

Εξατομίκευση της θεραπείας στην κλινική πρακτική των μεταμοσχεύσεων

Ευφροσύνη Μενδρινού, Μανούσος Ε. Καμπούρης, Γεώργιος Π. Πατρινός *

Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο Φαρμακογονιδιωματικής και Εξατομικευμένης Θεραπείας, Πάτρα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φαρμακογονιδιωματική, υπόσχεται να αποσαφηνίσει την κληρονομική βάση των διαφορών μεταξύ των αποκρίσεων σε φάρμακα, προκειμένου να προσδιοριστεί το σωστό φάρμακο και η δόση για κάθε ασθενή. Η διατομική μεταβλητότητα στις αποκρίσεις των φαρμάκων μπορεί να εξηγηθεί με γενετικές παραλλαγές σε πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη φαρμακοκινητική ή φαρμακοδυναμική αυτών, δηλαδή παραλλαγές σε γονίδια ενζύμων μεταβολισμού και μεταφορικών πρωτεϊνών. Στις μέρες μας, γίνονται προσπάθειες ώστε τα αποτελέσματα των διαφόρων φαρμακογονιδιωματικών μελετών να εφαρμοστούν στην κλινική πράξη σε διάφορους τομείς. Έτσι, η διαθέσιμη πληροφορία που υπάρχει για τη φαρμακογονιδιωματική συσχέτιση απόκρισης μεταμοσχευμένων ατόμων σε ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, έχει μεταφραστεί σε συγκεκριμένες κατευθυντήριες οδηγίες, εφαρμόσιμες στην κλινική πράξη. Συγκεκριμένα, παραλλαγές του γονιδίου *CYP3A5* επιδρούν στη φαρμακοκινητική της τακρολίμης, η οποία χορηγείται σε μεταμοσχευμένους ασθενείς. Σύμφωνα με

τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, προτείνεται η χρήση του γονοτύπου του *CYP3A5*, εφόσον αυτός είναι γνωστός, σε λήπτες μοσχευμάτων. Άτομα που εκφράζουν το ένζυμο *CYP3A5* (εκτενείς και ενδιάμεσοι μεταβολιστές) εμφανίζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις της τακρολίμης και συνεπώς απαιτούν αυξημένη δόση αυτής ώστε να επιτευχθεί το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αντίθετα, άτομα με φαινότυπο «ανεπαρκούς» μεταβολιστή θα πρέπει να λαμβάνουν την τυπική δόση της τακρολίμης. Ωστόσο, η συνδυασμένη χρήση μέτρησης των επιπέδων των φαρμάκων και των φαρμακογονιδιωματικών αναλύσεων είναι απαραίτητη για τη βελτιστοποίηση των δοσολογικών σχημάτων των ανοσοκατασταλτικών σκευασμάτων. Η πραγματοποίηση μεγάλων προοπτικών κλινικών μελετών που να δείχνουν τα οφέλη της φαρμακογονιδιωματικής γονοτύπησης, η ανάπτυξη μεθόδων φαρμακογονιδιωματικών αναλύσεων καθώς και η δημιουργία ενός σαφούς ρυθμιστικού και νομικού πλαισίου, αποτελούν τα κύρια βήματα προς την κλινική εφαρμογή της εξατομικευμένης θεραπείας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΥΡΙΑ: Φαρμακογονιδιωματική, εξατομικευμένη θεραπεία, μεταμοσχεύσεις, τακρολίμη, *CYP3A5*

* Αντεπιστέλλων Συγγραφέας

Γεώργιος Π. Πατρινός, Πανεπιστήμιο Πατρών, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο, 265 04, Πάτρα, Τηλέφωνο Επικοινωνίας: 2610-962339, Fax: 2610-969955, Email: gpatrinos@upatras.gr

Εισαγωγή

Κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων δεκαετιών, η έρευνα του DNA έχει προχωρήσει από την αλληλουχία του ανθρώπινου γονιδιώματος στη χαρτογράφηση των γενετικών παραλλαγών μεταξύ των ατόμων. Αυτές οι ενδοπληθυσμιακές ή διατομικές γενετικές παραλλαγές έχουν συσχετιστεί με και χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση πιθανών ασθενειών, απόκρισης σε θεραπείες και ανεπιθύμητων ενεργειών [1].

Ως φαρμακογονιδιωματική ορίζεται η γενετική βάση της διαφορικής απόκρισης ενός ατόμου στη φαρμακευτική αγωγή. Οι φαρμακογονιδιωματικές μελέτες παρέχουν πληροφορίες για τις αιτιακές σχέσεις μεταξύ των γονοτύπων και της απόκρισης σε φάρμακα. Η ποικιλομορφία στην αλληλουχία πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη δράση του φαρμάκου, όπως ένζυμα μεταβολισμού και μεταφορικές πρωτεΐνες, μπορεί να αλλάξει την αποτελεσματικότητα ή και τις παρενέργειες του φαρμάκου, μεταβάλλοντας την επιδεκτικότητα μεμονωμένων ασθενών στην φαρμακευτική αυτή αγωγή [2].

Η σύγκλιση της φαρμακογονιδιωματικής, που διερευνούσε κληρονομικά πρότυπα στην επιδεκτικότητα και τη δυσανεξία σε φάρμακα, και της γονιδιωματικής του ανθρώπου, επιτάχυνε δραματικά την ανακάλυψη νέων γενετικών ενεχόμενων ή/και σχετικών παραλλαγών.

Οι τρέχουσες προσπάθειες επικεντρώνονται σε αναπροσαρμογή της φαρμακογονιδιωματικής από την ανακάλυψη στην εφαρμογή, παρέχοντας ένα σημαντικό έρεισμα για την ιατρική ακριβείας [3]. Στις μέρες μας, οι φαρμακογονιδιωματικές εξετάσεις έχουν υιοθετηθεί σε διάφορα επίπεδα σε πολλούς κλινικούς τομείς.

Φαρμακογονιδιωματική και μεταμοσχεύσεις

Η μεταμόσχευση οργάνων είναι η θεραπεία εκλογής για την τελικού σταδίου και τη μη-αναστρέψιμη οργανική ανεπάρκεια. Τις δύο τελευταίες δεκαετίες, οι μεταμοσχεύσεις οργάνων έχουν βελτιωθεί σταδιακά και συνήθως παρέχουν εξαιρετικά αποτελέσματα. Η δραστηριότητα των προγραμμάτων μεταμόσχευσης συμπαγών οργάνων παρουσιάζει σταθερή αύξηση, αλλά απέχει ακόμη από τις παγκόσμιες ανάγκες. Η κλινική σημασία των μεταμοσχεύσεων συμπαγών οργάνων μπορεί να αξιολογηθεί ανάλογα με την επίπτωσή τους στην επιβίωση των ασθενών, τη μείωση της συνοσηρότητας, τη βελτίωση της εργασιακής ζωής και τη συνολική ποιότητα ζωής του πληθυσμού που έχει λάβει μοσχεύματα [4].

Η τρέχουσα επιτυχία στη μεταμόσχευση οργάνων οφείλεται στη νέα ανοσοκατασταλτική θεραπεία που έχει προκύψει από το 1980 [5]. Τα πιο κοινά ανοσοκατασταλτικά σχήματα που εφαρμόζονται στη μεταμόσχευ-

ση συμπαγών οργάνων αποτελούνται από συνδυασμό αναστολέων καλσινευρίνης (κυκλοσπορίνη ή τακρολίμη) με αντιπολλαπλασιαστικούς παράγοντες όπως το μυκοφαινολικό οξύ. Τα ανοσοκατασταλτικά αποτελούν φάρμακα με στενό θεραπευτικό εύρος και ταυτόχρονα εμφανίζουν σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των ασθενών. Έτσι, για την επιτυχία της θεραπείας είναι σημαντικό να επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ της ανοσοκατασταλτικής αποτελεσματικότητας και της τοξικότητας του φαρμάκου [6].

Η θεραπευτική παρακολούθηση φαρμάκου (TDM-Therapeutic Drug Monitoring) υπήρξε πρακτική ρουτίνας τα τελευταία 30 χρόνια και συνιστάται ιδιαίτερα για πολλά ανοσοκατασταλτικά σκευάσματα και επί του παρόντος βασίζεται στη μέτρηση, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα, της συγκέντρωσης του φαρμάκου στην κυκλοφορία του αίματος ώστε αυτή να διατηρείται σταθερή [7]. Η θεραπευτική παρακολούθηση μειώνει τη φαρμακοκινητική συνιστώσα της παραλλακτικότητας ελέγχοντας τις συγκεντρώσεις φαρμάκου στο αίμα, αλλά μόνο αναδρομικά, αφού χορηγηθεί το φάρμακο. Κατά συνέπεια, απαιτούνται συμπληρωματικές στρατηγικές [6].

Η Φαρμακογονιδιωματική έχει αναδειχθεί ως ένα επιπρόσθετο εργαλείο για τη βελτίωση της δοσολογίας ή για την εκ των προτέρων επιλογή της πρώτης δόσης χορήγησης [7]. Συνδυάζοντας πληροφορίες σχετικά με τη δόση του φαρμάκου με γονοτυπικά δεδομένα από λήπτες μοσχευμάτων, τα οποία αφορούν μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς σε γονίδια ενζύμων μεταβολισμού και μεταφορικών πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν με το εκάστοτε σκεύασμα, μπορούν να συσχετιστούν οι γονότυποι του λήπτη με τη φαρμακοκινητική των ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων [8]. Τέτοιες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για όλα σχεδόν τα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα. Μέχρι στιγμής, η μόνη κλινική σύσταση σε σχέση με τους φαρμακογονιδιωματικούς βιοδείκτες στο πεδίο των μεταμοσχεύσεων, αφορά τη συσχέτιση μεταξύ των παραλλαγών του γονιδίου *CYP3A5* και της δόσης της τακρολίμης.

Τακρολίμη και μεταμοσχεύσεις

Η τακρολίμη αποτελεί σήμερα την πρώτη επιλογή ανάμεσα στους αναστολείς καλσινευρίνης, στην πλειονότητα των κέντρων μεταμόσχευσης νεφρού στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ [8,9]. Έχει στενό θεραπευτικό εύρος και καταδεικνύει ευρεία φαρμακοκινητική παραλλακτικότητα, οδηγώντας σε πιθανή υπο-ανοσοκαταστολή ή τοξικότητα. Το στενό θεραπευτικό εύρος καθιστά δύσκολη την επίτευξη της βέλτιστης συγκέντρωσης στο αίμα. Η

Table 1. Δοσολογικές συστάσεις για την τακρολίμη βάσει των επιπέδων μεταβολισμού του φαρμάκου με βάση τον φαινότυπο του ενζύμου CYP3A5

Φαινότυπος	Γονότυπος	Φαρμακολογικές μετρήσεις	Θεραπευτικές συστάσεις
Εκτενής μεταβολιστής (Εκφραστής του ενζύμου CYP3A5)	CYP3A5*1/*1	Χαμηλότερες συγκεντρώσεις τακρολίμης με προσαρμογή στη δόση. Μειωμένη πιθανότητα επίτευξης της συγκέντρωσης-στόχου. 100% αυξημένη κάθαρση	Αύξηση της δόσης έναρξης 1.5-2 φορές. Η ολική αρχική δόση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0.3 mg/kg ημερησίως. Χρήση θεραπευτικής παρακολούθησης για προσαρμογή της δόσης
Ενδιάμεσος μεταβολιστής (Εκφραστής του ενζύμου CYP3A5)	CYP3A5*1/*3	Χαμηλότερες συγκεντρώσεις τακρολίμης με προσαρμογή στη δόση. Μειωμένη πιθανότητα επίτευξης της συγκέντρωσης-στόχου. 69% αυξημένη κάθαρση	Αύξηση της δόσης έναρξης 1.5-2 φορές. Η ολική αρχική δόση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0.3 mg/kg ημερησίως. Χρήση θεραπευτικής παρακολούθησης για προσαρμογή της δόσης
«Ανεπαρκής» μεταβολιστής (Μη-εκφραστής του ενζύμου CYP3A5)	CYP3A5*3/*3	Υψηλότερες συγκεντρώσεις τακρολίμης με προσαρμογή στη δόση. Αυξημένη πιθανότητα επίτευξης της συγκέντρωσης-στόχου	Έναρξη θεραπείας σύμφωνα με την καθιερωμένη προτεινόμενη δόση. Χρήση θεραπευτικής παρακολούθησης για προσαρμογή της δόσης

θεραπευτική παρακολούθηση της τακρολίμης, σε πολλές περιπτώσεις δε μπορεί να λύσει το πρόβλημα [10].

Μια σημαντική πηγή ποικιλομορφίας μεταξύ των ατόμων όσον αφορά την απόκριση σε φάρμακο είναι οι παραλλαγές των ενεχόμενων μεταβολικών ενζύμων. Πολλές μελέτες έχουν διεξαχθεί για την ανάλυση των επιδράσεων γενετικών πολυμορφισμών στη φαρμακοκινητική της τακρολίμης και πώς αυτοί μπορούν να βοηθήσουν στη βελτίωση της θεραπείας.

Η τακρολίμη αποτελεί υπόστρωμα του κυτοχρώματος P450 3A5 και οι γενετικές παραλλαγές σε αυτό έχουν αποδειχθεί πολύ σημαντικές για τον προσδιορισμό της απαιτούμενης δόσης της [8]. Ο κύριος γενετικός παράγοντας που επηρεάζει τις κατώτατες συγκεντρώσεις της τακρολίμης προσαρμοσμένες στη δόση και τις απαιτούμενες δόσεις σε σταθεροποιημένους ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρού είναι ένας μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός στο εσώνιο 3, CYP3A5*3 [7]. Πρόκειται για μια σημειακή μετάλλαξη στη θέση 6986 όπου η αντικατάσταση (μετάπτωση) της αδενίνης (A) από γουανίνη (G) οδηγεί σε μια κρυπτική θέση συρραφής στο τρίτο εσώνιο και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του εξωνίου 3B στο γονίδιο CYP3A5 [11]. Η παραλλαγή οδηγεί σε μη φυσιολογική συρραφή στα περισσότερα μετάγραφα, η οποία μεταβάλλει το πλαίσιο ανάγνωσης και οδηγεί σε ένα κωδικόνιο πρόωρου τερματισμού. Συνεπώς το ένζυ-

μο CYP3A5 που συντίθεται δεν είναι λειτουργικό [5]. Η παραλλαγή CYP3A5*3 είναι το μείζον αλληλόμορφο σε πολλούς πληθυσμούς και η πλειοψηφία των Καυκασίων (85%) στερείται της λειτουργικής πρωτεΐνης CYP3A5.

Τα άτομα που φέρουν τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο A ορίζονται ως έχοντα το αλληλόμορφο CYP3A5*1 και είναι γνωστά ως εκφραστές του ενζύμου CYP3A5. Τα άτομα με G στη ομοζυγωτία είναι γνωστά ως CYP3A5*3/*3 και θεωρούνται μη-εκφραστές του CYP3A5 (**Πίνακας 1**) [12].

Οι ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες από το Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) δεν τοποθετούνται υπέρ ή κατά της γονοτυπικής εξέτασης του γονιδίου CYP3A5 στις μεταμοσχεύσεις. Τα σημερινά στοιχεία για τη χρησιμότητα της γονοτύπησης του γονιδίου CYP3A5 για την καθοδήγηση της δοσολογίας της τακρολίμης περιορίζονται στην επίδραση του ενζύμου CYP3A5 στις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της τακρολίμης, χωρίς άμεσες ενδείξεις βελτίωσης του κλινικού ανοσοκατασταλτικού αποτελέσματος. Κατά συνέπεια, δεν υπάρχουν συστάσεις για γονοτύπηση ή μη του γονιδίου CYP3A5 σε μεταμοσχεύσεις, αλλά μόνο για τη χρήση του γονοτύπου του γονιδίου CYP3A5, αν είναι γνωστός [12].

Οι λήπτες μοσχευμάτων με φαινότυπο «ανεπαρκούς» μεταβολιστή θα πρέπει να λαμβάνουν την τυπική δόση

του φαρμάκου. Οι λήπτες με φαινότυπο ενδιάμεσου ή φυσιολογικού μεταβολιστή απαιτούν αυξημένη δόση της τακρολίμης για να επιτευχθούν θεραπευτικές συγκεντρώσεις του φαρμάκου. Συνιστάται δόση 1.5-2 φορές υψηλότερη από την τυπική δόση, αλλά αυτή δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0.3 mg/kg/ημέρα. Επιπρόσθετα, τα άτομα με γονότυπο *CYP3A5*1/*1* ή *CYP3A5*1/*3* εμφανίζουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις της τακρολίμης σε σύγκριση με εκείνες των ατόμων με γονότυπο *CYP3A5*3/*3*. Η θεραπευτική παρακολούθηση του φαρμάκου είναι απαραίτητο να χρησιμοποιείται πάντα για την καθοδήγηση της προσαρμογής της δόσης (Πίνακας 1).

Μελλοντικές προοπτικές

Τα ευρήματα της φαρμακογονιδιωματικής έρευνας έχουν ήδη εφαρμοστεί σε διάφορους βαθμούς σε ποικίλα κλινικά πεδία και αναμένεται να ευνοήσουν μια περαιτέρω στροφή προς μια εξατομικευμένη και λιγότερο εμπειρική προσέγγιση της υγειονομικής περίθαλψης. Παρά τις σημαντικές προόδους, πολλά επιστημονικά,

οικονομικά, εκπαιδευτικά, νομικά και εμπορικά εμπόδια, παρακωλύουν τη μετάφραση των ευρημάτων της φαρμακογονιδιωματικής έρευνας στην κλινική πράξη. Συχνά, είναι πολύ δύσκολο να διεξαχθούν προοπτικές μελέτες μεγάλης κλίμακας για τον προσδιορισμό των αιτιακών συσχετίσεων μεταξύ των γενετικών παραλλαγών και της απόκρισης στα φάρμακα. Επίσης, είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν μελέτες για τη σύνδεση των γενετικών παραλλαγών που προκύπτουν από την αλληλούχιση του γονιδιώματος με κλινικούς φαινότυπους.

Για να ξεπεραστούν τα εμπόδια, απαραίτητο είναι να επιτευχθεί ο τελικός στόχος- μια μεμονωμένη γενετική εξέταση να μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την πιθανή αποτελεσματικότητα ή τοξικότητα ενός φαρμάκου, επιτρέποντας στους κλινικούς ιατρούς να επιλέγουν ασφαλέστερες και αποτελεσματικότερες θεραπείες. Αυτό θα βοηθήσει επίσης στην σύνταξη συστάσεων για την κλινική πράξη και κατευθυντήριων οδηγιών για την κλινική ερμηνεία των δεδομένων της φαρμακογονιδιωματικής για την επίτευξη εξατομικεύσης της θεραπείας. ●

ABSTRACT

Individualizing treatment modalities in the clinical practice of transplantations

Efrosini Mendrinou, Manousos E. Kambouris, George P. Patrinos

University of Patras, School of Health Sciences, Department of Pharmacy, Laboratory of Pharmacogenomics and Individualized Therapy, Patras, Greece

Personalized therapy, or pharmacogenomics, promises to elucidate the hereditary basis of the differences in drug response in order to determine the right drug and the right dose for each patient. Interindividual variability in drug responses can be explained by genetic variations in proteins that are involved in drug pharmacokinetics or pharmacodynamics, i.e. variations in genes encoding for enzymes involved in drug metabolism and transport. Nowadays, efforts are being made to make the results of various pharmacogenomics studies applicable to the clinical practice in various areas. The available information on the genomic etiology of the response of transplanted individuals to immunosuppressive drugs has been translated into specific guidelines applicable to clinical practice. In particular, genetic

variations in the *CYP3A5* gene influence the pharmacokinetics of tacrolimus, which is administered to transplanted patients. In line with the current guidelines, it is recommended to exploit the genotype of *CYP3A5*, if known, in transplant recipients to rationalize the tacrolimus dose. Individuals expressing the *CYP3A5* enzyme (extensive and intermediate metabolites) exhibit lower concentrations of tacrolimus and therefore require an increased dose of this drug to achieve the desired therapeutic effect. In contrast, people with a “poor” metabolizer status should receive the standard dose of tacrolimus. However, the combined use of measurement of drug levels and pharmacogenomic tests is necessary to optimize the dosage regimens of immunosuppressive drug treatment. The implementation of large pro-

spective clinical studies demonstrating the benefits of pharmacogenomic testing, the development of pharmacogenomic tests and the establishment of a clear

regulatory and legal framework are the main steps towards the clinical implementation of individualized therapy.

KEY WORDS: Pharmacogenomics; individualized Therapy; transplantations; tacrolimus; CYP3A5

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ventola CL. Pharmacogenomics in Clinical Practice Pharmacy and Therapeutics, 2011; 36(7): 412-416, 419-422, 450
2. Ma Q, Lu AY. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine. *Pharmacol Rev*, 2011;63(2):437-59.
3. Relling MV and Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic *Nature*, 2015; 526(7573): 343–350
4. Grinyó JM. Why Is Organ Transplantation Clinically Important? *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013; 3(6): a014985
5. Burckart GJ. Pharmacogenomics: The Key to Improved Drug Therapy in Transplant Patients *Clin Lab Med*, 2008 28:3 411–422
6. Herrero MJ, Megías JE, Bosó V, et al. Pharmacogenetics of Immunosuppressants in Solid Organ Transplantation: Time to Implement in the Clinic *Frontiers in Transplantology*, 2016 5:99-131
7. Picard N, Bergan S, Marquet P et al Pharmacogenetic Biomarkers Predictive of the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Immunosuppressive Drugs. *Ther Drug Monit*, 2016;38 Suppl 1:S57-69
8. van Gelder T, van Schaik RH, Hesselink DA. Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs in solid organ transplantation. *Nat Rev Nephrol*, 2014;10(12):725-31
9. Chen L and Prasad G V. CYP3A5 polymorphisms in renal transplant recipients: influence on tacrolimus treatment *Pharmacogenomics Pers Med*, 2018; 11: 23–33
10. Hendijani F, Azarpira N, Kaviani M. Effect of CYP3A5*1 expression on tacrolimus required dose for transplant pediatrics: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Transplant*, 2018 19:e13248
11. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression *Nat Genet*, 2001;27(4):383-91.
12. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin Pharmacol Ther*, 2015;98(1):19-24