

Perzonalizovaná medicína – současná praxe a přísliby do budoucna

Pavel Anzenbacher, Jana Nekvindová

Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP v Olomouci

V poslední době probíhá na poli biomedicínského výzkumu a jeho aplikací stále bouřlivější vývoj. Perzonalizovaná medicína znamená efektivnější vývoj účinnějších léčiv, přesnější diagnostiku, včasnější léčebné zásahy a lepší terapeutické výsledky, to vše ruku v ruce s efektivním a ekonomickým využíváním materiálních prostředků, jejichž zdroje jsou stále více limitované. Příkladem je využívání diagnostiky mutací genů EGFR dráhy pro predikci odpovědi na léčbu u kolorektálního karcinomu, nemalobuněčného karcinomu plic nebo maligního melanomu či vyhledávání pacientů s mutacemi genů predisponujících nosiče k nádorovým onemocněním (např. geny BRCA1 a BRCA2, APC, MUTYH, TP53 a další), či s dysfunkcí genu GPR120 s predispozicí k obezitě. Defektní alely genů kódujících enzymy metabolismu léčiv mají klinický význam u terapie např. warfarinem (především geny pro CYP2C9 a VKORC1), klopido-grelem (CYP2C19), azathioprinem (gen pro TPMT), některými antidepresivy a antipsychotiky (CYP2D6 a CYP2C19). Další markery, např. genotyp UGT1A1 (mutace vede ke zvýšené toxicitě irinotekanu), jsou ve stadiu validace. Není pochyb o tom, že rozvoj poznání povede k pokroku v perzonalizaci medicíny a farmakoterapie zejména.

Klíčová slova: perzonalizovaná medicína, farmakogenetika, diagnostika, molekulární biologie, individualizace terapie.

Personalized medicine – anticipation of possibilities

A large development in the field of biosciences and personalized medicine is ongoing during last decade. The technologies coming along bring a more effective development of new drugs, improved diagnosis, earlier medical interventions and better therapeutical outcomes together with an effective and economical spending of the material and financial resources which are more and more limited. Examples of successful applications of personalized approach include e.g. diagnostics of mutations in genes of the EGFR pathway in colon cancer, non-small cell lung carcinoma or malignant melanoma or screening for predisposition to hereditary cancers (mutations in BRCA1 and 2, APC, MUTYH, TP53 and other genes) or obesity (dysfunction of a GPR120). Known examples of personalized approach are those explaining altered drug metabolism in case of warfarin (CYP2C9 and VKORC1 gene), clopidogrel (CYP2C19), or azathioprine (gene for TPMT). Further possibilities include finding right doses of antidepressants and antipsychotics based on CYP2D6 and CYP2C19 genotype; in near future, new genetic biomarkers are expected to be validated as e.g. UGT1A1 gene mutation leading to toxicity of irinotecan. Progress in studies on genetic basis of diseases will result in progress in personalization of medicine and pharmacotherapy.

Key words: personalized medicine, pharmacogenetics, diagnostics, molecular biology, individualized therapy.

Klin Farmakol Farm 2012; 26(3): 123–125

Úvod

Perzonalizovaná medicína se stala pojmem, který vzbuzuje řadu nadějí. Podobně jako naděje ale vzbuzuje – možná díky určité profanaci – také reakce, které vycházejí především z jistě oprávněného přesvědčení, že medicína jako taková je perzonalizovaná per se, a že tedy není třeba tento prvek zdůrazňovat. Pojem „perzonalizovaná medicína“ vychází podle řady odborníků z aplikací přístupů vycházejících z molekulární podstaty chorob a zdarů či nezdarů např. farmakoterapie. Jsou to tedy vlastně moderní technologie, které umožňují již teď a budou jistě i v budoucnosti umožňovat vyšší přesnost v určení diagnózy a volbě terapie. V této souvislosti lze citovat Edwarda M. Kennedyho, který prohlásil v Senátu Spojených států, že „se nacházíme v nové éře věd o životě, a přitom žádná oblast výzkumu není více nadějná než perzonalizovaná medicína...“ (24. dubna 2008).

Svět stále očekává nová a účinnější léčiva, ale s rozvojem znalostí o tom, jak složitá je re-

gulace procesů v organismu, a tedy i jak různé mohou být příčiny jejího selhání, je zřejmé, že éra léčiv pomáhajících každému pacientovi je pryč. Naopak, u firem lze očekávat v souvislosti s perzonalizací diagnostiky a terapie takové prosazování přístupu k veřejnosti a zejména k pacientům, vyjádřeného prezidentem firmy Eli Lilly takto: „Síla terapie na míru je v tom, že můžeme říci pacientům a dalším: tento lék není pro každého, ale je pro Vás – což je nezměrně působivé“. Je známou skutečností, že jen určitá část populace odpovídá na farmakoterapii, přičemž rozsah tohoto podílu je různý u různých chorob. K nejméně úspěšným patří terapie Alzheimerovy choroby, a bohužel, přes významné úspěchy i terapie zhoubného bujení.

Ačkoli je rozvoj perzonalizované medicíny podmíněn především prudkým nárůstem poznatků a technologií v oblasti molekulární genetiky, je třeba mít stále na paměti, že klíčovým efektem v patologických procesech v buňce je vždy protein. Geneticky podmíněná onemoc-

nění se manifestují jako výsledek dysregulace signálních drah buněčné proliferace (nádorová onemocnění), defektu metabolické aktivity enzymu nebo ztráty jiné důležité funkce nebo vlastnosti proteinu obecně. Perzonalizovaná farmakoterapie se zaměřuje na proteinové cíle (protilátky, inhibitory) a v diagnostice ji zajímají jen ty genetické změny/mutace, jejichž důsledkem je reálná změna konkrétní aktivity proteinu. Jinými slovy, není důležité zda, ale jak je gen mutovaný. Rovněž se nelze zaměřit či omezit pouze na cílovou molekulu, ale v případě poruchy aktivity signálních drah je nutné v řadě případů vyšetřit a zhodnotit i navazující/další/downstream členy kaskády.

Perzonalizovaná medicína v onkologii – příklady

Klasickým příkladem je anti-EGFR terapie u kolorektálního karcinomu (EGF, receptor epidermálního růstového faktoru), kdy protilátka proti extracelulární doméně receptoru pro EGF

(např. cetuximab, panitumumab) není terapeuticky účinná u pacientů s mutací konstitutivně aktivující protein KRAS (KRAS nebo též K-RAS je protein s GTPázovou aktivitou, který je součástí signální kaskády EGFR). Nemutovaný KRAS přenáší spolu s dalšími členy dráhy EGFR-MAPK (MAPK, mitogenem aktivované proteinové kinázy) signál růstového faktoru do buněčného jádra. V případě mutace genu KRAS je tato část dráhy trvale aktivní bez ohledu na přítomnost signálu nebo snahu o jeho zablokování protilátkou. V léčbě nemalobuněčného karcinomu plic, který nese mutaci v tyrozinkinázové (intracelulární) doméně EGFR a je tak vhodný pro cílenou terapii inhibitory tyrozinkinázy (TKI, např. erlotinib, gefitinib), způsobují KRAS-aktivující mutace vznik rezistence na TKI u původně citlivého nádoru a přinášejí další růstovou výhodu pro nádorové buňky, i když KRAS mutace nebyla v daném případě primární onkogenní (tzv. driver) mutací (1, 2).

Otázka kdy a co, tedy které geny vyšetřovat v průběhu diagnostického a terapeutického procesu, zůstává horkým tématem mezioborových diskuzních panelů. Na jedné straně stojí potřeba co nejděleji charakterizovat daný nádor, a to nejlépe i v reálném čase, tedy hlavně při změně stavu onemocnění, např. nálezu vzdálené metastázy, a na druhé straně stojí diagnostické, technologické a často především ekonomické faktory. V praxi se dnes vyšetřuje většinou pouze to, co je prokázáním silným prediktorem odpovědi na léčbu daným preparátem. Toto vyšetření je podmínkou indikace cílené terapie v prvních liniích léčby. Komplexnímu pohledu na genetický (molekulární) profil nádoru se ještě bude nutně učit. Mnoho pozornosti se dnes věnuje epigenetickým změnám nádorových genomů. Intenzivně se studuje funkce mikroRNA a jejich potenciál sloužit jako biomarkery a další důležité epigenetické změny probíhající v nádorové tkáni, např. změny methylace regulačních oblastí genomu a jejich obrovský dopad na transkriptom maligních buněk. Na druhou stranu, nejmodernější technologie, původně vyvinuté pro výzkumné účely, se staly běžně dostupnými rychleji, než se předpokládalo. Např. sekvenování nové (druhé) generace, tzv. next-gen sequencing (NGS), se již reálně používá v rutinní diagnostice hereditárních mutací, přičemž cena vyšetření je v praxi už nyní nižší než při použití klasických metod a stále klesá. Nesmírnou výhodou NGS je možnost paralelního vyšetření mnoha genů/lokusů zároveň z jedné reakce, možnost sekvenování s vysokou citlivostí (tzv. ultra hluboké, ultra deep sequencing), které má význam zejména v onkogenetice a také

jednoznačné a přesné určení mutace, jež zatím bohužel není samozřejmou součástí v dnešní době dostupných kitů pro in vitro diagnostiku.

Sekvenování rozsáhlých genů, jakými jsou onkologicky významné geny BRCA1 a 2 (predispozice ke karcinomu prsu – breast cancer, odtud BRCA, ovaria aj.), geny APC (adenomatózní polypózy) a MUTYH (mutace reparačního genu YH vedoucí ke vzniku familiární adenomatózní polypózy – FAP), gen NF1 u neurofibromatózy a jiné, patří spíše do oblasti klasické lékařské genetiky, ale personalizovaná péče může být pacientům poskytnuta v oblasti prevence a screeningu vznikajících nádorů, je-li u nich včas potvrzena patogenní mutace kauzálních genů.

Polygenní choroby

Individualizovaný přístup k pacientovi může přispět i k úspěšné terapii tak komplexních, ve svojí podstatě polygenních chorob, jako je diabetes mellitus 2. typu a obezita. Ukazuje se, že řada subjektů neodpovídá žádoucím způsobem na změnu životního stylu a zvýšení fyzické zátěže. Jednou z příčin rozvoje těchto chorob mohou být dysfunkce proteinů odpovídajících za metabolismus a regulaci v příjmu a výdeje energie. Nejpravděpodobnějšími kandidáty jsou GPR120, který je receptorem a senzorem mastných kyselin. U experimentálních zvířat (myši) s vyřazeným genem pro tento G-protein došlo k rozvoji obezity, snížené odpovědi na inzulin a nebyl u nich pozorován pozitivní vliv podání ω 3 nenasycených mastných kyselin na rozvoj zánětu (4). V tomto roce byl v zásadní práci prokázán vliv dysfunkce tohoto genu daný mutací genu pro tento receptor/senzor na vznik obezity jak u experimentálních myši, tak u člověka (5). Dalším genem, který může přispívat ke vzniku obezity a diabetu 2. typu, je gen pro protein UCP1. Tento gen kóduje funkci proteinu, který při oxidační fosforylaci (při které vzniká adenosin trifosfát, ATP) odpřahuje právě vznik ATP od chemické reakce a způsobuje tak dissipaci energie na teplo místo uložení do formy ATP. U člověka je exprimován především v hnědé tukové tkáni a účastní se na regulaci výdeje energie, na termogenezi a na obraně před oxidačním stresem. Genové polymorfismy tohoto genu pak jsou, alespoň podle některých studií, asociované s obezitou a diabetem 2. typu (6).

Farmakogenetika

Příklady situace, kdy jedinec je predisponován svojí genetickou výbavou k selhání farmakoterapie či k abnormální, případně i toxické, reakci na podané léčivo, jsou v literatuře dobře popsány. Webové stránky poskytují informace

o farmakogenetických aspektech personalizované medicíny (7) a jejich přehled je uveden v literatuře (8). V abecedním pořadí:

- alkoholdehydrogenáza – léčiva dotčená tímto jevem jsou např. sukcinylcholin, cyklofosfamid,
- butyrylcholinesteráza – mivakurium, prokain, sukcinylcholin,
- dihydropyridin dehydrogenáza – 5-fluorouracil, kapecitabin,
- MDR1 resp. ABCB1, multidrug resistance protein 1 – digoxin,
- NAT2, N-acetyltransferáza 2 – isoniazid, sulfonamidy,
- SLCO1B1 resp. OATP1B1, transportér organických aniontů – statiny, rifampin, methotrexát,
- TPMT, thiopurin S-methyl transferáza – azathioprin, 6-merkaptopurin,
- UGT1A1, UDP-glukuronosyltransferáza 1A1 – irinotekan,
- VKORC1, vitamin K epoxid oxidoreduktáza 1 – warfarin.

Nejvíce případů, kdy je v důsledku genového polymorfismu alterován metabolismus léčiva, se týká variantních genů pro různé formy cytochromu P450 (CYP). Klinický význam má nepochybně genový polymorfismus enzymů podílejících se na metabolismu a mechanismu antikoagulačního warfarinu; zde je v důsledku variantních alel pro formu cytochromu P450 2C9 (CYP2C9, přeměňuje warfarin na hlavní metabolit) i pro VKORC1 (viz dříve, polymorfismus snižuje účinnost tohoto enzymu participujícího v aktivaci prothrombinu), zvýšená hladina warfarinu a s tím i spojeného rizika tromboembolických příhod. Důležitými faktory pro využití genotypizace v klinické praxi jsou především rychlost a cena vyšetření ve srovnání s cenou léčiva (prasugrel vs. klopidoogrel aktivovaný geneticky polymorfním CYP2C19 apod.) a podíl metabolického genotypu na výsledné farmakokinetice, jež je ovlivněna i dalšími faktory (věk, jaterní a ledvinová funkce, lékové interakce apod.) Vyšetření polymorfismů metabolismu warfarinu se tak z již celkem běžné praxe stává spíše záležitostí pro pacienty, u nichž je obtížná optimalizace dávkování léčiva podle běžných klinických schémata a je vhodné hledat příčinu jejich neadekvátní odpovědi na léčbu. Volba antiagregační léčby by mohla profitovat ze znalosti pacientova genotypu více a optimálně vyvážit použití nákladnějšího prasugrelu, jehož metabolismus a účinnost sice nejsou alterovány defektem cytochromu P450 formy CYP2C19, avšak má vyšší výskyt závažných (i fatálních) krvácivých příhod oproti klopidoogrelu (9, 10, 11, 12).

Mnoho dalších příkladů farmakogenetického testování v klinické praxi stále (alespoň u nás) není, patří mezi ně ještě genotypizace na přítomnost variantních alel formy cytochromu P450 2D6 (CYP2D6), který přeměňuje řadu antidepresiv, dále např. kodein a tamoxifen. Perzonalizace dávkování u antidepresiv v závislosti na genotypu pacienta je praxí pouze na některých pracovištích, zejména těch vybavených čipovou technologií. Je totiž skutečností, že rozdíly v dávkování u pomalých a ultrarychlých metabolizátorů (s amplifikovanou funkční variantou genu CYP2D6) jsou až desetinásobné (13), vzhledem k množství variantních alel je však vyšetření genotypu CYP2D6 velmi drahé. Při výskytu 5–10 % pomalých CYP2D6 metabolizátorů v populaci existuje naopak významné riziko selhání terapie tamoxifenem u pacientů s karcinomem prsu. Tamoxifen jako prodrug vyžaduje aktivaci na účinný metabolit endoxifen, a pomalí metabolizátoři mající nižší hladinu účinné látky vykazují horší klinický průběh a kratší přežití (14). Zvýšení dávky z 20 na 40 mg je dostatečné u intermediárních metabolizátorů, ale pro pomalé metabolizátory je i při zlepšení koncentrace endoxifenu nedostatečné (15).

Několik slibných farmakogenetických markerů zatím i přes velkou snahu o jejich validaci stále nedává jednoznačné důkazy o své prospěšnosti, např. genotypizace polymorfismů UGT1A1 (bilirubin-UDP-glukuronosyltransferáza) při podávání irinotekanu u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem z důvodu jeho zvýšené toxicity při defektu glukuronidace aktivního metabolitu SN-38 nebyla zatím doporučena pro klinickou praxi (EGAPP, The Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention Working Group (16). Tento polymorfismus je známý především jako příčina familiární intermitentní nekonjugované hyperbilirubinémie (Gilbertův syndrom).

Závěr

Přes všechny překážky a nejasnosti jsou naděje vkládány do perzonalizované medicíny veliké. Bude třeba se smířit s faktem a perspektivou, že stále bude výrazně rychleji expandovat to, o čem víme, ale nerozumíme tomu, než uspokojivé odpovědi na naše otázky a validní výstupy pro klinickou praxi. V poslední době se intenzivně

studují nová zajímavá témata, např. variabilita glykomu (změny posttranslační glykosylace proteinů) a na ni navazující farmakoglykomika jako disciplína studující význam glykanových biomarkerů pro farmakoterapii (3). Důležitými oblastmi jsou rovněž nutrigenetika a nutrigenomika a studium významu mikrobiální flóry (mikrobiomika). Po poměrně tvrdých lekcích, které nám uštědřily výsledky celogenomových asociačních studií (GWAS) u komplexních onemocnění nastává tzv. post-genomická éra a posun od populační medicíny k individuálně cílené, nebo chcete-li, perzonalizované medicíně. Porozumění významu jednotlivých genetických, epigenetických a dalších změn a především jejich sumárního efektu a komplexních interakcí bude vyžadovat velké úsilí, interdisciplinární přístup a dlouhodobé sledování individuálních, dobře charakterizovaných případů onemocnění. Pro skutečnou perzonalizaci medicíny bude potřeba změnit tradiční hodnotící schémata a revidovat skutečný obsah termínu evidence-based medicine. Tento lékaři tolik uctívaný termín se v současnosti prakticky omezuje na statistickou významnost rozdílu nějakého parametru u co největších kohort pacientů, a není třeba obsáhle vysvětlovat, jak zavádějící tento přístup může být zejména u komplexních a extrémně heterogenních onemocnění, jako jsou např. onemocnění nádorová. Edukace většiny lékařů v oblasti buněčné a molekulární biologie je zatím nedostatečná a propast mezi výzkumem a lékařem je spolu se systémem financování zdravotní péče hlavní brzdou skutečné perzonalizace medicíny. Je faktem, že současná zdravotní péče je velmi nákladná a často málo účinná i z toho důvodu, že vychází z představ o unifikovaném pacientovi a o léčivu a dávce vyhovující naprosté většině. Perzonalizovaný, prediktivní a preventivní a participační (tzv. 4P medicine) přístup by mohl být pro zlepšení léčebné péče cestou budoucnosti (17, 18).

*Autoři děkují za podporu projektům
CZ.1.05/2.1.00/01.003 a CZ.1.07/2.3.00/20.0019.*

Literatura

1. Ballestrero A, Garuti A, Cirrnen G, et al. Patient-tailored treatments with anti-EGFR monoclonal antibodies in advanced colorectal cancer: KRAS and beyond. *Curr Cancer Drug Targets*. 2012; 12(4): 316–328.
2. Black A, Morris D. Personalized medicine in metastatic non-small-cell lung cancer: promising targets and current clinical trials. *Curr Oncol*. 2012; 19(Suppl. 1): 73–85.

3. Dumić J. Complex genetics of glycosylations. *Abstr. 1st ESPT Summer School on Pharmacogenomics and Theranostics*, 21.–26. 8. 2012, Ljubljana, Slovenia.
4. Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, et al. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell* 2010; 142(5): 667–698.
5. Ichimura A, Hirasawa A, Poulain-Godefroy O, et al. Dysfunction of lipid sensor GPR120 leads to obesity in both mouse and human. *Nature* 2012; 483(7389): 350–354.
6. de Almeida Brondani L, Assmann TS, Kullmann Duarte GC, et al. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2012; 56(4): 215–225.
7. www.pharmaadme.org/joomla/; <http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/>; www.pharmgkb.org/; a další, viz. (5).
8. Zanger UM, Klein K, Rieger J. Importance of Pharmacogenomics. In: *Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics*, 219–284 (Anzenbacher P a Zanger UM, Ed.), Wiley-VCH, Weinheim, 2012.
9. Tomek A, et al. www.homolka.cz/, <http://www.ikta.cz/res/file/seminare/2011-05-16-ostava/farmakogenetika-antitrombotik.pdf>.
10. Kvasnička J, Hájková J, Bobčíková P, et al. Prevalence polymorfismů CYP2C9 a VKORC1 v České republice a zamyšlení nad výhledy 7antikoagulační léčby warfarinem. *Cor et Vasa* 2011; 392–396.
11. Kirchheiner J, Seeringer A. Clinical implications of pharmacogenetics of cytochrome P450 drug metabolizing enzymes. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1770: 489–494.
12. You JH, Tsui KK, Wong RS, Cheng G. Potential clinical and economic outcomes of CYP2C9 and VKORC1 genotype-guided dosing in patients starting warfarin therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2009; 86(5): 540–547.
13. Wiviott SD, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2007; 357(20): 2001–2015.
14. Schroth W, et al. Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA*. 2009; 302(13): 1429–1436.
15. Irvin WJ Jr, et al. Genotype-guided tamoxifen dosing increases active metabolite exposure in women with reduced CYP2D6 metabolism: a multicenter study. *J Clin Oncol*. 2011; 29(24): 3232–3239.
16. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: can UGT1A1 genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan? *Genet Med*. 2009; 11(1): 15–20.
17. www.personalizedmedicinecoalition.org/: The Case for Personalized Medicine, 3rd Ed., 2012.
18. Lal JA, Schulte In den Bäumen T, Morré SA, Brand A. Public health and valorization of genome-based technologies: a new model. *J Transl Med*. 2011; 9: 207.

*Článek přijat redakcí: 12. 9. 2012
Článek přijat k publikaci: 24. 9. 2012*

prof. RNDr. Pavel Anzenbacher, DrSc.

*Ústav molekulární a translační medicíny
a Ústav farmakologie LF UP a FNOL
Hněvotínská 5, 775 15 Olomouc
pavel.anzenbacher@upol.cz*