



Ovlivnění biotransformace

Tomáš Pruša

Rev. 0.7

Faktory ovlivňující biotransformaci

1. Interindividuální
 - Živočišný druh
 - Genetické faktory
 - Pohlaví

Faktory ovlivňující biotransformaci

2. Intraindividuální

- Věk
- Hormonální vlivy
- Těhotenství
- Biologické rytmy
- Stres
- Onemocnění
- Výživa
- Intestinální mikroflóra
- Indukce a inhibice enzymů

Faktory ovlivňující biotransformaci

- Kvantitativní rozdíly
- Kvalitativní rozdíly

- Zpomalení clearance – Toxicita
- Zvýšení clearance – Selhání léčby

Mezidruhové rozdíly

- Rozdíly
 - V zastoupení, expresi a aktivitě enzymů
- Nejčastější pokusné zvíře - ...?

Mezidruhové rozdíly

- Rozdíly
 - V zastoupení, expresi a aktivitě enzymů
- Nejčastější pokusné zvíře - potkan

Mezidruhové rozdíly

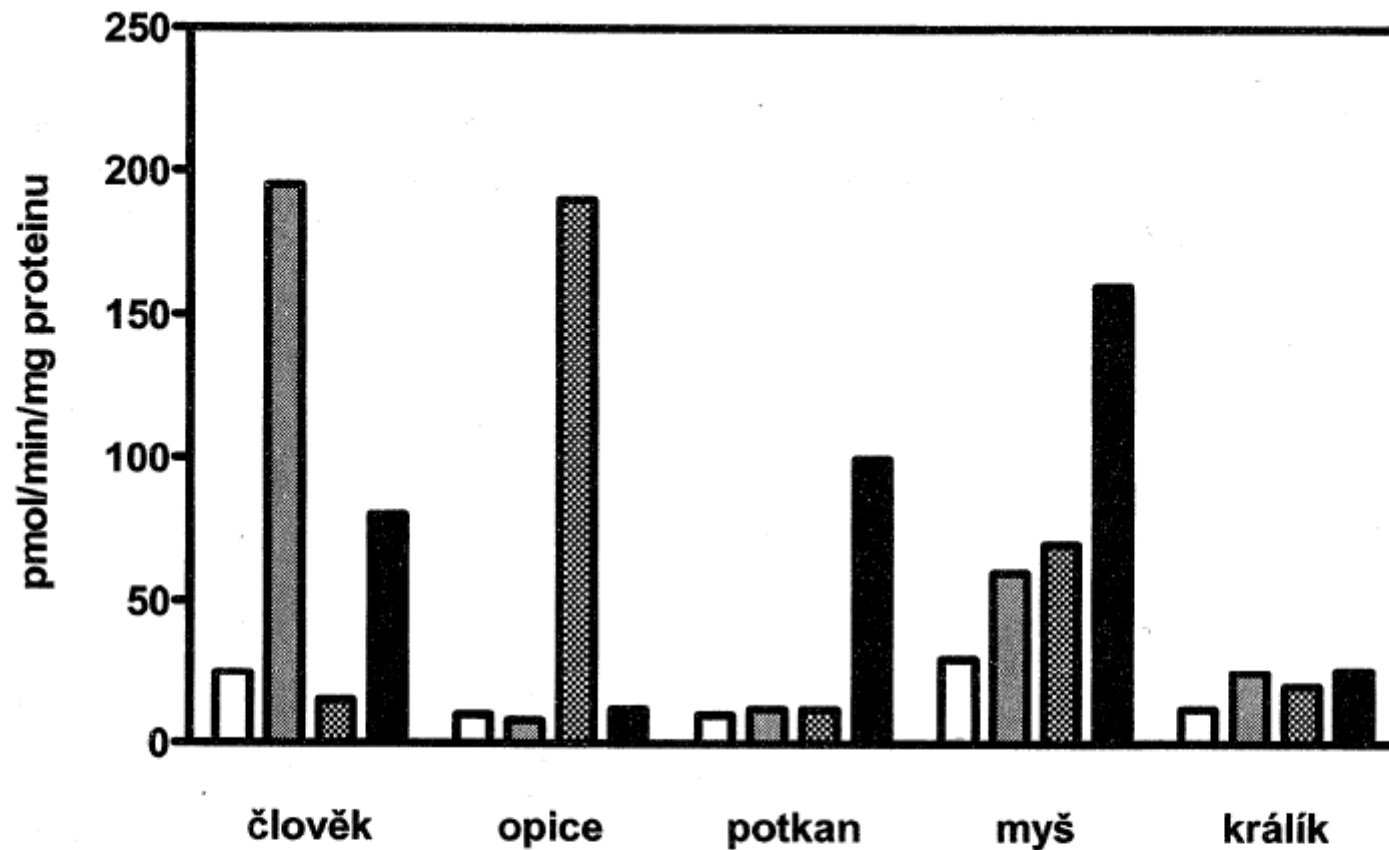
- Rozdíly
 - V zastoupení, expresi a aktivitě enzymů
- Nejčastější pokusné zvíře – potkan
 - Nízká homologie lidských a potkaních izoformem CYP
- Řešení?

Mezidruhové rozdíly

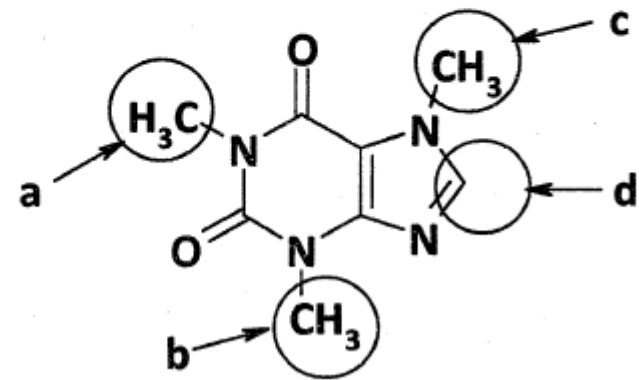
- Rozdíly
 - V zastoupení, expresi a aktivitě enzymů
- Nejčastější pokusné zvíře – potkan
 - Nízká homologie lidských a potkaních izoformem CYP
- Pro konkrétní mtb dráhu vybráný určitý druh zvířete, kde bude dosaženo nejpřesnější predikce mtb přeměny u cílového druhu.

Mezidruhové rozdíly

- Rozdíly
 - V zastoupení, expresi a aktivitě enzymů
- Nejčastější pokusné zvíře – potkan
 - Nízká homologie lidských a potkaních izoformem CYP
- Pro konkrétní mtb dráhu vybráný určitý druh zvířete, kde bude dosaženo nejpřesnější predikce mtb přeměny u cílového druhu.



- N(1)-demethylace na theobromin (a)
- N(3)-demethylace na paraxantin (b)
- N(7)-demethylace na theofylin (c)
- C(8)-hydroxylace na 1,3,7-trimethylmočovou kys. (d)



Mezidruhové rozdíly - projevy

- Jiná biologická dostupnost
 - Jiný mtb ve střevech
 - Jiný mtb během first-pass efektu
- Proléčivo není metabolizováno na aktivní látku
- Jiný biologický poločas
- U člověka aktivní metabolit (nepředp. vysoký úč.)
- U člověka toxický mtbolit (nepředp. vysoká tox.)

Genový polymorfismus

- Výskyt dvou a více alelických variant genu
- V jedné populaci
- Nachází se ve frekvenci více než 1 %

Genový polymorfismus

- Interindividuální variabilita
- Kvalitativní a kvantitativní rozdíly
- Rozdíly v genetické výbavě pro biotransformační enzymy a transportéry léčiv
- Mutace, delece, amplifikace genu

Genový polymorfismus

- Enzymový defekt – autosomálně resesivní přenos
- Enzymová aktivita je nízká = pomalí metabolizátoři (PM)
- Duplikace genu – urychlení mtb
- Rychlí (RM) nebo ultra rychlí metabolizátoři (UM)
- Heterozygoti – intermediární metabolizátoři (IM)
- Homozygoti s normálním genem – normální metabolizátoři (EM)

Genový polymorfismus

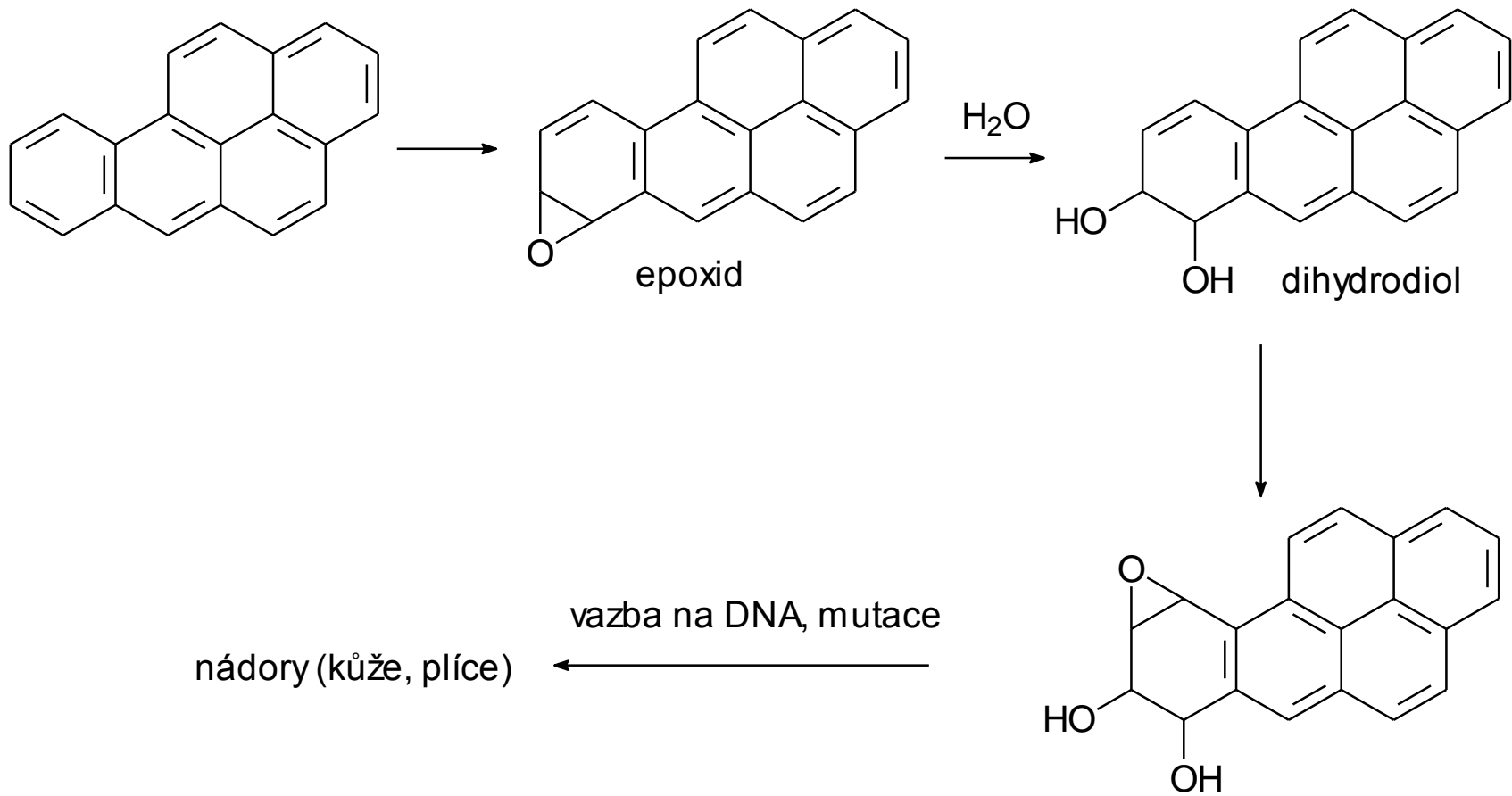
- Co může být zasaženo?
 - Rychlost transkripce
 - Stabilita mRNA
 - Účinnost translace
 - Stavba enzymů
 - Stabilita enzymů
 - Substrátová selektivita
 - Katalytická aktivita

Genový polymorfismus

Polymorfní gen	Důsledek
Defektní, chybějící	Neprobíhá mtb léčiv
Částečně vadný	Snížení rychlosti mtb léčiv
Funkční změny	Změna substrátové selektivity, příp. zvýšená rychlost mtb léčiv
Duplikace, amplifikace	Zvýšená rychlost mtb léčiv

CYP 1A1

- Producent potenciálně karcinogenních mtb PAH
- Kuřáci
- 4 polymorfní formy (některé: více reaktivních metabolitů – riziko vzniku rakoviny)



CYP 1A2

- Kofein, teofylin
- Warfarin, klozapin, fluoxamin, paracetamol
- Karcinogeny, hepatotoxiny

- Indukce: kouření, konzumace kofeinu

- Pomalí, normální, rychlí metabolizátoři
(fenotypizace dle mtb kofeinu)

CYP 1B1

- Prokarcinogeny (PAH), aflatoxiny, heterocykl. aminy
- Steroidní hormony
- Asociace s hormon dependentními nádory
- Pomalí (rychlejší degradace enzymu), normální, rychlí metabolizátoři

CYP 2A6

- Nikotin, nitrosaminy, aflatoxin B1
- Indukce: glukokortikoidy (stres, námaha)
- Polymorfismus – podíl na vytvářčnící kuřáckých návyků a síle závislosti:
 - ↓aktivita → pomalejší přeměna na kotinin (nižší potřeba cigaret, slabší závislost)
 - ↓aktivita → nižší riziko rakoviny plic (prokarcinogenní nitrosamin NNK z tabákového kouře není aktivován)
- Stres ovlivňuje kuřácké návyky a spotřebu cigaret

CYP 2B6

- Pesticidy, chemoterapeutika, antidepresiva
- Cyklofosfamid – bioaktivace
- Geograficky významné rozdíly
- frekvence mutovaných alel:
 - CYP2B6*1 – 75 % (wild type)
 - CYP2B6*5 – 9 % (snížená aktivita)
 - CYP2B6*6 – 16 % (zvýšená aktivita)
 - 30 % běl., 40 % afroam., 60 % Papua-Nová G.

CYP 2C19

- Omeprazol, diazepam, proguanil
- EM: 4-hydroxylace S-mefenytoinu (antiepilept.) a následně konjuguje s kys. Glukuronovou
- PM: není stereospecifický E – oba enantiomery jsou odbourávány pomalou demetylací na nirvanol

CYP 2D6

- Beta blokátory, antiarytmika, antidepresiva, neuroleptika, kodein,...
- Není indukovatelný
- Vysoká variabilita
- Biomarkery – spartein, debrisochin, dextrometorfan

CYP 2E1

- Etanol, polutanty (PAH, nitrosaminy, org. rozpoušt.), paracetamol,...
- Polymorfní alely jsou spojeny s vyšším rizikem vzniku rakoviny (např. plic) a alkoholismem

CYP 3A4

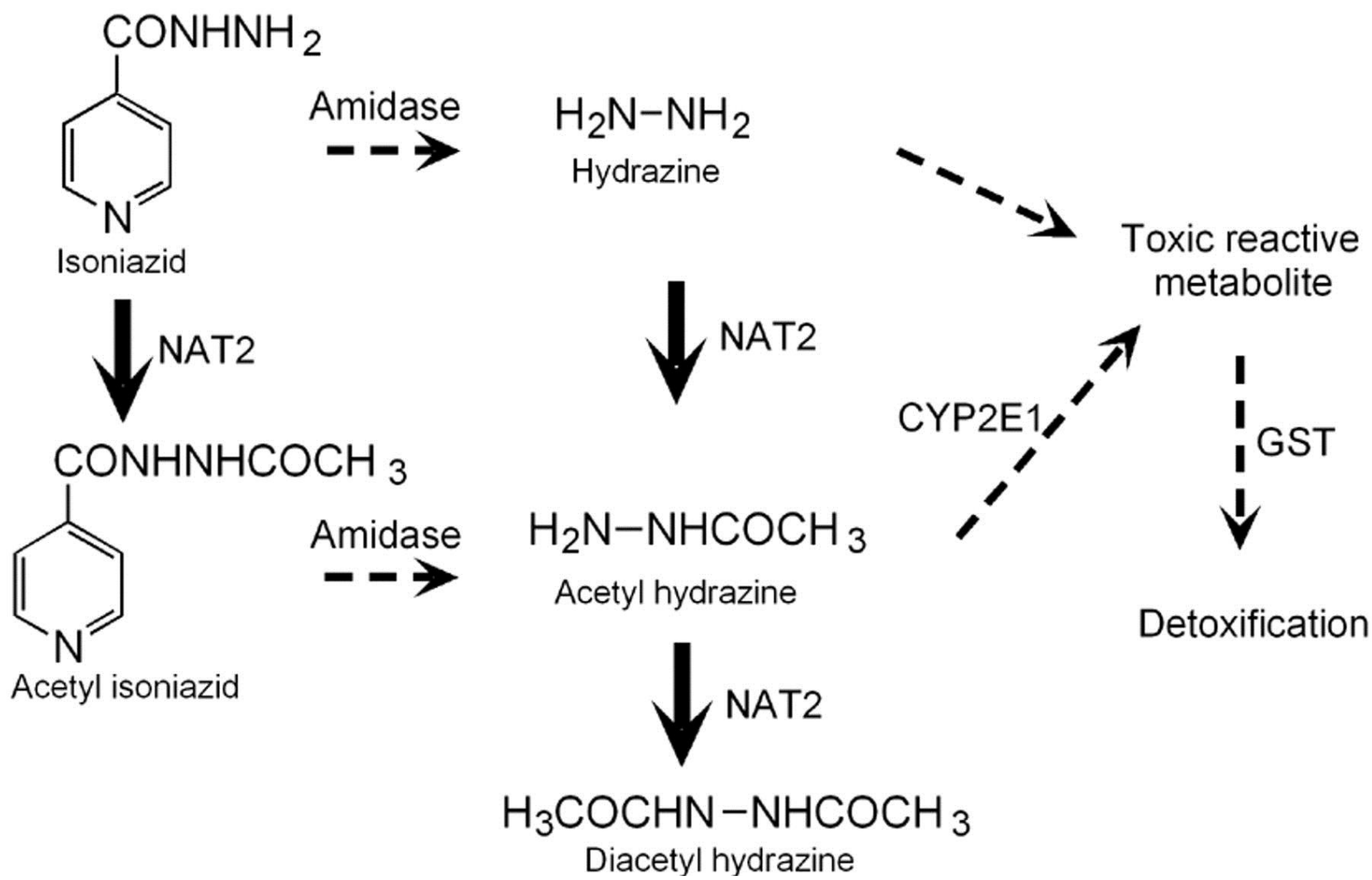
- Vysoká variabilita (dána ale spíše inhibicí/indukcí)
- Obecně velmi vzácné polymorfismy
- Polymorfismus PXR (regulace exprese 3A4)
- P-gp
 - Polymorfismus – 26 variant
 - Modulace aktivity transportéru

Alkohol/aldehyddehydrogenáza

- ADH1A2*1 – riziko vzniku alkoholismu
 - V_{MAX} je nízké – zvýšené riziko
- ADH1A2*2
 - V_{MAX} je vyšší – nižší riziko
 - Ztráta aktivity anzymu – hromadění acetaldehydu – zrudnutí, nauzea – averze k alk.
 - Až 50 % populace asiátů

N-acetyltransferáza 2

- PM: pomalá acetypace a riziko vzniku hepatitidy, neurotoxických poruch či karcinomů moč. měchýře
- PM – 90 % arabské populace, 50 % USA a Evropa, 5-10 % asiátů
-



Metyltransferázy

- Katechol-O-metyltransferáza (COMT)
 - PM: 25 % bělochů
 - RM: 25 % bělochů (selhání léčby levadopou u Parkinsonovy choroby)
- Thiopurin-S-metyltransferáza (TPMT)
 - Thiopurin, azoprin (lymfoblastic. leukémie)
 - IM+PM: myelotoxický efekt (úzké terap. okno)
 - Jedno z prvních fenotypování na TPMT

UDP-glukuronosyltransferáza

- Crigler-Najjarův syndrom
 - Zcela chybí UGT1A1
 - Úmrtí novorozenců důsledkem poškození mozku bilirubinem
- Existují i mírnější varianty (snížení aktivity na 20 %)
- UGT1A1*28 – Gilbertův syndrom (30 % aktivity)
 - 5-15 % bělochů

Farmakogenetika

- Proč lidé reagují na podání stejného léčiva ve stejné dávce různě?
- Studium vztahu mezi genetickou informací jedince a účinkem léčiva - sleduje vliv jednotlivých genetických variant v populaci na účinek podané látky.
- Komplikovanější situace: zasahuje-li genetický polymorfismus do farmakodynamických procesů nebo je závislý na interakci několika genů

Farmakogenetika

- Exprese genu může být nižší nebo vyšší u různých etnických skupin nebo záviset na fázi vývoje organismu (novorozenci, děti, adolescenti, dospělí)
- Např. antidepressivum paroxetin (ze skupiny selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu - SSRI) → vyvolává u pacientů mladších 18 let sebepoškozující až sebevražedné jednání na rozdíl od pacientů dospělých, kde k těmto reakcím nedochází

Farmakogenetika

- Sledování především jednobodových mutací.
- Mapování lidského genomu
- Souvislost mezi variabilitou v sekvenci DNA a klinickou odpovědí na léčbu.

Farmakogenetika

Nestandardní reakce na podání léčiva



Indikace k vyšetření polymorfismu

- Určení genotypu
 - Analýza DNA – PCR, čipy
 - 1x za život
- Klinici: zbytečné, stačí hladiny léčiv

Farmakogenetika

- Vzorek DNA
- PCR – amplifikace varizntních alel
- Transkripce RNA + fluorescenční značka
- Čip (párování s oligonukleotidy)
- Detekce fluorescence

Farmakogenetika

- Určení fenotypu
 - Podání specifického substrátu
 - Detekce a kvantifikace substrátu a metabolitu v biologickém materiálu (HPLC-MS)
 - Stanovení výsledné enzymové aktivity (vícekrát)
 - Poměr substrát/metabolit
 - PM – vysoký
 - UM - nejnižší

Farmakogenetika

- Genotyp
 - Kvalitativní odhad
- Fenotyp
 - Kvantitativní odhad
 - Jiné prostředí, dieta (indukce/inhibice)
- Drug monitoring
 - Potvrzení

Polymorfismus a onko onemocnění

- 5-10 % nádorů na podkladu kauzálních genů
 - BRCA1/2 – karcinom prsu
 - MLH, MSH – karcinom tlustého střeva
- Možnosti léčby
 - Prevence rizikových faktorů (gen. i vnějších)
 - Zlepšování diagnostiky
 - Vývoj farmakoterapie aj. typů léčby

Polymorfismus a onko onemocnění

- Účinnost chemoterapie:
 - Aktivita biotransformačních enzymů
 - Inaktivace cytostatika
 - Aktivace proléčiva
 - Aktivita transportérů
 - Vstup léčiva do buňky
 - Eflux z buňky
 - Obrana a variabilita buňky (opravy DNA, buněčný cyklus, mezibuněčná komunikace)

Polymorfismus a onko onemocnění

- Aktivita enzymů závisí na:
 - Genové expresi (hladina mRNA)
 - Vliv trans-elementů (transkripční faktory)
 - Stabilita RNA
 - miRNA
 - Sestřih RNA
 - Polymorfismy v kódujících genech
 - Metylace regulačních sekvencí (promotory)

Polymorfismus a onko onemocnění

- Studium prediktivních biomarkerů
(personalizovaná terapie)
- Studium genetické variability enzymů
biotransformace a transportu cytostatik

Genetická informace

- Látky obsažené v potravě působí přímo či nepřímo na lidský genom a mění tak jeho strukturu či genovou expresi.
- Nutriční vlivy mohou být různě vyjádřeny u jedinců s různou genetickou výbavou (nutrigenetika) nebo nutriční vlivy mohou přímo regulovat expresi genů (nutrigenomika).
- Za určitých okolností může být dieta u některých jedinců významným rizikovým faktorem vzniku řady chorob.

Pohlaví

- Potkani
 - 1932 – poprvé popsána rozdílność
 - U samců je metabolická kapacita vyšší
 - Součást prekliniky
- Pozor na mezidruhovou variabilitu.

Věk

- Začátek a konec života je provázený obecně snížením metabolismu xenobiotik
- Vývoj některých enzymů je časově specifický
- Senioři
 - Věk
 - Polyfarmakoterapie
 - Onemocnění
 - → Pokles clearance

Senioři

Fyziologické změny	Důsledky
Zvýšené množství tuku	Zvýšený V a $t_{1/2}$ lipofilních léčiv
Snížené množství celk. vody	Zvýšená plazmatická konc. hydrofilních léčiv
Snížený průtok jater	↓ eliminace léčiv s vysokým first-pass efektem
Snížená hmotnost jater	Snížená rychlost eliminace
Snížený průtok ledvinami	Snížená exkrece hydrofilních léčiv a metabol.
Snížená glomerulární filtrace	Snížená exkrece hydrofilních léčiv a metabol.

Těhotenství

- Metabolismus xenobiotik pod vlivem hormonů hypofýzy, pohl. Hormonů, glukokortikoidů, hormonů štítné žlázy a insulinu.
- Zvýšení progesteronu
 - Potkan – snížení mtb xenobiotik
 - Člověk – etika
 - Ojedinelé studie – zvýšení CYP2D6

Onemocnění

- Jaterní onemocnění
 - Snižují clearance a prodlužuje biologický poločas.
 - V důsledku multiplicity jaterních enzymů podílejících se na biodegradaci nemusí onemocnění ovlivnit clearance ani biologický poločas.
 - Nádorové onemoc. – snížení biotransformace
 - Onemoc. Srdce – snížení průtoku – snížení mtb
 - Toxický účinek až koma

Onemocnění

- Ledvinné onemocnění
 - Renální clearance je ovlivněna
 - Změnami ve vazbě na bílkoviny (změny objemu)
 - Krevním průtokem (onemocnění srdce)
 - Počtu funkčních nefronů (nemoc. ledvin)

Výživa

- Vliv na aktivitu CYP
 - Nedostatečný příjem MK, lipidů, proteinů (pokles aktivity)
 - Ne u všech – CYP2E1 (aktivita roste při hladovění)
 - Sacharidy – uvažovaný vliv na hormonální hladiny a přes ně na CYP
 - Modulace aktivity CYP přídatnými látkami (konzervanty, barviva,...)
 - Interakce léčiv a složek výživy

Nutrigenomika

- Chemické látky obsažené v běžné potravě ovlivňují rovnováhu mezi zdravím a nemocí po interakci s genomem jedince
- Látky obsažené v potravě působí přímo či nepřímo na lidský genom a mění tak jeho strukturu či genovou expresi
- Některé z cílových genů pro látky obsažené v potravě ovlivňují nástup, incidenci, průběhu a závažnosti některých chronických chorob

Nutrigenomika

- Stravovací návyky u některých jedinců významným rizikovým faktorem vzniku řady chorob
- Stravovací návyky mohou ovlivnit rovnováhu mezi stavem zdraví a nemocí → závislost na konkrétní genetické výbavě jednotlivce

Nutrigenomika

Nutrigenetická interakce:

a) Statická interakce

- Perzistence laktázy → bodová mutace v promotoru genu kódujícího laktázu → způsobila přetrvávající expresi genu a zabránila tak přirozenému vyhasínání funkce laktázy v dospělosti
- U mláďat savců (i člověka) funkční laktáza → štěpení laktózy přítomné v mléce na monosacharidy

Nutrigenomika

Nutrigenetická interakce:

a) Statická interakce

- Exprese laktázy v enterocytech tenkého střeva podléhá kontrole v průběhu vývoje: (a) je utlumená v průběhu fetálního období, (b) zvyšuje se okolo porodu a (c) klesá po odstavu
- Část dospělých přirozeně laktózu netoleruje
- Kulturní adaptací na intoleranci laktózy představují kysané mléčné výrobky s nižším obsahem laktózy a někdy i přítomnosti bakterií secernujících laktázu (*Lactobacillus acidophilus*)

Nutrigenomika

Nutrigenetická interakce:

b) Dynamická interakce

- Může docházet k rozdílné odpovědi na změnu dietního režimu dle genetické výbavy jedince
- Při sledování mužské kohorty v období 1988-1996 došlo k výrazné změně složení stravy → ale pouze u nositelů alely CC-204 genu CYP-7A1, který kóduje cholesterol-7alfa-hydroxylasu došlo k redukci hladin cholesterolu, nositelé alely AA-204 na změnu diety nereagovali

Nutrigenomika

- Personalizovaná dieta?
 - Genetická výbava
 - Fenotyp jedince
 - Onemocnění jedince
 - Farmakoterapie (aktivace/inhibice)

Děkuji za pozornost