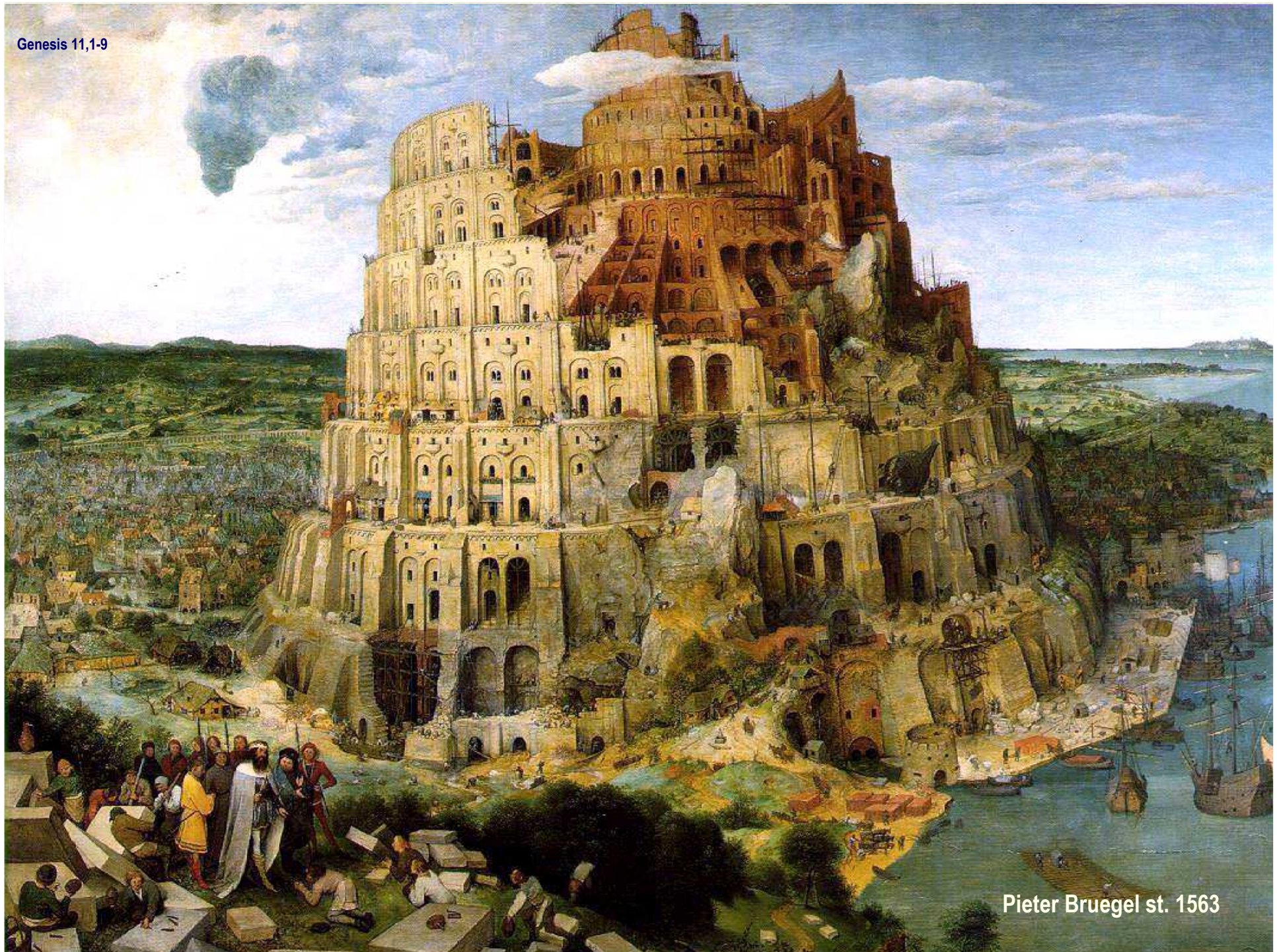


Zmátení pojmů: farmakogenetika a farmakogenomika

Petr Hořín
Ústav genetiky FVL
Ceitec VFU
VFU Brno

Genesis 11,1-9



Pieter Bruegel st. 1563

Zmatení pojmů

- *Farmakogenetika*
- *Farmakogenomika*



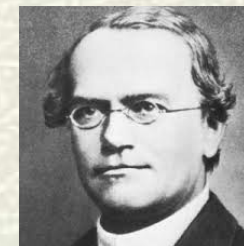
Zmátení pojmů

- *Genetika*
- *Genomika*



Historie

☒ Období redukcionismu



☒ Období holistické

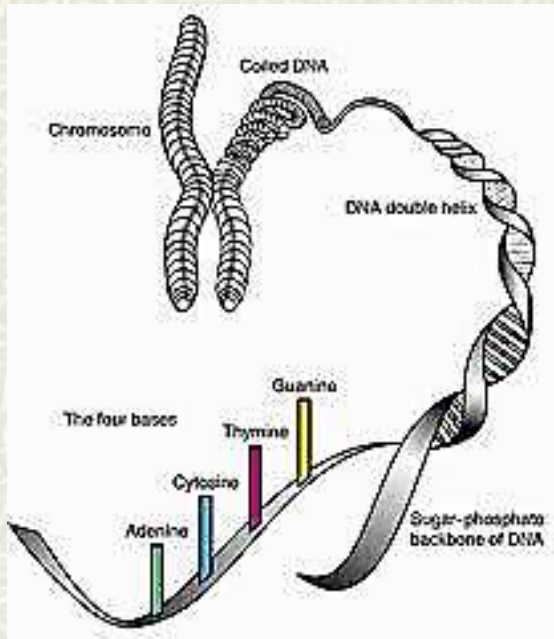


„Celek je víc než souhrn jeho částí.“

Aristoteles, *Metafysica*

Jan Smuts, Holism and Evolution, 1926

GENOM



- > 1m DNA
- 24 chromosomů, mtDNA
- > 3,100,000,000 bp
- ~20,000–25,000 protein kódujících genů (< 2% genomu)
- > 5 MG SNPs
- „Junk“ DNA: RNA, repetice, ??



Variabilita genomu: polymorfismus DNA

- **Sekvenční: *SNP, indel***
 - **Repetitivní: *msat, CNV***
-

Sekvenční polymorfismus

Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

cgcgcggcctcctccttgtggc catcctggtcctcctaaaccacctggac

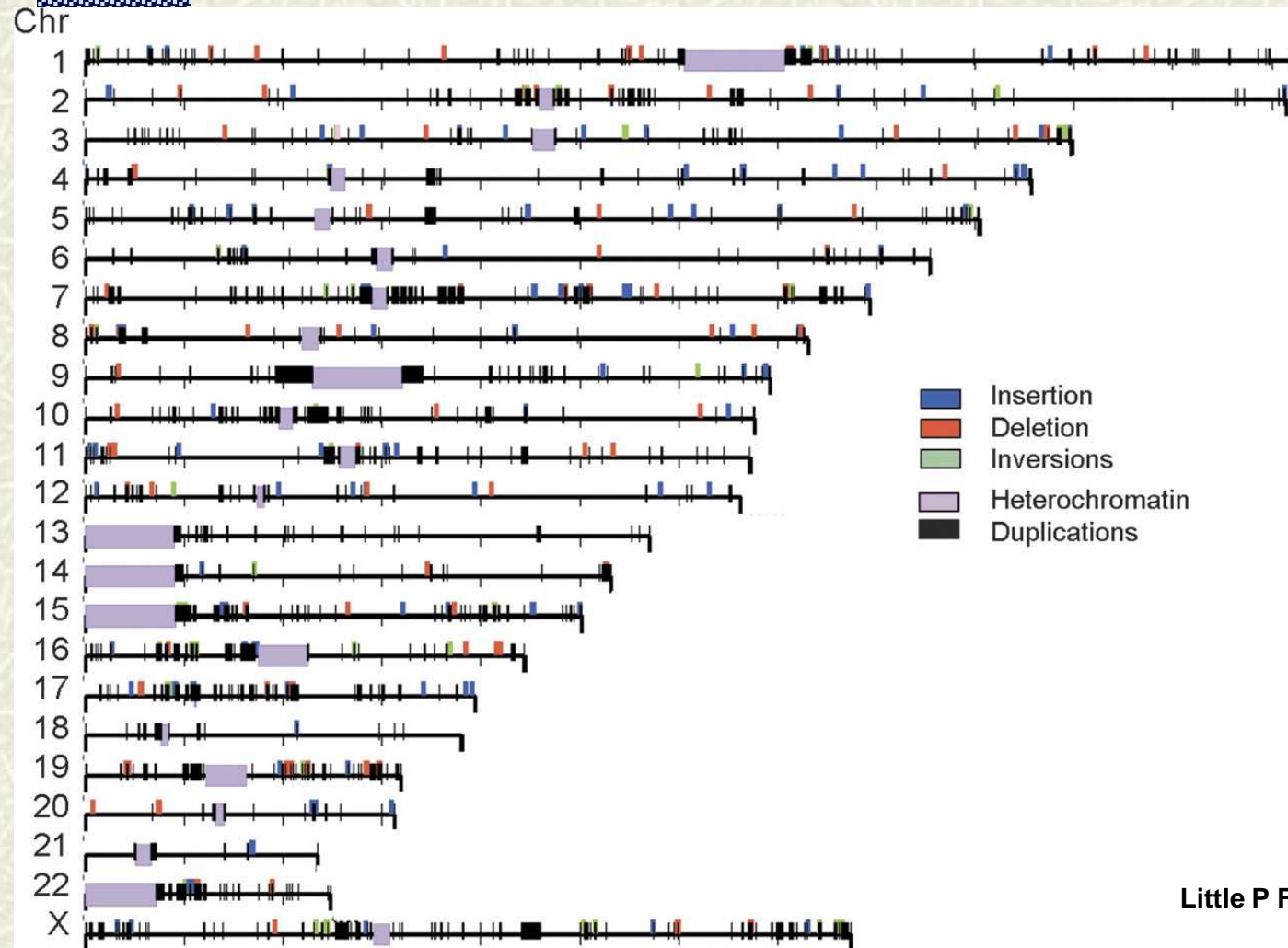
cgcgcggcctcctccttgtggt catcctggtcctcctaaaccacctggac

Insertions/deletions (indels)

cgcgcggcctcctccttgtggccatcctggtcctcctaaaccacctggac

cgcgcggcctcctccttgtgg-----ctggtcctcctaaaccacctggac

139 insertions, 102 deletions, and 56 inversions on each human chromosome



Little P F Genome Res. 2005;15:1759-1766

Repetitivní polymorfismus

Mikrosatelity (STR)

cgcgcggcctcctccttgtggcacacacacacacacatcctgggcctcctaaaccacctgga

cgcgcggcctcctccttgtggcacacacacacacacatcctgggcctcctaaaccacctgga

Copy number variants (CNV)

>1 kb – 1Mgb

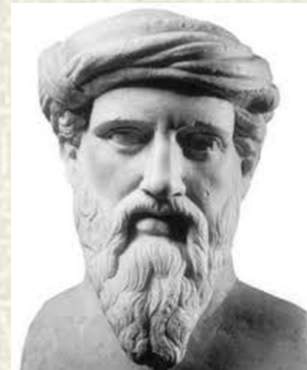
FARMAKOGENETIKA

Studium individuální genetické variability v reakci na léčiva

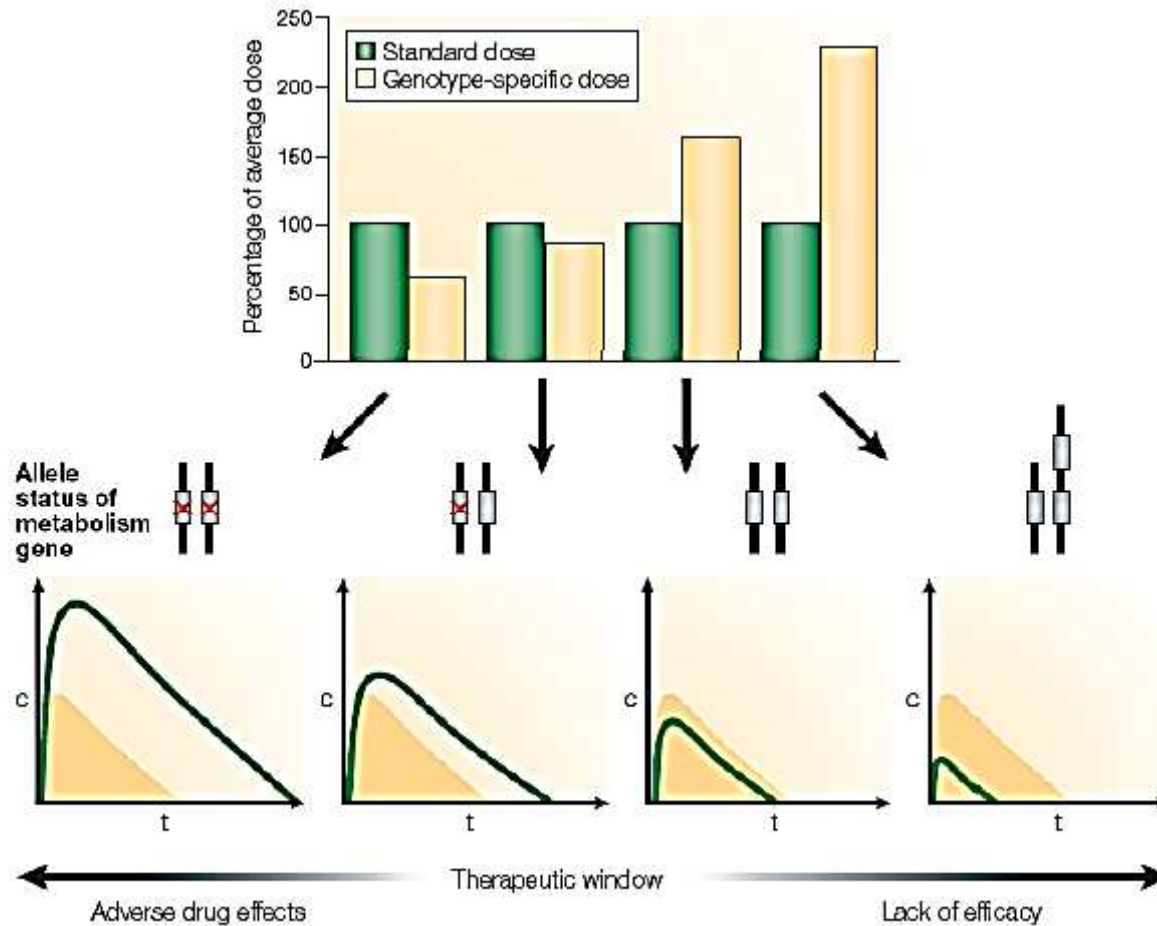
Favismus: deficiencie glukózo-6-fosfát dehydrogenázy
Boby, primachin atd.

1959 ... poprvé použit termín
„pharmacogenetics“

1998 ... poprvé použit termín
„pharmacogenomics“
“



Farmakogenetika: využití v praxi



Kirchheiner et al., Nat Rev Drug Dis, 4:637-649, 2005

Farmakogenetika

Vybrané příklady

- Syndrom maligní hypertermie
 - Ivermectin
 - CYP450
 - Metotrexát
-

Syndrom maligní hypertermie

- U jednoho z deseti až patnácti tisíc lidí, u operovaných pacientů 1 ku 250 000 podaných anestezií.
 - Mutace na 19. chromozomu RYR1
 - Gen RYR1 je dlouhý 160 kb rozdělených do 106 exonů a kóduje oblast 15 301 bp. Dodnes zjištěno přes 100 různých mutací.
-

Syndrom maligní hypertermie prasat



- Mutace v genu RYR1
- Stejné příznaky po anestézii
- PSS a PSE
- Molekulární diagnostika



Ivermectin, milbemycin a příbuzné látky

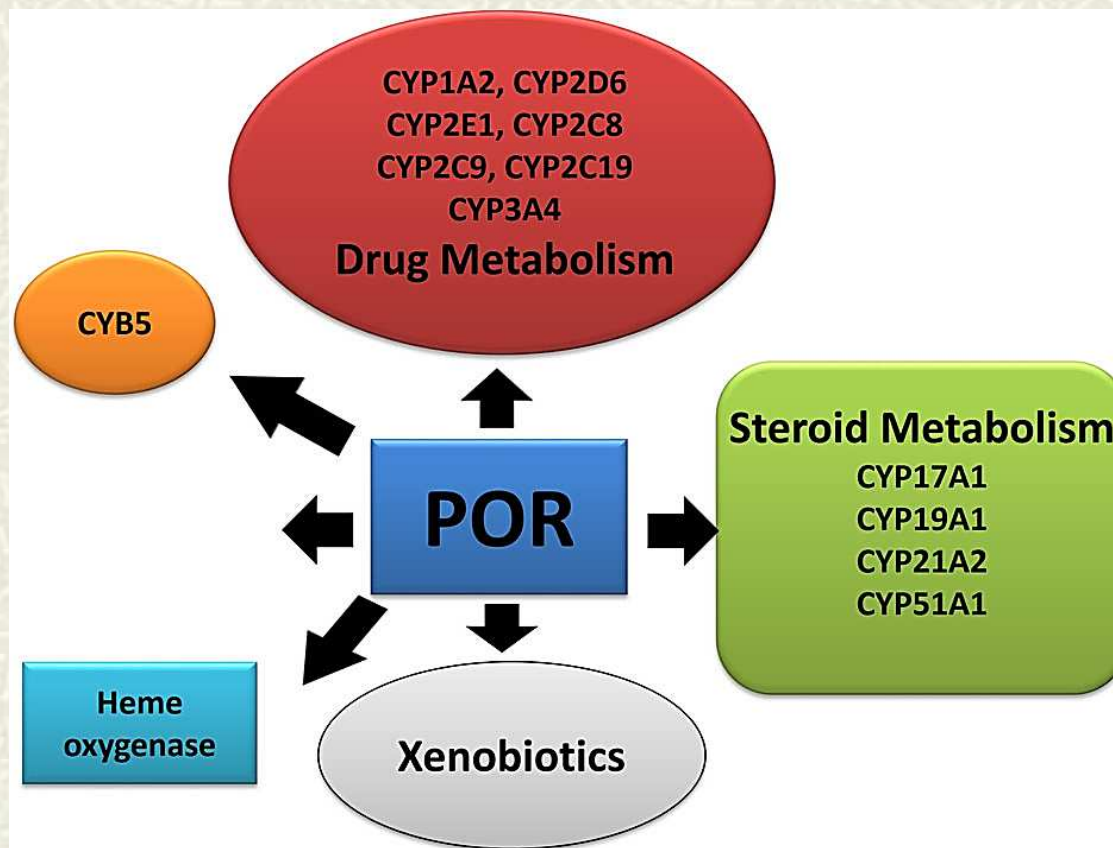
Breeds affected by the MDR1 mutation (frequency %)

Breed	Approximate Frequency
Australian Shepherd	50%
Australian Shepherd, Mini	50%
Border Collie	< 5%
Collie	70 %
English Shepherd	15 %
German Shepherd	10 %
Herding Breed Cross	10 %
Long-haired Whippet	65 %
McNab	30 %
Mixed Breed	5 %
Old English Sheepdog	5 %
Shetland Sheepdog	15 %
Silken Windhound	30 %



CYP450

Cytochrome P450 oxidoreduktáza v mikrosomech:
metabolismus léčiv a steroidů



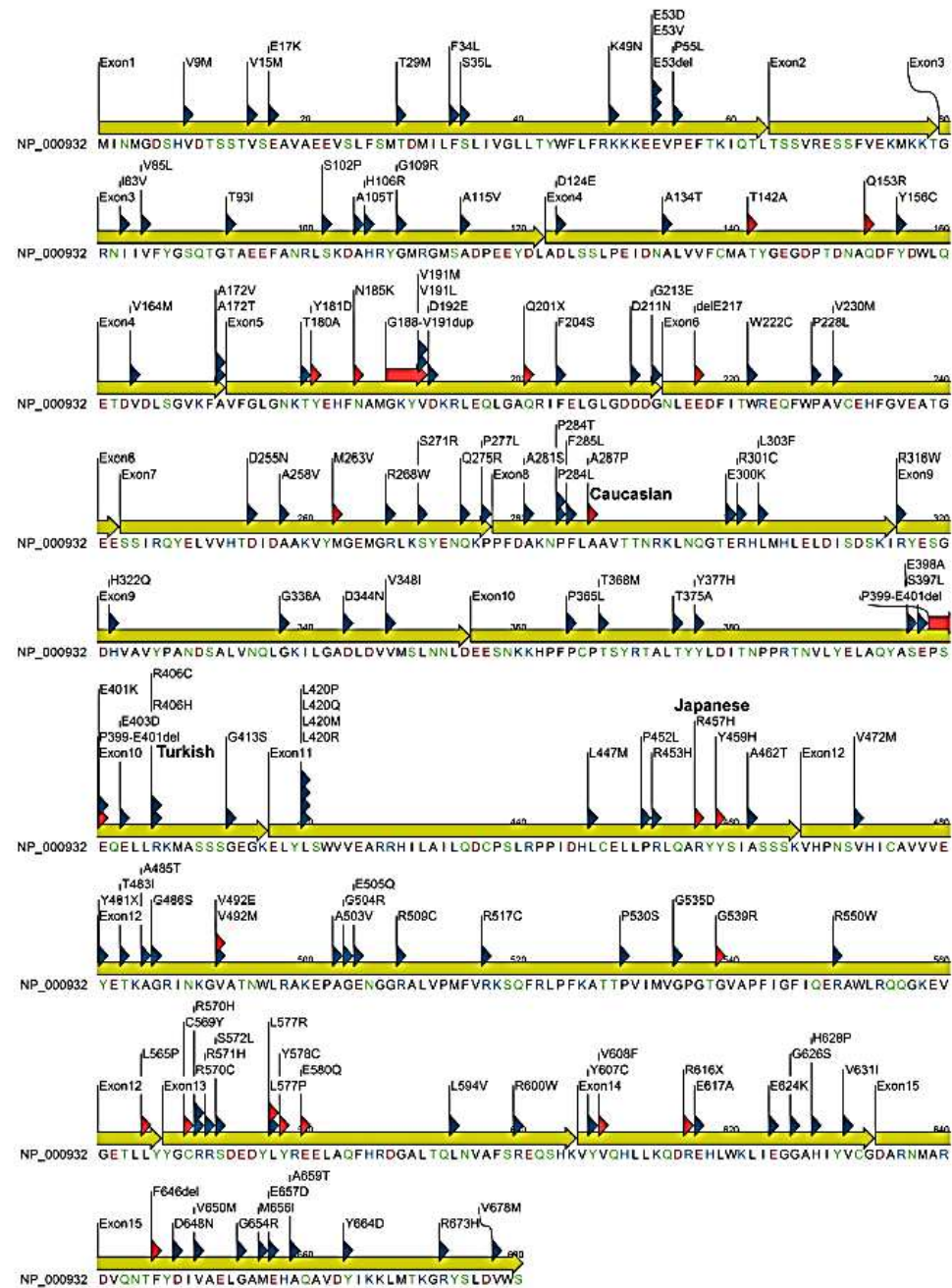
Polymorfismy v genu CYP450

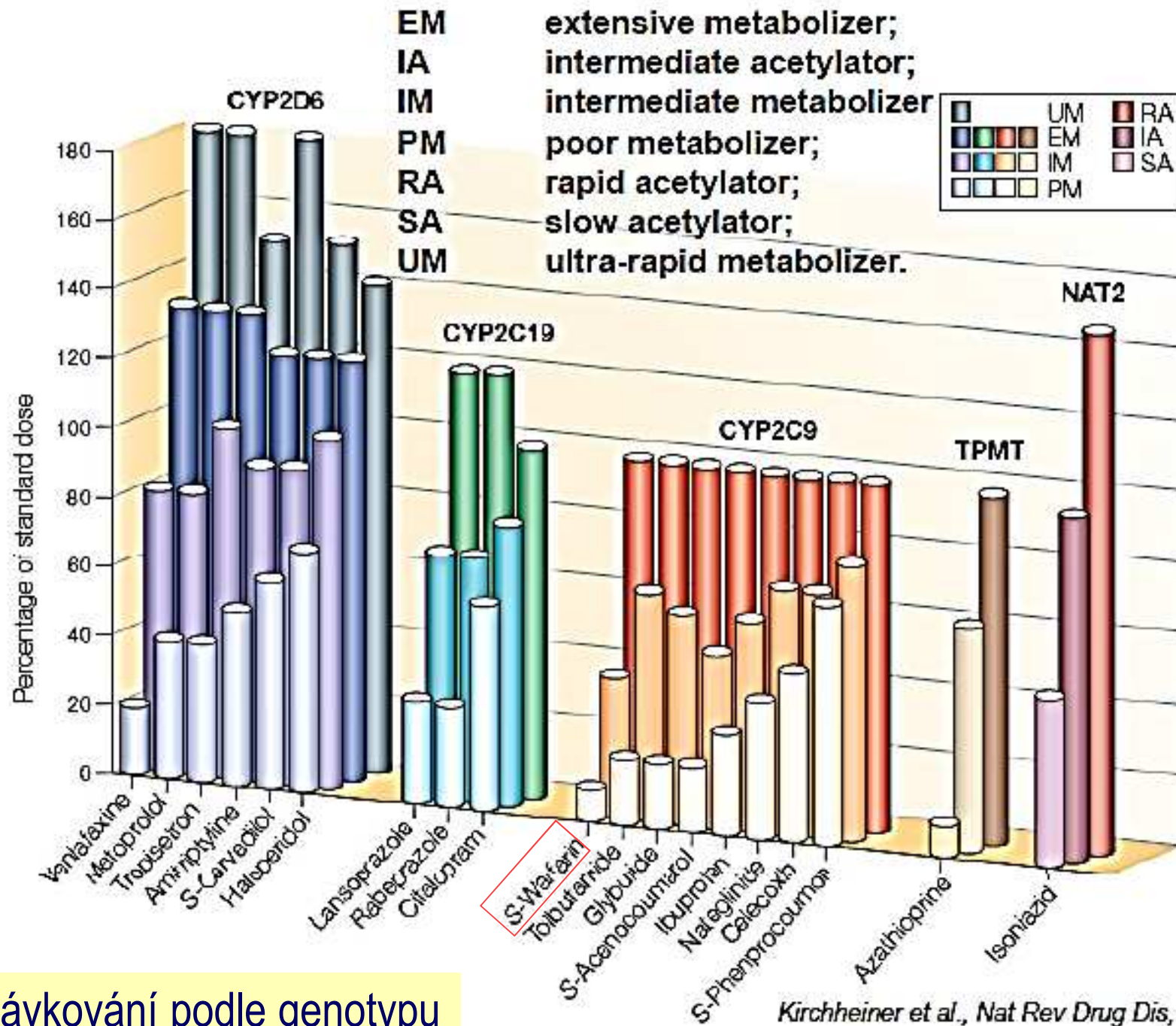


Patologický efekt



Neutrální





Dávkování podle genotypu

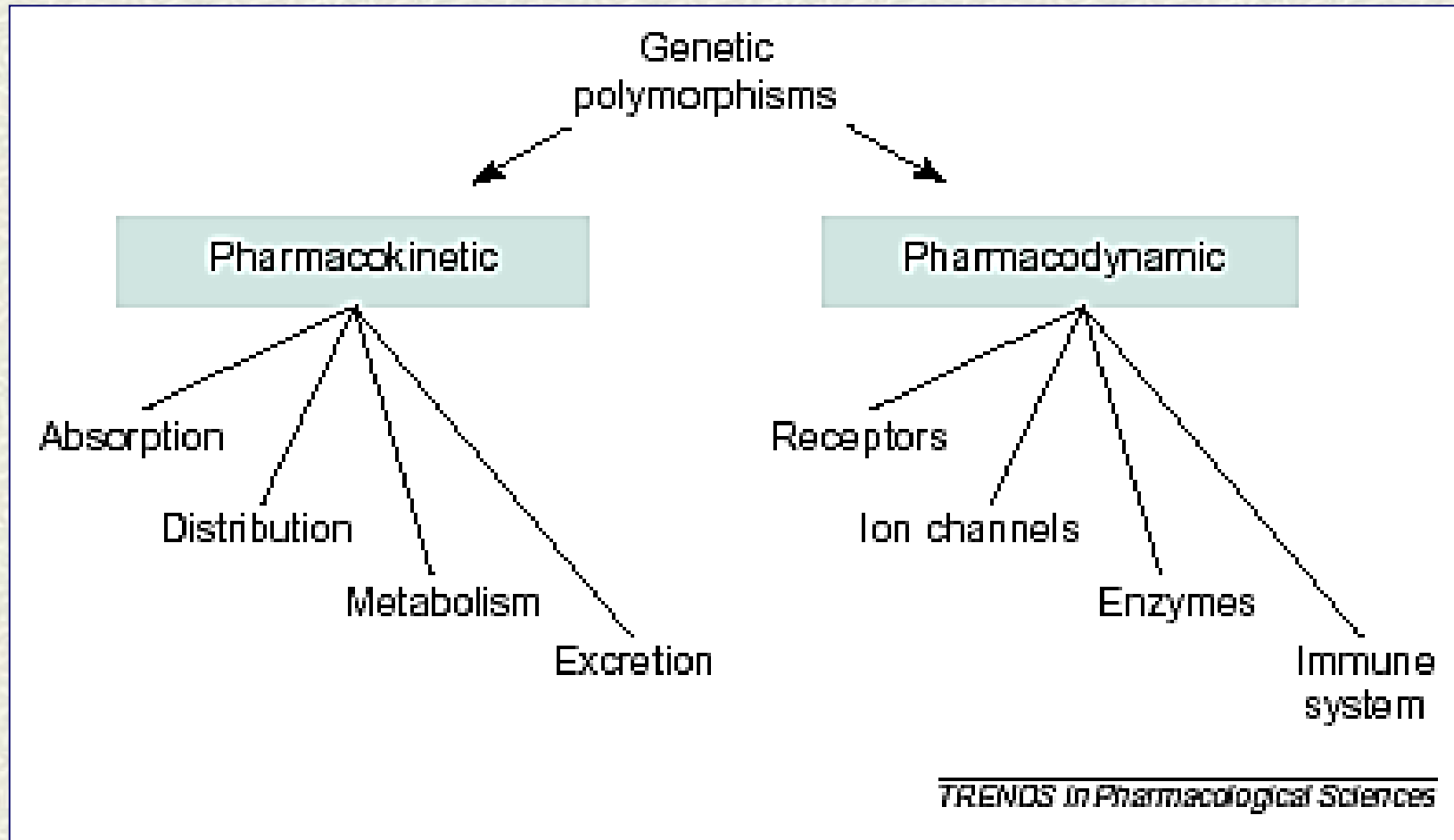
Metotrexát

- Metotrexát patří k základním lékům používaným při léčbě revmatoidní artritidy (RA). Efektivita léčby revmatoidní artritidy metotrexátem se pohybuje mezi 46 % a 65 %.
- Při léčbě metotrexátem se může vyskytnout celá řada nežádoucích účinků. Alespoň jeden z nich se objeví až u 72,9 % pacientů, závažné projevy toxicity se zjišťují až u 30 % pacientů.
- Mezi nejvíce studované geny patří gen kódující enzym 5,10-methylentetrahydrofolát reduktázu, jehož mutace má patrně souvislost s i nežádoucími gastrointestinálními účinky.

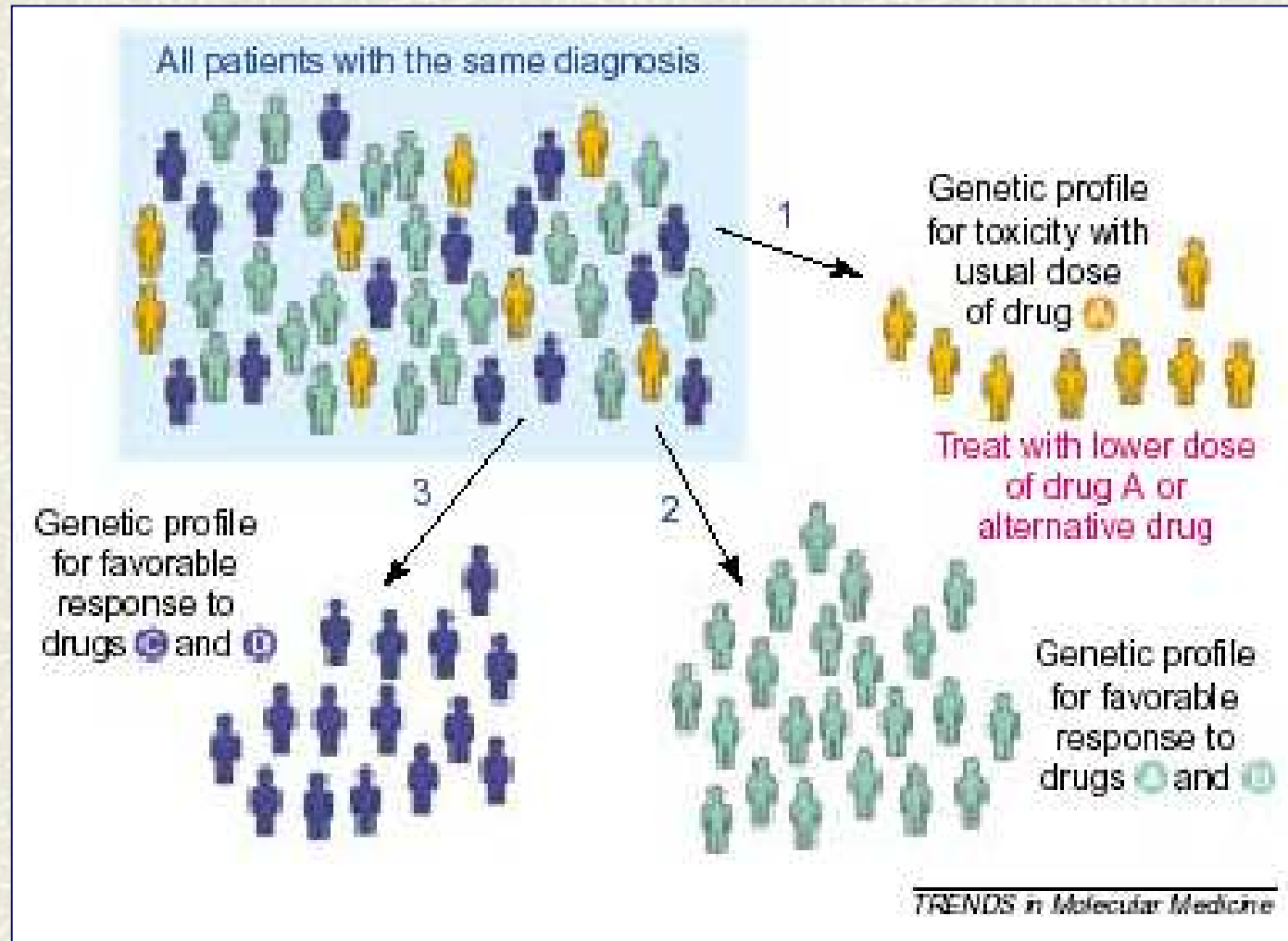
Tabulka 1. Přehled polymorfizmů studovaných v souvislosti s farmakogenetikou metotrexátu

Gen	Funkce	Polymorfizmus	Vliv na	
			toxicitu	efekt
SLC19A1 (RCF-1)	aktivní transport MTX do buňky	80G > A	není souvislost (37)	80AA – dobrá odpověď na léčbu (34), není souvislost s efektem (37)
ABCB1	eflux MTX	3435C > T	3435TT – vyšší výskyt nežádoucích účinků (40, 41)	3435TT – špatná odpověď na léčbu (39)
ABCC2	eflux MTX	IVS 23 + 56 T > C	souvislost s toxicitou (40)	neznámý
GGH	polyglutamace MTX – reverzní efekt	401C > T	GGH 401TT – nižší hladiny MTXPG, souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (35)	
		452C > T	snížení aktivity GGH a intracelulární hromadění dlouhých řetězců MTXPG (42), souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (43)	
		16T > C	neznámý	
MTHFR	metylace homocysteinu	677C > T	alela T – zvýšené riziko hepatotoxicity (46, 47, 48)	není souvislost (44, 47, 48)
		1298A > C	rozporuplná data	1298AA – výraznější pokles CRP a FW při nižší spotřebě MTX (47)
MTHFD1	de novo syntéza purinů	1958G > A	neznámý	1958AA – snížený efekt MTX
TYMS	de novo syntéza pyrimidinů	opakování 28 párů bází v oblasti 5'-UTR	neznámý	homozygoti pro 2 opakování – lepší odpověď na léčbu, menší spotřeba MTX (36, 55)
		delece 6 párů bází na pozici 1494 v oblasti 3'-UTR	snížená exprese a stabilita TYMS mRNA (56,57), souvislost s toxicitou nebo efektem neznámá	
DHFR	konverze homocysteinu na methionin	829C > T	zvýšená exprese DHFR (59), souvislost s toxicitou nebo efektem neznámá	
		473G > A	souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (37)	
		35289G > A	souvislost s toxicitou nebo efektem neprokázána (37)	
ATIC	metabolismus adenosinu	347C > G	347G – vyšší výskyt nežádoucích účinků (61, 62)	347CC – dobrá odpověď na léčbu (61)
ITPA	metabolismus adenosinu	94C > A	neznámý	94CC – dobrá odpověď na léčbu (61)
AMPD1	metabolismus adenosinu	34C > T	neznámý	34T – dobrá odpověď na léčbu (61)
ADORA2A	receptor pro adenosin	5 různých polymorfizmů	souvislost s gastrointestinální toxicitou (64)	není souvislost (64)

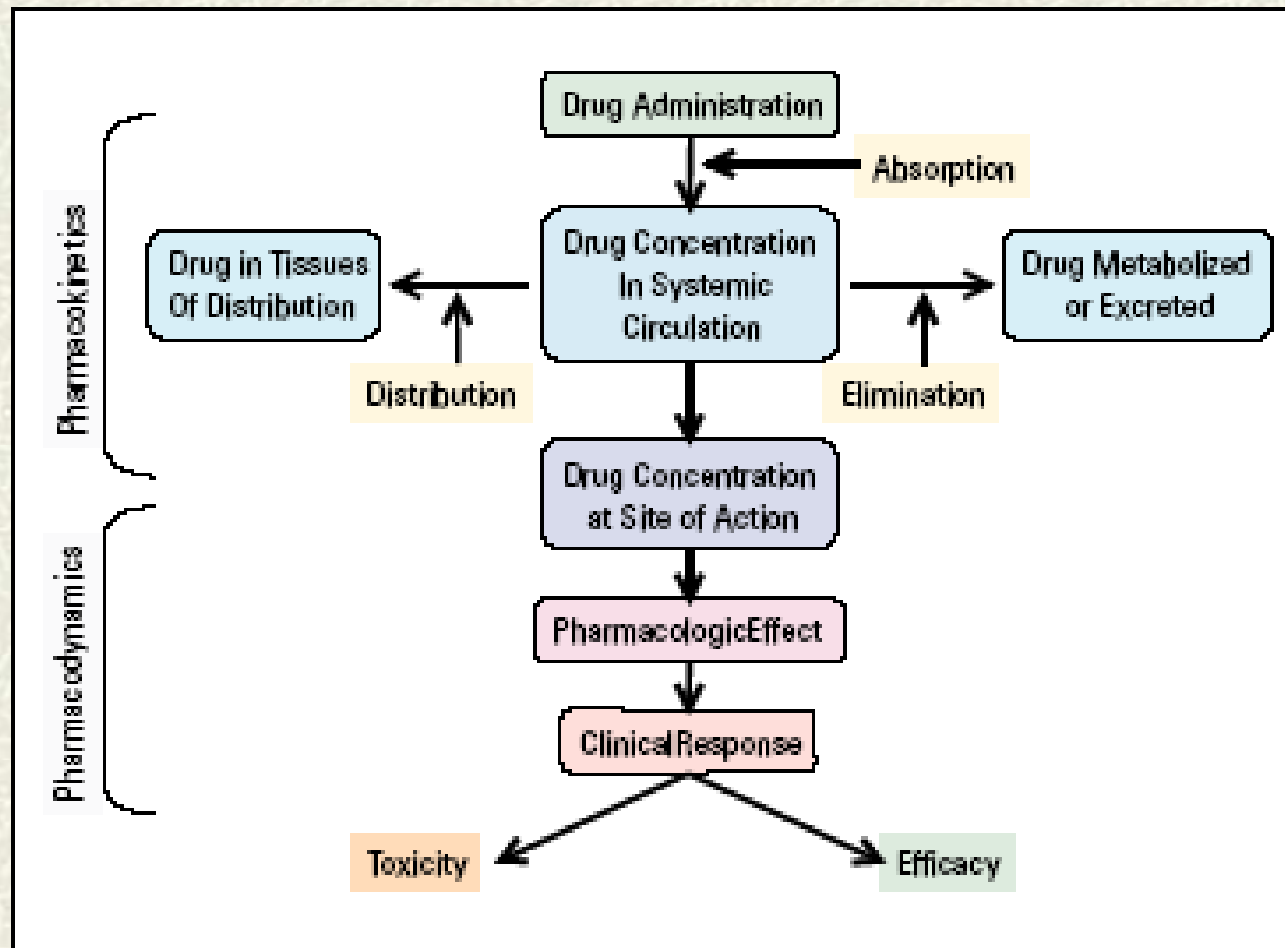
FARMAKOGENETIKA



FARMAKOGENETIKA



Farmakogenetika vs. Farmakogenomika



Farmakogenomika a holistický přístup: Genom je víc než souhrn genů

1atgtgccgc cgcgggcct cctcctgtg gccatcctgg tcctcctaaa ccacctggac
61 cacctcagtt tggccaggaa cctccccaca gccacaccag gcccaggaat
gttccagtgc 121 ctcaaccact cccaaaacct gctgaggacc gtcagcaaca
cgcttcagaa ggccaggcaa 181 accctagaat tctactctg cacttctgaa
gagatcgatc atgaggatat cacaaaagac 241 aagagcagca ccgtggcggc
ctgcctccc ctggaactcg ccccgaacga gagttgcctg 301 gcttccagag
agatctctt cataactaat gggagttgcc tgacccccg aaaggcctct 361
tctatgatga cgctgtgct tagcagcatc tatgaggact tgaagatgta ccaggtggag
421 ttcaaggcca tgaatgcaa gctgttgata gatcctcaga ggcagatctt
tctggatgag 481 aacatgctga cagccattga caagctgatg caggccctga
acttcaacag tgagactgtg 541 ccacaaaagc cctcccttga aggactggat
tttataaaa ctaaagtcaa gctctgcatc 601 cttcttcatg ccttcagaat
ccgcgcagt accatcaaca ggatgatgg ctatctgaat 661 gcttcctaa





GENOMIKA A PROTEOMIKA

**Systematická a
komplexní analýza
genomu a proteomu**

Postgenomická éra

**Období, kdy jsou známy kompletní
sekvence genomů významných
organismů (lidský genom 2001)**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genomes/>

- Období anotace genomu
 - Období rozvoje tzv. „high throughput“ technik
-

GENOMIKA V BIOMEDICÍNĚ

Rozvoj genetických a
molekulárních metod

**Období
holistické**

Analýza komplexních jevů

Nové trendy v medicíně

Rozvoj genetických a molekulárních metod



Ústřední problém objevování nových léčiv

„Molecular biology is teaching us that many, if not all diseases have a genetic basis. To understand the pathways and the genetic programs that cause disease or that dispose an individual for disease must be central to drug research“.

Jürgen Drews: Strategic trends in the drug industry, Drug Discovery Today 8, 2003: 411-420.



NEW BIOLOGY:

HOLISTICKÝ PŘÍSTUP

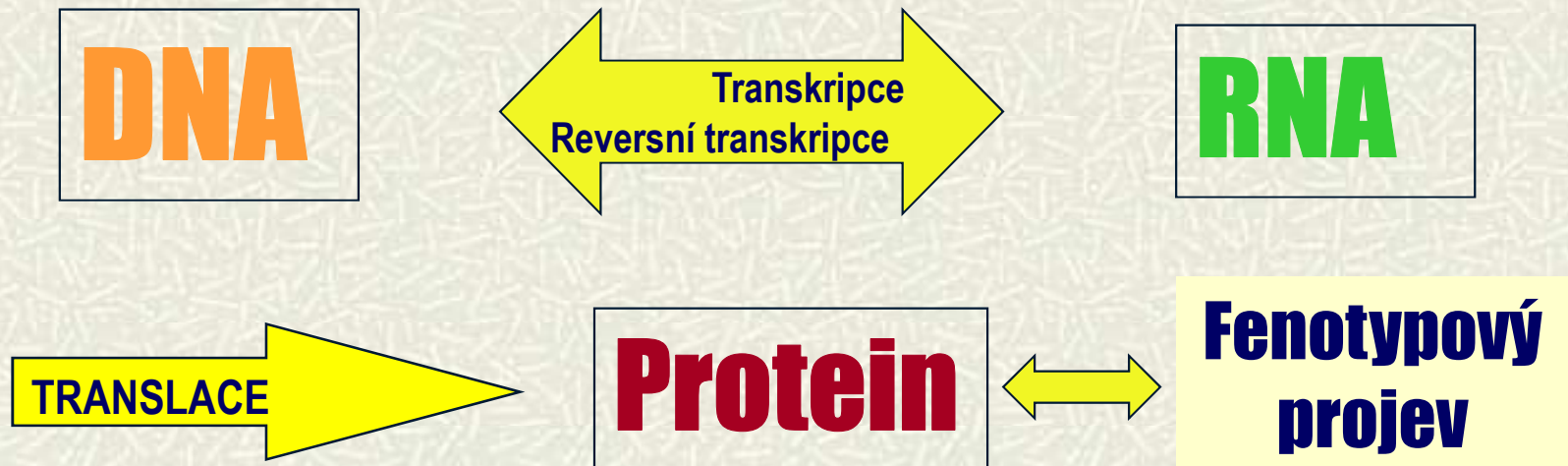


**Možnost řešení
komplexních problémů**

PATOGENEZE

GENOMICKÉ PŘÍSTUPY: komplexní analýza

OD FENOTYPU KE GENOTYPU



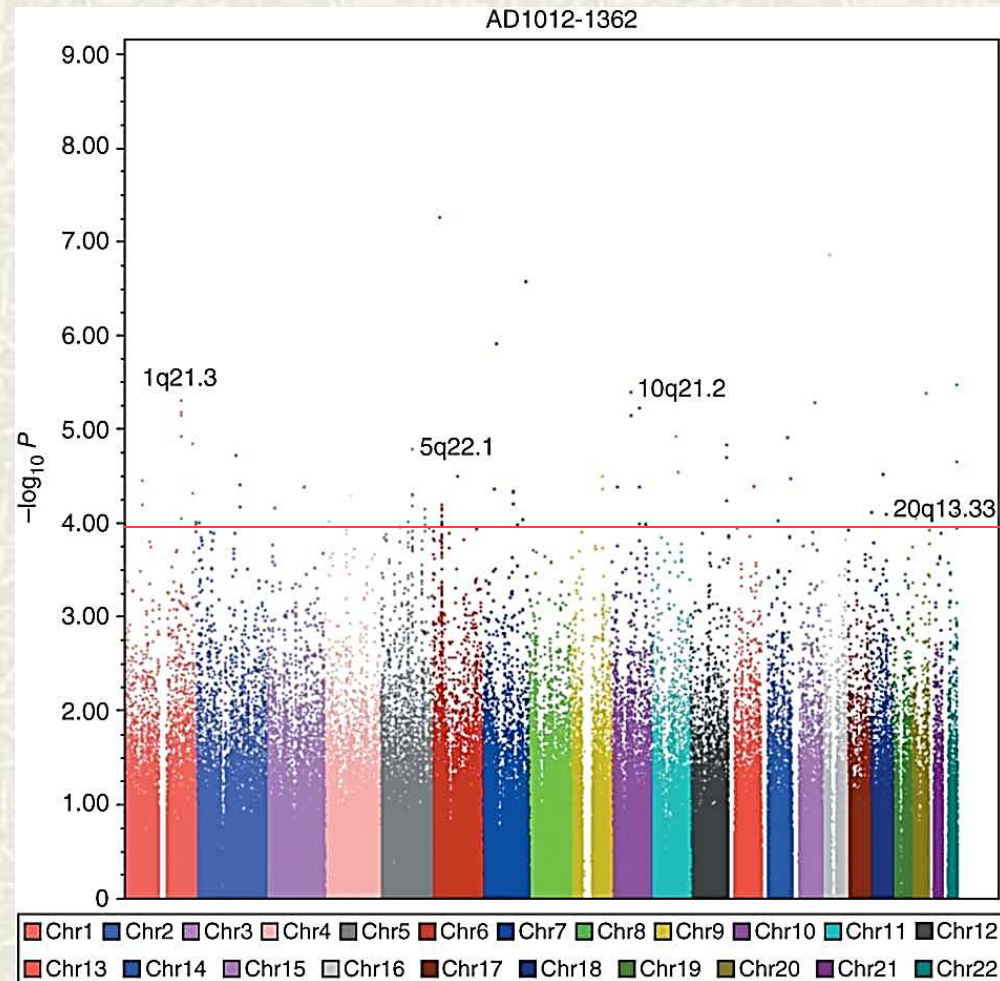
OD GENOTYPU K FENOTYPU



Molekulární disekce komplexních znaků

1. Fenotypizace
 2. Genome-wide association study (GWAS)
 3. Analýza genové exprese: *RNA, proteiny*
 4. *Analýza drah (pathway analysis)*
-

GWAS

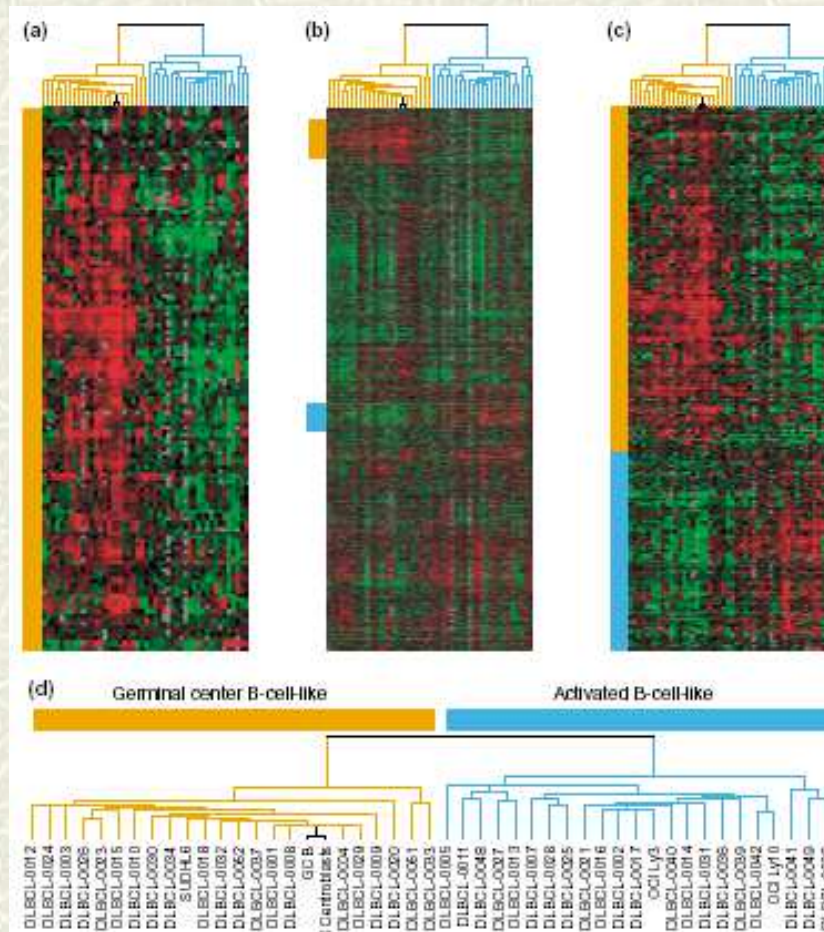


Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

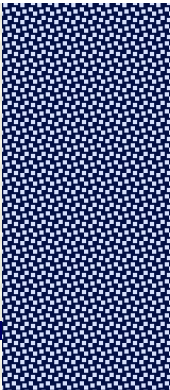
http://www.humgen.nl/SNP_databases.html



Expresa genů: cDNA microarrays



(Perou et al., 2000)



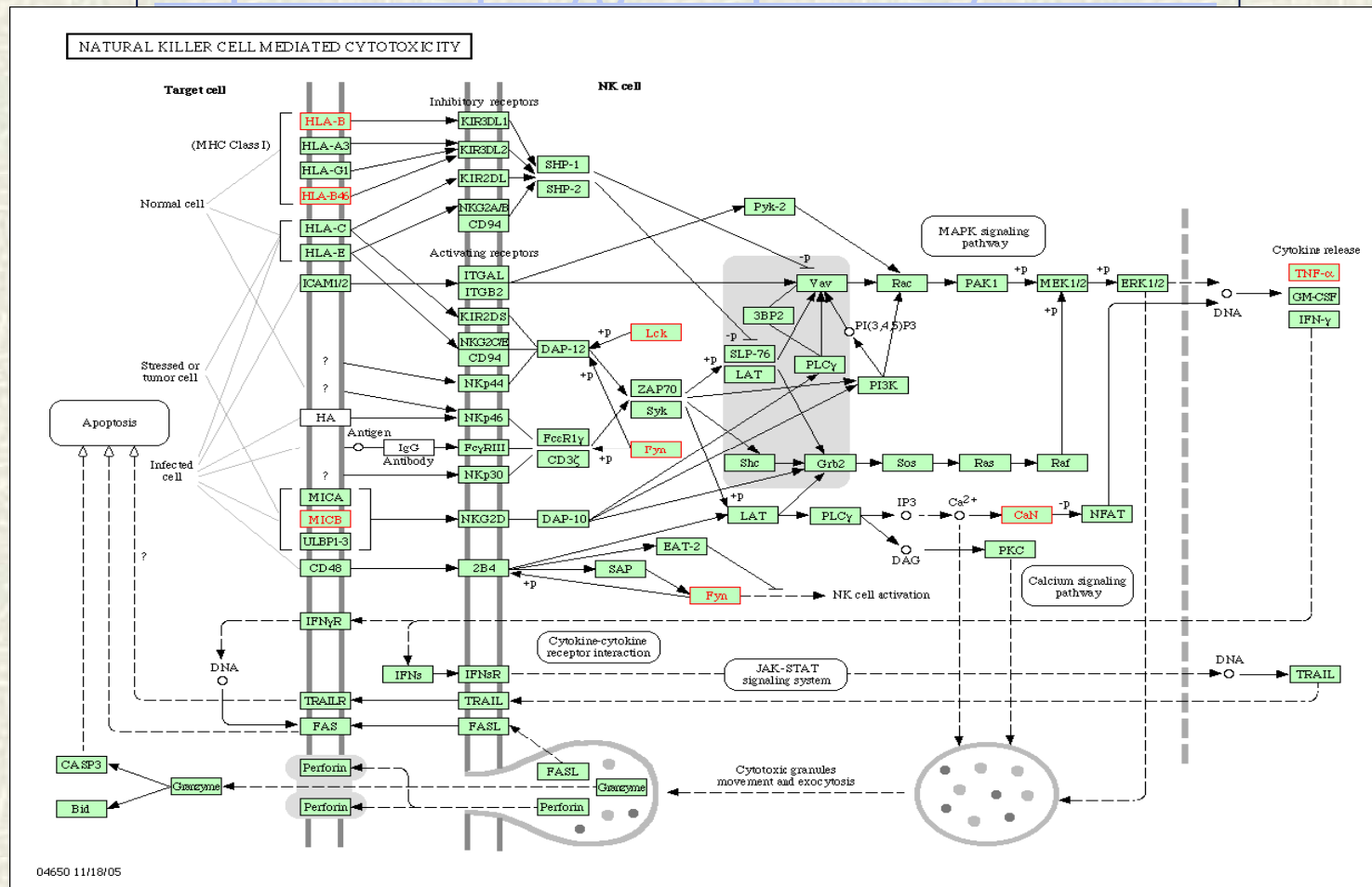
Genová exprese

1. Validace GWAS
 2. Identifikace kandidátních genů
 3. Identifikace funkčně významných drah
-

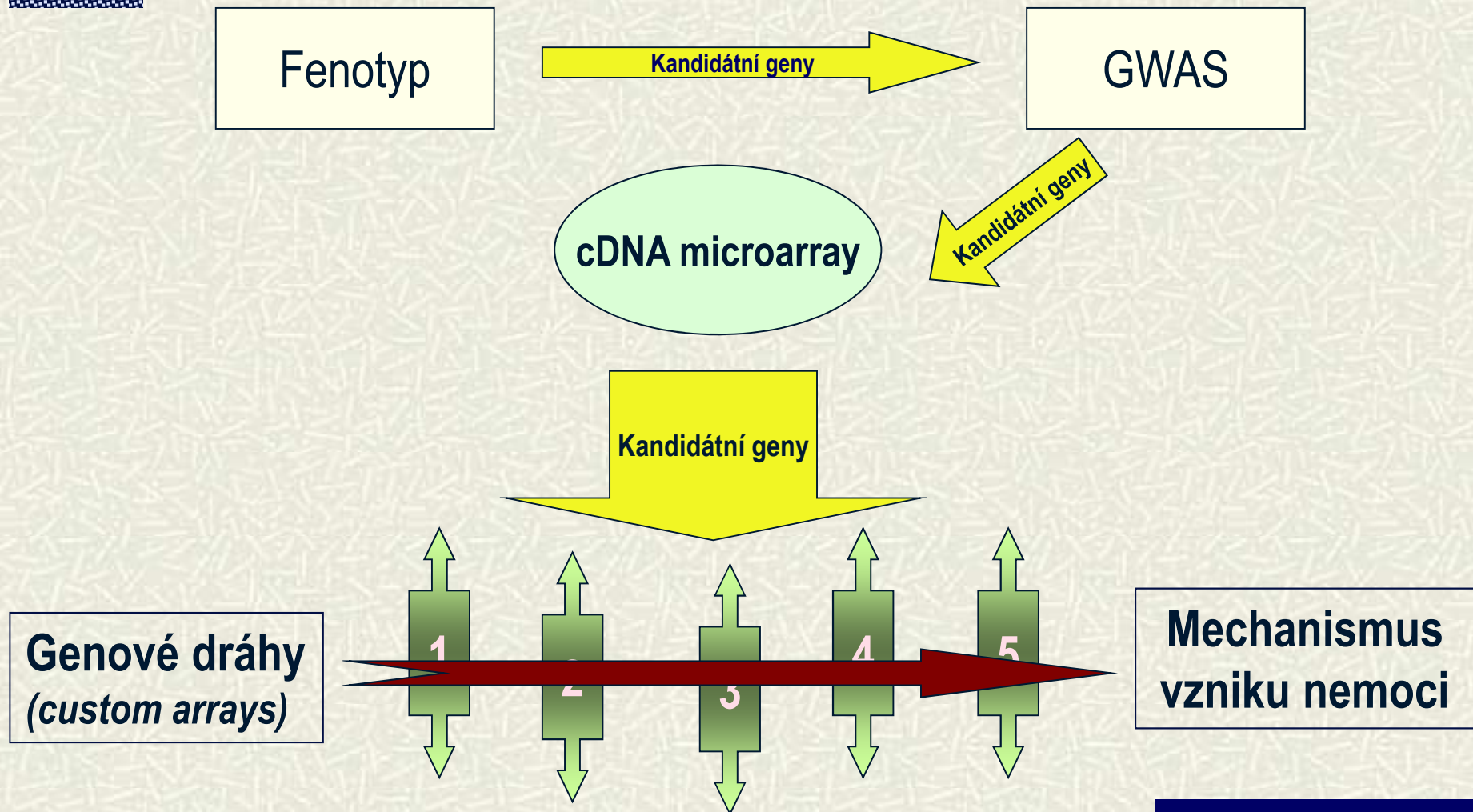
Genové dráhy

(regulační, signální metabolické etc.)

<http://www.polygenicpathways.co.uk/>



Molekulární disekce komplexních znaků



Genové dráhy a mechanismus nemoci (patogeneze)

<http://www.polygenicpathways.co.uk/>

Family	Gene
Cholesterol and lipoprotein-related	A2M, ABCA1, APOA1, APOA4, APOC1, APOC2, APOC3, APOE, CD36, CETP, HMGCR, LDLR, LIPA, LRP1, LRP6, LPA, LPL, OLR1, SREBF1
Cytokines	CCL2, CCR2, IL1B, IL1RN, IL6, IL18, TGFB1, TNF
Oxidative stress	ALDH2, GSTM1, GSTT1, HFE, MPO, NOS3, PON1, PON2
Nuclear receptor and related	CYP19A1, ESR1, PPARA
Proteases	ACE, CST3, MMP1, MMP3, SERPINE1
Miscellaneous	BCHE, CBS, CD14, CRP, GNB3, HLA-A2, HTR6, ICAM1, MEF2A, MTHFR, PTGS2, TLR4

Genes associated with both atherosclerosis/hypercholesterolaemia and Alzheimer's

Farmakogenomika v produkci léčiv

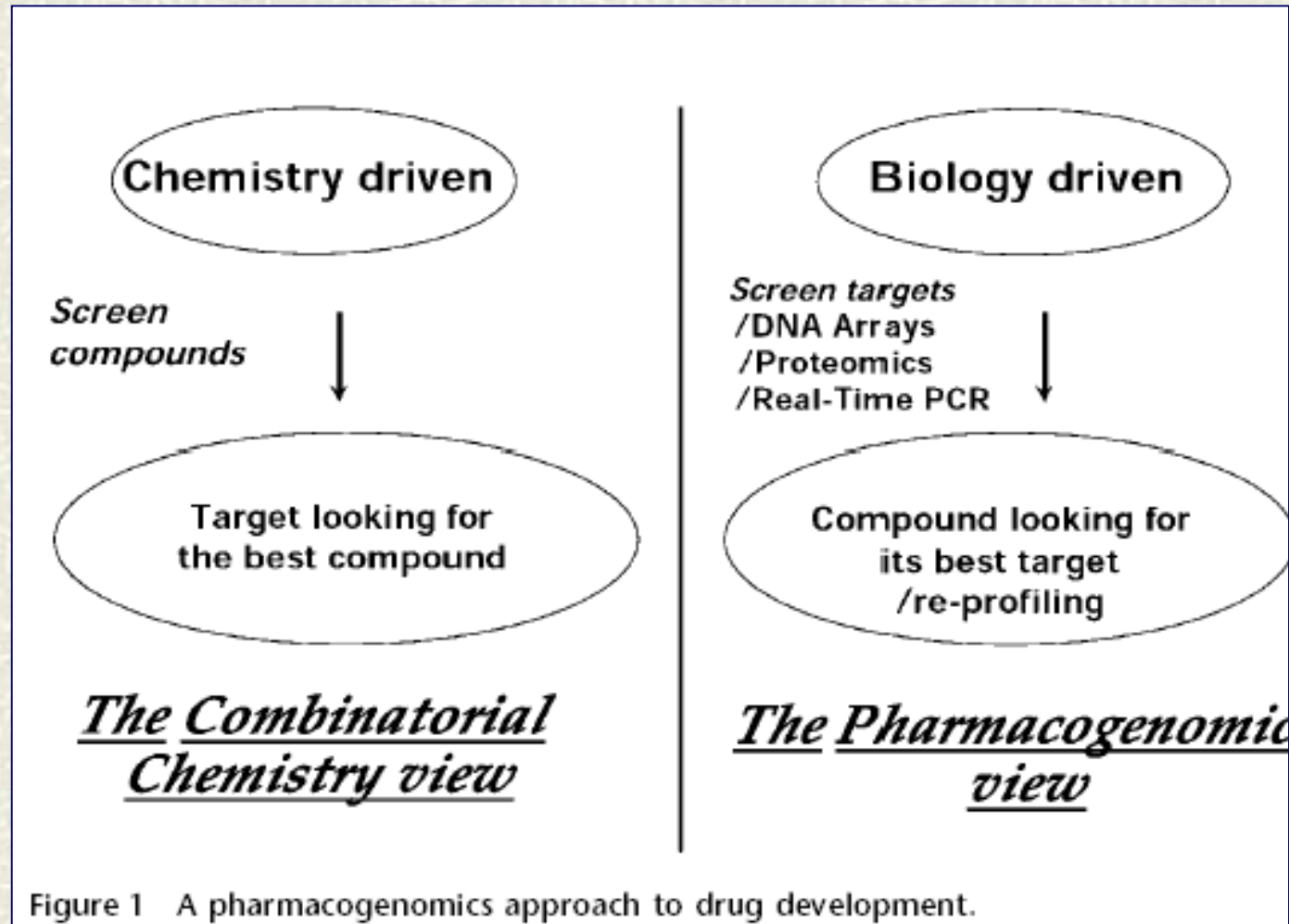
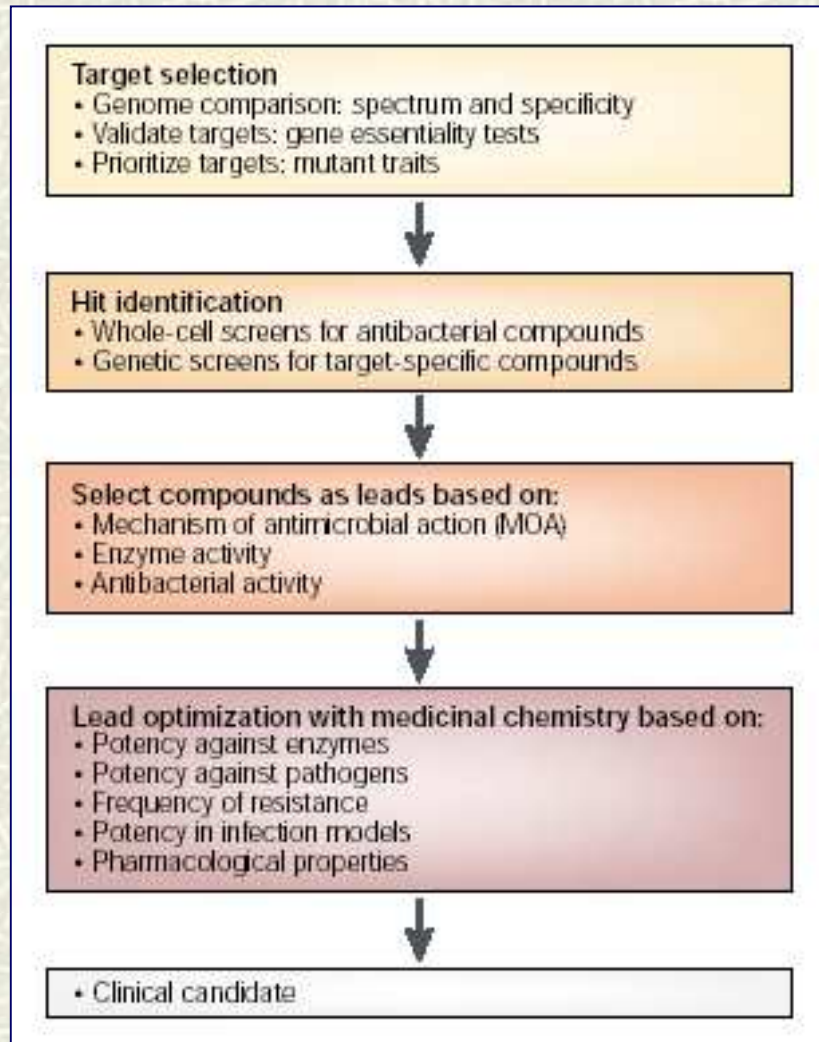


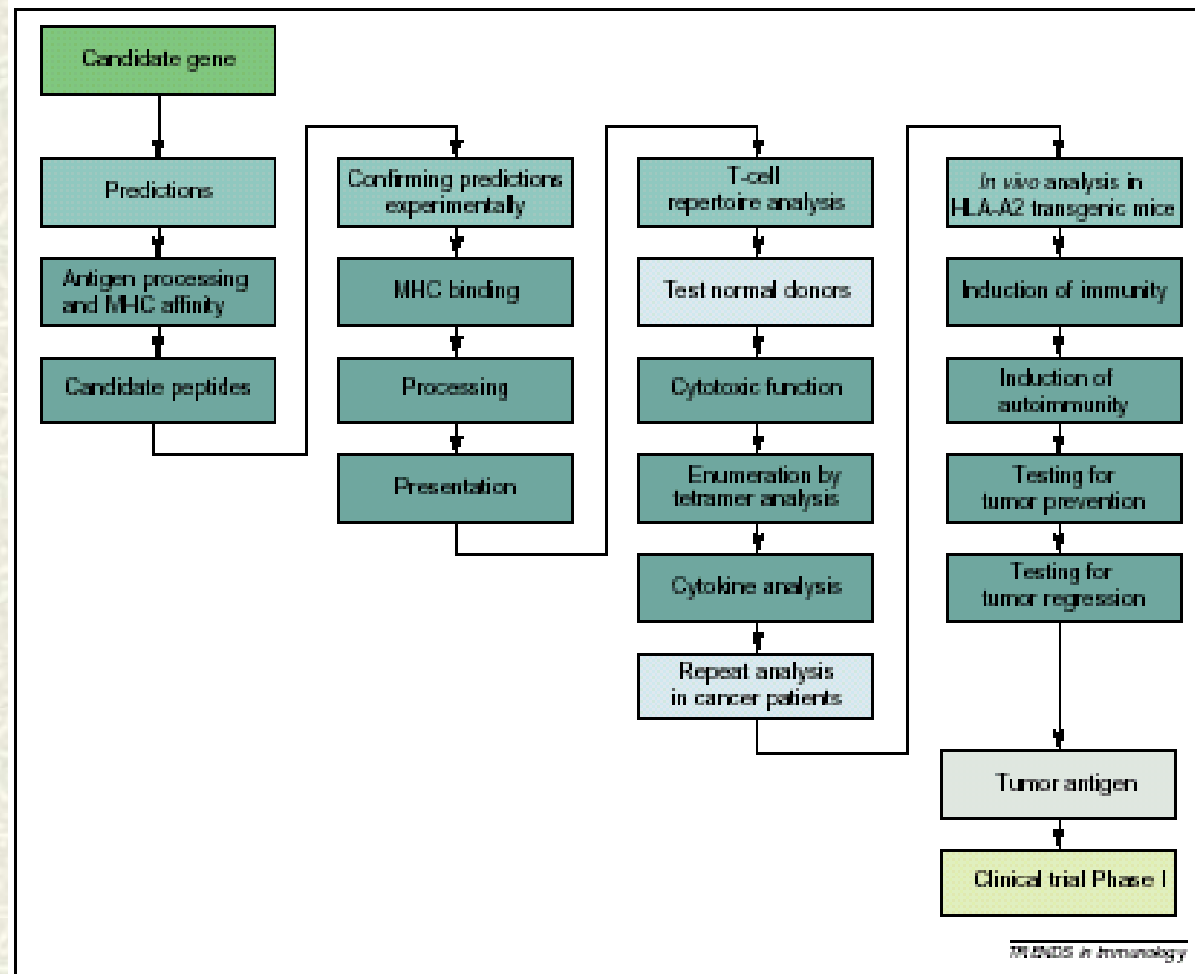
Figure 1 A pharmacogenomics approach to drug development.

Genomika patogenů:

příklad: antimikrobiální léčiva

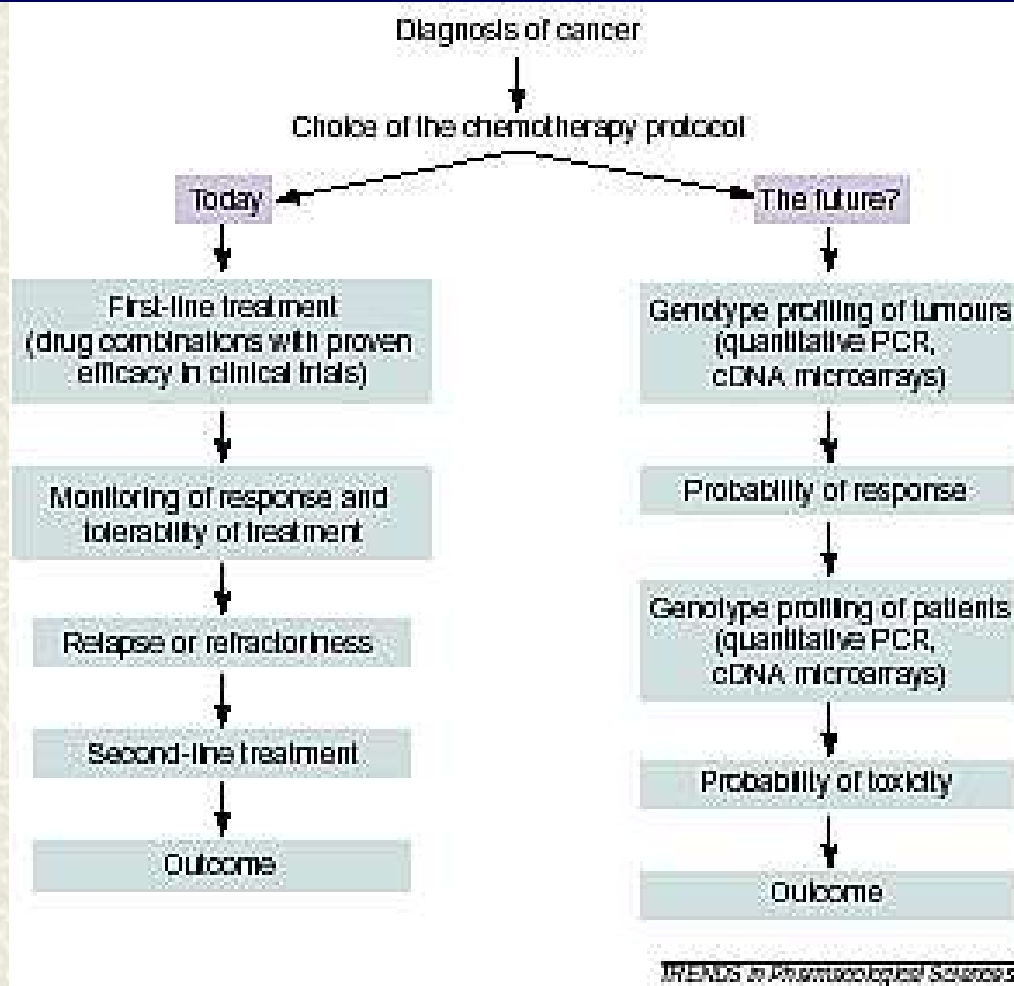


Genomika a imunoterapie



(Schultze, Vonderheide, 2001)

Genomika a chemoterapie

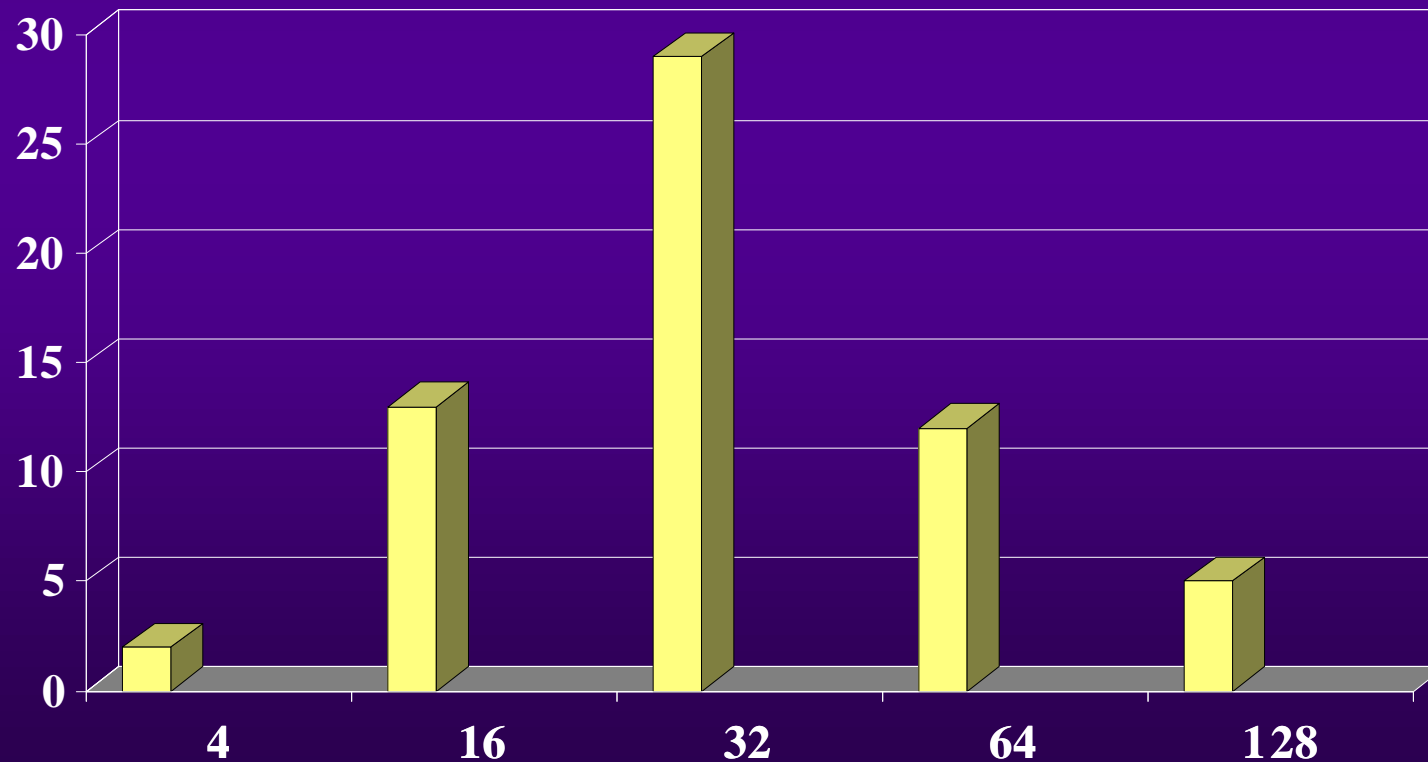


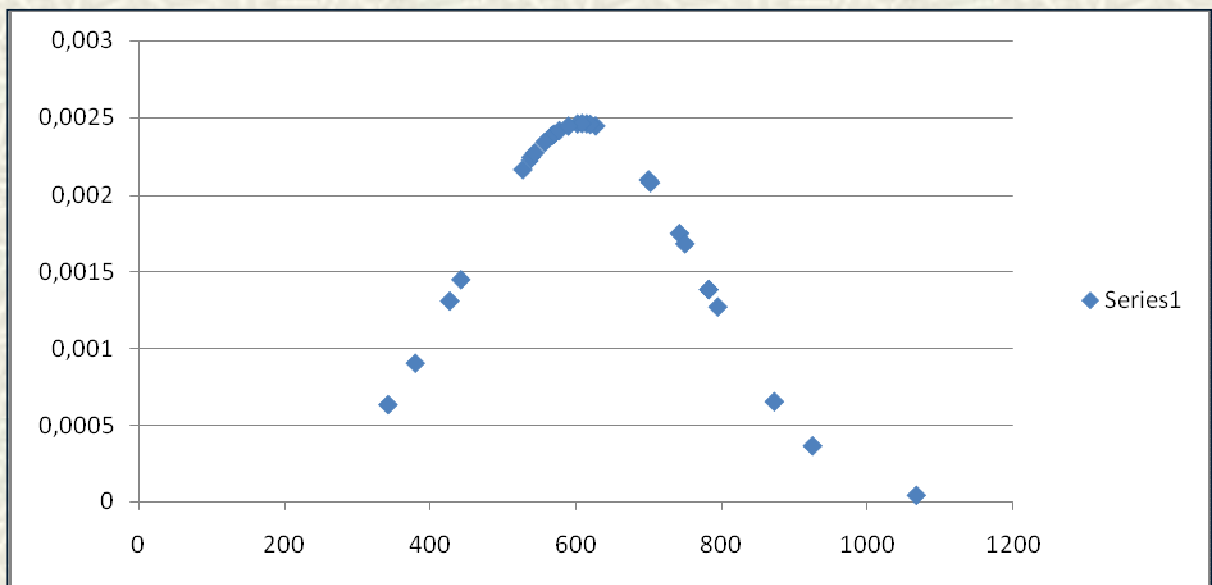
(Danesi et al., 2001)

Genetika, genomika a vakcinace

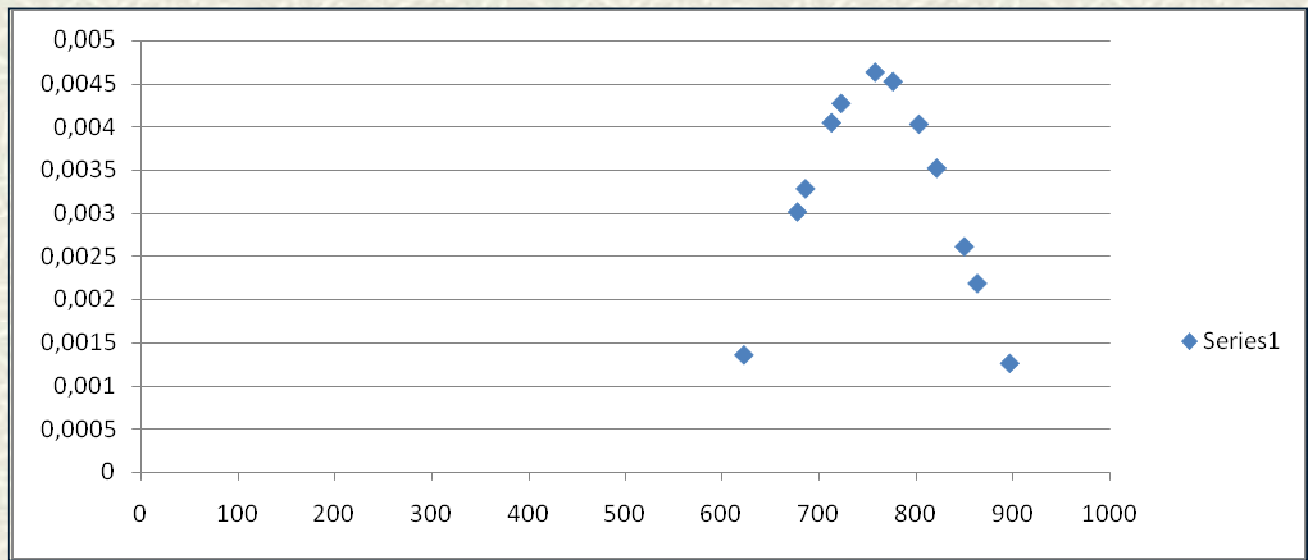
- **Individuální variabilita imunitní odpovědi po vakcinaci**
 - **Využití genetických principů při produkci nových vakcín, farmakogenomika**
-

POSTVAKCINAČNÍ TITRY ANTI-EHV-1 NEUTRALIZAČNÍCH PROTILÁTEK (N=61)



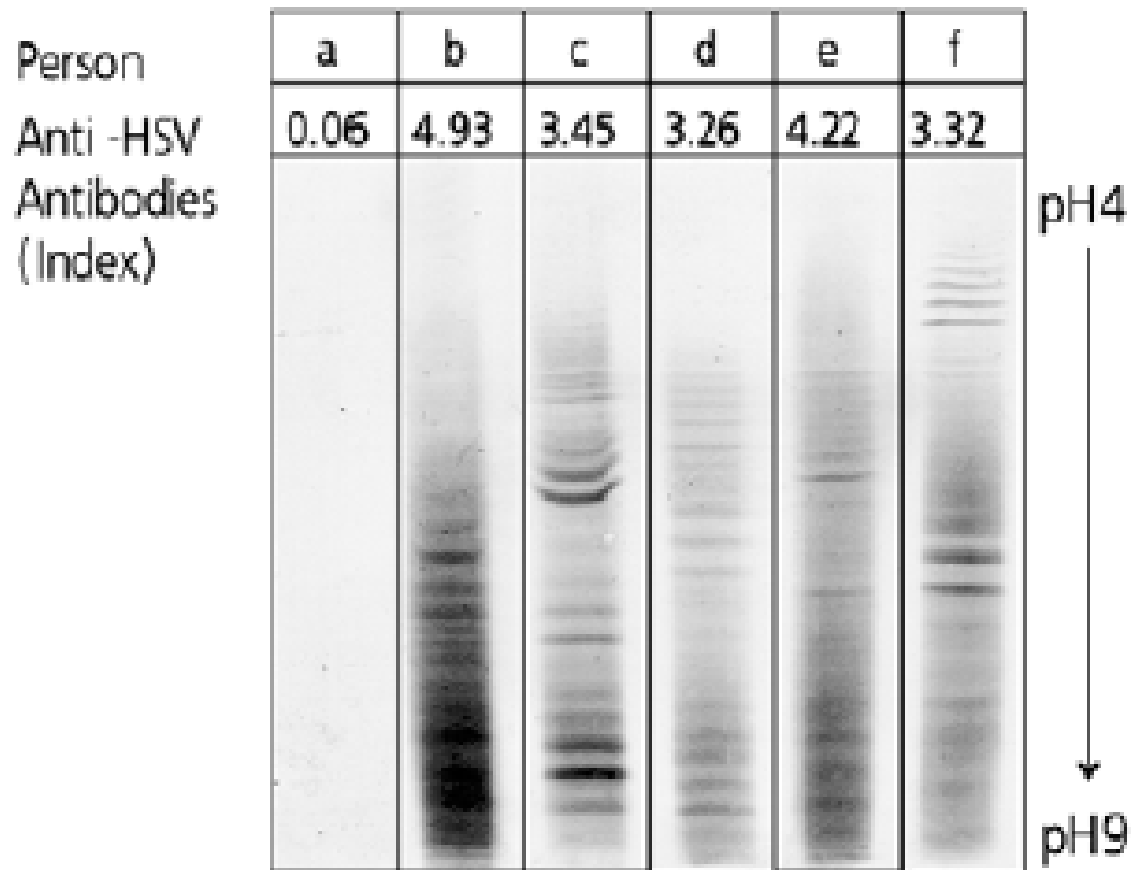


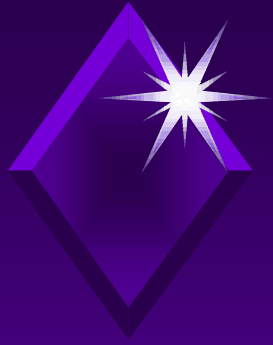
ODCHOV 3. ROČ.



Kmenový plemeník

Variabilita antiinfekční imunitní odpovědi u člověka





Příčiny selhání účinku vakcinace proti chřipce

- ◆ **Druh vakcíny a její kvalita**
- ◆ **Změna viru**
- ◆ *Nereaktivita hostitele*

Farmakogenomika a transgenoze

- **Rekombinantní produkty mikroorganismů**
 - **DNA vakcíny**
 - **Transgenní savci**
-



PRINCIP VAKCÍN

*Odstranění patogenity při
zachování imunogenity*

TYPY VAKCÍN

- # **1. generace**
- # **2. generace** (*rekombinantní*)
- # **3. generace** (*DNA*)

VAKCÍNY 1. GENERACE

- # *Živé atenuované*
- # *Inaktivované*
(usmrcené)



PRINCIP ATENUACE VAKCÍNY

M U T A C E
v genu/genech pro
patogenitu

VAKCÍNY 2. GENERACE

- # *Podjednotkové*
 - # *Deleční*
 - # *Deleční markerové*
 - # *Živé chimérické*
 - # *Antiidiotypové*
-

VAKCÍNY 3. GENERACE

DNA vakcíny: do organismu se nevpravuje antigen, ale gen, který jej kóduje

*DNA ==> RNA ==> Protein (cizí)
==> Imunizace in vivo*

Typical features of pathogen

Low antigenic variability
Antibody-mediated immunity

High antigenic variability
and/or T cell-dependent
immunity

Vaccine approach

Conventional vaccinology
Whole cell vaccines
(killed or live attenuated)
Subunit
Recombinant
Conjugate

Vaccinology in the
genome era
Reverse vaccinology
Comparative/pangenomics
Transcriptomics
Proteomics
Structural vaccinology
Immunoproteomics
Vaccinomics

Polio
MMR
Tetanus
Influenza
Diphtheria
Licensed vaccines

MenB
GBS
Staphylococcus
Pneumococcus
Chlamydia
Gonorrhoea
Malaria
Parasite diseases
TB
HIV

No vaccine available

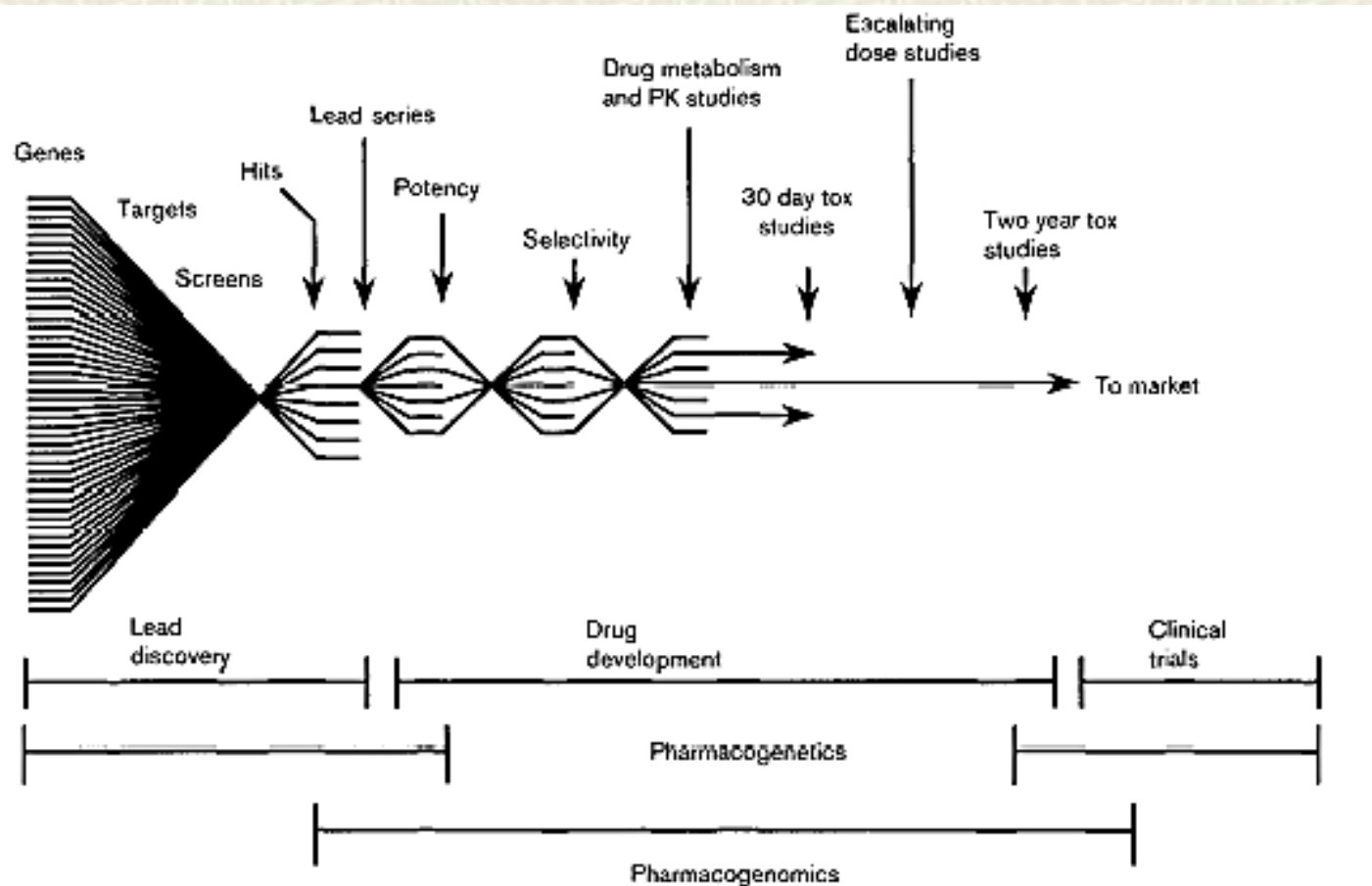


TRANSGENNÍ SAVCI

*s tkáňově specifickými
promotory:*

BIOREAKTORY

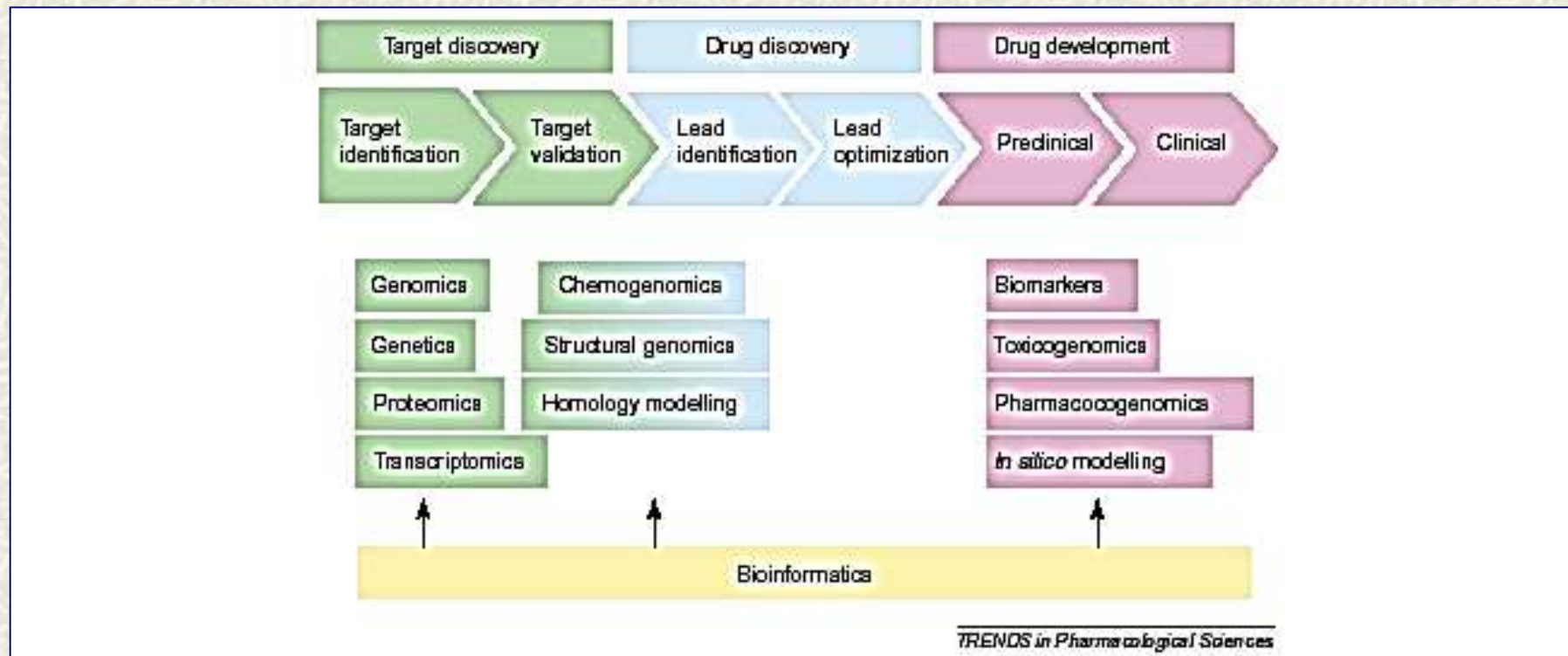
Farmakogenomika v praxi



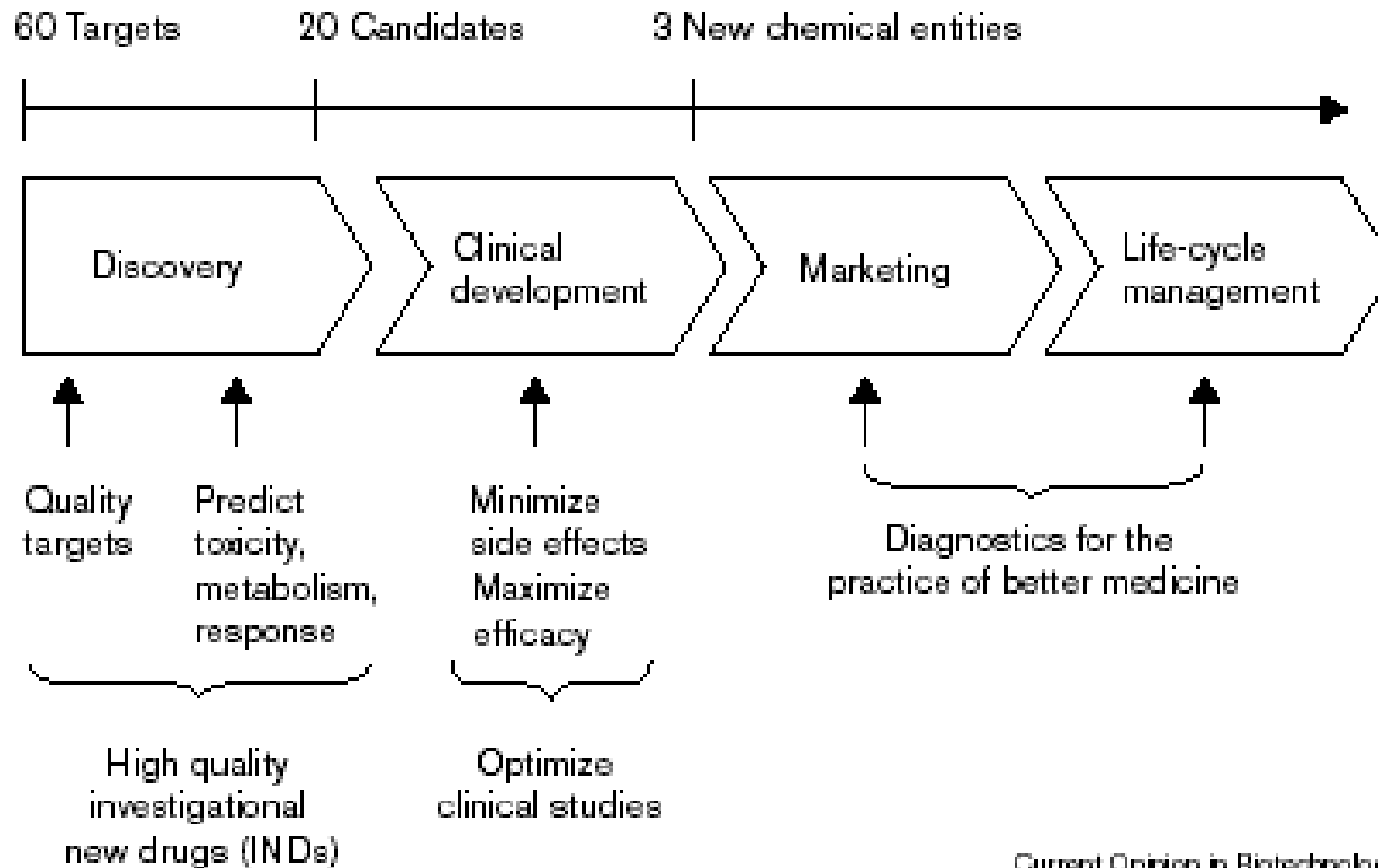
Current Opinions in Biotechnology

Bailey et al. 1998

Farmakogenomika v praksi



Farmakogenomika v praksi



Farmakogenomika a farmakogenetika

Table 1 Terminology.

- Pharmacogenetics
 - Differential effects of a drug – *in vivo* – in different patients, dependent on the presence of inherited gene variants
 - Assessed primarily genetic (SNP) and genomic (expression) approaches
 - A concept to provide more patient-/disease-specific health care
 - One drug – many genomes (*i.e.*, different patients)
 - Focus: patient variability
- Pharmacogenomics:
 - Differential effects of compounds – *in vivo* or *in vitro* – on gene expression, among the entirety of expressed genes
 - Assessed by expression profiling
 - A tool for compound selection/drug discovery
 - Many “drugs” (*i.e.*, early-stage compounds) – one genome (*i.e.*, “normative” genome [database, technology platform])
 - Focus: compound variability

Lindpaintner, 2003

Farmakogenomika a etika

- Cena a dostupnost léčiv
 - Uchovávání a použití získaných dat
 - Stratifikace pacientů podle jejich genotypů
 - Rasový a etnický problém
-



NOVÁ BIOLOGIE

HOLISTICKÝ PŘÍSTUP



NOVÁ MEDICÍNA

personalizace medicíny
