

# FARMAKOGENETIKA, FARMAKOGENOMIKA ÉS GYÓGYSZERKUTATÁS

Arányi Péter

a biológiai tudomány doktora, Chinoín Rt. – peter.aranyi@sanofi-synthelabo.com

A biológia tudományának rohamos fejlődése következtében a gyógyszerkutatásban fontos új fogalmak születtek a múlt század 90-es éveiben (1. táblázat), melyeket egyre gyakrabban olvashatunk a tudományos ismeretterjesztő irodalomban, sőt a napi sajtóban is. Jelen közlemény szempontjából legfontosabb a címben is szereplő farmakogenomika, egy születőben lévő alkalmazott tudományág neve.

Igen régóta ismert, hogy egyes betegségek iránti hajlam öröklődő, tehát genetikailag meghatározott tulajdonság. Hasonlóképpen az egyes gyógyszerekkel szembeni érzékenység mind a hatékonyság, mind a mellékhatások tekintetében részben genetikailag meghatározott, erőteljes egyedi eltéréseket mutat. Molekuláris genetikai ismereteink fejlődésével növekvő számban sikerült azonosítani mind az úgynevezett betegség géneket, melyek bizonyos betegségek kialakulását okozzák vagy arra hajlamosítanak, mind pedig azokat a genetikai polimorfizmu-

sokat, melyek a gyógyszerek hatásait az egyedekben meghatározóan befolyásolják.

Természetesen a humán genom első vázlatának publikációja (F. Collins és mtsai, 2001, J. C. Venter és mtsai, 2001), ill. az adatok folyamatos elemzése rendkívüli lökést adott a gyógyszeriparnak az új hatóanyagok kutatásában-fejlesztésében, ami a genomika eredményeinek egyre nagyobb súllyal történő felhasználását jelenti a kutatási stratégiákban.

A *farmakogenomika* a humán genetikai polimorfizmus tanulmányozásával a gyógyszerek hatásainak és mellékhatásainak eltérő mértéket kívánja molekuláris szinten megérteni és megmagyarázni. Mások szerint (Pickar és Rubinow, 2001) ide kell érteni a gyógyszer hatásmechanizmus megértésén és az eltérő egyéni hatás hátterében álló polimorf gének tanulmányozásán túlmenően a genetikai polimorfizmus figyelembe vételével kivitelezett klinikai vizsgálatokat is.

Egy némileg szűkebb értelmezés a farmakogenomikát a gyógyszerek indukálta

Genom: egy szervezet teljes DNS szekvenciója

Proteom: A genom által kódolt összes fehérje

Transzkriptom: A genomról átírt RNS-ek összessége

Polimorfizmus: A genom olyan részlete, mely egy populáció egyes tagjaiban eltérő lehet. Csak azokat a variánsokat tekintjük polimorfizmusnak, melyek a populáció jelentékeny számú (>1%) egyedeiben fordulnak elő.

SNP (Single nucleotide polymorphism): Olyan polimorfizmus, melyet egyetlen nukleotid cseréje okoz.

1. táblázat • Farmakogenomikai alapfogalmak

génexpresszióra, tehát a funkcionális genomika egy részterületére korlátozza. A *farmakogenetika* jóval korábban született tudományág. A farmakogenomika részterületének tekinthető, a gyógyszer metabolizáló enzimek polimorfizmusával és annak következményeivel foglalkozik.

#### *A gyógyszerhatás betegenként eltérő lehet*

Már az 1950-es években dokumentálták az isoniazid kezelés következtében egyes betegeknél fellépő neuropátia és az acetiláló képesség örökletes defektusa közti kapcsolatot (Prince-Evans és mtsai, 1960). A cytochrom P450 enzimek klinikailag releváns polimorfizmusa is hosszabb ideje ismert. A CYP2D6 klónozása volt az első lépés a gyógyszerhatás egyéni variabilitásának megismerése irányába, amit a géncsalád többi tagjának klónozása követett, még jóval a humán genom megismerése előtt.

A gyógyszer metabolizmus két fázisra osztható. Az első fázisban döntően oxidációs vagy hidrolitikus folyamatok, a másodikban konjugációs lépések zajlanak. Mindkét fázis enzimjei közül többnek polimorfizmusa befolyásolja egyes gyógyszerek hatékonyságát vagy toxikus mellékhatások megjelenését (2. táblázat).

A gyógyszer hatóanyagok molekuláris célpontjai (target) azok a makromolekulák, általában fehérjék, tehát a humán<sup>1</sup> proteom részei, melyekhez kapcsolódva működésük közvetlen befolyásolásával a gyógyszer-molekula kifejti hatását.

Ezen molekuláris célpontok polimorfizmusa szintén meghatározó lehet a gyógyszer hatékonysága szempontjából. A b-adrenerg receptor polimorfizmusa például az asztmás betegek b-agonista terápiáját befolyásolja,

<sup>1</sup> Egyszerűség kedvéért tekintsünk el a fertőző betegségek kezelésében alkalmazott gyógyszerek molekuláris célpontjaitól, melyek bakteriális, virális stb. eredetűek is lehetnek.

az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) polimorfizmusa pedig az ACE gátlók és a b-blokkolók hatékonyságát is érinti. A skizofrénia kezelésében széles körben használt atipusos neuroleptikum clozapine a hagyományos kezelésre nem reagáló betegek 30-40 %-ánál hatásos, más betegeknél pedig teljesen hatástalan. A clozapine pontos hatásmechanizmusa nem tisztázott, de (egyik) molekuláris célpontja az 5-HT<sub>2A</sub> szerotonin receptor. Ennek polimorfizmusa és a clozapin hatás között több klinikai vizsgálat mutatott ki pozitív asszociációt (Pickar és Rubinow, 2001). A molekuláris célpont heterogenitásán kívül az adott betegség patogenezisében résztvevő gének polimorfizmusa is befolyásolhatja a gyógyszer hatását. Az Alzheimer betegség előfordulásának kockázata jelentősen magasabb az APOE gén E4 alléljét hordozó egyedekben. Számos klinikai vizsgálat mutatott asszociációt az E4-negatív genotípus és a tacrin, vagy más kolineszteráz gátlók hatékonysága között.

#### *Klinikailag releváns polimorfizmusok*

Annak ellenére, hogy a betegségek kialakulásában szerepet játszó gének hosszú sorát azonosították (lásd fent), továbbá a gyógyszerhatást befolyásoló polimorf gének közül is soknak derült fény szerepére még a humán genom vázlatos megismerése előtt (számuk folyamatosan nő), ma még csak az elején vagyunk annak az útnak, amely a genomika alkalmazásával kifejlesztett hatékony, új gyógyszerek családjához vezet. Az ismert betegség-gének döntő hányada monogénes betegségek kialakulását okozza. A leggyakrabban előforduló betegségek viszont komplex genetikai hátterűek, klinikai manifesztációjukhoz több gén hajlamosító alléljének egyidejű jelenléte szükséges. Ugyancsak több gén polimorfizmusa állhat egyes gyógyszerek hatás- és mellékhatásspektruma egyedi variációinak hátterében. Hogy melyek ezek a gének, azt olyan klini-

Géntermék (a proteom része)	Gyógyszer hatóanyag	Polimorfizmus okozta hatás
CYP2C9	Warfarin	Csökkent antikoaguláns hatás
CYP2C19	Tolbutamid	kisebb hatásos dózis
N-acetil-transzferáz	Omeprazol	hatásosabb H.pilori eradikáció
$\beta_2$ -adrenoreceptor	Isoniazid	hepatotoxicitás
ACE	$\beta_2$ -agonisták	változó hatékonyság asztmában
ACE	ACE inhibitorok	csökkent válasz DD polimorf egyedeknél
ACE	$\beta$ -blokkolók	Erőteljesebb válasz DD polimorf egyedeknél
5-HT <sub>2A</sub> receptor	Clozapine	Schizophren betegek változó válasza
APOE	Tacrin	E4 allél hordozók csökkent terápiás válasza

**2. táblázat • Gyógyszerhatást befolyásoló polimorfizmusok**

Az eredeti irodalomra vonatkozó hivatkozásokat tartalmazza pl. Evans és Relling, 1999; Roden és George, 2002.

kai vizsgálatok deríthetik ki, melyekben a gyógyszer hatásosságának lehetőleg kvantitatív meghatározását a gyógyszerhatásban feltehetően szerepet játszó gén (candidate gene = jelölt gén) polimorfizmusának vizsgálatával egészítjük ki. A génvariáns megjelenése és a gyógyszerhatás (mellékhatás) közötti asszociáció analízise vezethet a tényleges jelentőséggel bíró polimorfizmusok nyomára. A jelölt gén megközelítéssel szemben a genom egészére kiterjedő gyógyszerhatás – genetikai kapcsolat elemzése is lehetséges, ha genetikai markerként az egyetlen nukleotid megváltozásából adódó polimorfizmusokat (SNP) használjuk. Az SNP a leggyakrabban előforduló, bár korántsem egyetlen polimorfizmus. Az SNP-k nagyjából egyenletesen, kb. 1200 bázispáronként fordulnak elő a humán genomban, így számuk mintegy hárommillióra tehető. 2001 februárjában 1 420 000 SNP volt ismert, melyek közül mintegy 60 000 helyezkedik el exonokon. Ezek legnagyobb részét az SNP Consortium és a Humán Genom Project munkájával azonosították, és nyilvános adatbázisokban hozzáférhető (R. Sachidanandan és mtsai, 2001). Ahhoz, hogy az SNP-eket genetikai markerként használjuk fel, nem szükséges, hogy a polimorfizmussal érintett génszekvenciáknak maguknak szerepük le-

gyen a gyógyszerhatás kifejeződésében. Az ilyen klinikai vizsgálatoknak a jövő terápiájának kidolgozásában várhatóan nagyon nagy jelentőségük lesz. Például a kóros elhízás kialakulásában szerepet játszó gének közül többet sikerült ily módon azonosítani. Ezek közül 2-es kromoszómán, a 2p21 helyen lokalizált pro-opiomelanokortin (POMC) gén teljes funkciókiesése mexikói, amerikai és francia populációban egyaránt monogénes kövérséget okoz. (Érdekes, hogy a POMC gén kiütésével egérben is kóros kövérséget idézhetnek elő. Brash és mtsai, 2000.)

*Farmakogenomika a gyógyszerkutatásban és -fejlesztésben*

Az eredeti gyógyszerkutatás és -fejlesztés jól elkülöníthető fázisokra osztható (1. ábra). A tényleges kutatási szakasz a fejlesztendő molekula kiválasztásáig tart. A klinikai kipróbálást megelőzi a preklinikai fejlesztés. A klinikai vizsgálatok az állatkísérletek adatai alapján először a humán toleranciára és farmakokinetikára vonatkozó eredményeket adják meg (Fázis I), majd a biztonságos dózis mellett elérhető hatékonyságot demonstrálják (Fázis II és Fázis III).

A farmakogenomika elméleti és gyakorlati felhasználására a kutatási fázisban a molekuláris célpont kitűzése és validálása során,

KUTATÁS			FEJLESZTÉS			REGISZTRÁCIÓ		
1-2 év	1-2 év	1-2 év	1-2 év	6-8 év		1-2 év		
MOLEKULÁRIS CÉLPONT KITŰZÉSE ÉS VALIDÁLÁSA	A KÉMIAI KIINDULÓPONT KUTATÁSA, IN VITRO SZŰRŐVIZSGÁLATOK	OPTIMALIZÁCIÓ	PREKLINIKAI ÉRTÉKELÉS IN VITRO ÉS ÁLLATKÍSÉRLETEKBE	KLINIKAI ÉRTÉKELÉS EMBEREN  I. FÁZIS    II. FÁZIS    III. FÁZIS			ÚJ GYÓGYSZERENGÉLYEZÉSI DOSSZIÉ BEMŰJTÁSA ÉS HATÓSÁGI ÉRTÉKELÉSE	TERMELÉS
10 <sup>3</sup> -10 <sup>6</sup> vegyület		50 vegyület	10 vegyület	3 vegyület		1 vegyület		

1. ábra

valamint a farmakológiai modellek kidolgozásakor kerül sor. A preklinikai fejlesztésben elsősorban a farmakogenetikának van jelentősége. A farmakogenomika helye és szerepe a klinikai vizsgálatokban jelenleg erősen változó megítélés alá esik. Alkalmazása ma még sporadikus, de a jövőben minden bizonytalanságot elvetve a személyre szabott gyógyszer kifejlesztését és terápiás alkalmazását.

A gyógyszeripar legnagyobb résztvevői, a vezető multinacionális cégek már több évtizede a molekuláris biológia és a patofiziológia szempontjainak együttes figyelembe vételével indítják kutatási programjaikat. Az első lépés a target kiválasztása, mely ez esetben annak a makromolekulának a meghatározását jelenti, melynek működését gátolva vagy fokozva a gyógyítani (enyhíteni) kívánt betegség kimenetele jótékonyan befolyásolható.

Jelenleg a nemzetközi kutatás által megtalált összes gyógyszerhatóanyag, vagyis a civilizált emberiség gyógyszerkincse mintegy 700 különböző molekuláris célponton keresztül fejti ki hatását, melyeknek körülbelül a fele G-fehérjéhez kapcsolt sejtfelszíni receptor. A humán genomban kódolt gének

számát ma 30-35 000 közöttinek becsüljük, míg a lehetséges gyógyszer-célpontok száma 5-10 000-re tehető. (Collins és mtsai, 2001, Venter és mtsai, 2001). (Ehhez nagy számban adódnak a kórokozó mikroorganizmusok gyógyszer-célpontnak alkalmas génjei). Ennek megfelelően a posztgenomiális korai gyógyszerkutatását egyfajta betegség jellemzi. Olyannyira, hogy ismert targetekkel homológ szerkezet, beteg szövetekben meg-növekedett vagy lecsökkent előfordulás és a fiziológiai/patofiziológiai szerepre vonatkozó többé-kevésbé intelligens feltételezések alapján lényeges erőfeszítés nélkül, szinte tetszés szerinti számban lehet új innovatív molekuláris célpontokat találni. Tényleges értékük megállapítása (validálás) azonban annál nehezebb (Jazwinska, 2001). Szigorúan véve, egy molekuláris célpont validálását a klinikai környezetben, betegeken végzett kísérletek során végezhetjük csak el. Azt kell bizonyítani, hogy a target aktivitásának kívánt befolyásolása egyértelmű, statisztikailag szignifikáns és klinikailag releváns mértékű változást okoz a beteg (csoport) állapotában, ill. a betegség lefolyásában. Ugyanakkor a target működésének módosítása önmagában nem jár a klinikai

előnyökhöz képest elfogadhatatlan (esetleg halálos) mellékhatásokkal. Legegyszerűbb a helyzet akkor, ha a kiválasztott target már forgalomban lévő gyógyszer(ek)nek a molekuláris célpontja, így kellőképpen validáltnak tekinthető. A gyógyszerpiac azonban legtöbbször nem tolerálja, hogy adott hatásmechanizmusú gyógyszereknek közeli rokonait, melyek a kifejlesztésükhöz szükséges 10-12 évvel később jelennek meg, mint az első készítmény, a kifejlesztés költségeit megtérítő áron hozza forgalomba a gyártó. Ezért általában az originális gyógyszer-molekulák molekuláris célpontjait a még ki nem használt lehetőségek között kell megtalálni, tehát a legtöbb target a kifejlesztés időpontjában nem tekinthető teljesen validáltnak.

A monogénes betegségek kialakulása egyetlen gén polimorfizmusával hozható összefüggésbe. Például leptin vagy a leptin receptor gén polimorfizmusa kóros elhízást eredményezhet. Ilyen esetekben a humán genetikai analízis szintén alapul szolgálhat a megfelelő target validálásához.

Részleges validálás az egészséges és beteg sejtek, szövetek génexpressziójának összehasonlító elemzésével történhet, amit akár az egész transzkriptomra kiterjedően is el lehet végezni (Caron és mtsai, 2001, a technikai részletek ismertetésére sajnos e cikk keretei között nincs mód). Ha a molekuláris célpont aktivitását referens gyógyszerek, esetleg génsebészeti eszközök (például génterápiák) felhasználásával vagy egyéb módon befolyásolva, az egészséges és beteg szövet génexpressziója közötti különbség eltűnik, úgy jó okunk van feltételezni a kérdéses géntermék oki szerepét a beteg fenotípus kialakulásában. A jövőben várhatóan a proteom hasonló analízisének jelentősége még ennél is nagyobb lehet. Ma még azonban a proteom vizsgálatának technikája nem áll a transzkriptom vizsgálatával azonos szinten.

A molekuláris target validálását követően szűrővizsgálatokat kell végezni abból a cél-

ból, hogy a szerkezet optimalizálásának alapjául szolgáló struktúrákat a lehető legnagyobb számú vegyület közül lehessen kiválasztani. Ezek a szűrővizsgálatok általában in vitro, klónozott humán target fehérje felhasználásával történnek. Fontos, hogy ennek a leggyakrabban előforduló, vagy éppen a betegségre hajlamosító polimorfját használjuk a szűrővizsgálatokban. A farmakológiai modellek között is gyakran szerepelnek betegségre hajlamosító polimorf allélt hordozó, esetleg transzgént expresszáló kísérleti állatok.

A preklinikai fejlesztésben, a gyógyszer-metabolizmus vizsgálata során fontos rész a farmakogenetikai paraméterek meghatározása. Ezen ismeretek segítségével ugyanis fel lehet készülni az esetleges egyedenkénti beállítást igénylő dozírozásra, vagy a nem kívánt gyógyszerkölcsonhatásokra is.

#### *Etikai és farmakoökonomiai megfontolások*

Várhatóan rutinná fog válni a genotípus meghatározása a klinikai vizsgálatokban és a majdani klinikai gyakorlatban. Ez azonban számos kérdés megválaszolását igényli, melyek még többé-kevésbé nyitottak. A titkos adatkezelés, a személyiségi jogok tisztelete és a résztvevők számára nyújtott előny igénye teljesen természetes az egyedre nézve, de az eredmények a rokonságra, sőt az adott etnikumra is vonatkoznak.

Az etnikumok genotipizálása elvben lehetővé teszi bizonyos csoportok stigmatizálását, melyet feltétlenül el kell kerülni. A genotipizálás tehát nem tekinthető ugyanolyan beválasztási kritériumnak, mint például a nem, életkor vagy az egészségi állapot jellemzői.

A farmakogenomikai protokollok általában DNS minták megőrzését írják elő későbbi vizsgálatok céljaira. Az ilyen DNS bankok kezelésének szabályait és etikai vonatkozásait még nem dolgozták ki kellő alapossgal. A munkáltatók és biztosítók esetleges

informálása egy etnikum vagy egy család genotípusáról hátrányosan befolyásolhatja a családhoz tartozó egyed társadalmi lehetőségeit. A fenti kérdésekkel mielőbb komolyan szembe kell nézni, és a társadalom számára megnyugtatóan rendezni kell azokat (Issa, 2000).

Súlyos gazdasági kérdéseket is meg kell oldani a farmakogenetikán alapuló gyógyszerfejlesztéssel kapcsolatban. Lehetőség nyílik ugyanis a korábban azonos gyógyszerrel, homogén betegcsoportként kezelt betegek számára genomi eltéréseik, polimorfizmusaik alapján különböző gyógyszereket kifejleszteni: minden betegnek a megfelelő gyógyszert! Ez természetesen az egyedek optimális gyógyítását jelentené, ugyan-

akkor a személyre, vagy szűk betegcsoportra kifejlesztendő gyógyszer piaca összehasonlíthatatlanul kisebb lesz, mint a rentabilitást ma biztosító, genetikailag nem osztályozott betegek nagy csoportjának igényét kifejező piac. A jövőben feltehetően új típusú farmakoökonomiai vizsgálatok sorozatát végzik majd a gyárak, hogy felmérjék a betegek genetikai előszűrésének gazdasági hatásait. A betegek megfelelő csoportjai számára a leginkább megfelelő gyógyszer kifejlesztése és használata valószínűleg nem irreális célkitűzés (Jazwinska, 2001).

*Kulcsszavak: polimorfizmus, betegség gének, molekuláris célpont, gyógyszer metabolizmus*

---

#### IRODALOM

- Brash, G. S., Farooqi, I. S., O'Rahilly, S. (2000). Genetics of Body-weight Regulation. *Nature* **404**, 644-51
- Caron, H. és mtsai (2001). The Human Transcriptome Map: Clustering of Highly Expressed Genes in Chromosomal Domains. *Science* **291**, 1289-1292
- Collins, F. és mtsai (2001). Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome. *Nature* **409**, 860-921
- Evans, W. E. és Relling, M. V. (1999). Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. *Science* **286**, 487-491
- Issa, A. M. (2000). Ethical Considerations in Clinical Pharmacogenomics Research. *TIPS* **21**, 247-249
- Jazwinska, E. C. (2001). Exploiting Human Genetic Variation in Drug Discovery and Development. *DDT* **6**, 198-206
- Pickar, D. és Rubinow (2001). Pharmacogenomics of Psychiatric Disorders. *TIPS* **22**, 75-83
- Price-Evans, D. A., Manley, F. A. és Kusick, V. A. (1960). Genetic Control of Isoniazid Metabolism in Man. *Br. Med. J.* **2**, 485-491
- Roden, D. M. és George, A. L., Jr. (2002). The Genetic Basis of Variability in Drug Responses. *Nature Rev. Drug Discovery* **1**, 37-44
- Sachidanandam, R. és mtsai (2001). A Map of Human Genome Sequence Variation Containing 1.42 Million Single Nucleotide Polymorphisms. *Nature* **409**, 928-33
- Venter, J. C. és mtsai (2001). The Sequence of the Human Genome. *Science* **291**, 1304-1351