

Farmakogenetika v práci klinického farmakologa a farmaceuta

Olga Bartošová¹, Ondřej Slanař¹, Irena Netíková¹

¹Farmakologický ústav 1. LF UK a VFN, Karlova univerzita v Praze a Oddělení klinické farmakologie a farmacie, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

Farmakogenetika je obor, který studuje vliv genetické predispozice pacienta na účinnost a výskyt nežádoucích účinků léčiva. Tento obor je základem personalizované medicíny. Výsledek farmakogenetického vyšetření pacienta ovlivňuje výběr a dávkování léčiva s ohledem na prevenci toxicity a predikci farmakoterapeutického efektu. Cílem tohoto článku je popsat význam farmakogenetiky v práci klinického farmakologa a farmaceuta.

Klíčová slova: farmakogenetika, personalizovaná medicína, genetický polymorfismus, klinický farmaceut.

Pharmacogenetics in practice of a clinical pharmacologist and a pharmacist

Pharmacogenetics is the field that studies the impact of the genetic variability of a patient on the effectiveness and side effects of pharmacotherapy. This field is the basis for personalized medicine. Genotyping of patients may determine the choice and dosage of a drug with respect to the prevention of toxicity and prediction of pharmacotherapeutic effect. The aim of this article is to describe the importance of pharmacogenetics in the practice of a pharmacist-managed clinical service.

Key words: pharmacogenetics, personalized medicine, genetic polymorphism, clinical pharmacist.

Zkratky

ALK – anaplastická lymfomová kináza
CYP450 – cytochrom P450
DPD – dihydropyrimidindehydrogenáza
EGFR – epidermální růstový faktor
EM – rychlý metabolizátor
HER2 – lidský epidermální růstový faktor
HLA-B – hlavní histokompatibilní komplex třídy I, B
IM – středně rychlý metabolizátor
OPRM1 – opioidní receptor μ 1
PM – pomalý metabolizátor
RAS – Kirsten rat sarcoma
SNP – jednonukleotidový polymorfismus
TPMT – thiopurin S – metyltransferáza
UGT1A1 – uridindifosfát glukuronosyltransferáza 1A1
UM – ultrarychlý metabolizátor
VKORC1 – Vitamin K epoxid reduktáza

Význam farmakogenetiky pro klinickou praxi

Služby klinického farmaceuta jsou nyní běžné ve většině nemocnic a zprávy z literatury jasně ukazují klinický i ekonomický přínos této činnosti (1). Aktuální vědecké studie popisují, že léčiva jsou účinná pouze u 60% pacientů, jimž jsou podávána, a rovněž signifikantní počet pacientů je hospitalizován pro výskyt závažných nežádoucích reakcí po nasazení farmakoterapie (2). Na odpovědi lidského organismu k aplikované farmakoterapii se podílí jednak faktory negenetické, tak i faktory genetické, které studuje právě farmakogenetika (3). Přítomnost pacientů s rozdílnou genetickou predispozicí k metabolizmu léčiv, k eliminaci a receptorové nebo postreceptorové odpovědi se projevuje velkou variabilitou lékové odpovědi a rozdílným výskytem nežádoucích účinků (4). Farmakogenetické vyšetře-

ní identifikuje pacienty s klinicky významným genotypem a farmakogenetik vyhodnocuje vliv tohoto výsledku na další farmakoterapeutický postup.

Genetický polymorfismus enzymů cytochromu P450

Genetická predispozice jedince je zodpovědná za změny aktivity enzymů metabolizujících léčiva a ty jsou příčinou významného zdroje odlišnosti farmakogenetických i farmakodynamických parametrů léčiv mezi jedinci (5). Na základě metabolické aktivity zjištěné pro jednotlivé formy cytochromu P450 (CYP450) CYP2D6 jsou jedinci rozdělováni do čtyř kategorií. Podobně je tomu i u dalších enzymů cytochromu P450. V populaci se tak vyskytují alely, u jejichž nositelů můžeme předpokládat rychlý – normální metabolizmus substrátů da-

ného enzymu (rychlí metabolizátoři, extensive metabolizers, EM), duplikace nebo amplifikace funkčního genomu se klinicky projeví urychlením metabolismu a takové jedince označujeme jako ultrarychlé metabolizátory (ultraprapid metabolizers, UM). Přítomnost jedné defektní alely se fenotypizuje jako středně rychlý metabolizátor (intermediate metabolizers, IM). Jedince s alelami, které způsobují značné snížení metabolické kapacity enzymu u nositele, označujeme jako pomalí metabolizátoři (poor metabolizers, PM). UM jsou většinou ohroženi selháním farmakoterapie, PM zase mají naopak vysoké riziko výskytu nežádoucích účinků. Polymorfismus CYP450 se podstatně liší u jednotlivých lidských ras (6).

Cíle a možnosti farmakogenetiky

Cílem farmakogenetického vyšetření je prevence výskytu nežádoucích účinků a predikce účinnosti léčiva (Tab. 1). K možnostem, jak zmíněného dosáhnout, patří selekce pacientů s nejvyšší pravděpodobností, že léčivo prokáže/neprokáže terapeutický efekt, úprava dávkování léčiva nebo aplikace preventivních opatření proti výskytu očekávaných nežádoucích účinků. Ideálně je farmakogenetické vyšetření provedeno před zahájením terapie. Vyšetření lze provést i během léčby, pokud se u pacienta nevyskytla předpokládaná terapeutická odpověď na podané léčivo (7).

Farmakogenetické vyšetření

Farmakogenetické vyšetření se provádí z neštěpné periferní krve odebrané do EDTA (2 ml). Je zapotřebí podepsaný informovaný souhlas pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením. Farmakogenetická vyšetření v současné době provádí nemalé množství laboratoří.

Prevence výskytu nežádoucích účinků

Abakavir a přítomnost HLA-B*5701 alely

Abakavir je obvykle dobře snášen, ale může způsobit přecitlivělost u 5–8 % pacientů. Symptomy této neadekvátní imunologické odpovědi zahrnují horečku, vyrážku, gastrointestinální symptomy a respirační příznaky (8). Klinické studie ukázaly, že hlavním faktorem predikujícím vysoké riziko výskytu nežádoucích účinků je přítomnost alely v histokompatibilním systé-

mu HLA-B*5701. Vyšetření na přítomnost této alely spadá mezi indikační kritéria, provádí se před aplikací abakaviru a u pacientů pozitivních na přítomnost alely HLA-B * 5701 je podání tohoto léku kontraindikováno. Alela HLA-B * 5701 se vyskytuje přibližně u 5 % obyvatel evropské populace (9).

Azathioprin, 6-merkaptopurin a thioguanin a polymorfismus thiopurin S – metyltransferázy (TPMT)

Aktivita TPMT je klíčovou pro efekt léků a vznik vedlejších účinků při odbourávání během jejich metabolismu. U bílé rasy jsou nejčastější polymorfizmy TPMT*3A, TPMT*3C a TPMT*2 a méně častá TPMT*3B. Všechny tyto popsané mutace zapříčiňují částečný nebo úplný deficit aktivity tohoto enzymu. Snížená TPMT aktivita u těchto pacientů má toxický efekt na krvetvorbu a vyvolává život ohrožující hepatotoxicitu, neurotoxicitu a mukozitidu (10). Klinické projevy deficitu TPMT jsou závažné pro pacienty, kteří jsou heterozygoty nebo homozygoty pro funkčně variantní alely. Skupina pacientů s fenotypem IM si vyžaduje snížení dávek (prevalence 10%). Farmakogenetické vyšetření je provedeno před zahájením léčby (11).

Irinotekan a polymorfismus uridindifosfát glukuronosyltransferázy 1A1 (UGT1A1)

Jedná se o konjugací enzym v játrech, který se účastní konjugace řady lipofilních látek, aromatických kyselin, fenolů, řady léků aj., vč. bilirubinu s glukuronovou kyselinou. Řada nepříznivých vedlejších účinků souvisí s mutacemi genu UGT1A1. Pacienti reagují zejména nepříznivě na léčbu, pokud jsou homozygoti pro

mutovanou alelu 7TA/7TA, ale nežádoucí účinky se mohou vyskytnout i u heterozygotů 6TA/7TA. Homozygotní genotyp pro variantní alelu bývá často diagnostikován na základě fenotypových projevů jako familiární hyperbilirubinémie s přibližně 12% frekvencí výskytu v naší populaci.

U těchto pacientů bylo popsáno vysoké riziko závažných toxických postižení (průjem, hematologická toxicita) při léčbě irinotekanem (12). UGT1A1 katalyzuje biotransformaci aktivního metabolitu tohoto léčiva SN-38 na neaktivní a netoxické glukuronidy, mutace vede k akumulaci aktivního metabolitu. Proto se před zahájením léčby doporučuje vyšetřit pacienta na přítomnost inserce TA v promotoru UGT1A1 genu (13).

Warfarin a polymorfismus CYP2C9 a VKORC1

Klinické využití warfarinu ovlivňují genetické varianty faktorů VII a IX, γ-karboxylázy a protrombinu a dále zevní faktory, např.: interakce s potravinami a léky. Zásadní význam má však polymorfismus genů CYP2C9 a VKORC1, které vedou k velkému rozdílu v biotransformaci warfarinu, a z toho plynoucí obtížné predikci iniciační dávky. Variantní alely těchto polymorfismů snižují celkovou clearance warfarinu. Alela CYP2C9*2 má 12% frekvenci výskytu, alela CYP2C9*3 má 8% frekvenci výskytu. Na základě nedávné metaanalýzy je doporučeno pacientům, kteří jsou homozygoti pro variantní alelu pro oba polymorfismy, warfarin vůbec nepodávat a aplikovat alternativní terapii (14).

Opioidy a polymorfismus CYP2D6

Pro metabolismus řady opioidů má zásadní význam polymorfismus CYP2D6. Indikační omezení na základě genetické predispozice se

Tab. 1. Přehled léčiv a odpovídajících farmakogenetických vyšetření

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

CYP450 – cytochrom P450, HLA-B – hlavní histokompatibilní komplex třídy I, B, OPRM1 – opioidní receptor μ1, TPMT – thiopurin S – metyltransferáza, UGT1A1 – uridindifosfát glukuronosyltransferáza 1A1, VKORC1 – vitamin K epoxid reduktáza

týká kodeinu. Na metabolismu kodeinu se podílí CYP2D6 přeměnou na morfin, jehož množství může být u pacientů s fenotypem UM život ohrožující. Z tohoto důvodu je podání kodeinu kontraindikováno u všech pediatrických pacientů (0-18 let) a u všech kojících žen bez ohledu na fenotyp a dále pak je podání kontraindikováno u všech pacientů s fenotypem UM. Pro opioidy je dále významné nalezení jednonukleotidového polymorfismu (SNP) A118G v genu kódujícím μ -receptor (*OPRM1*). Na základě tohoto objevu bylo provedeno několik klinických studií, jež ukázaly, že v naprosté většině případů nosiči alely *G118* vyžadují vyšší dávky opioidů. Klinická hodnocení vedená za tímto účelem se zabývají zejména silnými opioidy, konkrétně morfinem, fentanylem, tramadolem, alfentanilem a remifentanylem (15).

Predikce účinnosti

Klopidogrel a polymorfismus CYP2C19

Klinicky nejdůležitější role tohoto enzymu je v metabolismu klopidogrelu. Varianty CYP2C19 (především nosiči alel *2 a *3) jsou zodpovědné za přeměnu klopidogrelu na bioaktivní metabolity a za nedostatečný antiagregační efekt se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních komplikací. Z klinických studií vyplývá, že až 25 % osob bělošské populace má

sníženou funkci CYP2C19 a 3 % má úplný deficit aktivity tohoto enzymu. U těchto pacientů je potřeba zvolit alternativní terapii, neboť podávání klopidogrelu je neefektivní a pacienti jsou ohroženi rizikem nežádoucích kardiovaskulárních příhod. Naopak pacienti nesoucí jednu nebo dvě alely zvýšené aktivity CYP2C19*17 jsou ohroženi zvýšenou inhibicí agregace krevních destiček a vnitřním krvácením (16).

Tamoxifen a polymorfismus CYP2D6

Polymorfismus CYP2D6 může být spojen s různou klinickou odpovědí na tamoxifen. Pacientky s fenotypem PM mohou vykazovat sníženou odpověď na léčbu, neboť u těchto žen nedochází ke vzniku dostatečného množství aktivního metabolitu a tyto pacientky jsou ohroženy zvýšeným rizikem recidivy rakoviny prsu. Důsledky těchto nálezů pro léčbu pacientek s fenotypem PM nebyly však ještě plně objasněny (17).

Pro účinnost cílené terapie v onkologii se zvyšuje význam prediktivních biomarkerů. Intenzivní výzkum v oblasti klinické onkologie přinesl za poslední desetiletí celou řadu nových léčiv a prediktorů léčebné odpovědi, což umožnilo individualizovat protinádorovou terapii na základě genetické predispozice nádoru. Markery jako doména receptoru pro lidský epidermální růstový faktor (*HER2*), epidermální

růstový faktor (*EGFR*), Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (*kaskáda RAS*), onkogen *BRAF* a anaplastická lymfomová kináza (*ALK*) mají prediktivní význam při terapii trastuzumabem, pertuzumabem, lapatinibem, cetuximabem, panitumumabem a dalšími léky při terapii karcinomu prsu, kolorektálního karcinomu, melanomu nebo nemalobuněčného karcinomu plic. Jsou v současné době nedílnou součástí rutinní diagnostiky, jejich testování má bezesporu zásadní vliv na volbu adekvátního terapeutického postupu a zkvalitnění života konkrétního pacienta (18). Význam počátečního screeningu aktivity dihydropyrimidindehydrogenázy (DPD) před léčbou 5-fluorouracilem je otevřenou otázkou budoucnosti (19).

Závěr

Význam farmakogenetiky v personalizované medicíně se neustále a velmi rychle zvyšuje, i když stále ještě existuje řada léků, u kterých není ještě význam genetické predispozice pacienta určen. U nemalého množství léků je již indikační omezení s ohledem na farmakogenetické vyšetření zahrnuto v SPC. Lze očekávat, že množství těchto léků se bude zvyšovat, obzvláště v onkologické terapii.

Práce vznikla za podpory projektu PRVOUK P25/LF1/2 a UNCE 204022.

LITERATURA

1. Crews KR, Cross SJ, McCormick JN, Baker DK, Molinelli AR, Mullins R, Relling MV, Hoffman JM. Development and implementation of a pharmacist-managed clinical pharmacogenetics service. *Am J Health Syst Pharm.* 2011; 68(2): 143–150.
2. Roses AD. Pharmacogenetics and drug development: the path to safer and more effective drugs. *Nature reviews.* 2004; 5: 645–656.
3. Šeda O, Šedová L. Farmakogenomika a nutrigenomika: komplexní interakce genů s prostředím. *Klin Farmako Farm.* 2005; 9: 116–120.
4. Ma Q, Lu AY. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine. *Pharmacol Rev.* 2011; 63(2): 437–459.
5. Bakhouche H, Slanař O. Pharmacogenetics in clinical practice. *Prague Med Rep.* 2012; 113(4): 251–261.
6. Rettie AE, Tai G. The pharmacogenomics of warfarin: closing in on personalized medicine. *Mol Interv.* 2006; 6(4): 223–227.
7. Slanař O. Farmakogenomika – současnost, budoucnost, perspektiva. *Klin Farmako Farm.* 2012; 26(3): 126–130.
8. Martin AM, Krueger R, Almeida CA, Nolan D, Phillips E, Mallal S. A sensitive and rapid alternative to HLA typing as a genetic screening test for abacavir hypersensitivity syndrome. *Pharmacogenet Genomics.* 2006; 16: 353–357.
9. Mallal S, Phillips E, Carosi G, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med.* 2008; 358(6): 568–579.
10. Slanař O, Bortlik M, Buzkova H, et al. Polymorphisms of the TPMT gene in the Czech healthy population and patients with inflammatory bowel disease. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2008; 27(6): 835–838.
11. Slanař O, Chalupna P, Novotný A, et al. Fatal myelotoxicity after azathioprine treatment. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2008; 27(6): 661–665.
12. Stingl JC, Bartels H, Viviani R, Lehmann ML, Brockmöller J. Relevance of UDP-glucuronosyltransferase polymorphisms for drug dosing: A quantitative systematic review. *Pharmacol Ther.* 2014; 141(1): 92–116.
13. Cascorbi I. The promises of personalized medicine. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010; 66(8): 749–754.
14. Mega JL, Walker JR, Ruff CT, et al. Genetics and the clinical response to warfarin and edoxaban: findings from the randomised, double-blind ENGAGE AF-TIMI 48 trial. *Lancet.* 2015; 385(9984): 2280–2287.
15. Tan E, Lim EC, Teo Y. Molecular Pain. *BioMed Central.* 2009; 5: 32–40.
16. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.* 2009; 360(4): 354–362.
17. Argalécová S, Slanař O, Vítek P, et al. Contribution of ABCB1 and CYP2D6 genotypes to the outcome of tamoxifen adjuvant treatment in premenopausal women with breast cancer. *Physiol Res.* 2015; 64(Suppl 4): 539–547.
18. Rodríguez-Antona C, Taron M. Pharmacogenomic biomarkers for personalized cancer treatment. *J Intern Med.* 2015; 277(2): 201–217.
19. Lunenburg CA, Henricks LM, Guchelaar HJ, et al. Prospective DPYD genotyping to reduce the risk of fluoropyrimidine-induced severe toxicity: Ready for prime time. *Eur J Cancer.* 2015; 54: 40–48.