

# انتخاب داروهای اساس ژنوتیپ

ترجمه: دکتر آزاده رئیس دانا، نیره رئیس دانا

دانشگاه علوم پزشکی سمنان

پاسخ فرد به دارو، بدون حدس و گمان مطرح گردیده و باب تازه‌ای در تحقیق در این حوزه، نه تنها در طب، علوم و دانشگاه‌ها بلکه در صنایع بیمه، بهداشتی و داروسازی گشوده شده و امید می‌رود در دهه‌های آتی، استفاده از این نوع آزمون‌های غربالگری متداول تر گردند. این اقدام به ویژه در مورد داروهای گران قیمت یا دارای سمیت بالا یا داروهای دارای دامنه درمانی باریک، حایز اهمیت می‌باشد.

در حال حاضر، داروهای بدون تضمین اثربخشی برای افراد تجویز می‌شوند و غالباً برای یافتن داروی موثر، باید چند دارو را امتحان نمود. البته حتی با رعایت کلیه جوانب در تجویز داروها، بروز واکنش‌های دارویی شایع بوده و هزینه‌های بیمارستانی این واکنش‌ها سالیانه بیش از ۵/۶ بلیون دلار برآورد شده است. به دنبال پیشرفت‌های اخیر، استفاده از آزمون‌های ژنتیک برای پیش‌گویی چگونگی

### مروری بر اصطلاحات و مفاهیم بنیادی ژنتیک

هسته هر سلول انسانی حاوی ۲۳ جفت کروموزوم است که ۲۲ جفت آن کروموزوم‌های غیرجنسی و ۱ جفت آن کروموزوم‌های جنسی نامیده می‌شوند. هر کروموزوم مرکب از مولکول مارپیچی دو رشته‌ای DNA است که به‌طور محکم دور پروتئین‌های اختصاصی پیچیده شده است.

DNA از واحدهای کوچک‌تری موسوم به نوکلئوتید ساخته شده است که قطعات ساختمانی ماده ژنتیکی را تشکیل می‌دهند. هر نوکلئوتید مرکب از یکی از بازهای شیمیایی آدنین (A)، تیمین (T)، سیتوزین (C)، یا گوانین (G) است که به مولکول قند و فسفات متصل شده‌اند. هر رشته نوکلئوتید در مولکول DNA به شکلی کاملاً منحصر به فرد برای هر جفت کروموزوم مرتب شده است.

ژن، قطعه‌ای از DNA در جایگاه اختصاصی در کروموزوم است که تولید مستقیم پروتئین خاصی را کدگذاری نموده یا عمل سایر ژن‌ها را تنظیم می‌کند. هر جفت کروموزوم غیرجنسی یا اتوزوم، حاوی ژن‌های مشابه ولی با ترتیب قرارگیری متفاوت است. کلیه اطلاعات ژنتیکی موجود در هر موجود زنده را اصطلاحاً ژنوم می‌نامند.

در آوریل ۲۰۰۳ میلادی موسسه ملی تحقیق ژنوم انسانی ([www.genome.gov](http://www.genome.gov)) اعلام داشت که به یکی از اهداف پروژه ژنوم انسانی یعنی تعیین ترتیب واقعی بیش از ۳ بیلیون نوکلئوتید موجود در ژنوم انسانی دست یافته است. رایج‌ترین شکل یا آلل یک ژن که در جمعیت وجود دارد، آلل وحشی نامیده می‌شود. اشکال دیگر، از تغییر در شیمی یا ساختمان ژن‌ها ایجاد می‌شوند.

ژنوتیپ اشاره به ترکیب آلی خاص هر فرد و فنوتیپ، اشاره به ژنوتیپ قابل مشاهده یا تظاهرات قابل اندازه‌گیری ژنوتیپ فرد به خودی خود یا در هماهنگی با عوامل محیطی دارد. به عبارت دیگر، ژنوتیپ بر جفت آلل در محل مخصوص (لوکوس) در جفت کروموزوم DNA در فرد و فنوتیپ بر بیان حاصله از آن اشاره دارد.

تخمین زده شده است که علی‌رغم تفاوت‌های قابل مشاهده، ۹۹/۹ درصد از ترتیب ژنوم انسانی در تمام افراد یکسان است. تفاوت‌های موجود در ژنوم انسان یا تغییرات در DNA، جهش نامیده می‌شوند. اگر این تفاوت‌ها یا تغییرات در یک جمعیت به ندرت یافت شوند، جهش و اگر شایع‌تر باشند (یعنی در ۱ درصد یا بیش از ۱ درصد از جمعیت یافت شوند)، پلی مورفیسم نامیده می‌شوند. از طرف دیگر در صورتی که تغییر در یک ژن، مرتبط با یک بیماری یا اختلال باشد، جهش و اگر اثر قابل مشاهده یا قابل اندازه‌گیری نداشته باشد، پلی مورفیسم نامیده می‌شوند. اما با قاطعیت می‌توان گفت که هم جهش و هم پلی مورفیسم می‌توانند فاقد اثر، مفید و یا باعث بیماری باشند.

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)<sup>۲</sup> عبارت از جایگزینی یک باز نوکلئوتید (A، T، C or G) با یکی از ۳ تای دیگر است. پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی تغییرات شایع اما خفیف در DNA انسان بوده و در حدود ۱ در هر ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ باز روی می‌دهند. مجموعه پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی با اهمیت برای هر فرد، نمایه SNP او نامیده می‌شود. این نمایه‌ها، راهی برای پیش‌بینی دقیق بازهای ژنتیکی برای بیماری‌ها و حالات مختلف بوده و به متخصصان بالینی در پیشگویی پاسخ بیمار به داروها کمک می‌کنند.

در این مقاله، به دنبال مرور اصطلاحات و مفاهیم بنیادی علم ژنتیک، سه جنبه از انتخاب دارو بر اساس ژنوتیپ یعنی هدفمند کردن دارو، انتخاب دارو بر اساس آلل و انتخاب دارو با نمایه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مورد بحث قرار خواهند گرفت.

## ■ داروهایی که محصولات ژنی را هدف می‌گیرند

محققان در جستجوی ارتباط ژنتیکی برای تمام انواع بیماری‌ها، چه آن‌هایی که ارثی شناخته می‌شوند، چه آن‌هایی که ناشی از اختلال تک ژنی هستند مثل فیبروز کیستیک و آمی داسی شکل و نیز اختلالات دارای ژنتیک پیچیده تری که در بزرگسالی آغاز می‌شوند مثل دیابت، فشار خون بالا و آسم می‌باشند. سال‌ها طول می‌کشد تا تحقیق‌های ویژه قادر به غربالگری داروهای موجود یا شناسایی داروهای جدیدی که قادر به هدف‌گیری محصولات ژنی خاص یا مواد بیوشیمیایی، نظیر پروتئین‌ها که از بیان ژنی ناشی می‌شوند، گردند.

در ابتدا محققان باید محل آلل وحشی ژن مرتبط با اختلال خاص را یافته و ترتیب نوکلئوتیدی آن را تعیین نمایند. در تعیین محل و ترتیب آلل وحشی برای یک اختلال خاص، محققان اغلب باید جهش‌های خاص این آلل را در افراد دچار آن اختلال کشف نمایند و به دنبال شناسایی جهش، در صورت امکان باید آزمایشی طرح‌ریزی شود که قادر به کشف این جهش‌ها باشد.

بیشتر داروها برای درمان علائم و نشانه‌های بالینی بیماری (یعنی مطابق فنوتیپ) مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما امید می‌رود نسخه‌نویسی داروها بر اساس ژنوتیپ بر مبنای آزمون ژنتیک عملی گردد. سال‌ها طول می‌کشد تا محققان، پروتئین ناشی از بیان آلل وحشی

خاصی را شناسایی و عمل آن را تعیین کنند. با مشخص شدن پروتئین طبیعی و عمل آن، می‌توان به جستجوی شکل تغییر یافته آن پروتئین پرداخت. آلل‌های مولد بیماری معمولاً ناشی از تغییر در ساختمان، عمل، تولید، ثبات پروتئین یا ترکیبی از این‌ها می‌باشند چگونگی تاثیر جهش خاص بر پروتئین به ماهیت جهش و محل وقوع جهش در ترتیب ژن‌ها بستگی داشته و محققان تنها پس از تعیین پی‌آمدهای جهش، می‌توانند درمان مناسب برای تعدیل، جلوگیری، یا جایگزینی پروتئین غیرطبیعی را عملی سازند. در ادامه به دو بیماری لوسمی میلوئید مزمن و فیبروز کیستیک و درمان استاندارد آن‌ها یعنی تجویز دارو بر اساس فنوتیپ و نیز درمان جدید یعنی تجویز داروها بر اساس ژنوتیپ اشاره می‌شود:

### □ لوسمی میلوئید مزمن (CML)<sup>۳</sup>

نوعی اختلال خونی است که با حضور تعداد زیادی از سلول‌های میلوئید در خون محیطی و مغز استخوان مشخص می‌شود. در سال ۱۹۶۰ ساختمان کروموزومی خاصی موسوم به کروموزوم فیلادلفیا کشف شد که با گرانولوسیت‌های بدخیم یافت شده در بیشتر موارد CML، مرتبط بود. کروموزوم مذکور که امروزه می‌توان آن را با آزمون روتین موسوم به کاریوتیپ (مطالعه کروموزوم) کشف نمود، در اثر مبادله قطعات DNA کروموزوم شماره ۹ و ۲۲ ایجاد می‌شود. به طور اختصاصی، انتقال ترتیب ژنی ABL که در قطعه کروموزوم ۹ یافت می‌شود، به ژن BCR در قطعه کروموزوم ۲۲،

بلاست، میزان بهبود کامل با شیمی درمانی استاندارد کمتر از ۱۰ درصد و بقای پنج ساله آن‌ها با پیوند سلول‌های بنیادی آلوژنیک، تنها ۶ درصد است. این شیوه درمان، فنوتیپ (که در اینجا تعداد زیاد سلول‌های میلوئید است) را هدف می‌گیرد. زمانی که پژوهشگران ژن BCR-ABL مرتبط با بیماری، پروتئین BCR-ABL (محصول ژن) و راه سوء عملکرد پروتئین را کشف کردند، ایجاد دارویی که این سوء عملکرد را هدف‌گیری کند، امکان‌پذیر گردید. در جستجوی درمان اختصاصی برای ژنوتیپ، محققان دریافتند که ترکیب شیمیایی که قبلاً ساخته شده بود،

ژن BCR-ABL ایجاد می‌کند (تصویر شماره ۱). این ژن پروتئینی غیرطبیعی را کدگذاری می‌کند که سلول‌های حاوی آن حتی پس از تماس با داروهای متعدد ژنوتوکسیک، به تقسیم شدن خود ادامه می‌دهند. سرانجام، این کلون‌های لوسمیایی توانایی تمایز را از دست داده و بیماری به مرحله حاد، موسوم به بحران سلول‌های بلاست پیشرفت می‌کند. این بحران به درمان استاندارد که ممکن است شامل تجویز اینترفرون آلفا یا بدون سیتارابین، پیوند سلول‌های بنیادی آلوژنیک یا هر دو باشد، بسیار مقاوم است. در بیماران دچار بحران سلول‌های

**شکل ۱- جابه‌جایی، نوعی تغییر ژنتیکی است که در طی آن توالی DNA دو کروموزوم با یکدیگر تعویض می‌شود.**

بخشی از تصویر که با علامت طبیعی نشان داده شده است، کروموزوم بلندتر شماره ۹ که دارای ژن ABL است و کروموزوم کوتاه‌تر ۲۲ که دارای ژن BCR است را نشان می‌دهد.

نوارهای روشن‌تر نواحی با تراکم بالاتری از ژن‌ها نسبت به نواحی تیره‌تر می‌باشند.

علامت q اشاره به بازوی بلند کروموزوم دارد.

بخشی از تصویر نیز که با علامت غیرطبیعی نشان داده شده است، معرف جابجایی کروموزومی است که در لوسمی میلوئید مزمن (CML) روی می‌دهد. در این جابجایی، ماده ژنتیکی دو کروموزوم مبادله شده و در نتیجه کروموزوم شماره ۹ طولی‌تر (9q+) و کروموزوم شماره ۲۲ کوتاه‌تر (22q-) از حالت طبیعی ایجاد می‌گردند. درهم آمیختگی ژن‌های BCR و ABL در کروموزوم کوتاه‌تر 22q- به کروموزوم فیلادلفیا موسوم است. درهم آمیختگی ژن BCR-ABL در کروموزوم فیلادلفیا منجر به تولید پروتئین مرکب BCR-ABL می‌شود که با انقطاع عملکرد طبیعی لکوسیت‌های گرانولوسیتیک باعث CML می‌شود.

موسوم به ST1571 از تقسیم سلولی در کلون‌های CML که پروتئین BCR-ABL را بیان می‌کند، جلوگیری نموده، اما بر رشد سلول‌های طبیعی تاثیر ندارد. ST1571 که امروزه (Gleevec) Imatinib نامیده می‌شود، برای مصرف بالینی تایید شده است، اما مثل برخی از داروهای ژنوتوکسیک ضد سرطان، ممکن است در برابر این دارو نیز مقاومت سلولی ایجاد شود.

با این وجود، این دارو سکوی پرشی برای سایر درمان‌های ژنوتیپ محور سرطان که در مراحل مختلف کارآزمایی بالینی قرار دارند، فراهم آورده است.

#### □ فیبروز کیستیک<sup>۲</sup>

حالت دیگری است که درمان‌های کنونی آن، بر اداره کردن تظاهرات قابل تشخیص (فنونتیپ) متمرکز است. فیبروز کیستیک، بیماری اتوزوم مغلوبی است که با ازدیاد ترشح موکوس غلیظ و چسبناک از غدد اگزوکرین مشخص می‌شود و ریه‌ها و پانکراس، اندام‌هایی هستند که از این بیمای تاثیر می‌گیرند. موکوس، محیط‌ایده‌آلی برای تشکیل کلونی باکتریایی و در نتیجه عفونت‌های مزمن ریوی را فراهم می‌کند. برای درمان این بیماری از رقیق‌کننده‌های استنشاقی موکوس، گشادکننده‌های برونش و د-اکسی‌ریبونوکلئاز نوترکیبی انسانی (که یک آنزیم تهیه شده به طریق فناوری- زیستی است که باعث کاهش چسبندگی موکوسی می‌شود)، برای پاک کردن اخلاط ریه استفاده می‌شود. از داروهای ضدالتهاب برای کاهش التهاب - که در صورت

عدم درمان منجر به آسیب راه‌های هوایی و عفونت می‌شوند - و از آنتی‌بیوتیک‌های آئروسول شده برای درمان عفونت ریوی استفاده می‌شود. نارسایی پانکراس نیز با مکمل‌های تغذیه‌ای از جمله ویتامین‌های محلول در چربی و درمان جایگزینی آنزیم پانکراس درمان می‌شود.

در ۱۹۸۹، ژن تنظیم‌کننده هدایت غشایی فیبروز کیستیک<sup>۵</sup> (CFTR) شناسایی و مشخص شد که پروتئین نوع وحشی CFTR در غشای سلول‌های اپی‌تلیال به عنوان کانال کلرید عمل می‌کند. محققان دریافتند که افراد دچار فیبروز کیستیک، دو آلل تغییر یافته CFTR (که هر کدام از یکی از والدین به ارث می‌رسد) دارند و به دنبال آن، دریافتند که شایع‌ترین جهش CFTR، یعنی دلتا - اف ۵۰۸، باعث تشکیل پروتئینی می‌شود که نمی‌تواند به طور کامل در شبکه آندوپلاسمیک قرار گیرد (جاشود)، اما مطالعات حکایت از آن دارند که حتی با وجود این ناهنجاری، پروتئین مزبور می‌تواند نقش خود را به عنوان کانال کلرید ایفا نماید. بنابراین به نظر می‌رسد، طبیعت سلول (مکانیزم کنترل کیفیت) پروتئین را غیرطبیعی شناخته و قبل از رسیدن به غشای سلول، آن را تخریب می‌کند.

مطالعات بالینی حکایت از آن دارند که ممکن است دسته جدیدی از داروها موسوم به چاپرون‌های ریز مولکول، درمانی ژنوتیپ محور برای فیبروز کیستیک فراهم کنند. اگرچه مکانیزم دقیق این کار بسته به مولکول‌های خاص، تغییر می‌کند، اما این چاپرون‌ها می‌توانند پروتئین‌های بد شکل را

و دوماً، CML از تغییر ژنتیکی ناشی می‌شود که پس از لقاح ایجاد می‌شود، در حالی که جهش‌های CFTR ارثی هستند. گاهی اوقات پس از لقاح، جابجایی که کروموزوم فیلادلفیا را ایجاد می‌کند، به طور خود به خود در طی تقسیم سلولی بنیادی می‌لویید روی داده و به دنبال آن در تمام کلون‌های سلول پایدار باقی می‌ماند. از آنجا که imatinib به طور اختصاصی سلول‌های دارای ژن BCR-ABL را هدف قرار می‌دهد، درمان می‌تواند تنها سلول‌های بیماران دچار CML را قلع و قمع می‌کند. در صورت کاهش میزان ژن‌های BCR-ABL، به حد غیرقابل کشف، می‌توان درمان را قطع نمود. اما در مقابل، بیماران دچار فیبروز کیستیک آل‌های ارثی CFTR مرتبط با بیماری را از هر دو والد خود داشته، تمام سلول‌ها جهش یافته هستند. چاپرون‌های ریز مولکول مورد استفاده در درمان فیبروز کیستیک، پروتئین‌های ژنوتیپ‌های اختصاصی را هدف قرار داده، اما ژنوتیپ را تغییر نمی‌دهند. در نتیجه، درمان فیبروز کیستیک بر اساس ژنوتیپ را می‌توان در سراسر عمر بیمار تجویز نمود.

قبل از تجویز دارو، باید نمونه‌ای از DNA برای تجزیه و تحلیل گرفته شود که این کار را می‌توان از طریق اخذ نمونه خون یا سواب آغشته به مخاط دهان انجام داد. تهیه نمونه از طریق مخاط دهان بدون درد بوده، ولی اکثر آزمایشگاه‌ها، نمونه خون را به دلیل کمیت و کیفیت آن ترجیح می‌دهند.

تثبیت نموده، نقص جاگیری را اصلاح نموده، پروتئین را به غشای سلول راهنمایی نموده، یا ترکیبی از این اعمال را انجام دهند. بیشتر مطالعات پیرامون چاپرون‌های ریز مولکول بر هدف‌گیری پروتئین دلتا - اف ۵۰۸ متمرکز شده‌اند.

باید خاطر نشان ساخت که بین فیبروز کیستیک و لوسمی میلوژن مزمن، دو تفاوت کم اهمیت وجود دارد: اولاً، در CML با کروموزوم فیلادلفیای مثبت (Ph+)، بیماری به تغییر کروموزومی خاصی مرتبط است که ژنی را ایجاد می‌کند که به طور طبیعی در بدن یافت نمی‌شود، در حالی که ۱۰۰۰ جهش ژنی CFTR با فیبروز کیستیک در ارتباطند. مطالعات فارماکولوژیکی عمدتاً بر پروتئین دلتا - اف ۵۰۸ متمرکزند، زیرا در حدود ۶۷ درصد از بیماران دچار فیبروز کیستیک برای دلتا - اف ۵۰۸ هموزیگوس (هر دو آل‌های CFTR این جهش را دارند) بوده و ۲۳ درصد دیگر هتروزیگوت مرکب‌اند. یعنی یکی از آل‌های CFTR جهش داشته و آل دوم CFTR یکی از ۱۰۰۰ جهش مثبت احتمالی دیگر را دارد. ممکن است چاپرون‌های ریز مولکول که پروتئین دلتا - اف ۵۰۸ را قادر می‌سازند عمل خود را به عنوان کانال کلرید به انجام برسانند، اثرات سودمند مشابهی بر پروتئین‌های آل CFTR دیگر داشته باشد. با این وجود، در موردی که در آن آل‌های CFTR در ایجاد پروتئین‌ها یا در تولید پروتئین‌های غیر کارکردی، شکست بخورد، چاپرون‌ها نیز نقش درمانی نخواهند داشت.

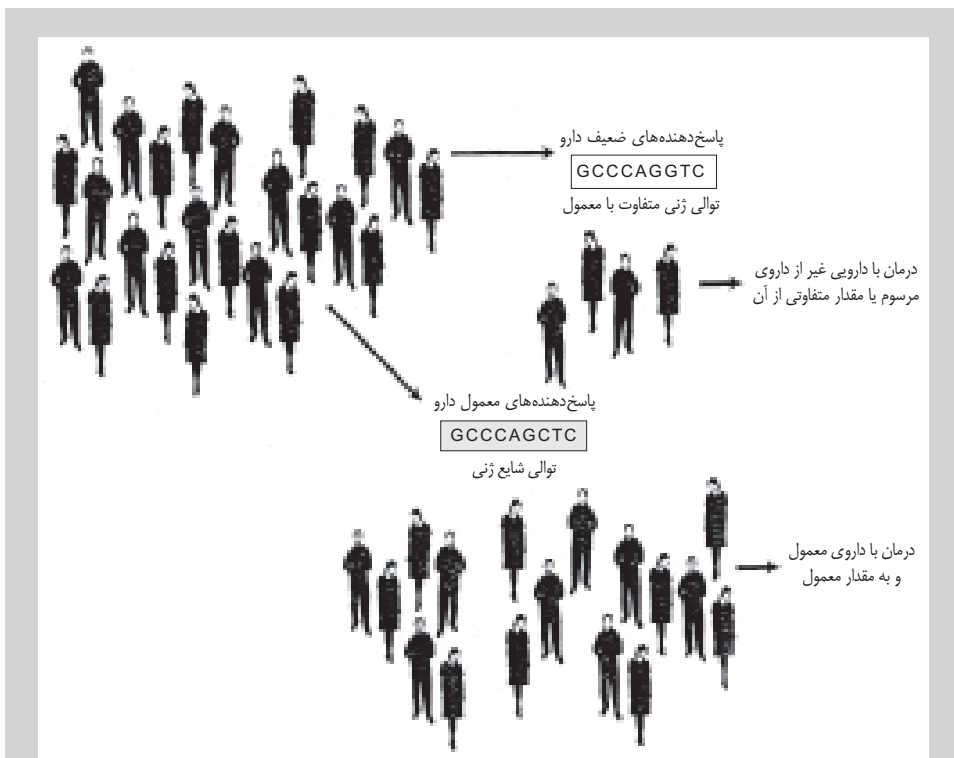
## ■ انتخاب دارو بر اساس آلل

اثرات درمانی و متابولیسم داروها به عوامل متعددی بستگی دارد. هر دارو پس از استفاده، باید جذب شود. قابلیت‌های فیزیکی دارو، همین طور سن بیمار، رژیم غذایی، سلامت و استفاده از سایر داروها بر جذب دارو تاثیرگذار هستند. پس از آن، دارو باید در سراسر بدن پخش شده که این کار نیاز به کارکرد هماهنگ پروتئین‌های مختلف از جمله آنزیم‌های متابولیکی، پروتئین‌های ناقل (ترافیکی)، پروتئین‌های گیرنده‌ای و ... دارد.

ممکن است دارو به صورت داروی فعال یا پیش‌داروی غیرفعال وارد بدن شود. بیشتر داروها در کبد متابولیزه می‌شوند تا قابلیت انحلال آن‌ها در آب برای دفع بعدی آن‌ها از طریق کلیه‌ها یا روده‌ها بیشتر شود. پیش‌داروها برای تجزیه شدن به ترکیب فعال، نیاز به تبدیل متابولیکی یا بیوترانسفورماسیون دارند. بیوترانسفورماسیون کامل هر دارو به طور معمول نیاز به آنزیم‌های متعدد و متفاوتی دارد. فارماکوژنتیک، مطالعه تفاوت‌های آلی مربوط به تنوع‌های فردی در پاسخ دارویی است. هدف غایی آن است که از طریق آزمون ژنتیک مشخص شود که کدام دارو و چه مقدار از آن در بیمار مورد نظر موثرتر خواهد بود تا بتوان دارو را از همان آغاز درمان، به طور امن تجویز نمود. بنابراین بیشتر تحقیقات در فارماکوژنتیک بر آلل‌های مولد پروتئین (معمولاً آنزیم‌ها) دخیل در متابولیسم دارو، متمرکز شده‌اند. جهش یا پلی‌مورفیسم در ژنی که این آنزیم را کدگذاری

می‌کند، می‌تواند بر متابولیسم دارو تاثیر بگذارد. ممکن است بیمار برخی داروها را به طور کافی متابولیزه کرده و ممکن است اثرات قابل اندازه‌گیری کمی نشان داده و یا نشان ندهد (این بیماران گاهی اوقات متابولیزه کننده‌های کند نامیده می‌شوند). یا ممکن است بیمار برخی داروهای معین را سریع متابولیزه کرده و اثرات سمی نشان دهد (این بیماران گاهی اوقات متابولیزه کننده‌های سریع نامیده می‌شوند). اثر بالینی واقعی تغییر ژنتیکی اعمال شده به این بستگی دارد که کدام آنزیم تحت تاثیر قرار گرفته و این که آیا آن آنزیم متابولیزه کننده اصلی داروی داده شده به بیمار است. ممکن است یک فرد با انتقال آنزیم A، متابولیزه کننده کند داروها، با انتقال آنزیم B، متابولیزه کننده طبیعی و با انتقال آنزیم C، متابولیزه کننده فوق سریع داروها شود (تصاویر شماره ۳ و ۲).

به علاوه در متابولیسم ناچیز یا فوق سریع دارو، بسته به فعالیت داروی تجویز شده (یعنی فعال بدون دارو یا پیش‌دارو بودن آن)، نتایج فارماکولوژیکی بسیار متفاوتی محتمل است. برای مثال اثرات متغیر بالینی داروهای حاوی کدئین را که یک پیش‌دارو است، در نظر بگیرید. کدئین، پس از جذب شدن، در کبد به محصولات متعددی از جمله مورفین که اثر تسکین درد دارد، شکسته می‌شود. مشخص شده است که آنزیم کبدی اصلی دخیل در تبدیل کدئین به مورفین از پلی‌مورفیسم بالایی برخوردار است. آلل‌های جهش یافته برای تولید این آنزیم، ممکن است آنزیم بیش از حد یا آنزیم کارایی



شکل ۲- تنوع فنوتیپی پاسخ دارویی بر اساس ژنوتیپ در افرادی که تشخیص یکسانی دارند.

فارماکوژنتیک، مطالعه تفاوت‌های ژنتیکی در آلل‌های مرتبط با تنوع‌پذیری فردی در پاسخ نسبت به دارو است. بیمارانی که تشخیص یکسانی دارند، به دلایلی تفاوت آللی، پاسخ متفاوتی از خود نشان می‌دهند. در این مثال، توالی طبیعی ژن GCCCAGGTC بوده، اما توالی ژن جهش یافته GCCCAGGTC است. AGC در توالی طبیعی ژن، منجر به کدگذاری سرین می‌شود، اما AGG در توالی جهش یافته ژن منجر به کدگذاری آرژینین می‌شود. جانشینی آرژینین به جای سرین در مولکول آنزیم متابولیزه کننده دارو، باعث می‌شود تا از کارایی آنزیم کاسته شده یا غیر موثر گردد. این فرد پاسخ‌دهنده ضعیف دارو شناخته می‌شود. در واقع کار فارماکوژنتیک شامل تعیین ژنوتیپ بیماران و درمان افرادی که پاسخ‌گر ضعیف دارو شناخته می‌شوند، با داروهایی غیر از داروهای مرسوم یا با مقدار متفاوتی از آن دارو است.

را تجربه کند. بیماران دارای یک جفت آلل، کمبود یا فقدان آنزیم داشته و در نتیجه توانایی کمی برای تبدیل کدئین به مورفین دارند و به دنبال مصرف یک دوز معمول کدئین، عدم تسکین یا تسکین کمی پیدا می‌کنند، اگرچه ممکن است از مورفین و داروهای ضددرد مشتق از مورفین سود ببرند.

ممکن است داروهای دیگری که توسط همان

تولید و یا هیچ آنزیمی تولید نکنند. بیمارانی که متابولیزه کننده‌های سریع هستند، نسخه‌های متعددی از آلل در یک لوکوس دارند که باعث تولید و فعالیت بیش از حد آنزیم می‌شود. اگر این بیمار یک دوز معمولی از کدئین دریافت کند، ممکن است با تبدیل سریع دارو به مورفین، علائم دریافت مقدار بیش از حد نارکوتیک‌ها (از جمله کرامپ شکمی شدید، بیبوست و دپرسون تنفسی)



آنزیم تجزیه کننده کدئین، تجزیه می شوند، در اثر استفاده به شکل فعال، اثرات بالینی متفاوتی داشته باشند. ممکن است، مصرف این داروها (که شامل برخی از داروهای ضدافسردگی و ضد فشار خون بالا است)، در بیمارانی که متابولیزه کننده فوق سریع هستند، کم فایده باشد. زیرا داروهای فعال در این افراد، قبل از آن که اثرات درمانی اعمال کنند، به اجزای غیر فعال متابولیزه می شوند. با این حال، دادن همان دارو در مقادیر طبیعی و حتی کم آن به بیمارانی که متابولیزه کننده ناچیز دارو هستند، ممکن است به دلیل تجمع داروهای فعال باعث بروز عوارض جانبی شود.

سیتوکروم P450 (CYPs)، ان استیل ترانسفراز (NATs) و تیوپورین متیل ترانسفراز (TPMT) چند نمونه از آنزیم های متابولیزه کننده داروها هستند. CYPs عمدتاً واکنش های اکسیداتیوی را کاتالیز می کند که بیشتر داروهای لیپوفیلک را به متابولیت هایش که غالباً به نوبه خود نیاز به بیوترانسفورماسیون به وسیله آنزیم های دیگر دارند، تبدیل می کند. پاسخ بیمار به داروهای داده شده بستگی به این دارد که کدام آنزیم CYP تغییر کرده و نقش آنزیم در رابطه با آن دارو چیست.

وفور فنوتیپ های متابولیزه کننده های ناچیز و فوق سریع داروها در نژادها و قومیت های مختلف، متغیر است. چند نمونه از آنزیم CYP به صورت تجاری موجود بوده و در چند مورد به طور مستقیم از طریق اینترنت به مصرف کنندگان فروخته می شوند. وارفارین

مثال خوبی از داروهای متابولیزه شده توسط CYP است که آزمون ژنتیک ممکن است استفاده مهمی برای آن داشته باشد. زیرا دامنه درمانی این دارو باریک بوده و ممکن است در اثر مصرف بیش از حد، عوارض جدی ایجاد شود. با این وجود، بیمار باید بداند که استفاده از آزمون ژنتیک هنوز فراگیر نشده و آزمایشگاه ها در جستجوی شناسایی تمام پلی مورفیسم ها یا جهش ها در یک ژن CYP خاص نبوده و هزینه این کار نیز بسیار بالا است. آزمایشگاه ها فقط شایع ترین تغییرات ژنی مرتبط با متابولیسم ناچیز یا فوق سریع دارو را آزمایش نموده و بنابراین نتیجه منفی آزمون به آن معنی است که در مواردی که آزمون برای آن ها انجام شده، تغییری مشهود نبوده است و ممکن است ژن، حاوی پلی مورفیسم های مشخص نشده یا جهش های مشخص نشده ای باشد که بر متابولیسم دارو تاثیرگذار باشند.

ان - استیل ترانسفراز، انتقال گروه استیل به داروهای خاص را کاتالیز نموده و با افزایش حلالیت آن ها در آب، دفع کلیوی آن ها را ارتقا می بخشد. دو پروتئین کارکردی ان - استیل ترانسفراز یعنی NAT-1 و NAT-2 شناخته شده اند. NAT-1، پارآمینوسالیسیلات و پارآمینوبنزوتیک اسید و NAT-2، ایزونیاژید و سایر داروهای مشابه، برخی عوامل قلبی - عروقی، کافئین و داروهای متفرقه متعددی را متابولیزه می کنند. بیماران دچار جهش یا پلی مورفیسم در ژن های NAT که منجر به استیلاسیون آهسته تر می شود، ممکن است

آلل‌های TPMT واریانت از لحاظ بالینی موجود بوده و در موقعیت‌های بالینی منتخب به کار می‌رود.

در برخی موقعیت‌های بالینی برای محاسبه دوز داروهای تیوپورین که خیلی سمی بوده و دامنه درمانی باریکی دارند، سنجش گذشته نگر حالت TPMT عملکردی به استفاده از وزن بدن که به طور روتین استفاده می‌شود، ترجیح داده می‌شود. توصیه شده است که درمان بیمارانی که برای آلل فعالیت آنزیمی پایین هتروزیگوس هستند، با ۶۵ درصد دوز استاندارد تیوپورین شروع شود.

بیمارانی که دو آلل TPMT تغییر یافته که آنزیم TPMT غیر کارکردی را کدگذاری می‌کند را به ارث برده‌اند، غلظت‌های بیش از حد نوکلئوتیدهای تیوگوانین را انباشته می‌کنند که آن‌ها را در معرض سمیت تهدیدکننده حیات قرار می‌دهد. توصیه شده است درمان این بیماران، با ۱۰ - ۶ درصد از دوز استاندارد تیوپورین شروع شود.

هنگامی که در دستیابی به سطح درمانی یک دارو در بیمار با شکست مواجه می‌شویم، ممکن است اتهام عدم همکاری (عدم تبعیت از توصیه‌های ارابه شده) را وارد سازیم. اگر دارو از مشتقات مورفین بوده و بیمار برای تسکین درد خود، مقدار بیشتری از آن را طلب کند، ممکن است به او اتهام «جویای مخدر»<sup>۶</sup> زده شود، اگرچه این رفتارها بر اثرات درمانی و سمی یک دارو موثرند، ولی نباید تنها احتمال ممکن فرض شوند.

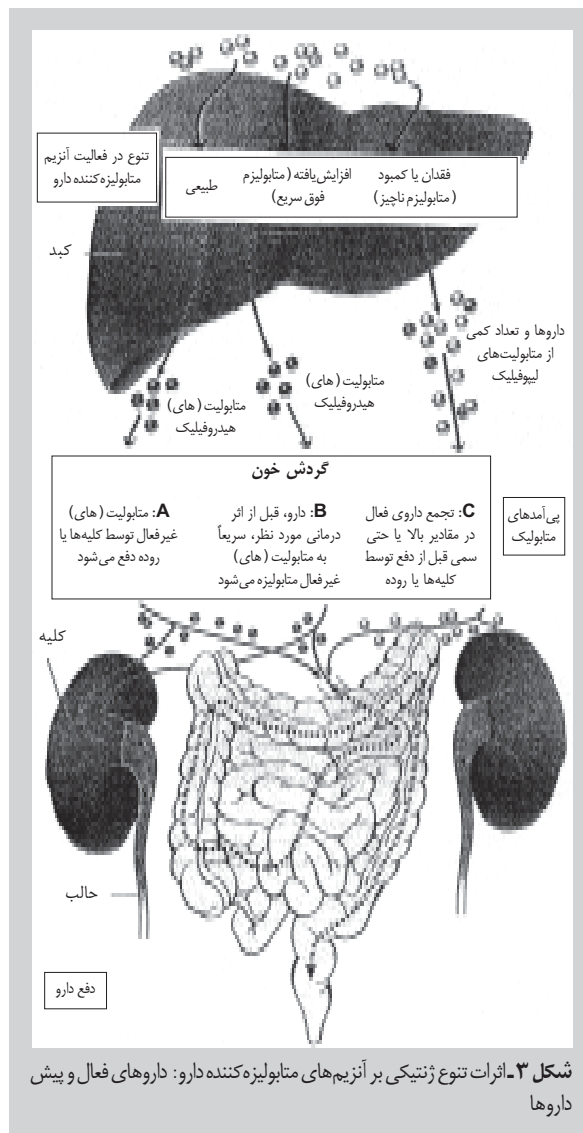
غلظت‌های سرمی بالای یک دارو و اثرات سمی مربوطه را تجربه کنند. وفور آلل‌های واریانت NAT نیز با نژاد و قومیت تغییر می‌کند. علی‌رغم وجود آزمون‌های ژنتیک برای ژن‌های NAT، هنوز مطالعه در این زمینه ادامه داشته و به ندرت از آن‌ها در کار بالینی استفاده می‌شود.

تیوپورین متیل ترانسفراز (TPMT)، در متابولیسم عوامل تیوپورین از جمله آزا تیوپورین که در درمان آرتریت روماتوئید یا برای پیشگیری از رد اندام‌های پیوندی به کار می‌رود و مرکاپتوپورین که برای درمان لوسمی لنفوبلاستیک حاد اطفال یا بیماری التهابی روده مقاوم به استروئید به کار می‌رود، دخیل است. تیوپورین‌ها پیش داروهای غیرفعال هستند که ابتدا به وسیله آنزیم هیپوگزانتین فسفوریبوزیل ترانسفراز به نوکلئوتیدهای تیوگوانین کاتالیز می‌شوند و سپس سیتوتوکسیسیته مورد نظر را اعمال می‌کنند. TPMT، با کاتالیز نمودن انتقال (افزودن) گروه متیل به این نوکلئوتیدها باعث غیرفعال شدن اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها می‌شود. سه واریانت از هشت واریانت آلل‌های TPMT که تاکنون شناسایی شده‌اند، مسؤؤل تقریباً ۹۵ درصد موارد فعالیت متوسط یا پایین آنزیم است.

مرور ادبیات اخیر حاکی از آن است که فعالیت TPMT در ۸۰ درصد از جمعیت سفیدپوستان و آفریقایی‌های آمریکایی ایالات متحده از نوع متوسط بوده و فعالیت TPMT در یک نفر از ۳۰۰ نفر (۰/۳ درصد) از نوع پایین یا غیرقابل کشف می‌باشد. در حال حاضر، آزمون ژنتیک برای

به دارو بروز می‌کند، به عوامل ژنتیک توجه داشته باشند. تغییرات ژنتیک در سر تا سر زندگی با فرد بوده و از آنجا که آلل‌ها به نسل‌های بعدی به

تیم درمانی باید داروهای متداولی را که با آن سر و کار دارند و توسط آنزیم‌های NAT، CYP و TPMT متابولیزه می‌شوند را شناخته و هنگامی که در یک بیمار پاسخ غیر معمول نسبت



شکل ۳- اثرات تنوع ژنتیکی بر آنزیم‌های متابولیزه‌کننده دارو: داروهای فعال و پیش داروها

خون یا مخاط دهان بیمار، امکان تحلیل این که چگونه چند ژن در پاسخ بیمار به دارویی خاص دخالت دارند را فراهم می‌کند. درک چگونگی پاسخ دارو ( فنوتیپ ) و طرح پلی مورفیسم چندژنی ( ژنوتیپ ) به هم مربوط بوده و می‌توان انتظار داشت تا بیمار از آن سود ببرد ولی اخیراً ادعا شده است که فارماکوژنومیک نمی‌تواند اثربخشی داروی داده شده را ارتقا بخشد و تنها به انتخاب بیمارانی که احتمال می‌رود پاسخ خوبی به دارو نشان دهند، کمک می‌کند.

از فارماکوژنومیک همچنین می‌توان در شناسایی بیمارانی استفاده کرد که احتمال بیشتری می‌رود تا در کارآزمایی بالینی، از اثربخشی بیشتر داروها بهره ببرند. داده‌های پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی همچنین در شناسایی تغییرات ژنتیک مرتبط با بیماری کمک نموده و بنابراین به وضع اهداف جدید برای اصلاح فرآیندها پیشرفت دارو و در کشف ابزارها و شیوه‌های تشخیصی جدید کمک می‌کند.

برای رویارویی با افزایش انتظار در استفاده از طرح پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی، ابزارهای خودکاری با قابلیت فرآوری هم‌زمان چند نمونه، تهیه شده است. برنامه‌های کامپیوتری و سیستم‌های پایه داده‌ها بازنگری شده و برای حمایت از جمع‌آوری، سازمان‌دهی و تحلیل مقادیر بزرگ داده‌های ژنتیکی و سایر داده‌های بیولوژیکی توسعه یافته است.

### ■ تکنولوژی ریزآرایش (Microarray)

به دلیل کاربرد تراشه‌ها<sup>۷</sup> یا ریزآرایش DNA،

ارث می‌رسند، پی‌آمدهایی را نیز برای نسل‌های آتی به دنبال خواهند داشت.

### ■ انتخاب داروها بر اساس نمایه

#### پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)

این طرح، یک فن‌آوری جدید است که ممکن است برخی محدودیت‌های تکنیکی آزمون تک‌ژنی که در فارماکوژنتیک از آن استفاده می‌شود را حل نماید. اصولاً پلی مورفیسم تک‌ژنی، اساسی‌ترین و متداول‌ترین پلی مورفیسم DNA در ژنوم انسانی است. تا فوریه ۲۰۰۴ میلادی، کنسرسیون پلی مورفیسم تک‌ژنی که یک اشتراک ملی - خصوصی بین ۱۵ شرکت بیوتکنولوژی و دارویی است، حدود ۷/۸ میلیون پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی را کشف و توصیف کرده است.

پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در سراسر ژنوم انسان و نواحی غیرژنی مشابه، پراکنده شده است. پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی درون ژن‌ها، بیشتر احتمال دارد که عمل پروتئین را تحت تاثیر قرار دهند.

یکی از مهم‌ترین استفاده‌های داده‌های پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در غربالگری بیمار برای تعیین اثربخشی داروهای خاص و استعداد آن‌ها برای ایجاد عوارض معکوس در آن بیمار است. فارماکوژنومیک حوزه‌ای از تحقیق است که بر الگوهای تغییرات ژنوم، مثل پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی متمرکز است که نزدیک یا در ژن‌های مرتبطه با پاسخ دارویی روی می‌دهند. طرح پلی مورفیسم تک‌ژنی به دست آمده از نمونه

به این نام موسوم است. این تکنولوژی بازده بالایی داشته و قادر است غربالگری نمایه‌های پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی را از خلال کل ژنوم تصحیح کند. در این حوزه از تحقیق رقابت‌های تنگاتنگی وجود داشته و به سرعت در حال پیشرفت است. از ریزآرایش DNA برای آشکارسازی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی با تثبیت قطعات DNA تک رشته‌ای روی اسلاید شیشه‌ای استفاده می‌شود.

پروب‌ها که از هدف‌گیری توالی DNA حاوی پلی مورفیسم‌ای تک نوکلئوتیدی شناخته شده، طراحی شده‌اند شامل ترتیب کاملی از تمام تغییرات ممکن هر پلی مورفیسم آنزیمی شناخته شده می‌باشند. پس از آن، نمونه DNA بیمار، بر اساس هدف انجام کار به قطعات مرتبی پردازش شده و برچسب فلورسنت زده می‌شوند تا قابل دید شوند. تراشه ریزآرایش با نمونه DNA پردازش شده بیمار، مجاور شده و قطعاتی از نمونه که بر اساس هدف مرتب شده‌اند، با پروب‌های مکمل به طور ثابت روی تراشه باند می‌شود. میکروسکوپ اسکن‌کننده، فلورسانس متصل به DNA را بررسی می‌کند و با تحلیل آماری الگوهای فلورسنت (رنگ‌ها و درخشانی) هر نقطه، می‌توان آن را با بیماری، پاسخ دارویی خاص یا فنوتیپ دیگر ارتباط داد.

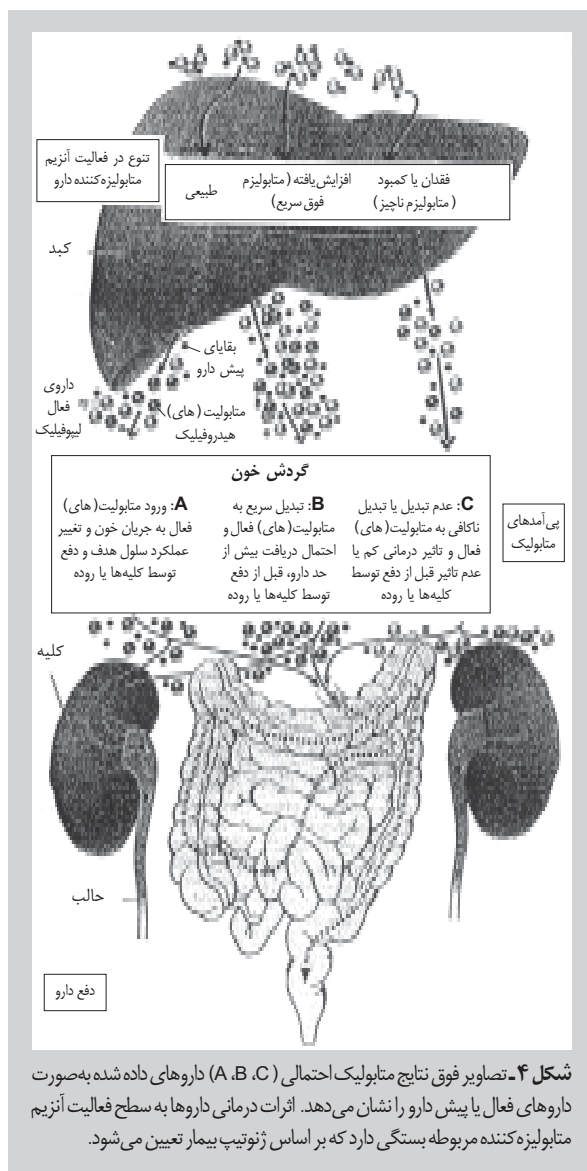
پیشرفت‌های تکنولوژیکی در زمینه تهیه نمایه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی به سرعت انجام گردیده، اما قبل از آن که تهیه نمایه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی بتواند از لحاظ بالینی مفید واقع شود، باید اصلاحاتی روی آن صورت گیرد.

دستیابی به کیفیت بالا و پایدار و قابلیت اعتماد آزمون - پس‌آزمون تکنولوژی ریزآرایش را به سختی می‌توان اثبات کرد. برای این کار به قابلیت برون‌ده بالاتر احتیاج داریم که بتواند ۶۰۰۰-۶۰۰۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مورد نیاز برای تهیه نمایه کل ژنوم یک بیمار را دستکاری کند.

هزینه استفاده از ریزآرایش در تهیه نمایه پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی کل ژنوم، در حدود ۱-۰/۳۵ دلار است و برای آن که این آزمون قابل استفاده برای عموم مصرف‌کنندگان باشد، باید هزینه آن تا کمتر از ۱ پنی برای تهیه نمایه هر پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی برای هر بیمار شود.

اگرچه انتخاب دارو بر اساس ژنوتیپ، نویدی برای آینده است، اما چالش‌های جدیدی را برای تیم درمانی فراهم کرده است.

مثل آنچه در مورد لوسمی میلوئید مزمن و فیبروز کیستیک اشاره شد، داروهای انتخاب شده بر اساس ژنوتیپ تنها برای بیماران واجد آن ژنوتیپ تجویز می‌شود. این کار با روش مرسوم که در آن داروهای موجود برای کلیه بیماران دارای یک بیماری خاص استفاده می‌شوند، متفاوت بوده و این سوال را برای بیمار مطرح می‌کند که چرا داروهای موجود برای او استفاده نمی‌شود. خصوصاً اگر داروهای موجود برای سایرین مفید واقع شوند و تنوع دارویی در آن بیماری محدود باشد. لذا تشریح روند دارودرمانی بر اساس ژنوتیپ به بیماران ضرورت می‌یابد.



که به آن ها برچسب « غیر پاسخ دهنده » زده می شود، دارای کمبودی هستند؟ یا آیا پاسخ ندادن آن ها به یک بیماری مربوط می شود؟

از طرف دیگر طبقه بندی بیماران به دو گروه پاسخ دهنده و غیر پاسخ دهنده بر اساس طرح SNP، این سوال را مطرح می کند که آیا بیماری

اگر نمایه SNP تهیه و قابل استفاده عموم شود، آزمون کل ژنوم افراد در ابتدای زندگی می تواند به عنوان بخشی از استراتژی های پیشگیرانه تلقی شود و نتایج آن می تواند برای تعیین پاسخ دهی یا عدم پاسخ دهی بیمار به انواع خاصی از داروها، حتی قبل از نیاز به استفاده از دارو، به کار برده شود.

هم اینک، تحقیق در مورد اساس ژنتیکی بیماری های مختلفی که در دوران سالمندی شروع می شوند، مثل آلزایمر، پارکینسون، دیابت، بیماری های قلبی - عروقی و نظایر آن، در حال انجام است. می توان امیدوار بود که تغییرات ژنتیکی مرتبط با پاسخ افراد به داروها که ممکن است در ایجاد این بیماری ها نقش داشته باشند، نیز کشف گردند.

چالش دیگر در این رابطه آن است که از آنجا که نتایج آزمون باید در پرونده بیمار ثبت گردد، چگونه می توان محرمانه بودن آن را حفظ کرد؟ در صورت وجود مشکل در آزمون بیمار، چه کسی مسئولیت بیان آن را خواهد پذیرفت؟ آیا شرکت های بیمه یا کارفرمایان از نتایج این آزمون ها به نفع خود بهره بردای نخواهند کرد؟ آیا حاضر به تحت پوشش قرار دادن داروهای

گران قیمت، یا آن هایی که از سمیت بالایی برخوردارند یا در این افراد غیر موثر تشخیص داده می شوند، خواهند بود؟

هر چند آزمون های ژنتیک برای آلل های مرتبط با متابولیسم داروها هنوز در آزمایشگاه های تحقیقاتی انجام می شوند، باید برای چالش های مطرح شده نیز تدابیری اندیشیده شود.

#### زیر نویس ها

1. Wild type allele
2. Single-Nucleotide Polymorphism (SNIP)
3. Chronic Myelocytic Leukemia (CML)
4. Cystic Fibrosis (CF)
5. Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR)
6. Narcotic Seeker
7. Chips

#### منبع

Prows Cynthia A and Prows Daniel R; Medication selection by Genotype; AJN; 2004 May; 104(5); 60-71.

