



# Medycyna personalizowana – nowa era diagnostyki i farmakoterapii

Zbigniew Gaciong

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Nadciśnienia Tętniczego i Angiologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

## Personalized medicine: a new era in diagnostics and therapy

### Summary

Many commonly used drugs are typically effective in only 40-60% of the patient population, but still substantial number of subjects experience serious adverse reactions and death directly related to drug use. Personalized medicine uses genomic and molecular data to better target the delivery of healthcare by helping to determine individual patient's response to certain therapies.

### Key words:

genomics, genetic polymorphism, evidence-based medicine, theranostics.

## 1. Wstęp

Współczesna praktyka kliniczna odwołuje się do zasad „medycyny opartej na faktach” (EBM, ang. *Evidence-Based Medicine*), która za podstawę w podejmowaniu decyzji uważa dane uzyskane w kontrolowanych badaniach klinicznych (RCT, ang. *Randomized Controlled Trials*) prowadzonych w sposób zapewniający maksymalną obiektywność i rzetelność oceny. Metodologia prób klinicznych stała się już odrębną dziedziną wiedzy, a ich prowadzenie i nadzorowanie – nauczaną umiejętnością, a same rezultaty badań uważa się za ostateczną wyrocznię w wyborze optymalnych metod w diagnostyce i terapii. Bez wątplenia upowszechnienie zasad EBM ułatwia lekarzowi-praktykowi postępowanie, zwłaszcza jeśli wnioski z badań przekładają się na zestaw konkretnych zaleceń. Można spotkać się nawet z opinią, że wprowa-

### Adres do korespondencji

Zbigniew Gaciong,  
Katedra i Klinika Chorób  
Wewnętrznych,  
Nadciśnienia Tętniczego  
i Angiologii,  
Warszawski Uniwersytet  
Medyczny,  
ul. Banacha 1a,  
02-097 Warszawa;  
e-mail:  
zgaciong@hotmail.com

**biotechnologia**

MONOGRAFIE

5 (2009)

dzenie do medycyny reguły: „badania kliniczne – wytyczne – edukacja” ma podobne znaczenie jak wynalazek stetoskopu w roku 1816 czy elektrokardiografu w 1902 r. (W. Bruce Fye –prezydent Amerykańskiego Kolegium Kardiologów) – (1). Dzięki temu medycyna kliniczna przestała być obszarem spekulacji i indywidualnych szkół poglądów, ale stała się prawdziwą nauką ścisłą, która oferuje chorym najlepsze, sprawdzone metody, oparte na racjonalnych podstawach.

## 2. Wady podejścia opartego na EBM

Za szczególnie znaczące dla praktyki uważa się te badania, które obejmują liczną grupę chorych (*megatrials*) – ich wyniki mogą na lata kształtować zasady postępowania wobec pacjentów ze zdefiniowanym problemem klinicznym. Włączenie do badania dużej liczby chorych, która w niektórych próbach klinicznych sięga nawet 44 000 osób (ALLHAT) posiada szereg korzyści. Po pierwsze, liczna grupa badana zwiększa szansę uzyskania „statystycznie znaczącej” różnicy pomiędzy efektami testowanych metod postępowania. Po drugie, szerokie kryteria włączenia chorych do próby uzasadniają późniejsze liczne wskazania dla stosowania „wygranej” terapii, na czym szczególnie zależy sponsorom badań.

Jednak jeśli dla osiągnięcia zauważalnego efektu terapii konieczne jest włączenie do obserwacji ogromnej liczby chorych powstaje wątpliwość dlaczego podobnego wyniku nie udaje się osiągnąć w mniejszej grupie? Jednym z potencjalnych powodów może być „rozcieńczenie” wyniku przez pacjentów, którzy brali udział w badaniu, lecz nie odnieśli korzyści z terapii. Zasady EBM zalecają metody postępowania, które okazały się „statystycznie” lepsze. Wiadomo jednak, że pacjenci z tą samą chorobą różnią się odpowiedzią na zastosowaną terapię, jak również ryzyko rozwoju działań niepożądanych stosowanych leków bywa różne. Pomimo, „średnio” pozytywnego wyniku w grupie chorych włączonych do badania znajdują się także osoby bez korzystnych efektów zastosowanej terapii czy pacjenci, u których wystąpiły groźne powikłania. Bez wątplenia, każdy lekarz chciałby wiedzieć, który z jego pacjentów odniesie szczególne korzyści z proponowanej terapii. Oczywiście, wyniki kontrolowanych badań klinicznych mogą być analizowane w odniesieniu do wybranych podgrup pacjentów różniących się wiekiem, płcią, charakterystyką kliniczną itp. Jednak poszukiwanie subpopulacji o lepszej lub gorszej odpowiedzi na stosowaną terapię opartą na retrospektywnej ocenie danych niesie ze sobą niebezpieczeństwo znalezienia przypadkowych – „statystycznych” związków, bez znaczenia klinicznego (2).

Stosowanym do tej pory rozwiązaniem jest włączenie do prób klinicznych względnie homogennych grup chorych o ściśle zdefiniowanych parametrach. Zwykle, wybór populacji badanej wykorzystuje wcześniejsze dane z obserwacji epidemiologicznych, które zidentyfikowały potencjalne czynniki ryzyka chorób. Do klasycznych przykładów należą badania z lekami obniżającymi stężenie cholesterolu we krwi (statynami), które najpierw prowadzono wyłącznie u pacjentów z hiperlipi-

demią. Ostatnio, na podstawie wyników badań JUPITER, wykazano, że znaczącą korzyść z terapii rosuwastatyną odnoszą także chorzy, którzy przy braku znaczącej hipercholesterolemii mieli zwiększone stężenie białka C-reaktywnego w surowicy (3). Co warte zauważenia, autorzy badania nie włączali do niego pacjentów z Azji, gdzie często występuje, uwarunkowana genetycznie, mała aktywność polipeptydu transportującego organiczne aniony (OATP1B1), wpływająca na biodostępność stosowanej statyny (4).

### **3. Badania nad ludzkim genomem – podstawa dla medycyny personalizowanej**

Zasada personalizowanej medycyny czyli „właściwy lek dla właściwego chorego we właściwym czasie” praktykowana jest nieomal od zarania dziejów. Hipokrates (V wiek p.n.e.), korzystając z teorii Empedoklesa, przyczyn chorób doszukiwał się w zaburzeniach pomiędzy czterema podstawowymi humorami organizmu i odpowiednio do nich zalecał terapię. Współcześnie, decyzję o rozpoczęciu leczenia uzależniamy od wartości ciśnienia tętniczego, stężenia cholesterolu, poziomu PSA, liczby kopii wirusa we krwi i wielu innych parametrów. Zwykle parametry te wskazują na wielkość ryzyka lub stopień zaawansowania schorzenia, lecz nie informują o tym jak chory zareaguje na zaproponowaną terapię. W niektórych specjalnościach medycznych, jak w onkologii, analiza zróżnicowania nowotworów oparta na stopniowaniu klinicznym, czy charakterystyce fenotypowej stała się rutynową metodą dla wyboru najbardziej skutecznej terapii. W onkologii, po raz pierwszy zastosowano w praktyce osiągnięcia farmakogenomiki, czyli zależności efektu terapii od czynników genetycznych.

Jednak dla większości chorób, zwłaszcza tych, które dominują wśród przyczyn zgonów, jak schorzenia układu krążenia, postępowanie z konkretnym pacjentem pozostaje w niewielkim stopniu „personalizowane”. Tymczasem od dawna wiadomo, że czynniki genetyczne warunkują efekty terapii tych chorób, przykładowo osoby rasy czarnej z niewydolnością serca mają gorsze wyniki terapii beta-adrenolitykami i inhibitorami konwertazy angiotensyny niż przedstawiciel rasy białej (5,6). Podobnie, Afroamerykanie wykazują mniejszą redukcję ciśnienia tętniczego w przebiegu terapii nadciśnienia tętniczego lekami blokującymi układ renina-angiotensyna.

Podstawowym źródłem zmienności wewnątrz naszego gatunku są różnice w obrębie genomu najczęściej związane z polimorfizmem pojedynczych nukleotydów czy zmienną liczbą kopii genów. Zakończenie sekwencjonowania ludzkiego DNA rozpoczęło erę poszukiwania związku pomiędzy indywidualnymi różnicami w genie a odpowiedzią na wybrane leki.

Dzięki metodom wysoko wydajnego sekwencjonowania DNA na wielką skalę i zastosowaniu mikromacierzy DNA zawierających nawet 2 miliony sond genetycznych, w ostatnich latach obserwujemy znaczące przyspieszenie w badaniach farma-

kogenetycznych. Praktycznie, nie ma już działu medycyny, w którym nie poszukuje się wariantów genów, które wiążą z typem odpowiedzi na terapię. W niektórych nowotworach, diagnostyka molekularna staje się niezbędnym warunkiem do wdrożenia odpowiedniego rodzaju leczenia. Przykładowe, poznane polimorfizmy genetyczne, które wpływają na odpowiedź na określone leki umieszczone zostały w tabeli. W tabeli przedstawiono korzyści personalizowanej medycyny w odniesieniu do najbardziej powszechnych chorób układu krążenia.

Tabela

## Polimorfizmy genetyczne związane z odpowiedzią na niektóre leki (wg 7, zmodyfikowane)

Gen	Białko	Allel	Wpływ na fenotyp
<i>BZAR</i>	receptor $\beta_2$ -adrenergiczny	Arg16/Gly	zmniejszona odpowiedź na $\beta_2$ mimetyki
		Gln27/Glu	zwiększona odpowiedź na $\beta_2$ mimetyki
<i>BIAR</i>	receptor $\beta_1$ -adrenergiczny	R389G	zwiększona odpowiedź na $\beta$ -adrenolityk
<i>ALOX5</i>	5-lipoksygenaza	GGGCGG	zmniejszona odpowiedź na leukotrieny
<i>LTC4S</i>	syntaza leukotrienu C4	A2444C	zwiększona odpowiedź na zafirlukast u C/A;CC
<i>GNB3</i>	białko G B3	C825T	zwiększona odpowiedź na sibutraminę u nosicieli T/C;TT
<i>LIPC</i>	lipaza wątrobowa	C514T	zmniejszona odpowiedź na statyny u nosicieli T/C;T/T
<i>UGT1A1</i>	transferaza 1A1UDP-glukoronozylowa	UGRA1*28	zwiększona toksyczność irynotekanu
<i>TYMS</i>	syntaza tymidyny	TSER*2/*3	zmniejszona odpowiedź na 5-fluorouracyl
<i>MTHFR</i>	reduktaza metyleno tetrahydrofolianów	C677T	zwiększona toksyczność methotreksatu
<i>ABCB1</i>	glikoproteina P- -1 (MDR1)	C343T	zmniejszona odpowiedź na leki przeciwpadaczkowe
<i>AGT</i>	angiotensynogen	M235T	zwiększona odpowiedź na leki hipotensyjne
<i>DRD3</i>	receptor dopaminy D3	S9G	zmniejszona odpowiedź na klozapinę
<i>HTR2A</i>	receptor serotoniny 2A	H452Y	zmniejszona odpowiedź na klozapinę
<i>HLA-B*</i>	antygen HLA-B	570I	nadwrażliwość na abakawir
<i>HLA-B*</i>	antygen HLA-B	1502	nadwrażliwość na karbamazepinę
<i>VKORC1</i>	podjednostka 1 kompleksu epoksyreduktazy wit K	A/A, A/G	odpowiedź na warfarynę
<i>CYP2C9</i>	cytochrome P450	3*/3*	odpowiedź na warfarynę

#### 4. Możliwości zastosowania farmakogenomiki w terapii chorób układu krążenia

Na podstawie obserwacji klinicznych wskazuje się, że najczęściej stosowane w terapii leki jak statyny, środki przeciwnadciśnieniowe, antyarytmiczne czy przeciwkrzepliwie różnią się skutecznością u poszczególnych chorych. Niestety, jedynie w nielicznych przypadkach udało się zidentyfikować wariant genetyczny związany

z typem odpowiedzi. Niejednokrotnie, początkowe doniesienia nie znalazły potwierdzenia w dalszych pracach. Jednym z pierwszych zidentyfikowanych, a z pewnością najczęściej badanych, był polimorfizm genu konwertazy angiotensyny (ACE). Rigat i wsp. (8) wykryli istnienie polimorfizmu w obrębie 16. intronu genu dla ACE polegającego na obecności (lub nie) fragmentu zawierającego 287 par zasad. Obecność fragmentu definiuje allel *I* natomiast jego brak – allel *D*, stąd genotyp ACE określa się jako *DD*, *DI* lub *II*. Homozygoty *DD* wykazują dwukrotnie wyższą aktywność enzymu aniżeli homozygoty *II*, podczas gdy heterozygoty *DI* wykazują pośrednią wartość aktywności. Allel *D*, jak się wydaje, warunkuje podwyższoną aktywność ACE nie tylko w osoczu, ale również i w tkankach. Przyppuszczenie takie potwierdzają wyniki oznaczania aktywności enzymu w hodowlach komórkowych i homogenatach fragmentów serc ludzkich. W rozlicznych badaniach opisywano związek pomiędzy nosicielstwem allelu *D*, a zwiększonym ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych i przyspieszoną progresją do niewydolności nerek (9). Jednakże wiele z wykrytych zależności, jak się wydaje, miało charakter wyłącznie statystyczny, bez związku skutkowo-przyczynowego.

Większe znaczenie praktyczne mają badania genotypu u osób z wrodzonym wydłużeniem zespołu QT (ang. *Long QT Syndrome*). Cechy kliniczne tego zespołu związanego ze zwiększonym ryzykiem nagłego zgonu są podobne, ale różnice genetyczne znacząco wpływają na wybór terapii. Typ LQT-1 wywołany mutacją kanału potasowego (gen *KVLQT1*) odpowiada na beta-adrenolityki, podczas gdy w typie LQT-3 związanym z defektem kanału sodowego (gen *SCN5A*) taka terapia może pogorszyć objawy i zalecane są leki takie jak flekainid. Stąd strategia terapeutyczna w zespole długiego QT jest narzucona oznaczeniem genotypu (10).

W badaniach epidemiologicznych dokumentuje się narastającą zapadalność na niewydolność serca. Szacuje się, że spośród osób powyżej 70. roku życia 10% cierpi na tę chorobę. Przyczyną epidemii niewydolności serca jest postępujące starzenie się społeczeństwa oraz postępy kardiologii inwazyjnej, dzięki czemu coraz mniej chorych umiera w okresie ostrym zawału. Niestety rokowanie rozpoznanej niewydolności pozostaje nadal poważne, połowa chorych nie przeżywa 5 lat od chwili postawienia diagnozy, a ich jakość życia bywa gorsza od pacjentów z zaawansowaną chorobą nowotworową. Beta-adrenolityki należą do podstawowych leków wydłużających życie pacjentów i zmniejszających ryzyko powikłań choroby. Jednak w jednym z dużych badań klinicznych (BEST) stosowany w próbie bucindolol nie wpływał w znaczący sposób na rokowanie pacjentów z niewydolnością serca. Receptor typu beta 1 jest głównym receptorem adrenergicznym występującym w błonie komórkowej kardiomiocytów. W pozycji 1165 występuje często tranzycja pojedynczego nukleotydu (SNP), która powoduje kodowanie argininy lub glicyny w pozycji 389 aminokwasu, znajdującej się w konserwatywnej części białka. Szacuje się, że w populacji 50% osób jest homozygotami wariantu Arg-389. Na podstawie badań komórek transfekowanych genem *B1AR* pokazuje się, że wariant Arg-389, w przeciwieństwie do Gly-389, powoduje bardziej nasiloną odpowiedź komórki na stymulację receptora beta 1.

W wyniku ponownie przeprowadzonej analizy wyników badania BEST wykazano 34% redukcję ryzyka zgonu i powikłań związanych z niewydolnością serca w wyniku terapii bucynololem, czego nie stwierdzono w grupie chorych, nosicieli allelu Gly-389 (11). Obecnie FDA rozpatruje wniosek o rejestrację wskazania dla bucynololu w terapii niewydolności serca opartej na analizie genotypu.

Wiele leków ulega metabolizmowi w organizmie poprzez utlenianie przy udziale enzymów rodziny CYP450. U człowieka wykryto 57 genów kodujących te białka, przy czym największe znaczenie mają trzy rodziny genów – *CYP1*, *CYP2* i *CYP3*. Niektóre z poznanych wariantów genów rodziny CYP450 kodują enzymy o krańcowo różnej aktywności. Wiadomo, że te właśnie różnice powodują, że kilka procent dorosłych należy do grupy słabo metabolizującej leki. Uwarunkowane genetycznie różnice w metabolizmie są szczególnie ważne dla leków o wąskim oknie terapeutycznym, gdzie szczególnie łatwo może dojść do groźnego przedawkowania (leki przeciwkrzepliwe) lub nieskuteczności leku (środki immunosupresyjne u biorców przeszczepu). Dlatego w wymienionych sytuacjach konieczne staje się systematyczne monitorowanie stężenia lub aktywności leku we krwi pacjenta.

Międzynarodowe konsorcjum przeprowadziło analizę skuteczności terapii dostnym lekiem przeciwkrzepliwym warfaryną na bazie algorytmu postępowania opartym na oznaczaniu genotypu. Autorzy, poza genem *CYP2C9* oznaczali także polimorfizm innego genu warunkującego metabolizm warfaryny – kompleksu reduktazy witaminy K (*VKORC1*). Na podstawie analizy genotypu można było znacznie szybciej zidentyfikować osoby wymagające większych dawek leku, dzięki czemu można było zmniejszyć ryzyko nieskutecznej antykoagulacji (11).

## 5. Teradiagnostyka – nowa era diagnostyki i terapii

Medycyna personalizowana jeszcze bardziej zbliża do siebie diagnostykę i terapię, stąd proponuje się wprowadzenie nowego terminu „teranostyka” (teradiagnostyka) od połączenia tych dwóch słów. Bez wątplenia, nawet bez powszechnej akceptacji nowej nazwy diagnostyka na poziomie molekularnym będzie podstawą do podejmowania określonych decyzji terapeutycznych wobec rosnącej grupy chorych. Pogląd ten w wielu krajach został zaakceptowany nie tylko przez lekarzy, ale także polityków. W marcu 2007 r., senator ze stanu Illinois – Barack Obama złożył w Kongresie USA projekt nowej ustawy, która ma zapewnić dostęp do personalizowanej medycyny wszystkim Amerykanom. Celem nowej ustawy jest rozszerzenie i przyspieszenie badań nad genomem w celu udoskonalenia metod rozpoznawania chorób, zwiększenia bezpieczeństwa leków i znalezienia nowych sposobów terapii.

## Literatura

1. Fye W. B., (2003), *J. Am. Coll. Cardiol.*, 41, 1237-1242.
2. Pfeffer M. A., Jarcho J. A., (2006), *N. Eng. J. Med.*, 354, 1744-1746.
3. Ridker P. M., Danielson E., Fonseca F. A.H., et al., (2008), *N. Engl. J. Med.*, 359, 2195-2207.
4. Lee E., Ryan S., Birmingham B., et al., (2005), *Clin. Pharmacol. Ther.*, 78, 330-341.
5. Exner D. V., Dries D. L., Domanski M. J., Cohn J. N., (2001), *N. Engl. J. Med.*, 344, 1351-1357.
6. The Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial Investigators, (2001), *N. Engl. J. Med.*, 344, 1659-1667.
7. Grant S. F.A., Hakonarson H., (2007), *Expert. Rev. Mol. Diagn.*, 7, 371-393.
8. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F., Cambien F., Corvol P., Soubrier F., (1990), *J. Clin. Invest.*, 86, 1343-1346.
9. Gaciong Z. A., Religa P., Placha G., Rell K., Pączek L., (1995), *Lancet*, 346, 570.
10. Schwartz P. J., Priori S. G., Spazzolini C., et al., (2001), *Circulation*, 103, 89-95.
11. Liggett S. B., Mialet-Perez J., Thaneemit-Chen S., Weber S. A., Greene S. M., Hodne D., Nelson B., Morrison J., Domanski M. J., Wagoner L. E., Abraham W. T., Anderson J. L., Carlquist J. F., Krause-Steinrauf H. J., Lazzeroni L. C., Port J. D., Lavori P. W., Bristow M. R., (2006), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 1288-1293.
12. The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium, (2009), *N. Eng. J. Med.*, 360, 753-764.