

Zkušenosti s diagnostikou

cytochromu P450 ve VFN

Významným problémem současné farmakoterapie je vysoká interindividuální variabilita lékové odpovědi vedoucí k potenciálním projevům toxicity nebo naopak k selhání léčby. Nemožnost předpovídat reakci na podané léčivo vede často k dávkování, které není optimální pro každého pacienta. Na farmakoterapii má vliv řada faktorů, ale významným zdrojem variability účinků léčiv jsou genetické faktory organismu predisponující každého jedince k pro něj charakteristické odpovědi na léčbu. Genetické vlohly modulují jak citlivost organismu k podávaným léčivům, tak i k schopnosti organismu léčiva metabolizovat a eliminovat.

Padesát dva let od objevu struktury DNA pořídila Všeobecná fakultní nemocnice v Praze diagnostickou metodu AmpliChip pro stanovení geneticky podmíněných změn rychlosti metabolismu cytochromu P450 2D6 a 2C19. Tyto dvě metabolické cesty se podílejí na odbourávání přibližně

30 % běžně používaných léčiv. Mezi jejich substráty (tzn. léčiva odbourávaná těmito proteiny) patří např. některé beta blokátory, antiarytmika antidepresiva a antipsychotika, analgetika nebo inhibitory protonové pumpy. Seznam léčiv-substrátů je uveden v tabulce 1.

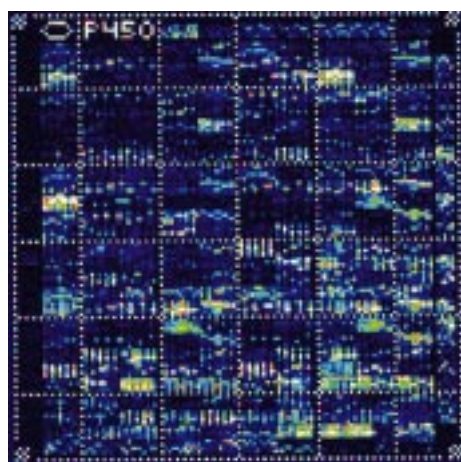
Oba dva geny CYP2D6 i CYP2C19 jsou funkčně polymorfni, což znamená, že u části populace nacházíme kompletní deficit příslušné metabolické cesty (pomalí metabolizátoři), u části populace nekompletní deficit (střední nebo intermediární metabolizátoři) a část populace má aktivi-

Betablokátory	Antidepresiva	Antipsychotika	Antihypertenziva	Ostatní	
Karvedilol	Amitriptylin	Aripiprazol	Kaptopril	Indometacin	Ondansetron
Metoprolol	Citalopram	Atomoxetin (Tomoxetin)		Kodein	Metoclopramid
Timolol	Fluoxetin	Klozapin		DHkodein	
Trimepranol	Fluphenazine	Diazepam		Oxykodon	Deprenyl
	Fluvoxamin	Haloperidol	Chinidin	Tramadol	Galanthamin
	Imipramin	Chlorpromazin	Mexiletin	Pethidin	
	Imipramin	Maprotilin	Propafenon		Progesteron
	Klomipramin	Perfenazin		Karisoprodoal	Testosteron
	Mianserin	Risperidon			
	Moklobemid	Zotepin	Antivirotika	Dextromethorfan	Isoniazid
	Nortriptylin	Zuklopenthixol	Nelfinavir	Ethylmorphin	Rifampicin
	Paroxetin		Ritonavir		
	Sertralin			Cinnarizin	
	Venlafaxin			Chlorpheniramin	R-warfarin(8-OH)
				Lidokain	
Inhibitory protonové pumpy					
Omeprazol			Cytostatika		
Lansoprazol		Antiepileptika	Paklitaxel		
Pantoprazol		Fenobarbital	Tamoxifen		
		Fenytoin	Vinblastin		
			Cyklofosfamid		
Příklady léků, o kterých hovoříme					

Tab. 1: Přehled léčiv, jejichž rychlost odbourávání je vyšetřována pomocí metody AmpliChip

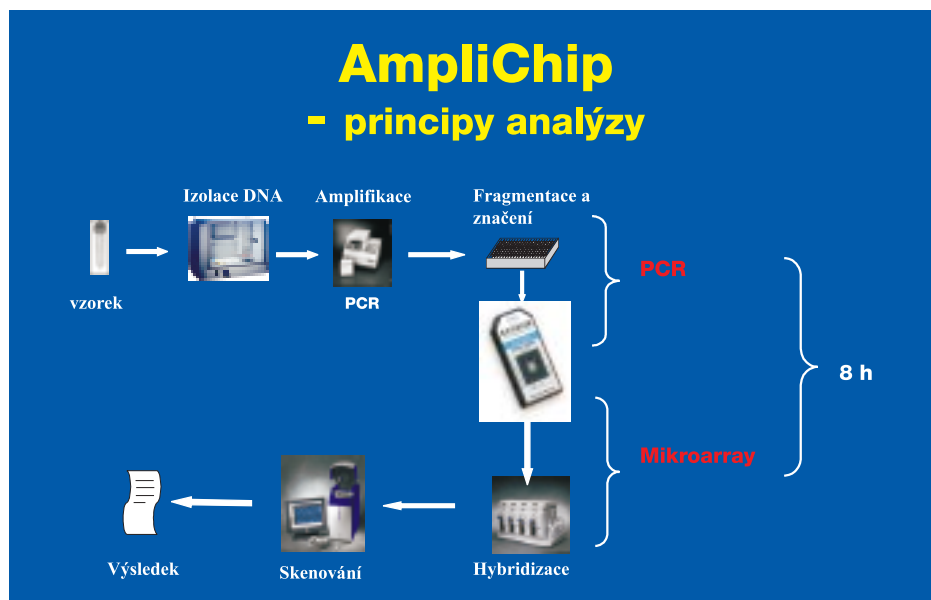
tu enzymu „normální“ nebo očekávanou (rychlí metabolizátoři). U CYP2D6 se ještě můžeme setkat s tzv. ultrarychlými metabolizátory, lidmi s extrémě vysokou aktivitou enzymu. Při podávání obvyklých dávek léčiv dochází u lidí s deficitem metabolických cest a potažmo zpomalené eliminaci příslušných léčiv k jejich kumulaci a vysokým koncentracím v cílových tkáních, které vedou k projevům toxicity a nežádoucích účinků. Naopak u lidí s nadměrně rychlým metabolizmem léčiv nedochází k ustavení účinných koncentrací léčiva a podávání běžných dávek bývá proto neúčinné.

Diagnostický postup AmpliChip je vychází z detekce 25 polymorfizmů (mutací) v genu CYP2D6 a dvou v genu CYP2C19 pomocí metodiky založené na polymerázové řetězové reakci (PCR), během níž je namnožen příslušný úsek DNA s následnou hybridizací označených fragmentů se specifickými oligonukleotidy - sondami (obrázky 1, 2). Digitální obraz vznikající oskenováním mikroarraí (obr. 3) je poté počítačovým programem zpracován a výstupem je protokol s uvedeným genotypem pacienta.

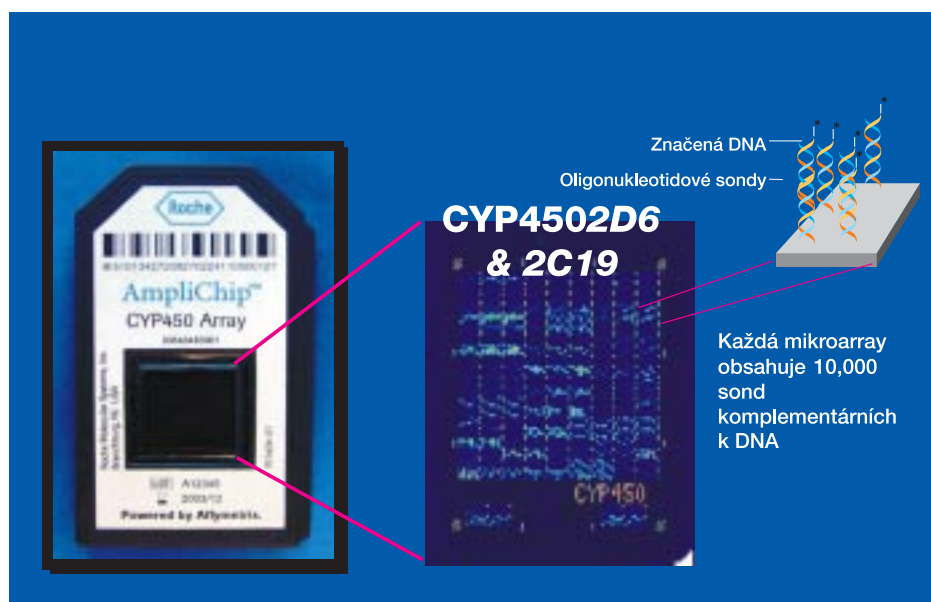


Obr. 3: Digitální podoba naskenované mikroarray

Z literárních dat vyplývá, že asi 60 % léčiv často způsobujících nežádoucí účinky je odbouráváno nějakou polymorfní enzymatickou cestou. Přitom dvě třetiny z těchto látek prochází metabolizmem CYP2D6. Polymorfismus tohoto enzymu je tak považován za velmi významný rizikový faktor pro ne zcela optimální toleranci léčiva v běžné populaci. Naše dosavadní zkušenosti jsou v souladu s těmito zkušenostmi. K vyšetření genů CYP2D6 a CYP2C19 jsou na naše pracoviště odesílány vzorky krve od pacientů, u kterých

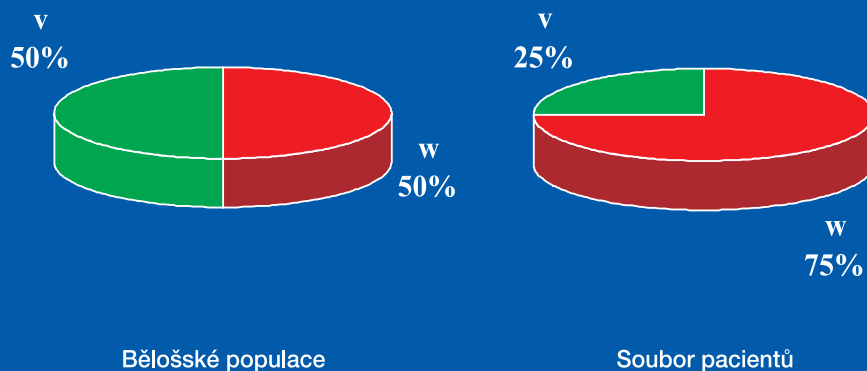


Obr. 1: Principy analýzy pomocí metody AmpliChip



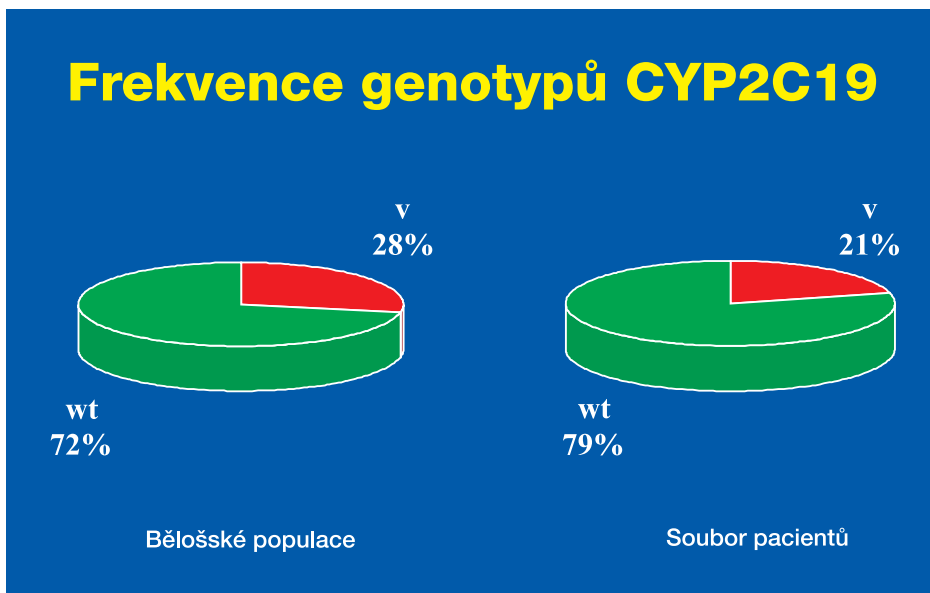
Obr. 2: Struktura mikroarray čipu

Frekvence genotypů CYP2D6



Obr. 4: Frekvence výskytu genotypů bez přítomnosti polymorfizmů (wt) a s přítomností funkčních polymorfizmů v genu CYP2D6 (v) v souboru pacientů a bělošských populacích.

se vyskytují nežádoucí účinky nebo naopak neúčinnost léčiv. Přibližně další polovinu tvoří vyšetření prováděná jako preventivní před nasazením léčby substráty jedním z těchto enzymů s cílem individualizovat počáteční dávky léčiv na základě genetických predispozic. Z prvních 60 pacientů vyšetřených metodou AmpliChip mělo 75 % pacientů v genu CYP2D6 nějaký funkční polymorfismus nebo mutaci vedoucí buď k částečnému nebo kompletnímu deficitu aktivity jaterního enzymu. V neselektovaných bělošských populacích se vyskytuje asi 50 % jedinců, kteří mají v genu CYP2D6 funkční polymorfismy (obrázek 4). Navíc výskyt pomalých metabolizátorů s kompletním deficitem CYP2D6 byl v souboru pacientů přibližně dvojnásobný ve srovnání s běžnou bělošskou populací. Výskyt genetických variant vedoucích k fenotypu ultrarychlého metabolizátora nebyl ve srovnávaných souborech odlišný, což může být způsobeno malou velikostí souborů s ohledem na relativně nízkou frekvenci výskytu těchto polymorfismů v bělošských populacích (1-5 %).



Obr. 5: Frekvence výskytu genotypů bez přítomnosti polymorfismů (wt) a s přítomností funkčních polymorfismů v genu CYP2C19 (v) v souboru pacientů a bělošských populacích.

Naopak výskyt genetických polymorfismů v genu CYP2C19 se příliš neliší mezi souborem pacientů a bělošskými populacemi, kde bývá asi 25 % jedinců, kteří mají v genu funkční polymorfismus snižující aktivitu enzymové aktivity (obrázek 5). I naše dosavadní zkušenosti tedy potvr-

zují literární údaje o významu geneticky podmíněných deficitů odbourávání léčiv cytochromem P450 pro snášenlivost a účinnost podávaných léčiv.

Použitá literatura je na vyžádání u autorů.

Význam IVD diagnostiky ve zdravotní péči - II. Diagnostické Fórum Roche Diagnostics

Ve dnech 21.-23.června 2006 se v Budapešti konalo již druhé Diagnostické Fórum, které pro přední odborníky v laboratorní diagnostice pořádala společnost Roche Diagnostics.

Podle slov dr. M. Heuera (Roche Diagnostics), která zazněla v úvodu fóra, tvoří náklady na diagnostické procesy asi 4 % všech výdajů na zdravotní péči ve světě. Laboratorní medicína si přitom ukrajuje jen 1 % všech vydaných prostředků. Dalších 15 % výdajů jde na vrub léků a zbývajících 81 % jsou ostatní náklady na zdravotní péči. Propočty hovoří o 2500 miliardách USD celkových celosvětových nákladů na zdravotnictví.

Z. Gaciong z FN ve Varšavě ve své přednášce upozornil na to, jak může in

vitro diagnostika přispět k odhalení etiologie náhle vzniklých potíží, i na prognostickou výpověď kardiálních markerů (troponiny, natriuretické peptidy) při nejčastějších důvodech neodkladné hospitalizace: bolest na hrudi, dyspnoe, synkopy a arytmie. Zdůraznil ekonomický přínos včasné a správné diagnostiky - zkrácení doby hospitalizace, času na diagnózu, snížení zbytečných příjetí na JIP a celkové snížení nemocničních nákladů.

H. Wenzel (Roche Diagnostics) se věnoval skutečnému významu in vitro diagnostiky při managementu diabetu ve smyslu její užitné hodnoty pro pacienta, ale i ekonomickému významu vzhledem ke komplexním nákladům na léčení.

V. Palička z FN Hradec Králové se za-

měřil na přínos rychlé identifikace původce sepse pomocí testu SeptiFast, založeném na technologii PCR. Každý den na světě zemře kolem 1400 lidí na sepsi, celkově je to až 18 milionů případů za rok. Čas hraje v rozvoji nemoci kritickou roli, sepse má rychlý progres. SeptiFast přináší do diagnostiky sepse nové možnosti, je velmi rychlý a nabízí široké spektrum detekce mikroorganismů ve stejném čase. Vyšší cena SeptiFastu je více než vybalancována klinickými potřebami a celkovými náklady na nemocniční léčbu.

Y. Dickstein z Izraele ve svém sdělení zhodnotil význam self monitoringu v antikoagulační léčbě a prokazatelný přínos CoaguChek XS.