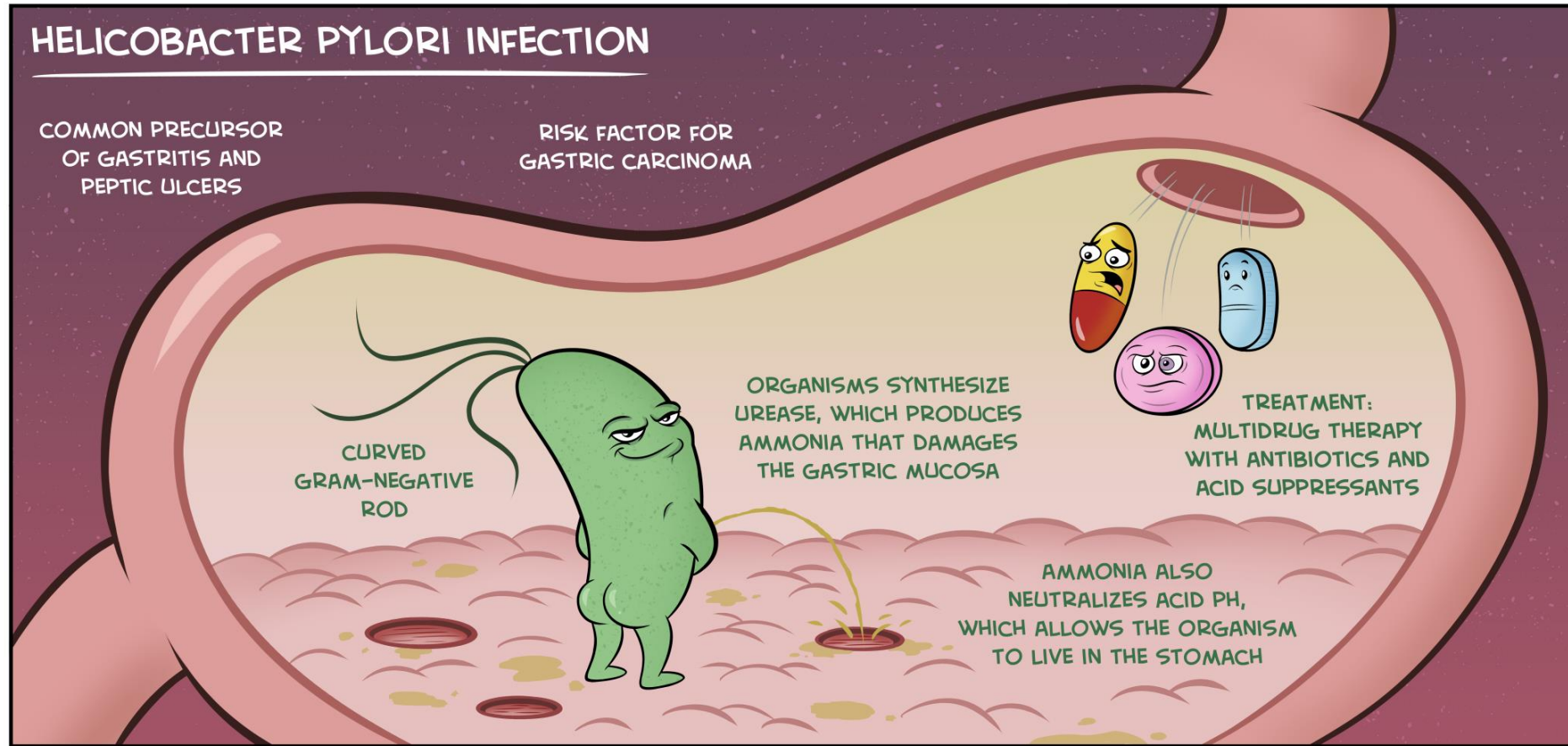
esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)

AZV 2020-2023

Host microbiome in relation to Barrett's esophagus (BE) and esophageal adenocarcinoma (EAC) development



Helicobacter pylori



WWW.MEDCOMIC.COM

© 2014 JORGE MUNI7

Inhibitory protonové pumpy (PPIs)

- léčiva – snižují obsah HCl v žaludku
- substituované benzimidazoly → **sulfonamid**
- kovalentní vazba s PP – ireverzibilní inhibice (2-4 dny)
- omeprazol, **lansoprazol**, rabeprazol, pantoprazol, esomeprazol
- indikace: **acidopeptické choroby** (profylaxe, léčba)

refluxní choroba
jícnu

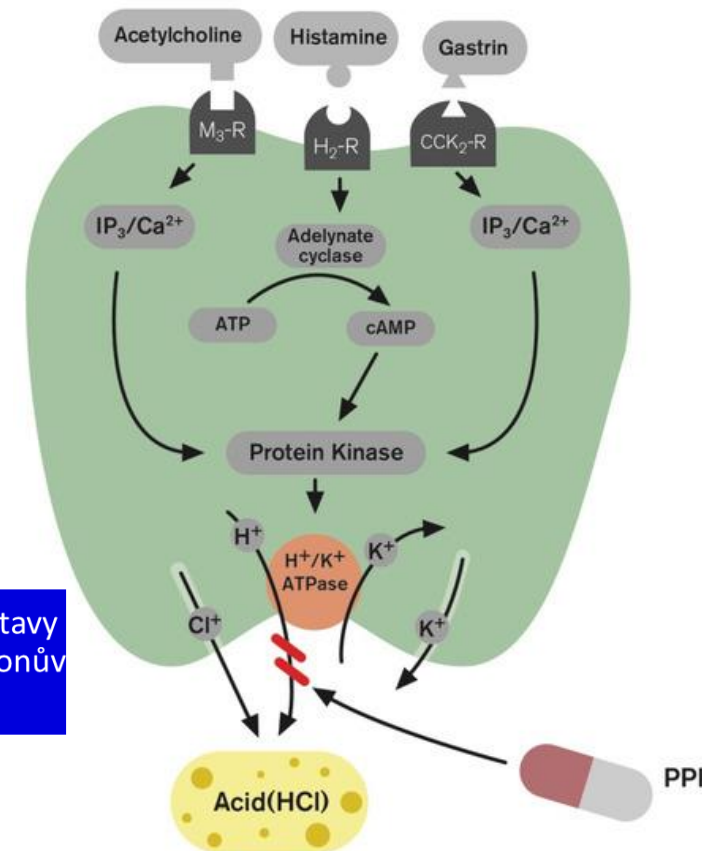
vředová choroba
žaludku a duodena

gastropatie z
nesteroidních
antirevmatik

hyperstenická
žaludeční dyspepsie

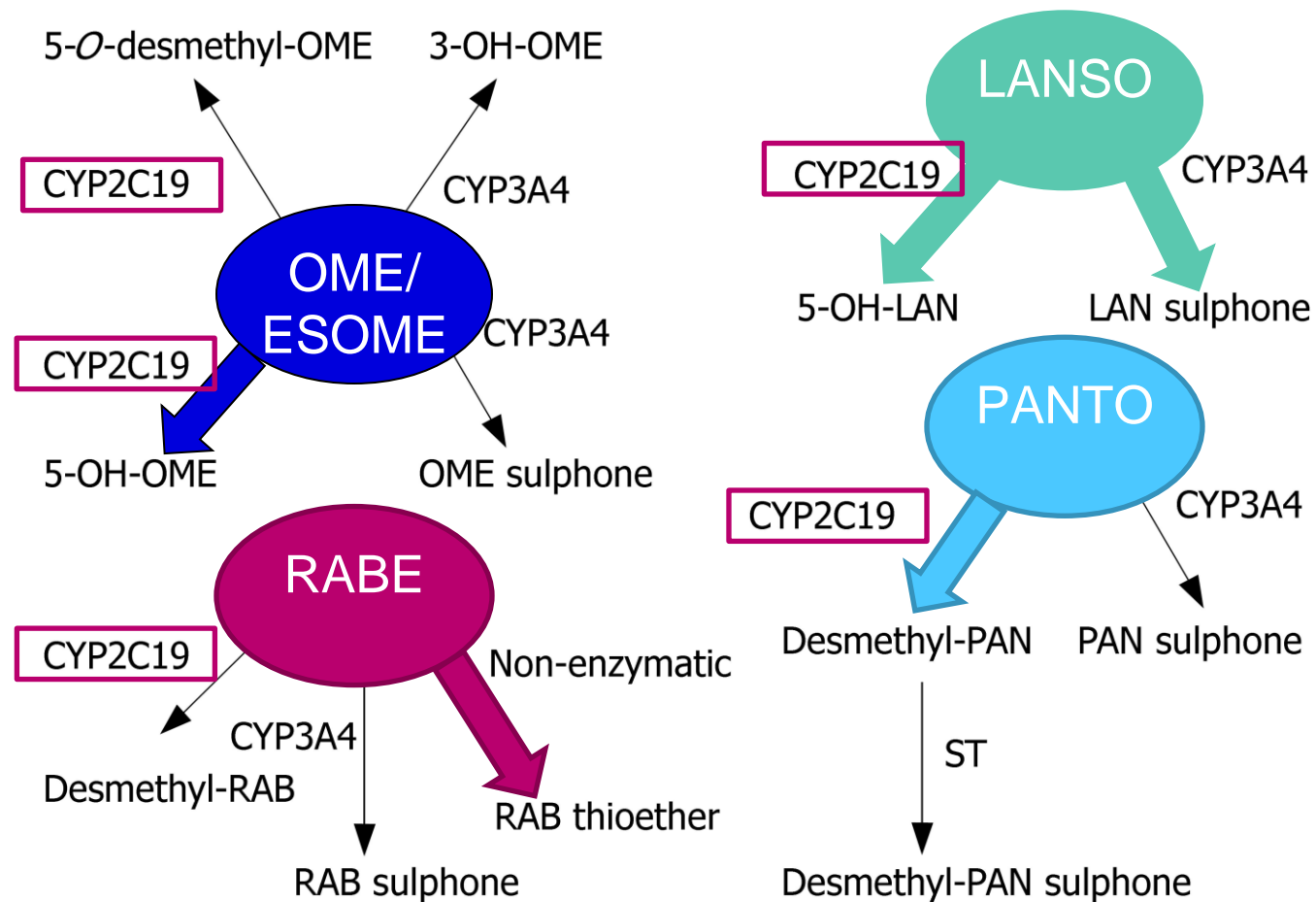
hypersekreční stavy
(Zolingerův Ellisonův
syndrom)

- u 30 % jedinců úspěšná léčba; u **70 %** pacientů léčba nastavena nevhodně



Metabolizace léčiv

– PPI



[Litalien et al., 2005](#)

Farmakokinetická variabilita

– Cytochrom P450 – CYP2C19

– Podílí se na metabolismu:

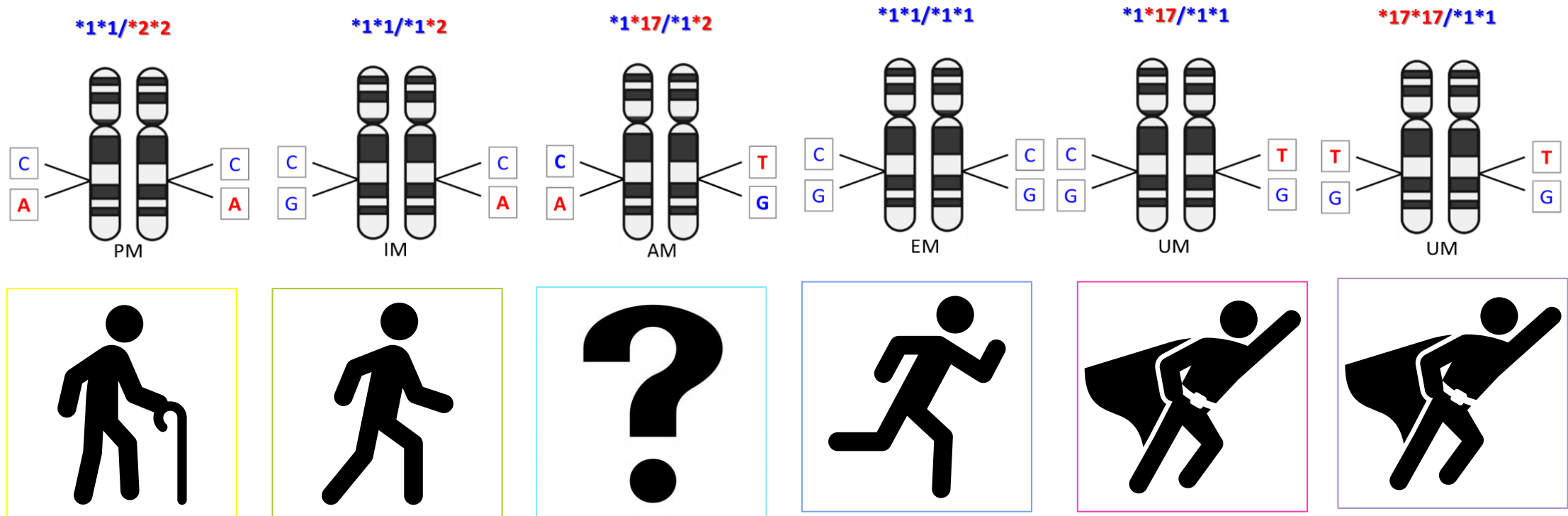
- **omeprazolu** (minoritně i CYP3A4),
- citalopramu (ze 60 %),
- diazepamu,
- na konverzi proléčiva **klopidogrelu** na jeho aktivní metabolit,
- i proguanilu.

alela	význam
*1	standardní enzym
*2	PM, inaktivní enzym (aberrantní splicing)
*3	inaktivní enzym (stop kodon)
*17	UM

CYP2C19

– PPI

*1	Wild allele
*2	„Poor“ allele (aberrant splicing in exon)
*17	Ultrarapid allele (promotor)



Frekvence fenotypu dle CYP2C19 v české populaci (výsledky naší studie)

Predikovaný fenotyp dle aktivity CYP2C19 enzymu

H. pylori nález

negativní

pozitivní

Doporučená terapie

Dávkování

standardní

100 – 200 % standardního

Vlastnosti PPI

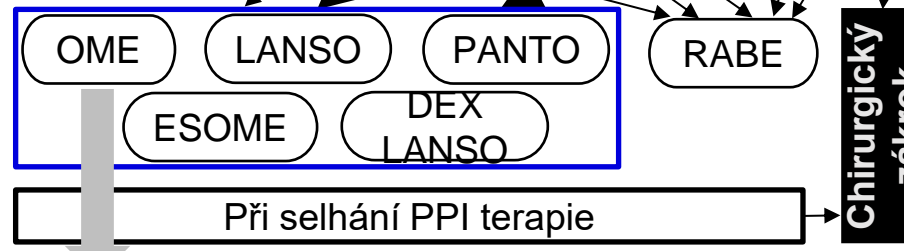
1,4 %

16,7 %

37,0 %

7,6 %

37,3 %



Autoinhibice u EM

Využití CYP2C19 při metabolizaci PPI

Efektivita eradikace H. pylori

Interakční potenciál s klopidogrelem

[Borilova Linhartova et al., 2018](#)

MUNI | RECETOX

Farmakogenetická studie I.

- Shrnutí
- *CYP2C19* haplogenotyp AM – funkční testování
- optimalizace terapie (dávkování, volba preparátu) pacientů s GERD dle *CYP2C19* haplogenotypu
- lékové interakce!

- Amplichip – upgrade – *CYP2C19**17 vysoce frekventní v české populaci

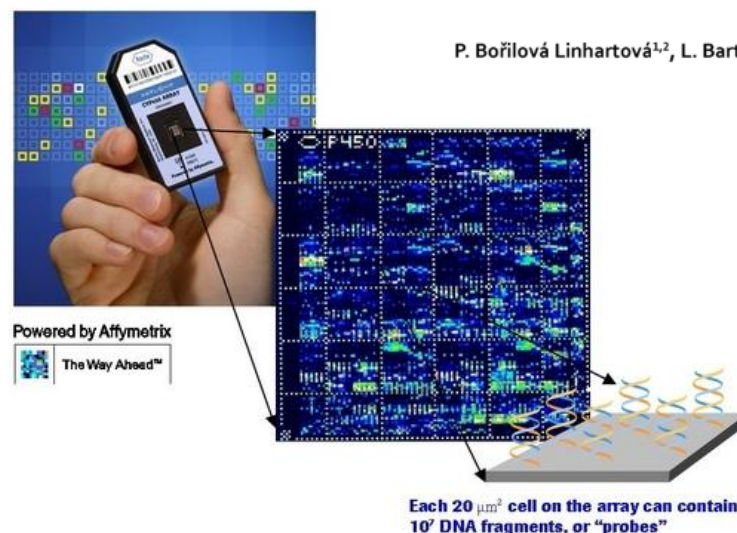
Klinická a experimentální gastroenterologie: původní práce

doi: 10.14735/amgh20181

Personalizovaná terapie pacientů s gastroezofageální refluxní chorobou – metodika stanovení genového profilu *CYP2C19*

Personalized therapy in patients with gastroesophageal reflux disease – methodology of *CYP2C19* gene profile's determination

P. Bořilová Linhartová^{1,2}, L. Bartošová³, A. Křenek⁴, L. Bartoš⁵, J. Dolina⁶, F. Marek⁴, Z. Kala⁴, L. Izakovičová Hollá^{1,2}

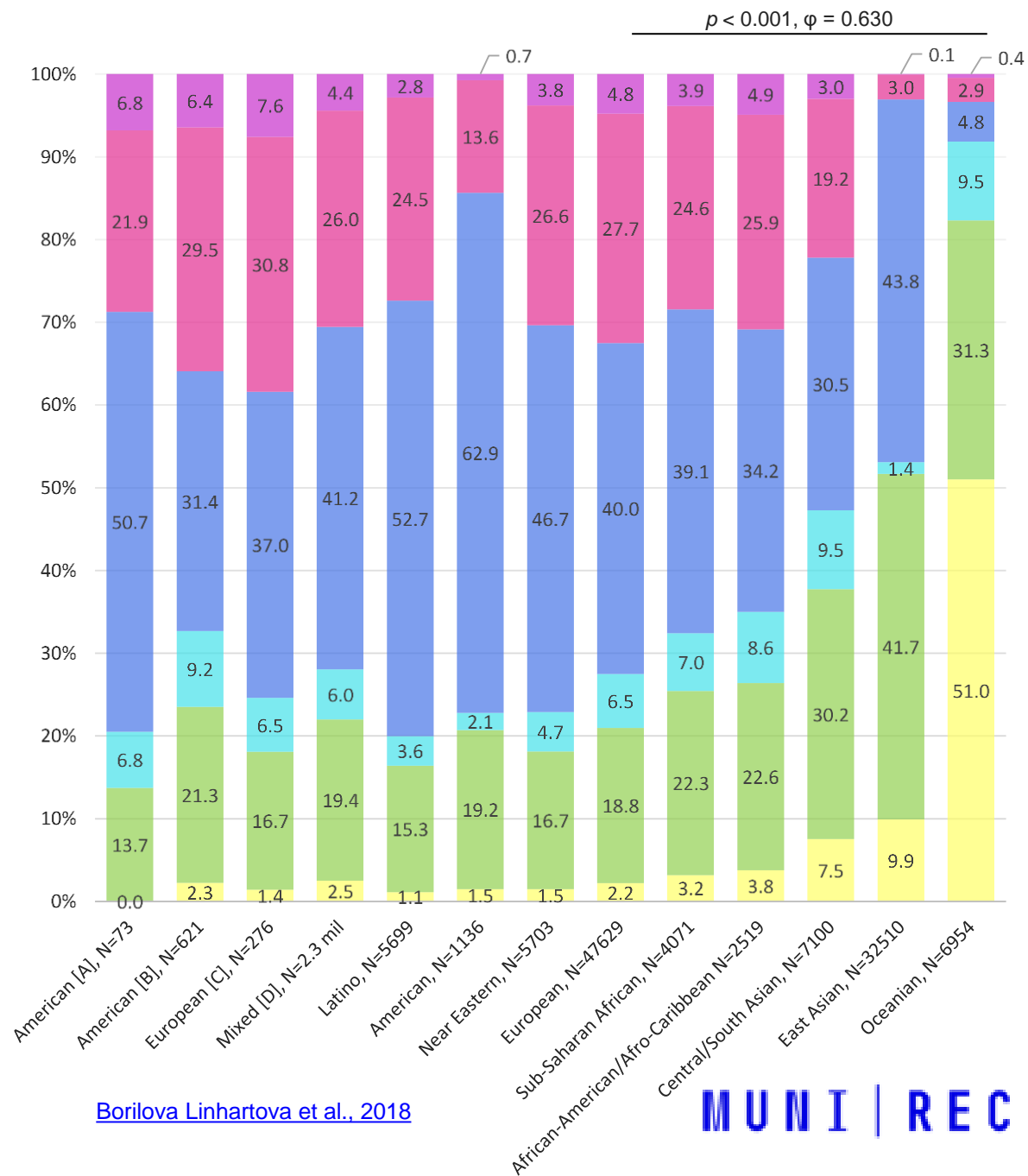


<https://web.archive.org/web/20110906084820/http://molecular.roche.com/assays/Pages/AmpliChipCYP450Test.aspx>

MUNI | RECETOX

CYP2C19

– PPI

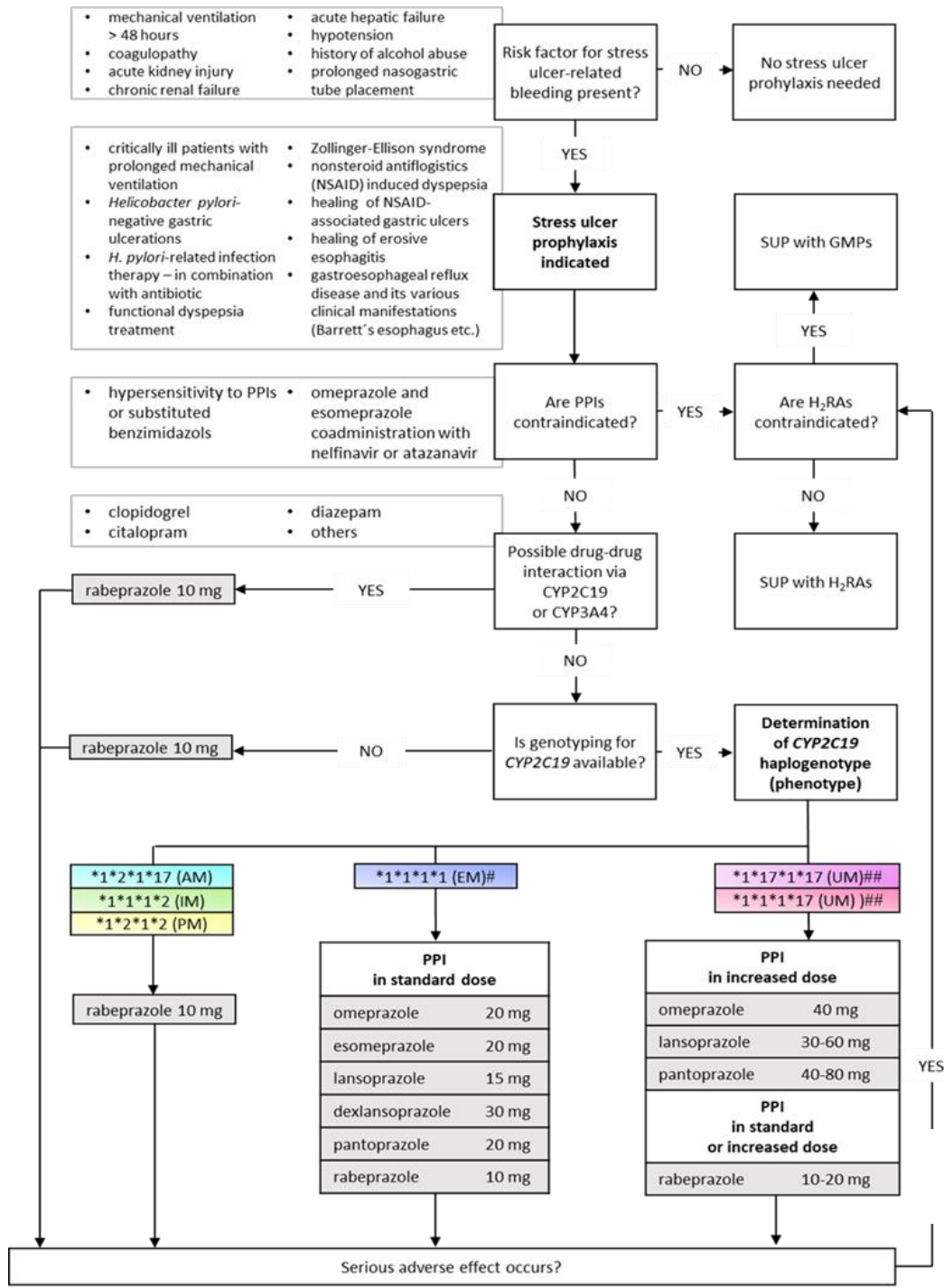


Borilova Linhartova et al., 2018

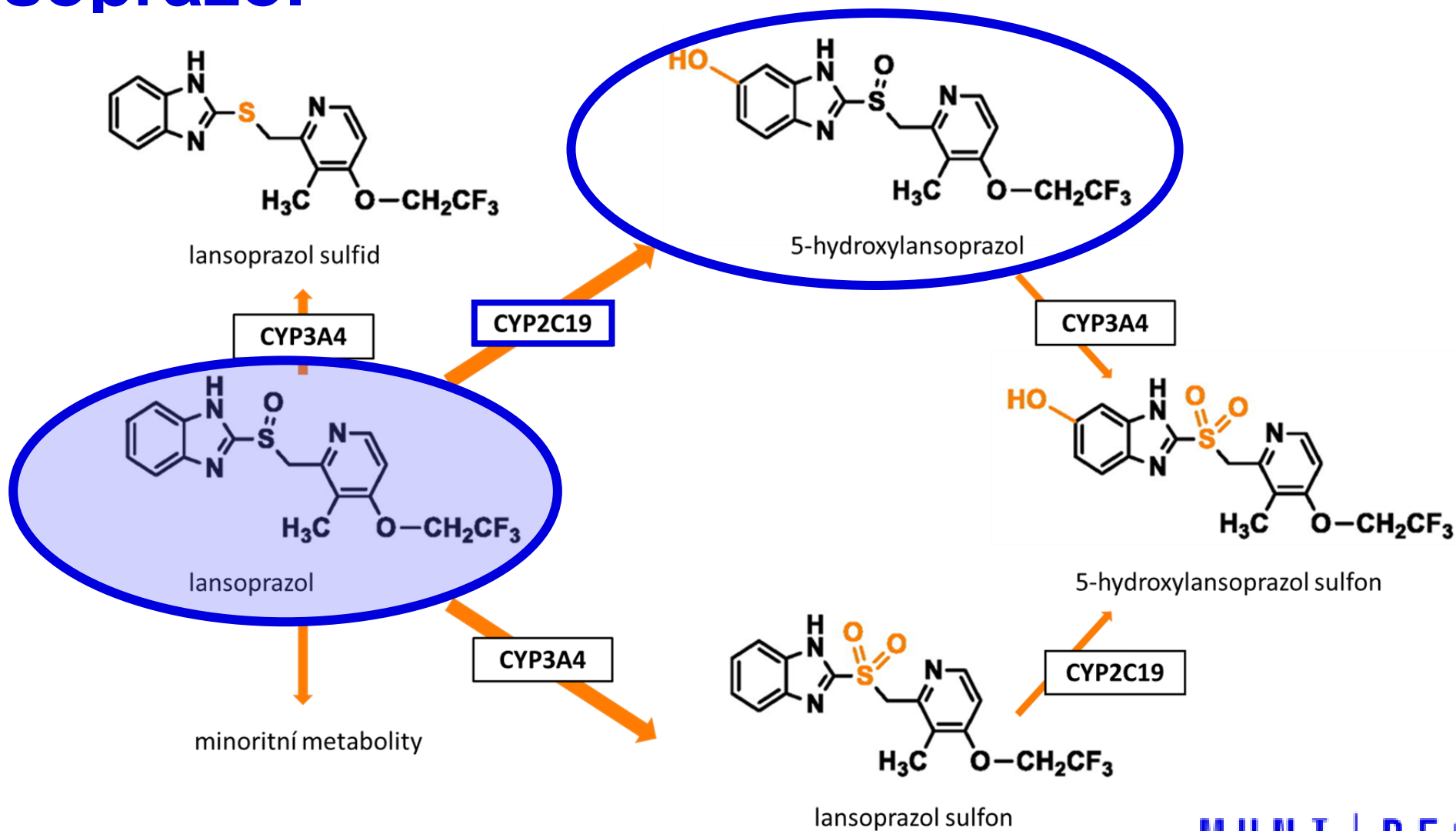
MUNI | RECETOX

CYP2C19

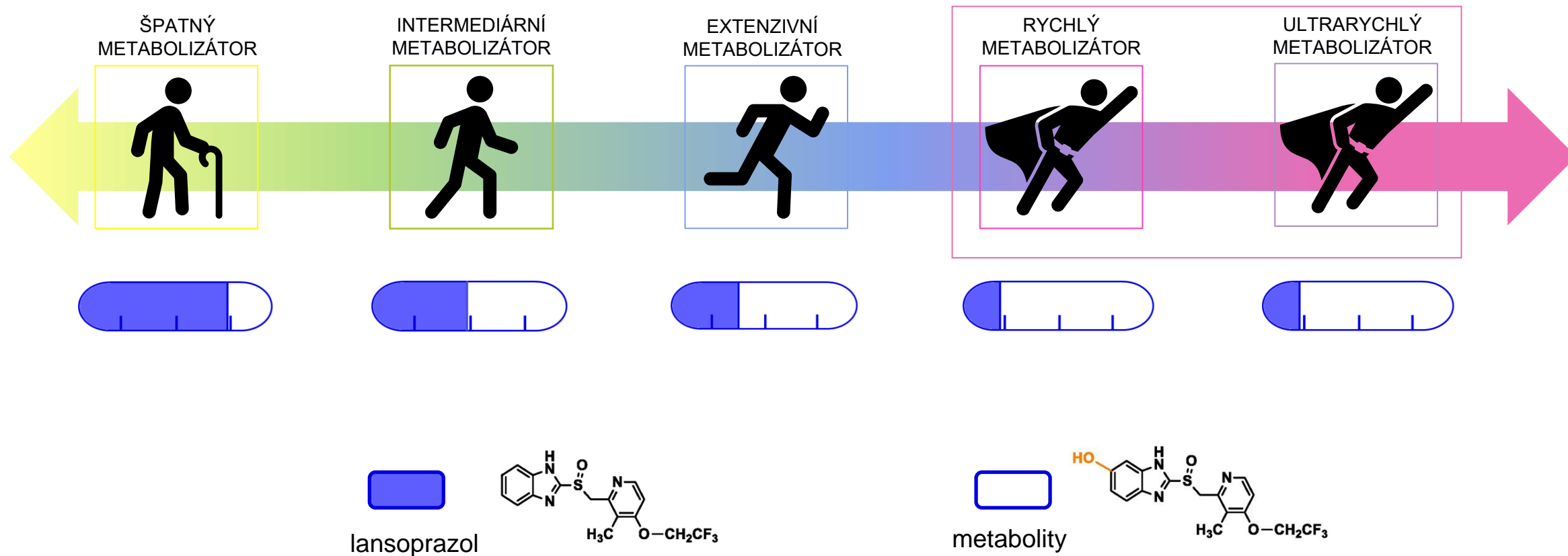
– PPI



Lansoprazol

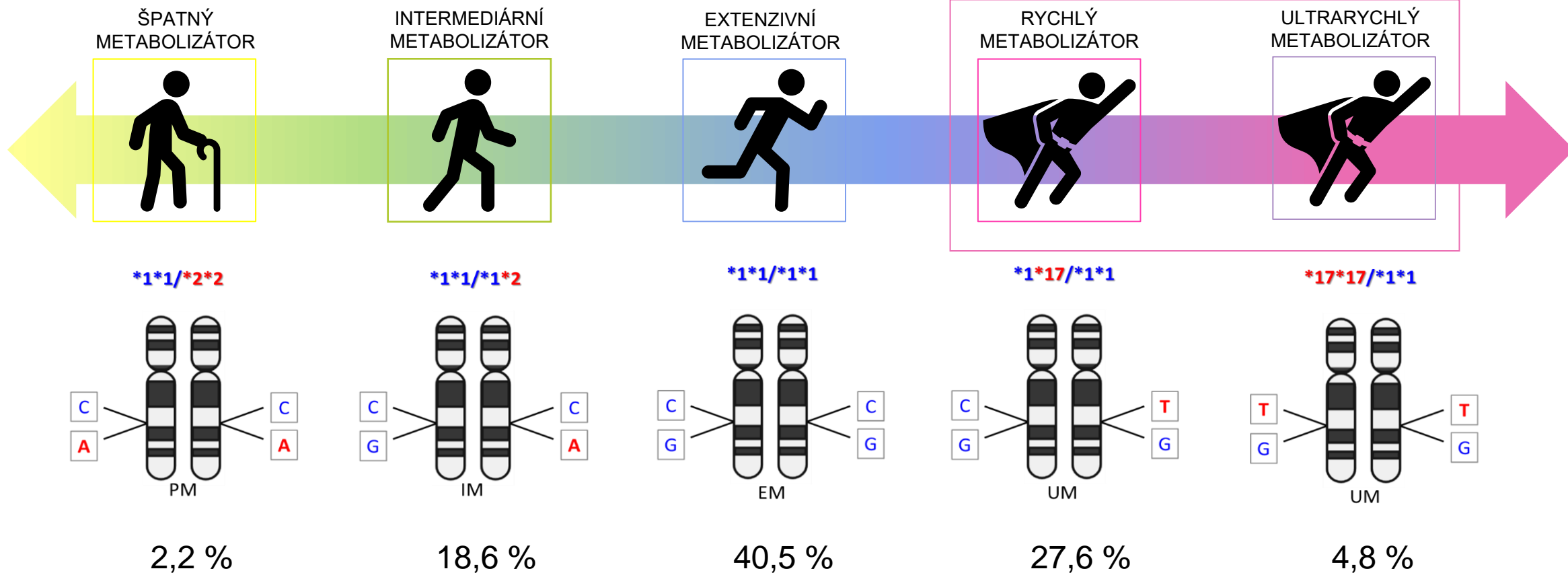


Prediktivní fenotyp

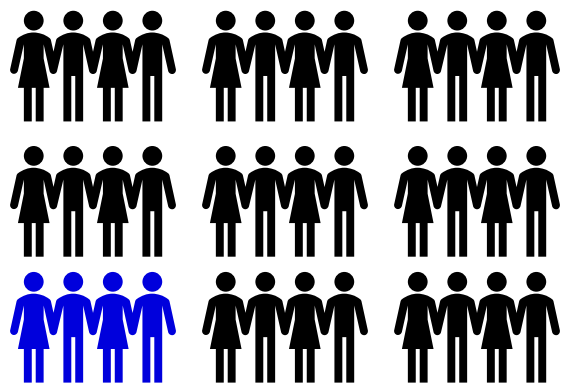


Prediktivní fenotyp

*1	wild type alela
*2	↓ aktivity CYP2C19 (aberrantní sestřih v exonu 5)
*17	↑ aktivity CYP2C19 (promotor)



Zkoumaná kohorty



495

58



MAF

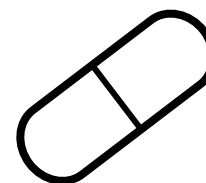
*17

*2

25,56 %

14,14 %

Frekvenční
analýza



Lanzul® (30 mg)



Prediktivní
fenotyp

qPCR

Reálný
fenotyp

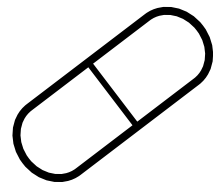
LC UV/MS

MUNI | RECETOX

Metodika



58 jedinců (profylaxe,
léčba acidopeptické
choroby)



Lanzul® (30 mg)



odběr po 3 hod

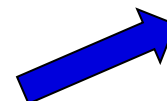


9 ml (EDTA)

centrifugace

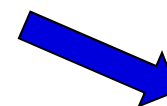


2 000 g
(10 min)



plazma

Analýza fenotypu
LC UV / LC MS



plná krev +
dest. voda

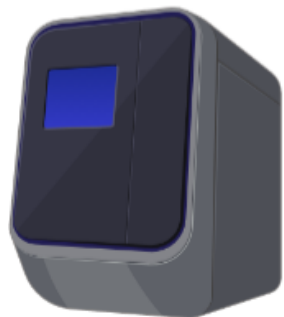
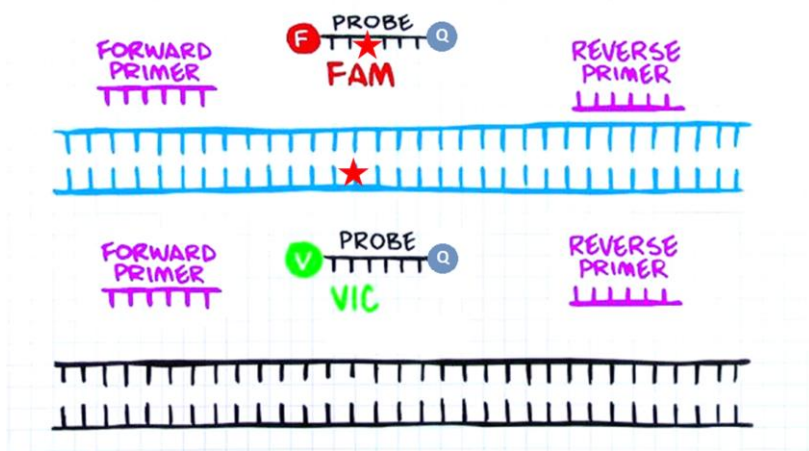
Analýza genotypu
qPCR

Vylučovací kritéria:

- užívání třezalky (induktor CYP2C19, CYP3A4 - ↓ účinku PPI)
- Užívání léčiv ovlivňující metabolickou aktivitu CYP2C19
- Rozsah popálené plochy > 20 % TBSA
- Pacienti s hepatální dysfunkcí

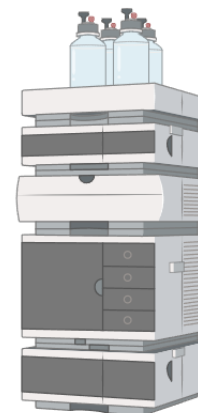
Metodika

- qPCR
- genotypizace variant *17 a *2 *CYP2C19*



– LC UV / LC MS

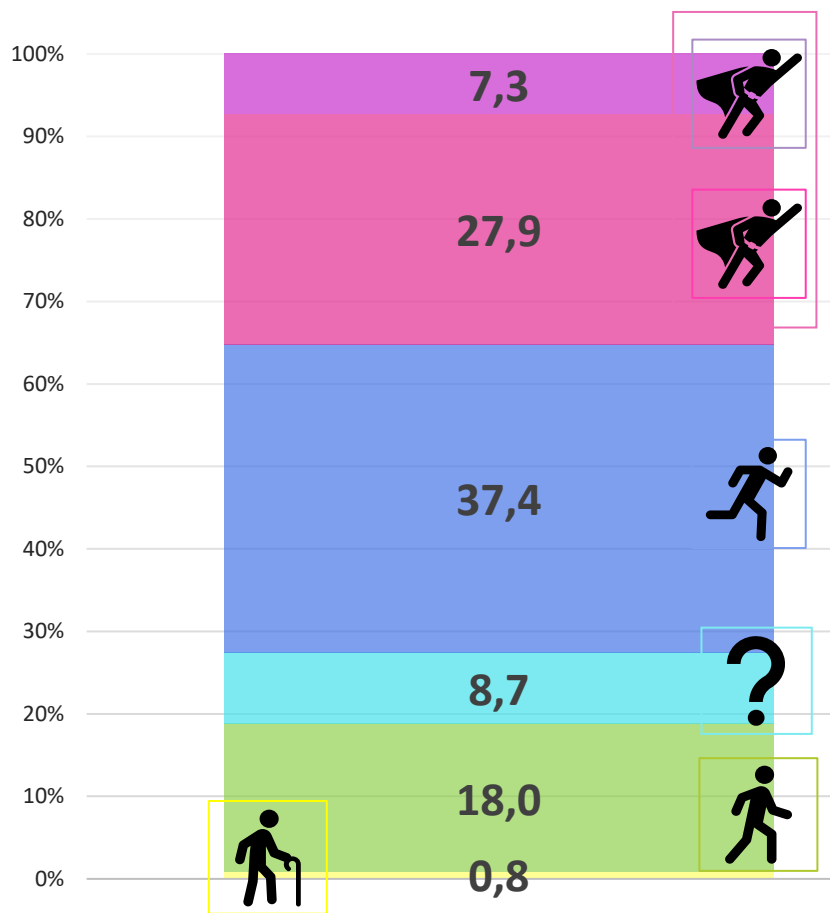
- kolona: **Kinetex C18** (Phenomenex; 100 × 3,0 mm; velikost částic 2,6 μm)
- detekce:
 - **Lansoprazol** – UV detekce při **280 nm** (detektor diodového pole)
 - **5-hydroxylansoprazol** – MS detekce - Bruker EVOQ Qube trojitý kvadrupólový hmotnostní spektrometr s elektrosprejovou ionizací



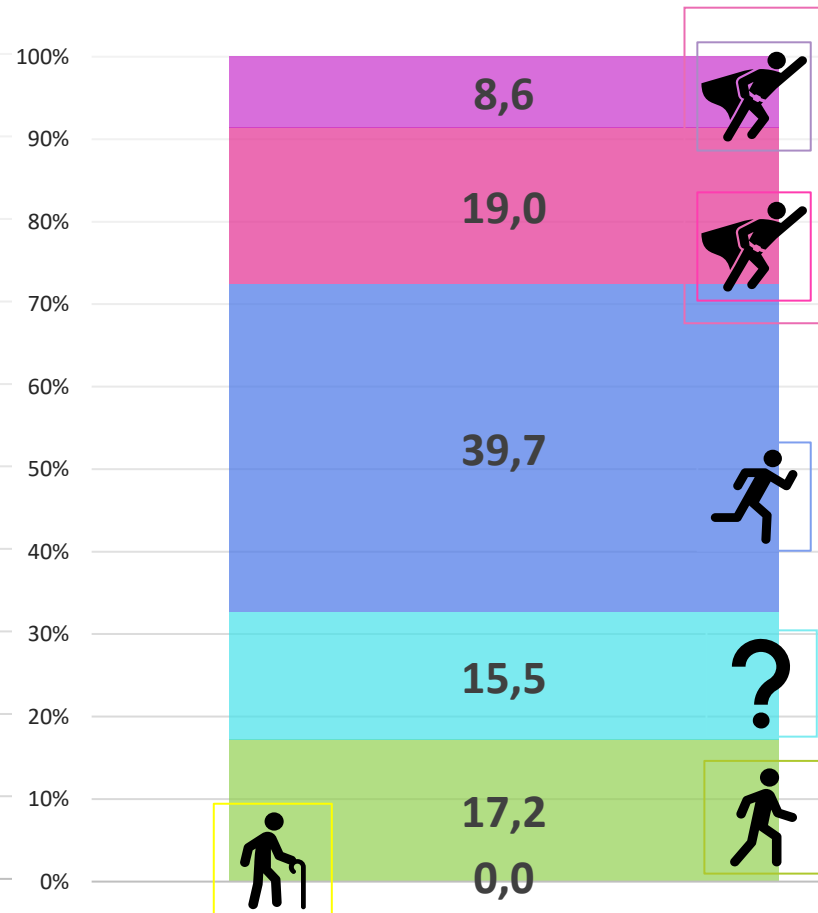
MUNI | RECETOX

Frekvence prediktivních fenotypů *CYP2C19*

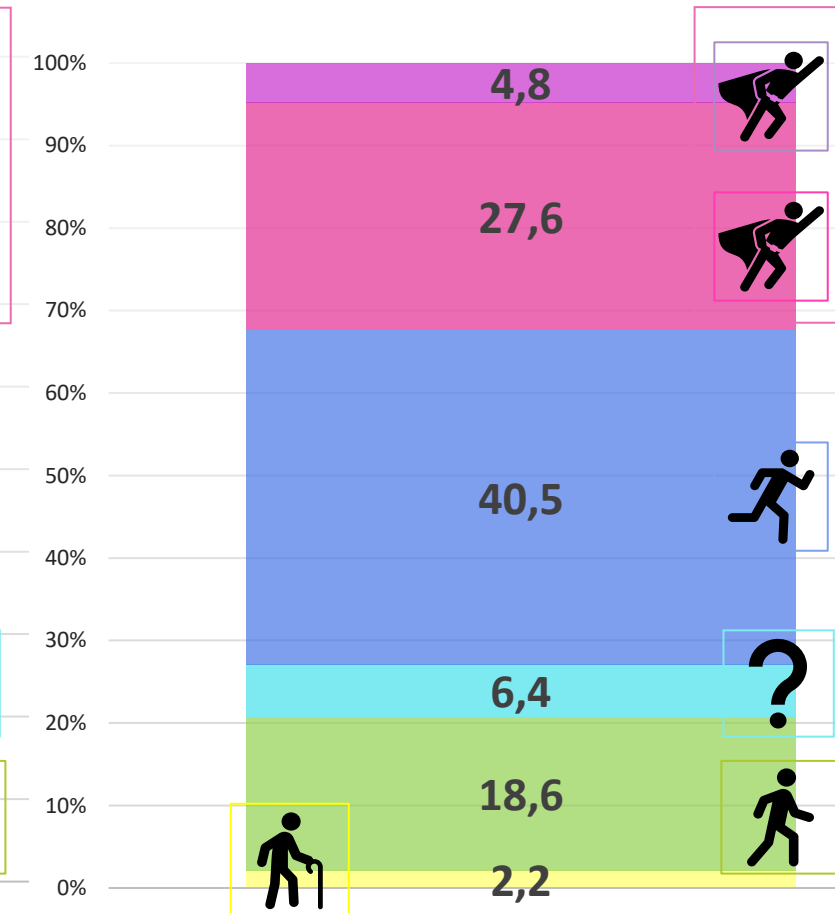
– 495 jedinců



– Subskupina 58 jedinců



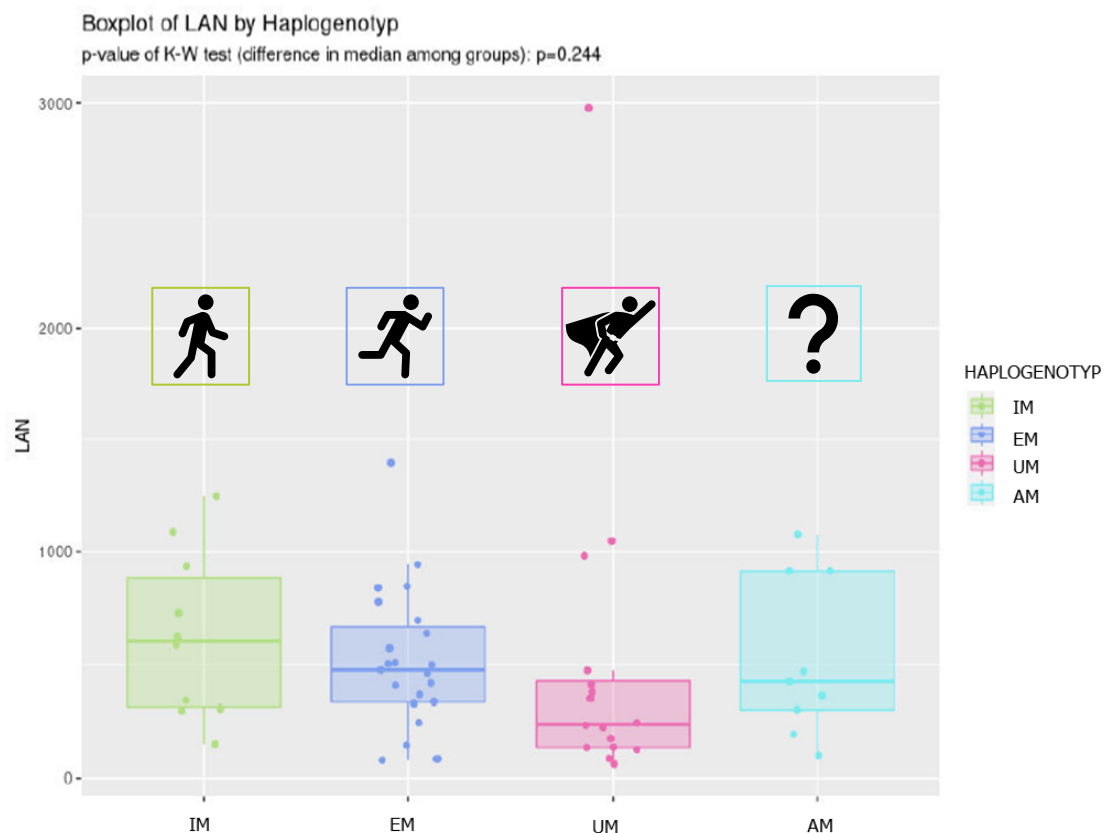
EUR 1,7 mil jedinců



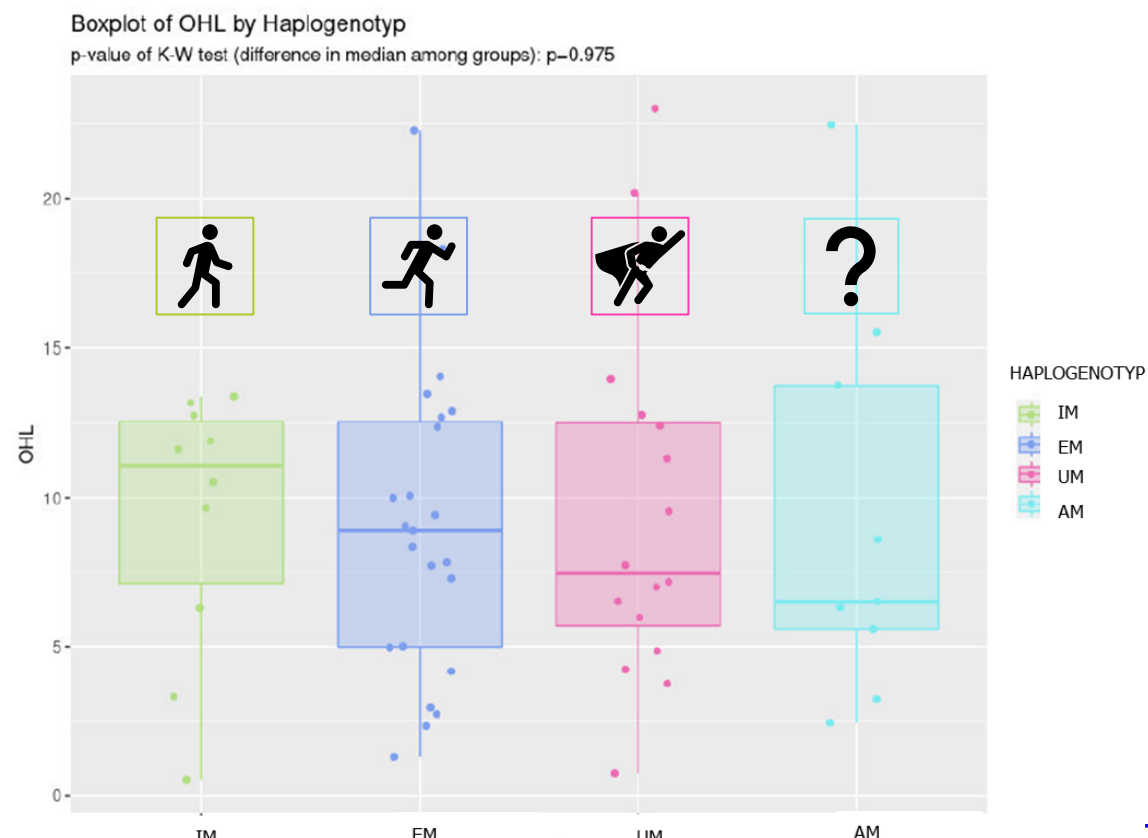
MUNI | RECETOX

Závislost plazmatické hladiny LAN a OHL na prediktivním fenotypu *CYP2C19*

– $p=0,244$

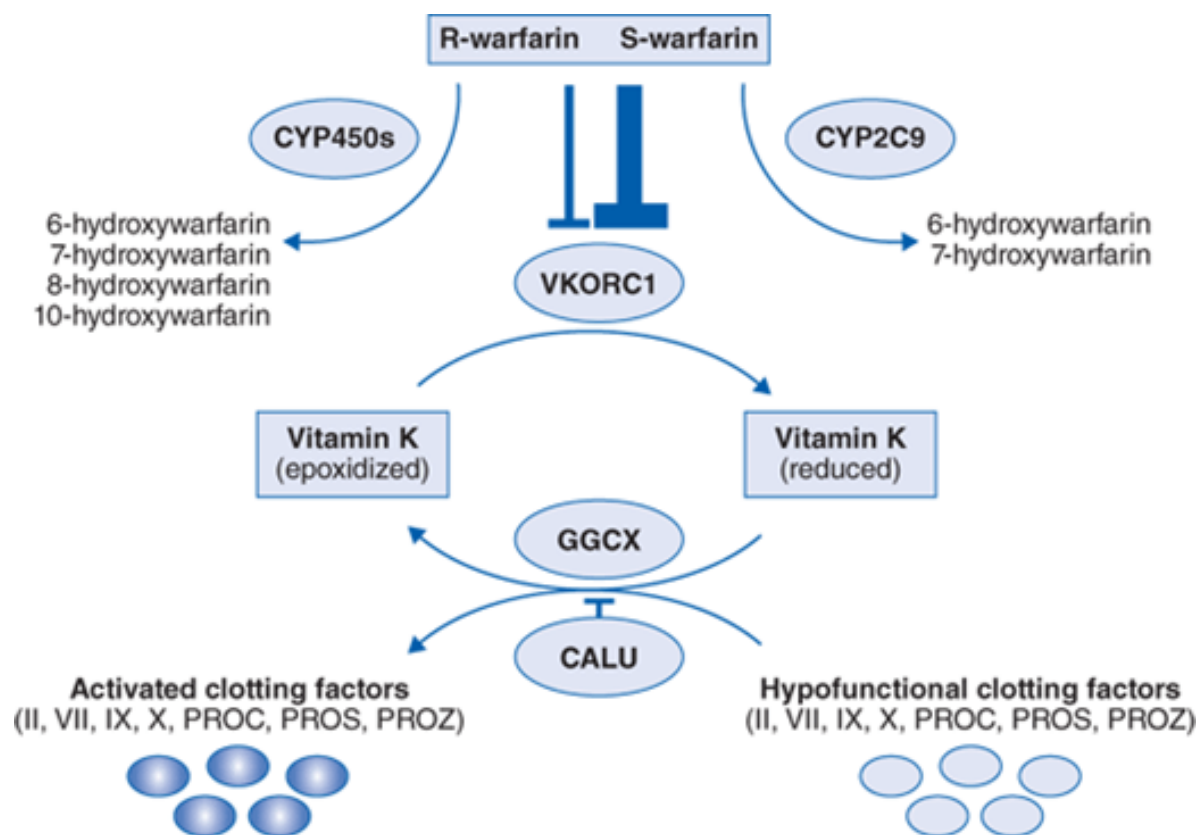


– $p=0,975$



Farmakodynamická variabilita

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

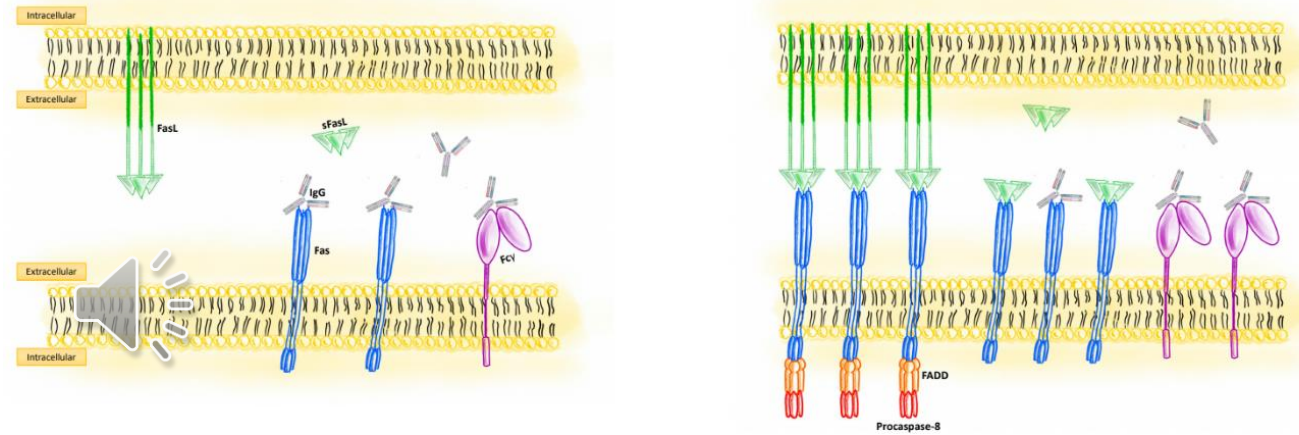


Individualizovaná farmakoterapie

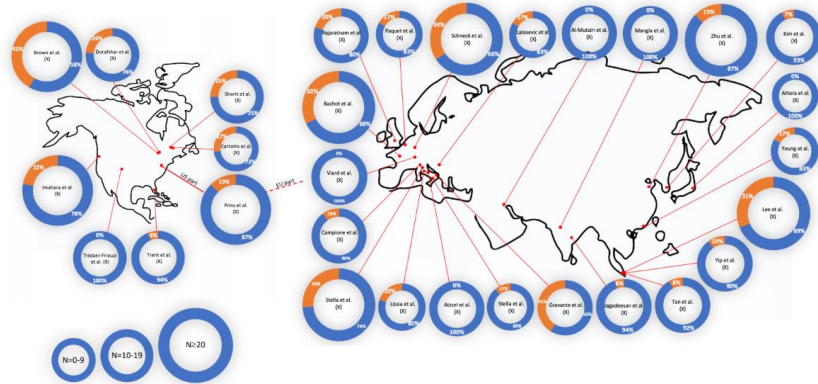
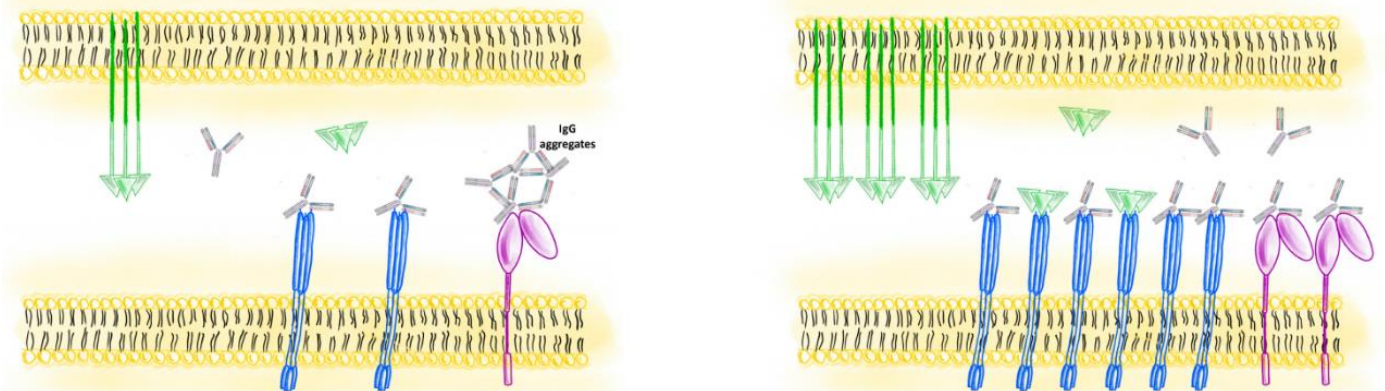
Imunofarmakogenetická studie: IVIg v terapii TEN



Low-dose IVIg therapy

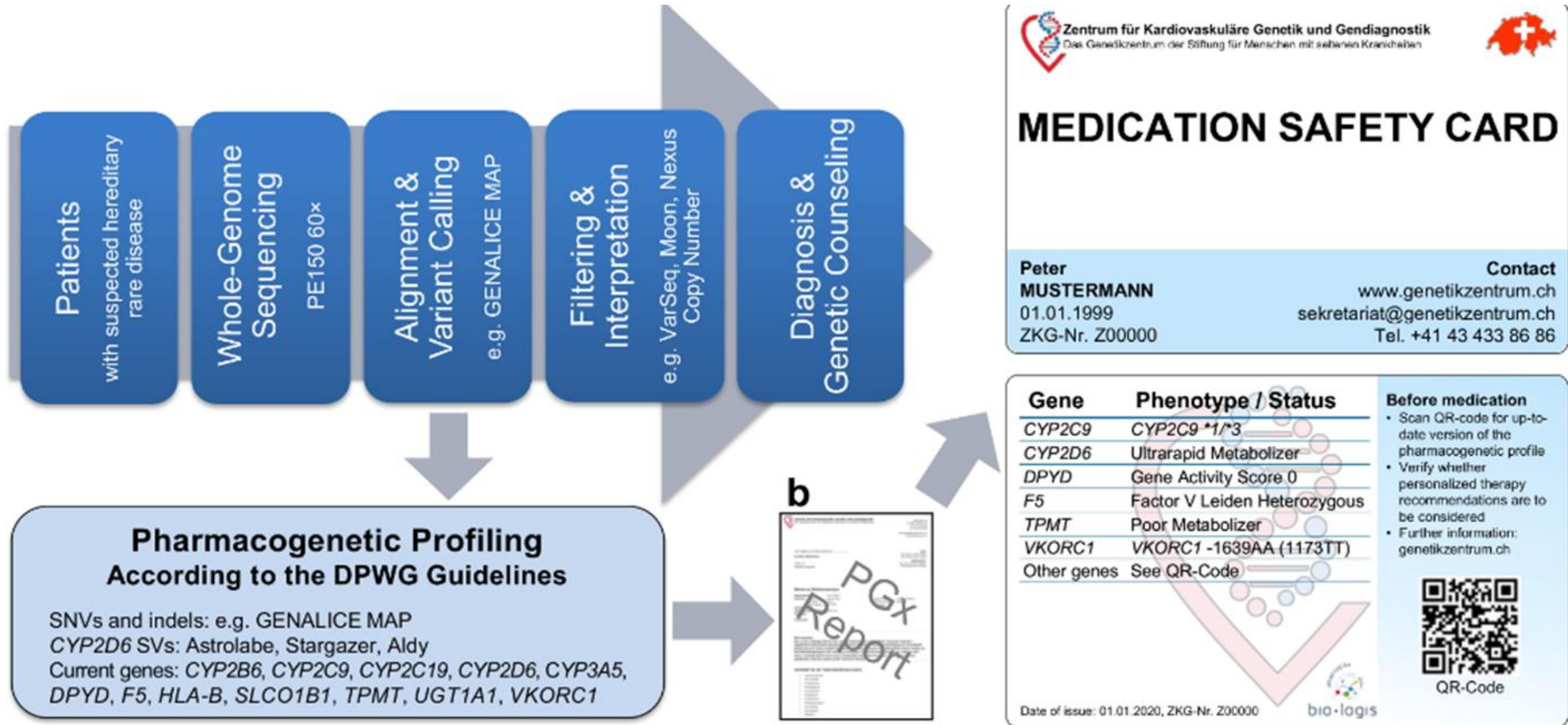


High-dose IVIg therapy



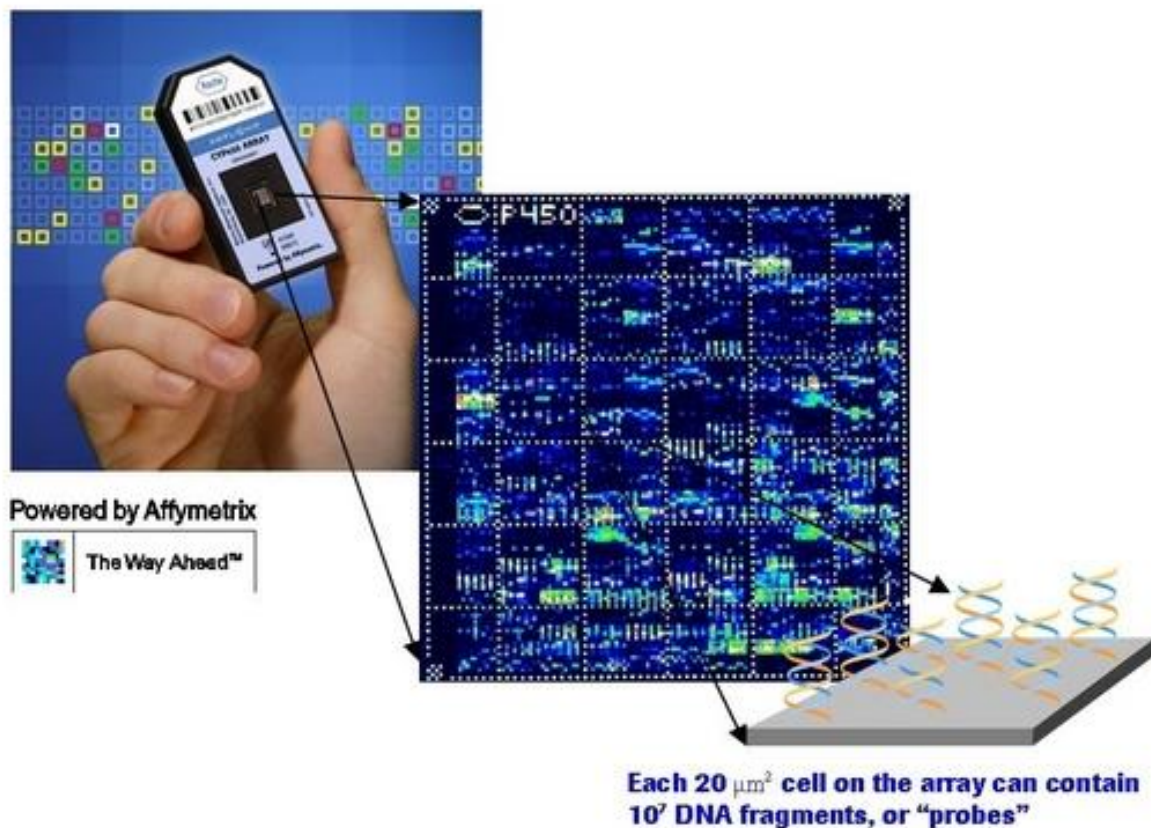
Individualizovaná farmakoterapie

– WGS



Individualizovaná farmakoterapie

– Testovací panely



Cardiovascular Panel

Determine which drugs (beta blockers, calcium channel blockers, blood thinners, etc.) work best for your patient based on individual genetic variants.



Pain Management Panel

Identifies genetic traits that affect how an individual will react to the effects of certain types of frequently prescribed pain medications.



Mental Health Panel

Reveal genetic characteristics that affect the metabolism and efficacy of psychiatric medications.

Multi Gene

PGx 74 Panel

CYP2C9/VKORC1
Panel

Single Gene

CYP2D6 Panel

CYP2C19
Panel

Custom

Assays by Agena

MUNI | RECETOX

Individualizovaná farmakoterapie

- Vyšetření
- Farmakogenetické vyšetření se provádí z nesrážlivé periferní krve odebrané do EDTA (2 ml).
- **Prevence výskytu nežádoucích účinků**
- Predikce účinnosti

Léčivo	Geny
Abakavir	HLA-B*5701
Azathioprin	TPMT
6-merkaptopurin	
6-thioguanin	
Irinotekan	UGT1A1
Warfarin	CYP2C9, VKORC1
Opioidy	CYP2D6, OPRM1
Klopidogrel	CYP2C19
Tamoxifen	CYP2D6
Herceptin	HER2

Individualizovaná farmakoterapie

– Vyšetření

Léčivo	Biomarkery
Cetuximab	EGFR, KRAS
Dasatinib	Ph+ CML
Erlotinib	EGFR
Gefitinib	EGFR-TK
Imatinib	Ph+ CML
Maravirok	CCR5
Nisotinib	Ph+ CML
Panitumumab	EGFR, KRAS
Rasburikaza	G6PDH
Trastuzumab	HER2

PGx

- Databáze

- Pharmacogenetic and Pharmacogenomic KnowledgeBase (PharmGKB)**

- **CÍL:** vytvořit dokonalý zdroj informací o interakcích mezi genetickou variabilitou a lékovou odpovědí

- www.pharmgkb.org

- **Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC)**

- **CÍL:** vytvořit volně dostupné, recenzně hodnocené doporučení pro dávkování léčiv pro ty, kteří mají přístup k preventivnímu genetickému testování

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

Personalizovaná medicína Mikrobiom a farmakoterapie

doc. RNDr. Petra Bořilová Linhartová, Ph.D., MBA

Ústav lékařské genetiky, LF MU

Lidská mikrobiota a mikrobiom

– Úvod

– Mikrobiota

- Tvoří 1-3 % tělesné váhy člověka
- Komplexní ekosystém dle specifické lokalizace podmínek
- 10x více bakterií než je buněk v lidském těle

– Mikrobiom je soubor genů všech mikroorganismů osidlujících lidské tkáně a tekutiny

- Jedinečný otisk
- Projekt
- 100x více genů mikrobiomu než v lidském genomu (27 tis. genů)



Characterization of the microbiomes of healthy human subjects at five major body sites, using 16S and metagenomic shotgun sequencing.

Enter HMP1



Characterization of microbiome and human host from three cohorts of microbiome-associated conditions, using multiple 'omics technologies.

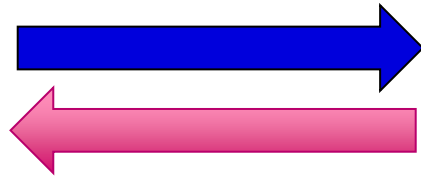
Enter iHMP



MUNI | RECETOX

Člověk

- Filozofický pohled
- Mozek
 - Osobnost a myšlení
- Imunitní systém
 - Adaptivní IS
- Genom
 - Fenotyp



Lidská mikrobiota

- Eukaryota
 - Houby
 - Prvoci
- Bakterie
- Archaea
- Viry
- Spojivky
- Ústní dutina
- Dýchací cesty
- Mléčné žlázy
- GIT
- Kůže
- Urogenitální trakt



Lidská mikrobiota

– Mozek

– Osa střevo-mozek

- Stres, deprese, autismus, PD, AD
- Regulace pomocí pre- a probiotik

– SCFA regulují GPR41-

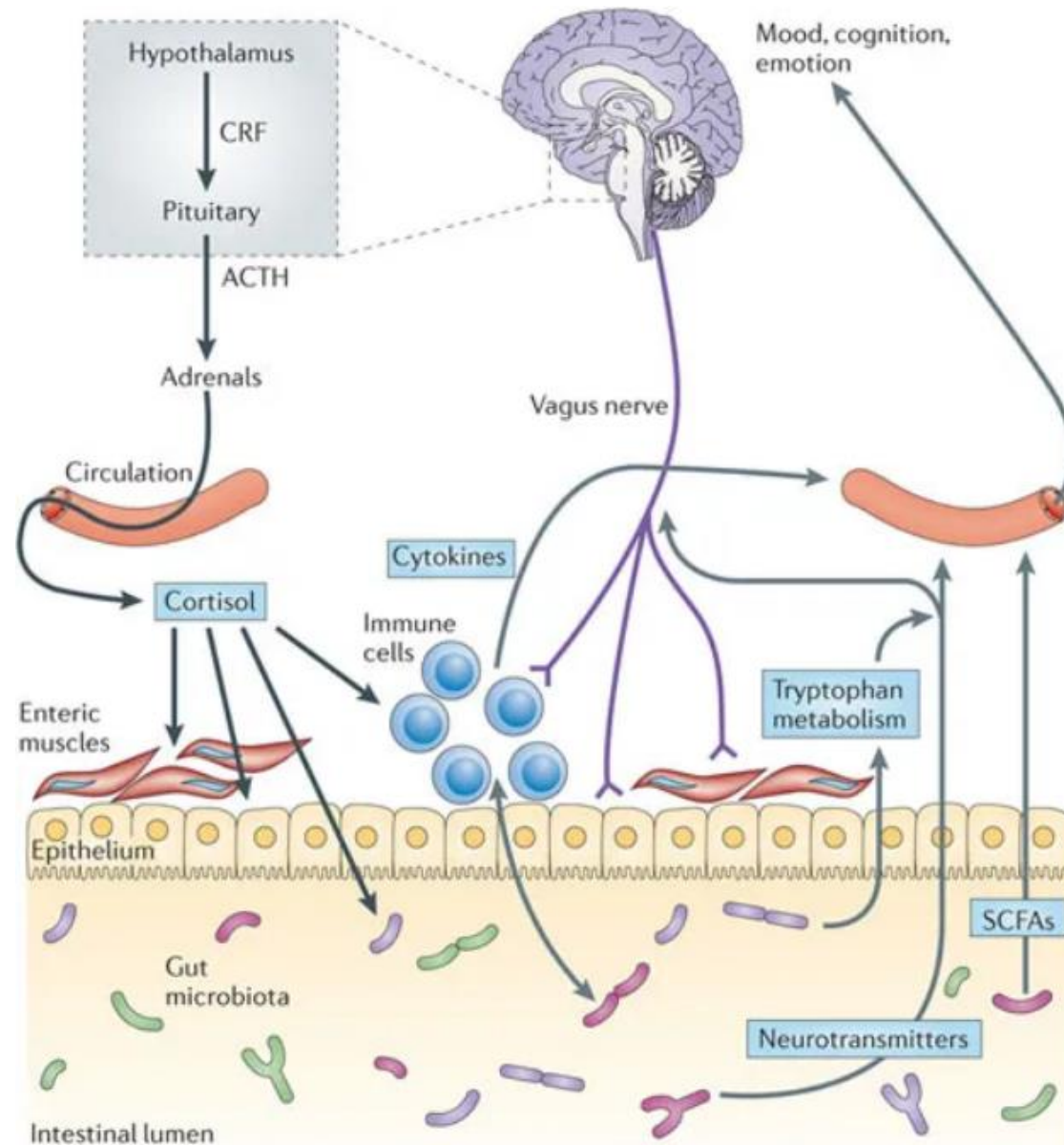
zprostředkovanou aktivitu

sympatického NS – E výdej

– Tryptofan má přímý vliv na spánek

– Neurotransmitery

– Cytokiny



[Kimura et al., 2011](#)

[Jenkins et al., 2016](#)

[Cryan a Dinan, 2012](#)

Nature Reviews | Neuroscience

Lidská mikrobiota

– Imunitní systém

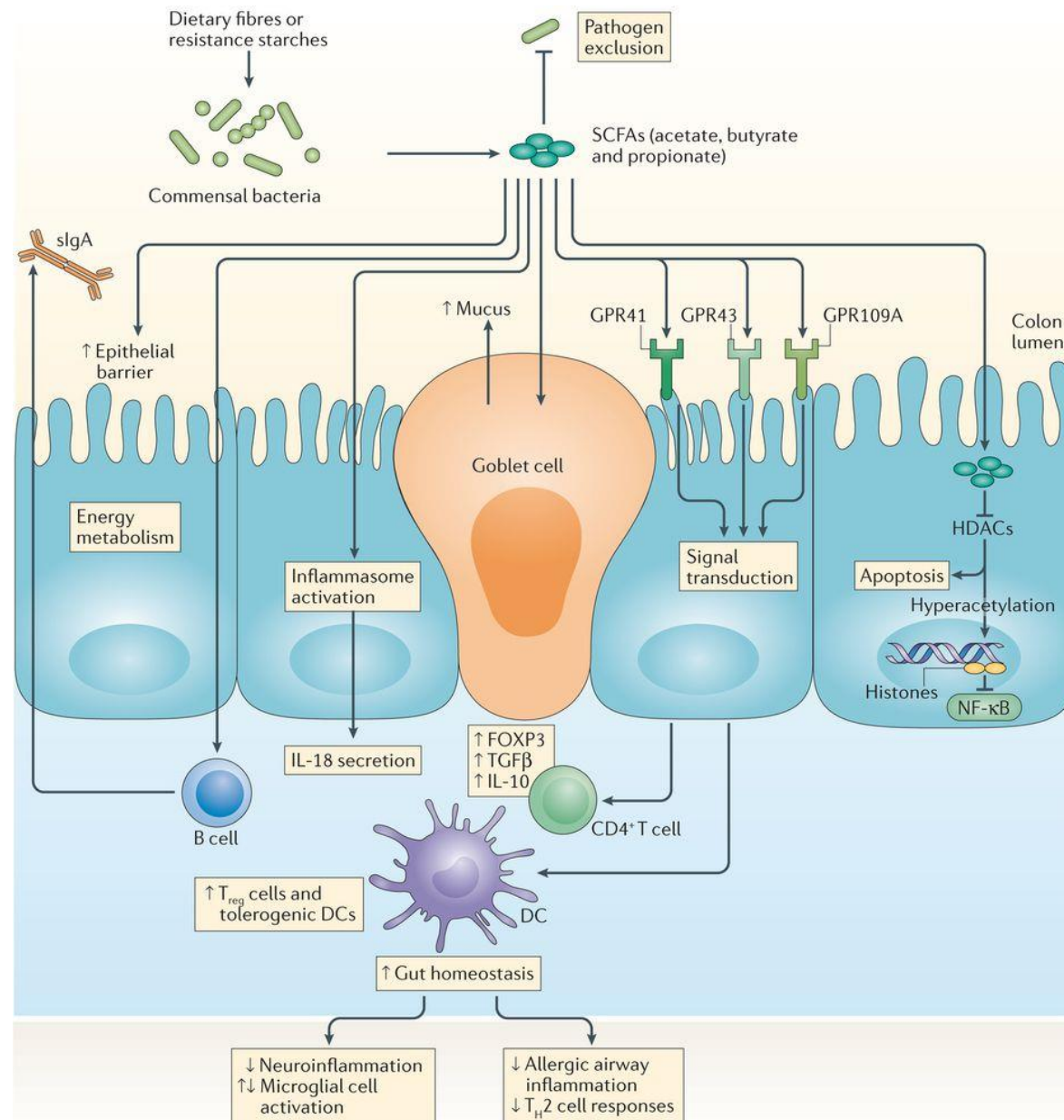
– SCFA

- Stimulace produkce střevního hlenu
- Diferenciace B buněk na plazmatické buňky produkující Ig
- Spojeny s protizánětlivým fenotypem (inhibice histonových deacetyláz)

– *Bacteroides fragilis* PSA

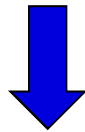
- Indukce CD4⁺ T lym profil – indukce Treg a suprese Th17 a Th1

– Niacin, tryptofan, taurin (inflamazom)

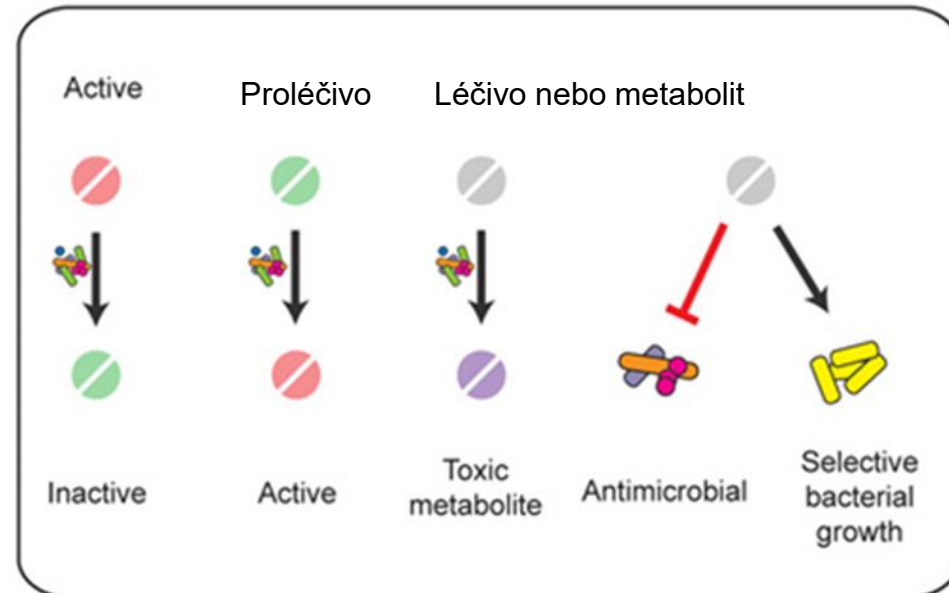
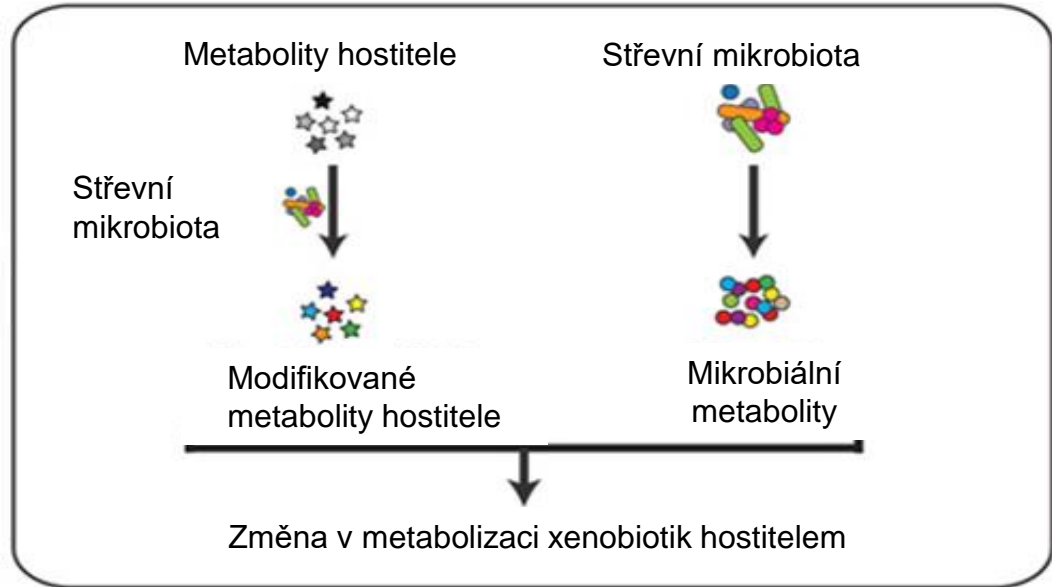


Lidský mikrobiom

- „Druhý genom“
- Epigenetické modifikace
- Metabolizace xenobiotik (nepřímo/přímo)

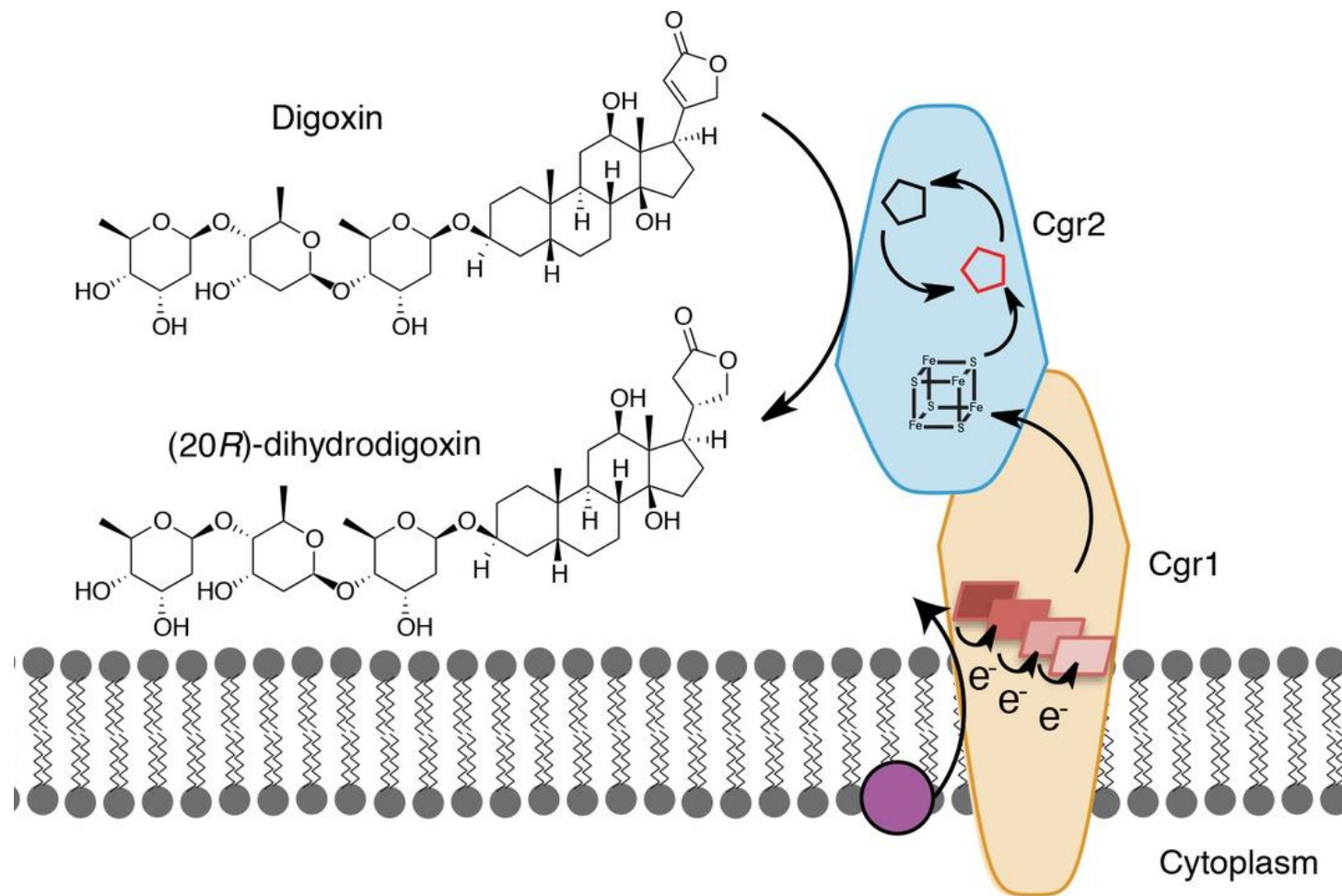


- **Personalizovaná terapie**



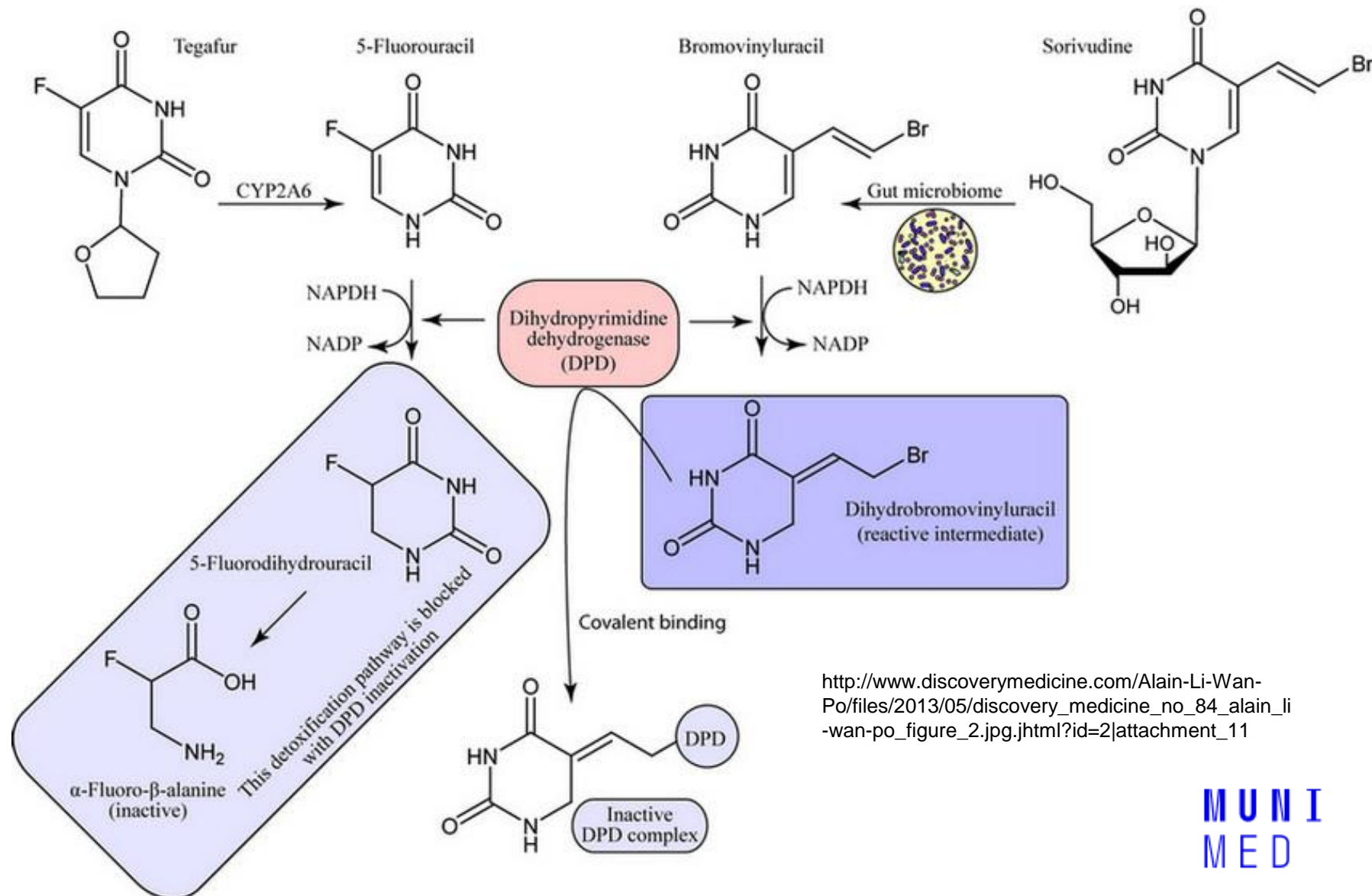
Lidská mikrobiota

- Farmakoterapie
- terapie pacienta se srdečním selháním nebo arytmií pomocí digoxinu
- *Eggerthella lenta* – běžně, jen specifický kmen s geny *cgr1* a *cgr2* inaktivuje digoxin
- Arg inhibuje operon *cgr1* / *cgr2* geny



Lidská mikrobiota

- Farmakoterapie
- orální antivirotikum
sorivudin
- protinádorové léčivo
tegafur
- *Bacteroides* sp.

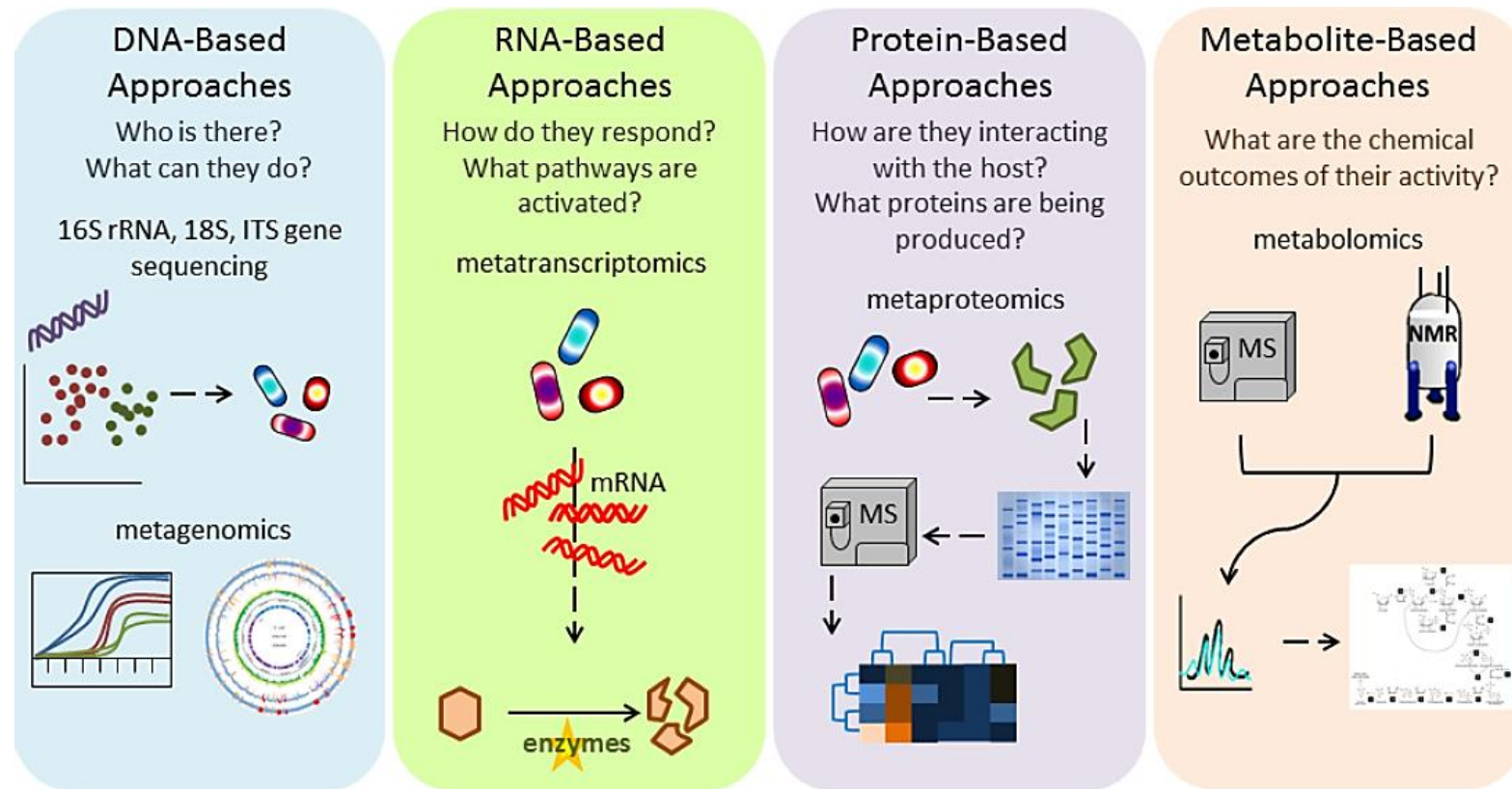


http://www.discoverymedicine.com/Alain-Li-Wan-Po/files/2013/05/discovery_medicine_no_84_alain_li-wan-po_figure_2.jpg.html?id=2|attachment_11

Hostitelský mikrobiom

– Vize

– Interakce mezi hostitelem a mikrobiomem – kombinace přístupů



Farmaceutický výzkum

– Vize

– Vývoj léčiv:

- s vyšší účinností (identifikace genů tzv. „drug targets“)
- s nižšími NÚ (stanovení individuální genetické predispozice pacienta + PREDIKCE účinnosti/toxicity potenciálních léčiv na základě změn v profilu genové exprese)
- pro cílenou a kauzální terapii, tj. genovou terapii (identifikace genů asociovaných s patogenezí choroby)

– Postavení farmakogenetiky a farmakogenomiky je kruciální.



ENVIRONMENTAL GENOMICS



Informace o duševním vlastnictví

- Tato prezentace je autorským dílem vytvořeným zaměstnancem Masarykovy univerzity.
- Studenti kurzu/předmětu mají právo pořídit si kopii prezentace pro potřeby vlastního studia.
- Jakékoliv další šíření prezentace nebo její části bez svolení Masarykovy univerzity je v rozporu se zákonem.

M A S A R Y K O V A
U N I V E R Z I T A