

FARMAKOGENOMIKA A NUTRIGENOMIKA: KOMPLEXNÍ INTERAKCE GENŮ S PROSTŘEDÍM

Ondřej Šeda^{1,2,3}, Lucie Šedová¹

¹Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN, Praha

²Oddělení metabolismu diabetu, Centrum experimentální medicíny, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

³Research Centre, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Quebec, Canada

Farmakogenetika je interdisciplinárním oborem, který se zabývá vztahem mezi genetickou dispozicí jedince a účinkem podávaných léčiv na úrovni jednotlivých genetických polymorfizmů. Od padesátých let minulého století prošla farmakogenetika vývojem od dílčích pozorování a nepřímých indicií k dnešním, vysoce paralelním analýzám genetických polymorfizmů ovlivňujících účinky podávaných léčiv. Teprve v poslední době jsme svědky nástupu farmakogenomických metod, které umožňují sledovat efekt podané látky na globální expresi genetické informace na úrovni transkriptomu, proteomu či metabolomu. Současně vzniká nutrigenetika a nutrigenomika, založená na zjištění, že běžná dieta obsahuje řadu biologicky aktivních látek, jejichž účinky na vznik, průběh a terapii řady onemocnění jsou opět závislé na genetické dispozici. Společným cílem farmakogenomiky a nutrigenomiky je individualizovaná medicína, kdy na základě prediktivních genetických testů bude možné zvolit vhodný typ a dávku farmaka a dietního režimu pro konkrétního pacienta.

Klíčová slova: farmakogenetika, farmakogenomika, nutriční genetika, nutriční genomika.

PHARMACOGENOMICS AND NUTRIGENOMICS: COMPLEX GENE-ENVIRONMENT INTERACTIONS

Pharmacogenetics is an interdisciplinary field dealing with the relationships between the genetic disposition of an individual and the effects of the drugs administered at the level of particular gene polymorphisms. Since 1950s pharmacogenetics has evolved from single observations and indirect indices to highly parallel, high-throughput analyses of genetic polymorphisms affecting the action of the drugs administered. Only recently have we witnessed the advent of pharmacogenomic methods that allow to assess the effect of the drug administered on the global expression of the genetic information at levels of transcriptome, proteome and metabolome. Concurrently, the fields of nutrigenetics and nutrigenomics evolve based on the notion that common diet contains a substantial number of biologically active compounds. Their effects on the onset, course and therapy of several complex diseases are, again, partly dependent on the genetic make-up of an individual. The common goal of pharmacogenomics and nutrigenomics is personalized medicine with a possibility to ascertain the adequate type and dose of a drug together with an appropriate dietary regimen for an individual based on predictive genetic testing.

Keywords: pharmacogenetics, pharmacogenomics, nutrigenetics.

V posledních desetiletích jsme svědky sbližování biomedicínských vědních disciplín dříve jen skromně propojených, což vyplývá z technologicky podmíněného pozvolného přechodu od jednotlivých oddělených pozorování k celkovému nazírání biologických pochodů, jaké poskytuje např. systémová biologie (systems biology) (1). Jedním z nesporných katalyzátorů tohoto procesu byla a je tzv. „genomická revoluce“, tedy bouřlivý rozvoj metod molekulární genetiky s výstupy sahajícími od sekvenace genomů člověka a dalších organismů po genovou terapii. Rovněž farmakogenomika a nutriční genomika se řadí mezi interdisciplinární přístupy vzešlé z tohoto vývoje. Pojmy farmakogenetika a farmakogenomika (stejně tak nutrigenetika a nutrigenomika) jsou v poslední době často používány synonymně, nicméně farmako-/nutrigenetikou zde míníme zkoumání, jak jednotlivé genetické polymorfismy ovlivňují účinek léčiva, resp. diety na sledovaný fenotyp. Naproti tomu farmako-/nutrigenomikou rozumíme zkoumání výše uvedeného

vztahu na úrovni celého genomu (transkriptomu, proteomu, metabolomu atd. – obrázek 1). Vzhledem k tomu, že většina diskutovaných aspektů je společná pro farmakogenetické a nutrigenetické interakce (technologie, genetická analýza, modely) budou v následujícím textu užívány termíny farmakogenetika a farmakogenomika zástupně za oba typy interakcí. Specifika nutrigenetiky budou zmíněna ve zvláštním oddílu.

Pohled do historie

Pozorování individuálních odlišností v reakci na podané léčivo jsou patrně tak stará, jako medikamentózní léčba sama. Jedno z prvních „farmako/nutrigenetických“ zjištění je připisováno Pythagorovi, který si všiml, že někteří lidé onemocní po požití favových bobů, zatímco jiní nikoli. Trvalo přibližně 2400 let, než byla objasněna podstata tohoto jevu, totiž defekt enzymu glukózo-6-fosfát dehydrogenázy, který po požití syrových bobů nebo např. po podání antimalarika primachinu (ale

i kyseliny acetylsalicylové, fenacetinu nebo sulfonamidů) vede k hemolytické anémii (2). Na přelomu 19. a 20. století přichází Sir A.E. Garrod s konceptem „chemické individuality“ a přibližně v téže době William Bateson znovuoobjevuje Mendelovu práci a de facto zavádí termín genetika. Navíc to byl pravděpodobně právě Bateson, kdo aplikoval genetiku na Garrodem popsané vrozené poruchy metabolismu. Teprve v padesátých letech minulého století dochází k ustavení farmakogenetiky jako takové, když jsou popsány tři, nyní již klasické případy farmakogenetických interakcí. Prvním z nich byla již zmíněná hemolytická anémie po podání primachinu u disponovaných osob, dále protrahovaná apnoe po podání sukcinylcholinu v důsledku změněné kinetiky butyrylcholinesterázy (3) a nakonec asi nejznámější interakce – rychlá a pomalá acetylace antituberkulotika isoniazidu (teprve v devadesátých letech byly objasněny kauzální mutace genu N-acetyltransferázy 2) (4, 5). Samotný termín farmakogenetika poprvé použil Friedrich

Vogel v roce 1959 (6). V druhé polovině 20. století dochází jak v farmakologii, tak genetice k bouřlivému vývoji. Do každodenní lékařské praxe je zavedeno obrovské množství syntetických léčiv. S tím, jak se zvyšuje účinnost léčiv paralelně narůstá význam individuální odpovědi na podání farmak na škále od žádoucího terapeutického efektu až po život ohrožující stavy coby projevu nežádoucího účinku. V roce 1997 se poprvé objevuje termín farmakogenomika (7) a přibližně od té doby je možné sledovat exponenciální nárůst publikací s farmakogenetikou a farmakogenomickou tematikou.

Metody farmakogenomiky

Farmakogenomické metody se opírají o současný technologický vývoj, který přinesl možnost vysoce paralelní analýzy genetické informace člověka i modelových organismů. K tomu přistupují bioinformatické metody s matematickým a statistickým aparátem, který umožňuje náhled a zhodnocení výstupních mnohorozměrných biologických dat a někdy je sám primárním nástrojem zkoumání, např. při in silico analýzách genomických dat ve veřejně přístupných databázích.

Na úrovni genomu se po dokončené sekvenaci stalo jedním ze slibných směrů globální mapování tzv. SNP (single nucleotide polymorphisms), tedy jednonukleotidových variací sekvence DNA. Tyto snahy vycházejí z faktu, že z celkového odhadovaného počtu 11–15

milionů genetických polymorfizmů u člověka tvoří přes 90% právě SNP. Ve veřejně přístupné databázi dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html>) je v současnosti (build 123 ze 30. 10. 2004) již přes 5 milionů identifikovaných SNP a jejich počet každým dnem stoupá. SNP se dále sdružují do bloků – haplotypů, které se zpravidla dědí společně. Jeden ze současných názorů na variabilitu lidského genomu říká, že chromozomy jsou složeny především z krátkých segmentů, které v rámci krátké evoluční historie člověka prodělaly minimální počet rekombinačních změn, a proto tyto segmenty je možné u většiny populace charakterizovat jen několika častými haplotypy. Pro takové oblasti s vysokou vazebnou nerovnováhou a nízkou diverzitou haplotypů (haplotypové bloky) stačí zase identifikovat jen několik „značek“ (např. právě SNP), které zastupují daný haplotyp. Dá se předpokládat, že po dokončení projektů haplotypového mapování lidského genomu (projekt HapMap) ve zdrojích jako je pro farmakogenetiku již dnes PharmGKB (pharmacogenetics and pharmacogenomics knowledge base, www.pharmgkb.org) bude možné zjistit rizikové haplotypy pro tu kterou medikamentózní či nutriční intervenci. Pravděpodobně tedy nebude zdaleka nutné znát celou „konstelaci SNP“ u daného jedince, aby bylo možné v budoucnu využít genomické informace pacienta pro predikci a případnou prevenci nežádoucích farmakogenetických a nutrigenetických interakcí (8). Již dnes je

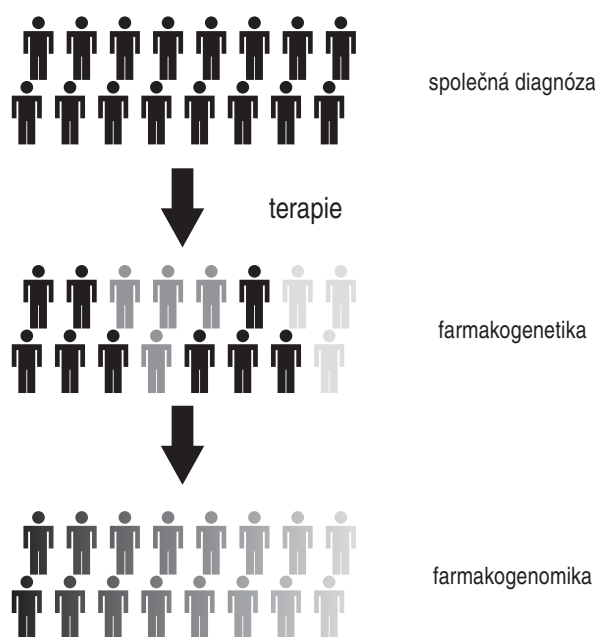
pomocí tzv. SNP čipů možné hodnotit u zkoumaného vzorku několik set tisíc polymorfizmů zároveň. Např. firma Affymetrix distribuuje čipy umožňující detekci 100 000 SNP při použití několika set nanogramů DNA a pravděpodobně ještě letos uvede na trh čip pro detekci 500 000 SNP (www.affymetrix.com).

Jednou ze zásadních informací, kterou přinesla možnost paralelního stanovení exprese tisíců (na úrovni mikroorganismů někdy i všech) genů, bylo potvrzení dynamické povahy genomu. Mezi posloupností nukleotidů DNA a expresí genu totiž neexistuje žádný mechanistický vztah, zasahuje sem řada regulačních pochodů a úprav na všech mezistupních realizace genetické informace (posttranskripční, posttranslační úpravy, na RNA závislá regulace exprese atd.). Detailní popis těchto mechanismů přesahuje rámec tohoto přehledu, ale ve zkratce lze říci, že na již úrovni buňky dochází k analýze a integraci signálů přicházejících z vnitřního i vnějšího prostředí a teprve na základě této informace je „volena“ časoprostorově specifická forma odpovědi zahrnující mj. i nastavení exprese vybrané sady genů. Po vyřazení funkce jediného genu u knock-out myši nebo přidání jediného signálu v podobě farmaka do media buněčné kultury lze identifikovat adaptivní posun v expresi ne jednotlivých, ale stovek až tisíců genů. Na úrovni transkriptomu jsou tak užívány cRNA a cDNA expresní čipy (microarrays) dosahující značné denzity průb – pro člověka, myš i potkana již jsou běžně k dispozici čipy, kterými je možné detekovat naráz expresi všech dosud anotovaných genů i dosud neidentifikovaných exprimovaných sekvencí. Analogicky expresi na úrovni proteinů a metabolitů zkoumá proteomika, resp. metabolomika, opět s využitím moderních technologií založených na variantách hmotnostní spektrometrie. Zde je třeba zmínit určité panující rozpaky ohledně praktického rutinního využití zmíněných technik. Biologický materiál pro tyto analýzy se reálně může rekrutovat z odběrů krve nebo exkretů (moč, sliny, mateřské mléko atd.), případně z biopsií tkání, kde jsou relevantní geny exprimovány. Pokud tedy nebudou nalezeny „signatury exprese“ specifické např. pro nežádoucí reakci na lék v běžně dostupném biologickém materiálu, zůstane na rozdíl od genotypizace význam těchto metod především v oblasti experimentu.

Farmakogenetické interakce

Většina původních farmakogenetických pozorování se týkala znaků, u kterých bylo možné sledovat radikální rozdíly např. v koncentraci léčiva v krvi nebo odpad jako metabolitů močí a které podléhaly jednoduché mendelovské dědičnosti. Takové polymorfizmy jsou podmíněny změnami ve farmakokinetice, kdy kvůli defektu v molekule příslušného transpor-

Obrázek 1. Schematické znázornění rozdílu mezi farmakogenetikou a farmakogenomikou. Při standardizované léčbě pacientů se společnou diagnózou analyzuje farmakogenetika kvalitativně odlišné reakce na základě specifických genetických polymorfizmů, zatímco farmakogenomika poskytuje detailnější, kvantitativní informaci o individuální reakci na léčbu pomocí genomických nebo transkriptomických profilů



téru, metabolizujícího enzymu nebo některého z ostatních faktorů podílejících se na absorpci, distribuci, interakci s cílovou strukturou a nakonec odbourání a exkreci dochází k přílišné nebo nedostatečné koncentraci farmaka v organismu. Klasickými případy jsou již zmíněný polymorfismus v genu pro N-acetyltransferázu 2 (NAT2), dále polymorfizmy v genech pro cytochrom P450 2D6 (CYP2D6) (9) nebo tiopurin S-metyltransferázu (TPMT) (10). Tento enzym podílející se na metabolismu tiopurinů, např. azatioprinu (užívaného mj. pro imunosupresi u příjemců transplantátů a při léčbě akutní lymfoblastické leukémie), se stal také jedním z prvních, u kterých je k dispozici komerčně vyráběný genetický test (<http://www.prometheuslabs.com/>). Varování před vážnými nežádoucími účinky u případě podání azatioprinu pacientům s genotypem determinujícím nízkou aktivitu TPMT bylo schváleno americkou FDA a je obsaženo přímo v příbalovém letáku.

Komplikovanější situace nastává, zasahuje-li genetický polymorfismus do farmakodynamických procesů nebo je závislý na interakci několika genů. Potom i při adekvátní koncentraci léčiva závisí jeho účinek na faktorech jako je stupeň exprese cílového genu v dané tkáni. Exprese genu může být systematicky nižší nebo vyšší u různých etnických skupin nebo záviset na fázi vývoje organismu (novorozenci, děti, adolescenti, dospělí). Je možné, že právě takové polymorfizmy stojí za pozorováním, že antidepressivum paroxetin ze skupiny selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) vyvolává u pacientů mladších 18 let sebepoškozující až suicidální jednání na rozdíl od pacientů dospělých, kde k těmto reakcím nedochází (11).

V poslední době bylo publikováno několik přehledů identifikovaných polymorfizmů podmiňujících farmakogenetické interakce, proto odkazujeme čtenáře na tyto publikace (9, 12, 13), ale vzhledem k rychle přibývajícím poznatkům budou pravděpodobně pro relevantní farmakogenetické informace sloužit pravidelně aktualizované elektronické zdroje, jako např. již zmíněná PharmGKB databáze.

Komplikující faktor – heterogenita

V rámci výzkumu farmakogenetických a nutrigenomických interakcí se setkáváme s obdobnými problémy jako při zkoumání genetické složky komplexních nemocí, tedy takových znaků, kde kromě genetiky hrají významnou roli i faktory prostředí, mezi něž mj. potravu a farmaka řadíme. Mezi tyto překážky patří mj. neúplná penetrance (ne u všech, u kterých to na základě jejich genetické dispozice očekáváme, se daný fenotyp projeví), genetická heterogenita v rámci populačního vzorku, u kterého je

studie prováděna, fenokopie (projev daného fenotypu u jedinců, kteří nezdědili příslušnou sadu patologických alel) a další (14). Jak uvádí Thornton-Wells et al. (15), genetická heterogenita může být dvojího typu. První z nich je heterogenita alelická, tedy asociace mezi daným znakem (onemocněním, reakcí na léčivo) a dvěma či více alelami stejného lokusu – příkladem budiž cystická fibróza s více než 1000 popsány mutacemi genu CFTR nebo mnohotné alely cytochromu P450. Druhou formou je potom heterogenita samotného znaku, kdy díky nedostatečně specifické definici zahrnuje jedna „diagnóza“ několik geneticky oddělených entit, jako je tomu u autismu a pravděpodobně např. i u hypertenze. Tyto faktory musí být samozřejmě reflektovány v použití nových statistických modelů a postupů, neboť většina dosud používaných metod je založena na matematickém aparátu, který kalkuluje s jednoduchým monogenním typem dědičnosti. Jsou proto vyvíjeny různé varianty shlukovacích, faktorových či Bayesiánských analýz.

Od modelů k člověku a zpět

Pro detailní funkčně genomickou analýzu genetických polymorfizmů v rámci komplikovaných vazeb farmakogenetických interakcí je z důvodů etických a mnohdy i praktických nemožné studovat relevantní biologické a fyziologické pochody přímo u lidských subjektů. Různé fáze výzkumu proto musí probíhat za použití modelů in silico (počítačové modely), in vitro (buněčné kultury) a in vivo (experimentální, především savčí modely), které jsou teprve následně ověřeny u člověka. Nejjednoduššími biologickými modely jsou buňky exprimující polymorfní varianty lidských genů vnesených transfekcí cDNA. Cílem těchto studií je zjistit, jak jednotlivé polymorfizmy ovlivňují expresi a funkci jimi kódovaného proteinu (např. receptoru). Přes nesporné úspěchy tohoto přístupu je relevance výstupů pro konkrétní klinicko-patologický stav problematizována několika faktory. Především nejčastějším modelem jsou buněčné linie, u kterých je sice snadné docílit transfekcí exprese žádaného genu a následně proteinu, ale mnohé jejich charakteristiky neodpovídají buňkám původního typu tkáně. Navíc buněčné studie „vytrhují“ danou buňku z přirozených vazeb prostředí (tkáně, orgánu i celého organismu) tvořených sítěmi adaptivních a regulačních signálů, které navíc nabývají specifických forem v kontextu patofyziologie příslušného onemocnění a reakce na medikaci. Proto je poměrně značná důležitost kladena na výzkum za použití experimentálních zvířecích modelů, v současnosti nejčastěji myši a laboratorního potkana. Tradiční roli těchto dvou modelů dále podpořily výsledky sekvenace jejich genomů, která ukázaly, že

evolučně je člověk podstatně blíže těmto dvěma savcům, než se obecně očekávalo (16). V podmínkách živého organismu je možné za standardních podmínek prostředí cíleně modifikovat genom a zpětně sledovat efekt takové změny, mezi metody již rutinně užívané patří dnes transgeneze, tedy cílená exprese vnesené varianty genu (např. lidského), případně „knock-out“ a v poslední době i „knock-down“ postupy, které buď úplně, nebo částečně vyřadí specifický gen z funkce.

Konkrétním příkladem savčího modelu vhodného pro farmakogenomický a nutrigenomický výzkum je kmen polydaktylního potkana (PD/Cub). Tento vysoce inbrední kmen je na Ústavu biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN chován od roku 1969 (17). Spontánně vzniklá mutace genu *Lx* dává vznik syndromu polydaktylie-luxace. Účinek genu *Lx* je modifikován jednak účinkem genetického pozadí, jednak interakcí s různými teratogenními látkami (bromodeoxyuridin, talidomid, retinová kyselina), a to opět v závislosti na genetickém pozadí (18–21). Tento kmen je tedy jedinečným modelem pro analýzy morfogenetických procesů i farmakogenetiky/genomiky teratogeneze. V roce 1993 byla u PD/Cub zjištěna zvýšená hladina triglyceridů (22) a detailnější zkoumání pak vedlo k ustavení kmene PD/Cub jako modelu metabolického syndromu, neboť kromě hypertriglyceridémie byla u tohoto kmene identifikována hyperinzulinémie, zvýšená hmotnost epididymálního tukového tělesa (marker obezity centrálního typu), zvýšená hladina nenasycených mastných kyselin a výrazná inzulinová rezistence (23). Teprve nedávno se ukázalo, že PD/Cub má i jedinečný farmakogenetický i farmakogenomický profil v rámci podávání látek modulujících genovou transkripci (24, 25). Po podání hypolipidemika fenofibrátu, agonisty nukleárního receptoru PPAR α překvapivě došlo k zhoršení glukózové tolerance spojené s hyperinzulinémií. Iztretinoin, panagonista receptorů RAR a RXR vyvolal u kmene PD/Cub výrazný vzestup triglyceridémie, což je jeden z popisovaných nežádoucích účinků léčby např. dermatologických afekcí touto látkou. Jelikož se ovšem tato reakce vyskytuje pouze u určité části léčených, je možné, že se jedná o geneticky podloženou interakci a polydaktylní potkan by tak mohl být vhodným nástrojem pro její detailnější zkoumání (24).

V poslední době se v léčbě inzulinové rezistence poměrně často užívají agonisté dalšího z nukleárních receptorů, PPAR γ (např. tiazolidindiony pioglitazon, rosiglitazon) (26). U jiného modelu inzulinové rezistence a dyslipidémie, spontánně hypertenzního potkana (SHR/Ola-pcv), překvapivě nevedlo podávání pioglitazonu k zlepšení tolerance glukózy (27). Ukázalo

se, že hlavní příčinou této reakce je mutovaná alela genu pro translokázu mastných kyselin *Cd36/Fat*, což bylo potvrzeno pomocí derivace transgenických a kongenních zvířat, která exprimují normální variantu *Cd36/Fat* a na pioglitazon reagují oproti SHR/OlaIpcv zlepšením metabolických parametrů a utilizací glukózy v periferních tkáních. Konkrétní realizace této farmakogenetické interakce opět závisí i na alelické kombinaci genetického pozadí. U kongenního kmene BN.SHR(II6-Cd36) je *Cd36/Fat* SHR původu vneseno na genetické pozadí normolipidického a normotenzního kmene Brown Norway. Po podání rosiglitazonu jsme kromě zmíněné absence zlepšení glukózové intolerance pozorovali i chybění nárůstu adipozity, ke kterému došlo jak u kontrolního kmene BN/Cub, tak u SHR/OlaIpcv po podání pioglitazonu (28). Vzhledem k relativně častému výskytu diabetu 2. typu u lidských nositelů mutované varianty *CD36* může mít tato experimentálně zjištěná farmakogenetická interakce význam pro farmakoterapii diabetu u těchto pacientů.

Využití farmakogenomiky ve vývoji nových léčiv

Kromě toho, že je nyní možné aplikovat metody farmakogenetiky a farmakogenomiky pro porozumění interakcím a optimalizaci terapie již zavedených léčiv, pozornost nejen farmaceutických výrobců se upírá na oblasti, kde by bylo možné nové technologie využít při vývoji a kontrole nových preparátů. Nasnadě je např. využití dostupných sekvencí DNA člověka a modelových organismů pro poměrně rychlý počítačový screening charakteristických motivů společných genům, pro které jsou již vytvořeny rozsáhlé testovací knihovny chemických látek („drug-able targets“). Mezi takové skupiny patří např. nukleární receptory nebo kinázy. Jak uvádí A. Roses, než byl tento postup možný, bylo k dispozici cca 500 takových cílových struktur a zdá se, že existuje asi ještě 5000 dalších, z nichž stovky mohou být relevantní z hlediska léčby lidských onemocnění (29). Jediná fáze tohoto výzkumu, která není a asi nebude přístupná automatizaci a robotizaci, je získání DNA společně s co nejširší nejpřesnější charakterizací samotných pacientů (nemocných i kontrol) a chybění široce založených detailně anotovaných prospektivních kohort. Dalším polem, kde by farmakogenomické metody mohly v budoucnu sehrát zásadnější úlohu, jsou primární fáze klinického testování léčiv. U těchto preparátů, které vykazují účinnost jen u určité skupiny léčených a v celkovém srovnání s placebem je výsledek ambivalentní, vyžaduje pokračování studií značné investice a mnohdy je celý vývoj právě zde ukončen. Profilování by mohlo identifikovat genetické charakteristiky skupiny, u které se dostavuje požadovaný efekt

léčiva a v případě potvrzení účinnosti v dalších fázích klinického testování by mohla být pozitivita v předběžném (prediktivním) genetickém testu podmínkou aplikace daného léčiva. Z různých důvodů zatím ovšem nedošlo k distribuci léku s tak jednoznačnou specifikací genetických markerů pacienta, které by zajišťovaly jak účinnost, tak bezpečnost jeho podávání. Opačným případem je identifikace genetického markeru (SNP, haplotypu, alely, transkripčního profilu), který je asociován s nežádoucím účinkem léčiva. Příkladem budiž hyperbilirubinémie, ke které došlo u 4% z 11 500 pacientů léčených tranilastem (preparát proti restenóze) v rámci fáze III klinického testování. Rozsáhlým genetickým testováním se zjistilo, že tato reakce je jednoznačně spojena s alelou genu pro UDP-glukuronosyl transferázu 1A1 (30). U těch jedinců, kteří měli jednu alelu obsahující 7 repetice, vyvolal tranilast mírnou hyperbilirubinémii, při výskytu obou alel se 7 repeticemi došlo k významné hyperbilirubinémii, zatímco dvě alely s šesti repeticemi „chránily“ jejich nositele před tímto nežádoucím účinkem tranilastu, jehož vývoj byl nakonec zastaven. Dalším zkoumáním bylo zjištěno, že k jednoznačné identifikaci této genomické oblasti by při použití dostupné sady pro genotypizaci 100 000 SNP stačilo jen 10–20 případů vykazujících hyperbilirubinémii ve srovnání s 3000 kontrol. Samozřejmě u nežádoucích účinků, jejichž patogeneze je komplexnější (více genů, vliv dalších faktorů), je situace podstatně složitější. Proces přechodu od globálně aplikovaných léků „na danou nemoc“ k lékům „pro konkrétního pacienta“ v rámci individualizované medicíny (angl. personalized medicine) bude tedy patrně jen velmi pozvolný.

Nutrigenetika / Nutrigenomika

Vzhledem k nedávno publikovaným přehledným pracím na toto téma (31, 32, 33) se zde omezíme především na pokus o určité srovnání základních aspektů nutrigenetiky a farmakogenetiky. Již na první pohled nalézáme celou řadu podobností i odlišností. Přijatá potrava prochází v organismu analogickým procesem zpracování jako perorálně podaný lék. Obecně lze říci, že běžná lidská dieta obsahuje velké množství látek, které jsou biologicky aktivní a ovlivňují celou řadu biologických pochodů včetně genové exprese. Na rozdíl od farmak, která jsou většinou vysoce specifická a účinná a navíc jsou podávána v relativně definovaných množstvích, složení diety podléhá značné individuální variabilitě jak množství, tak kvalitativního zastoupení jednotlivých složek. To, že kvantitativní a kvalitativní parametry diety ovlivňují lidské zdraví, je jasné. Nutrigenetika a nutrigenomika začínají přinášet informace o tom, že efekt mnohých

složek stravy je závislý na genetické dispozici jedince, podobně jako u farmakoterapie. K interakcím mezi potravou a léčbou současně probíhajícími nemoci tak rozhodně nedochází jen na úrovni fyzikálně chemických reakcí preparátu se složkami stravy, ale především na úrovni systémové.

Změny v poměru energetického příjmu a výdeje, energetické denzity stravy a celkový posun životního stylu hrají významnou roli v patogenezi komplexních chorob, pandemicy se šířících v celé lidské populaci (obezita, hypertenze, dyslipidémie, diabetes 2. typu). Je tedy nasnadě, že úpravou stravovacích návyků lze řadě z těchto nemocí předejít, případně přispět k jejich úspěšnému vyléčení. I tady jistě nalezneme uplatnění nutrigenomiky při vyhledávání optimálních dietních programů pro subpopulace s určitým polymorfismem, u kterého byla popsána interakce se složkou diety.

Shrnutí

Za posledních padesát let prošla farmakogenetika vývojem od dílčích pozorování a nepřímých indicií k dnešním, vysoce paralelním analýzám genetických polymorfismů ovlivňujících účinky podávaných léčiv. Teprve v poslední době jsme svědky nástupu metod, které umožňují sledovat efekt farmaka nebo složky potravy na globální expresi genetické informace. Pravděpodobně tedy bude možné v blízké budoucnosti předem identifikovat pomocí takových „profilů“ skupiny pacientů, které budou z dané léčby nejvíce profitovat a u kterých naopak bude tato léčba nejméně efektivní, nebo dokonce provázená nežádoucími účinky. Nicméně je třeba mít stále na paměti, že i přes působivé výsledky systémové biologie, komparativní genomiky a bioinformatiky ve spojení s farmakologií nelze ani ve farmakogenomice a nutrigenomice redukovat všechny procesy živoucího organismu pouze na zápis a zpracování digitálního kódu DNA.

Výklad použitých pojmů

Farmakogenetika – vědní obor zabývající se vlivem jednotlivých genetických polymorfismů na reakci jedince na podané léčivo.

Farmakogenomika – vědní obor zabývající se vztahem mezi celkovou genetickou informací (genomem, transkriptomem) a individuální reakcí na podané léčivo.

Nutrigenetika – vědní obor zabývající se vlivem jednotlivých genetických polymorfismů na reakci jedince na látky přijímané v potravě.

Nutrigenomika – vědní obor zabývající se vztahem mezi celkovou genetickou informací (genomem, transkriptomem) a individuální reakcí na látky přijímané v potravě.

Genom – celková genetická informace organismu.

Transkriptom – veškeré transkribované sekvence v dané buňce či tkáni v daném čase za určitých podmínek.

Proteom – veškeré proteiny exprimované danou buňkou či tkání v daném čase za určitých podmínek.

Metabolom – kompletní sada metabolitů syntetizovaných biologickým systémem.

In silico – zpracované za pomoci počítače.

SNP – z anglického single nucleotide polymorphism, variace sekvence DNA v jediném nukleotidu.

Haplotyp – sestava variant úzce vázaných genetických lokusů (např. SNP), které jsou často děděny společně.

Knock-out – technika cílené mutace genu vedoucí k ztrátě jeho funkce.

Knock-down – technika cíleného snížení exprese genu pomocí specifických molekul dvoušroubovicové RNA (dsRNA) mechanismem tzv. RNA interference.

Genotypizace – stanovení genotypu jedince pro

Penetrance – pravděpodobnost, že se geneticky determinovaný znak projeví ve fenotypu jedince. Pokud je znak plně penetrantní, projeví se u všech jedinců, kteří mají patřičný genotyp.

Fenokopie – jinak než geneticky způsobený znak fenotypicky shodný nebo velmi podobný projevu geneticky determinovanému.

Polymorfismus – rozdíl v sekvenci DNA mezi dvěma jedinci. Variace s více než 1% zastoupením v populaci je považována za polymorfismus použitelný pro vazebné studie.

Transgeneze – proces umělého vnesení a inkorporace úseku DNA (genu) do genomu jedince.

Tato práce byla podpořena následujícími granty: GAAV ČR KJB5105401, GAČR 301/04/0248, IGA MZ NB/6961-3.

Literatura

- Hood L, Heath JR, Phelps ME, Lin B. Systems biology and new technologies enable predictive and preventative medicine. *Science* 2004; 306: 640–643.
- Carson PE, Flanagan CL, Ickes CE, Alving AS. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science* 1956; 124: 484–485.
- Lehmann H, Ryan E. The familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet* 1956; 271: 124.
- Bönicke R, Reif W. Enzymatische Inaktivierung von Isonicotinsäure hydrazide im menschlichen und tierischen Organismus. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1953; 220: 321–333.
- Blum M, Demierre A, Grant DM, Heim M, Meyer UA. Molecular mechanism of slow acetylation in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5237–5241.
- Vogel F. Moderne Probleme der Humangenetik. *Ergebn. Inn. Med. Kinderheilkd.* 1959; 12: 52–125.
- Marshall A. Genset-Abbott deal heralds pharmacogenomics era. *Nat Biotechnol* 1997; 15: 829–830.
- Deloukas P, Bentley D. The HapMap project and its application to genetic studies of drug response. *Pharmacogenom J* 2004; 4: 88–90.
- Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 193–200.
- Weinshilboum RM, Sladek SL. Mercaptopurine pharmacogenetics: monogenic inheritance of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity. *Am J Hum Genet* 1980; 32: 651–652.
- Marx V. Pharmacogenomics shapes pediatrics' future. *Genomics and Proteomics* 2004; 4: 12–18.
- Nebert WN, Vesell ES. Advances in pharmacogenomics and individualized drug therapy: exciting challenges that lie ahead. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 267–280.
- Chang JT, Altman RB. Extracting and characterizing gene-drug relationships from the literature. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 577–586.
- Hatina J, Sykes B. Lékařská genetika. Academia Praha 1999: 226–268.
- Thornton-Wells TA, Moore JH, Haines JL. Genetics, statistics and human disease: analytical retooling for complexity. *Trends Genet* 2004; 20: 640–647.
- Rat Genome Sequencing Project Consortium. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature* 2004; 428: 493–521.
- Křen V. Genetics of the polydactyly-luxate syndrome in the Norway rat, *Rattus norvegicus*. *Acta Univ Carol Med Praha (Monogr.)* 1975; 68: 1–103.
- Bílá V, Křen V. Use of the polydactyly-luxation syndrome in rats for studying the interaction of the genome with teratogenic factors. *Sb 1988; Lek 90 (2–3)*, 90–96.
- Bílá V, Křen V. Evidence for teratogenicity of thalidomide using congenic and recombinant inbred rat strains. *Folia Biol (Praha)* 1994; 40 (4): 161–171.
- Bílá V, Křen V. The teratogenic action of retinoic acid in rat congenic and recombinant inbred strains. *Folia Biol (Praha)* 1996; 42, 167–173.
- Bílá V, Křen V, Liška F. The influence of retinoic acid teratogenicity on the interaction of retinoic acid with Lx mutation of the rat. *Folia Biol (Praha)* 2000; 46: 260–268.
- Vrána A, Kazdová L, Dobešová Z, et al. Triglyceridemia, glucoregulation, and blood pressure in various rat strains. Effects of dietary carbohydrates. *Ann NY Acad Sci* 1993; 683: 57–68.
- Šedová L, Kazdová L, Šeda O, Křenová D, Křen V. Rat inbred PD/Cub strain as a model of dyslipidemia and insulin resistance. *Folia Biol (Praha)* 2000; 46: 99–106.
- Šedová L, Šeda O, Křenová D, Křen V, Kazdová L. Isotretinoin and fenofibrate induce adiposity with distinct effect on metabolic profile in a rat model of the insulin resistance syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 719–725.
- Šeda O, Kazdová L, Křenová D, Křen V. Rosiglitazone improves insulin resistance, lipid profile and promotes adiposity in genetic model of metabolic syndrome X. *Folia Biol (Praha)* 2002; 48: 237–241.
- Šeda O, Šedová L. PPARs: molecular targets in the pharmacogenomics era. *Prague Medical Report* 2004; 205: 223–236.
- Qi N, Kazdová L, Zidek V, et al. Pharmacogenetic evidence that cd36 is a key determinant of the metabolic effects of pioglitazone. *J Biol Chem* 2002; 277: 48501–48507.
- Šeda O, Kazdová L, Křenová D, Křen V. Rosiglitazone fails to improve hypertriglyceridemia and glucose tolerance in CD36-deficient BN.SHR4 congenic rat strain. *Physiol Genomics* 2003; 12: 73–78.
- Roses AD. Pharmacogenetics and drug development: the path to safer and more effective drugs. *Nat Rev Genet* 2004; 5: 645–656.
- Danoff TM, Campbell DA, McCarthy, et al. Pharmacogenomics. *J* 2004; 4: 49–53.
- Šedová L, Šeda O. Nutriční genomika. *Čas Lék Česk* 2004; 143: 676–678.
- Kaput J, Rodriguez RL. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. *Physiol Genomics* 2004; 16: 166–177.
- Müller M, Kersten S. Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet* 2004; 4: 315–322.