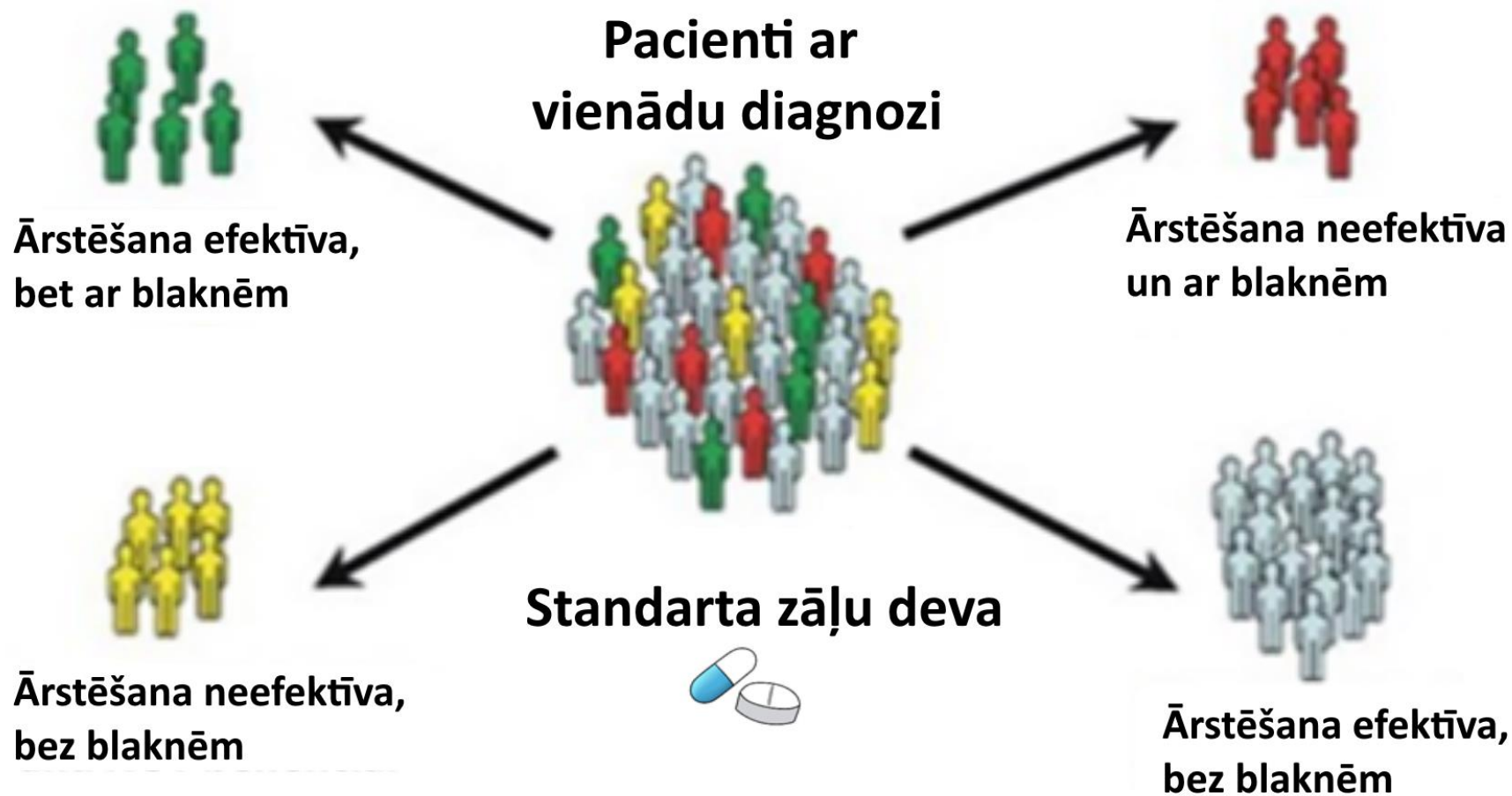


Farmakoģenētikas pētījumi: iegūtie rezultāti un nākotnes perspektīvas

Prof. Renāte Ranka, PhD

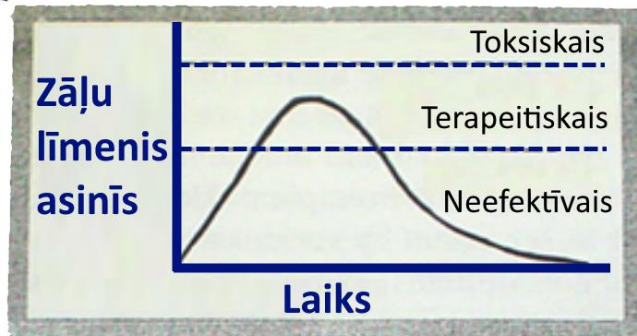
04.10.2023.

Viens izmērs visiem neder...



Absorbcija

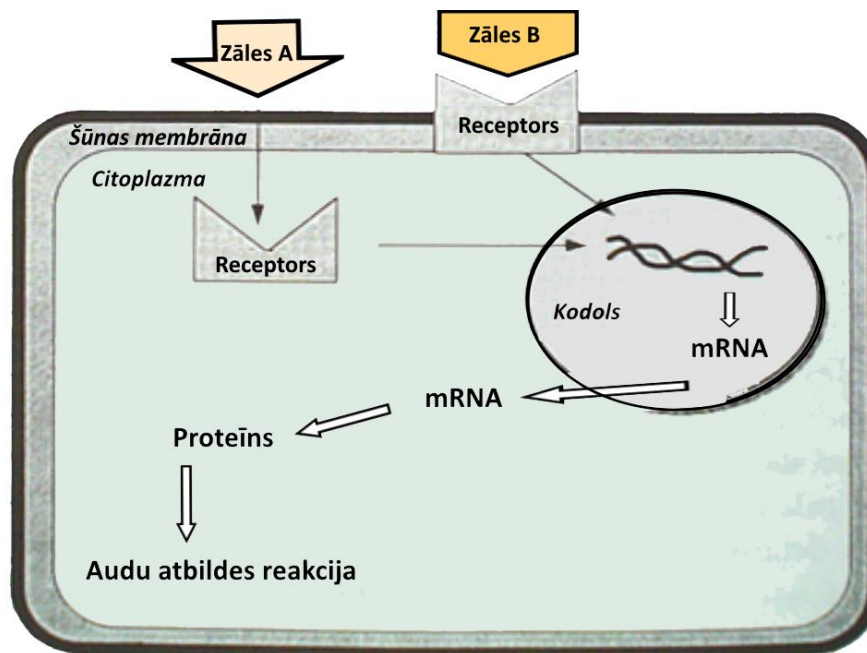
**Izplatīšanās
organismā**



Metabolisms

MĒRĶA ŠŪNA

Ekskrēcija



Variācijas gēnos, kas kodē zāļu metabolizējošus enzīmus, zāļu receptorus un zāļu transportproteīnus ir saistīta ar individuālām variācijām zāļu efektivitātē un toksicitātē.

Farmakogenomika ir farmakoloģijas un ģenētikas starpzinātne, kas pēta, kā indivīda iedzimtās gēnu variācijas ietekmē organisma reakciju uz medikamentiem.

Farmakoģenētikas uzdevums ir piemērotu zāļu un devas izvēle konkrētam pacientam ar mērķi:

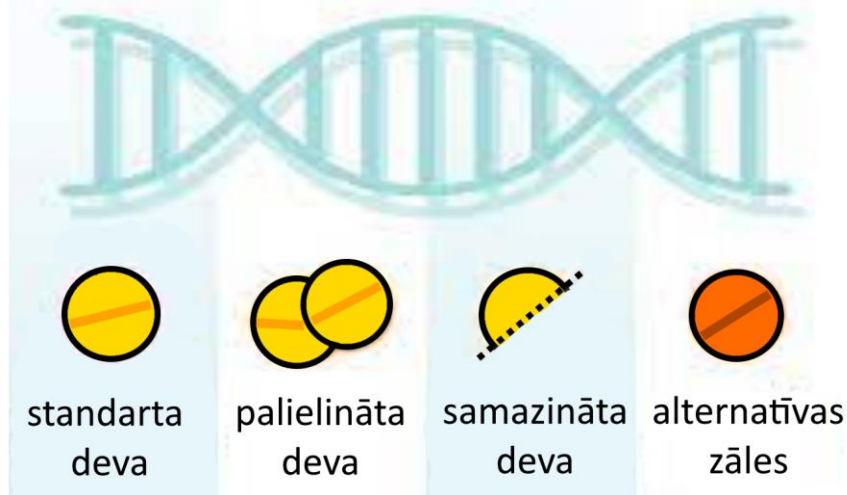
- sasniegt optimālu terapeitisko efektu;
- izvairīties no terapijas neefektivitātes;
- samazināt zāļu blakusparādības un toksicitāti.

«Pareizas zāles pareizam pacientam»

Pašlaik vairāk nekā 250 recepšu medikamentu zāļu anotācijas satur farmakoģenētisko informāciju.

Daži zāļu piemēri, kuru lietošanas laikā ir parādīta farmakoģenētisko testu nozīme:

Gēns	Zāles	Efekts
<i>TPMT</i>	Merkaptopurīns	Neitropēnija
<i>UGT1A1</i>	Irinotekāns	Neitropēnija
<i>CYP2C9/VKORC1</i>	Varfarīns	Starptautiskais normalizētais koeficients
<i>CYP2D6</i>	Kodeīns	Zema efektivitāte
	Antidepresanti	Zema efektivitāte



Kāpēc tā var būt laba pieeja?

Zāles var būt bīstamas:

- Daudziem cilvēkiem ir nopietnas nevēlamas blakusparādības;
- Daudziem cilvēkiem novēro atšķirības zāļu efektivitātē;

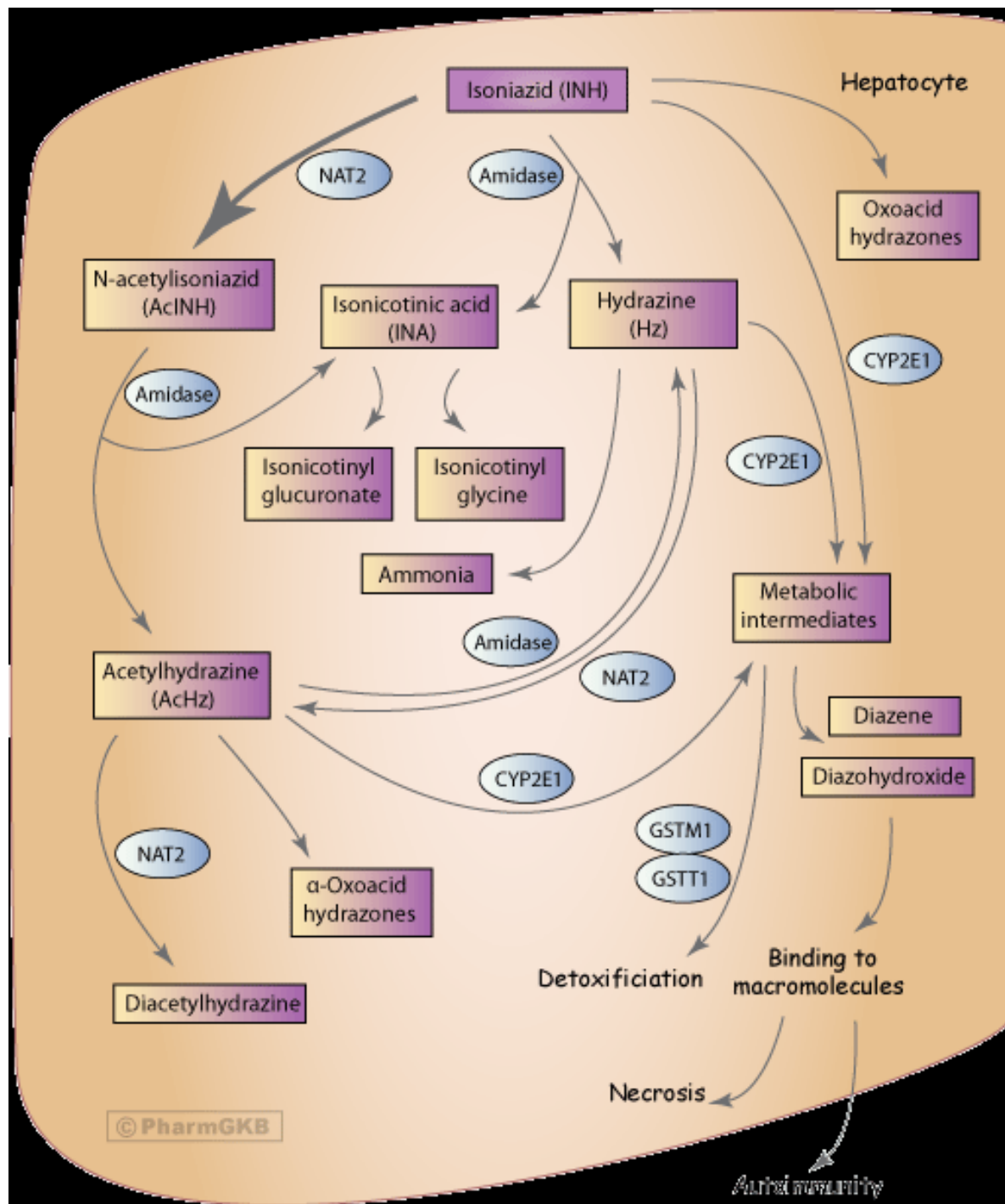
Zāles ir dārgas (gan pirkt, gan ražot):

- Neefektīvas zāles ir naudas izšķiešana;
- Zāļu izstrādes laikā ir jāņem vērā atbildes reakcijas mainīgums.

Gēnu variāciju noteikšana var sniegt *a priori* informāciju:

- Genotips nemainās (izņemot somatiskās mutācijas, mtDNA heteroplazmiju);
- Gēnu variācijas var norādīt uz cēloni, nevis tikai uz simptomu.

Isoniazida farmakokinētika



Pirms *NAT2* klīnisko efektu izvērtēšanas ir jāizprot tā pārsteidzošā daudzveidība: ir zināmas vismaz 88 alēles.

Human <i>NAT2</i> Alleles (Haplotypes)			
<i>NAT2</i> Allele (Haplotype)^{a,b}	Nucleotide Change(s) and rs Identifiers^c	Amino Acid Change(s)	Phenotype^d
<i>NAT2</i> *4	Reference	Reference	Rapid
<i>NAT2</i> *5A	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929)	I114T L161L (synonymous)	Slow
<i>NAT2</i> *5B	341T>C (rs1801280) 481C>T (rs1799929) 803A>G (rs1208)	I114T L161L (synonymous) K268R	Slow
<i>NAT2</i> *5C	341T>C (rs1801280) 803A>G (rs1208)	I114T K268R	Slow
<i>NAT2</i> *5D	341T>C (rs1801280)	I114T	Slow
<i>NAT2</i> *6A	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930)	Y94Y (synonymous) R197Q	Slow
<i>NAT2</i> *6B	590G>A (rs1799930)	R197Q	Slow
<i>NAT2</i> *6C	282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930) 803A>G (rs1208)	Y94Y (synonymous) R197Q K268R	Slow
<i>NAT2</i> *6D	111T>C (rs72554615) 282C>T (rs1041983) 590G>A (rs1799930)	F37F (synonymous) Y94Y (synonymous) R197Q	Slow
<i>NAT2</i> *6E	481C>T (rs1799929) 590G>A (rs1799930)	L161L (synonymous) R197Q	Slow

NAT2 alēļu/genotipu izpēte tuberkulozes pacientiem Latvijā

Allele	Signature mutation	Phenotype	Total No	Frequency
<i>NAT2</i> *4	Reference	Rapid	33	0.194
<i>NAT2</i> *5	341T>C	Slow	52	0.306
<i>NAT2</i> *6	590G>A	Slow	66	0.388
<i>NAT2</i> *7	857G>A	Slow	7	0.041
<i>NAT2</i> *11	481C>T	Rapid	3	0.018
<i>NAT2</i> *12	803A>G	Rapid	3	0.018
<i>NAT2</i> *13	282C>T	Rapid	6	0.035
Total			170	1.00

NAT2 fenotipi:

Rapid	4 (4.7%)
Intermediate	37 (43.5%)
Slow	44 (51.8%)
Total	85



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of Infection and Chemotherapy

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/jic>

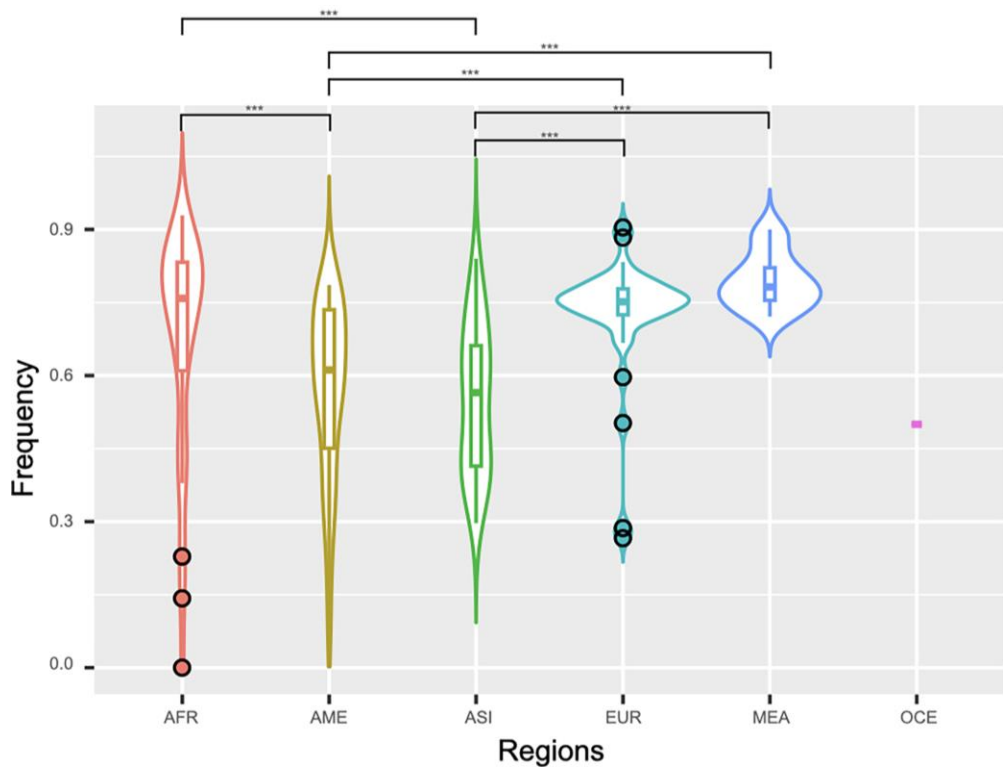


Original article

Genotype and allele frequencies of isoniazid-metabolizing enzymes NAT2 and GSTM1 in Latvian tuberculosis patients

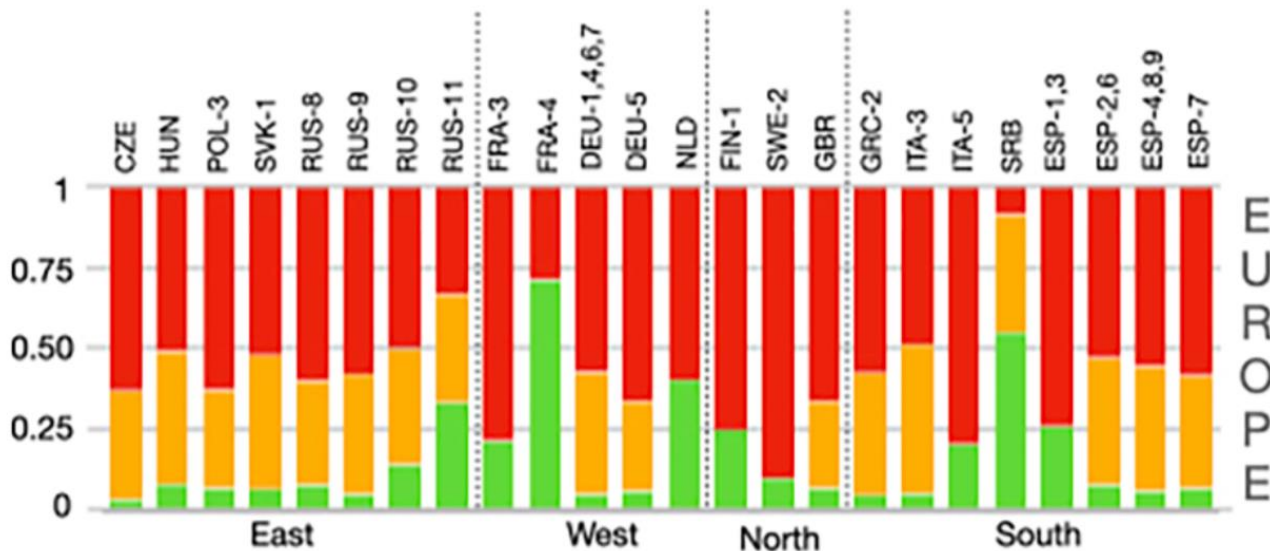
Viktorija Igumnova^{a,b,*}, Valentina Capligina^b, Alvilis Krams^{c,d}, Andra Cirule^c, Didzis Elferts^d, Ilva Pole^{b,c}, Inta Jansone^b, Dace Bandere^a, Renate Ranka^{a,b}





Lēnā acetilēšanas fenotipa izplatība pasaulē un Eiropā: dati no literatūras

AFR, Africa; AME, The Americas; ASI, Asia; EUR, Europe; MEA, Middle East, OCE, Oceania.



From: Gutiérrez-Virgen JE et al. (2023) NAT2 global landscape: Genetic diversity and acetylation statuses from a systematic review. PLoS ONE 18(4): e0283726.



Implementation of a next-generation sequencing-based targeted approach for full-length *CYP3A4* gene sequencing

Agnija Kivrane^{*,1,2}, Viktorija Igumnova^{1,2}, Janis Kimsis¹, Lauma Freimane¹, Darja Sadovska^{1,2}, Anda Vikсна^{2,3}, Ilva Pole³ & Renate Ranka^{1,2}

¹Latvian Biomedical Research and Study Centre, Ratsupites Street 1, k-1, Riga, LV1067, Latvia

²Riga Stradins University, Dzirciema Street 16, Riga, LV1007, Latvia

³Riga East University Hospital, Centre of Tuberculosis and Lung Diseases, Stopini region, Upeslejas, LV2118, Latvia

*Author for correspondence: agnija.kivrane@biomed.lu.lv

Next-Generation Sequencing and Bioinformatics-Based Protocol for the Full-Length *CYP2E1* Gene Polymorphism Analysis

Viktorija Igumnova^{1,2}, Agnija Kivrane^{1,2}, Anda Vikсна^{3,4}, Inga Norvaisa⁴, Renate Ranka^{1,2}

¹Molecular Microbiology Group, Latvian Biomedical Research and Study Centre, Riga, Latvia; ²Department of Pharmaceutical Chemistry, Riga Stradins University, Riga, Latvia; ³Department of Infectology, Riga Stradins University, Riga, Latvia; ⁴Centre of Tuberculosis and Lung Diseases, Riga East University Hospital, Riga, Latvia

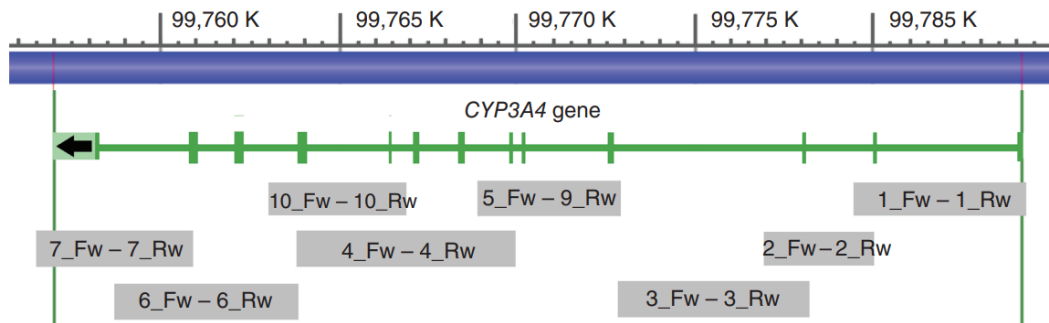


Figure 1. Graphical representation of the PCR fragment position in the reference genome.

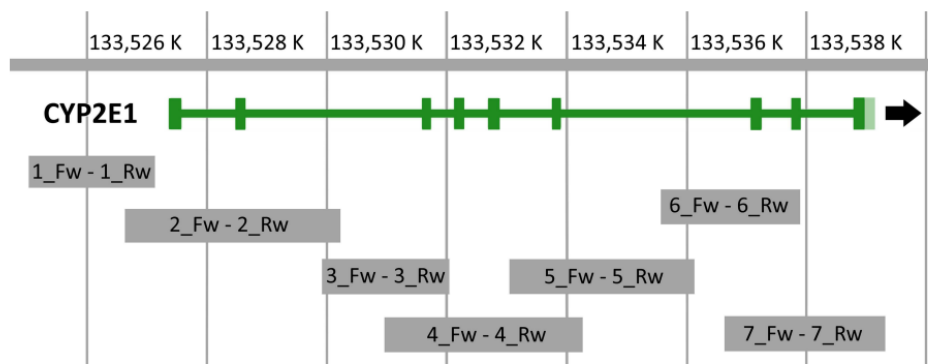


Figure 1 Graphical representation of the PCR fragment position in the reference *CYP2E1* gene. The exons are indicated by green boxes. Names of the seven primer pairs used to generate the PCR fragments are indicated.

***CYP3A4*:**
 Location: 7q22.1
 Exon count: 13
 Span: 27 218 nt
 CDS: 1 512 nt
 Protein length: 503 aa

***CYP2E1*:**
 Location: 10q26.3
 Exon count: 9
 Span: 11,761 nt
 CDS: 1,482 nt
 Protein length: 493 aa

Zāļu vielu daudzuma noteikšana asins plazmā

Šķidrums hromatogrāfijas-tandēma masas spektrometrijas (LC-MS/MS) metode vienlaicīgai pirmās līnijas prettuberkulozes zāļu (etambutola, izoniazīda, pirazinamīda un rifampicīna) un to sešu primāro metabolītu kvantitatīvai noteikšanai asins plazmā.

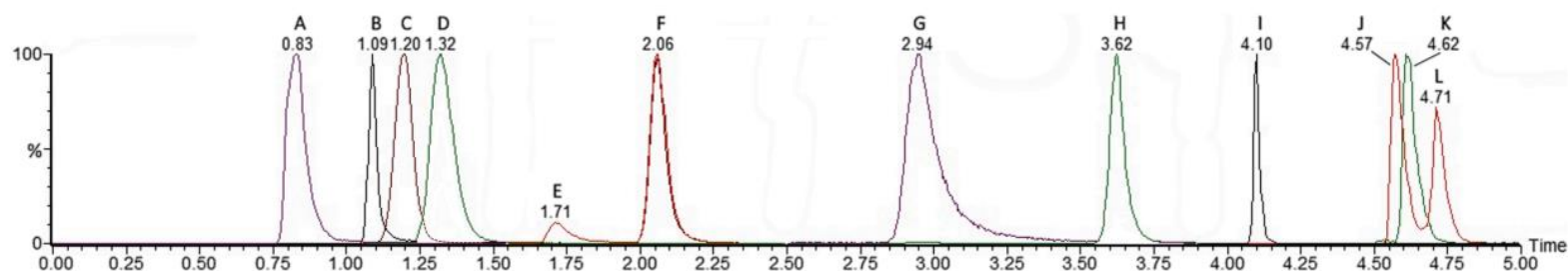


Fig. 1. Overlay plot of MRM chromatograms (seventh calibration standard, STD7). The chromatographic separation of the analyte mixture was achieved on BEH C8 column within 5 min. The total run time was extended to 10 min for system equilibration. A – ETB (0.83); B – IZN (1.09); C – IZNAC (1.20); D – ACIZN (1.32); E – 5OHPZ2A (1.71); F – 5OHPZA (2.06); G – PZ2A (2.94); H – PZA (3.62); I – IS (4.10); J, L – RIF (4.57, 4.71); K – 25DRIF (4.62).

Journal of Chromatography B 1185 (2021) 122906



Contents lists available at ScienceDirect

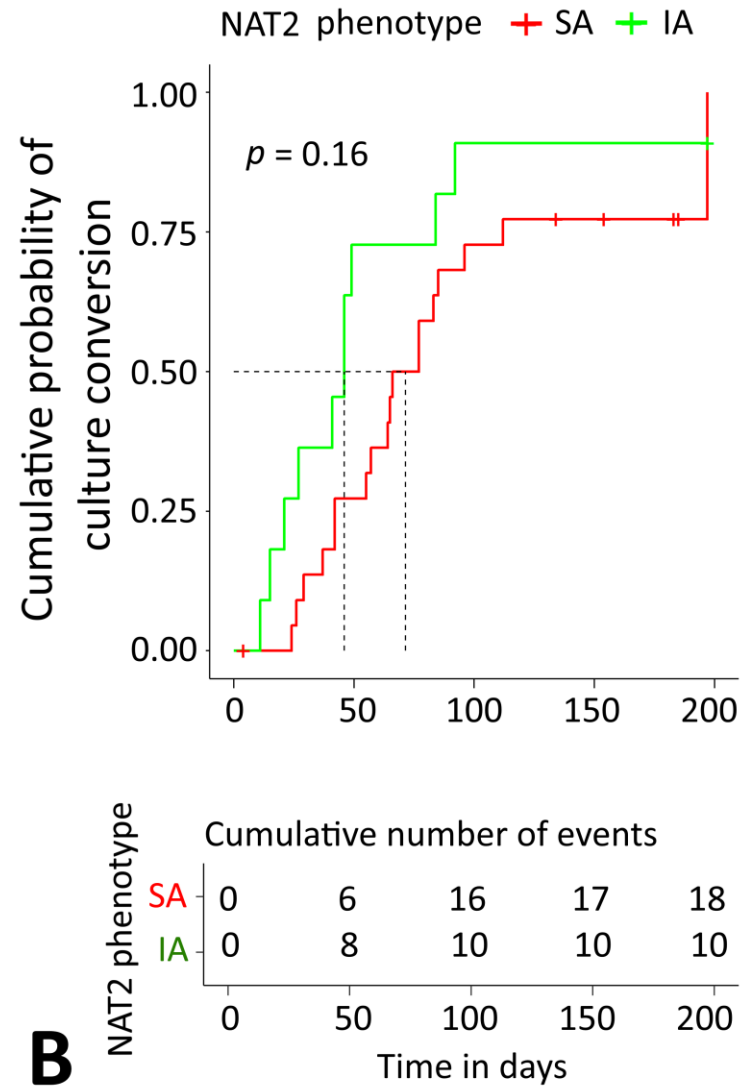
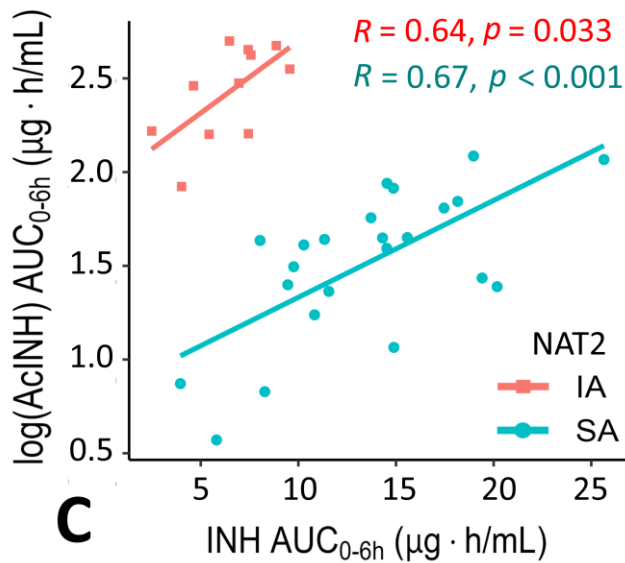
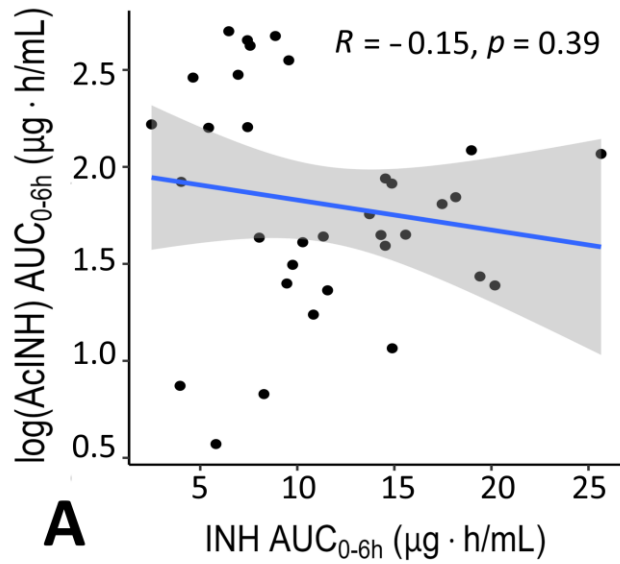
Journal of Chromatography B

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jchromb

LC-MS/MS method for simultaneous quantification of the first-line anti-tuberculosis drugs and six primary metabolites in patient plasma: Implications for therapeutic drug monitoring

Agnija Kivrane^{a,b,c,*}, Solveiga Grinberga^a, Eduards Sevostjanovs^a, Viktorija Igumnova^{b,c}, Ilva Pole^d, Anda Viksna^{c,d}, Dace Bandere^{c,e}, Alvilis Krams^d, Andra Cirule^d, Osvalds Pugovics^a, Renate Ranka^{b,c}



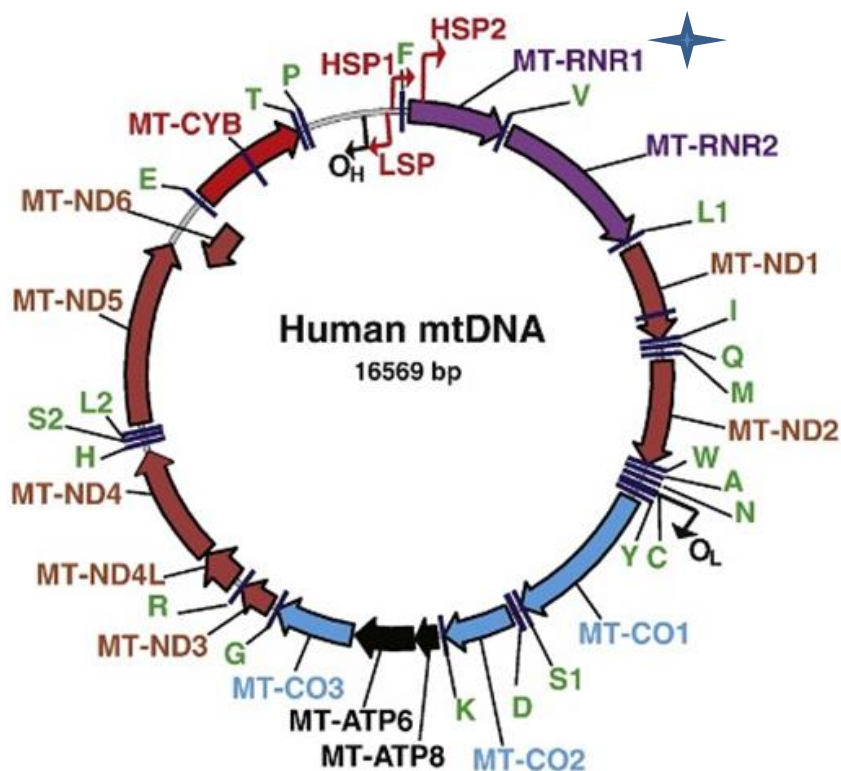


the median treatment times were 46 vs. 71.5 days

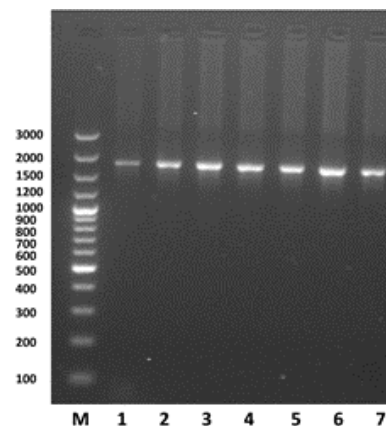
Aminoglikozīdi un ototoksicitāte.

Aminoglikozīdi: lieto smagu gramnegatīvu infekciju, jaundzimušo sepses un multirezistentas tuberkulozes ārstēšanai.

Ototoksicitāte ir labi zināma aminoglikozīdu blakusparādība, un cilvēkiem ar noslieci uz to var rasties neatgriezenisks dzirdes zudums.



mtDNA *MT-RNR1* gēna mutāciju noteiksana izmantojot PCR (1580 bp) un sekvencēšanu.



MT-RNR1 gēna mutāciju noteikšana

Variation	Clinical meaning	Prevalence % (No) in general populations				
		Latvia	Finland	Poland	USA, Iowa	USA, Texas
m.1555A>G	Pathogenic	0.52 (1/191)	0.12 (1/813)	0.4 (2/500)	0.23 (5/2176)	0.09 (1/1161)
m.1494C>T	Pathogenic	0 (0/191)	0 (0/813)	0 (0/500)	0.05 (1/2176)	-
m.1095T>C	Pathogenic	0 (0/191)	0 (0/813)	0 (0/500)	0 (0/2176)	-
m.961insC(n)	Likely benign	2.09 (4/191)	-	0.6 (3/500)	-	0.43 (5/1161)
m.961delTinsC(n)	Pathogenic	0 (0/191)	-	0.4 (2/500)	0.78 (17/2176)	0.6 (7/1161)
m.961T>G	Likely benign	2.09 (4/191)	-	0.8 (4/500)	-	0.52 (6/1161)
m.961T>A	Unknown	0.52 (1/191)	-	0 (0/500)	-	-
m.827A>G	Pathogenic	1.05 (2/191)	-	0.2 (1/500)	0.78 (17/2176)	-
m.951G>A	Likely benign	1.05 (2/191)	-	0.4 (2/500)	-	-

7.4%

Journal of Human Genetics
<https://doi.org/10.1038/s10038-018-0544-6>

ARTICLE

The prevalence of mitochondrial mutations associated with aminoglycoside-induced deafness in ethnic Latvian population: the appraisal of the evidence

Viktorija Igumnova^{1,2} · Lauma Veidemane¹ · Anda Viksna³ · Valentina Caplignina¹ · Egija Zole¹ · Renate Ranka^{1,2}



Ototoksicitātes un nefrotoksicitātes biežums MDR-TB terapijas laikā

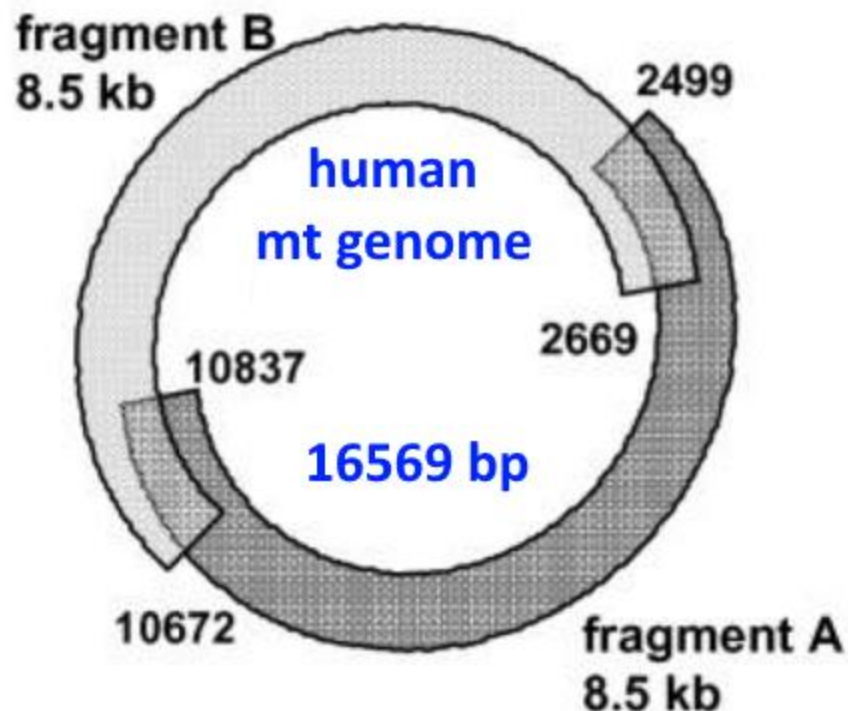
Ototoksicitāte konstatēta 16 (34,0 %) pacientiem;

Nefrotoksicitāte konstatēta 13 (27,7 %) pacientiem;

Abas blaknes - 3 (6,4 %) pacientiem.

Vairāk nekā pusei pacientu ar MDR-TB novēroja blaknes, kas varētu būt saistītas ar amikacīna vai kapreomicīna lietošanu (26 no 47 pacientiem, 55,3 %).

Visa mitohondriālā genoma sekvencēšana

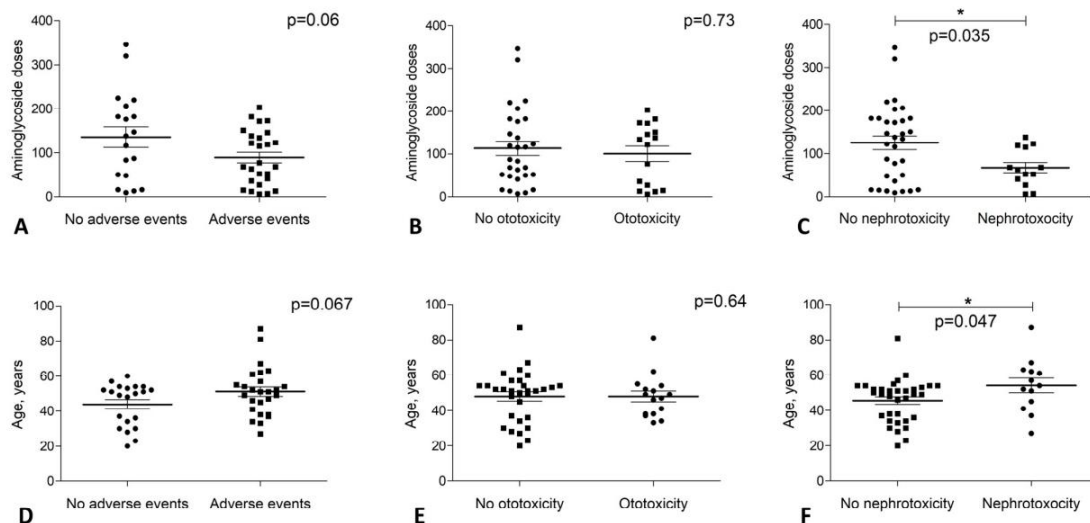


- mtDNS amplifikācija izmantojot PCR, lai iegūtu ~ 8,5 kb garus produktus - A un B fragmentus (Fendt et al.)
- A un B amplikoni tika apvienoti un sašķelti ultraskaņu 200–250 bp garos fragmentos.
- NGS

Fendt, L.; Zimmermann, B.; Daniaux, M.; Parson, W. Sequencing Strategy for the Whole Mitochondrial Genome Resulting in High Quality Sequences. BMC Genom. 2009, 10, 139. [Cros

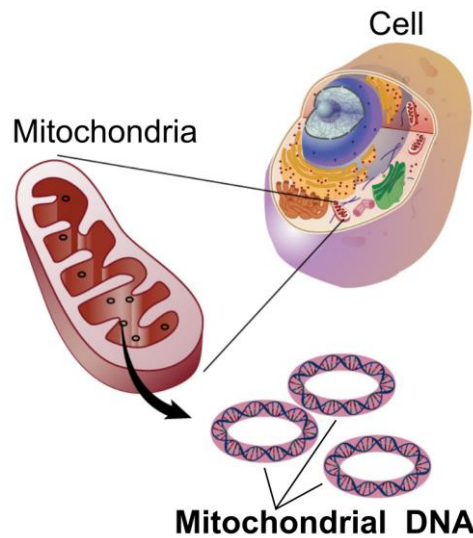
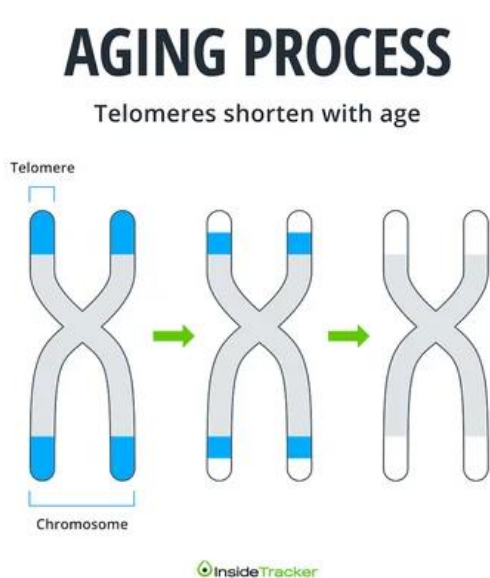
Characteristic		No. (%) of Patients	No. (%) of Patients with Adverse Events			
			Total	Ototoxicity	Nephrotoxicity	Both Events
Injectable agent used	Amikacin	2	2 (100.0)	2 (100.0)	1 (50.0)	1 (50.0)
	Capreomycin	29	14 (48.3)	5 (17.2)	10 (34.5)	1 (3.4)
	Amikacin + capreomycin ***	16	10 (62.5)	9 (56.3)	2 (12.5)	1 (6.3)
	<i>p</i> value		0.282	0.004	0.222	0.034
Renal impairment before treatment	Yes	5 (10.6)	5 (100.0)	3 (60.0)	4 (80.0)	2 (40)
	No	42 (89.4)	21 (50.0)	13 (31.0)	9 (21.4)	1 (2.4)
	<i>p</i> value		0.056	0.320	0.017	0.027

- Ototoksicitāte bija saistīta ar amikacīna lietošanu;
- Nefrotoksicitāte galvenokārt konstatēta TB ārstēšanas sākumā;
- Ototoksicitāte nebija saistīta ar ārstēšanas ilgumu;
- Nefrotoksicitāte bija saistīta ar vecumu;
- Nefrotoksicitāte biežāk konstatēta pacientiem, kam bija nieru darbības traucējumi pirms TB ārstēšanas;
- Pilna mtDNS genoma sekvencēšana neuzrādīja mitohondriju saistību ar blaknēm.

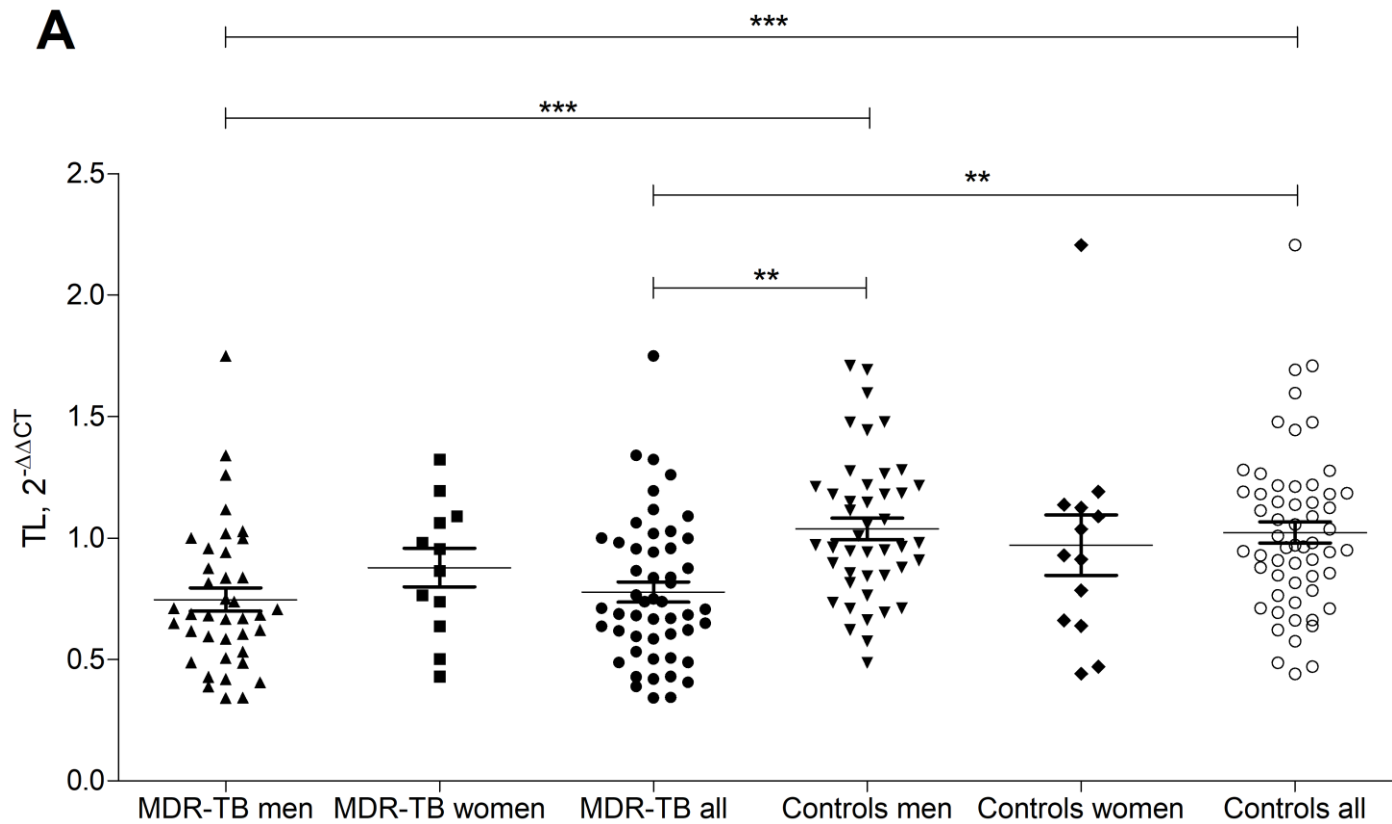


Novecošanās un tuberkuloze

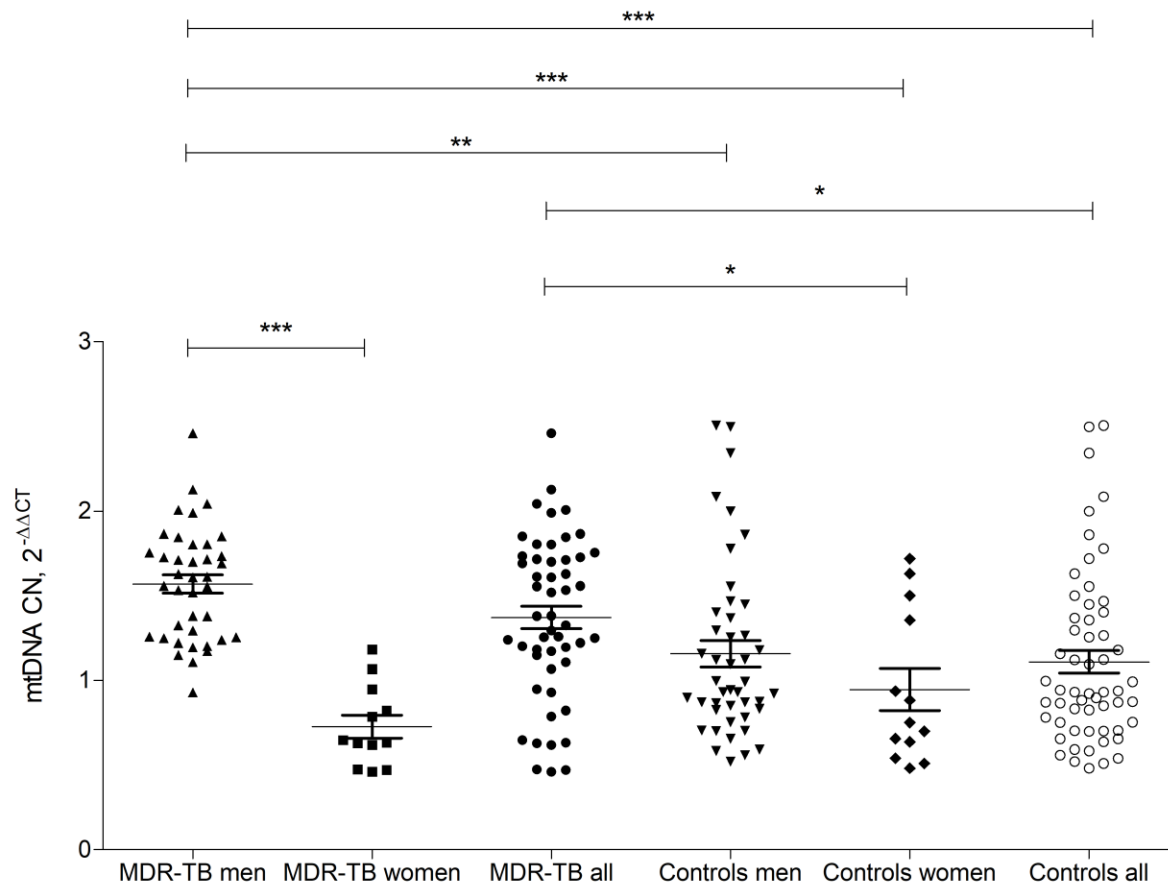
- Multirezistentā tuberkuloze (MDR-TB) ir smaga slimība, kurai nepieciešama ilgstoša ķīmijterapija un kas saistīta ar palielinātu ārstēšanas neveiksmes un nāves iespējamību.
- MDR-TB ir paaugstināta oksidatīvā stresa un iekaisuma stāvoklis, kas varētu būt saistīts ar novecošanas procesiem.



Vidēji katrā šūnā ir no 10^3 līdz 10^4 mitohondriju genoma kopijas, lai gan šis skaits atšķiras atkarībā no šūnas veida un attīstības stadijas.



- MDR-TB pacientiem bija samazināts telomēru garums salīdzinot ar kontroles grupu;
- Vīriešiem bija samazināts telomēru garums salīdzinot ar sievietēm;
- MDR-TB pacientiem ar normālu ķermeņa masas indeksu bija garākas telomēras nekā tiem pacientiem, kuriem bija nepietiekams svars.



- MDR-TB pacientiem bija palielināts mitohondriju DNS kopiju skaits (mtDNS CN) salīdzinot ar kontroles grupu;
- Vīriešu dzimums un ārpusplaušu TB spēcīgi ietekmēja mtDNS CN pieaugumu.



Telomere length and mitochondrial DNA copy number in multidrug-resistant tuberculosis

Lauma Freimane^{a,b}, Linda Barkane^{b,c}, Viktorija Igumnova^a, Agnija Kivrane^a, Egija Zole^a, Renate Ranka^{a,b,c}

^a Latvian Biomedical Research and Study Centre, Raiņapiens Street 1, k-1, Rīga, LV1007, Latvia

^b Rīga Stradiņš University, Dzirniņu Street 16, Rīga, LV1007, Latvia

^c Rīga East University Hospital, Centre of Tuberculosis and Lung Diseases, Droptiņu Region, Upelītes, LV2118, Latvia

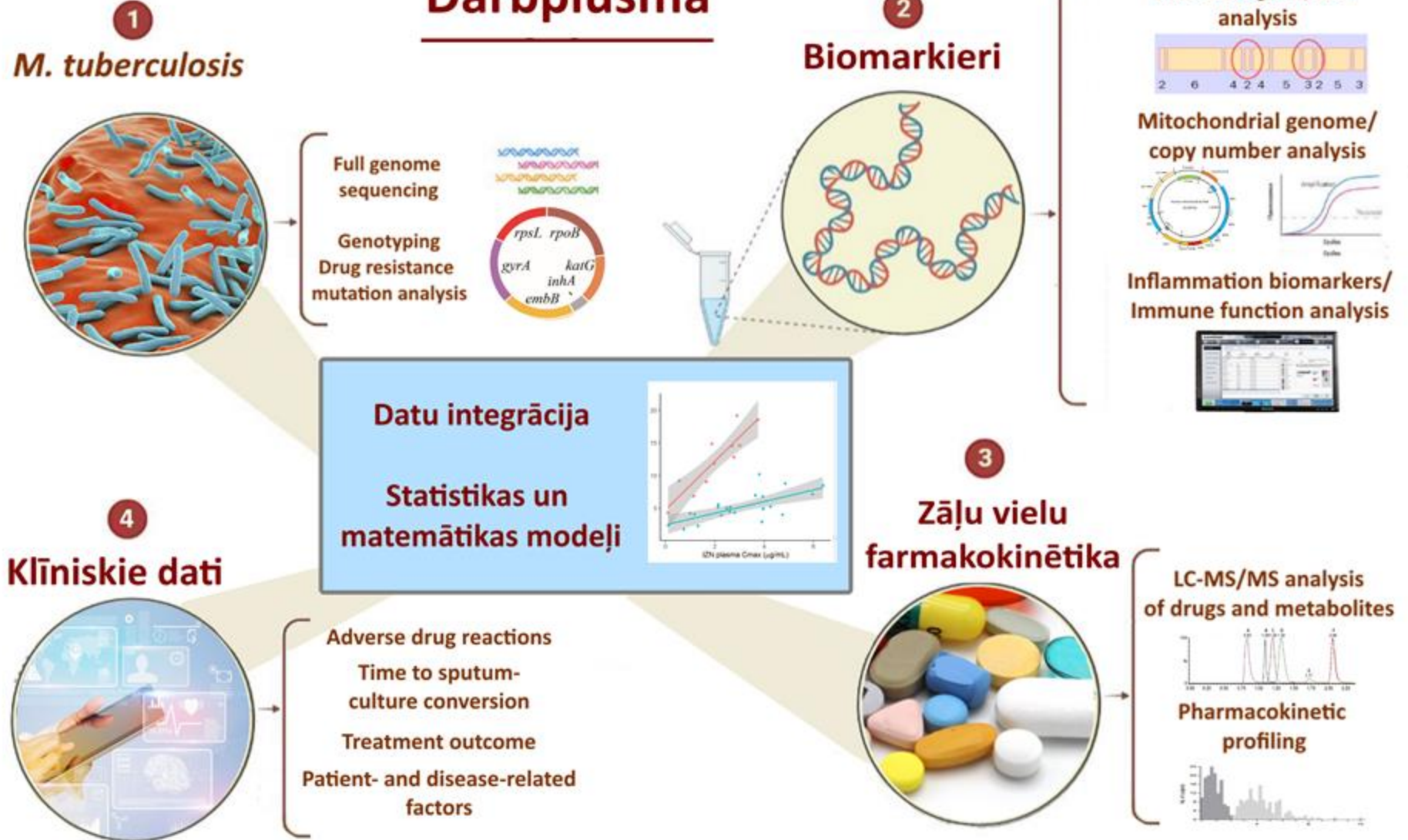


Līdzautori un sadarbības partneri:

Viktorija Ulanova (ex. Igumnova), Agnija Kivrāne, Lauma Freimane, Darja Sadovska (ex. Aleinikova), Anda Vīksna, Dace Bandere, Leonora Pahirko, Eduards Sevostjanovs, Solveiga Grīnberga, Osvalds Pugovičs, Linda Barkāne, Iveta Ozere, Inga Norvaiša, Ilva Pole, Valentīna Čapligina, Didzis Elferts, Jānis Ķimisis, Andra Cīrule, Alvils Krams.

Tuberkulozes zāļu farmakoģenētika

Darbplūsma



Sadarbības piedāvājums:



- Farmakoģenomikas pētījumi dažādās medicīnas nozarēs;
- Farmakogenomikas biomarķieru funkcionālais raksturojums, izmantojot šūnu līnijas un dzīvnieku modeļus;
- Bioinformātiskā datu analīze un datu modelēšana;
- Klīniskie un translācijas pētījumi, kas ietver farmakoģenētikas biomarķieru integrēšanu un testēšanu stacionārās un ambulatorās medicīniskās aprūpes kontekstā;
-

Paldies par uzmanību!

RSU

RSU Farmakoģenētikas laboratorija veic pētījumus lai noskaidrotu, kā cilvēka genoma variācijas ietekmē reakciju uz zālēm un terapijas efektivitāti. Šo pētījumu galvenais mērķis - noteikt ģenētisko modeli, kas varētu paredzēt konkrētu zāļu reakciju noteiktā pacientu grupā un nodrošināt pareizas zāles pareizā devā pareizam pacientam.

Pētniecības virzieni farmakogenomikas un personalizētās medicīnas jomās:

Farmakogenomikas pētījumi, lai noskaidrotu zāļu metabolizējošo enzīmu gēnu variāciju iespējamo saistību ar ārstēšanas efektivitāti un zāļu blakusparādību attīstību.

Zāļu transportproteīnu pētījumi saistībā ar zāļu efektiem un zāļu mijiedarbību.

Analītisku rīku izstrāde, tostarp uz Nākošās pāaudzes sekvenēšanu-balstītu gēnu analīzes paneļu izstrāde.

Ārstēšanas efektivitātes un zāļu efektu biomarkieru identificēšana, izmantojot vairākas omikas, tostarp genomikas, transkriptomikas, metabolomikas un proteomikas metodes.

CES2, SLCO1B3, SLCO1B1, AADAC, XDH, ABCB1, NAT2, CYP3A4, CYP2E1, G6PD, GSTM1, GSTT1, PXR + pilns mtDNS.