

RODINA GENŮ CYP450 A METABOLISMUS LÉKŮ

Cytochrom P450 je rodina genů, která se nachází téměř u všech živých bytostí na zemi. Odhaduje se, že tyto geny, které hrají důležitou roli v metabolismu, existují již více než 3.5 miliardy let.

U lidí se enzymy kódované geny CYP450 nacházejí primárně v játrech, kde metabolizují léky, toxiny a jiné cizorodé látky, které se dostanou do organismu. V procesu zvaném “oxidativní metabolismus,” zvyšují enzymy P450 rozpustnost cizorodých látek ve vodě, aby usnadnily jejich vyloučení z organismu. U léků tento proces ovlivňuje hladiny terapeutických složek v krvi tím, že urychlují jejich vylučování; v některých případech je to však i nezbytný krok při němž dochází k přeměně neaktivního prekurzoru léku na jeho aktivní metabolit.

Genetické a negenetické faktory mohou ovlivnit metabolismus

Mezi mnohými zástupci velké rodiny genů cytochromu P450 je několik enzymů v rodině CYP2 a CYP3, které jsou považované za obzvlášť důležité v metabolismu léků. Každý má odlišné vlastnosti, které určují zda jejich analýza může mít klinický význam pro volbu léčby nebo dávkování. Například enzym CYP3A4 se nachází v mnohem větším množství v játrech a účastní se metabolismu mnohem více léků než ostatní. Enzymová aktivita CYP3A4 je však více ovlivněna faktory prostředí jako např. dieta a užívané léky než dědičností. Naproti tomu enzymová aktivita CYP2D6 může být z velké části ovlivněna dědičností jakož i užívanými léky, které mohou enzymovou aktivitu snižovat a tím snížit nebo zvýšit účinnost léků a jejich

nežádoucí účinky. Rozdíly v enzymové aktivitě CYP450 bez ohledu na jejich příčiny (dědičné vlivy nebo faktory prostředí, jako dietní zvyky, užívané léky, pohlaví, věk, celkový zdravotní stav,

hormony, jaterní nemoci, zánět, výživa, těhotenství a jiné) mohou ovlivnit dostupnost léků v organismu. Jinými slovy, rozdíly v enzymové aktivitě CYP450 mohou ovlivnit to, zda hladina léku v krvi dosáhne požadovanou terapeutickou hladinu a také to jak rychle se z organismu odstraní. Výsledkem mohou být významné rozdíly v tom, jak pacienti odpovídají na léčbu, zejména ti pacienti, kteří jsou léčeni mnoha léky současně.

Geny CYP2D6 a CYP2C19

Rozsáhlé výzkumné údaje dokazují, že vrozené dědičné odchylky v genech CYP2D6 a CYP2C19 mohou hrát důležitou roli v tom, jak pacienti metabolizují a tím jak odpovídají na léčbu mnohými široce předepisovanými léky. Znalost těchto odchylek lze využít v individualizaci léčby jak volbou vhodnějšího léku, tak úpravou dávkování. Tyto opatření by měly zlepšit výsledek léčby snížením nežádoucích účinků léků a zvýšením účinnosti léků. Dalším využitím by mohla být stratifikace pacientů při klinických studiích ke stanovení účinnějšího a bezpečnějšího dávkování a určení genetické role CYP450 při vývoji nových léků.

Léky metabolizované CYP2D6 a CYP2C19

Enzymy kódované geny CYP2D6 hrají důležitou roli v metabolismu léků používaných v léčbě deprese, schizofrenie, bipolárních afektivních poruch, kardiovaskulárních nemocí léčených betablokátory, poruch pozornosti/hyperaktivní nemoci (ADHD) a dalších. Enzym kódovaný genem CYP2C19 metabolizuje mnohá antikonvulziva, inhibitory protonové pumpy, benzodiazepiny a antimalarika. Oba enzymy CYP2D6 a CYP2C19 se účastní metabolismu některých tricyklických antidepresiv používaných v léčbě deprese.

CYP2C19			
Inhibitory protonové pumpy	Antiepileptika	Jiné	
Omeprazol	Diazepam	Amitriptylin	
Lansoprazol	Phenytoin	Clomipramin	
Pantoprazol	Phenobarbiton	Cyclophosphamid	
		Progesteron	
CYP2D6			
Betablokátory	Antidepresiva	Antipsychotika	Jiné
Carvedilol	Amitriptylin	Haloperidol	Codein
Metoprolol	Clomipramin	Risperidon	Dextromethorphan
Propafenon	Desipramin	Thioridazin	Flecainid
Timolol	Imipramin		Mexiletin
	Paroxetin		Ondansetron
			Tamoxifen
			Tramadol
			Venlafaxine

Pacienti léčení léky, které jsou do velké míry metabolizované enzymy CYP2D6 a CYP2C19 mají zvýšené riziko lékové toxicity při běžném dávkování, zatímco ultra rychlí metabolizéři nemusejí dosáhnout terapeutických hladin stejných léků při standardním dávkování.

V případě prekursorů léčiv (léků, které vyžadují metabolickou enzymatickou přeměnu předtím, než se v organismu stanou aktivními látkami), se vyskytuje opačný fenomén a pomalí matabolizéři nemají z těchto léků účinek.

Geografická a etnická distribuce CYP2C19 a CYP2D6 polymorfismus

Genetické odchylky (nazývané polymorfismus) genů CYP2C19 a CYP2D6 jsou zastoupené u lidí z různého geografického původu a jejich potomků nerovnoměrně, s jistými druhy polymorfismu a alelami vyskytujícími se prakticky pouze v populaci jedné rasy. Přibližně 7% bílé rasy jsou pomalí metabolizéři CYP2D6, zatímco pouze kolem 1-2% asijské rasy a 2-4% afroamerické populace patří do stejné kategorie^{1,2}. Avšak vysoká prevalence několika alel se sníženou aktivitou jako např. CYP2D6*10 alela u asijské rasy (50% četnost alely), nebo alely CYP2D6*17 a CYP2D6*29 (přibližně 30% každá) v určitých afrických populacích, vede

¹ Bradford, L.D. 2002. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*. 3:229-243.

² Sachse, C., Brockmoller, J., Bauer, S., and Roots I. 1997. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *American Journal of Human Genetics*. 60:284-95.

k vysokému procentu středních metabolizérů s nízkou enzymovou aktivitou.

Přestože extrémní enzymová aktivita u pomalých a ultra rychlých metabolizérů má největší potenciální účinek na individuální citlivost na léky, bylo prokázáno, že i střední metabolizéři odpovídají na určité léky různým způsobem³. Naproti tomu přibližně 29% Etiopanů, 10% populace jižní Evropy, a 1-2% populace severní Evropy sdělilo duplikace genu CYP2D6, nebo jsou přenašeči duplikací genu CYP2D6 z nichž mnohé se projevují jako fenotyp ultra rychlých metabolizérů.¹

Naprostá většina pomalých CYP2C19 metabolizérů nese dvě běžné alely CYP2C19*2 a CYP2C19*3. Každá z těchto nulových alel je podložena jednonukleotidovým polymorfismem, který buď způsobuje defekt v komplementaritě nebo stop kodon. Tyto dvě alely jsou poměrně běžné v asijské populaci, kde přibližně 13-23% lidí má fenotyp pomalých metabolizérů. Fenotyp pomalých metabolizérů CYP2C19 je přítomný v přibližně 3-5% bílé nebo afroamerické populace.

AmpliChip CYP450 test

AmpliChip CYP450 test je prvním mikrodetektorovým farmakogenomickým testem k použití v diagnostice, využívá dva průmyslové “zlaté standardy” — Roche PCR a mikrodetektorovou technologii Affymetrix — k zjištění celkového genotypu CYP2D6 a CYP2C19 genů a předpovědět fenotyp enzymových aktivit s nimi spojených. Odchytky v těchto genech mohou vyústit ve změněnou enzymovou aktivitu.

Předpokládané fenotypy diagnostikované testem AmpliChip CYP450 zahrnují:

CYP2C19

- pomalý (žádná enzymová aktivita)
- extenzivní (“normální” enzymová aktivita)

³ Furman, K.D., Grimm, D.R., Mueller, T., Holley-Shanks, R.R., Bertz, R.J., et al. 2004 Impact of CYP2D6

CYP2D6

- pomalý (žádná enzymová aktivita)
- střední (snížená enzymová aktivita)
- extenzivní (“normální” enzymová aktivita)
- ultra-rychlý (vyšší než normální enzymová aktivita)

Výsledek je nazýván “předpokládaný fenotyp” protože ostatní vrozené vlivy nebo faktory prostředí mohou ovlivnit to, jak léky závislé na CYP2D6 a CYP2C19 jsou metabolizovány v organismu.

Aby bylo možné předpovědět fenotyp pacienta s velkou přesností, nabízí AmpliChip CYP450 test jedinečnou vlastnost detekovat nejen přítomnost duplikací genu CYP2D6, ale také rozlišit *kteřá* varianta genu (alela) byla duplikovaná. Tato specifická je důležitá pro správné předpovědění fenotypu ultra-rychlých metabolizérů a vyvarování se potenciálního nesprávného zařazení testovaných pacientů.

Stanovení fenotypů probíhá s pomocí následující tabulky, která ukazuje specifické genetické odchylky v různých kombinacích a výsledný předpokládaný fenotyp pro každý analyzovaný gen:

CYP2C19

Allele	1	2	3
1	E	E	E
2		P	P
3			P

- 1 Kombinace aktivity enzymů kódovaných dvěma CYP2C19 alelami určuje celkovou metabolickou aktivitu individua. Pro CYP2C19 existují dva fenotypy: pomalý metabolizéři (P) a extenzivní metabolizéři (E).**

CYP2D6

Allele	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	14A	14B	15	17	19	20	25	26	29	30	31	35	36	40	41	1XN	2XN	4XN	10XN	17XN	35XN	41XN			
1	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	U	U	E	E	E	E	U	E	
2		E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	U	U	E	E	E	E	U	E	
3			P	P	P	P	P	P	I	I	P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
4				P	P	P	P	P	I	I	P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
5					P	P	P	P	I	I	P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
6						P	P	P	I	I	P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
7							P	P	I	I	P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
8								P	I	I	P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
9									I	I	I	I	N	I	I	I	I	N	N	I	N	N	E	I	I	I	E	E	I	I	I	E	I			
10										I	I	I	N	I	I	I	I	N	N	I	N	N	E	I	I	I	E	E	I	I	I	E	I			
11											P	P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
14A												P	N	P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I			
14B													N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
15															P	I	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I		
17																I	I	I	N	N	I	N	N	E	I	I	E	E	I	I	I	E	I			
19																	P	P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I		
20																		P	N	N	I	N	N	E	I	P	I	E	E	P	I	I	E	I		
25																		N	N	N	N	N	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
26																		N	N	N	N	N	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
29																								I	N	N	E	I	I	I	E	E	I	I	E	I
30																								N	N	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
31																								N	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
35																									E	E	E	E	U	U	E	E	E	U	E	
36																									I	I	I	E	E	I	I	I	E	I		
40																										P	I	E	E	P	I	I	E	I		
41																											I	E	E	I	I	I	E	I		

2 Předpokládané fenotypy CYP2D6 založené na vrozeném genotypu.

Kombinace aktivity enzymů kódovaných dvěma CYP2D6 alelami určuje celkovou metabolickou aktivitu individua. Pro CYP2D6 gen

existují čtyři předpokládané fenotypy. Konkrétní fenotyp může být ovlivněn jinými vrozenými vlivy a faktory prostředí.

E	Extensive
I	Intermediate
P	Poor
U	Ultrarapid
N	Unknown

- **Extenzivní metabolizéři (EM)** – mají minimálně jednu a ne více než dvě normální funkční alely
- **Střední metabolizéři (IM)** – mají jednu alelu se sníženou aktivitou a jednu nulovou alelu
- **Pomalí metabolizéři (PM)** – nesou dvě mutantní alely, což znamená úplnou ztrátu enzymové aktivity
- **Ultra-rychlí metabolizéři (UM)** – obvykle nesou několik kopií (3-13) funkčních alel a výsledkem je excesivní enzymová aktivita

Závěr

Vůbec poprvé nabízí AmpliChip CYP450 test celkovou analýzu genů CYP2D6 a CYP2C19 — včetně identifikace duplikace alel konkrétních genů — v jediném mikrodetektorovém diagnostickém postupu.

