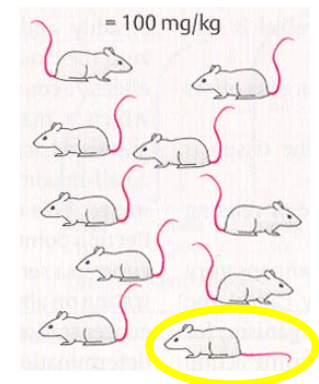
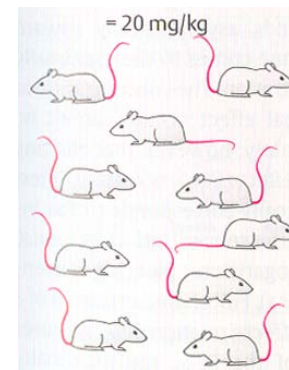
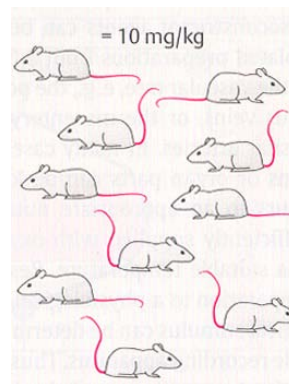
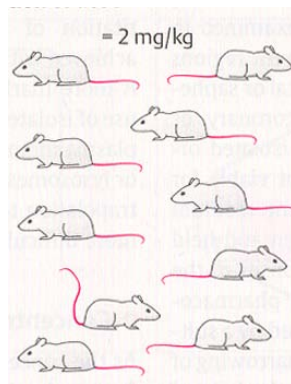
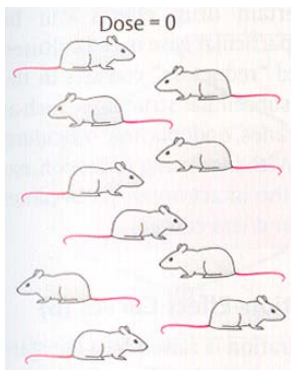


Φαρμακογενωμική Pharmacogenomics

“Εάν δεν υπήρχε τόσο μεγάλη ποικιλομορφία ανάμεσα στα άτομα η εξάσκηση της ιατρικής θα μπορούσε να είναι μια επιστήμη και όχι μια τέχνη”
(Sir William Osler, 1892)

Μελέτη της γενετικής ποικιλότητας που σχετίζεται με την διαφορετική απόκριση στα φάρμακα



Ανθρώπινο γονιδίωμα (human genome)

- ❖ περιέχει 3164,7 εκατ. νουκλεοτιδικές βάσεις (A, C, G, T)
- ❖ ένα μέσο γονίδιο αποτελείται από 3.000 βάσεις, αλλά το μέγεθος των γονιδίων ποικίλλει πολύ (μεγαλύτερο γνωστό ανθρώπινο γονίδιο η δυστροφίνη: 2,4 εκατομμύρια βάσεις)
- ❖ ολικός αριθμός των γονιδίων εκτιμάται μεταξύ 25.000-40.000
- ❖ άγνωστη παραμένει η λειτουργία περίπου του 50% των ήδη γνωστών γονιδίων
- ❖ λιγότερο από το 2% του γονιδιώματος κωδικοποιεί για πρωτεΐνες

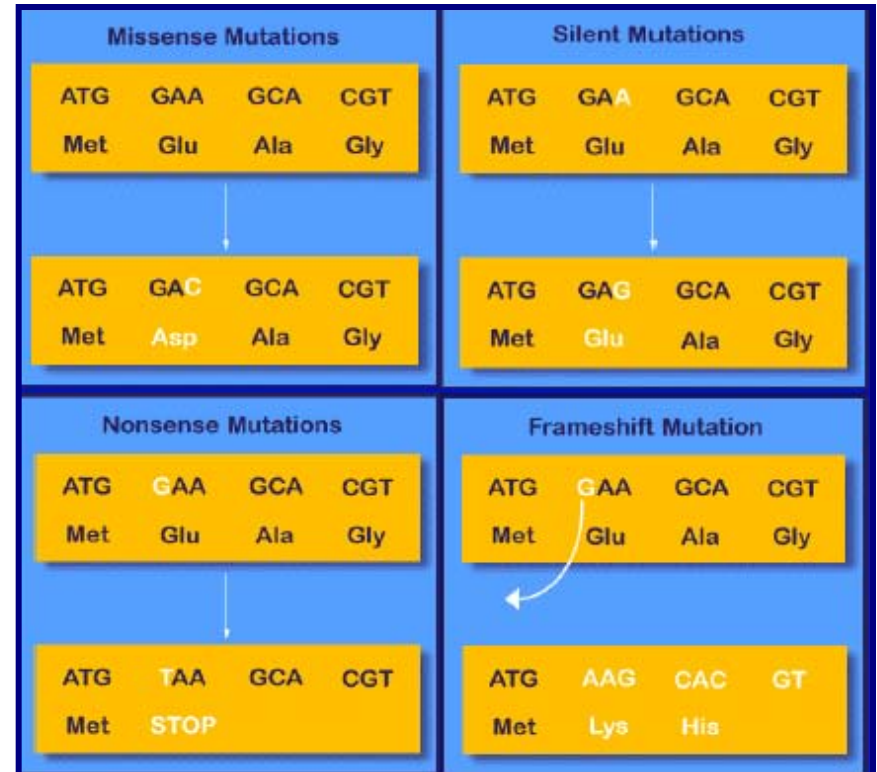
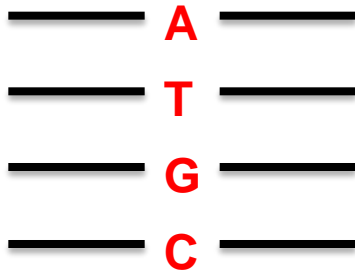
Ανθρώπινο γονιδίωμα (human genome)

- ❖ τα γονίδια φαίνεται να συγκεντρώνονται σε τυχαίες περιοχές του γονιδιώματος
- ❖ το χρωμόσωμα 1 έχει τα περισσότερα γονίδια (2968) και το Y χρωμόσωμα έχει τα λιγότερα γονίδια (231)
- ❖ επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που δεν κωδικοποιούν για πρωτείνες (junk DNA) αποτελούν τουλάχιστον το 50% του ανθρώπινου γονιδιώματος
- ❖ περιοχές μέχρι και 30.000 επαναλαμβανόμενων βάσεων C και G (CpG νησίδες) εμφανίζονται συχνά κοντά σε περιοχές πλούσιες σε γονίδια και πιστεύεται ότι βοηθούν στην ρύθμιση της ενεργότητας των γονιδίων αυτών

Μεταλλαγές και πολυμορφισμοί στο γονιδίωμα

~ 1 / 1330 βάσεις μπορεί να διαφέρει μεταξύ 2 ατόμων
πολυμορφισμός (απαντάται με συχνότητα >1% στον πληθυσμό)

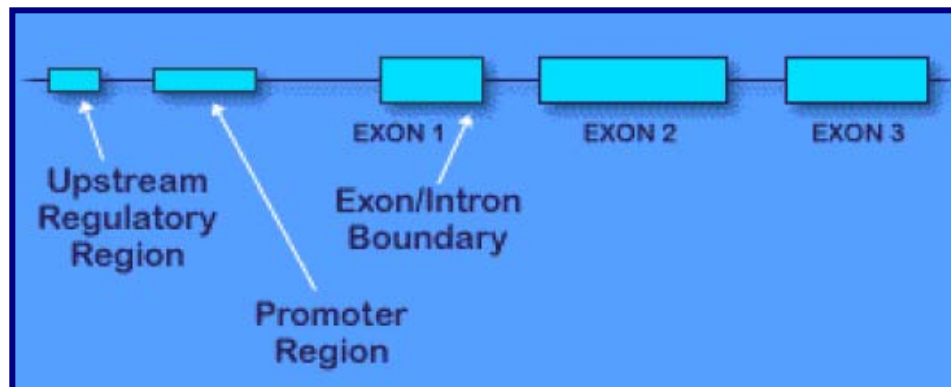
Single Nucleotide Polymorphism, SNP
πολυμορφισμός μονού νουκλεοτιδίου



- ❖ > 10 εκατομμύρια SNP στο σύνολο του ανθρωπίνου πληθυσμού
- ❖ υπεύθυνοι για την διαφορετική απόκριση σε φάρμακα

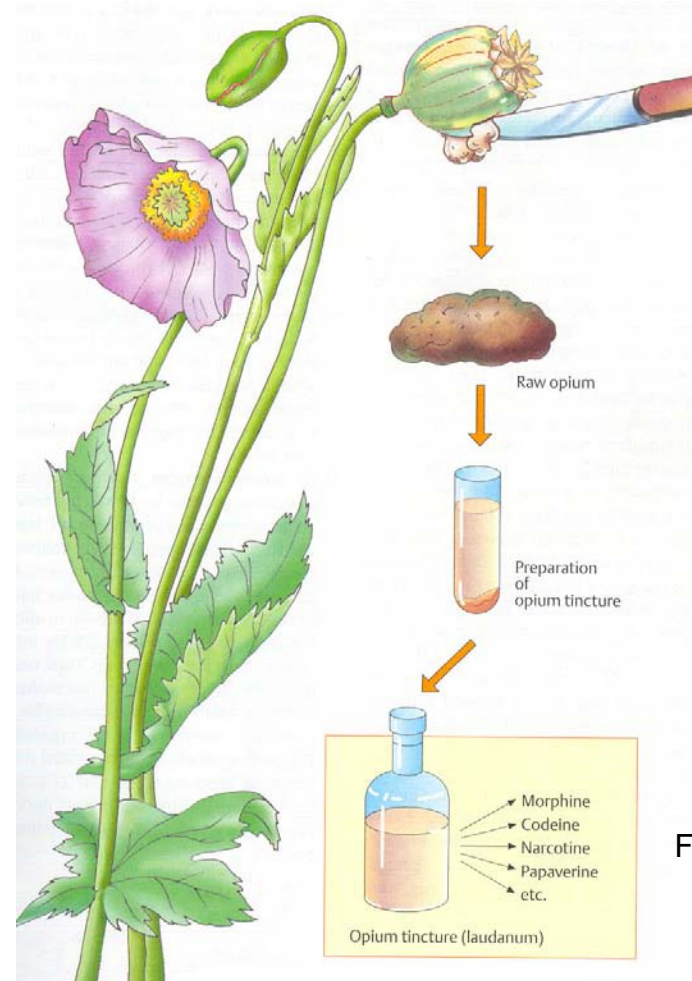
Πολυμορφισμοί κλινικής σημασίας

- ❖ Τροποποιούν την αμινοξική αλληλουχία της παραγώμενης πρωτεΐνης (λειτουργία)
- ❖ Παρατηρούνται κατά προτίμηση μέσα στο εξώνιο ή την περιοχή του υποκινητή, του ενισχυτή, ή όρια εξωνίων /ιντρονίων ή άλλες αλληλουχίες που ελέγχουν την έκφραση του γονιδίου ή την σταθερότητα του mRNA
- ❖ Σχετική επικράτεια στον υπό μελέτη πληθυσμό



Φάρμακο = κάθε βιολογικά δραστική ουσία

- ουσία που χρησιμοποιείται για θεραπεία ασθενειών
- ουσίες καθημερινής χρήσης (καφεΐνη, νικοτίνη, αλκοόλη)
- εξαρτησιογόνες ουσίες (κάνναβις, ηρωΐνη, κοκαΐνη)
- προσθετικά τροφίμων
- καλλυντικά



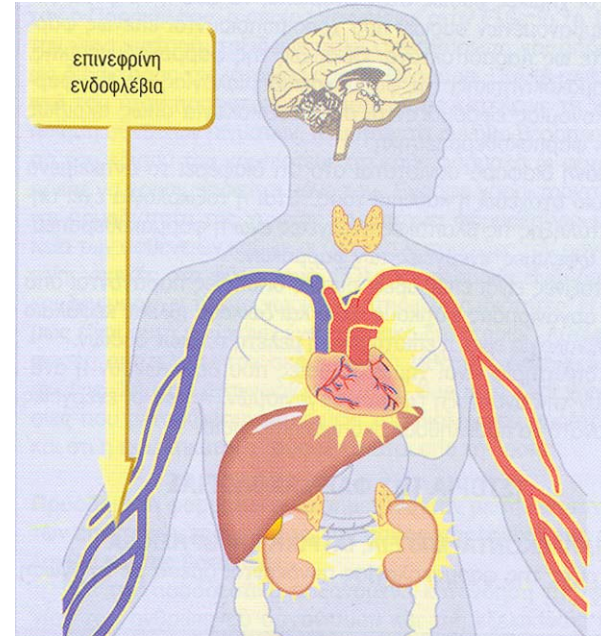
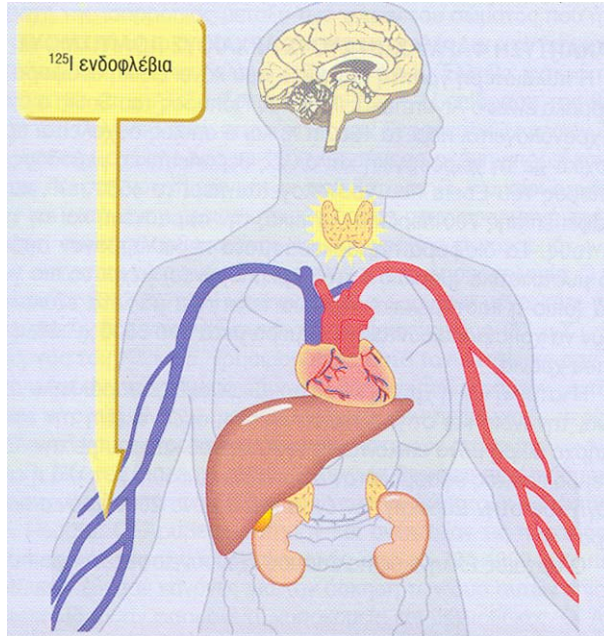
F. Sertuner
1805

τουλάχιστον το 50% των φαρμάκων προέρχονται από φυτά (οργανικά ή ανόργανα εκχυλίσματα, ξηραμένα ή φρέσκα, κομμάτια φυτών ή ολόκληρα φυτά)

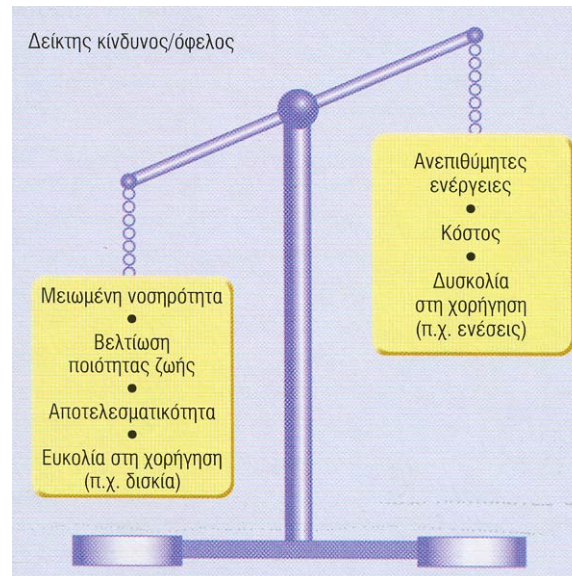
- Φαρμακοδυναμική
τι κάνει το φάρμακο στον οργανισμό

- Φαρμακοκινητική
τι κάνει ο οργανισμός στο φάρμακο

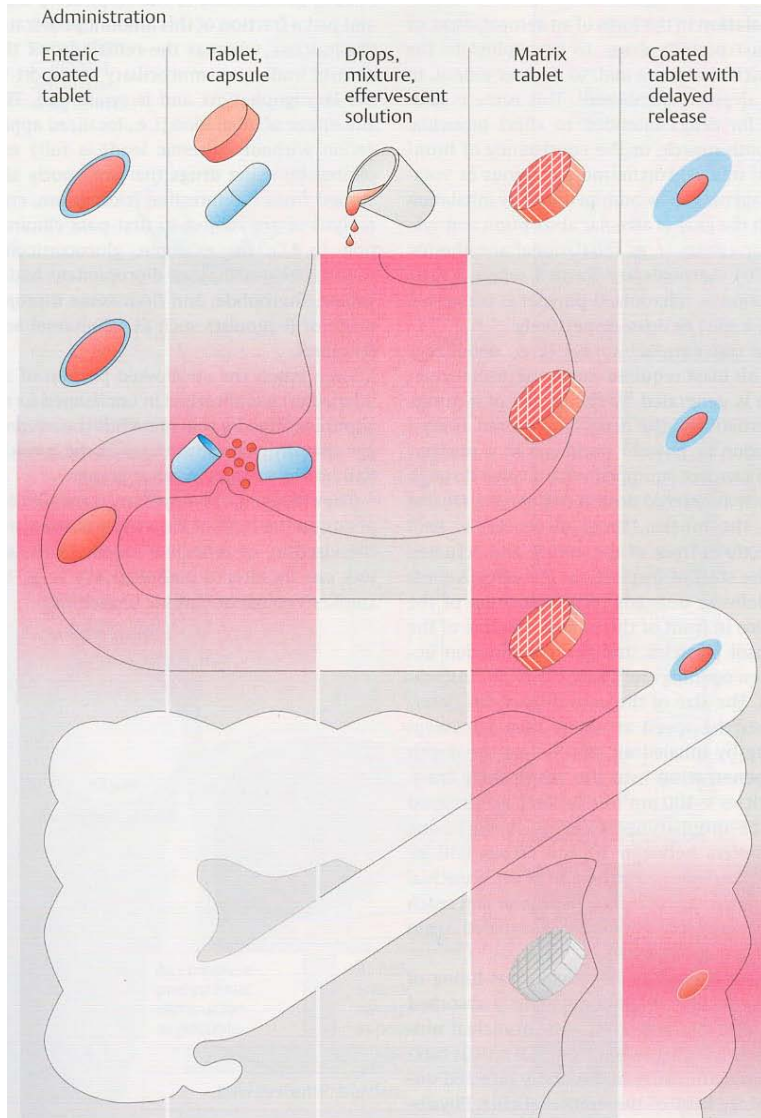
Εκλεκτικότητα φαρμάκων



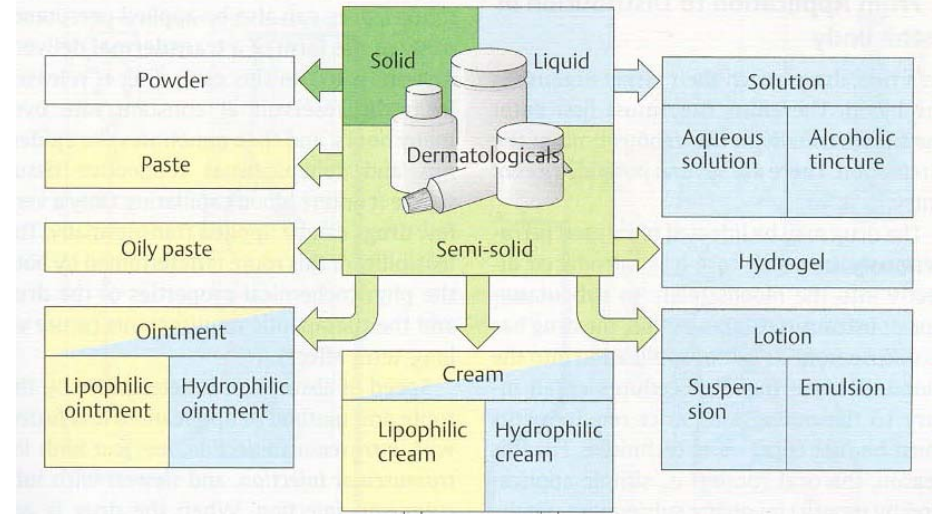
Δείκτης κίνδυνος/όφελος
φαρμάκου



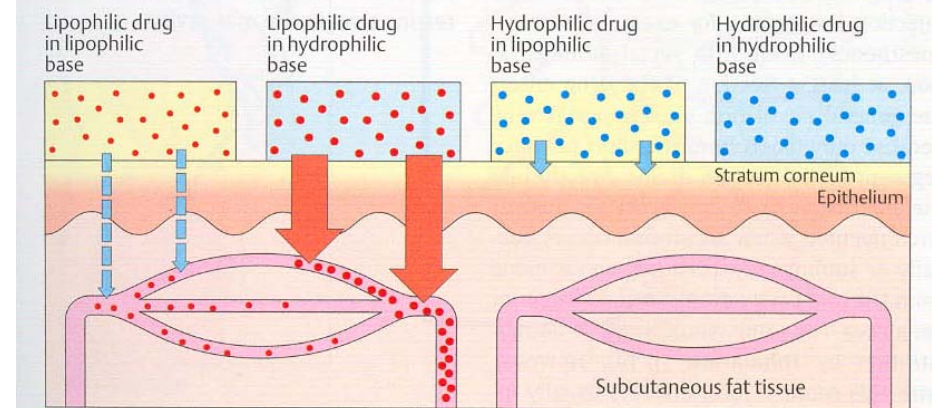
Φαρμακοτεχνικές μορφές



A. Dermatologicals as skin protectants

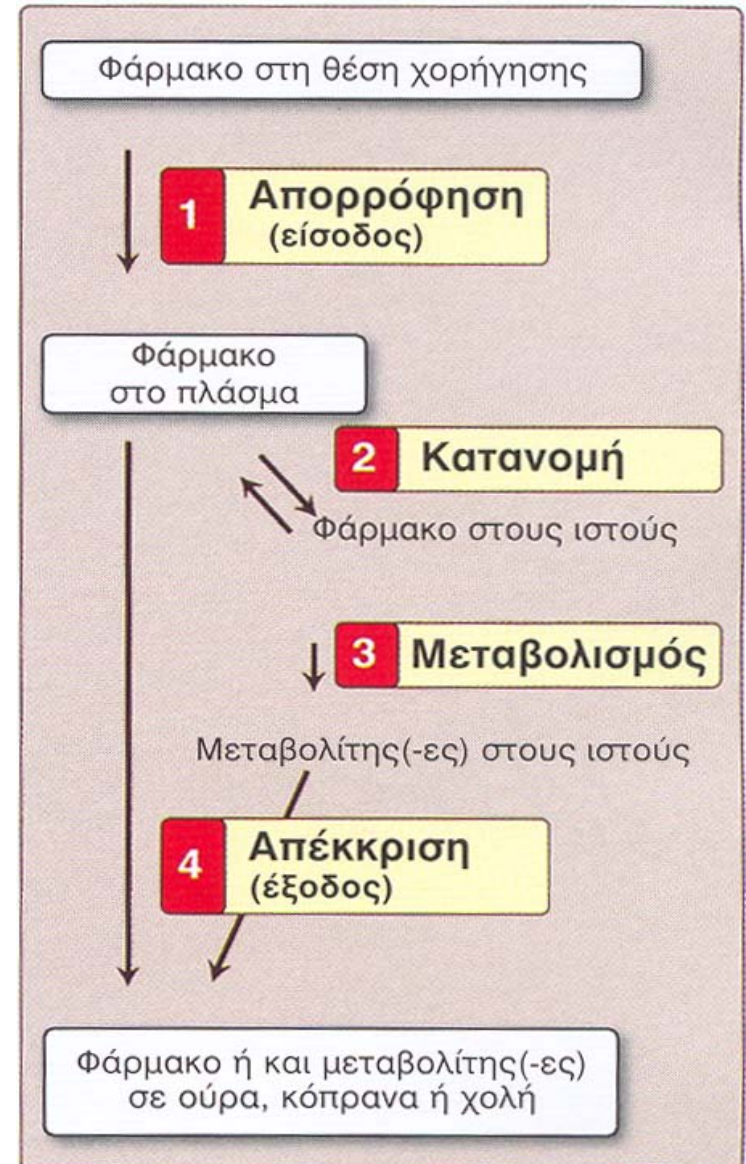


B. Dermatologicals as drug vehicles

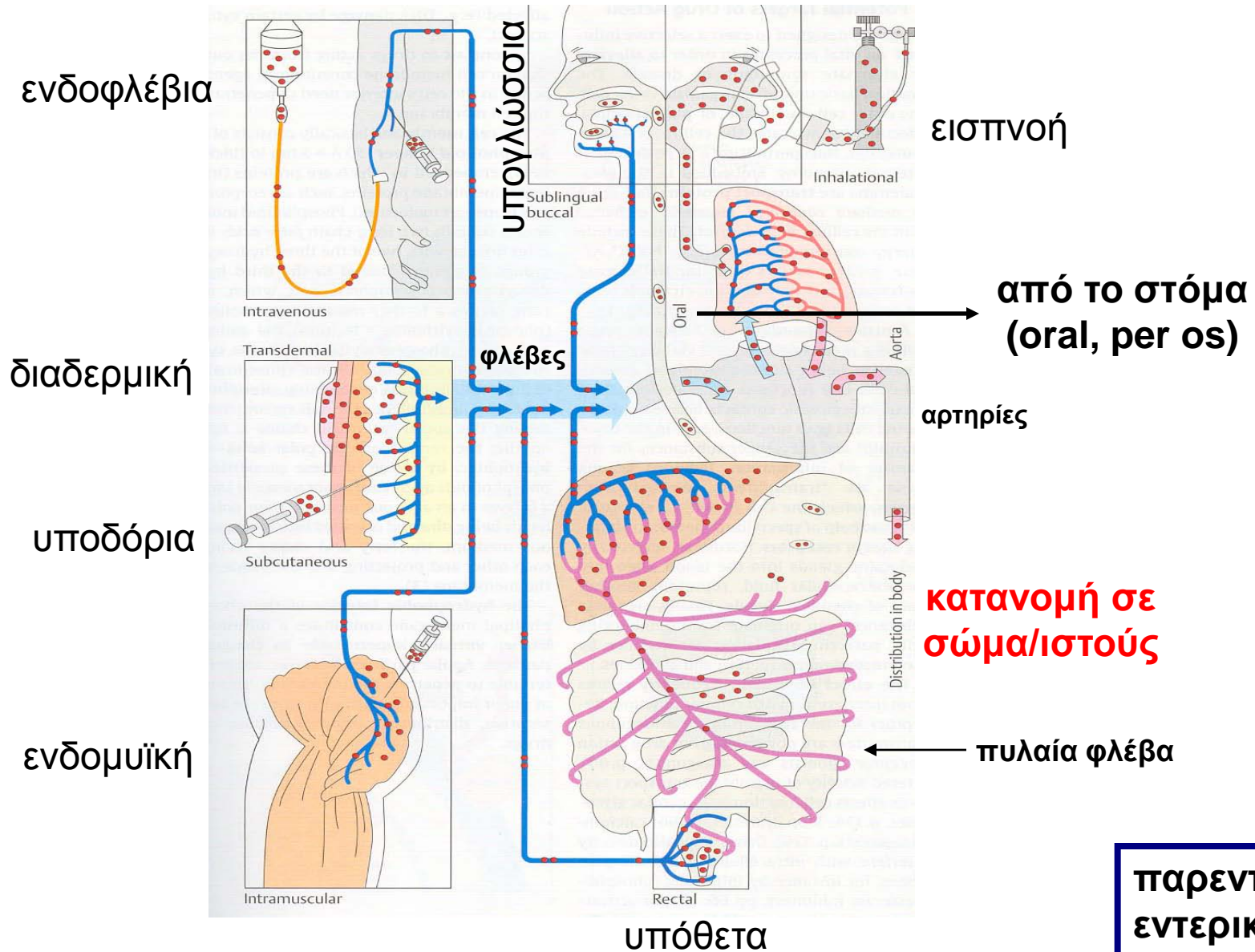


Φαρμακοκινητική

- ταχύτητα έναρξης δράσης
- διάρκεια της δράσης
- ένταση του θεραπευτικού αποτελέσματος



Οδοί χορήγησης φαρμάκων



Κατανομή των φαρμάκων

Το φάρμακο εγκαταλείπει την κυκλοφορία του αίματος και εισέρχεται στο διάμεσο χώρο (εξωκυττάριο υγρό) και στα κύτταρα των ιστών, όπου θα ασκήσει τη δράση του

Εξαρτάται από:

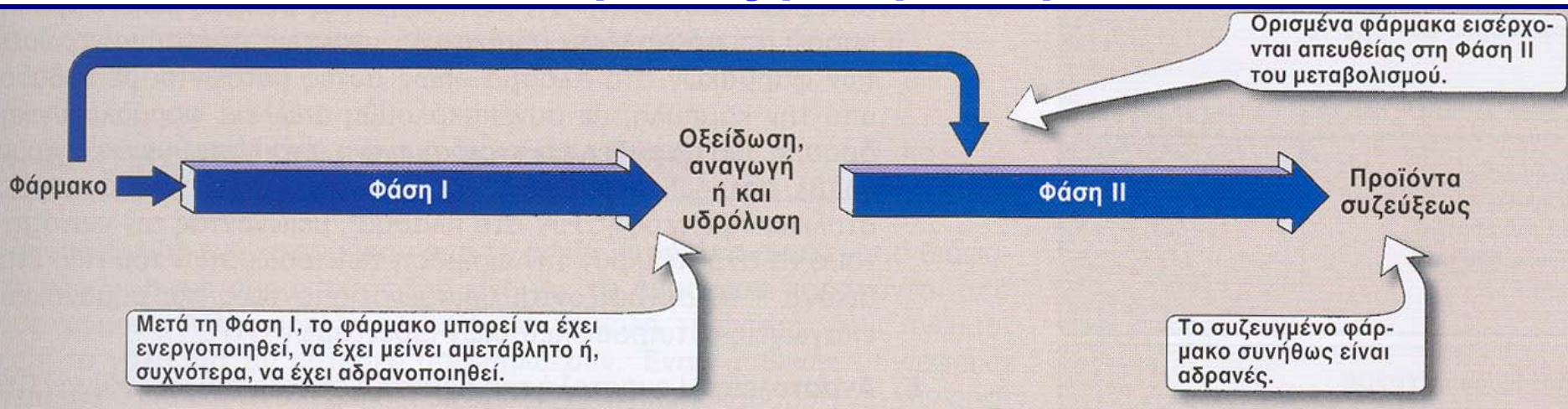
- Αιματική ροή
- Διαπερατότητα των τριχοειδών
- Σύνδεση του φαρμάκου με πρωτεΐνες του πλάσματος
- Χαρακτηριστικά του φαρμάκου

Μεταβολισμός των φαρμάκων

- ❖ ήπαρ και έντερο
- ❖ μικρός αριθμός μεταβολικών μονοπατιών
- ❖ ενζυμική κινητική (Michaelis-Menten)

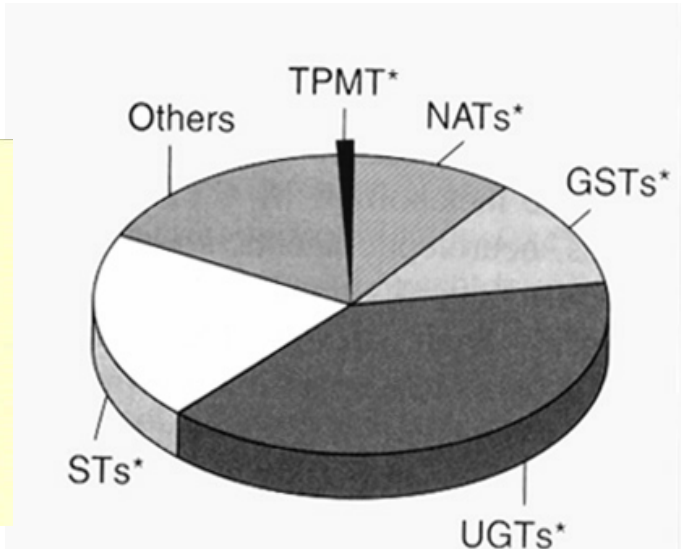
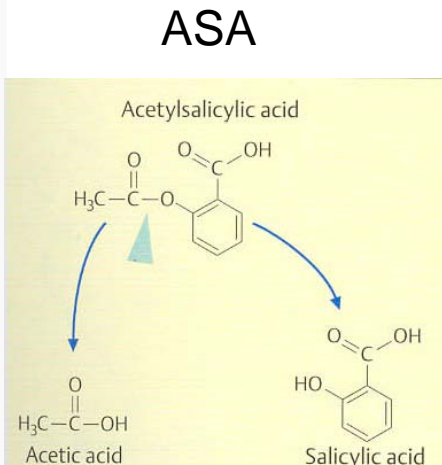
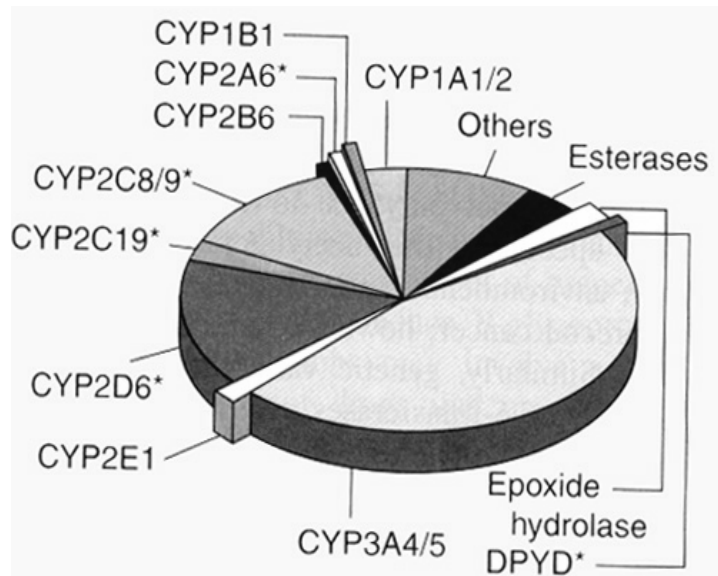
Πολλά φάρμακα είναι λιπόφιλα και έχουν χαμηλή διαλυτότητα σε νερό. Τα μεταβολικά ένζυμα αυξάνουν την διαλυτότητα των φαρμάκων σε νερό και οι υδατοδιαλυτοί μεταβολίτες τους μπορούν να απεκκριθούν ευκολότερα

Αντιδράσεις μεταβολισμού



Φάσεις του μεταβολισμού των φαρμάκων

Enzyme reaction	Metabolic reaction	Examples of enzymes
Phase I reactions		
Oxidation	Introduces hydroxyl, epoxide and ketone groups Shortens alkyl side chains Converts alcohols to aldehydes and acids	Alcohol and aldehyde dehydrogenases Amine oxidases Cytochromes P450
Reduction	Introduces hydrogen into ketones and nitro groups	Nitro- and azo-reductases
Hydrolysis	Breaks down esters to alcohols and acids	Esterases
Phase II reactions		
Acetylation	Adds acetate to polar sites	Acetyltransferases
Amino acid conjugation	Adds amino acids to polar sites	Glutathione transferases
Glucuronidation	Adds sugars to polar sites	Glucuronyl transferases
Methylation	Adds methyl groups to polar sites	Methyltransferases
Sulphation	Adds inorganic sulphate to polar sites	Sulphotransferases

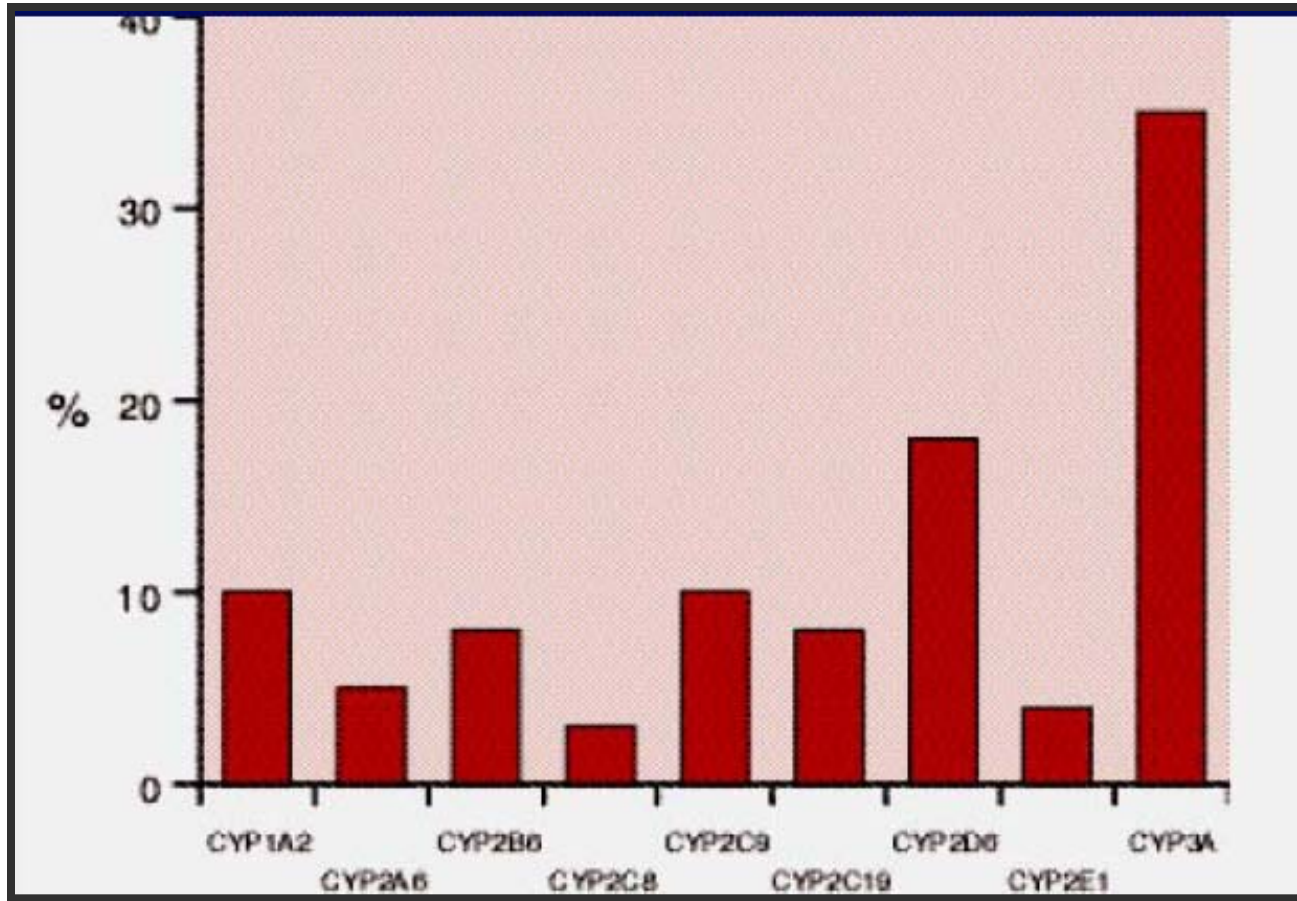


Ένζυμα P450

- 57 διαφορετικά ενεργά γονίδια
- 17 διαφορετικές οικογένειες
- CYP1, CYP2, CYP3: συμμετέχουν κυρίως σε μεταβολισμό φαρμάκων
- Καταλύουν αντιδράσεις
 - Αλειφατική οξείδωση
 - Αρωματική υδροξυλίωση
 - N-οξείδωση και N-υδροξυλίωση
 - N-/O-/S-απαλκυλίωση

CYP	: ανθρώπινη προέλευση
CYP1	: οικογένεια 1
CYP1A	: οικογένεια 1, υπο-οικογένεια A
CYP1A2	: οικογένεια 1, υπο-οικογένεια A, προϊόν 2

Ενζυμα P450 και αντιδράσεις μεταβολισμού φαρμάκων

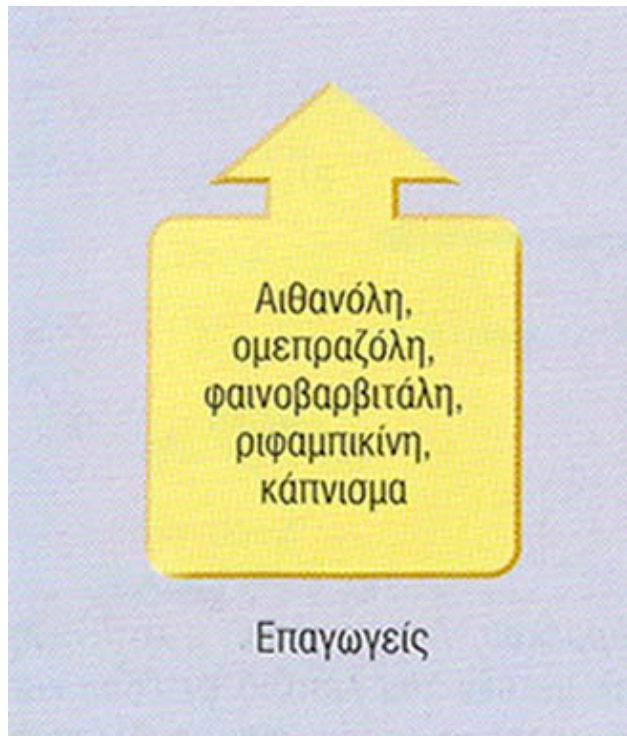


CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, **CYP2D6**, CYP2E1, **CYP3A4**: υπεύθυνα για τον μεταβολισμό των πιο συχνά χορηγούμενων φαρμάκων σε κλινική

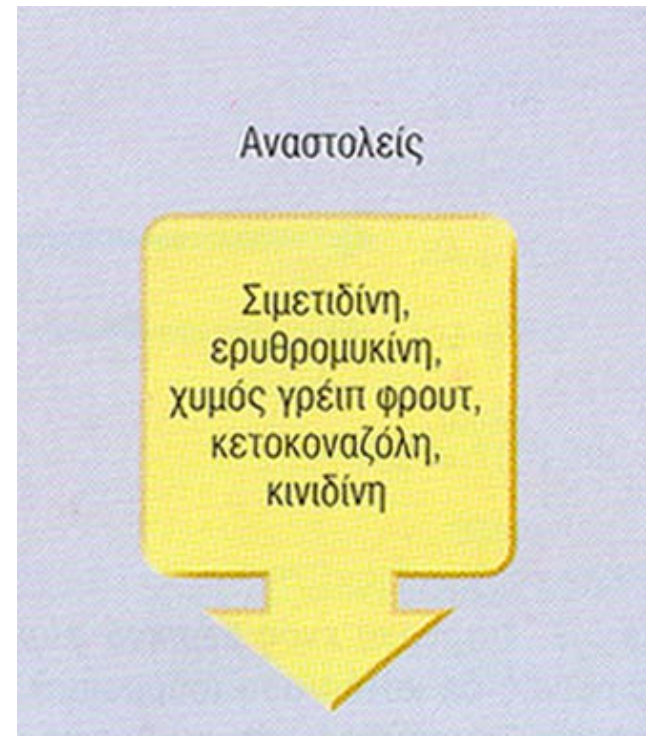
Κύριες οικογένειες P450 και ισομορφές τους

CYP family/subfamily	Isoform*	Organ localisation	Polymorphic substrates
1A	1A1	Primarily extrahepatic	Yes†
	1A2	Primarily hepatic	Yes†
	1B1	Primarily extrahepatic	Yes†
2A	2A6	Hepatic and extrahepatic	Coumarin, nicotine
	2A7	Hepatic and extrahepatic	
	2A13	Primarily extrahepatic	
2B	2B6	Primarily hepatic	Yes†
2C	2C8	Primarily hepatic	
	2C9	Primarily hepatic	Tolbutamide, warfarin
	2C18	Primarily hepatic	
	2C19	Primarily hepatic	Diazepam, propranolol
2D	2D6	Primarily hepatic	Codeine, nortriptyline, ecstasy
2E	2E1	Primarily hepatic	Yes†
2F	2F1	Primarily extrahepatic	
2G	2G1	Olfactory mucosa	
2J	2J2	Primarily extrahepatic	
3A	3A4	Primarily hepatic	Yes†
	3A5	Primarily hepatic	Yes†
	3A7	Foetal liver	
	3A43	Primarily hepatic	
4A	4A11	Primarily hepatic	
4B	4B1	Primarily extrahepatic	

Η δραστηριότητα των μεταβολικών ενζύμων του κυτοχρώματος P450 μπορεί να επάγεται ή να αναστέλλεται

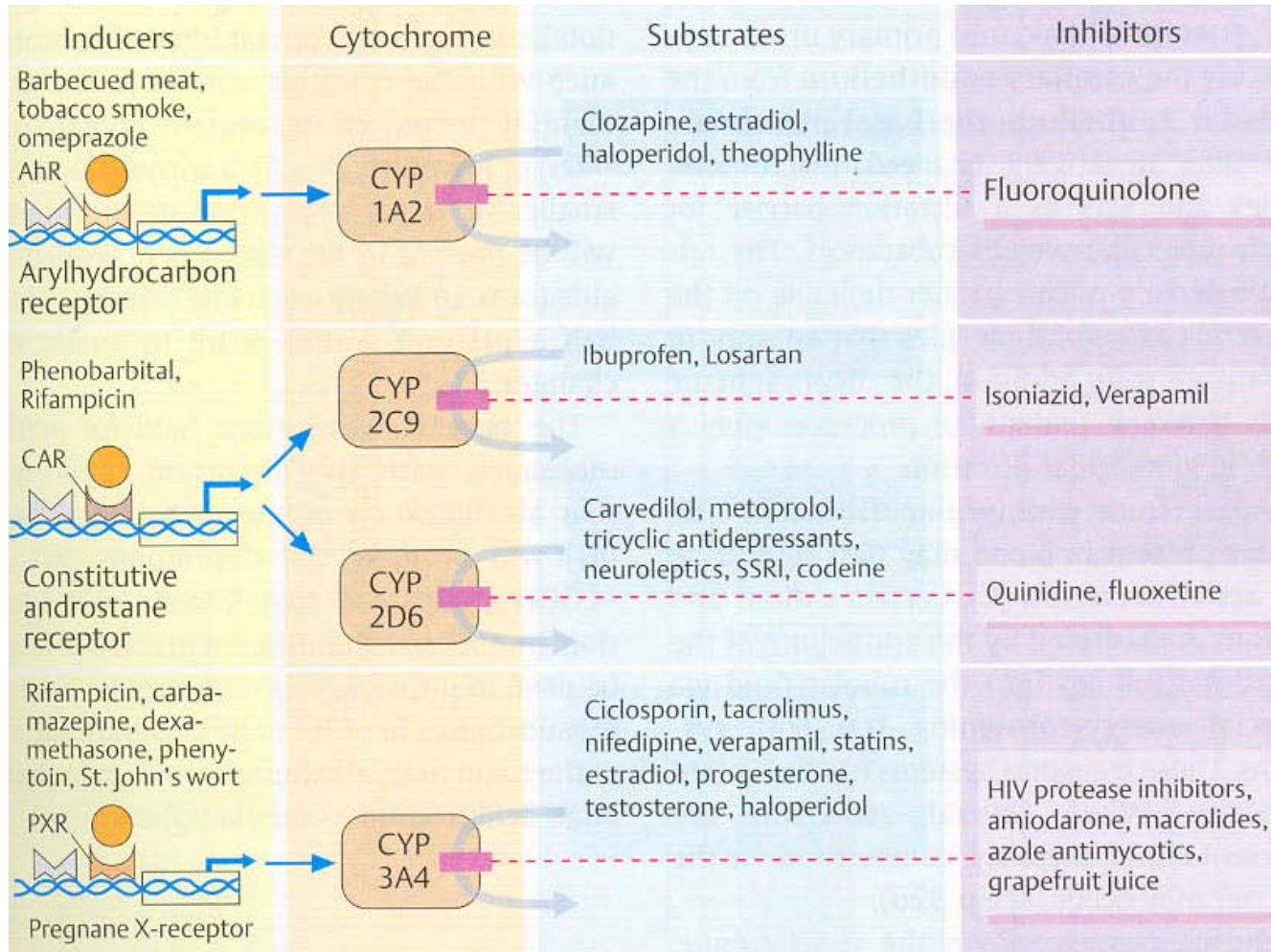


αυξημένη ταχύτητα
μεταβολισμού φαρμάκων



ενίσχυση της δράσης φαρμάκων
που μεταβολίζονται από
συγκεκριμένες ισομορφές του P450

Επαγωγή και αναστολή μεταβολικών ενζύμων



CYP3A: κύρια ισομορφή στο συκώτι

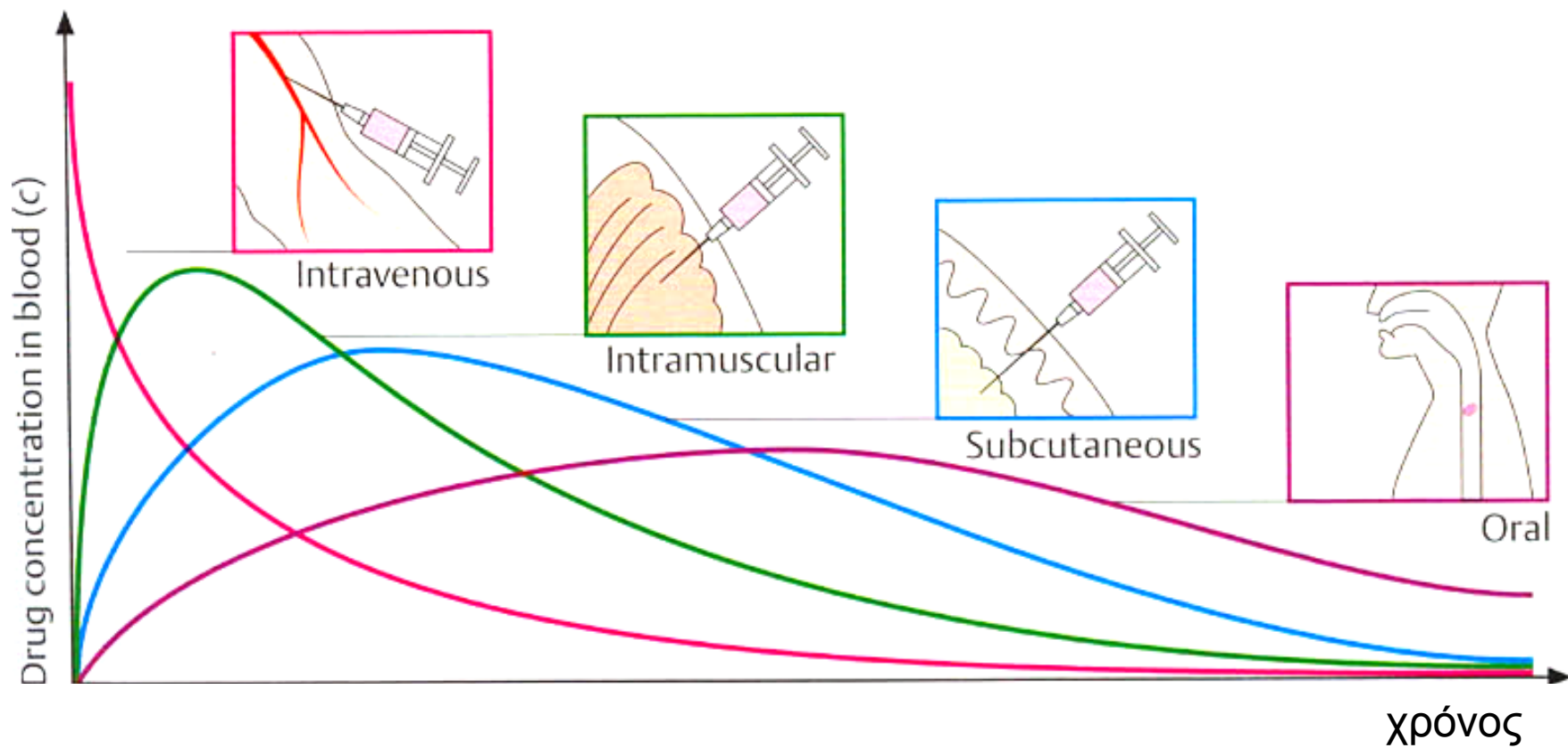
CYP2E1: επάγεται από την χρόνια κατανάλωση αλκοόλ

CYP2D6: ανεπαρκή έκφραση στο 10% της Καυκάσιας φυλής

Παράγοντες που επηρεάζουν το μεταβολισμό των φαρμάκων

- **Γενετικοί παράγοντες (φαρμακογενωμική)**
- Διατροφικοί παράγοντες (π.χ. αλκοόλ, κάπνισμα)
- Η σύγχρονη πρόσληψη δύο ή περισσότερων φαρμάκων επηρεάζει το ρυθμό μεταβολισμού ενός ή περισσότερων από αυτά, με κλινικές συνέπειες
- Ηλικία
- Νόσοι (π.χ. ηπατική, νεφρική)

Φαρμακοκινητική: περιγράφει την μεταβολή της συγκέντρωσης φαρμάκου στο πλάσμα συναρτήσει του χρόνου



Μηχανισμός δράσης ενός φαρμάκου

- Σε μοριακό επίπεδο

υποδοχείς, ένζυμα, κανάλια, μόρια-φορείς, νουκλεϊνικά οξέα

- Σε κυτταρικό επίπεδο

μεταγωγή

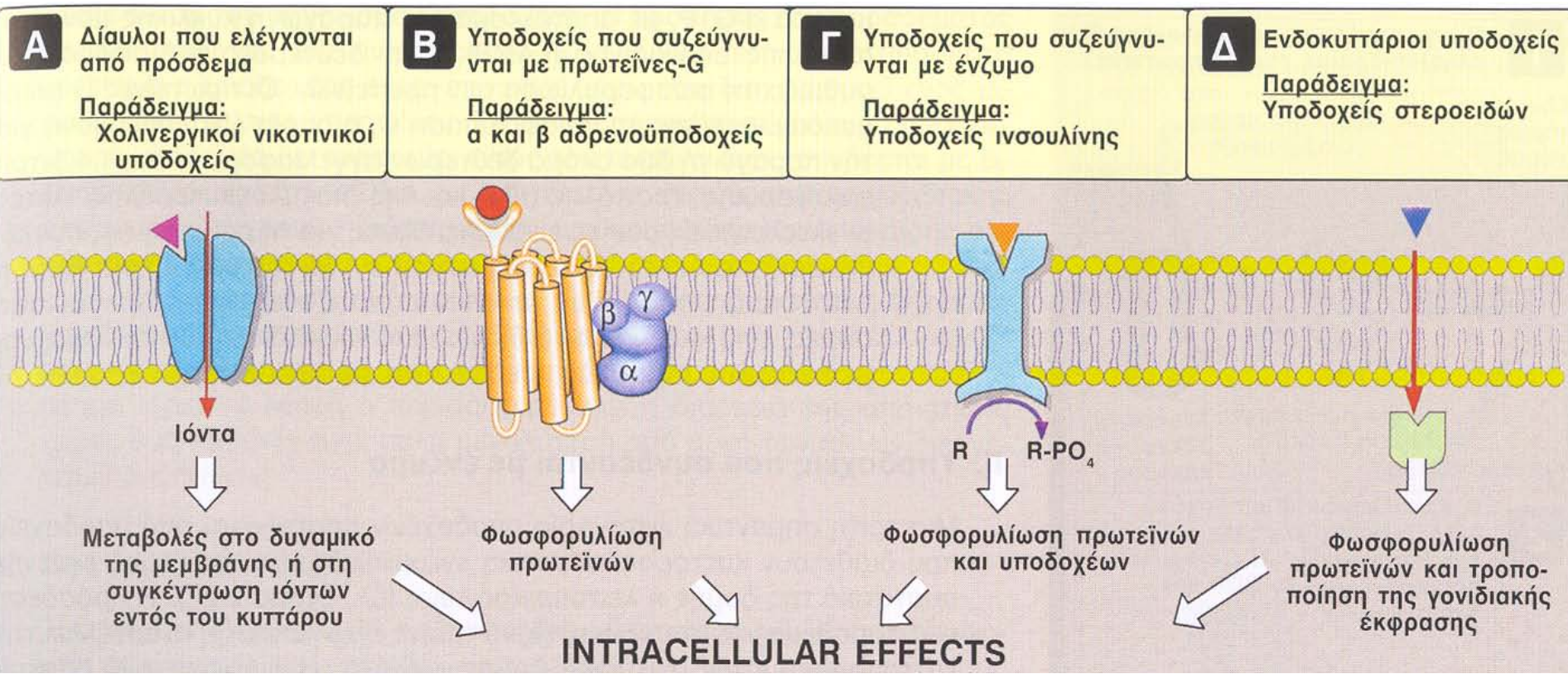
- Σε επίπεδο ιστών

συστολή, έκκριση, μεταβολική δραστηριότητα

- Σε επίπεδο συστημάτων

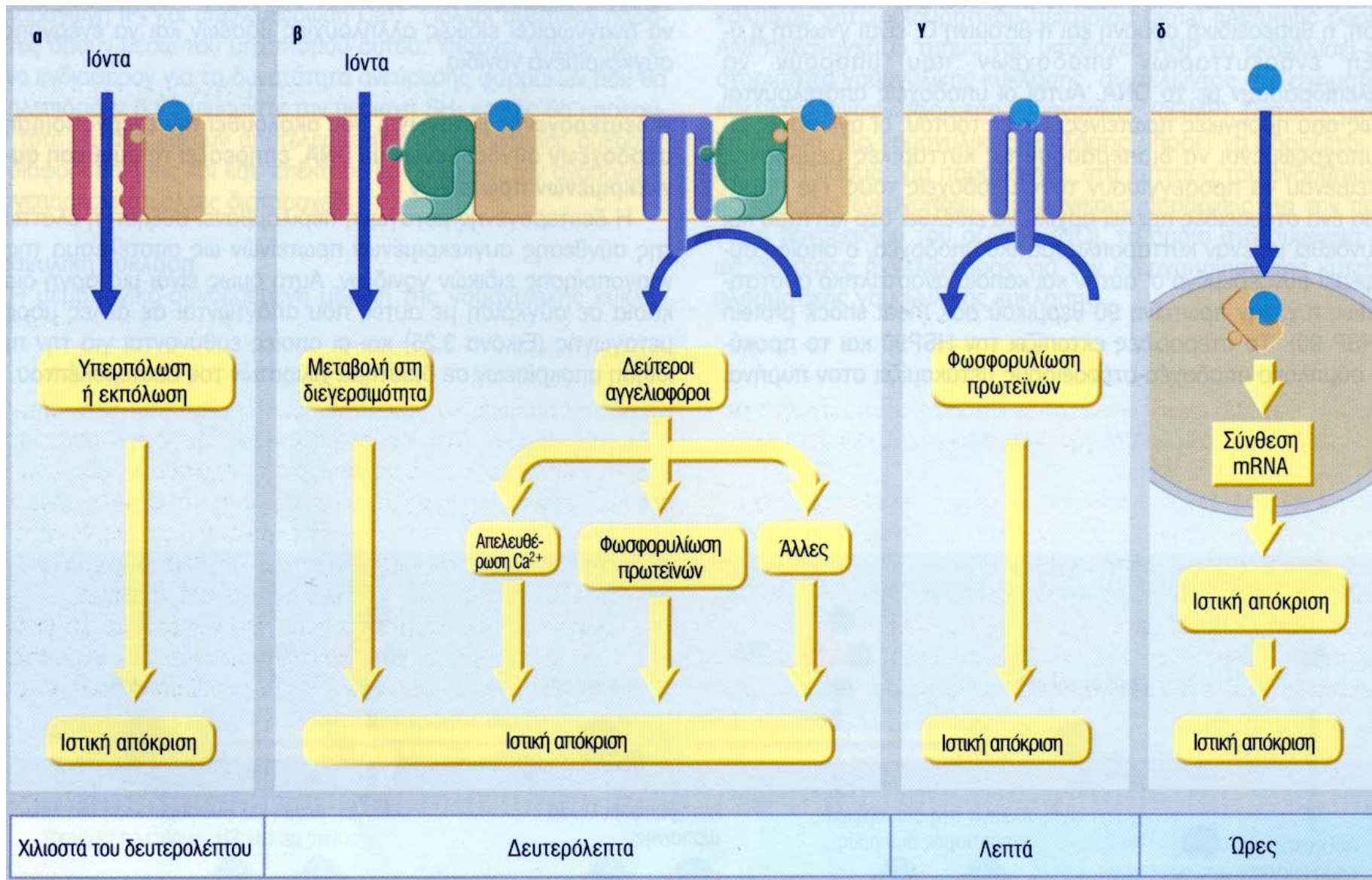
επίδραση στη λειτουργία συστημάτων

Υποδοχείς ως στόχοι φαρμάκων-μηχανισμοί μεταβίβασης σήματος



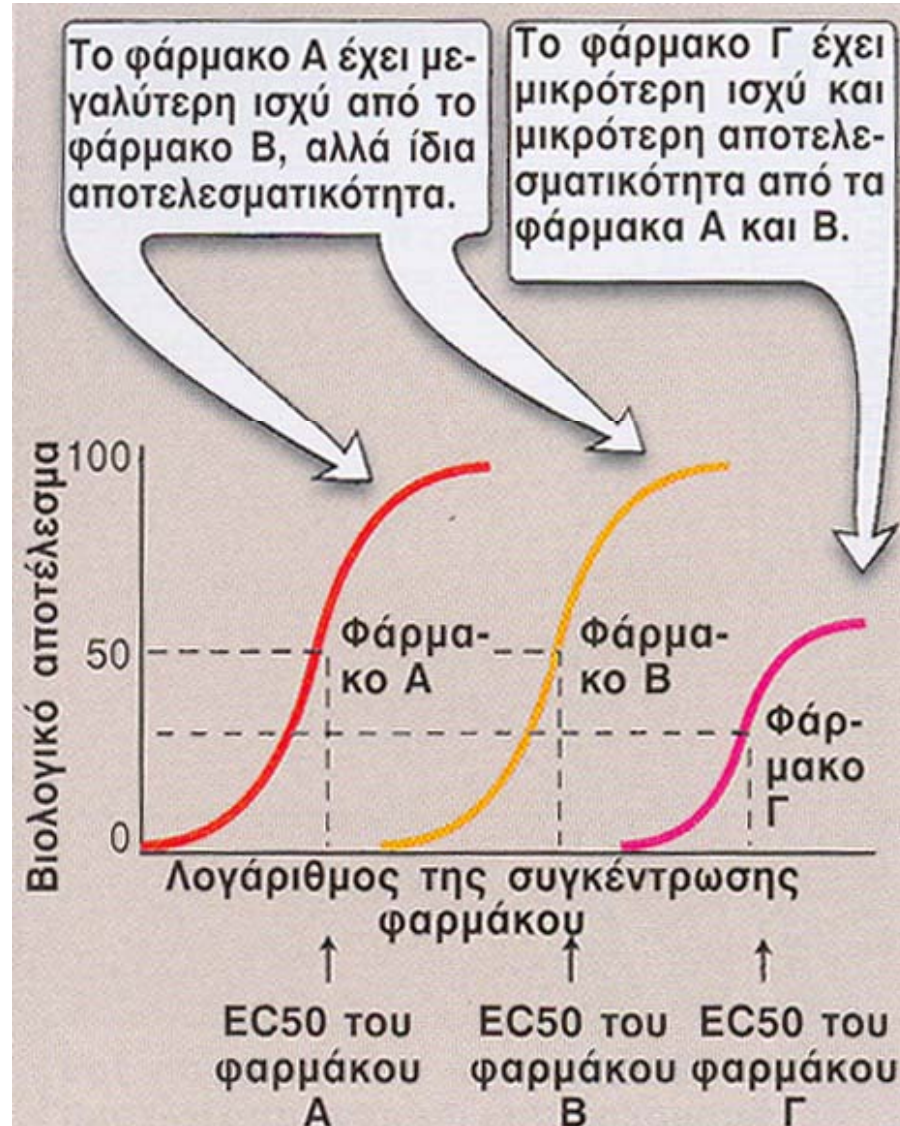
- A. Ligand gated ion channel receptors
- B. G-protein coupled receptors (GPCR)
- Γ. Enzyme-linked receptors
- Δ. Intracellular receptors

Ολοκλήρωση μοριακών μηχανισμών σύνδεσης σε υποδοχείς

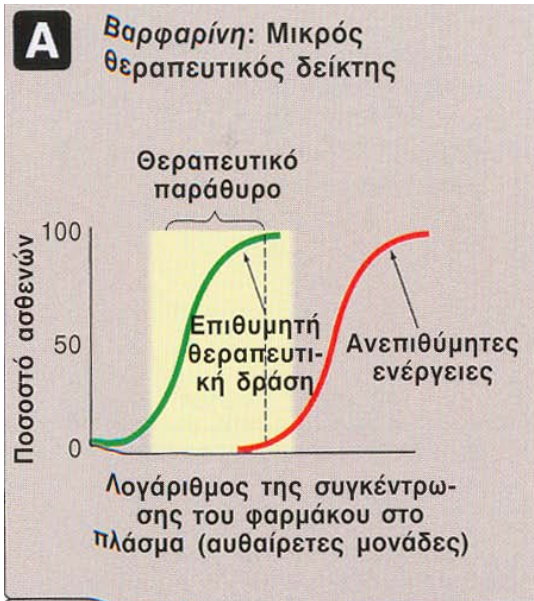


Καμπύλες δόσης-απόκρισης

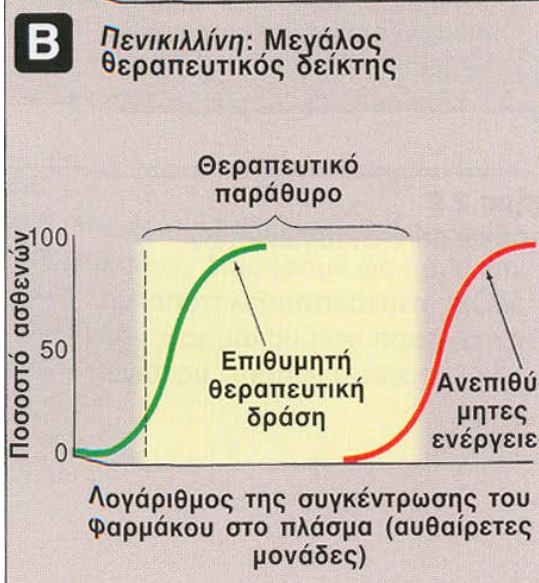
Ισχύς και αποτελεσματικότητα φαρμάκων



Θεραπευτικός δείκτης φαρμάκου

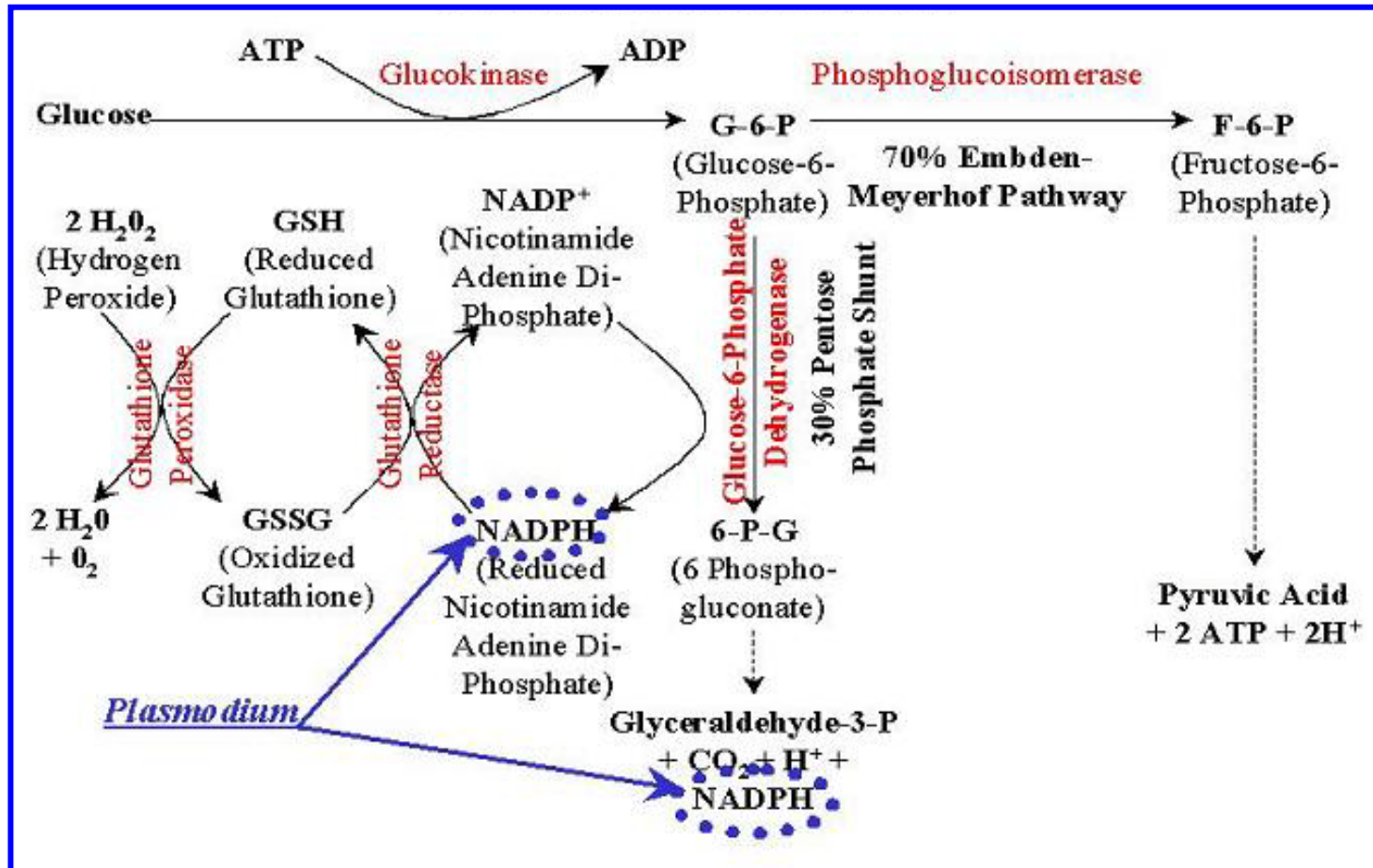


$$\text{Θεραπευτικός δείκτης} = \frac{\text{Τοξική δόση}}{\text{Αποτελεσματική δόση}}$$



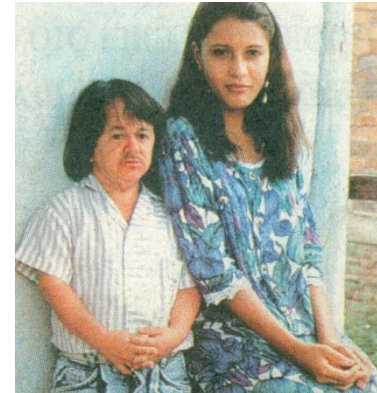
αποτελεί μέτρο της ασφάλειας ενός φαρμάκου

Χαμηλή ενεργότητα G6PD και ανθεκτικότητα σε ελονοσία



G6PD: αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης
 Χ-συνδεμένη κληρονομικότητα → ανθεκτικότητα αγοριών σε ελονοσία
 135 αλληλόμορφα G6PD χαμηλής ενεργότητας → σε 400 εκ. άτομα

Μικρόσωμοι χωρικοί στις Άνδεις (Ισημερινό) που δεν πάσχουν ποτέ από καρκίνο ή διαβήτη



Σύνδρομο Laron: μετάλλαξη στον υποδοχέα της αυξητικής ορμόνης → μειωμένη παραγωγή IGF-1

PharmGKB curates information that establishes knowledge about the relationships among drugs, diseases and genes, including their variations and gene products. Our mission is to catalyze pharmacogenomics research.

Browse PharmGKB

variant genes	literature	drugs	pathways	diseases	phenotypes	annotated PGx genes
 240	 1,671	 442	 38	 352	 120	 16

Search PharmGKB:

e.g. a gene ("ABCB1"), drug ("tacrolimus") or disease ("depression")

What's New?

- [The PharmGKB: integration, aggregation, and annotation of pharmacogenomic data and knowledge. \(PDF file\)](#)
- [Annotated PGx Gene Info for ACE, COMT, CYP2C19, ES, KCNJ11 and MTHFR](#)
- Pathways for [Platinum](#)

Curators' Favorite Papers

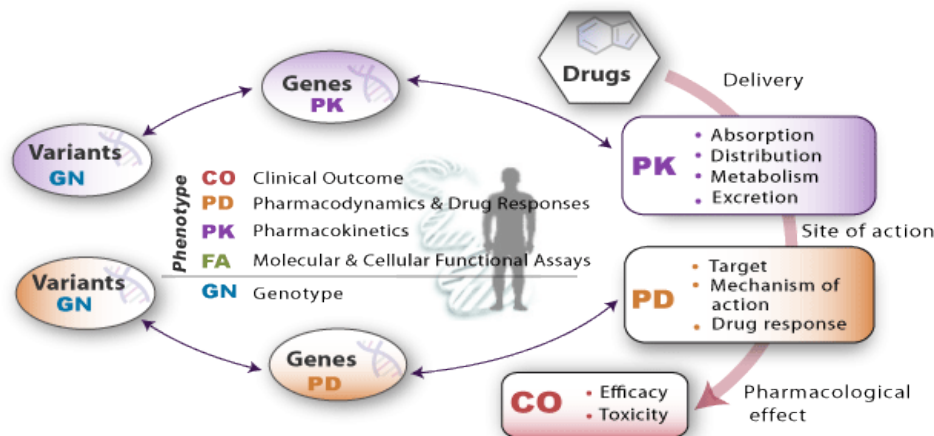
- [A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity](#) **FA**
- [Polymorphisms in ABCB4 and ABCB11 are associated with drug-induced liver injury](#) **GN FA PD**
- [CYP2A6 polymorphisms and ceftamandole-induced hepatotoxicity in lymphedema patients](#) **GN PK PD**

Updated 2/19/2007.
See the [archives](#) for more.

Sign In

User Id:

Password:



Η διαφορετική απόκριση ατόμων σε φάρμακα μπορεί να οφείλεται σε

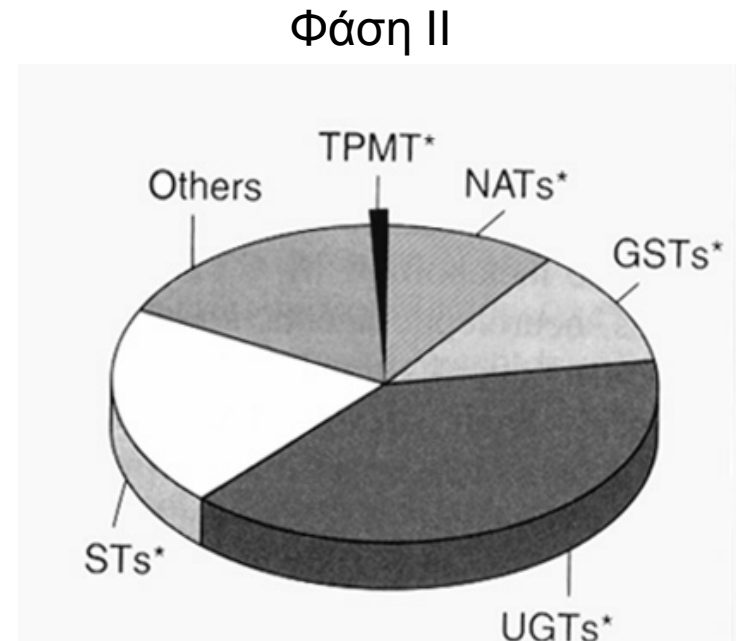
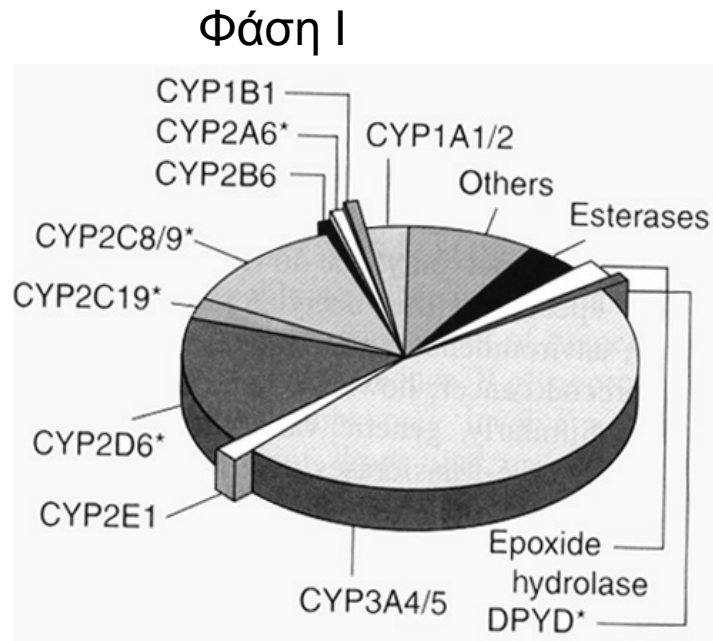
A. Γενετικούς πολυμορφισμούς που επιδρούν στην
φαρμακοκινητική

(γονίδια που συμμετέχουν στην απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό και απέκκριση φαρμάκων, κυρίως εστιάζονται σε ένζυμα μεταβολισμού)

B. Γενετικούς πολυμορφισμούς που επιδρούν στην
φαρμακοδυναμική

(γονίδια που αποτελούν τους μοριακούς στόχους του φαρμάκου)

Α. Φαρμακογενωμική και ένζυμα που επηρεάζουν τον μεταβολισμό των φαρμάκων



- Ένζυμα κυτοχρώματος P450
- TPMT
- NAT2
- UGT

Πολυμορφισμοί σε ισομορφές κυτοχρώματος και επίδραση σε ενζυμική ενεργότητα

Gene	Alleles	Position	Effect	Effect from polymorphism on enzyme activity
CYP1A2	1F	-164 C>A		Higher inducibility
CYP2A6	2	1799 T>A	160 L>H	No activity
CYP2C9	2	430 C>T	144 R>C	Decreased
	3	1075 A>C	359 I>L	Decreased
CYP2C19	4	1 A>G	Start codon GTG	No activity
	3	636 G>A	STOP	No activity
	2	681 G>A	Splicing defect	No activity
CYP2D6	6	1707 del T	Frameshift	No activity
	8	1758 G>T	STOP	No activity
	4	1846 G>A	Splicing defect	No activity
	3	2549 del A	Frameshift	No activity
	More than 20	2850 C>T	296 R>C	Normal activity
	7	2935 A>C	324 H>P	No activity
CYP3A4	1B	-392 A>G		?
CYP3A5	3	6986 A>G	Splicing defect	No activity

→ γρήγοροι
μεταβολιστές

αργοί/ασθενείς
μεταβολιστές

→ κανονικοί
μεταβολιστές

CYP2D6

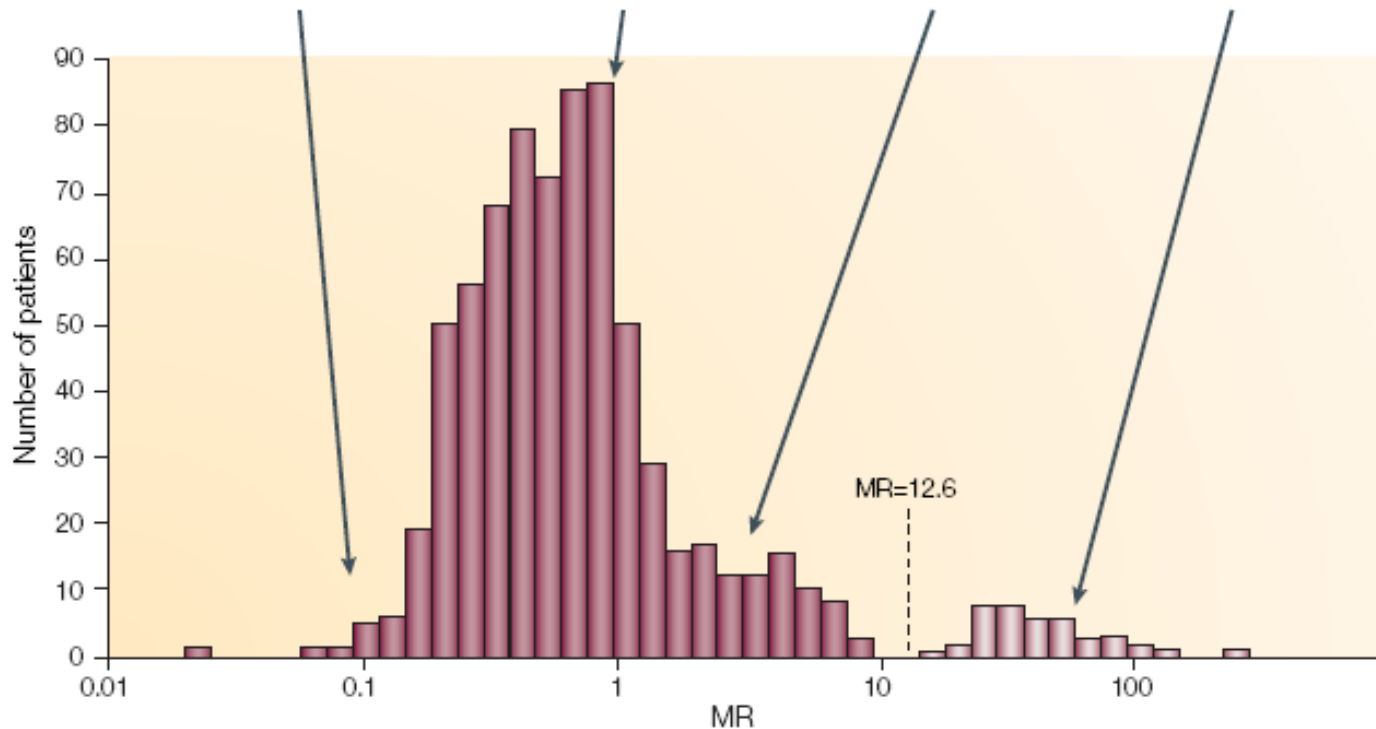
- πιο καλά μελετημένη ισομορφή P450 με πολυμορφισμούς που επιδρούν στον μεταβολισμό φαρμάκων
- υπεύθυνο για την οξειδωση πάνω από 70 διαφορετικών φαρμάκων
- έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 95 αλληλόμορφα του CYP2D6

Υποστρώματα του CYP2D6

- Αντιαρρυθμικά: Flecainide, mexiletine, propafenone
- Αντικαταθλιπτικά: Amitriptyline, aroxetine, venlafaxine, fluoxetine (Prozac)
- Αντιψυχωσικά: Clorpromazine, haloperidol, thioridazine
- Β-αναστολείς: Labetalol, timolol, propranolol, pindolol, metoprolol
- Αναλγητικά: Codeine, fentanyl, meperidine, oxycodone

Μελέτες του φαινοτύπου για τον καθορισμό των τύπων του μεταβολικού δείκτη του κυτοχρώματος CYP2D6

Phenotype	Ultrarapid metabolizers	Extensive metabolizers	Intermediate metabolizers	Poor metabolizers
Frequency (Caucasians)	5–10%	80–65%	10–15%	5–10%



$$MR = \frac{\text{δεβρισκίνη}}{\text{μεταβολίτης δεβρισκίνης}}$$

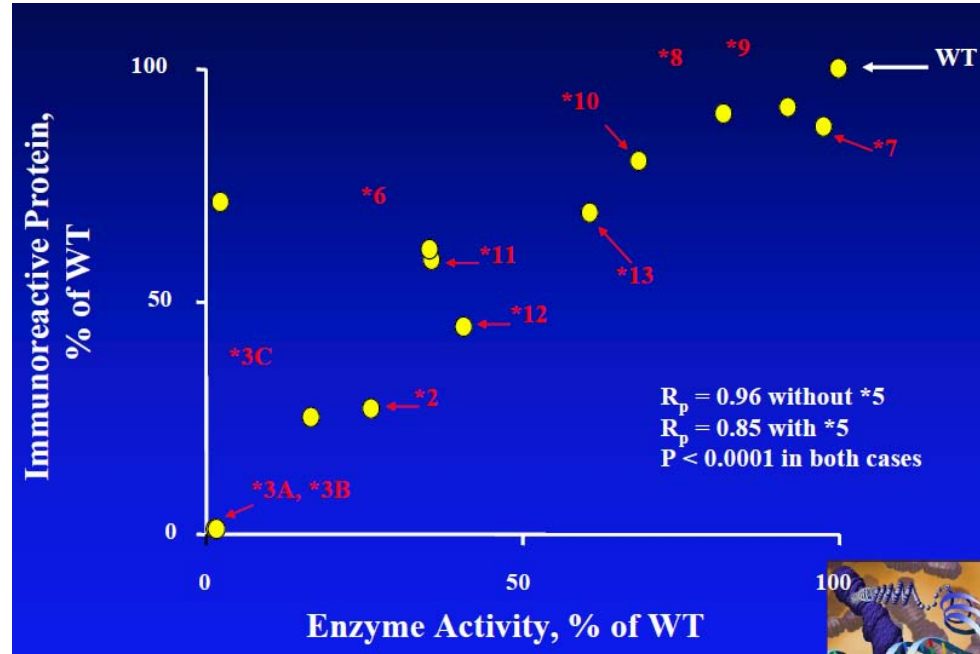
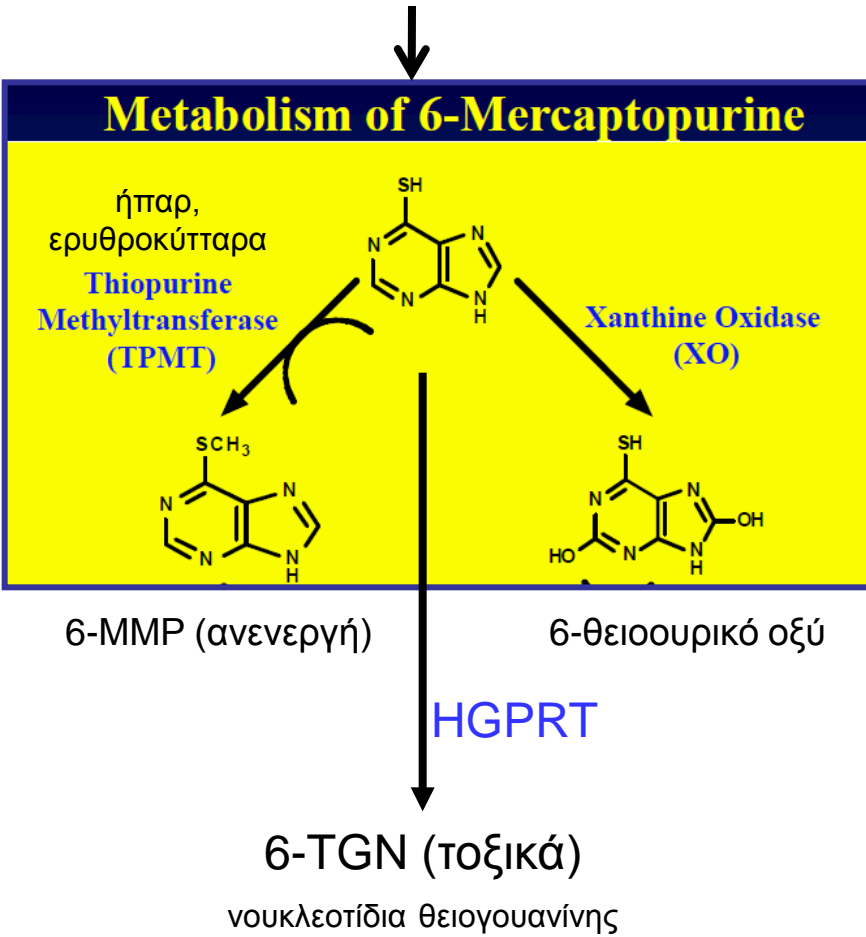
Προσαρμογή της δοσολογίας φαρμάκων ανάλογα με τον τύπο του μεταβολικού δείκτη κυτοχρώματος CYP2D6 σε ασθενείς

Table 4 Approximate dose adjustments according to the CYP2D6 phenotype as based on the meta-analysis by Kirchheiner *et al.*⁴⁵ Recommended dosages in relation to recommended one are presented for the poor metaboliser (PM), intermediate metaboliser (IM), efficient metaboliser (EM) and ultrarapid metaboliser (UM) phenotypes

	<i>PM</i>	<i>IM</i>	<i>EM</i>	<i>UM</i>
<i>Antidepressants</i>				
Imipramine	30	75	130	180
Doxepin	35	77	120	170
Maprotiline	35	77	120	170
Trimipramine	37	83	125	175
Desipramine	40	76	117	165
Nortriptyline	48	90	115	155
Clomipramine	60	85	112	145
Paroxetine	65	90	108	143
Venlafaxine	68	85	105	130
Amitriptyline	70	90	105	135
Mianserin	70	87	110	135
<i>Antipsychotics</i>				
Perphenazine	30	80	130	170
Thioridazine	37	82	127	165
Olanzapine	50	100	120	155
Zuclopenthixol	55	85	115	142
Aripiprazole	60	85	112	130
Flupentixol	68	80	117	135
Haloperidol	67	90	108	126

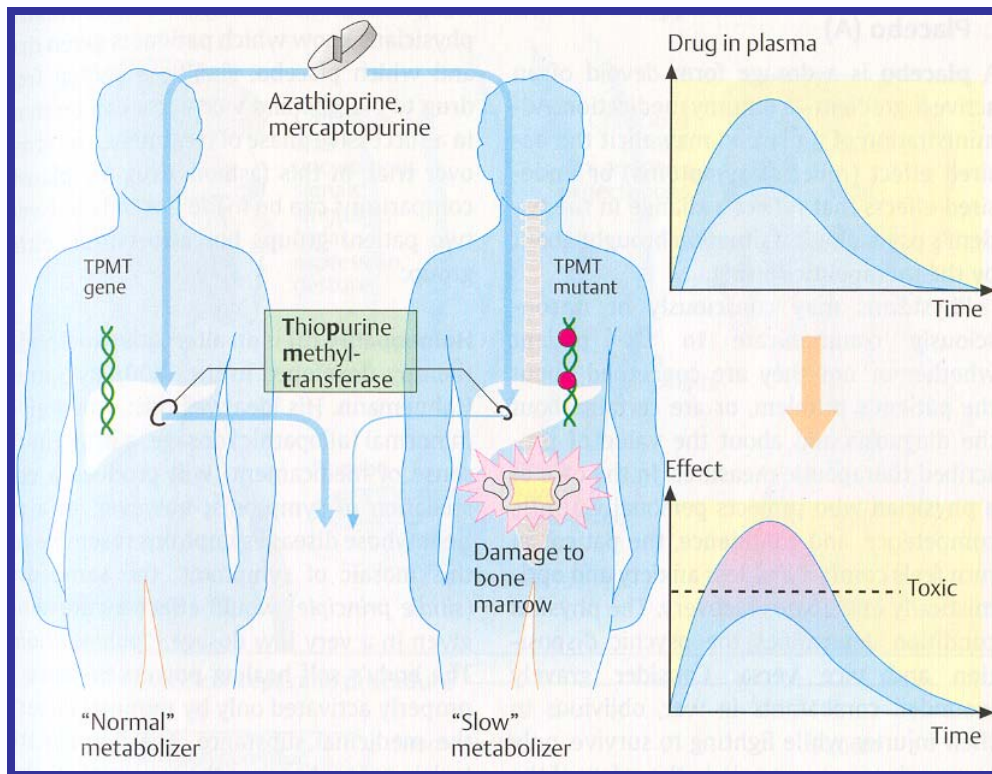
TPMT (Θειοπυρινο-μεθυλο-τρανσφεράση)

Αζαθειοπρίνη (αυτοάνοσα, πχ νόσος Crohn)

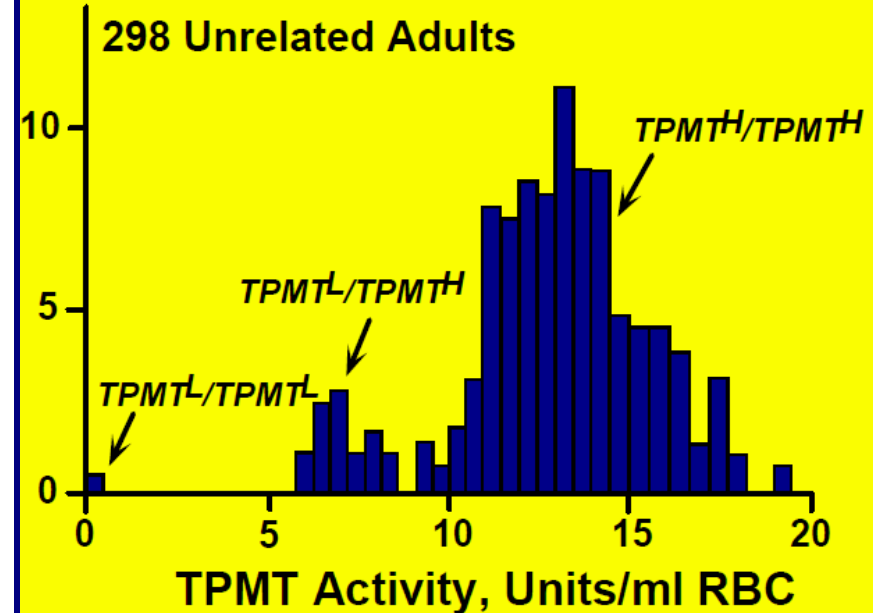


Συχνά αλληλόμορφα: TPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B

ομόζυγα άτομα χωρίς TPMT απαντούν στο 0.3% του πληθυσμού (TPMT*3A)



Human RBC TPMT



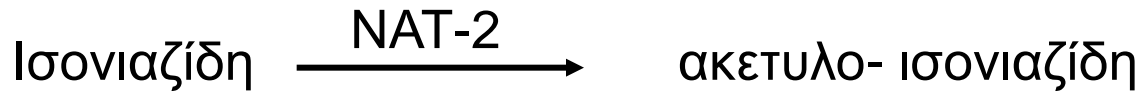
Κλινικές επιπτώσεις

Σε παιδιά με λευχαιμία, χωρίς TPMT, η 6-MP πρέπει να δοθεί σε δόσεις 10-15% των φυσιολογικών, αλλιώς θα παρατηρηθεί αιματολογική τοξική αντίδραση

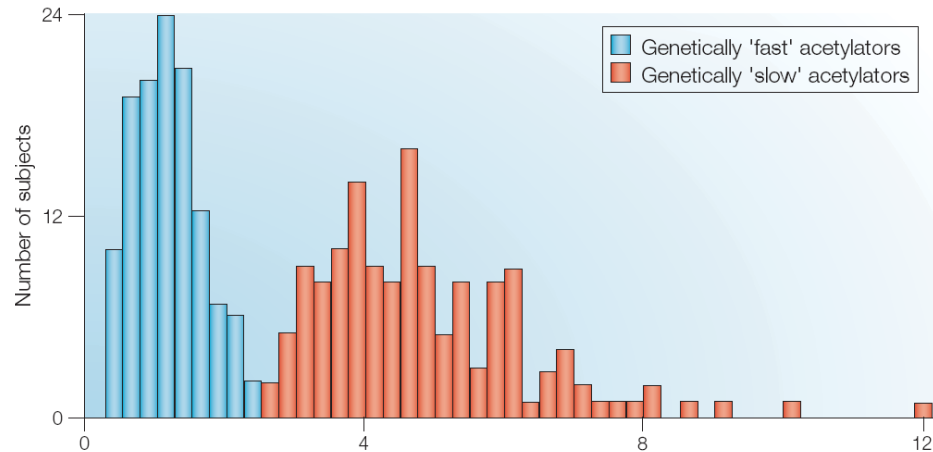
Μέτρηση δραστικότητας TPMT

Επώαση ερυθροκυττάρων με 6-MP → μέτρηση 6-MMP με HPLC (6-MP/6-MMP)

NAT2 (N-ακετυλοτρανσφεράση-2)



συνολικά 36 αλληλόμορφα NAT-2
αργοί και γρήγοροι ακετυλιωτές
NAT2*5, NAT2*6: 90% αργών ακετυλιωτών
αργοί ακετυλιωτές σε 50-60% πληθυσμού



Μέτρηση δραστηριότητας NAT-2

Χορήγηση ισονιαζίδης από στόμα, μέτρηση συγκέντρωσης ακετυλο-ισονιαζίδης →
λόγος των 2 συγκεντρώσεων για τον υπολογισμό του ρυθμού ακετυλίωσης

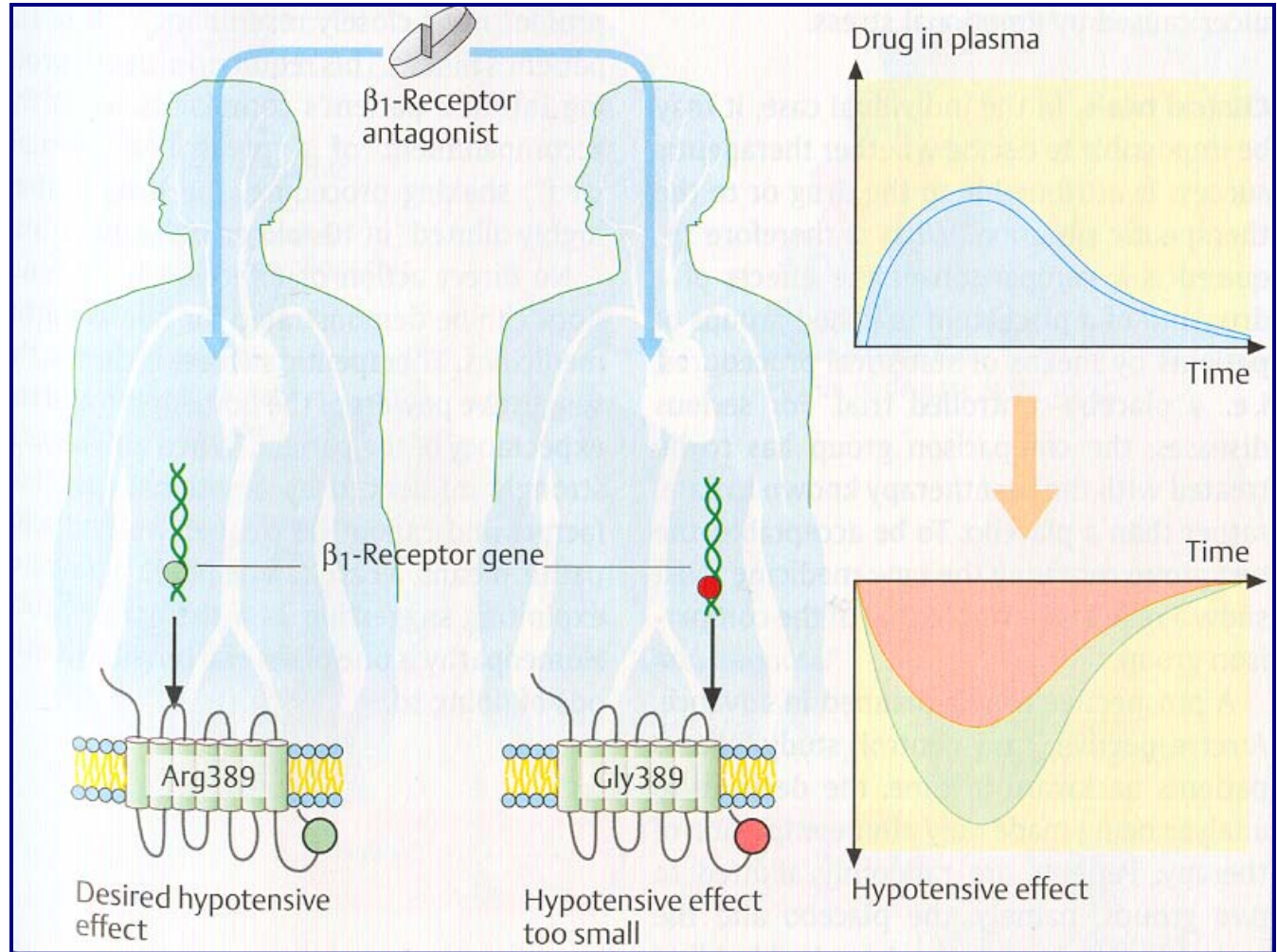
Φυλετικό υπόστρωμα (αργοί/γρήγοροι)

40/60 σε Ευρώπη, 85/15 σε Ιαπωνία, 95/5 Εσκιμώοι Αμερικής

Κλινικές επιπτώσεις: αργοί ακετυλιωτές πρέπει να λάβουν μικρότερη δόση
ισονιαζίδης (κίνδυνος αυξημένης τοξικότητας και περιφερικής νευροπάθειας)

Πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν μοριακούς στόχους φαρμάκων-φαρμακοδυναμική

πολυμορφισμοί
β1-
αδρενεργικών
υποδοχέων



Πολυμορφισμοί σε γονίδια που κωδικοποιούν μοριακούς στόχους φαρμάκων

υποδοχείς νευροδιαβιβαστών

π.χ. ντοπαμινεργικοί υποδοχείς και νευροληπτικά (κλοζαπίνη)

μεταφορείς νευροδιαβιβαστών

π.χ. μεταφορέας σεροτονίνης και αντικαταθλιπτικά (SSRIs)

κανάλια ιόντων

π.χ. καρδιά - αντιαρρυθμικά φάρμακα

Πολυμορφισμοί σε γονίδια φαρμακοκινητικής και φαρμακοδυναμικής

Βαρφαρίνη (Warfarin)

Αντιπηκτικό φάρμακο με μεγάλη ποικιλότητα αποκρίσεων μεταξύ των ασθενών στις δόσεις που απαιτούνται για θεραπευτικό αποτέλεσμα

* **CYP2C9** **πολυμορφισμοί** σχετίζονται με μειωμένη απομάκρυνση βαρφαρίνης

- CYP2C9*1 : αγρίου τύπου
- παραλλαγές: CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C9*4, CYP2C9*5
- οι CYP2C9*2 και CYP2C9*3 σχετίζονται με επεισόδια αιμορραγιών → άτομα που φέρουν αυτά τα αλληλόμορφα απαιτούν 60 με 75% χαμηλότερη δόση βαρφαρίνης σε σχέση με αγρίου τύπου ασθενείς

* **Πολυμορφισμοί στον στόχο της βαρφαρίνης (VKORC1)** → διαφορετικές αποκρίσεις ασθενών

Προτεινόμενος αλγόριθμος δοσολογίας βαρφαρίνης

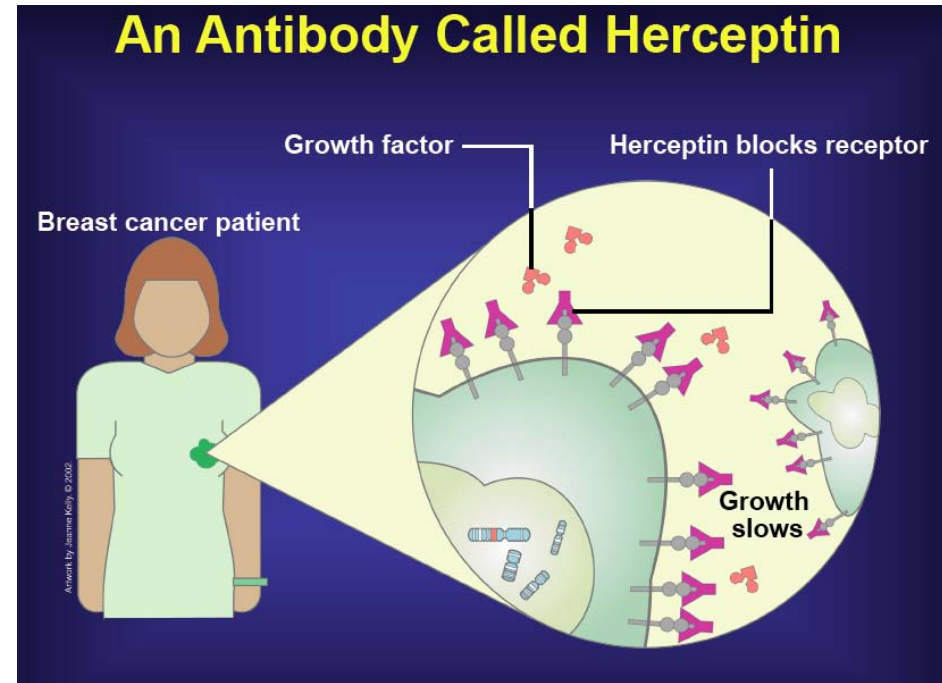
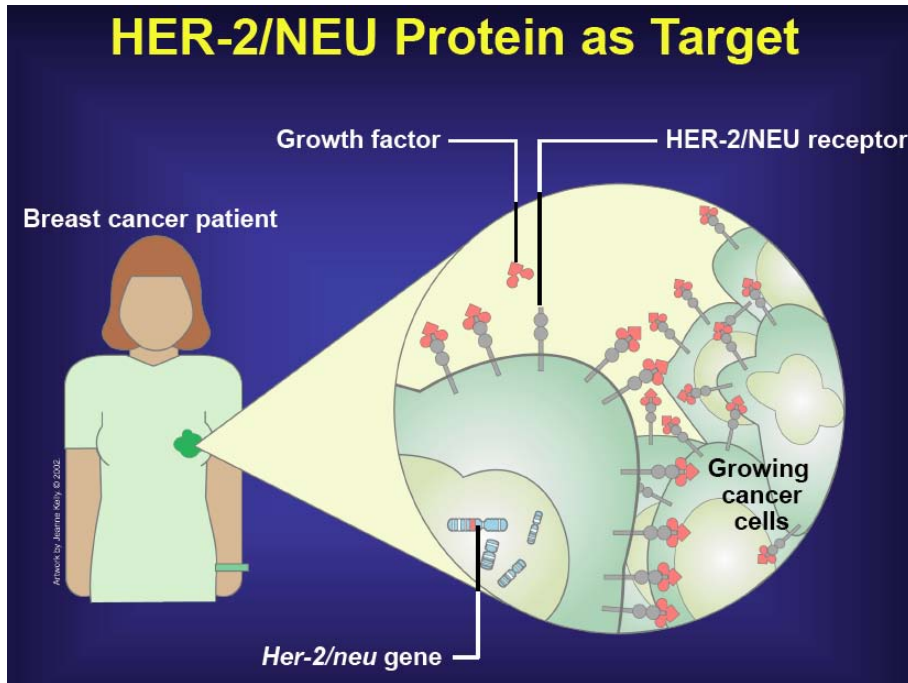
Table 3. Regression equation for modeling warfarin daily dose requirements based on age, genotype, and height

Model, x variables	Regression equation	P	R ² for model, %
Age	$\sqrt{D} = 2.85 - 0.0137 (\text{Age})$.001	16.7
<i>CYP2C9</i> genotype	$\sqrt{D} = 2.01 - 0.252 (\text{CYP}^*2) - 0.454 (\text{CYP}^*3)$.001	17.5
<i>VKORC1</i> genotype	$\sqrt{D} = 2.41 - 0.297 (\text{VKORC1})$.001	15.0
Height	$\sqrt{D} = 2.12 + 0.0237 (\text{Height})$.001	16.0
Age, height, <i>CYP2C9</i> genotype, <i>VKORC1</i> genotype	$\sqrt{\text{Dose}} = 0.628 - 0.0135 (\text{Age}) - 0.240 (\text{CYP}^*2) - 0.370$ $(\text{CYP}^*3) - 0.241 (\text{VKOR}) + 0.0162 (\text{Height})$.001	54.2

Age: input age in years; *CYP2C9* genotype: input 0, 1, or 2 for the number of *2 and *3 alleles within the patient's genotype; *VKORC1* genotype: input 1 for GG, 2 for GA, and 3 for AA; height: input height in centimeters.

Φαρμακογενωμική και καρκίνος

EGFR (Epidermal growth Factor Receptor), HER2



- ❖ μέλος της οικογένειας των κινασών τυροσίνης
- ❖ παίζει σημαντικό ρόλο σε διαδικασίες πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης της φυσιολογικής κυτταρικής ανάπτυξης με αυξημένη ενεργότητα σε ορισμένους όγκους

Φαρμακογενωμική και καρκίνος

EGFR (Epidermal growth Factor Receptor), HER1

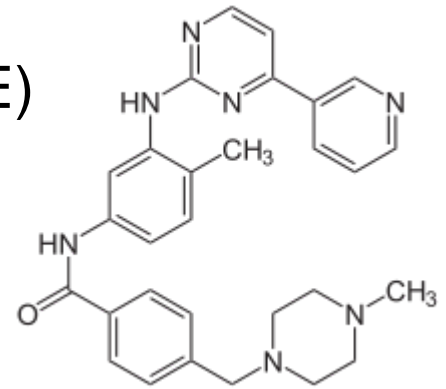
- ❖ υπερέκφραση του HER1 σε καρκινώματα μαστού, εγκεφάλου, τραχήλου, πνευμόνων, ουροδόχου κύστης, γαστροεντερικά
- ❖ Astrazeneca: gefitinib: αναστολέας του HER1
- ❖ Χρήση σε κλινικές δοκιμές, ΑΛΛΑ εμφάνιση θετικής απόκρισης μόνο σε 10% των ασθενών με συγκεκριμένα καρκινώματα (πνεύμονα, NSCLC), που φέρουν μια μετάλλαξη στον HER1
- ❖ εμφάνιση εθνικών διαφορών π.χ. Ασιάτες (Γιαπωνέζοι) αποκρίνονται πιο ευνοϊκά από Ευρωπαίους

Φαρμακογενωμική και καρκίνος

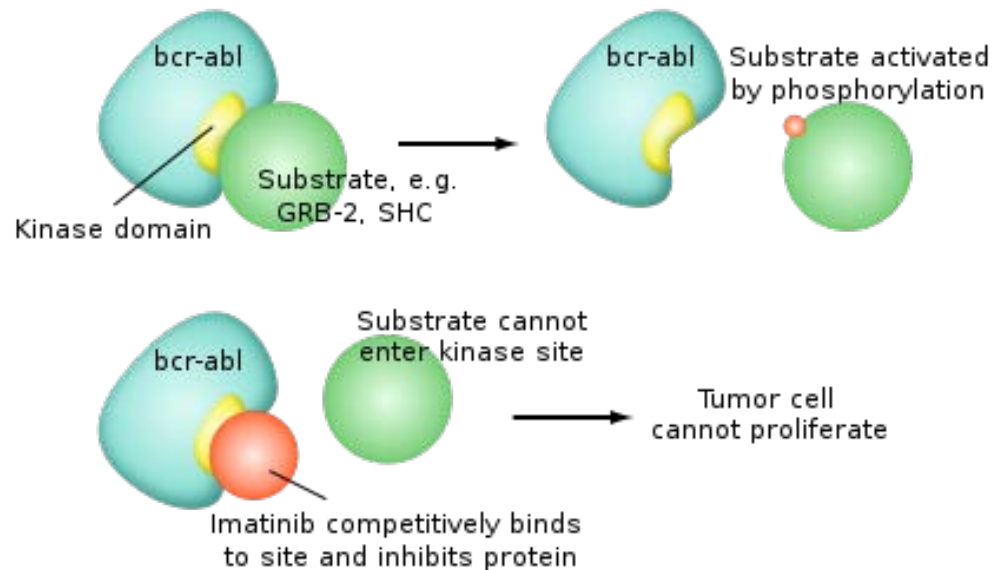
Imatinib (Novartis) “magic bullet” for cancer (TIME)

gleevec: ΗΠΑ

glivec: Ευρώπη, Αυστραλία, Λατινική Αμερική



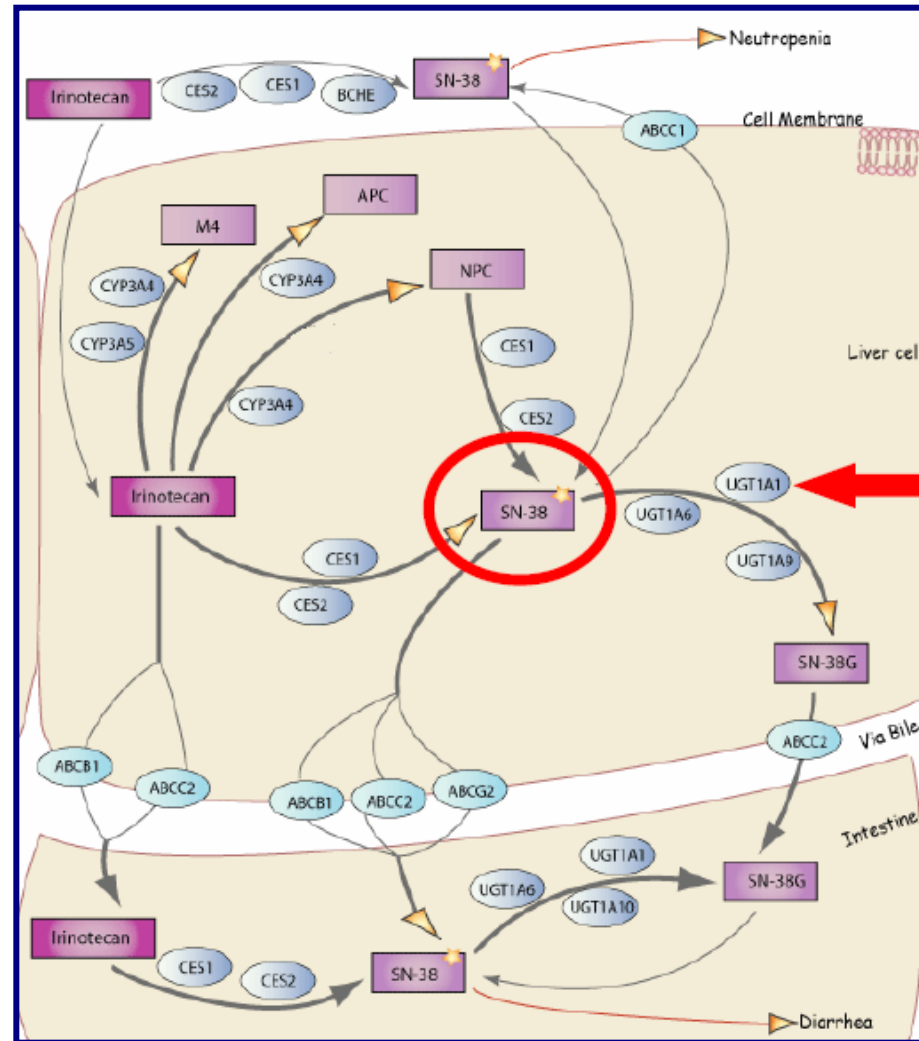
Αναστολή της κινάσης bcr-abl
(που προκαλεί χρόνια μυελογενή
λευχαιμία) από το **imatinib**



Φαρμακογενωμική και καρκίνος

Πολλά αντικαρκινικά φάρμακα είναι προφάρμακα (απαιτείται ο μεταβολισμός τους για την παραγωγή των ενεργών κυτταροτοξικών μορφών)

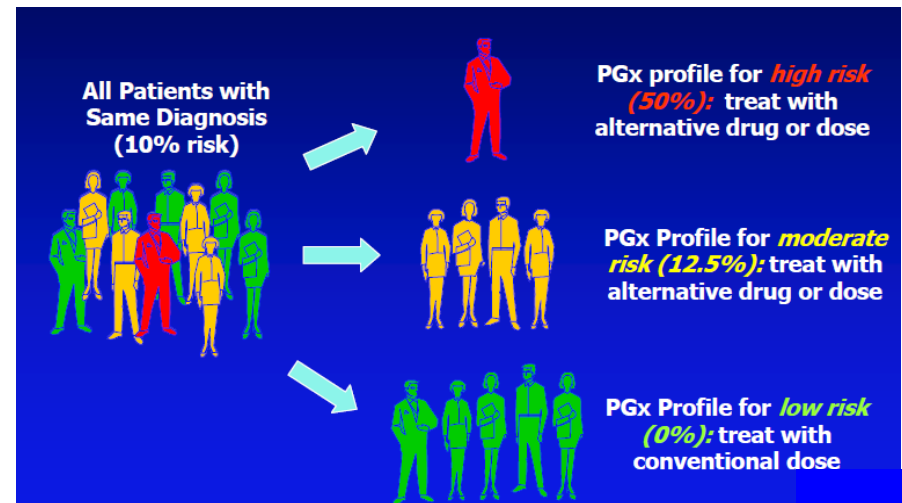
Ιριδοτεκάνη: ημισυνθετικό παράγωγο της καμπτοθεκίνης (αλκαλοειδές, αναστολέας της τοποϊσομεράσης I)



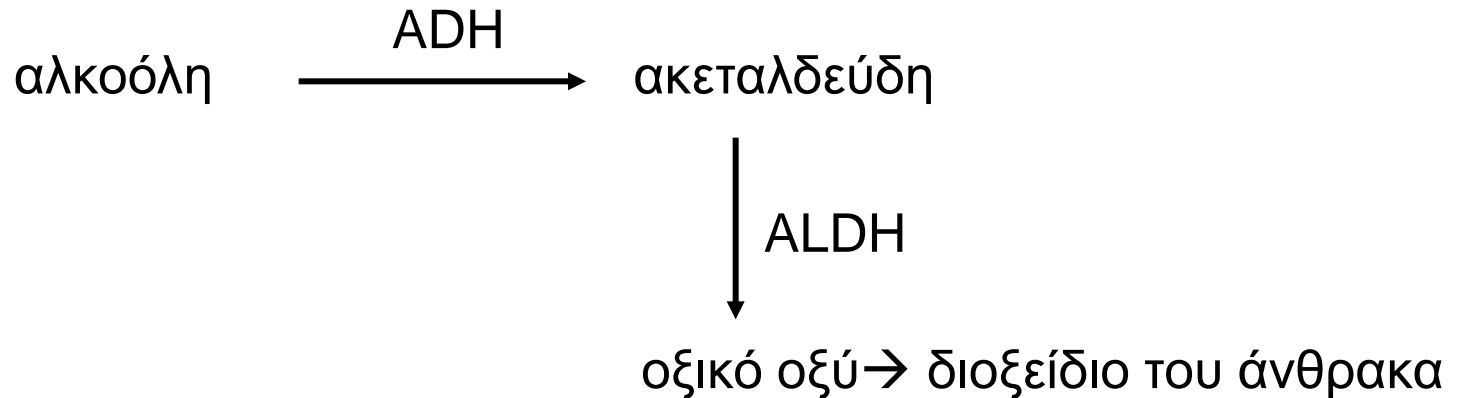
Έκθεση σε SN-38

- μεγάλη ποικιλότητα σε αποκρίσεις μεταξύ ατόμων
- SN-38: γλυκουρονιδίωση από τα ένζυμα UGT, κυρίως από UGT1A1 επαναλήψεις TA (6, 7) στο κουτί TATA (A[TA]_nTAA) στον υποκινητή
 - κανονικός γενότυπος με 6 επαναλήψεις (TA6)
 - παρουσία 7 επαναλήψεων (TA7) → UGT1A1*28 → μειωμένη γονιδιακή έκφραση και μειωμένη γλυκουρονιδίωση σε ανθρώπινα ηπατικά κύτταρα

Group	Prevalence	Risk of Toxicity
All Patients	—	10%
Patients That Are 7/7	10%	50%
Patients That Are 6/7	40%	12.5%
Patients That Are 6/6	50%	0%



Φαρμακογενωμική και κατανάλωση αλκοόλης



Φυλετικό υπόβαθρο: απαντώνται συχνά σε **ασιατικούς πληθυσμούς** τα

- ADH2 His47 (αυξάνει τον ρυθμό δημιουργίας ακεταλδεύδης)
- ALDH2*2 (ALDH2 Lys487) → ανενεργό ένζυμο ALDH → συσσώρευση ακεταλδεύδης → **εμφάνιση οξείας τοξικότητας στο αλκοόλ** (ερυθρότητα του προσώπου, αύξηση παλμών, δίψα, δυσκολία στην αναπνοή, ταχυκαρδία, υπόταση, ναυτία και εμετό)

Μελέτες γενοτύπου

Τεχνικές-εργαλεία έρευνας

- DNA sequencing
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism
- SSCP : Single-Stranded Conformation Polymorphism
- TGGE : Temperature Gradient Gel Electrophoresis
- DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
- Μικροσυστοιχίες (microarrays, gene chips)

Μικροσυστοιχίες (microarrays, gene chips)

1. Μελέτη ταυτόχρονης έκφρασης τεράστιου αριθμού (χιλιάδων) γονιδίων στο δείγμα μας

- chips cDNA
- chips ολιγονουκλεοτιδίων

2. Αναγνώριση πολυμορφισμών/μεταλλάξεων σε ένα/δύο συγκεκριμένα γονίδια στο δείγμα μας

- chips ολιγονουκλεοτιδίων SNP

Οι μικροσυστοιχίες βασίζονται στον υβριδισμό (Northern ή Southern)

1. Μικροσυστοιχίες για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης

Chips cDNA

εργαστήριο Brown, Πανεπιστήμιο Stanford

κηλίδες cDNA γονιδίων (~ 25.000) ενός οργανισμού τοποθετούνται σε γυάλινο υπόστρωμα (30mm X 15mm)

Chips ολιγονουκλεοτιδίων

Μικρών ολιγονουκλεοτιδίων (~ 16-25 νουκλεοτίδια)

- Affymetrix (Santa Clara, ΗΠΑ): τεχνολογία GeneChip (φωτολιθογραφία)

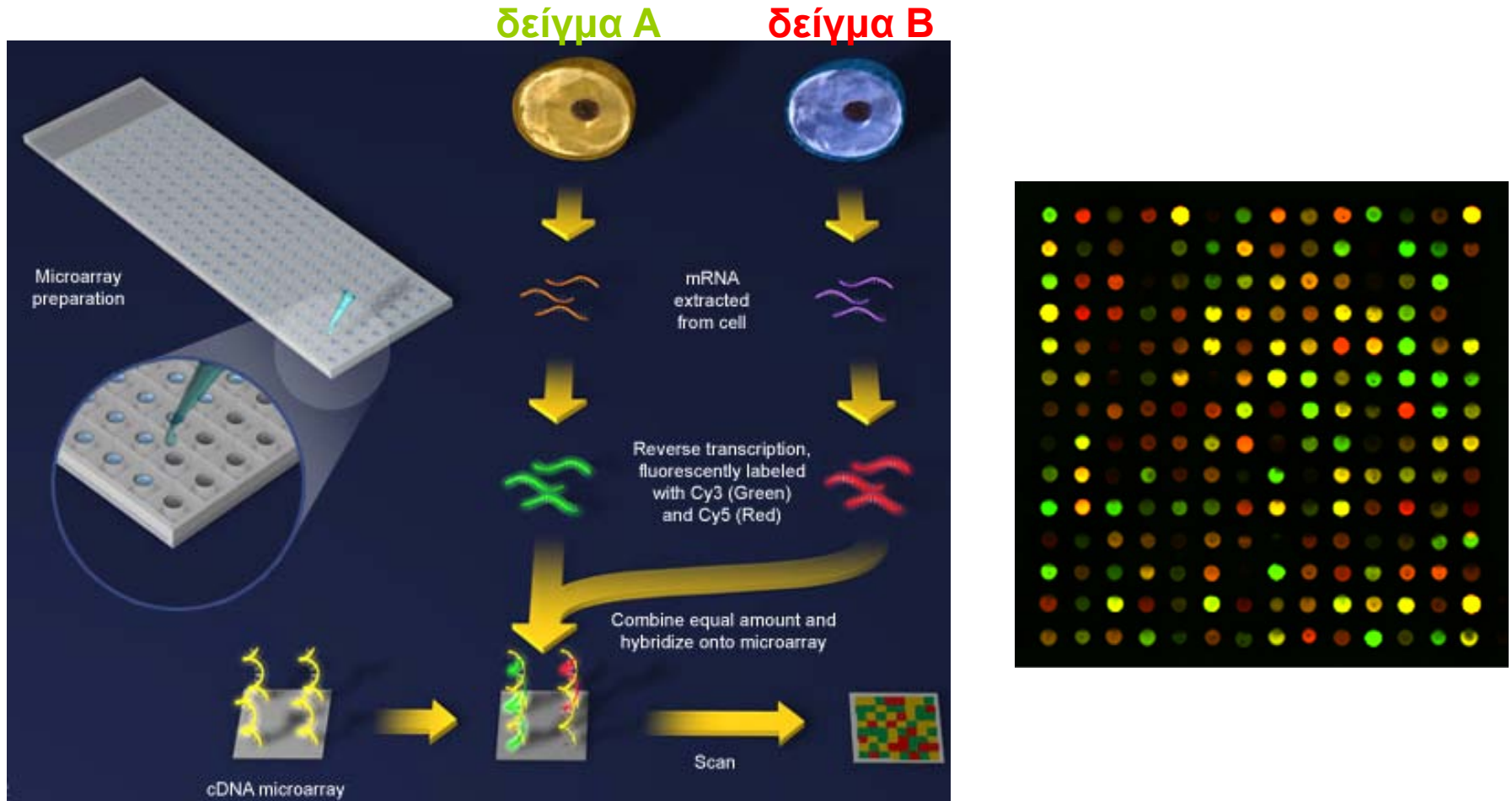


Μεγάλων ολιγονουκλεοτιδίων (~ 60 νουκλεοτίδια)

- Agilent Technologies (Palo Alto, ΗΠΑ): τεχνολογία inkjet



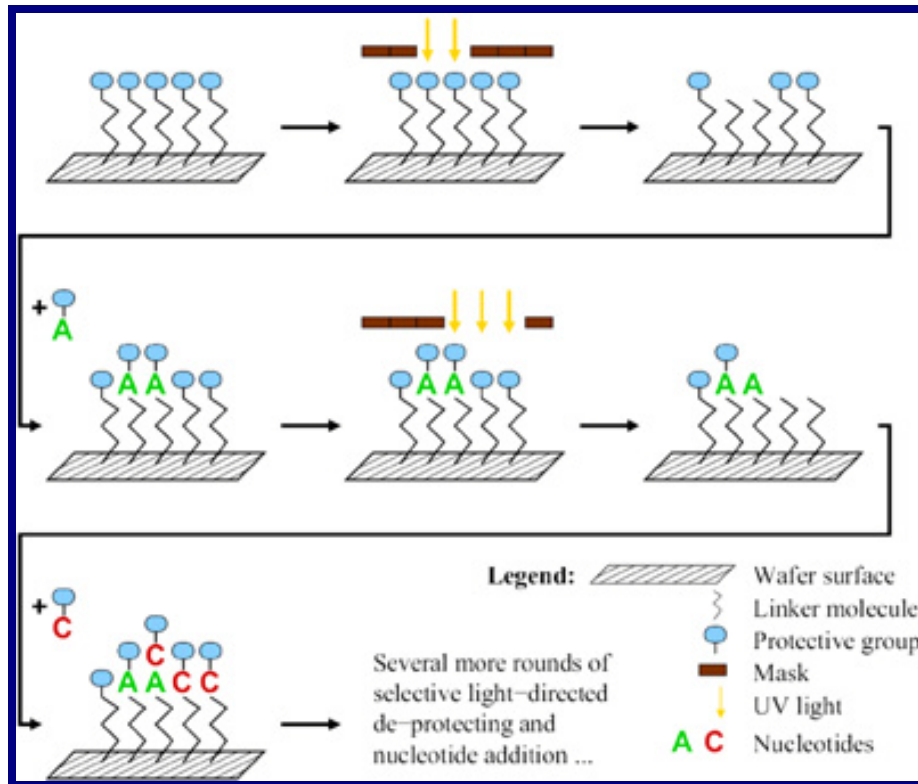
Τυπικό πείραμα μικροσυστοιχίας cDNA



- υγιή - ασθενή κύτταρα
- κύτταρο πριν - μετά από την επίδραση φαρμάκου
- ιστο-ειδική έκφραση γονιδίων
- έκφραση γονιδίων σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης

Μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων Affymetrix για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης

τεχνολογία φωτολιθογραφίας

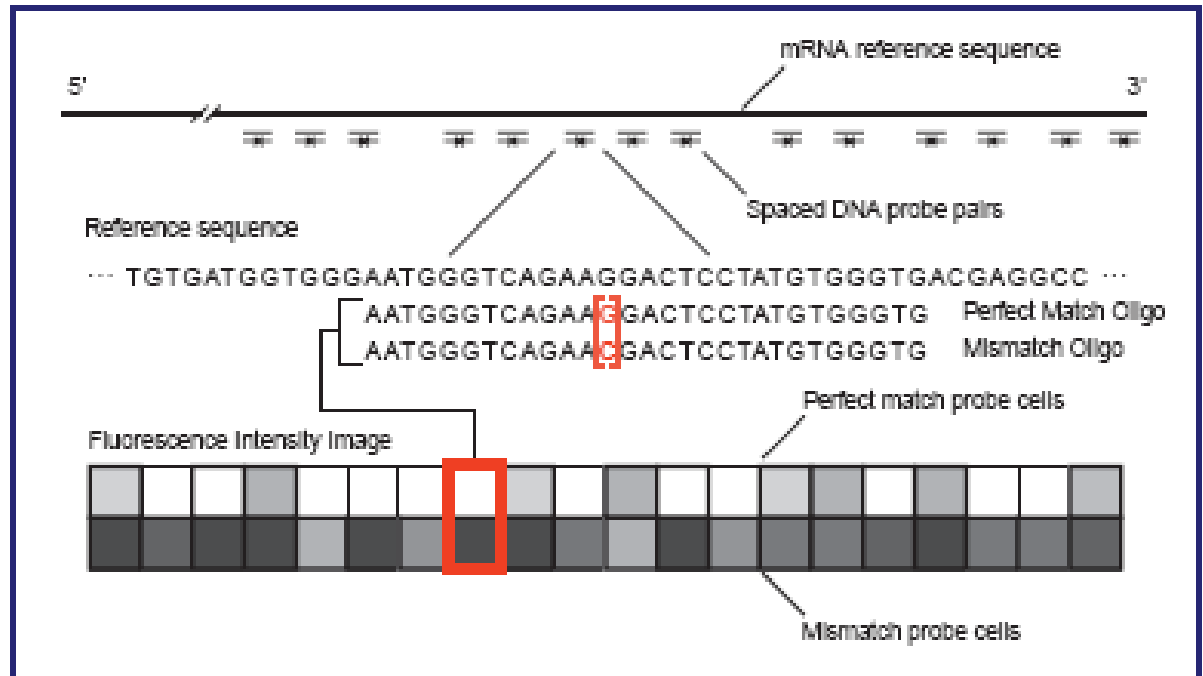


επιφάνεια 1,6 cm²

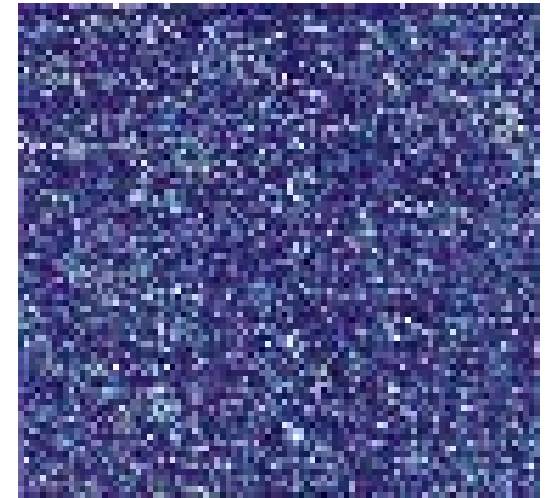
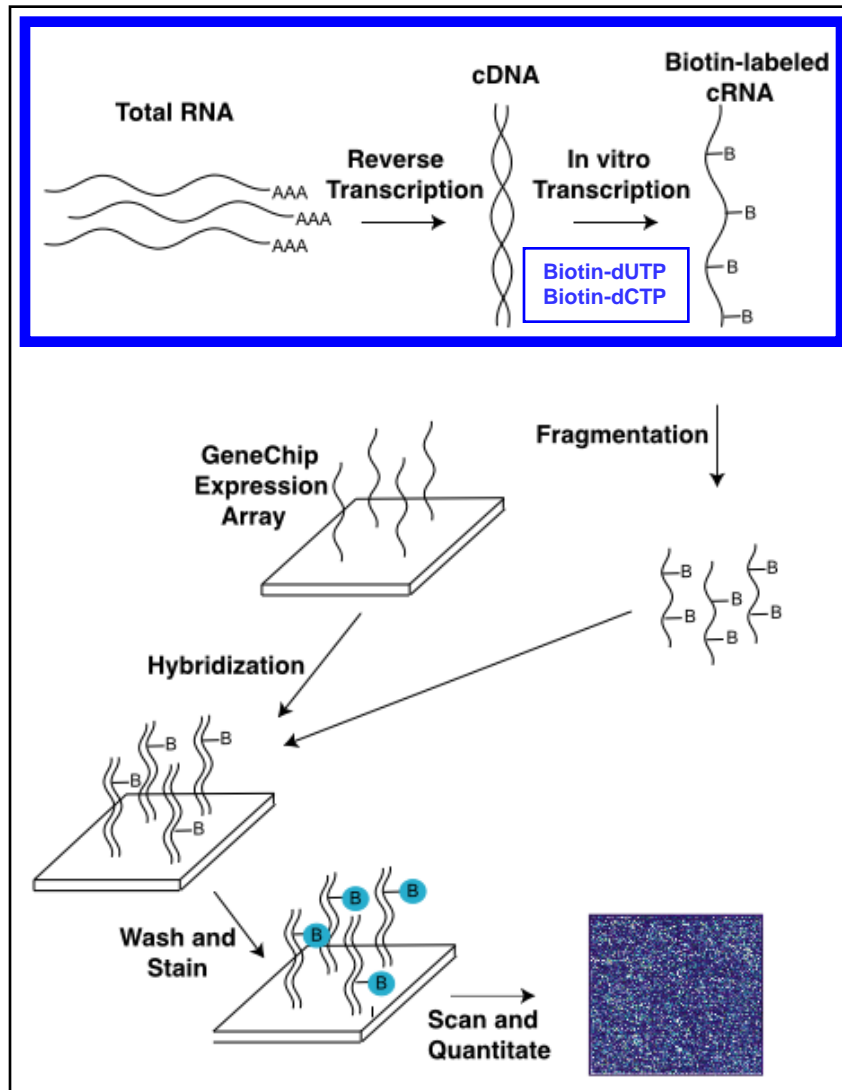
Affymetrix GeneChips για την μελέτη της γονιδιακής έκφρασης

- ❖ περιέχει έως 400.000 ολιγονουκλεοτίδια (~ 10.000 γονίδια → ολόκληρο ή μέρος του γονιδιώματος)
- ❖ κάθε γονίδιο αντιπροσωπεύεται από ~ 20-25 probes (ανιχνευτές)
- ❖ κάθε probe αποτελείται από το Perfect Match (PM) και Mis Match (MM)

Human Genome
Mouse Genome
Rat Genome
Drosophila Genome
Zebrafish Genome
C.elegans Genome
Yeast Genome
Arabidopsis Genome
Canine Genome
Chicken Genome
Tomato Genome



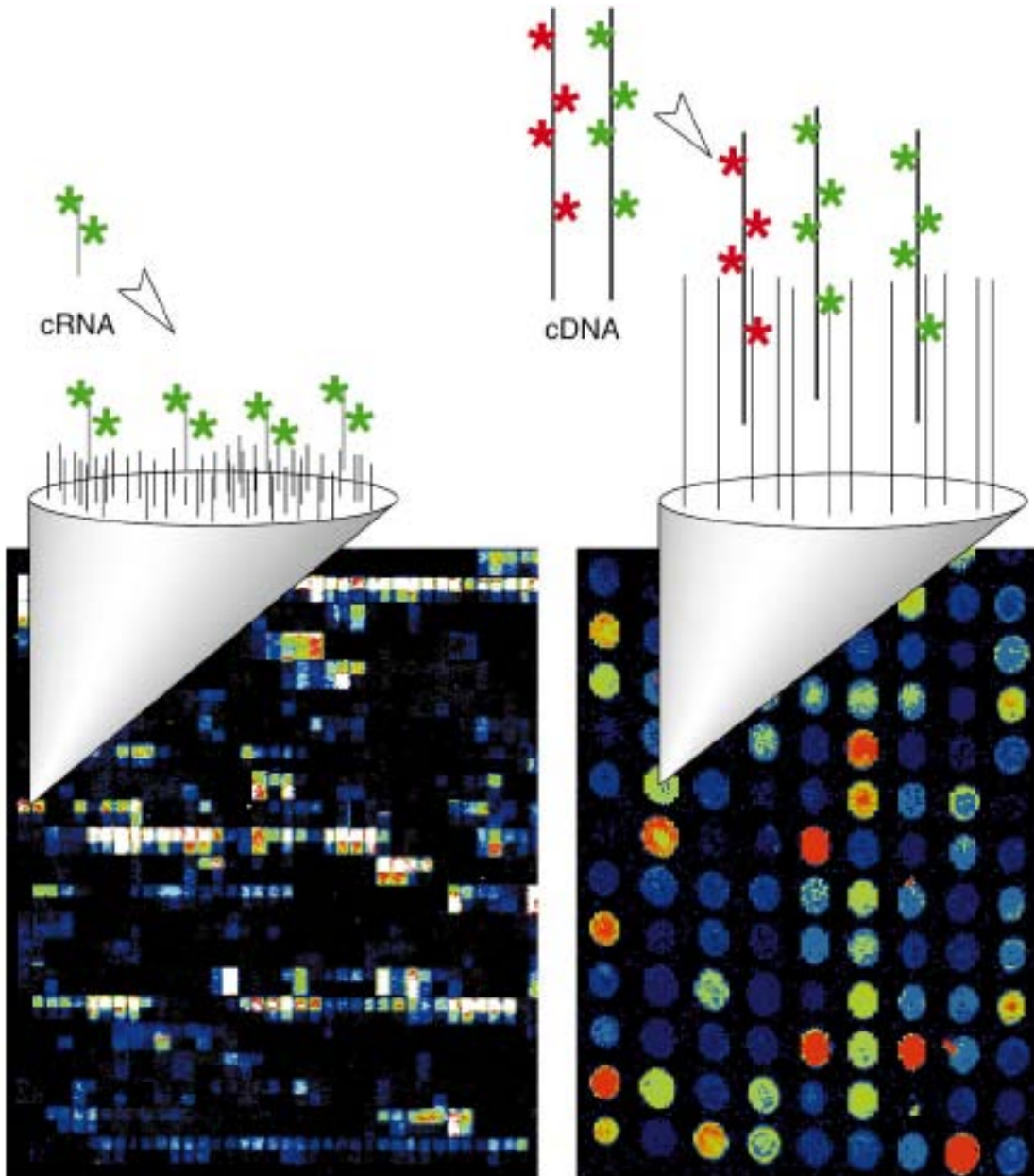
Τυπικό πείραμα μικροσυστοιχίας ολιγονουκλεοτιδίων Affymetrix



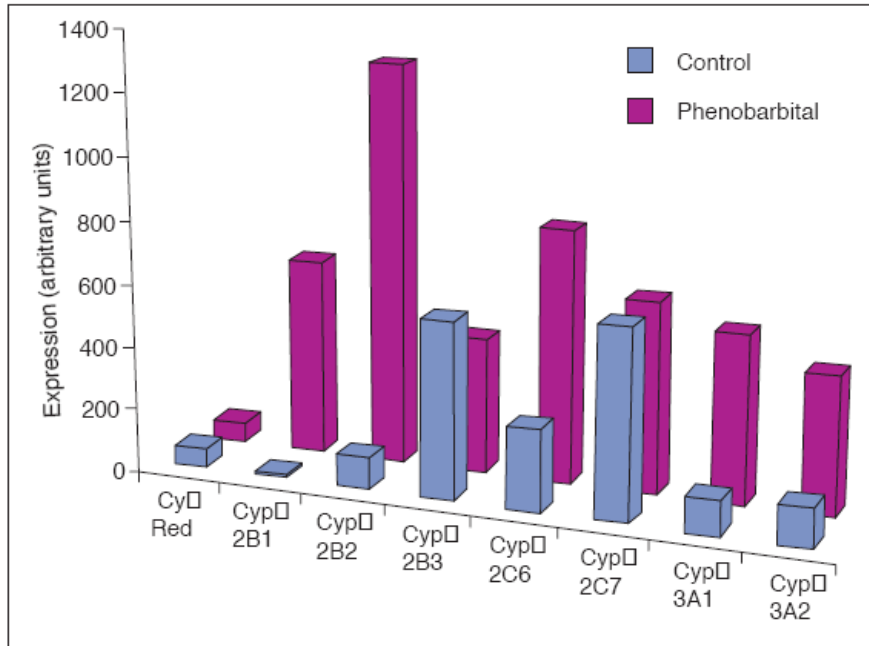
- ταυτόχρονη μελέτη έκφρασης 10000 γονιδίων σε διαφορετικά δείγματα
- εκτίμηση υπερ-έκφρασης ή υπο-έκφρασης γονιδίων μεταξύ δειγμάτων

μικροσυστοιχίες Affymetrix

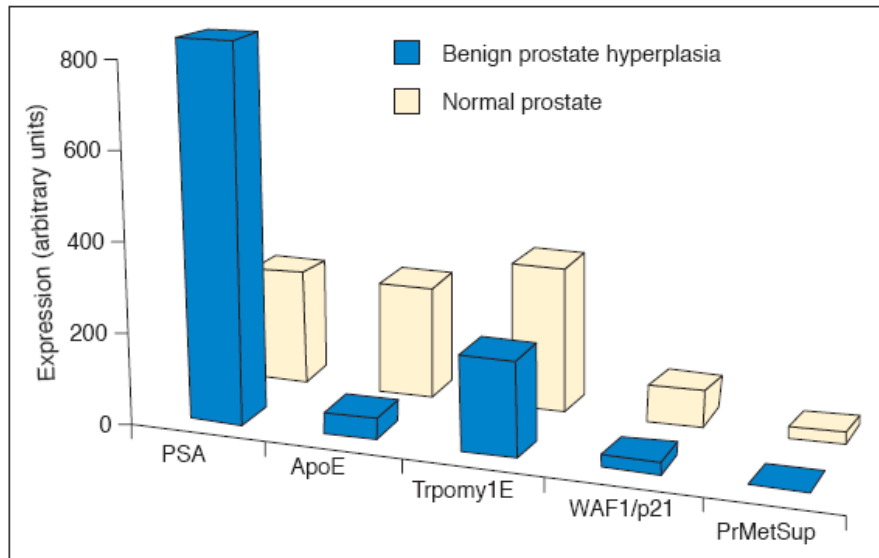
μικροσυστοιχίες cDNA



Εφαρμογές μικροσυστοιχιών



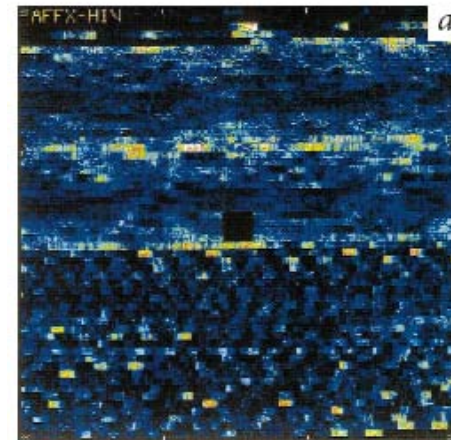
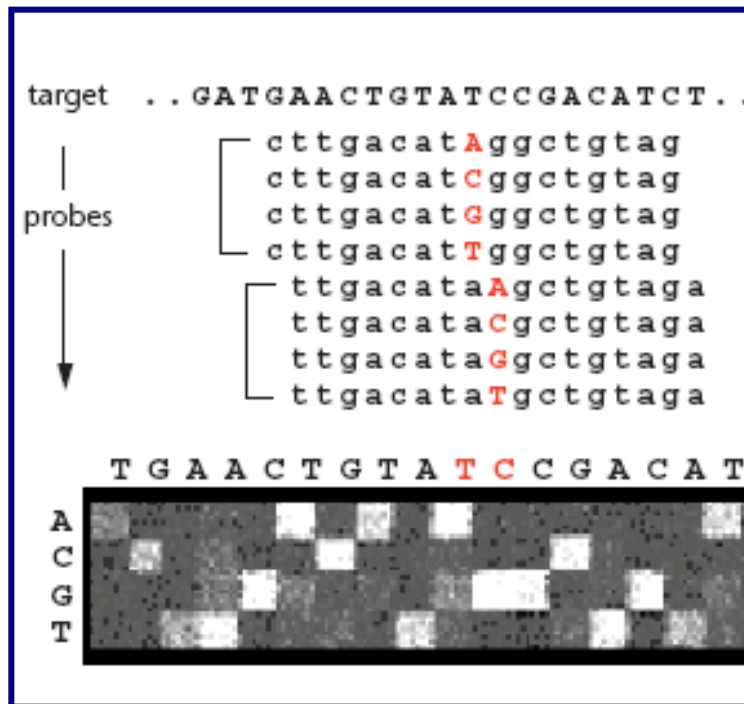
Επίδραση φαινοβαρβιτάλης στην έκφραση διαφορετικών ισομορφών του κυτοχρώματος, χρησιμοποιώντας μικροσυστοιχίες Affymetrix



Γονιδιακή έκφραση σε δείγματα κανονικού προστάτη και προστάτη με υπερπλασία, χρησιμοποιώντας μικροσυστοιχίες Affymetrix

Μελέτη πολυμορφισμών/μεταλλάξεων με μικροσυστοιχίες ολιγονουκλεοτιδίων SNP (Affymetrix)

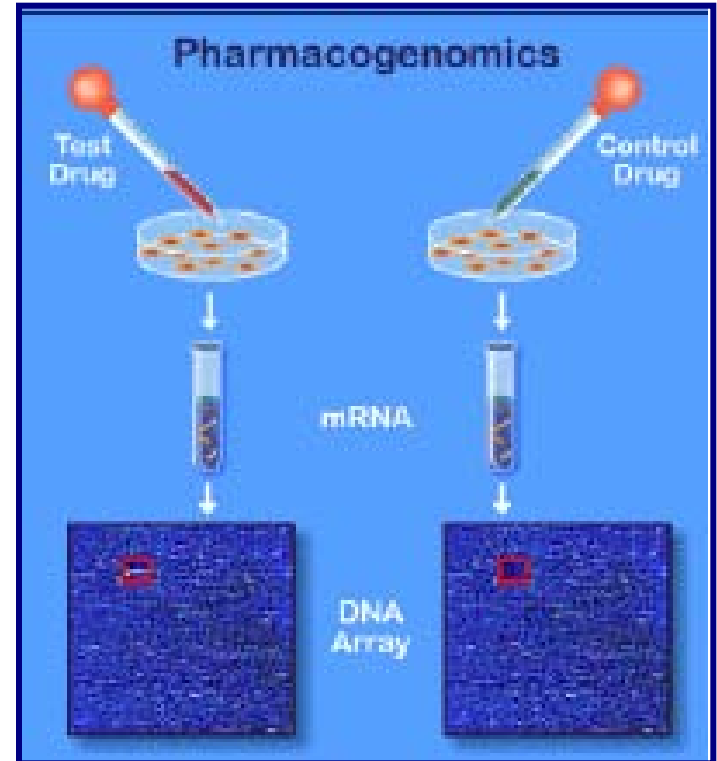
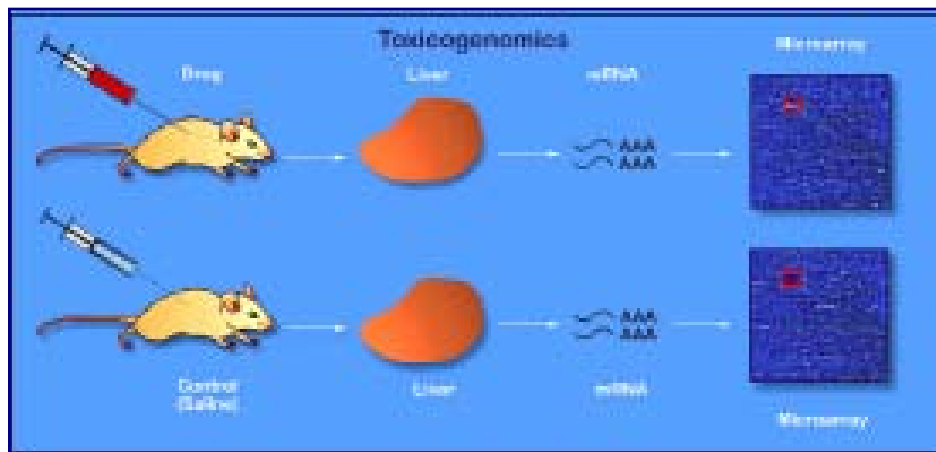
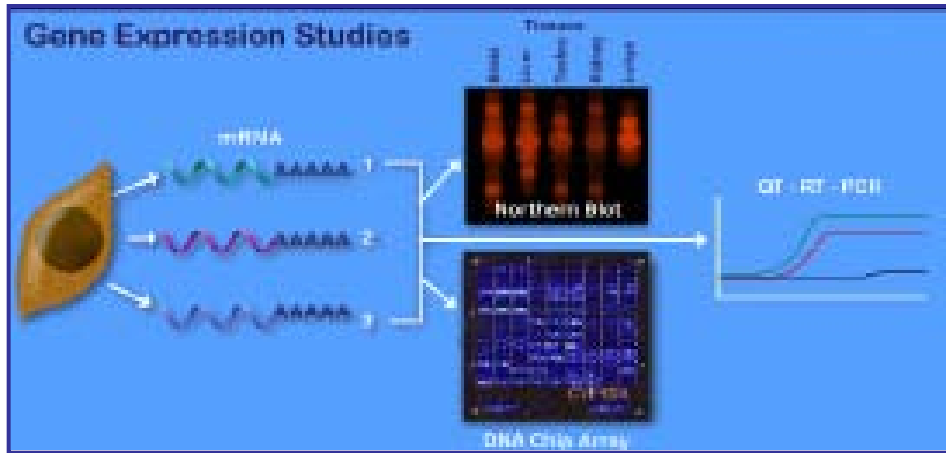
- ❖ περιέχει έως 350.000 ολιγονουκλεοτίδια (~ 40.000 bps → σύνολο 1, 2 γονίδια)
- ❖ κάθε αλληλουχία-στόχος αντιπροσωπεύεται από 4 probes (ανιχνευτές) (20-25 νουκλεοτιδίων ο καθένας)



π.χ. γονιδίων κυτοχρώματος P450 (AmpliChip)

Φαρμακογενωμική και ανάπτυξη φαρμάκων

Προ-κλινική έρευνα



in vitro: μελέτη του μεταβολισμού φαρμάκων με χρήση ανασυνδυασμένου ανθρώπινου κυτοχρώματος P450 (διαφόρων πολυμορφισμών) σε καλλιέργειες ανθρωπίνων ηπατοκυττάρων

Φαρμακογενωμική και ανάπτυξη φαρμάκων

Κλινικές μελέτες

- «a posteriori» - γενότυπος χρησιμοποιείται ως παράγοντας ποικιλομορφίας για εξήγηση αποτελεσμάτων κλινικών δοκιμών σε εθελοντές με συστηματική συμμετοχή
- «a priori» – γενότυπος χρησιμοποιείται ως απαγορευτικό κριτήριο (μελέτη μικρότερου και ομοιογενούς πληθυσμού, αλλά λιγότερο αντιπροσωπευτική)
- επίδραση εθνότητας

Διερεύνηση μηχανισμού δράσης γνωστών φαρμάκων

Χρήση σακχαρομύκητα (*Saccharomyces cerevisiae*)

- εύκολος γενετικός χειρισμός
- μεγάλη ομολογία των γονιδίων του *S. cerevisiae* (6000 γονίδια) με τα γονίδια του ανθρώπου

Δημιουργία στελεχών σακχαρομύκητα στα οποία έχουν απενεργοποιηθεί όλα τα γονίδια (collection of yeast deletion strains)

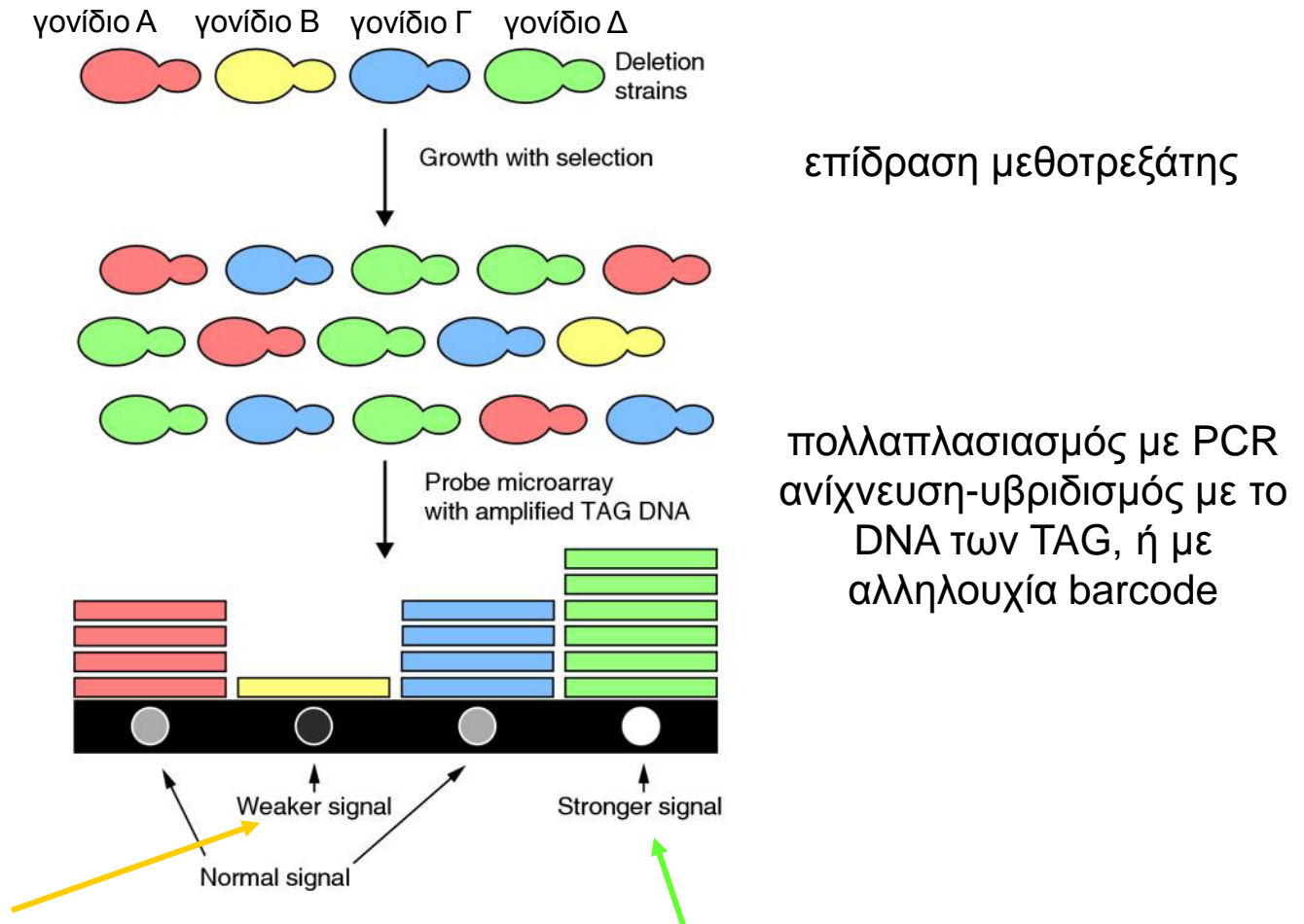
κάθε γονίδιο έχει αντικατασταθεί με αναπληρωματική κασέτα

Σχηματική απεικόνιση αναπληρωματικής κασέτας



- Αναγνώριση γονιδίων που αποτελούν στόχους διαφόρων φαρμάκων π.χ. προσδίδουν ανθεκτικότητα ή ευαισθησία σε φάρμακα
- Ταυτοποίηση γονιδίων που συμμετέχουν σε μονοπάτια μετάδοσης σήματος

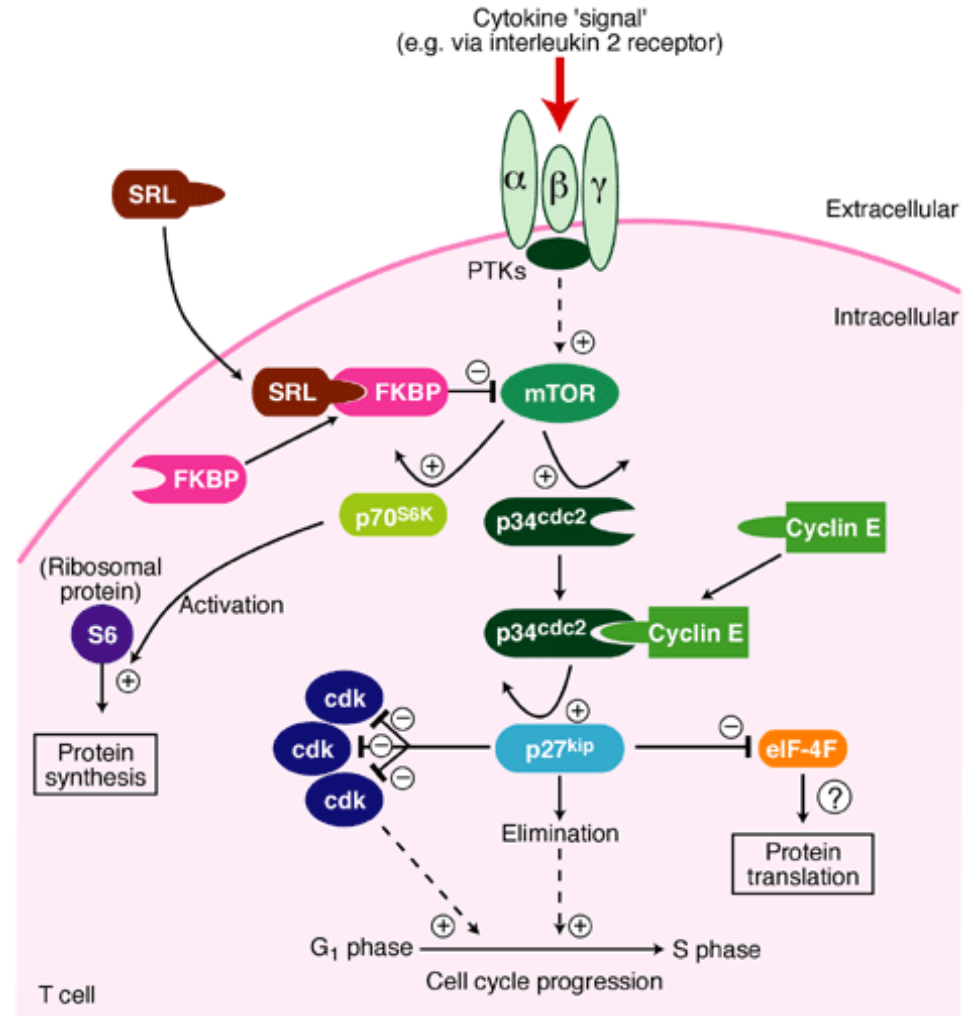
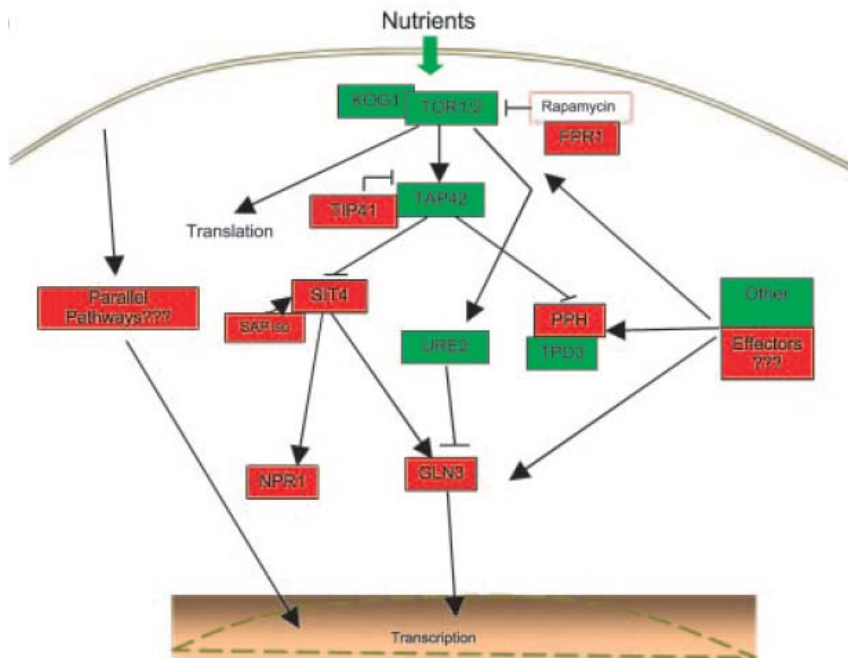
Αναγνώριση των γονιδίων του μύκητα που σχετίζονται με την απόκριση στο φάρμακο μεθοτρεξάτη



ταυτοποίηση γονιδίων που προσδίδουν ανθεκτικότητα σε μεθοτρεξάτη

ταυτοποίηση γονιδίων που προσδίδουν ευαισθησία σε μεθοτρεξάτη

Μονοπάτι δράσης ραπαμυκίνης (sirolimus)



Στόχος της Φαρμακογενωμικής: «εξατομικευμένη ιατρική»

- να περιορίσει την ποικιλομορφία στην απόκριση ασθενών σε θεραπεία που προκαλείται λόγω δομικού πολυμορφισμού γονιδίων
- να οδηγήσει στην παραγωγή ασφαλών και αποτελεσματικών φαρμάκων, προσαρμοσμένα σε γενετικά προσδιορισμένους υποπληθυσμούς

