



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας

Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών

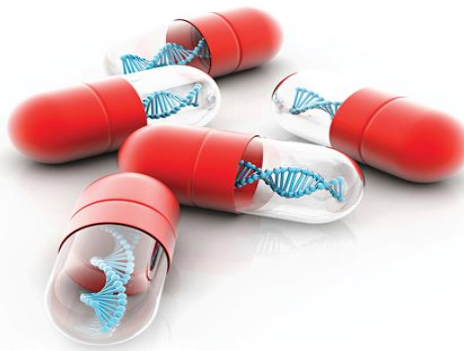
Μεταπτυχιακό: Βιοϊατρικές Μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Νέες προσεγγίσεις στην Εξατομικευμένη Φαρμακοθεραπεία (personalized medicine): Θεωρητικό πλαίσιο, αναλυτικές μέθοδοι, κλινικές εφαρμογές, προοπτικές

ΚΛΕΙΔΑΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

A.M 17005



Επιβλέπων: ΓΕΩΡΓΙΟΣ-ΑΛΒΕΡΤΟΣ ΚΑΡΙΚΑΣ

Ομότιμος καθηγητής

ΑΘΗΝΑ, ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2019

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑ- ΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον εισηγητή και επιβλέποντα καθηγητή της διπλωματικής αυτής εργασίας Δρα. Γεώργιο-Αλβέρτο Καρίκα για την πολύτιμη και αναγκαία βοήθεια του. Εκτός από τις συμβουλές του για τη πραγματοποίηση της εργασίας αυτής, ήταν πάντα δίπλα μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό της Μονάδας Ενδοφλέβιων Διαλυμάτων, των Νοσοκομείων Παιδών «Παναγιώτη & Αγλαΐας Κυριακού» και «Η Αγία Σοφία», για τη πολύτιμη συνεισφορά τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένεια μου για την υποστήριξη και συμπαράσταση τους, σε όλο το διάστημα παρακολούθησης των μεταπτυχιακών μαθημάτων, αλλά και την εκπόνηση της παρούσης εργασίας.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

Περίληψη

Η διπλωματική εργασία με θέμα «*Νέες προσεγγίσεις στην Εξατομικευμένη Φαρμακοθεραπεία (personalized medicine): Θεωρητικό πλαίσιο, αναλυτικές μέθοδοι, κλινικές εφαρμογές, προοπτικές*» έχει ως στόχο την ανάδειξη και την παρουσίαση νέων πρωτοποριακών μεθόδων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο εγγύς μέλλον για ένα καλύτερο ποιοτικά επίπεδο υγειονομικής περίθαλψης των ασθενών. Θα παρουσιαστούν κάποιες νέες τεχνικές, οι οποίες θα μπορέσουν να μειώσουν αισθητά το χρονικό διάστημα, που απαιτείται για την έγκυρη διάγνωση και θεραπεία της νόσου.

Η Φαρμακογενετική/Φαρμακογονιδιωματική, σε συνδυασμό με τη γνώση φαρμακοδυναμικών/φαρμακοκινητικών δεδομένων, των πολυμορφισμών του DNA, την αξιοποίηση προγνωστικών/ διαγνωστικών βιοδεικτών για νεοπλασματικές νόσους (υγρή βιοψία), αυτοάνοσα κ.α. σοβαρά νοσήματα και μόλις πρόσφατα, νέων ανοσοχημικών επεμβατικών τεχνικών (CAR-T), θα αποδειχθούν πολύ σημαντικά κλειδιά στη προσέγγιση της επιλογής μιας εξατομικευμένης και αποτελεσματικής φαρμακοθεραπείας.

Με την εφαρμογή των νέων αυτών μεθόδων εξασφαλίζεται σε πολύ μεγάλο μέρος η εφαρμογή της πλέον κατάλληλης θεραπείας για τον εκάστοτε ασθενή με την συγκεκριμένη πάθηση, όπως και η σημαντική μείωση του κόστους νοσηλείας. Ο ασθενής θα εξετάζεται πλέον ατομικά και όχι μόνο βάσει της πάθησης του, με κύριο άξονα το δικό του βιολογικό υλικό και έτσι θα δίνεται η δυνατότητα να δημιουργηθεί ένας προσωπικός «ιατρικός φάκελος» που θα παρέχει σημαντικές πληροφορίες στο υγειονομικό προσωπικό, για τη ακρίβη χάραξη της φαρμακοθεραπείας του.

Πρέπει όμως να επισημανθεί η κρισιμότητα της απρόσκοπτης χρήσης και κοινοποίησης των πληροφοριών που εμπεριέχονται σε αυτόν τον φάκελο, διότι τα στοιχεία αυτά αποτελούν ευαίσθητα προσωπικά δεδομένα. Επομένως ο συνδυασμός της ασφαλούς χρήσης των δεδομένων, με τη εφαρμογή των νέων αναλυτικών τεχνικών, θα μπορέσει να εξασφαλίσει ποιοτική και έγκαιρη υγειονομική φροντίδα.

ABSTRACT

The thesis on «*New Approaches to Personalized Pharmacotherapy (Personalized Medicine) Theoretical Framework, Analytical Methods, Clinical Applications, Perspectives*» aims to highlight and present new, innovative methods that can be used in the near future for better healthcare quality, which will significantly reduce the time that required for a valid diagnosis and treatment of the disease.

Pharmacogenetics/Pharmacogenomics, combined with knowledge of pharmacodynamic/pharmacokinetic data, DNA polymorphisms, utilization of prognostic/diagnostic biomarkers for neoplastic diseases (e.g. liquid biopsy), autoimmune, other serious diseases and the new immunochemical invasive techniques (e.g. CAR-T), will be proved to be very important keys in approaching the choice of a personalized and effective pharmacotherapy.

The application of these new methods greatly ensures the most appropriate treatment for the individual patient with the particular disease, as well as the significant reduction in hospital costs.

The patient will be examined individually and not only on the basis of his clinical condition, focusing on his own biological samples, thus enabling the creation of a personal medical record that will provide important information to health care staff, for more accurate and effective pharmacotherapy.

However, the importance of using and sharing such dossier information should be strictly protected towards its privacy, since these biological data are quite sensitive. Therefore, combining the correct and safe use of personalize data, along with the proper application of new analytical techniques health system will be able to ensure quality and timely care.

Πρόλογος/δομή εργασίας

Η διπλωματική εργασία με αντικείμενο μελέτης «**Νέες προσεγγίσεις στην Εξατομικευμένη Φαρμακοθεραπεία (personalized medicine) Θεωρητικό πλαίσιο, αναλυτικές μέθοδοι, κλινικές εφαρμογές, προοπτικές**» αποτελείται από 4 κεφάλαια:

Στο Κεφάλαιο 1 παρουσιάζονται οι βασικές αρχές της Φαρμακοκινητικής και Φαρμακοδυναμικής. Η Φαρμακοκινητική μελετά την «τύχη» του φαρμάκου στον οργανισμό (ADME), ενώ η Φαρμακοδυναμική διερευνά την εξειδικευμένη σύνδεση του φαρμάκου με τους υποδοχείς του, τις παρενέργειες, τις δοσολογίες και τις αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα.

Στο Κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται εκτενέστερα η διαδικασία του μεταβολισμού των φαρμάκων στον οργανισμό, με βάση τις βιοχημικές αντιδράσεις/βιομετατροπές που συντελούνται εντός του ανθρώπινου οργανισμού. Επίσης αναλύεται ο ρόλος και η φύση των μεταβολιτών σε σχέση με τους πιθανούς πολυμορφισμούς των ενζυματικών συστημάτων (P₄₅₀) στη Φάση I και II.

Στο Κεφάλαιο 3 περιγράφονται τα αντικείμενα μελέτης της Φαρμακογενετικής/Φαρμακογονιδιακής και οι σχέσεις τους με την Εξατομικευμένη Θεραπείας (Ιατρική της ακρίβειας). Η χρήση των φαρμακογονιδιωματικών βιοδεικτών στην σημερινή εποχή καθώς και οι νέες τεχνικές που υποστηρίζουν την εξατομικευμένη θεραπεία όπως: η υγρή βιοψία, η χρήση των βιοδεικτών για την θεραπεία του καρκίνου, η εφαρμογή γονιδίων-στόχων ως θεραπευτικό μέσο κάποιων ασθενειών και η νέα μέθοδος CAR-T cells, περιγράφονται ενδεικτικά.

Το Κεφάλαιο 4 πραγματεύεται το σχεδιασμό των κατάλληλων κλινικών οδηγιών καθώς και τη δημιουργία ενός νομικού πλαισίου που θα θωρακίζει και θα εξασφαλίζει με απόλυτη εχεμύθεια και ασφάλεια τα προσωπικά δεδομένα, που θα αποθηκεύονται σε ηλεκτρονικούς ιατρικούς φακέλους. Επίσης περιγράφεται αναλυτικά η διαδικασία που πρέπει να ακολουθήσει ο ασθενής και ο ιατρός, πριν ξεκινήσει να αποθηκεύει τα ιατρικά δεδομένα.

Τέλος, παρουσιάζονται τα συμπεράσματα της παρούσης εργασίας μέσα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, όπως και τα ερωτήματα που χρήζουν συζήτηση και προβληματισμό για τους περιορισμούς και τη σπουδαιότητα της Εξατομικευμένης Θεραπείας στη σύγχρονη εποχή.

Περιεχόμενα

Πρόλογος

1. Βασικές αρχές φαρμακοδυναμικής & φαρμακινητικής.....	1
1.1 Βασικές αρχές Φαρμακοκινητικής.....	2
1.1.1 Απορρόφηση φαρμάκου.....	3
1.1.1.1 Διέλευση των βιολογικών μεμβρανών.....	3
1.1.1.2 Τρόποι χορήγησης φαρμάκων.....	5
1.1.2 Κατανομή φαρμάκου.....	7
1.1.2.1 Πρωτεϊνική σύνδεση των φαρμάκων.....	9
1.1.2.2 Φραγμοί φαρμάκων.....	10
1.1.3 Μεταβολισμός φαρμάκου.....	11
1.1.3.1 Η επίδραση της ενζυματικής επαγωγής στο μεταβολισμό.....	13
1.1.3.2 Η επίδραση της ενζυματικής αναστολής στο μεταβολισμό.....	13
1.1.4 Απέκκριση φαρμάκου.....	14
1.1.4.1 Νεφρική απέκκριση.....	14
1.1.4.2 Ηπατική απέκκριση.....	15
1.1.4.3 Διάφοροι άλλοι οδοί αποβολής.....	16
1.2 Βασικές αρχές φαρμακοδυναμικής.....	16
1.2.1 Υποδοχείς.....	17
1.2.1.1 Υπεροικογένειες υποδοχέων.....	18
1.2.1.2 Αγωνιστές, ανταγωνιστές, αλλοστερικοί ρυθμιστές.....	20
1.2.2 Η Δράση του φαρμάκου και η εξατομίκευση.....	22
2. Ο μεταβολισμός των φαρμάκων.....	24
2.1 Αντιδράσεις βιοσχηματισμού μεταβολιτών.....	25
2.2 Μεταβολικές φάσεις.....	26
2.2.1 Μεταβολική Φάση I	26
2.2.2 Μεταβολική φάση II.....	31
3. Φαρμακογενετική – Φαρμακογονιδιακή – Εξατομικευμένη Θεραπεία (Ια- τρική της ακρίβειας).....	35
3.1 Οι έννοιες της Φαρμακογενετικής και της Φαρμακογονιδιακής.....	35
3.2 Η Ιατρική της ακρίβειας.....	36
3.3 Φαρμακογονιδιωματικοί βιοδείκτες.....	39
3.3.1 Εφαρμογή βιοδεικτών.....	43
3.4 Νέες αναλυτικές μεθόδους.....	46
3.4.1Υγρή βιοψία.....	46

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑ- ΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

3.4.2 Η χρήση των διαγνωστικών/προβλεπτικών βιοδεικτών στη θεραπεία του καρκίνου.....	50
3.4.2.1 Μελέτη φάσεων του διαγνωστικού βιοδείκτη στο σχεδιασμό φαρμάκων.....	53
3.4.3 Γονίδια-στόχοι ως φάρμακα με βάση εξειδικευμένα γονιδιακά νου-κλεϊκά οξέα.....	54
3.4.4 Η μέθοδος των CAR-T CELLS.....	59
4. Κλινικές κατευθυντήριες οδηγίες – Δημιουργία ρυθμιστικού-βιοηθικού και νομικού πλαισίου.....	63
4.1 Η έκθεση Belmont.....	64
4.2 Δικαίωμα στη πρόσβαση.....	65
4.3 Αντιμετώπιση δεοντολογικών και πρακτικών δυσκολιών.....	68
Συζήτηση – Συμπεράσματα.....	70
Βιβλιογραφία.....	73

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ & ΦΑΡ- ΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

Η συνεχής και ραγδαία εξέλιξη των Βιοϊατρικών επιστημών και ειδικότερα της Φαρμακολογίας τα τελευταία 50 χρόνια, έχει οδηγήσει την επιστημονική κοινότητα στην εξεύρεση πιο εξειδικευμένων και σύγχρονων μεθοδολογιών για ταχύτερη, οικονομικότερη και αποτελεσματικότερη μορφή θεραπείας.

Η κλασική Φαρμακολογία είναι η επιστήμη που μελετάει τις επιδράσεις των φαρμακευτικών ουσιών στον οργανισμό καθώς και τις βιολογικές δράσεις αυτών. Επιπλέον διερευνά την χημική δομή τους και την θεραπευτική τους δράση.

Η σύγχρονη Φαρμακολογία, βασίζεται και αναπτύσσεται πλέον σε 3 διακριτούς κλάδους, που όμως είναι απόλυτα αλληλένδετοι και αλληλοσυμπληρούμενοι, τους εξής:

- Φαρμακοκινητική (τι «κάνει» ο οργανισμός στο φάρμακο)
- Φαρμακοδυναμική (τι «κάνει» το φάρμακο στον οργανισμό)
- Φαρμακογενετική (πως επηρεάζει το γενετικό προφίλ του ασθενή τη δράση του φαρμάκου).

Ετσι προέκυψε το λεγόμενο «τρίγωνο της σύγχρονης φαρμακολογίας» (Εικόνα 1).

Τρίγωνο σύγχρονης Φαρμακολογίας



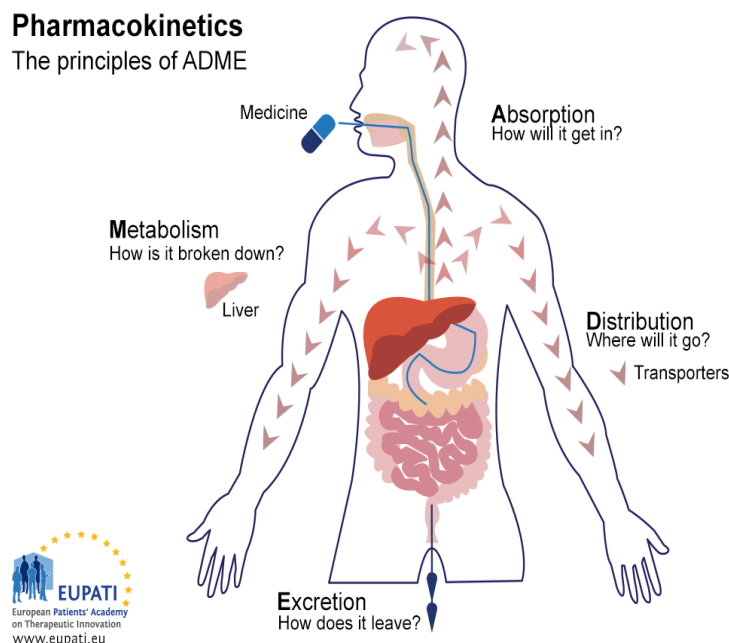
Εικόνα 1: Τρίγωνο Φαρμακολογίας

(Από: «Θέματα Φαρμακοκινητικής», Γ. Α. Καρίκα, 2018)

Σε αυτό το κεφάλαιο θα περιγράψουμε τα επιστημονικά αντικείμενα της Φαρμακοκινητικής και Φαρμακοδυναμικής, τις σχέσεις τους, καθώς και το ρόλο τους στις πρώιμες προσεγγίσεις στην εξατομικευμένη φαρμακοθεραπεία.

1.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗΣ

Η Φαρμακοκινητική πραγματεύεται την ποσοτική μελέτη των 4 βασικών διαδικασιών της **απορρόφησης**, της **κατανομής**, του **μεταβολισμού** και της **απομάκρυνσης/απέκκρισης** (Εικόνα 2) των φαρμακευτικών ουσιών που εισέρχονται στον οργανισμό και αποτελούν τον βασικό παράγοντα της σχέσης μεταξύ δόσης και συγκέντρωσης του φαρμάκου στα διάφορα βιολογικά υγρά [1,3,12,32-37,39-40].



Εικόνα 2 . Η πορεία ADME στον οργανισμό (www.medicosite.com)

Με την βοήθεια της Φαρμακοκινητικής επιτυγχάνουμε τον σωστό υπολογισμό της απαιτούμενης δόσης στον ασθενή, την μέτρηση και μελέτη των επιπέδων φαρμάκου και την ανίχνευση αν η τοξικότητα του φαρμάκου ή έλλειψη θεραπευτικής δράσης έχει άμεση σχέση με την αυξομείωση της δοσολογίας [1,3,12,32-37,39-40].

Εξαιρώντας βεβαίως τα φάρμακα τοπικής εφαρμογής, η **διάχυση** και η **απορρόφηση** των δραστικών συστατικών της φαρμακευτικής ουσίας είναι απαραίτητες προϋποθέσεις για την εμφάνιση φαρμακολογικής αντίδρασης στον οργανισμό. Η τελική είσοδος του φαρμάκου στην κυκλοφορία (**βιοδιαθεσιμότητα**) διαμορφώνεται μετά από τη

διέλευση ποικίλων φραγμών και κυρίως των βιολογικών μεμβρανών. Ομοίως ισχύει και για την ενεργητική ή παθητική απέκκριση του φαρμάκου από το βιολογικό σύστημα. Η λιποειδική φύση και η δομή των κυτταρικών μεμβρανών, καθορίζουν ότι οι λιποδιαλυτές ουσίες διανέμονται ευκολότερα μέσα στον οργανισμό, ενώ οι υδατοδιαλυτές και μεγαλομοριακές συναντούν εμπόδια [1,3,12,32-37,39-40].

1.1.1 ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΥ

Η απορρόφηση του φαρμάκου είναι η μεταφορά από την περιοχή χορήγησης στην γενική κυκλοφορία. Η χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής μέσω στόματος είναι ο πιο απλός και κοινός τρόπος χορήγησης, αλλά μπορεί να έχει διαφορετικό βαθμό βιοδιαθεσιμότητας βασιζόμενος σε πολλούς παράγοντες που επηρεάζουν την απορρόφηση του φαρμάκου από τον οργανισμό [1,3,9,11,12,32-37,39-40].

1.1.1.1 Διέλευση των βιολογικών μεμβρανών

Οι διαμεμβρανικοί μηχανισμοί ταξινομούνται σε *ενεργητικούς* και *παθητικούς*. Η διευκολυνόμενη διάχυση, η ενεργητική μεταφορά και η ενδοκύττωση είναι ενεργητικοί μηχανισμοί. Παθητικοί μηχανισμοί είναι η διάχυση και η διήθηση [1, 3, 5,8,13].

Ενεργητικοί μηχανισμοί:

1. *Διευκολυνόμενη διάχυση*. Αφορά κυρίως υδατάνθρακες ή αμινοξέα, καθώς και φάρμακα που είναι παράγωγα των προαναφερθέντων.

2. *Ενεργητική μεταφορά*: Εκμεταλλεύεται την ομοιότητα του φαρμάκου με το φυσικό σύμπλοκο, επιτρέποντάς του να δεσμευθεί με τους μακρομοριακούς μεταφορείς παρ' όλα αυτά η λειτουργία αυτή απαιτεί ενέργεια για την μεταφορά του φαρμάκου λόγω της διαφοράς συγκέντρωσης. Χρήζει ύπαρξης λιποδιαλυτού μορίου στη μεμβράνη του κυττάρου, το οποίο φέρεται ως υποδοχέας και ως φορέας για το φάρμακο. Μετά τη μεταφορά του στην ενδοκυττάρια περιοχή, ο ελεύθερος φορέας επιστρέφει στην εξωτερική επιφάνεια, παραλαμβάνει νέο φαρμακομόριο, κ.ο.κ. Η ενεργητική μεταφορά αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την απορρόφηση υδατοδιαλυτών φαρμάκων στο εντερικό επιθήλιο και για την απέκκρισή τους στη χοληδόχο κύστη και στα ούρα.

3. *Ενδοκύττωση*: Πολύπλοκος μηχανισμός που απαιτεί ενέργεια. Η συμμετοχή του στην απορρόφηση και μεταφορά των φαρμάκων, αμφισβητείται από πολλούς ερευνητές. Φαίνεται να επηρεάζει την απορρόφηση ορισμένων ουσιών και κυρίως των πρωτεϊνικών μορίων. Κατά την απέκκριση, η αντίστοιχη διαδικασία ονομάζεται *εξωκύττωση* [1,5,6,8,13].

Παθητικοί μηχανισμοί

1. *Διήθηση*: Η παθητική διάχυση επιτυγχάνεται μέσω του φαινομένου της λιποδιαλυτότητας, η οποία διαπερνάει τη φωσφολιπιδική μεμβράνη και

κινείται μέσω της αυξανόμενης συγκέντρωσης μέχρι να υπάρξει ισορροπία. Ένα κλασικό παράδειγμα διήθησης είναι το τοίχωμα του νεφρικού σπειράματος, όπου το διαπερνούν μεταξύ πολλών άλλων νερό, ουρία, λευκωματίνη και φάρμακα. Ωστόσο πρέπει να διευκρινιστεί, ότι σε ιστούς με μεγάλη διακίνηση νερού, μεταφέρεται κυρίως διά μέσου ειδικών πόρων, τις *υδροπορίνες* [1,3,5,8,13].

2. **Διάχυση:** Είναι ο πιο συνηθισμένος τρόπος μεταφοράς μορίων δια μέσου κυτταρικής μεμβράνης χωρίς την παρουσία ενέργειας και βασικό ρόλο παίζει ο «νόμος του Fick»:

$D = K \frac{A \times (C1 - C2)}{d}$	Όπου, <i>D</i> = βαθμός διάχυσης, <i>A</i> = η επιφάνεια της μεμβράνης που συμμετέχει στο φαινόμενο της διάχυσης, (<i>C1-C2</i>)= η διαφορά της συγκέντρωσης στη μεμβράνη από τα καθορισμένα διαμερίσματα, <i>d</i> = πάχος της μεμβράνης
--------------------------------------	--

Η σταθερά διάχυσης της ουσίας *K* εξαρτάται:

- Από το MB και τη δομή του μορίου. Ουσιαστικά πρόκειται για το πως μπορεί να καθορίσει το μέγεθος και η διάταξη της ουσίας στη διάχυση της, με μηχανικό τρόπο.
- Από τη λιποδιαλυτότητα (ευθέως ανάλογη). Η δομή του μορίου και το μέγεθος των λιπόφιλων και υδρόφιλων ομάδων. Η λιποδιαλυτότητα προσδιορίζεται με το «ισοδύναμο κατανομής ελαίου και ύδατος». Συγκεκριμένα μετά την ανάδευση ενός διφασικού διαλύματος ελαίου και ύδατος μετρήθηκε η ποσότητα που διαλύθηκε σε καθεμία φάση χωριστά. Το πηλίκο της συγκέντρωσης του φαρμάκου μέσα στις δύο φάσεις δίνει το ισοδύναμο κατανομής.
- Από το βαθμό ιονισμού (αντιστρόφως ανάλογη από τον βαθμό διάστασης του μορίου). Οι κυτταρικές μεμβράνες έχουν την ικανότητα να διαπεραστούν μόνο από μη ιονισμένες ουσίες. Εξ αιτίας της πολικότητας του λιποειδικού μέρους. Σε ιονισμένη μορφή εμφανίζονται οι φαρμακευτικές ουσίες ως ασθενή οξέα ή βάσεις. Ο βαθμός ιονισμού εξαρτάται από το pH του περιβάλλοντος και έχει ανακαλυφθεί ότι υφίσταται δυναμική ισορροπία ανάμεσα στην ποσότητα της ιονισμένης ουσίας και της μη ιονισμένης (Νόμος Henderson- Hasselbalch).

Για τα οξέα: $pKa = pH + \log \frac{\text{μη ιονισμένο}}{\text{ιονισμένο}}$
Για τις βάσεις : $pKa = pH + \log \frac{\text{ιονισμένο}}{\text{μη ιονισμένο}}$

Το pK_a είναι ο αρνητικός λογάριθμος της σταθεράς διάστασης της ουσίας. Αν όμως το $pH = pK_a$, τότε η ουσία είναι ιονισμένη κατά 50%, όπως προκύπτει από την ανωτέρω εξίσωση [1, 3, 5,13,39,40].

1.1.1.2 Τρόποι χορήγησης φαρμάκων

Χορήγηση από το πεπτικό σύστημα

Πλεονεκτήματα: Είναι ανώδυνη και εύχρηστη και για αυτό το λόγο είναι και ο συνηθέστερος τρόπος χορήγησης φαρμάκων. Η διάλυση του φαρμάκου επιτυγχάνεται μέσω των άφθονων πεπτικών εκκρίσεων, ενώ κατά μήκος της πεπτικής οδού μεταβάλλεται το pH με σκοπό την παροχή κατάλληλου περιβάλλοντος για απορρόφηση σχεδόν όλων των φαρμάκων. Ο μεγάλος βαθμός κινητικότητας, η μεγάλη επιφάνεια και το υψηλό επίπεδο αιμάτωσης του πεπτικού βλεννογόνου, διευκολύνουν τη διαδικασία της απορρόφησης. Ο ρυθμός ταχύτητας της απορρόφησης μπορεί να διακυμανθεί ανάλογα με τη φαρμακοτεχνική μορφή του σκευάσματος. Επειδή η ταχύτητα απορρόφησης από το πεπτικό σύστημα είναι μία διαδικασία αργή (20-30min ο ταχύτετος χρόνος απορρόφησης), σε περίπτωση χορήγησης λάθους φαρμακευτικής ουσίας υπάρχει η δυνατότητα έγκαιρης επέμβασης. Η απορρόφηση ορισμένων φαρμάκων από τη στοματική κοιλότητα, ή από το ορθό δίνει την δυνατότητα άμεσης εισόδου στην μεγάλη κυκλοφορία, χωρίς την συμμετοχή του εντερικού βλεννογόνου και του ήπατος, που θα μπορούσαν να συμβάλλουν στον μεταβολισμό και στην αδρανοποίηση της φαρμακευτικής ουσίας («φαινόμενο αρχικής διάβασης»). Δεν είναι κοστοβόρο, δεν απαιτούνται αποστειρωμένες συνθήκες κατά την παρασκευή και χορήγηση του φαρμακευτικού προϊόντος [1-4,10,11].

Μειονεκτήματα: Τα πεπτικά υγρά έχουν τη δυνατότητα διάσπασης φαρμακομορίων, όπως οι πρωτεΐνες, η αδρεναλίνη και η ισταμίνη. Υπάρχει το ενδεχόμενο μεταβολικής αδρανοποίησης μίας ουσίας από ένζυμα της μικροβιακής χλωρίδας, του εντερικού επιθηλίου και του ήπατος. Υπάρχει το ενδεχόμενο δημιουργίας τοξικών μεταβολιτών από την επίδραση αυτών των ενζύμων. Οι τροφές έχουν την ικανότητα να επιβραδύνουν την απορρόφηση ή και να την εμποδίσουν ολοσχερώς, εν αντιθέσει με τη ταυτόχρονη χορήγηση άλλων φαρμάκων που μπορεί να οδηγήσει σε τοπική αντίδραση και αναστολή της απορρόφησης. Η γενική κατάσταση του ασθενούς (αχλωρυδρία, υποχλωρυδρία, εμετοί, διάρροιες, μεταβολές στη κυκλοφορία του πεπτικού) καθώς και τα φάρμακα που επιδρούν στη λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος (έκκρίσεις πεπτικών υγρών, κινητικότητα κ.ά.) μπορούν να επηρεάσουν την απορρόφηση. Επομένως ως γενικό συμπέρασμα είναι ότι δεν μπορεί πραγματοποιηθεί ο ακριβής υπολογισμός της δόσης που θα απορροφηθεί, όταν μια ουσία δίνεται από το πεπτικό. Αυτό αποτελεί το μεγαλύτερο μειονέκτημα της χορήγησης από το στόμα [1-4,10,11].

Παρεντερική χορήγηση

Ενδοφλέβια: Η ακρίβεια της χορηγούμενης δοσολογίας και η δυνατότητα της παρατεταμένης έγχυσης στον οργανισμό, επιτρέπουν τη διατήρηση σταθερών επιπέδων του φαρμάκου στο πλάσμα του αίματος αποτελούν τα βασικά πλεονεκτήματα της μεθόδου. Η χρήση της θεωρείται ως ιδανική λύση, για την αντιμετώπιση βαρέων περιστατικών ή όταν τα φάρμακα που χορηγούνται καταστρέφονται από τα πεπτικά υγρά. Η ενδοφλέβια χορήγηση συνήθως δεν προκαλεί τοπικό ερεθισμό. Η διάρκεια της πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 λεπτό για να υπάρξει δυνατότητα ανάμειξης με το αίμα. Η στιγμιαία υπερσυγκέντρωση του φαρμάκου στην κυκλοφορία μπορεί να έχει δυσάρεστες επιπτώσεις από τον ερεθισμό των χημειοϋποδοχέων των μεγάλων αρτηριών. Επίσης, ίσως εμφανιστούν διαταραχές με την αργή ενδοφλέβια χορήγηση («στάγδην έγχυση»), ιδιαίτερα σε καρδιολογικά και νεφρολογικά περιστατικά, με την υπερφόρτωση υγρών στη κυκλοφορία, με αποτέλεσμα τον ερεθισμό των τασεοϋποδοχέων. Υπάρχει κίνδυνος εμβολής όταν χορηγηθεί ενδοφλεβίως υγρό που προορίζεται για ενδομυϊκή χορήγηση ή χρήση «χαλασμένων» διαλυμάτων τα οποία καθιζάνουν όταν εισέλθουν στην κυκλοφορία. Κατά τη διάρκεια έγχυσης, υπάρχει ο κίνδυνος δημιουργίας θρόμβου στο σημείο της βελόνας ή του φλεβοκαθετήρα. Εξ αιτίας του τραυματισμού του αγγειακού τοιχώματος.

Με την εφαρμογή των βελόνων μίας χρήσης, έχει ελαττωθεί ο κίνδυνος της μετάδοσης ιογενούς ηπατίτιδας ή μικροβιακών πυρετογόνων. Όμως η αλλεργική αντίδραση, παρά ταύτα, είναι ένας μεγάλος και εκτεταμένος κίνδυνος για τον ασθενή, ιδιαίτερα όταν το φάρμακο δοθεί ενδοφλεβίως [1-4,12,15,19].

Ενδομυϊκή: Η απορρόφηση του φαρμάκου πραγματοποιείται εντός 10-30 min. Η αιμάτωση στο σημείο της χορήγησης, οι φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου (λιποδιαλυτότητα, βαθμός ιονισμού και Μ.Β.), ο όγκος και η ωσμωτικότητα του διαλύματος είναι οι αιτίες διαβάθμισης των επιπέδων απορρόφησης. Τα μόρια μικρότερου μεγέθους διεισδύουν στα τριχοειδή του αίματος, εν αντιθέσει με τις μεγάλες μεγέθους ενώσεις (π.χ. πρωτεΐνες) που εισέρχονται στο αίμα μέσω των λεμφαγγείων. Η ενδομυϊκή χορήγηση επίσης χρησιμοποιείται για τα φάρμακα που διασπώνται στο πεπτικό σύστημα ή που καθιζάνουν στο αίμα. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ο πόνος, η περιορισμένη ποσότητα ένεσης και ο κίνδυνος τοπικού ερεθισμού ή μόλυνσης (δημιουργία αποστήματος) [1-4,12, 15,19].

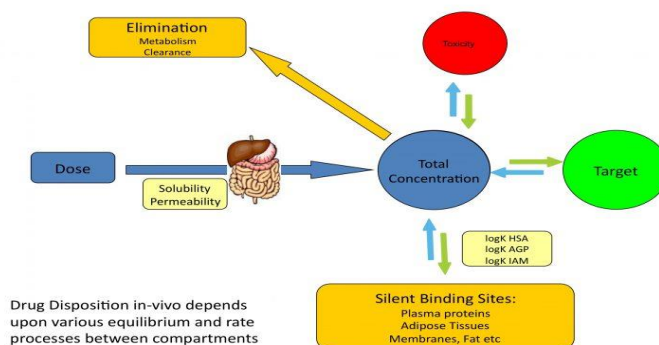
Υποδόρια: Η ταχύτητα της απορρόφησης είναι όμοια και εξαρτάται από τους ίδιους παράγοντες όπως συμβαίνει και στην ενδομυϊκή χορήγηση. Επίσης τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα αυτής της οδού είναι ίδια με της ενδομυϊκής. Μερικές φορές γίνεται χρήση εμφύτευσης εξειδικευμένων υποδόριων δισκίων σε ενήλικες για μακροχρόνια χορήγηση κάποιου φαρμάκου (π.χ. ορισμένες στεροειδείς ορμόνες) [1-4,12,15,19].

Τοπική εφαρμογή: Το δέρμα ως μεμβράνη έχει την ικανότητα επιβράδυνσης στην απορρόφηση φαρμάκων. Οι επιφανειακές στιβάδες της κερατίνης είναι το σπουδαιότερο μέσο φραγής που διαθέτει η επιδερμίδα. Η διαπερατότητα του δέρματος ποικίλλει από άτομο σε άτομο, καθώς και από περιοχή σε περιοχή του σώματος στο ίδιο άτομο. Σκευάσματα που επαλοΐφονται στην επιφάνεια της επιδερμίδας είναι για τοπική δράση. Η τοπική σε βάθος διείσδυση είναι το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα, όπως συμβαίνει με αρκετά αντιστηθαγικά φάρμακα, τα οποία εφαρμόζονται στην προκάρδια περιοχή με τη φαρμακοτεχνική μορφή αλοιφής ή εμποτισμένης αυτοκόλλητης ταινίας [1-4,12,15,19].

Εισπνοές: Ο προορισμός των φαρμάκων αυτών είναι είτε για τοπική δράση στο αναπνευστικό σύστημα (αντιασθματικά), είτε για συστηματική δράση στον οργανισμό (γενικά αναισθητικά). Ένα μειονέκτημα των εισπνοών είναι η πιθανότητα κατάληξης τους στην κυκλοφορία του συστήματος και να δράσουν γενικά αντί τοπικά. Αυτό είναι συνηθισμένο με τα αντιασθματικά φάρμακα, όπου ο ασθενής πολύ συχνά ξεπερνά τον επιτρεπόμενο αριθμό εισπνοών. Επίσης σημαντικό μειονέκτημα είναι η τοξικότητα των προωθητικών αερίων που περιέχουν και επιφέρουν καρδιακές αρρυθμίες. Συνεπώς ορισμένα εισπνεόμενα διατίθεται με λεπτοκοκκιώδη στερεή μορφή, μέσα σε ειδικά προσαρμοσμένες κάψουλες που θραύονται και μετά εισπνέονται [1-3,10-12,15,16].

1.1.2 ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΦΑΡΜΑΚΟΥ

Τα περισσότερα φάρμακα κατανέμονται στον οργανισμό μέσω του πλάσματος του αίματος. Η δράση του φαρμάκου ξεκινάει αφού εισέλθει στο αίμα. Με τη βοήθεια της δράσης του αίματος θα φτάσει στους ιστούς με μια ταχύτητα που καθορίζεται από το βαθμό αιμάτωσης του οργάνου και από την ευκολία με την οποία το φάρμακο θα διαπεράσει το τοίχωμα των τριχοειδών και τις πλασματικές μεμβράνες των κυττάρων. Η βασική αρχή είναι ότι μόνο ένα μικρό μέρος του φαρμάκου στους ιστούς δρα από το ολικό φαρμακοσκεύασμα. Το μεγαλύτερο ποσοστό του φαρμάκου παραμένει στα διάφορα διαμερίσματα του οργανισμού ή μέσα στον λιπώδη ιστό και υφίσταται διάλυση. Μέσα στα κύτταρα-στόχους, τα φαρμακομόρια συνδέονται με μεγαλομοριακές ενώσεις που δεν συμμετέχουν στην εμφάνιση κάποιας επιθυμητής φαρμακολογικής δράσης (μη ειδικοί ή αδρανείς υποδοχείς) (Σχήμα 1) [1-4,15,17-20].



Σχήμα 1. Κατανομή του φαρμάκου σε διαφορετικά διαμερίσματα του οργανισμού
(<https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/4320/bio-mimetic-chromatography-to-predict-drug-distribution-in-vivo/>)

Σημαντικός παράγοντας επιρροής της κατανομής του φαρμάκου στον οργανισμό είναι η ποσότητα του φαρμάκου που είναι συνδεδεμένη με πρωτεΐνες. Η σύνδεση δυσκολεύει την έξοδο του φαρμάκου από τον ενδοαγγειακό χώρο στο μεσοκυττάριο. Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει την κατανομή είναι η υφή των τριχοειδών του εκάστοτε οργάνου τα οποία λόγω αυτής της υφής έχουν και διαφορετικό βαθμό προσρόφησης. Μετά την χορήγηση της φαρμακευτικής ουσίας αυτή η κατανομή επεκτείνεται στον ενδοαγγειακό, στον μεσοκυττάριο και άλλοτε και στον ενδοκυττάριο χώρο [1-5, 17-20].

Ο *Φαινομενικός όγκος κατανομής* (V_d), είναι ο υποθετικός όγκος ο οποίος περιέχει την ποσότητα του φαρμάκου που έχει διανεμηθεί στον οργανισμό. Η συγκέντρωση του φαρμάκου ισούται με τη συγκέντρωση του στο πλάσμα κατά τη φάση της ισορροπίας. Δηλαδή μετά την λήξη της φάσης της απορρόφησης και της κατανομής. Ο τύπος για υπολογισμό του φαινομενικού όγκου είναι ο εξής: [1-5,15,17-20].

$V_d = \frac{x}{c}$	όπου x = η χορηγηθείσα δόση , c = πυκνότητα στο αίμα μετά την κατανομή στον οργανισμό.
---------------------	---

Ο όγκος κατανομής είναι παράγοντας της φαρμακοκινητικής, που συσχετίζεται με τον όγκο των υγρών και των ιστών του σώματος του εκάστοτε νοσηλευομένου. Η βασική χρήση του V_d στο τομέα της *κλινικής φαρμακοκινητικής* είναι ο προσδιορισμός της δόσης του εφόδου κατά την εξατομικευμένη δοσολογία [18,19].

Το μέγεθος του V_d είναι ανάλογο ως προς τη **λιποφιλικότητα** του φαρμάκου και τη **σύνδεσή** του με τους ιστούς (διευκόλυνση της κίνησης του φαρμάκου από το αίμα στους ιστούς) και αντιστρόφως ανάλογο ως προς τη σύνδεση του με τις πρωτεΐνες του αίματος (κατακράτηση φαρμάκου στο αίμα) [1,5,15,18,19].

1.1.2.1 Πρωτεϊνική σύνδεση των φαρμάκων

Οι λευκωματίνες είναι το κυριότερο πρωτεϊνικό κλάσμα που συνδέεται με τα τις φαρμακευτικές ουσίες και οι οποίες αντιστοιχούν στο 50% της ολικής ποσότητας των πρωτεϊνών. Η κλινική σημασία στη πρωτεϊνική σύνδεση των φαρμάκων προϋποθέτει 3 πράγματα: i) *Μεγάλο ποσοστό σύνδεσης* ii) *Μικρός όγκος κατανομής* (δηλαδή υψηλό ποσοστό φαρμάκου στο αίμα) και iii) *Μικρός θεραπευτικός δείκτης* [1, 18-20].

Οι πρωτεΐνες του πλάσματος είναι η **αλβουμίνη** και **α_1 -όξινο γλυκοπρωτεΐνη** είναι οι δύο σημαντικότερες που συνδέονται με τα φάρμακα [21].

Μεταξύ των ιονισμένων μορίων του φαρμάκου και των πρωτεϊνών αναπτύσσονται ασθενείς ετεροπολικό δεσμοί, της γέφυρας του υδρογόνου ή δυνάμεις των δυνάμεων Van der Waals. Η σύνδεση αυτή είναι αντιστρεπτή εφόσον η τριτοταγής δομή του μορίου παραμένει άθικτη. Επομένως όταν έχει πραγματοποιηθεί μετουσίωση των πρωτεϊνών και έπειτα πραγματοποιείται προσδιορισμός συγκέντρωσης του φαρμάκου στο πλάσμα, το τελικό αποτέλεσμα ισούται με την ολική συγκέντρωση του φαρμάκου

στον οργανισμό (ελεύθερο φάρμακο + δεσμευμένο με πρωτεΐνες). Λόγω της ιδιότητας της αντιστρεψιμότητας της αντίδρασης, το ελεύθερο και το δεσμευμένο μέρος του φαρμάκου βρίσκεται σε δυναμική ισορροπία: [1,18,19,22].



Η σταθερά σύνδεσης ($K=K_1/K_2$) επηρεάζεται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου, συγκεκριμένα από την μοριακή δομή των ηλεκτροχημικά ενεργών σημείων του μορίου του. Η ποσοτική σύζευξη του φαρμάκου με πρωτεΐνες (P) εξαρτάται: i) από τη χημική ομοιότητα του ως προς τις πρωτεΐνες ii) από την συνολική συγκέντρωση του φαρμάκου (D) και iii) από τη ποσότητα και το είδος των πρωτεϊνών [1,5,18,19].

Τα αποτελέσματα σύνδεσης φαρμάκου με πρωτεΐνες, οδηγούν σε:

- Διευκόλυνση απορρόφησης φαρμάκων διάχυσης. Επειδή η σύζευξη αυτή συντηρεί σταθερά τη διαφορά συγκέντρωσης του ελεύθερου φαρμάκου μεταξύ πλάσματος και του τόπου δράσης .
- Μελλοντική εμφάνιση αλληλεπίδρασης περισσότερων φαρμάκων με ενδοργανικές ουσίες. Ύπαρξη ανταγωνισμού στα σημεία σύνδεσης του πρωτεϊνικού μορίου.
- Μεταβολή της δευτερογενούς κατανομής, εξ αιτίας της μη εισχώρησης της συνδεδεμένης ουσίας στο ενδοθηλιακό τοίχωμα των τριχοειδών. Επομένως παρατηρείται μείωση της φαρμακολογικής δράσης της δόσης.
- Μεταβολή του ρυθμού απομάκρυνσης της φαρμακευτικής ουσίας από τον οργανισμό, λόγω της ελάττωσης του μεταβολισμού της νεφρικής του απέκκρισης. Αν η σύνδεση με το φάρμακο είναι πολύ δυνατή υπάρχει ο κίνδυνος της τοξικότητας [1,2,19].

1.1.2.2 Φραγμοί φαρμάκων

Υπάρχουν τέσσερα είδη φραγμών στον ανθρώπινο οργανισμό που πρέπει να διαπεράσει το φάρμακο (μετά την κατανομή στο σύστημα) για να εντοπίσει το κύτταρο-στόχο για να δράσει. Ο *τριχοειδικός*, *αιματοεγκεφαλικός*, *αιματοπλακουντιακός φραγμός* και ο *αιματομαζικός φραγμός* [14,16,19, 23-25].

Το τοίχωμα του *τριχοειδικού φραγμού* απαρτίζεται από δύο μεμβράνες: την ενδοθήλια και βασική μεμβράνη, οι οποίες συνιστούν τον αραιό ιστό και επομένως δεν αποτελούν κάποιο ιδιαίτερο φραγμό για την διέλευση των ουσιών. Οι φυσιολογικές ιδιότητες των τριχοειδών, ως προς τη διέλευση ουσιών, εξαρτώνται από τη λιποειδική φύση των ενδοθηλιακών κυττάρων και από την ύπαρξη πόρων με υδρόφιλο τοίχωμα (υδροπορίνες). Η διαπερατότητα μέσω του τοιχώματος των τριχοειδών πραγματοποιείται με: 1) *Διήθηση μέσω υδροστατικής πίεσης*, 2) *διάχυση* και 3) *ενδοκύττωση*. Η διαπερατότητα των τριχοειδών για τις υδατοδιαλυτές ουσίες εξαρτάται κυρίως από το μοριακό βάρος και

τη μοριακή δομή τους ενώ για τις λιποδιαλυτές ουσίες εφαρμόζονται οι κανόνες της διάχυσης [19].

Το τοίχωμα των τριχοειδών του *αιματοεγκεφαλικού φραγμού*, εμφανίζει μεγάλη **μη διαπερατότητα**. Εξ αιτίας της ειδικής διάταξης της κυκλοφορίας του εγκεφάλου όσο και της ειδικής ενίσχυσης του. Οι φαρμακευτικές ουσίες μπορούν να φθάσουν τα εγκεφαλικά κύτταρα είτε μέσω των τριχοειδών είτε μέσω του χοριοειδούς πλέγματος των κοιλιών. Όσο αφορά την διαδικασία διάχυσης της ουσίας στο μεσοκυττάριο χώρο μέσω του χοριοειδούς πλέγματος γίνεται με το εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Επομένως, εμφανίζει περιορισμένη διείσδυση στα κύτταρα-στόχους [19,23-25].

Ο *Αιματοπλακουντιακός φραγμός* παρ' όλο που η λειτουργία του στον οργανισμό είναι σπουδαία η αποτελεσματικότητα του υστερεί από του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Με την πάροδο του χρόνου της εγκυμοσύνης η βασική μεμβράνη που διαχωρίζει την αιματική κυκλοφορία της μητέρας με αυτή του εμβρύου λεπταίνει και εμπλουτίζεται με λιποειδή. Οι λιποδιαλυτές ουσίες διηθούν εύκολα τον πλακούντα με διάχυση, εν αντιθέσει με αυτές των υδατοδιαλυτών και μεγαλομοριακών ενώσεων που δυσκολεύονται. Ο βασικός μηχανισμός διαπερατότητας των φαρμακομορίων είναι μόνο η διάχυση [19,26,27].

Αιματομαζικός φραγμός. Παρέχει ελάχιστη προστασία μεταξύ αίματος και γάλατος στο μαστικό αδένα, ιδιαιτέρως για φάρμακα που παρουσιάζουν μεγάλη λιποδιαλυτική ικανότητα [19,25,27].

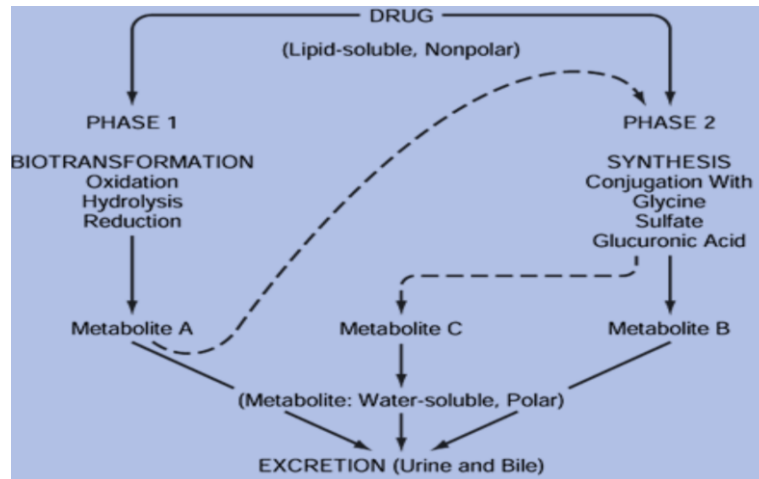
1.1.3 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΦΑΡΜΑΚΟΥ

Η σημασία του μεταβολισμού είναι σημαντική για την κινητική αλλά και για την φαρμακολογική δράση του μεταβολιζόμενου φαρμάκου. Η μεταβολή της κινητικής του φαρμακομορίου έγκειται κυρίως στην παραγωγή πιο υδατοδιαλυτών προϊόντων, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να απεκκρίνονται από τον οργανισμό ευκολότερα μέσω των νεφρών. Επίσης μεταβολή παρατηρείται στην μείωση της δραστηριότητας του μεταβολιζόμενου φαρμάκου [5,18,28].

Ο μεταβολισμός του φαρμάκου συναντάται σε όλους τους ιστούς του σώματος, όμως το **ήπαρ** είναι το κυριότερο όργανο του μεταβολισμού. Η διαδικασία του μεταβολισμού έχει δυο φάσεις (Σχήμα 2):

- 1) Την φάση της *βιομετατροπής*, προστίθεται στο μόριο του φαρμάκου μία λειτουργική ομάδα (π.χ $-OH$), έτσι ώστε με τη βοήθεια αυτής να συνεχιστεί η διαδικασία της δεύτερης φάσης.
- 2) Η φάση της *σύνδεσης* στην οποία η μεταβαλλόμενη ουσία θα συνδεθεί με ένα μικρό μόριο του σώματος για να παραχθεί το τελικό προϊόν. Οι αντιδράσεις που σημειώνονται κατά την φάση της βιομετατροπής στο ήπαρ αλλά και σε άλλους

ιστούς είναι συνήθως οι οξειδώσεις και σπανίως αναγωγές/υδρολύσεις. Στη φάση της σύζευξης οι πιο σημαντικές αντιδράσεις που σημειώνονται είναι οι συζεύξεις με γλυκουρονικό οξύ,θειϊκό οξύ, αμινοξέα, οξικό οξύ, γλυκόζη και γλουταθειόνη [28].



Σχήμα 2. Φάσεις βιομετατροπής και σύζευξης του φαρμάκου
(<https://herbisarium.wordpress.com/2016/02/15/xenobiotics-and-biotransformation/>)

Υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την μεταβολική ικανότητα του ασθενούς προς ένα φάρμακο. Σημαντικό ρόλο παίζουν οι *γενετικοί παράγοντες*, η ηλικία του ασθενή, οι *διάφορες παθήσεις*, ο *τρόπος χορήγησης* φαρμάκων και οι *αλληλεπιδράσεις* μεταξύ συγχωρηγούμενων φαρμάκων. Το φαινόμενο του **γενετικού πολυμορφισμού**, δηλαδή οι ομάδες μέσα στο σύνολο ενός πληθυσμού παρουσιάζουν ποσοτική ή ποιοτική διαφοροποίηση ως προς την ικανότητα μεταβολισμού του φαρμάκου ή ομάδας φαρμάκων [28,29,37].

Σε σχέση με την ηλικία, έχει παρατηρηθεί ότι κατά την διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής των νεογνών, αυτά παρουσιάζουν ανεπάρκεια στην λειτουργία του ενζυμικού συστήματος για τον μεταβολισμό των φαρμάκων. Τα παιδιά ηλικίας 1-8 ετών φαίνεται να έχουν μεγαλύτερο ρυθμό μεταβολισμού από τους ενήλικες. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην διαφορά αναλογίας βάρους ήπατος / βάρους σώματος από αυτή των ενηλίκων. Στους υπερήλικες, αντίθετα το ήπαρ έχει δεχθεί ανατομικές και φυσιολογικές μεταβολές οι οποίες οδηγούν στην μείωση της ικανότητας του μεταβολισμού [2,28,31].

Τα αποτελέσματα των ερευνών για την επίδραση των διαφόρων παθήσεων στη μεταβολική ικανότητα των ασθενών ως προς τα φάρμακα είναι αντικρουόμενα και περιορισμένα. Το μεγαλύτερο όμως εμπόδιο είναι ότι δεν μπορεί να δημιουργηθεί ομοιογένεια στις ομάδες των νοσούντων που να διαφέρουν σε μία συγκεκριμένη νόσο που εμείς θέλουμε να ερευνήσουμε. Συχνά στην κλινική πράξη οι χρόνιοι πάσχοντες ασθενείς λαμβάνουν ποικίλες φαρμακευτικές αγωγές και διαφορετικά δοσολογικά σχήματα.

Επιπλέον η πάθηση που ερευνάται μπορεί να έχει επιδράσεις και σε άλλα όργανα του συστήματος παράλληλα, για τους παραπάνω λόγους υπάρχει δυσκολία εκτίμησης του μεγέθους επίδρασης της πάθησης στην μεταβολική ικανότητα του ασθενή [28,31,37].

Οι *ηπατικές παθήσεις*, η *συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια*, η *νεφρική ανεπάρκεια* και οι *θυροειδικές παθήσεις* εμφανίζουν αρκετές ενδείξεις επηρεασμού της μεταβολικής ικανότητας του ασθενούς, ως προς το φάρμακο. Πιο αναλυτικά:

I) Ηπατικές παθήσεις

Στην κλινική φαρμακολογία ο *προσδιορισμός ορισμένων παραμέτρων* (π.χ επίπεδα χοληρυθρίνης, τρανσαμινάσες, χρόνος προθρομβίνης) αποδεικνύει ότι η ηπατική νόσος επηρεάζει την ηπατική λειτουργία του οργανισμού και κατά συνέπεια την ικανότητα μεταβολισμού των φαρμάκων. Δυστυχώς στην κλινική πράξη καμία μέτρηση των παραμέτρων αυτών δεν δύναται να προβλέψει σε αποδεκτό βαθμό την επάρκεια της λειτουργίας του ήπατος στον μεταβολισμό των φαρμάκων [28,32-37].

II) Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια

Η μείωση της ροής αίματος στο ήπαρ στις καρδιακές παθήσεις επηρεάζει τη λειτουργία του μεταβολισμού του φαρμάκου και μπορεί να έχει επιπτώσεις στον νεφρικό βαθμό κάθαρσης του φαρμάκου [28,32-37].

III) Θυροειδικές παθήσεις

Ο υποθυρεοειδισμός μπορεί να μειώσει την μεταβολική ικανότητα (π.χ η κάθαρση της αντιτυρίνης), ενώ ο υπερθυρεοειδισμός το ακριβώς αντίθετο αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού κάθαρσης [28,32-37].

IV) Νεφρική ανεπάρκεια

Η πρωτεϊνική σύνδεση των φαρμάκων μπορεί να επηρεαστεί από την συγκεκριμένη πάθηση. Στην περίπτωση αυτή εμφανίζεται αύξηση ή μείωση του αριθμού σύνδεσης των βασικών και όξινων φαρμάκων. Η ελάττωση του βαθμού σύζευξης με τα όξινα φάρμακα είναι κρισιμότερη για το λόγο αύξησης του ρυθμού της μεταβολικής κάθαρσης [28,32-37].

1.1.3.1 Η επίδραση της ενζυματικής επαγωγής στο μεταβολισμό

Στην *ενζυματική επαγωγή* παρατηρείται αύξηση της δράσης του μικροσωματικού συστήματος της μονο-οξυγενάσης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού του μεταβολισμού των φαρμακομορίων. Το κοινό χαρακτηριστικό των ουσιών που προκαλούν ενζυμική επαγωγή είναι η λιποφιλικότητα. Η αύξηση της συνολικής και πρωτεϊνικής σύνθεσης άγει την ενζυμική επαγωγή και έχει ως επακόλουθο τη αύξηση της σύνθεσης του κυτοχρώματος P₄₅₀. Σε ορισμένες κατάστασεις η ενζυμική επαγωγή

είναι το αποτέλεσμα της μειωμένης διάσπασης ή της απλής ενεργοποίησης του φυσιολογικά παραγόμενου ενζύμου. Είναι σημαντικό να ειπωθεί ότι η επαγωγή αυτή μπορεί να έχει κλινικές συνέπειες στον ασθενή όπως *επιδείνωση της νόσου, φαρμακευτική τοξικότητα, μεταβολή της φαρμακολογικής δράσης* [2,28,39-40].

1.1.3.2 Η επίδραση της ενζυματικής αναστολής στο μεταβολισμό

Πολλά φάρμακα έχουν την ικανότητα αναστολής (πλήρως ή μερικώς) του μεταβολισμού άλλων φαρμάκων έπειτα από άμεση ή έμμεση δράση στο συγκεκριμένο μεταβολικό σύστημα. Η **άμεση δραστηριότητά** τους έγκειται στην αδρανοποίηση του υπεύθυνου ενζύμου από τον αναστολέα ή στον ανταγωνισμό αναστολέα-φαρμάκου για την σύζευξη με το ένζυμο. Η **έμμεση δραστηριότητά** τους έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της σύνθεσης του ενζύμου ή στην παραλλαγή διάφορων φυσιολογικών παραμέτρων (π.χ επιπέδα ορμονών, παθήσεις). Η λειτουργία του αναστολέα μπορεί να παρατηρείται είτε στο κύριο μεταβολικό ένζυμο (P₄₅₀), επομένως υπάρχει μείωση του μεταβολισμού των φαρμάκων με ετεροβαρή φυσικοχημικά γνωρίσματα, είτε σε ένα εξειδικευμένο ένζυμο (π.χ ξανθινοξειδάση) το οποίο θα μειώσει το μεταβολισμό μίας μόνο ομάδας φαρμάκων [2,28,39-40].

Η συχνότερη κλινική εμφάνιση του φαινομένου της ενζυμικής αναστολής είναι η τοξικότητα εξ αιτίας της αύξησης των επιπέδων φαρμάκου στην αιματική ροή, όπου δεν έχει πραγματοποιηθεί ο μεταβολισμός σε βαθμό ικανοποιητικό ή και καθόλου. Η τοξικότητα λόγω μη μεταβολικής διαδικασίας εμφανίζει ήπιες εκδηλώσεις (π.χ υπνηλία) έως κρίσιμες και πολύ επικίνδυνες συνέπειες (π.χ αιμορραγία, θάνατος) [2,28,39-40].

Η αναστολή του ενζύμου επίσης επιφέρει τελικά και τη μη ίαση της ασθένειας μέσω της φαρμακευτικής αγωγής, επειδή η δραστηριότητα του φαρμάκου εκδηλώνεται μόνο μέσω των μεταβολιτών του (π.χ κυκλοφωσφαμίδη) [2,28,39-40].

Περισσότερες λεπτομέρειες, για τον μεταβολισμό, θα αναπτυχθούν στο Κεφάλαιο 2.

1.1.4 ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΥ

Οι λειτουργίες με τις οποίες τα φάρμακα απομακρύνονται από τον οργανισμό είναι ο μεταβολισμός, η εναποθήκευση και η αποβολή. Η απέκκριση των περισσότερων φαρμάκων γίνεται στους νεφρούς, στο χοληφόρο σύστημα, στους πνεύμονες και στο έντερο. Η βασικότερη οδός απέκκρισης από τις προαναφερθείσες είναι αυτής της νεφρικής [1-4,12,20].

1.1.4.1 Νεφρική απέκκριση

Ο νεφρός παρουσιάζει πολύ πλούσια αιμάτωση. Η πειραματική διήθηση πραγματοποιείται στους πόρους του ενδοθηλίου που είναι μεγαλύτεροι από ότι στα υπόλοιπα

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

τριχοειδή του σώματος. Τα περισσότερα φάρμακα διηθούνται εύκολα στα ούρα λόγω του μικρού Μ.Β. τά οποία είναι λιγότερο από 69.000 (το Μ.Β. των λευκοματινών). Η σωληναριακή απέκκριση συμβαίνει στα όξινα φάρμακα (πενικιλίνη, σαλικυλικό οξύ, κ.ά.) ή στα βασικά (κινίνη, τεταρτογενείς βάσεις αμμωνίου, κ.ά.). *Ρυθμός νεφρικής απέκκρισης*: Η σπειραματική διήθηση, η σωληναριακή απέκκριση και η σωληναριακή επαναρρόφηση αποτελούν τις τρεις λειτουργίες του οργανισμού που ρυθμίζουν το ποσοστό απέκκρισης του φαρμάκου.

Στην λειτουργία της σπειραματικής διήθησης πρωτεύοντα ρόλο παίζει το ποσοστό του ελεύθερου φαρμάκου στο πλάσμα λόγω της μη διαπερατότητας του μαλπιγγιανού σπειράματος από τις πρωτεΐνες. Το ελεύθερο μέρος του φαρμάκου καθώς εισέρχεται στον αυλό του σωληναρίου, εμφανίζεται μία σταδιακή μετατροπή από μόρια που απευλευθερώνονται από τις πρωτεΐνες. Συνεπώς βασικό ρόλο στην σπειραματική απέκκριση παίζει το συνολικό ποσοστό του φαρμάκου στο πλάσμα. Τέλος στη λειτουργία της επαναπορρόφησης από το σωληναριακό αυλό προς το μεσοκυττάριο χώρο (διάχυση), καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν: η *συγκέντρωση* του φαρμάκου στο πρόουρο, η *λιποδιαλυτότητα* του και ο *βαθμός ιονισμού* του [1,3,39,20,40].

Νεφρική κάθαρση: Ο βαθμός λειτουργίας των νεφρών αξιολογείται ποσοτικώς με την μελέτη της κάθαρσης της ουσίας από το πλάσμα του αίματος. Ο όρος *νεφρική κάθαρση του πλάσματος* (*clearance*), ορίζει τον όγκο του πλάσματος περιέχει τη ποσότητα της ουσίας που αποβάλλεται στα ούρα σε ένα λεπτό. Ο υπολογισμός της δίνεται από τον εξής τύπο:

$\text{Κάθαρση (ml/min)} = \frac{K \times V}{P}$	Όπου, K= συγκέντρωση ουσίας στα ούρα., V= όγκος ούρων που απεκκρίνεται ανά λεπτό, P= συγκέντρωση ουσίας στο πλάσμα
--	--

Επίσης, περαιτέρω χρήσιμες πληροφορίες για τον μηχανισμό έκκρισης ενός φαρμάκου από τους νεφρούς δίνει και το «πηλίκιο έκκρισης»:

$$\text{ΠΗΛΙΚΟ ΈΚΚΡΙΣΗΣ} = \frac{\text{Νεφρική κάθαρση φαρμάκου } (\frac{\text{ml}}{\text{min}})}{\text{Φυσιολογική μαλπιγγιανή διήθηση } (\frac{\text{ml}}{\text{min}})}$$

1.1.4.2 Ηπατική απέκκριση

Το φάρμακο μπορεί να εκκριθεί από τα κύτταρα του ήπατος στα χοληφόρα τριχοειδή και να φτάσει στο εντερικό αυλό. Στην συνέχεια αναλόγως των χαρακτηριστικών του φαρμακομορίου θα του επιτραπεί να μεταβεί στην εντεροηπατική κυκλοφορία και εκεί θα συνεχιστούν οι λειτουργίες της ηπατικής απέκκρισης και της εντερικής επαναρρόφησης μέχρι το σημείο του ολοκληρωτικού μεταβολισμού ή της απομάκρυνσης του από το ουροποιητικό σύστημα. Η απέκκριση των φαρμάκων τα οποία έχουν την τάση να ιονίζονται στο pH του εντερικού αυλού γίνεται μέσω της χοληφόρου οδού και αυτό

έχει ως αποτέλεσμα την αποβολή τους λόγω της μη δυνατότητας επαναρρόφησης τους με παθητική διάχυση. Για την λειτουργία έκκρισης του φάρμακου μέσω της χολής απαιτείται ενέργεια και αποδεικνύεται από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του μέγιστης ικανότητας μεταφοράς (TM), του ανταγωνισμού και της απέκκρισης κατά της συγκέντρωσης της ουσίας. Τα συστήματα μεταφοράς επικεντρώνονται σε ασθενείς βάσεις, οξέα και ουσίες με ουδέτερο αρνητικό φορτίο [1,3,39,20,40].

Η ηπατική απέκκριση δεν μεταβάλλεται από την σύζευξη του μορίου με πρωτεΐνες εάν η συνδεσιμότητα τους είναι αντιστρεπτή, όπως συμβαίνει στη νεφρική σωληναριακή απέκκριση. Στη χολή συντελείται η ενεργητική απέκκριση που δεν περιορίζεται μόνο σε φαρμακομόρια αλλά και σε πολλά άλλα φυσιολογικά συστατικά του οργανισμού (χολερυθρίνη, θυροξίνη, χολικά οξέα κ.α) [1,3,39,20,40].

Η ικανότητα απέκκρισης μέσω του ήπατος αντικατοπτρίζει την κατάσταση του ήπατος και τη λειτουργικότητα του. Ο έλεγχος της φυσιολογικής του κατάστασης γίνεται με την μελέτη της κινητικής των διαφόρων ουσιών που είναι επιβεβαιωμένο ότι απεκκρίνονται μόνο από τη χολή [1,3,39,20,40].

1.1.4.3 Διάφοροι άλλοι οδοί αποβολής

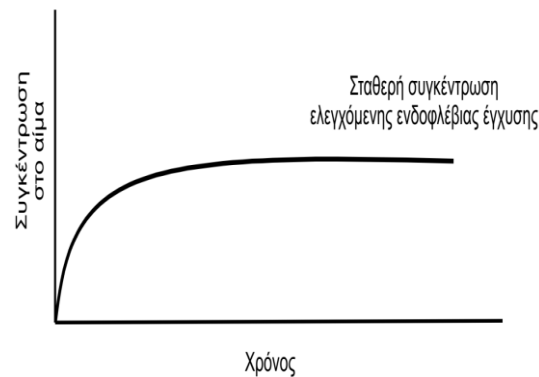
Το ανθρώπινο σώμα παρουσιάζει και άλλους οδούς απέκκρισης των φαρμάκων όπως: οι πνεύμονες, ο ιδρώτας, ο σίελος, τα δάκρυα, οι ρινικές εκκρίσεις, το γάλα και γενικά όλες οι ανθρώπινες εκκρίσεις [1,20].

Η ενδεδειγμένη παρακολούθηση της πορείας (A.D.M.E) του φαρμάκου, με μικρό θεραπευτικό δείκτη, μέσω του εργαστηριακού ελέγχου των συγκεντρώσεων του στο πλάσμα, είναι μια βασική παράμετρος εξατομίκευσης της φαρμακοθεραπείας.

1.2 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΔΥΝΑΜΙΚΗΣ

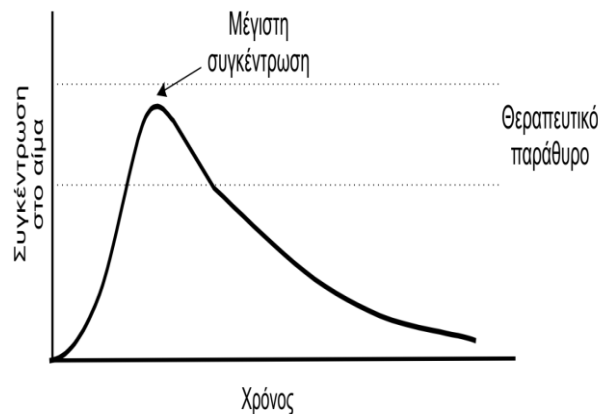
Η *Φαρμακοδυναμική* μελετάει τους μηχανισμούς δράσης των φαρμάκων και τις ενέργειες - επιθυμητές ή ανεπιθύμητες - που αυτά εμφανίζουν. Η θεραπευτική αγωγή είναι μία συγκεκριμένη προετοιμασία που περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα φάρμακα τα οποία χορηγούνται για να προκαλέσουν το επιθυμητό αποτέλεσμα [4, 28, 32-38].

Όπως έχει λεχθεί, είναι δύσκολο να εκτιμηθεί σωστά η απορρόφηση και η κατανομή ενός φαρμάκου λόγω των πολλών μεταβλητών, επομένως είναι δύσκολη η εκτίμηση της δοσολογίας και της συχνότητας του φαρμάκου. Σε ιδανικές συνθήκες τα επίπεδα της φαρμακευτικής ουσίας στο πλάσμα του αίματος έπρεπε να είναι σταθερά και ελεγχόμενα όπως παρουσιάζεται παρακάτω στη περίπτωση της ενδοφλέβιας χορήγησης (Σχήμα 3) [39].



Σχήμα 3. Χορήγηση φαρμάκου με συνεχή ενδοφλέβια έγχυση

Επειδή αυτό όμως είναι μη ρεαλιστικό, η χορήγηση σε τακτά χρονικά διαστήματα έχει αποδειχθεί μία χρήσιμη μέθοδος. Η χορήγηση του φαρμάκου σε καθορισμένους χρόνους έχει ως στόχο τη διατήρηση των επιπέδων φαρμάκου στο αίμα μεταξύ ενός ελάχιστου και μέγιστου ποσοστού στο αίμα με συνέπεια τη αποφυγή τοξικότητας (μέγιστο επίπεδο) και την αναποτελεσματικότητα (ελάχιστο επίπεδο) (Σχήμα 4). Η συγκέντρωση του ελεύθερου φαρμάκου στο αίμα (αδέσμευτο φάρμακο από τις πρωτεΐνες του πλάσματος) είναι καλός δείκτης της διαθεσιμότητας του στη θέση στόχο του. Επομένως η μέτρηση των επιπέδων συγκέντρωσης φαρμάκων στο αίμα είναι ένας γνώμονας για τον προσδιορισμό θεραπευτικών και ασφαλών επιπέδων δόσης για ένα φάρμακο [15,18,20,21,38].



Σχήμα 4. Η συγκέντρωση ενός φαρμάκου που χορηγείται σε μία δόση από το στόμα σε συνάρτηση με το χρόνο.

Στο σημείο αυτό, πρέπει να τονιστεί ότι η μέγιστη δοσολογία του φαρμάκου δε θα πρέπει να ξεπερνά το μέγιστο όριο του θεραπευτικού παραθύρου και η επόμενη δόση θα πρέπει δίνεται στον ασθενή όταν η συγκέντρωση του φαρμάκου αγγίξει το ελάχιστο όριο του θεραπευτικού παραθύρου [15,18,20,21,38,39].

1.2.1 Υποδοχείς

Οι υποδοχείς είναι πρωτεΐνες (μακρομόρια), οι οποίες βρίσκονται μέσα ή στην επιφάνεια του κυττάρου και μεσολαβούν στη δράση του φαρμάκου. Η χημική ένωση (φάρμακο) ανεξαρτήτως προέλευσης που έχει δυνατότητα αλληλεπίδρασης και πρόσδεσης με τον υποδοχέα, ονομάζεται **προσδέτης (ligand)**. Η περιοχή πρόσδεσης της πρωτεΐνης που με τον προσδέτη ονομάζεται **περιοχή πρόσδεσης (binding domain)**. Οι υποδοχείς αφορούν συγκεκριμένους νευροδιαβιβαστές, ορμόνες, αντιγόνα ή άλλες χημικές ενώσεις. Το χημικό σύμπλοκο προσδένεται σε συγκεκριμένη περιοχή (υποδοχέα) και ενεργοποιεί το σήμα-μήνυμα στα κύτταρα. Οι ενδοκυττάρια αλλαγές πυροδοτούνται από το σύμπλοκο υποδοχέα-υπόστρωμα και εν συνεχεία υπάρχει άμεση ή έμμεση δράση. Παρ' όλα αυτά το υπόστρωμα έχει το ρόλο του του *αγωνιστή* ή του *ανταγωνιστή*. Ο ρόλος του αγωνιστή είναι μίμηση του ενδογενούς υποστρώματος να παράγει παρόμοια απόκριση, ενώ του ανταγωνιστή είναι να δεσμεύσει το υπόστρωμα ώστε να περιορίζει την φυσιολογική ανταπόκριση. Ορισμένες αλληλεπιδράσεις φαρμάκου-υποδοχέα προκαλούν τη διέλευση ή κλείσιμο διαύλων ιόντων (ion channels). Κάποιες άλλες αλληλεπιδράσεις προκαλούν απελευθέρωση των αποκαλούμενων «δεύτερων αγγελιοφόρων» (second messengers), που εν συνεχεία συντελείται μία αλληλουχία βιοχημικών γεγονότων με αποτέλεσμα τη συγκεκριμένη φυσιολογική απόκριση. Ο μηχανισμός που συντελεί στη μεταφορά του σήματος από τον προσδέτη μεταβάλλεται μέσω του υποδοχέα σε φυσιολογική απόκριση και αυτό ονομάζεται **μεταγωγή σήματος (signal transduction)** [4,6,28,32-38,37,42].

1.2.1.1 Υπεροικογένειες υποδοχέων

Η λειτουργία των υποδοχέων καθορίζει τη ταξινόμηση τους σε **4 υπερικογένειες** της οποίας τα μέλη τους έχουν κοινή δομή και όμοιο μηχανισμό δράσης. Η διαφορετικότητά τους έγκειται στη ποικιλομορφία των αλληλουχιών των αμινοξέων σε μερικά τμήματα καθώς και στα διαφορετικά μεγέθη των περιοχών του κυττάρου τόσο εντός όσο και εκτός του. Η κάθε υπερικογένεια κατηγοριοποιείται από τον αριθμό τύπων υποδοχέων, όπου ο ενδογενής προσδέτης είναι το κοινό χαρακτηριστικό για όλα τα μέλη των τύπων αυτών (Σχήμα 5) [4,6,28,32-38,37,41,42].

Υπεροικογένεια τύπου 1

Στην υπερικογένεια αυτή, τα μέλη της συμβάλλουν στις λειτουργίες που προαπαιτούν ηλεκτρική διεργασία (νευρομυϊκή σύναψη, νευρώνες, αδενικά κύτταρα, λείες μυϊκές ίνες) και συμμετέχουν στη ρύθμιση της ροής ιόντων που έχει ως αποτέλεσμα την διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Οι διάυλοι αυτοί επηρεάζονται άμεσα από το δυναμικό που επικρατεί στη μεμβράνη (διάυλοι Na^+ και Ca^{++} σε νευρικά και μυϊκά κύτταρα) και για αυτό το λόγο τα τοπικά αναισθητικά (λιδοκαΐνη) ή τα αγγειοκατασταλτικά (νιφεδιπίνη, βεραπαμίλη) επικεντρώνονται σε αυτή τη ομάδα. Ένα μεγάλο

ποσοστό φαρμάκων παρουσιάζει αγωνιστική ή ανταγωνιστική δράση με τους υποδοχείς των διαύλων ιόντων να εξαρτώνται από τους νευροδιαβιβαστές. Τυπικά παραδείγματα είναι νικοτινικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης (διάυλοι Na^+), οι ιοντοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού οξέος (διάυλοι $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$), οι Α-υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (διάυλοι Cl^-) και οι υποδοχείς της γλυκίνης (διάυλοι Cl^-) [4,6,28,32-38,37,42].

Υπεροικογένεια τύπου 2

Σε αυτή την οικογένεια ανήκει το μεγαλύτερο φάσμα δράσης των φαρμάκων. Η χρήση του συγκεκριμένου είδους υποδοχέων σε φυσιολογική κατάσταση γίνεται από τους νευροδιαβιβαστές όπως το γλουταμικό οξύ, το GABA, η ακετυλοχολίνη, τα εικοσανοειδή, οι βιογενείς αμίνες, οι πεπτιδικές και γλυκοπρωτεϊνικές ορμόνες, τα οπιοειδή καθώς και πολλά άλλα. Μεγάλο μέρος των φαρμάκων που χορηγείται σε ασθενείς εμφανίζει εκλεκτική αγωνιστική ή ανταγωνιστική δράση σε υποδοχείς που δημιουργούν σύζευξη με **πρωτεΐνες G** (*G Protein-Coupled Receptors, GPCRs*). Η πυροδότηση της λειτουργίας μέσω των GPCRs βασίζεται στο *τριμερές* σύμπλοκο που λειτουργεί ως μονάδα και αποτελείται από: α) **τον υποδοχέα**, β) **μία τριμερική πρωτεΐνη G** και γ) **μία πρωτεΐνη-τελεστή** (ένα ένζυμο π.χ η αδενυλική κυκλάση). Το τριμερές αυτό σύμπλοκο (**GPCR+πρωτεΐνη G+τελεστής**) εν συνεχεία παρουσιάζει συνδεσιμότητα με τους δευτερογενείς αγγελιοφόρους όπως το κυκλικό AMP (cAMP), το κυκλικό GMP (cGMP) το μονοξείδιο του αζώτου (NO) και το κυτταροπλασματικό Ca^{++} . Οι προαναφερθέντες αγγελιοφόροι μετέχουν στη ρύθμιση της ενεργοποίησης των κινάσων με σκοπό την βελτίωση και την περαιτέρω ειδίκευση του σήματος. Ο κύριος σκοπός της σηματοδότησης των GPCRs βασίζεται στην άμεση ρύθμιση των κύριων κυτταρικών λειτουργιών όπως ο μεταβολισμός [4,6,28,32-38,37,42].

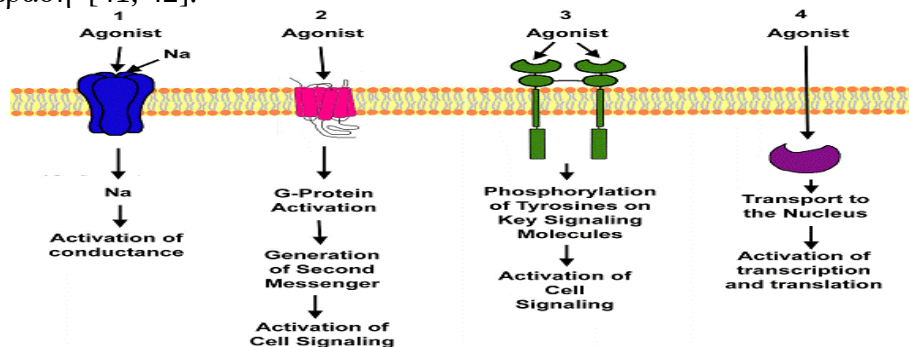
Υπεροικογένεια τύπου 3

Αναφέρεται σε μία ομάδα διαμεμβρανικών πρωτεϊνών/υποδοχέων που κατέχουν κυτταροπλασματικές περιοχές με ενζυμική δραστηριότητα (π.χ οι υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων τύπου ινσουλίνης) ή εμφανίζουν άμεσες ή έμμεσες αλληλεπιδράσεις (μέσω μη ενζυμικών πολυπρωτεϊνικών συμπλόκων) με κυτταροπλασματικά ένζυμα (π.χ οι υποδοχείς της αυξητικής ορμόνης, της προλακτίνης). Ο δεύτερος τύπος των υποδοχέων αυτών **δεν εμφανίζει** ενζυμική δραστηριότητα αλλά παρουσιάζει σύζευξη με κυτταροπλασματικές τυροσινικές κινάσες της οικογένειας **JAK**. Συγγενείς ομάδες είναι i) *Toll (Toll-Like Receptors, TLRs)*, που συμβάλλουν στη σηματοδότηση των παθογόνων μεταβολιτών των μικροβίων και ιών ii) *οι υποδοχείς του TNF-α (παράγοντας νέκρωσης όγκων, Tumour Necrosis Factor)* που ενεργοποιούνται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Οι παραπάνω υποδοχείς έχουν τη τάση να αλληλεπιδρούν με κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πολυπρωτεϊνικών συμπλόκων που ρυθμίζουν καθοδικούς τελεστές μέσω ουβικιτινυλίωσης και φωσφορυλίωσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι υποδοχείς αυτοί συνδέονται με φωσφορυλιωμένες πρωτεϊνικές κινάσες που εμμέσως ρυθμίζουν τη λειτουργία μεταγραφικών παραγόντων, επιδρούν στην κυτταρική αύξηση, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στον μεταβολισμό, στη διαφοροποίηση και στην κυτταρική επιβίωση ή στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Συγκεκριμένα φάρμακα αυτής της κατηγορίας είναι τα μονοκλωνικά

αντισώματα που έχουν ως κύριο στόχο την απενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών και των «μονοπατιών» τους (π.χ τραστουζουμάμπη, αντίσωμα έναντι του υποδοχέα HER2) [41, 42].

Υπεροικογένεια τύπου 4

Στην οικογένεια αυτή ανήκουν οι πρωτεΐνες, οι οποίες έχουν ως ρόλο να προσδεθούν με στερεοειδείς ορμόνες, τη βιταμίνη D και τη θυροξίνη. Η ομάδα αυτή των υποδοχέων έχουν την ικανότητα του εντοπισμού, αναγνώρισης και σύζευξης των λιπαρών οξέων, χολικών οξέων και μπορούν να διαδραματίσουν το ρόλο των μεταγραφικών παραγόντων. Οπότε μπορούν και ρυθμίζουν ένα σύνολο φυσιολογικών λειτουργιών (π.χ αναπαραγωγή, μεταβολισμός). Συγκεκριμένες αλληλουχίες βάσεων της 5' ρυθμιστικής περιοχής του DNA αναγνωρίζονται από αυτούς τους υποδοχείς και όταν συνδεθούν με το φαρμακομόριο μπορούν και ρυθμίζουν τη μεταγραφή των γονιδίων από την RNA πολυμεράση [41, 42].

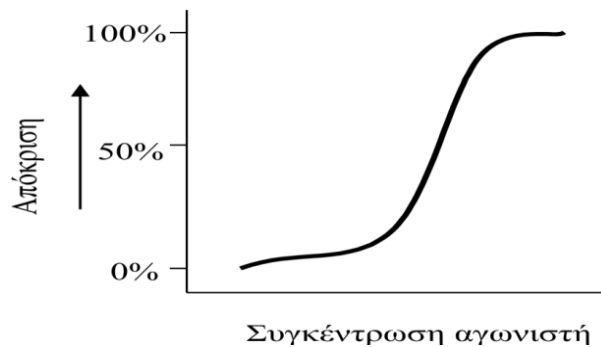


Σχήμα 5. Μηχανισμός λειτουργίας των 4 υπεροικογενειών υποδοχέων
(<http://www.uky.edu/~mtp/pharmacodynamics.htm>)

1.2.1.2 Αγωνιστές, ανταγωνιστές, αλλοστερικοί ρυθμιστές

Αγωνιστές

Ο αγωνιστής δημιουργεί μία προσαρμογή στη περιοχή της δράσης που μιμείται το φυσιολογικό υπόστρωμα. Η δραστηρότητα τους καθορίζεται από τη συγγένεια και την αποτελεσματικότητα. Ένας πλήρως αγωνιστής έχει υψηλή αποτελεσματικότητα. Η αυξανόμενη συγκέντρωση ενός αγωνιστή προκαλεί απόκριση, η οποία αγγίζει ένα μέγιστο όριο. Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του αγωνιστή δεν οδηγεί σε παραπάνω απόκριση (Σχήμα 6) [32-38,42].



Σχήμα 6. Καμπύλη δόσης-απόκρισης ενός αγωνιστή.

Μερικώς αγωνιστής

Ο μερικώς αγωνιστής μπορεί να δράσει και ως αγωνιστής αλλά και ως ανταγωνιστής με μειωμένη αποτελεσματικότητα. Ο βαθμός αποτελεσματικότητας τους είναι μεσαίος προς χαμηλής κλίμακας [32-38,42].

Ανταγωνιστές

Ο ανταγωνιστής προσδένεται στη περιοχή δράσης αλλά δεν παράγει καμία μεταβολή. Δεν παράγει καμία απόκριση και δεσμεύει την πρόσδεση αγωνιστή με το υπόστρωμα (*μηδέν αποτελεσματικότητα*). Ένας πλήρως ανταγωνιστής εμποδίζει τον αγωνιστή να προσδεθεί με το υπόστρωμα [32-38,42].

Αναστρέψιμοι πλήρως ανταγωνιστές. Ο αναστρέψιμος πλήρως ανταγωνιστής παρουσιάζει με τον ανταγωνιστή συγγένεια και τάση για αποσύνδεση (με το υπόστρωμα ή με αγωνιστή) αλλά έχει και την ιδιότητα αντικατάστασης κάποιου ανταγωνιστή [32-38,42].

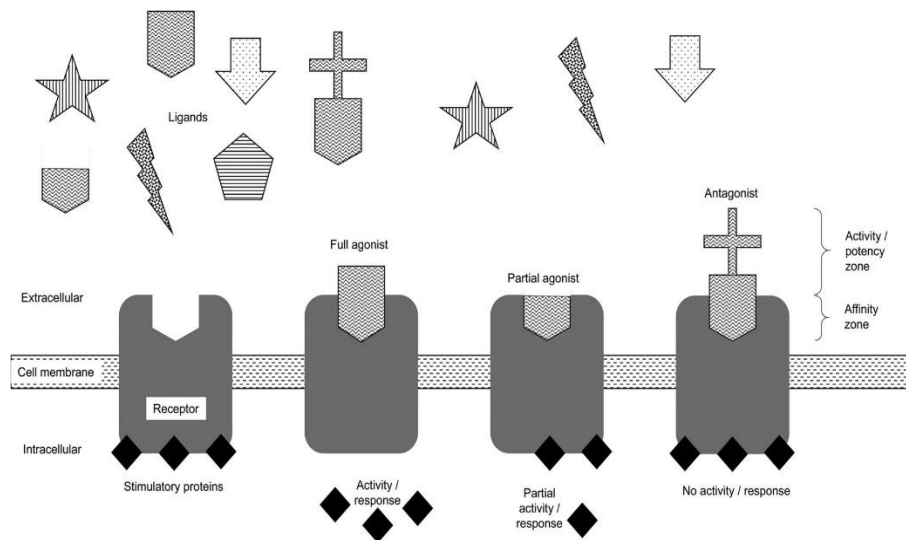
Μη αναστρέψιμοι πλήρως ανταγωνιστές

Ο μη αναστρέψιμος πλήρως ανταγωνιστής προκύπτει όταν η απομάκρυνση του ανταγωνιστή από τη περιοχή δράσης συμβαίνει είτε πολύ αργά είτε καθόλου [32-38,42].

Αντιστρεπτός ανταγωνιστής

Ο αντιστρεπτός αγωνιστής παράγει μία αρνητική απόκριση περισσότερο από έναν ανταγωνιστή [32-38,42].

Οι διαφορετικοί τύποι σύνδεσης υποδοχέα/προσδέτη φαίνονται συνοπτικά στο Σχήμα 7.



Σχήμα 7. Συνδέσεις υποδοχέα/προσδέτη (<http://tech.snmjournals.org/content/46/2/81>)

Αλλοστερικοί ρυθμιστές

Ο αλλοστερικός ανταγωνιστής επηρεάζει έμμεσα την περιοχή δράσης με τις βενζοδιαζεπίνες ως το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα. Δεν προσδένονται με την περιοχή δράσης αλλά μπορούν να αυξήσουν (αλλοστερικοί αγωνιστές) ή να μειώσουν (αλλοστερικοί ανταγωνιστές) τη δράση του υποστρώματος ή του αγωνιστή. Επίσης αναφέρονται και ως μη αγωνιστικοί ανταγωνιστές [32-38,42].

1.2.2 Η Δράση του φαρμάκου και η εξατομίκευση

Πριν αναφερθούμε πιο αναλυτικά στον μεταβολισμό και την στενή σχέση του με την φαρμακογενετική, είναι σημαντική η καταγραφή του ρόλου παραμέτρων όπως: η εξειδίκευση, η επιλεκτικότητα, η χημική συγγένεια, η δραστικότητα και η αποτελεσματικότητα [9,32-38].

- Η *εξειδίκευση*: Υπολογίζει την ικανότητα του υποδοχέα να ανταποκριθεί στο υπόστρωμα. Η χαμηλού βαθμού εξειδίκευση γενικά επιφέρει στοχευμένες ή μη φυσιολογικές αποκρίσεις από το φάρμακο (π.χ οι παρενέργειες). Στην πραγματικότητα συνήθως σχεδιάζεται ένα φάρμακο με θεωρητική δράση αλλά η χαμηλή εξειδίκευση του υπονομεύει την αποτελεσματικότητα. Έτσι ενώ εισέρχεται στη λειτουργία οι παρενέργειες αρχίζουν και παίζουν ένα νέο παράπλευρο ρόλο μη επιθυμητό από το δημιουργό του (π.χ σιλδεναφίλη, Viagra^R) [9,32-38].

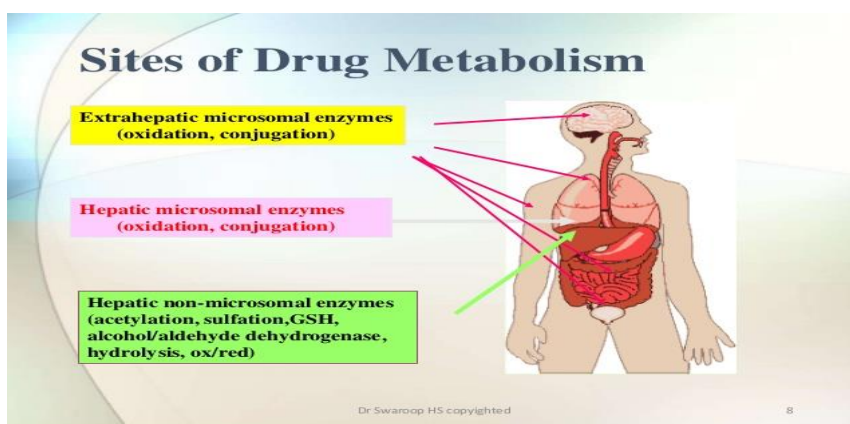
- Η *επιλεκτικότητα*: Ορίζεται από την ικανότητα του υποδοχέα να διαχωρίζει τα φάρμακα και να παραμένει ίδιος ο βαθμός εξειδίκευσης. Αξίζει να σημειωθεί ότι συχνά οι όροι της *επιλεκτικότητας* και της *εξειδίκευσης* είναι «συνώνυμοι» [9,32-38].
- Η *χημική συγγένεια*: Ορίζεται από τη δύναμη σύνδεσης μεταξύ του υποδοχέα και του φαρμάκου. Ο υψηλός βαθμός συγγένειας σχετίζεται με μικρότερη απαιτούμενη δόση φαρμάκου από αυτή του χαμηλού βαθμού συγγένειας για τον ίδιο υποδοχέα [9,32-38].
- Η *δραστικότητα*: Η δραστικότητα περιγράφει τη σχέση της φαρμακευτικής δόσης και το μέγεθος της αποτελεσματικότητας του. Υψηλού βαθμού δραστικότητας προκαλεί ισχυρό αποτέλεσμα με μικρή δόση [9,32-38].
- Η *αποτελεσματικότητα*: Η αποτελεσματικότητα είναι η *in vivo* δραστικότητα ή η μέγιστη ανταπόκριση που μπορεί να επιτύχει το φάρμακο. Η αλληλεπίδραση του φαρμάκου με τον οργανισμό μπορεί να μεταβάλλει τη «βιοδιαθεσιμότητα» και αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της θεωρητικής δράσης του. Ο γρήγορος μεταβολισμός ενός ισχυρού φαρμάκου για παράδειγμα προκαλεί στο φάρμακο χαμηλή αποτελεσματικότητα ενώ η ταχεία απορρόφηση (το μικρό μονοπάτι του μεταβολισμού) και η καθυστερημένη απέκκριση μπορούν να δημιουργήσουν υψηλή αποτελεσματικότητα παρότι έχει χαμηλή δραστικότητα. Γενικά το ιδανικό φάρμακο θα έπρεπε να χορηγείται εύκολα, να απορροφάται εύκολα, να μην συνδέεται με το πλάσμα του αίματος, να παρέχει γρήγορα αποτελέσματα, να διαλύεται αυθόρμητα, να είναι χημικά σταθερό, να έχει υψηλό βαθμό επιλεκτικότητας, εξειδίκευσης, χημικής συγγένειας, δραστικότητας και αποτελεσματικότητας. Επίσης θα ήταν χρήσιμο να έχει επαρκή διάρκεια δράσης, μεγάλο θεραπευτικό εύρος (therapeutic index, T.I) και ελάχιστες αλληλεπιδράσεις [9,32-38].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Το ανθρώπινο σύστημα έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να «ανταποκρίνεται» στην είσοδο κάθε ξένης ουσίας προς αυτό (ξενοβιοτικό). Στην *ανταπόκριση* αυτή συμμετέχουν πολλά είδη ενζύμων που βοηθάνε στην αποδόμηση της ξενοβιοτικής ουσίας από τον οργανισμό. Τα φάρμακα είναι και αυτά ένα είδος ξενοβιοτικού εξ αιτίας της μη συμβολή τους στη μεταβολική διαδικασία της παραγωγής ενέργειας για τις ανάγκες του οργανισμού [43].

Όπως ήδη έχει λεχθεί, σημαντική συμβολή στο μεταβολισμό φαρμάκων στον οργανισμό παίζει το ήπαρ. Οι νεφροί, οι πνεύμονες, ο εντερικός βλεννογόνος, ο πλακούντας και το αίμα (το πλάσμα και τα λευκοκύτταρα) και το δέρμα μπορούν να συμμετάσχουν στη διαδικασία του μεταβολισμού. Τέλος στα φάρμακα που χορηγούνται *per os* (από το στόμα) σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό έχει και η εντερική χλωρίδα [1,3,43,44].

Ο κύριος κανόνας που ακολουθείται στο μεταβολισμό είναι η προσθήκη ιονιζόμενων ομάδων στο φαρμακομόριο με αποτέλεσμα την ευκολότερη διάλυση τους στο νερό. Επομένως οι μεταβολίτες εμφανίζουν ανικανότητα παθητικής διαπερατότητας μέσω των βιολογικών μεμβρανών και παρατηρείται μέσω των ενεργητικών μηχανισμών μεταφοράς απέκκριση και αδυναμία επαναρρόφησης από το πρόουρο [1,3,43,44,46].



Εικόνα 3. Θέσεις μεταβολισμού (https://redsearch.org/images/p/drug_metabolism_pathways)

2.1 Αντιδράσεις βιοσχηματισμού μεταβολιτών

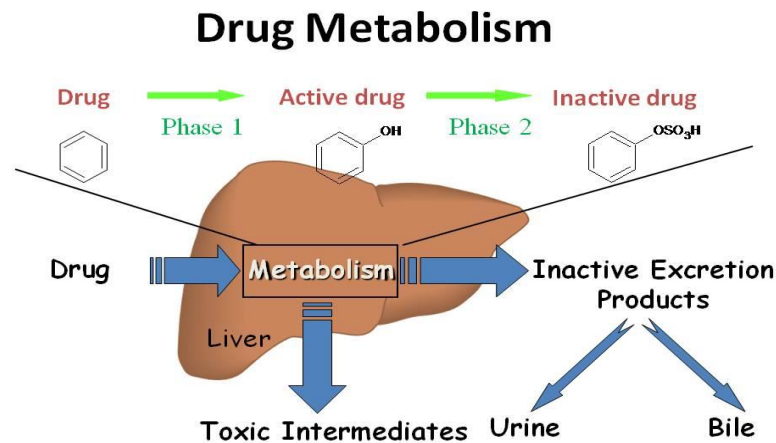
Ο μεταβολισμός του φαρμάκου προκύπτει συνοπτικά με 4 *τρόπους* μέσω αντιδράσεων βιοσχηματισμού:

1. **Μετατροπή του ενεργού φαρμακομορίου σε αδρανή μεταβολικά προϊόντα.** Ο συχνέστερος τρόπος μεταβολισμού του ξενοβιοτικού. Π.χ. η φαινοβαρβιτάλη => *αδρανή* υδροξυ-βαρβιτάλη [45].
2. **Μετατροπή ενεργού φαρμακομορίου σε τοξικό μεταβολίτη.** Π.χ. ακεταμινοφαίνη => N-υδροξυαμιδο-ακεταμινοφαίνης (τοξική) [45].
3. **Μετατροπή ανενεργού φαρμακομορίου σε ενεργό μεταβολίτη.** Π.χ. Το αντικαρκινικό φάρμακο κυκλοφωσφαμίδη => 4-υδροξυ-φωσφαμίδιο, αλδοφωσφαμίδιο και ακρολεΐνη (κατά την οξείδωση της κυκλοφωσφαμίδης) [45].
4. **Μετατροπή ενός ενεργού φαρμακομορίου σε ενεργό μεταβολίτη.** Και αυτές οι αντιδράσεις είναι αρκετά συχνές. Π.χ. το ακετυλοσαλικυλικό οξύ => σαλικυλικό οξύ [1,3,18,43,45,46,47].

Οι χημικές αντιδράσεις που μετέχουν στη βιομετατροπή του φαρμάκου στο μεταβολισμό διαχωρίζονται σε 2 ομάδες:

- Οξειδώσεις, αναγωγές και υδρολύσεις (*Μεταβολική φάση I ή Ομάδα I*).
- Συζεύξεις ή συνθετικές αντιδράσεις (*Μεταβολική φάση II ή Ομάδα II*).

Οι παραπάνω αντιδράσεις επιτελούνται κυρίως στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατοκυττάρων. Αυτό συμβαίνει λόγω της λιπιδικής δομής της μεμβράνης του δικτύου όπου παρατηρείται εγκλωβισμός των λιποδιαλυτών ουσιών που διασχίζουν το ήπαρ. Επίσης ένα ποσοστό των προαναφερθέντων αντιδράσεων συντελείται στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων, ενώ σε μικρότερη κλίμακα παρατηρούνται αντιδράσεις στα λυσοσωμάτια, στον πυρήνα και στα μιτοχόνδρια [1,3,18,43,45,46,47].



Εικόνα 4. Πορεία μεταβολισμού

(<https://sites.google.com/site/kanikachoughule/postdoctoral-work/a-layman-s-guide-of-my-work>)

2.2 Μεταβολικές φάσεις

2.2.1 Μεταβολική Φάση I

Στη φάση αυτή περιλαμβάνονται οι αντιδράσεις *αναγωγής*, *υδρόλυσης* και *οξείδωσης*. Αυτό επιτυγχάνεται με τη προσθήκη ή αντικατάσταση στη ξενοβιοτική ουσία ενός εκ των: -OH, -COOH, -NH₂, -SH με αποτέλεσμα την αύξηση της λιποφιλικής ικανότητας της ουσίας [1,18,46-48].

Αναγωγή:

- *Αζωαναγωγή και νιτροαναγωγή.* Σημαντικό ρόλο για τη κατάλυση των αναγωγών αυτών παίζει η μικροβιακή χλωρίδα του εντερικού συστήματος καθώς και το P-450 (κυτόχρωμα) & NAD(P)H (οξειδοαναγωγή των κινονών). Για να παραχθούν οι αντιδράσεις αυτές χρειάζονται NAD(P)H και η διακοπή επιτυγχάνεται με τη παρουσία O₂. Εξ αιτίας λοιπόν της έλλειψης οξυγόνου στο γαστρεντερικό σύστημα ευνοείται η ανάπτυξη αυτών των αντιδράσεων [46,48-50].
- *Καρβονυλική αναγωγή.* Η αλκοολική αφυδρογονάση και οι καρβονυλικές αναγωγάσες ανάγουν τις αλδεΐδες και τις κετόνες σε πρωτοταγείς και δευτεροταγείς αλκοόλες. Το NADPH και οι καρβονυλικές αναγωγάσες (ένζυμα) είναι αλληλοεξαρτώμενα και εμφανίζονται στο κυτταρόπλασμα των ηπατικών κυττάρων, στο αίμα, στους νεφρούς και στον εγκέφαλο. Αξίζει να σημειωθεί ότι το μέγεθος της δραστηριότητας των

καρβονυλικών αναγωγάσων παρουσιάζει γενετική ανομοιογένεια σε σχέση με το πληθυσμό και μεγάλη ή μικρή χημική συγγένεια (Km) με τα διάφορα υποστρώματα τους [46,48,51-58].

- *Δισουλφιδική αναγωγή.* Τα δισουλφίδια αναγάγονται ενώ είναι διασπασμένα και δίνουν θειικά παράγωγα [46,48,59].
- *Αναγωγή σουλφοξειδίων και νιτρο-οξειδίων.* Οι οργανικές ενώσεις που περιέχουν –SO–, αποκαλούνται σουλφοξείδια και η κατάλυση τους επιτυγχάνεται με την συμβολή του κυτοχρώματος P₄₅₀ και φλαβινικών μονοοξυγονασών. Για την αναγωγή τους χρειάζονται θειορεδοξινό-εξαρτώμενα ένζυμα που εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα των ηπατικών και νεφρικών κυττάρων. Επομένως στην αναγωγή σουλφοξειδίων έχουμε το αντίστροφο αποτέλεσμα της οξείδωσης (σουλφοξείδωση). Τέλος στη νιτροοξείδωση παρατηρείται το ανάστροφο αποτέλεσμα οξείδωσης των αμινών, οι οποίες δημιουργούνται από το κυτόχρωμα P₄₅₀ και τις φλαβονικές μονοοξυγονάσες [46,48-51,54,58,60-62].
- *Αναγωγή κινονών.* Μία ομάδα εξειδικευμένων οξειδοαναγονασών (NAD(P)H-οξειδο-αναγωγάσες κινονών ή DT-διαφοράση), έχουν την ικανότητα αναγωγής των κινονών σε υδροκίνονες μέσω ανίχνευσης στο κυτταρόπλασμα. Για την επίτευξη σχηματισμού υδροκινόνης πρέπει να οξειδωθεί η κινόνη από 2 ηλεκτρόνια, τα οποία θα προέρχονται από το οξειδωμένο NAD(P)H χωρίς τη χρήση O₂. Όμως μπορεί να καταλυθεί η ίδια αντίδραση από τη καρβονυλική αναγωγή. Σημασία έχει η αναγωγή της κινόνης από μόνο ένα ηλεκτρόνιο το οποίο θα σχηματίσει μία ημι-κινόνη. Αύτη δέχεται αστραπιαία αυτο-οξείδωση με αποτέλεσμα τη μη-στοιχειομετρική οξείδωση NADPH και παρατηρείται κατανάλωση O₂. Στη συνέχεια, εκδηλώνεται οξειδωτικό στρες ως άμεσο αποτέλεσμα της ελεύθερης ρίζας της ημι-κινόνης με τοξικά επακόλουθα [46, 48].
- *Αφαλογόνωση.* Η κατάλυση της αντίδρασης γίνεται είτε από το **κυτόχρωμα P₄₅₀** (αναγωγική και οξειδωτική αφαλογόνωση) είτε από το **κυτόχρωμα P₄₅₀** σε συνδυασμό με τις **τρανσφεράσες της γλουταθειόνης (αφυδραλογόνωση)** [48-50,53-55,61,63].

Υδρόλυση

Για τη διαδικασία της υδρόλυσης απαιτούνται ένζυμα όπως η *πεπτιδάση* και η *υδρολάση των εποξειδίων* και η *εστεράση των καρβοξυλίων* [46-48,51].

- **Εστεράσες των καρβοξυλίων.** Για τη πραγματοποίηση υδρόλυσης των ουσιών αυτών απαιτείται να περιέχουν στο μόριο τους καρβοξυλικούς και φωσφορικούς οξικούς εστέρες, οξικό ανυδρίτη και θειοεστέρα. Σημαντικός δείκτης διάρκειας και εντοπισμού δράσης του φαρμάκου είναι το επίπεδο ποσότητας καρβοξυλικών εστερασών. Εξίσου σπουδαίο να αναφερθεί είναι ότι τα καρβοξύλια των εστερασών εκτός της

συμμετοχής τους στην υδρόλυση των φαρμακευτικών ουσιών υδρολύουν και διάφορα εντομοκτόνα. Οπότε οι ουσίες που αναστέλλουν τη δράση των ενζύμων αυτών δημιουργούν τοξικότητα λόγω των εντομοκτόνων ενώ όσες ενισχύουν τη δράση των ενζύμων εμφανίζουν προστατευτική ιδιότητα. Οι εστεράσες βρίσκονται παντού στον οργανισμό (νεφροί, πνεύμονες, όρχεις, ήπαρ και αίμα). Μεγάλα ποσοστά ανιχνεύονται στο κυτταρόπλασμα και στο ενδοπλασματικό δίκτυο [46, 48].

- **Πεπτιδάσες.** Στη περίπτωση αυτή για την αποφυγή όξινης καθίζησης και αποδόμησης των πεπτιδασών από το γαστρεντερικό σύστημα εφαρμόζεται η παρεντερική χορήγηση τους. Η διαδικασία της υδρόλυσης των συγκεκριμένων φαρμακοτεχνικής μορφής φαρμάκων γίνεται στο αίμα αλλά και σε διάφορους ιστούς από αμινοπεπτιδάσες (-N-τελικό άκρο) και καρβοξυπεπτιδάσες (-C τελικό άκρο) [46, 48].
- **Υδρολάσες των εποξειδίων.** Διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην πορεία αποτοξίνωσης από ηλεκτρονιόφιλα εποξείδια. Έτσι εξασφαλίζεται η αποφυγή αντίδρασης τους με πρωτεΐνες και πυρηνικά οξέα προκαλώντας κυτταροτοξικότητα και βλάβες στο γενετικό υλικό. Το επίπεδο δραστηριότητας των υδρολασών είναι ανάλογο με αυτής του P₄₅₀ και έχουν ως στόχο την απέκκριση των εποξειδίων που δημιουργούνται από τις οξειδωτικές αντιδράσεις [46,48-50,52,61].

Οξείδωση

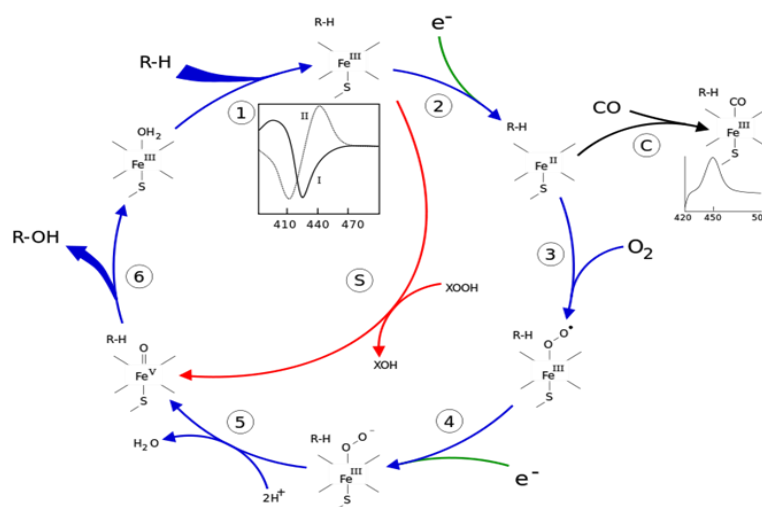
Η οξείδωση και η αναγωγή των αλκοολών, αλδεϋδών και κετονών πραγματοποιείται από τα εξής ένζυμα: η *αλκοολική* και η *αλδεϋδική αφυδρογονάση*, η *αλδεϋδική οξειδάση* και η *καρβονυλική αναγωγή* [46-48,51,59].

- **Αλκοολική αφυδρογονάση (ADH):** Το ένζυμο αυτό συναντάται στο κυτταρόπλασμα και είναι εμπλουτισμένο με ψευδάργυρο και εντοπίζεται σε πολλά μέρη του οργανισμού όπως πνεύμονες, ήπαρ και νεφροί. Στον ανθρώπινο οργανισμό η ADH είναι μία διμερής πρωτεΐνη αποτελούμενη από 2 υποομάδες (~40kD). Τα ένζυμα της ανθρώπινης ADH περιλαμβάνουν 8 υποομάδες οι οποίες διαχωρίζονται σε 3 ομάδες. Στη ομάδα I περιλαμβάνονται τα ισοένζυμα που οξειδώνουν την αιθανόλη και εμφανίζουν ανασταλτική λειτουργία εξ αιτίας της πυραζόλης και των 4-αλκυλιωμένων παραγώγων της (4-μεθυλπυραζόλη). Στην ομάδα II ανήκουν τα ισοένζυμα της ADH που οξειδώνουν μεγαλύτερες αλδεϋδες και μεταβολίζουν αλλά σε χαμηλότερο ποσοστό την αιθανόλη. Όμως τα ισοένζυμα αυτά δεν μπορούν να μεταβολίσουν τη μεθανόλη καθώς και τη πυραζόλη. Τέλος στην ομάδα III ανήκουν τα ισοένζυμα που οξειδώνουν ακόμα μεγαλύτερες αλκοόλες καθώς και μπορούν να ανασταλούν από τη πυραζόλη [46,51,53-57,59].

- **Αλδεϋδική αφυδρογονάση (ALDH):** Στη περίπτωση αυτή παρατηρείται οξείδωση των αλδεϋδων με τα καρβοξυλικά οξέα με τη βοήθεια κάποιων συνενζύμων (π.χ NAD^+). Μετά από χρόνιες έρευνες έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχουν πολλά συνένζυμα της ALDH και τα οποία έχουν την ικανότητα οξείδωσης αλειφατικών και αρωματικών αλδεϋδών και κάποια άλλα όχι. Φυσικά οι κυριότεροι αλλά και οι πιο διερευνημένοι τύποι της ALDH είναι αυτοί των ηπατοκυττάρων. Σημαντικό ρόλο παίζει στην οξείδωση της ακεταλδεϋδης αφού πρώτα μεταβολιστεί η αιθανόλη. Η ALDH ταξινομείται σε 3 κατηγορίες : i) με βάση το επίπεδο ομοιότητας της πρωτοταγής δομής, ii) με βάση τα βιοχημικά χαρακτηριστικά και iii) την ενδοκυτταρική κατανομή. Στην 1^η κατηγορία ανήκουν οι κυτταροπλασματικοί τύποι της ALDH1, στην 2^η περιλαμβάνονται οι μιτοχονδριακοί τύποι της ALDH2 και στη 3^η ανήκει η κυτταροπλασματική ALDH3 που έχει προέλθει από επαγωγή, η κύρια ALDH (που εμφανίζεται στις περιπτώσεις καρκίνου του ήπατος και στο στομάχι) και οι μικροσωματικές ALDH [46,51,53-57,59,64].
- **Καρβονυλική αναγωγή:** Οι αναγωγές αυτές με τη βοήθεια του συνενζύμου NAD^+ μπορούν και ανάγουν τις αλδεϋδες και τις κετόνες [59,65].
- **Μονοαμινοξειδάση, διαμινοξειδάση και πολυαμινοξειδάση:** Με τη βοήθεια των οξειδασών αυτών, επιτυγχάνεται η οξειδωτική απαμίνωση πρωτοταγών, δευτεροταγών και τριτοταγών αμινών [59,65].
- **Μονοξυγονάσες φλαβίνης (FMO):** Στους νεφρούς, στον πνεύμονα και στο ήπαρ έχουν βρεθεί πολλές μονοξυγονάσες οι οποίες ενέχουν το ένζυμο FAD (FMO) και έχουν την τάση να οξειδώνουν τα πυρηνόφιλα άτομα N, S & P των ξενοβιοτικών ουσιών. Τα ένζυμα αυτά (FMO) για να δράσουν βασίζονται στη χρήση O_2 & NADPH [51,59,62,65].
- **Κυτοχρώματα P₄₅₀:** Τα σημαντικότερα ένζυμα που μετέχουν στη Μεταβολική Φάση I. Εξ αιτίας της ικανότητας του μεταβολισμού μίας τεράστιας ποικιλίας ξενοβιοτικών ουσιών που εισέρχονται στον οργανισμό αλλά και κατά τη διάρκεια της διαδικασίας του μεταβολισμού αφού προκύπτουν εξαιρετικά δραστικά ενδιάμεσα προϊόντα. Στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ηπατικών κυττάρων συναντώνται τα περισσότερα εξ' αυτών. Τα κυτοχρώματα P₄₅₀ από στερεοχημικής άποψης είναι αιμοπρωτεΐνες και ενέχουν Fe^{3+} . Η βασική αντίδραση με την οποία μπορούν και καταλύουν αποκαλείται «αντίδραση μονοοξυγόνωσης», όπου στην αντίδραση αυτή ένα άτομο O_2 εισβάλλει στο υπόστρωμα και ταυτοχρόνως ένα άλλο ανάγεται σε νερό με τη βοήθεια του συνενζύμου NADPH : [49-51,54,58-61].



Εξ αιτίας της παραπάνω αντίδρασης, όταν το φάρμακο εισέλθει στον οργανισμό θα ακολουθήσει η σύζευξη του φαρμάκου με το ένζυμο στη περιοχή όμως που υπάρχει ο τρισθενής σίδηρος (Fe^{3+}) με αποτέλεσμα την εμφάνιση συμπλόκου (Fe^{3+} - φάρμακο). Εν συνεχεία το σύμπλοκο αυτό επιδέχεται αναγωγή από τη φλαβοπρωτεΐνη (Fp1), η οποία μπορεί και ελκύει 2 ηλεκτρόνια από τη NADPH. Το ένα ηλεκτρόνιο μεταφέρεται από την ίδια τη Fp1 και το προορίζει για το σύμπλοκο (Fe^{2+} - φάρμακο), το οποίο με τη σειρά του ως ανηγμένο μπορεί και δημιουργεί σύζευξη με O_2 και επομένως εμφανίζεται ένα νέο σύμπλοκο (Fe^{2+}O_2 - φάρμακο). Ακολουθεί η πρόσθεση του δευτέρου ηλεκτρονίου που είχε αποσπαστεί από τη φλαβοπρωτεΐνη και δημιουργείται το σύμπλοκο ($\text{Fe}^{2+}\text{O}_2^-$ - φάρμακο). Το παραπάνω σύμπλοκο με δύο πρωτόνια υδρογόνου δημιουργεί το νερό και το σύμπλοκο (Fe^{3+}O - φάρμακο). Η συγκεκριμένη μορφή του συμπλόκου (Fe^{3+}O - φάρμακο) μπορεί και διασπάται επιπλέον με αποτέλεσμα τη οξειδωμένη μορφή του φαρμάκου και ο Fe^{3+} μπορεί και αναπαράγει το κυτόχρωμα P_{450} . (Σχήμα 8) [49,50,59,61].



Σχήμα 8. Μηχανισμός οξείδωσης από το P_{450}

(https://en.wikipedia.org/wiki/Cytochrome_P450#/media/File:P450cycle.svg)

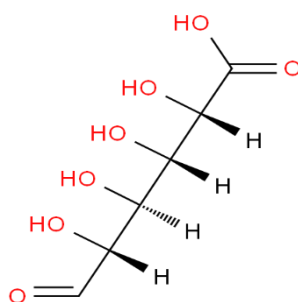
Τα κυτοχρώματα έχουν την δύναμη να καταλύουν τις εξής αντιδράσεις: i)εποξείδωση διπλού δεσμού, ii)αλειφατική ή αρωματική υδροξυλίωση, iii)απακκλίωση ατόμου (O-, S-ή N-), iv)οξυγόνωση ετεροατόμου (S-, N- ή I-) και N-υδροξυλίωση, v)Μεταφορά οξειδωτικών χαρακτηριστικών ομάδων, vi)διάσπαση εστέρων & vii)αφυδρογόνωση. Ο βιομετασχηματισμός των ξενοβιοτικών από τα ηπατικά κυτοχρώματα P-450 ταξινομείται σε 3 οικογένειες γονιδίων (CYP1, CYP2 & CYP3) [49,50,53-55,57-61,64].

2.2.2 Μεταβολική φάση II

Στη φάση αυτή παρατηρείται η σύζευξη του ξενοβιοτικού με κάποιο υδατοδιαλυτό μόριο. Η σύζευξη επιτυγχάνεται με τη προσθήκη αμινοξέων, γλουταθειόνης, θειικού οξέος, ακετυλίου, γλυκουρονικού οξέος και μεθυλίου. Για να δημιουργηθεί αυτή η σύζευξη πρέπει το ξενοβιοτικό να εμπεριέχει στη χημική δομή του ομάδες: καρβοξυλίων, υδροξυλίων, αμινών και σουλφυδρυλίων. Με τη μεταβολική φάση II επιτυγχάνεται η αδρανοποίηση του φαρμάκου, η μείωση της λιποδιαλυτότητας του άρα και η επίσπευση της διαδικασίας της απέκκρισης του από τον οργανισμό [1,3,65-67].

Σύζευξη με γλυκουρονικό οξύ

Το γλυκουρονικό οξύ (Σχήμα 9) είναι το παραγόμενο προϊόν από το μεταβολισμό της γλυκόζης στα κύτταρα του ήπατος. Παράγεται από το ουριδινωδιφωσφορο-γλυκουρονικό οξύ (UDPGA). Στα μικροσωμάτια των ηπατοκυττάρων λαμβάνει χώρα η σύζευξη, όπου πραγματοποιείται καταλυτική αντίδραση της UDP-γλυκουρονοσυλτρανσφεράσης (ένζυμο λιποπρωτεϊνικής τάξεως) και εντοπίζεται στο εσωτερικό του μεμβρανικού τοιχώματος των μικροσωμάτων. Η μεταφορά του προς τον αυλό των μικροσωμάτων γίνεται με ενεργητικό τρόπο. Τα γονίδια που μπορούν να συνθέσουν UDPGA στα ανθρώπινα ηπατοκύτταρα είναι τα UGT2B ή ο γονιδιακός τύπος UGT1 [63,66-67].



Σχήμα 9. Γλυκουρονικό οξύ (<http://www.chemspider.com/ImageView.aspx?id=58552>)

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα νεογνά που πάσχουν από το σύνδρομο **Crigler-Najjar τύπου I** (ανικανότητα σύνθεσης γλυκουρονιδίων της χολερυθρίνης) αναπτύσσουν πυρηνικό ίκτερο, ο οποίος συνήθως προκαλεί το θάνατο. Τα άτομα με **σύνδρομο Crigler-Najjar τύπου II** έχουν την δυνατότητα γλυκουρονιδοποίησης της χολερυθρίνης σε ποσοστό ανεκτό οπότε και εμφανίζουν ήπια χολερυθρυναιμία με πιθανότητα εμφάνισης πυρηνικού ίκτερου μετά την εφηβεία. Με τη χορήγηση φαινοβαρβιτάλης οι ασθενείς παρουσιάζουν μείωση των επιπέδων της ελεύθερης χολερυθρίνης. Τέλος και τα άτομα που έχουν **σύνδρομο Gilbert** (μειωμένη σύνθεση γλυκουρονιδίων της χολερυθρίνης σε ένα ποσοστό της τάξης 70% από το φυσιολογικό) εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα αιμόλυσης και μειωμένη ικανότητα πρόσληψης χολερυθρίνης από τα κύτταρα του ήπατος.

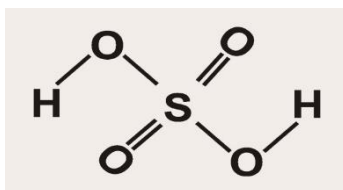
Η θεραπεία και στα άτομα αυτά είναι η χορήγηση πριμιδόνης, φαινοβαρβιτάλης, υδα-ντοΐνης, κλοφιβράτη και τα αντισυλληπτικά από το στόμα [66, 67].

Η **γλυκουρονιδοποίηση** των φαρμάκων είναι ο κύριος και βασικός άξονας της βιομετατροπής των φαρμακομορίων. Όταν τα φάρμακα από τη μεταβολική φάση I δώσουν κάποιες δραστικές μορφές προϊόντων πρέπει αυτές να εξουδετερωθούν ή να απενεργοποιηθούν και σε αυτό το κομμάτι παίζει σημαντικό ρόλο η γλυκουρονιδοποίηση. Οπότε η έναρξη της λειτουργίας της γλυκουρονιδοποίησης υποδηλώνει και το τερματισμό της ενέργειας του φαρμάκου. Παρ' όλα αυτά όχι όλοι οι μεταβολίτες των φαρμάκων μπορούν να αδρανοποιηθούν από τη γλυκουρονιδοποίηση αλλά κάποια από αυτά δίνουν δραστικά γλυκουρονίδια και αυτό εξαρτάται από τη στερεοχημική δομή των γλυκουρονιδίων αλλά και τη λειτουργία του μεταβολισμού του κάθε οργανισμού. Τέλος κάποια γλυκουρονίδια τα οποία ανακύπτουν με τη σύνδεση μορίων στερεοειδικής δομής έχουν την ικανότητα παύσης της ενεργητικής απέκκρισης των χολικών αλάτων που γίνεται από τα ηπατοκύτταρα. Έτσι τα γλυκουρονίδια της αιθινυλοϊστραδιόλης δημιουργούν χολοστατικό ίκτερο [66, 67].

Υπάρχει όμως και μία άλλη σημαντική παράμετρος που καθορίζει τη ταχύτητα της διαδικασίας της γλυκουρονιδοποίησης και αυτή είναι ταυτόχρονη λήψη άλλων φαρμάκων στον οργανισμό (φαρμακευτική αλληλεπίδραση, Drug interaction). Η ταυτόχρονη λήψη φαρμάκων μπορεί να επιταχύνει τη γλυκουρονιδοποίηση όπως για παράδειγμα στους ασθενείς που λαμβάνουν φαινοβαρβιτόλη λόγω επιληπτικών καταστάσεων και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή της γλυκουρονιδοποίησης στον οργανισμό. Όμως σε άλλες καταστάσεις παρατηρείται ο ανταγωνισμός των υποστρωμάτων με τη ταυτόχρονη λήψη φαρμάκων και αυτό γιατί η παρουσία τους στο ήπαρ μπορεί και ελαττώνει τη ταχύτητα των μεταβολικών αντιδράσεων [66, 67].

Σύζευξη με θειικό οξύ

Η σύζευξη με το θειικό οξύ (Σχήμα 10) είναι μία εναλλακτική οδός που εμφανίζεται σε φάρμακα που θα υποστούν *O-γλυκουρονιδοποίηση*, π.χ η ακεταμινοφαίνη. Η 5-φωσφοθειική-3-φωσφοαδενοσίνη (PAPS) είναι το συνένζυμο που θα παράσχει το θειικό οξύ και τη κατάλυση της σύζευξης θα την επωμιστούν τα αποκαλούμενα κυτταροπλασματικά ένζυμα *σουλφοτρανσφεράσες* ή *σουλφοκινάσες*. Από τη κατάλυση των αντιδράσεων δημιουργούνται υδατοδιαλυτοί θειικοί εστέρες που μερικοί εξ' αυτών θα διασπαστούν από το ένζυμο σουλφατάση. Εξ αιτίας του ότι οι σουλφοτρανσφεράσες μπορούν να κορεστούν πολύ εύκολα, η ύπαρξη πολλών φαρμάκων ταυτόχρονα στον οργανισμό θα οδηγήσει σε συναγωνιστικό ανταγωνισμό των αντιδράσεων σούλφωσης. Επιπλέον κάποια προϊόντα που προκύπτουν από την αντίδραση της θείωσης είναι ασταθή και υπάρχει πιθανότητα διάσπασης και απελευθέρωσης μόρια με έντονη βιοαντιδραστικότητα με πιθανότητα τοξικού αποτελέσματος [51,63,67].



Σχήμα 10. Θειικό οξύ

(<http://www.seastarchemicals.com/products-services/trace-metal-analysis-products/acids-base/instrument-quality-acids-base/sulfuric-acid/>)

Μεθυλίωση

Πρόκειται για συνηθισμένη αντίδραση σύζευξης αλλά με μικρή σπουδαιότητα λόγω των χαμηλών επιπέδων λιποδιαλυτότητας των συνθετικών προϊόντων που προκύπτουν. Επιπλέον έχει τη τάση να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ομάδες του μορίου με αποτέλεσμα τη διακοπή τυχόν άλλων οδών μεταβολισμού. Η παροχή των μεθυλικών ομάδων επιτυγχάνεται από την S-αδενοσυλομεθειονίνη (SAM) και τα αρνητικά σε φορτίο μόρια των ετεροατόμων O, N, ή S μπορούν μπορούν και συζεύγονται. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι κατεχόλες, φαινόλες, αζωτούχες ετεροκυκλικές ενώσεις, αμίνες (αρωματικές και αλειφατικές) και οι ενώσεις περιέχουν τις σουλφυδρυλικές ομάδες [64].

Ακετυλίωση

Απαραίτητη προϋπόθεση για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της ακετυλίωσης είναι η παρουσία αμινομάδας στο μόριο του ξενοβιοτικού (N-ακετυλίωση). Τα κυτταροπλασματικά ισοένζυμα της N-ακετυλοτρανσφεράσης (NAT) συμβάλλουν στην κατάλυση της N-ακετυλίωσης, στην οποία το ακετύλιο που παρέχεται από οξικό οξύ θα παραχθεί μετά την ενεργοποίηση του συνενζύμου A προς το ακετυλο-CoA. Η ακετυλίωση είναι η βασική οδός της διαδικασίας του μεταβολισμού των ενώσεων που εμπεριέχουν αρωματική αμίνη (R-NH₂) ή ομάδα υδραζίνης και ακολουθεί η βιομετατροπή τους σε αρωματικά αμίδια ή υδραζίδια [51,63,64].

Σύζευξη με αμινοξέα

Η σύζευξη με αμινοξύ πραγματοποιείται με την προϋπόθεση το ξενοβιοτικό να περιέχει καρβοξύλιο ή αρωματική καρβοξυλαμίνη. Πολλά αμινοξέα μπορούν να συνδεθούν με φάρμακα όπως η γλουταμίνη, η σερίνη, η ταυρίνη, το ασπαρτικό οξύ καθώς και κάποια πεπτίδια (γλυκυλο-ταυρίνη και γλυκυλο-βαλίνη). Η ιδιαιτερότητα των συζεύξεων αυτών έγκειται στο ότι για την επίτευξη τους απαιτείται η «ενεργοποίηση» του ξενοβιοτικού (συμβολή του συνένζυμου A) και όχι του αμινοξέος. Τα προϊόντα της σύζευξης εμφανίζουν μεγάλη υδατοδιαλυτότητα και έτσι η απέκκριση τους πραγματοποιείται από τα ούρα [64].

Σύζευξη με γλουταθειόνη

Τα ξενοβιοτικά τα οποία εμπεριέχουν νιτροομάδες και αλογόνα με τη συμβολή της γλουταθειόνης μπορούν να αδρανοποιηθούν. Η σύζευξη με γλουταθειόνη δεν είναι συχνό φαινόμενο όμως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αποφυγή ηπατοτοξικών δράσεων της ακεταμινοφαίνης. Η κατάλυση της αντίδρασης γίνεται από ειδικές S-τρανσφεράσες, οι οποίες εμφανίζονται σε μεγάλο ποσοστό στα κύτταρα του ήπατος [56,57,63].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΕΤΙΚΗ – ΦΑΡΜΑΚΟΓΟΝΙΔΙΑΚΗ -Ε- ΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ (ΙΑΤΡΙΚΗ ΤΗΣ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ)

3.1 ΟΙ ΕΝΝΟΙΕΣ ΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΟΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ

Η εξέλιξη της φαρμακογενετικής και οι σχέσεις της με τις επιστήμες της Φαρμακοκινητικής/Φαρμακοδυναμικής ήρθε να συμβάλλει στη προσπάθεια της «εξατομικευμένης Ιατρικής» για καλύτερη και λιγότερο επικίνδυνη χρήση φαρμάκων, με αποκλειστικό στόχο την χορήγηση καλύτερης δόσης του φαρμακευτικού προϊόντος στον κάθε ασθενή ατομικά. Ο βαθμός απόκρισης της φαρμακευτικής αγωγής οφείλεται στη κατανόηση των βιολογικών και φαρμακευτικών διεργασιών που διενεργούνται από συγκεκριμένα γονίδια καθώς και από σημειακούς μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNPs).

Εξ αιτίας της στενής συγγένειας των επιστημών της «Φαρμακογενετικής» και της «Φαρμακογονιδιοματικής» είναι σημαντική η αποσαφήνιση του εργαστηριακού τους αντικειμένου. Σύμφωνα με το έντυπο Pharmacogenomic Data Submissions (Υποβολή Φαρμακογονιδιοματικών Δεδομένων) της FDA (Διεύθυνση Τροφίμων και Φαρμάκων του Υπουργείου Υγείας) των Η.Π.Α (2005):

- *Η Φαρμακογενετική* εξέταση, ονομάζεται η λεπτομερής διαδικασία που ακολουθείται για τον προσδιορισμό των παραλλαγών μεταξύ των ανθρώπων ως προς τις αλληλουχίες του DNA, οι οποίες είναι υπεύθυνες είτε για την απορρόφηση και τον μεταβολισμό των φαρμάκων (Φαρμακοκινητική) είτε για φαρμακολογική δράση (Φαρμακοδυναμική), εμπειρικλείοντας και τις πολυμορφικές μετατροπές των γονιδίων που μπορούν και κωδικοποιούν ενζυμικά στοιχεία, μεταφορείς, ένζυμα μεταβολισμού, υποδοχείς και άλλες πρωτεΐνες.
- *Η Φαρμακογονιδιοματική* εξέταση, ονομάζεται η λεπτομερής διαδικασία που έχει ως σκοπό τη μελέτη των παραλλαγών που εμφανίζουν μεταξύ τους τα άτομα στο ολικό γονιδίωμα ή σε γονίδια τους, σε απλοτυπικούς δείκτες και χάρτες SNP. Επίσης αφορά τις μεταλλάξεις στη γονιδιακή έκφραση ή απενεργοποίηση, οι οποίες ενδεχομένως να

συμμετέχουν στο μηχανισμό της φαρμακευτικής διαδικασίας και στο βαθμό της θεραπευτικής απόκρισης του οργανισμού.

Συνοπτικά, η *Φαρμακογενετική* επικεντρώνεται στο φαινοτυπικό στοιχείο ενός κληρονομούμενου γενετικού χαρακτηριστικού, ενώ η *Φαρμακογονιδιωματική*, ο στόχος είναι διευρυμένος, εστιάζει στην διαδικασία της ρύθμισης και έκφρασης των συγκεκριμένων γονιδίων που μετέχουν στο φαινοτυπικό χαρακτηριστικό.

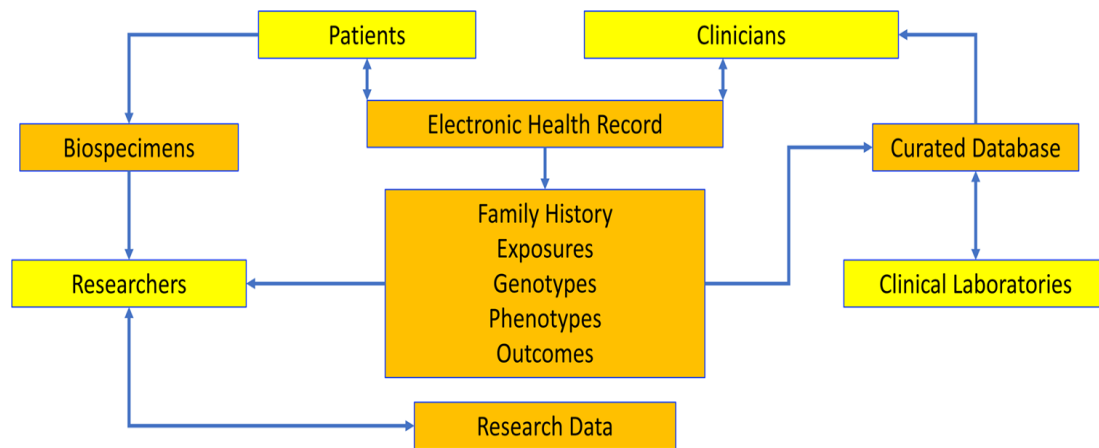
Ο γενετικός πολυμορφισμός επηρεάζει το βαθμό και τη πορεία της θεραπείας που ακολουθείται. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Μελέτης του Γονιδιώματος (GWAs) κατάφερε έγκαιρα να ανακαλύψει γενετικούς πολυμορφισμούς, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για γενετικές ασθένειες [68]. Επίσης μπόρεσε και ανακάλυψε πολλούς φαρμακογενετικούς βιοδείκτες, οι οποίοι άμεσα ή έμμεσα συνδέονται με την ασθένεια [69,70]. Παρ' όλα αυτά, ο όρος «εξατομικευμένη θεραπεία» περιορίζεται στη ταυτοποίηση των κατάλληλων φαρμάκων και της ακριβής δοσολογίας σε μία ομάδα ασθενών. Σήμερα η χρήση της εξατομικευμένης θεραπείας έχει μεγαλύτερο εύρος και πολύ περισσότερες δυνατότητες, όπως να μπορεί να συμπεριλάβει όλα τα στάδια της θεραπείας, τις πιθανές παρενέργειες, τις επιπλοκές αλλά και τη χορήγηση στοχευμένης δοσολογίας για συγκεκριμένους ασθενείς. Η *εξατομικευμένη ιατρική* (ή Ιατρική της ακρίβειας) αναφέρεται στη προσέγγιση των ασθενών με συγκεκριμένο γενετικό προφίλ, αλλά δίνεται μεγάλη προσοχή στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους όπως τις προτιμήσεις τους, τα πιστεύω τους, το εκπαιδευτικό τους υπόβαθρο κ.α.

3.2 Η ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΗΣ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ

Η *Ιατρική της ακρίβειας* περιγράφει ένα μοντέλο μορφής θεραπείας, η οποία θα βασίζεται στα δεδομένα, στις αναλύσεις και στις πληροφορίες. Το μοντέλο αυτό προηγείται της Επιστήμης των genomics και σε αυτό βασίζεται το πρόγραμμα εθνικής έρευνας και το υγειονομικό σύστημα. Η Ιατρική της ακρίβειας οφείλει να συνδέσει τον άνθρωπο-ασθενή με τη ψηφιακή ιατρική, την επιστήμη των genomics και άλλων μοριακών τεχνολογιών, όπως η ανάλυση των δεδομένων ώστε να μπορεί να κριθεί επιτυχής ως επιστήμη.

Το σύστημα της Ιατρικής της ακρίβειας συνδέεται με τους ασθενείς, τους ιατρούς, τα εργαστήρια και το ερευνητικό προσωπικό. Η δομή του φαίνεται συνοπτικά στο (Σχήμα 11).

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)



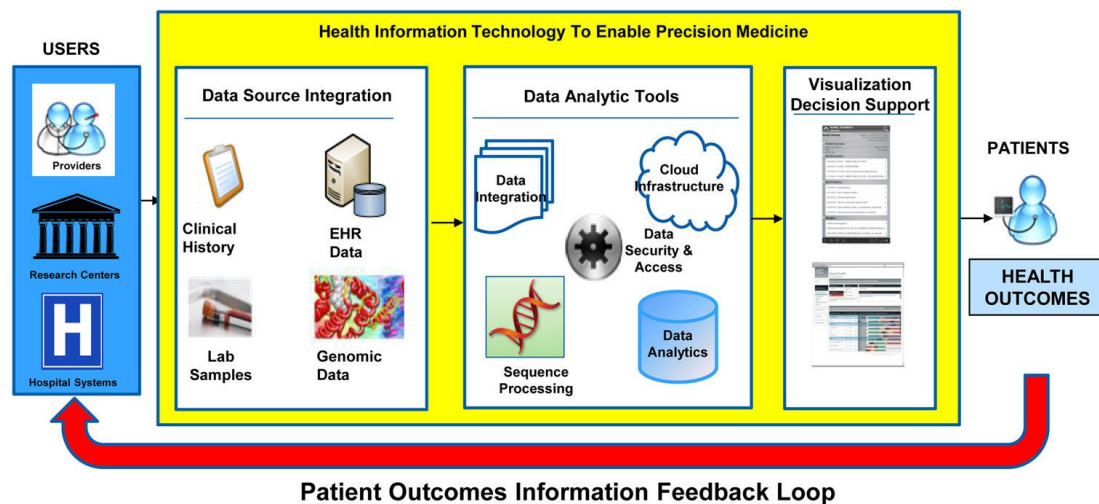
Σχήμα 11. Το οικοσύστημα της ιατρικής της ακρίβειας

(Aronson SJ, Rehm HL. Building the foundation for genomics in precision medicine. Nature. 2015 Oct 15; 526(7573):336–42. [PubMed: 26469044].)

Η χρήση της ηλεκτρονικής αρχειοθέτησης των ιατρικών δεδομένων (EMRs) και η ανεπτυγμένη IT (τεχνητή νοημοσύνη) των τεχνολογικών συστημάτων μπορούν να παρέχουν ταυτόχρονα τα δεδομένα που χρειάζεται η έρευνα αλλά και τη θεραπεία στους ασθενείς. Οι ασθενείς αυτοί είναι κατά αρχάς ενήμεροι για τη παροχή προσωπικών δεδομένων αλλά και βιολογικών δειγμάτων, τα οποία θα είναι το αντικείμενο της έρευνας. Οι ερευνητές θα εντοπίσουν νέα ευρήματα από τα δεδομένα των δειγμάτων που θα έχουν παρθεί, τα οποία σε συνδυασμό με το ψηφιακό φαινότυπο, το οικογενειακό ιστορικό αλλά και το περιβάλλον που ζουν οι ασθενείς θα μπορέσουν να τα εντάξουν στη νέα αυτή μορφή θεραπείας. Οι κλινικοί ιατροί εφαρμόζουν τις γνώσεις που προσφέρει η Ιατρική της ακρίβειας από τα κλινικά εργαστήρια [71-73].

Η ένταξη των δεδομένων των genomics στη βάση ενός διαρκώς αναπτυσσόμενου υγειονομικού συστήματος είναι ένας τρόπος να εκμεταλλευτεί η επιστημονική κοινότητα τη πλήρη δυνατότητα αξιοποίησης της πληροφορίας για την βελτιστοποίηση της φροντίδας του ασθενούς. (Σχήμα 12) [74,75].

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)



Σχήμα 12. Ένταξη δεδομένων γενωμικής.

(Roundtable on Translating Genomic-Based Research for Health; Board on Health Sciences Policy; Institute of Medicine. Genomics-Enabled Learning Health Care Systems: Gathering and Using Genomic Information to Improve Patient Care and Research: Workshop Summary. National Academies Press; Washington, DC: 2015).

Σε ένα τέτοιο σύστημα, η κλινική εφαρμογή και η έρευνα είναι αλληλοσυμπληρούμενα πεδία. Ο στόχος τους είναι η αναβάθμιση της αποτελεσματικότητας της πρόληψης της νόσου, της διάγνωσης και της θεραπείας. Το σύστημα υγείας θα πρέπει να παρέχει στους ιατρούς τα κατάλληλα εργαλεία και συστήματα, τα οποία θα μπορούν να τους δώσουν σημαντικές πληροφορίες για τη λήψη της καλύτερης αγωγής. Η τεχνολογική κοινότητα που παρέχει τις ιατρικές πληροφορίες θα πρέπει να σχεδιάσει ασφαλή και διαλειτουργικά συστήματα γενωμικών πληροφοριών με σκοπό την εφαρμογή τους στον τομέα της υγείας [7,30].

Τρεις πλατφόρμες συγκεντρώνονται στο σύστημα υγείας: η **ψηφιακή υγεία**, η **ανάλυση των δεδομένων** και η **Ιατρικής της ακρίβειας**. Η συλλογή μεγάλης κλίμακας δεδομένων (βιολογικών, ακτινοσκοπικών και μεταφρασμένων βιοπληροφοριών) συγκεντρώνονται από τις ψηφιακές συσκευές και από τις πληροφορίες των -omics (genomics, metabolomics, proteomics) βάσει έρευνας και κλινικής εφαρμογής. Χρησιμοποιώντας πλήρως αυτά τα πολυδιάστατα δεδομένα (τα συγκεντρωμένα στοιχεία, τις αναλύσεις, τις διεπιστημονικές υπολογιστικές τεχνικές π.χ. τροποποίηση του υπολογισμού της συσκευής, η γλώσσα προγραμματισμού και τεχνητή νοημοσύνη) που είναι απαραίτητα στο σχεδιασμό των τυποποιημένων μεθόδων. Η εφαρμογή αυτών των αναλυτικών μεθόδων στο υγειονομικό σύστημα μπορεί να επιτρέψει στους επιστήμονες τη δημιουργία νέων μορφών θεραπείας που θα είναι πιο εύχρηστες και αποτελεσματικότερες [7,30].

Για την επιλογή κατάλληλης θεραπείας με ένα ή περισσότερα αντιφλεγμονώδη, ο ιατρός πρέπει πρώτα να έχει πρόσβαση στο γενετικό προφίλ του εκάστοτε ασθενή.

Καθώς έχει το γενετικό προφίλ μπορεί να πάρει τη κατάλληλη απόφαση για το πόσα και ποιά αντιφλεγμονώδη θα χρησιμοποιήσει στον πάσχοντα. Για παράδειγμα, οι θεραπείες με αντιφλεγμονώδη όπως η χορήγηση αντισωμάτων (anti IL-6), αντι-TNF ή anti IL-1b, θεωρούνται ότι επιδρούν θετικά στις φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η νόσος Crohn [7,30,76,78].

3.3 ΦΑΡΜΑΚΟΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

Όπως ελέχθη, οι γενετικοί πολυμορφισμοί σε κάποια συγκεκριμένα μόρια επηρεάζουν τη φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική ικανότητα των ουσιών που ονομάζονται γενικά βιοδείκτες:

Ο «βιολογικός δείκτης» ή αλλιώς βιοδείκτης (biomarker) είναι: *«Το μετρήσιμο χαρακτηριστικό που παράλληλα μπορεί να αξιολογηθεί αντικειμενικά ως δείκτης για τις φυσιολογικές διεργασίες του οργανισμού, για τις παθολογικές διεργασίες ή για το βαθμό ανταπόκρισης του οργανισμού στη χορήγηση φαρμάκου»*. (Biomarkers Definition Working Group των FDA/NIH (National Institutes of Health, Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας των Η.Π.Α) [79].

Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs), οι μικρές επαναλήψεις των αλληλουχιών (STRs), οι διαγραφές, οι προσθήκες ή άλλες διαφορές στην αλληλουχία του DNA ανήκουν στην ομάδα των DNA βιοδεικτών. Εξ αιτίας της δυνατότητας που προσφέρει η τεχνολογία των μοριακών βιολογικών εργαστηρίων, έχει παρατηρηθεί ότι ο πιο συχνός τύπος πολυμορφισμών είναι οι SNPs. Στις περισσότερες εργαστηριακές μελέτες οι SNPs έχουν 2 αλληλόμορφα που οδηγούν σε 3 τύπους γονοτύπων [80].

Παρατηρούνται σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους DNA βιοδείκτες, στους καρκινικούς βιοδείκτες και στους γενικούς βιοδείκτες, οι οποίες προκύπτουν από το γεγονός ότι το DNA είναι σταθερό σε όλη του τη ζωή. Οι DNA βιοδείκτες είναι επαναμετρήσιμοι και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μελλοντικές ή αναδρομικές μελέτες. Συγκεκριμένα οι DNA βιοδείκτες μπορούν να επικυρωθούν μελλοντικά αν τοποθετηθούν σε βιο-τράπεζες δηλαδή εξετάσεις όπου η κλινική πληροφορία έχει ήδη εκτιμηθεί.

Κάποια βασικά χαρακτηριστικά των βιοδεικτών περιγράφει ο Πίνακας 1.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά βιοδεικτών

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

Όρος	Ερμηνεία
Βιοδείκτης	Το χαρακτηριστικό, το οποίο μπορεί αντικειμενικά να μετρηθεί και να αποτελεί δείκτης της βιολογικής διεργασίας, της νόσου ή της απόκρισης στη θεραπεία του ασθενή [79].
Καρκινικός βιοδείκτης	Ο δείκτης, ο οποίος είναι παρών στο καρκινικό ιστό ή στον ορό του αίματος και περιλαμβάνει πολλά μόρια όπως DNA, mRNA ή πρωτεΐνες. Η μέτρηση των καρκινικών βιοδεικτών γίνεται στο καρκινικό ιστό, ενώ οι καρκινικοί DNA βιοδείκτες μετριοούνται από το καρκινικό ιστό.
Κλινικό αποτέλεσμα	Το χαρακτηριστικό ή ένδειξη, η οποία περιγράφει το πώς αισθάνεται ο ασθενής, τις επιπλοκές της νόσου και το ποσοστό θνησιμότητας [79].
Αποτελεσματικός βιοδείκτης	Ο βιοδείκτης, ο οποίος εμφανίζει αποτελεσματικότητα και μεγάλο ποσοστό ασφάλειας προς την θεραπευτική αγωγή [81].
CNV βιοδείκτες	Οι βιοδείκτες των γενετικών πολυμορφισμών, οι οποίοι δείχνουν ποιο τμήμα του DNA απουσιάζει ή παρουσιάζει αντίγραφα.
Διαγνωστικός βιοδείκτης	Ο βιοδείκτης που σχετίζεται με τη διάγνωση ή τη κρισιμότητα της νόσου. Οι πιο σημαντικοί διαγνωστικοί βιοδείκτες είναι αυτοί που εφαρμόζονται στα διαγνωστικά κέντρα.
Βιοδείκτης της νόσου	Ο βιοδείκτης, ο οποίος σχετίζεται άμεσα με το κλινικό αποτέλεσμα ή με την κατάσταση της νόσου [82].
DNA βιοδείκτης	Οι βιοδείκτες αυτοί αφορούν τους πολυμορφισμούς του DNA π.χ τους SNPs (μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμοί), τους STRs (πολυμορφισμοί στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων), την απώλεια, τη πρόσθεση ή κάποια άλλη τροποποίηση της αλληλουχίας του DNA.
Αποτελεσματικός βιοδείκτης	Ο βιοδείκτης, ο οποίος έχει την ικανότητα πρόβλεψης της αποτελεσματικότητας της χορηγούμενης θεραπείας [82].
Επιγενετικός βιοδείκτης	Ο βιοδείκτης, ο οποίος μπορεί να υποδείξει τις επιγενετικές μεταλλάξεις π.χ τη μεθυλίωση του DNA, τη μεθυλίωση και την ακετυλίωση των ιστονών, τα microRNAs ή κάποια άλλα μη κωδικοποιημένα τμήματα του RNA [83].
Βιοδείκτης παρακολούθησης της νόσου	Ο βιοδείκτης που ελέγχει και παρακολουθεί την αποτελεσματικότητα ή τις παρενέργειες της θεραπείας.
Προγνωστικός βιοδείκτης	Ο βιοδείκτης που προβλέπει τη πιθανή εξέλιξη της νόσου με βάση ένα συγκεκριμένο πληθυσμό, ο οποίος λαμβάνει την ίδια μορφή θεραπείας.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

Προβλεπτικό σχέδιο	Αφορά προβλεπτικές εξετάσεις συμπεριλαμβανομένου και πολλών βιοδεικτών.
Προβλεπτικός βιοδείκτης	Ο βιοδείκτης που προβλέπει το βαθμό απόκρισης στη θεραπεία. Η απόκριση στη θεραπευτική αγωγή ουσιαστικά αφορά την αποτελεσματικότητα ή την ασφάλεια του ασθενή [84].
Προβλεπτικές εξετάσεις	Έχει δύο ορισμούς: 1) Το τεστ, το οποίο θα εξετάσει το ενδεχόμενο η νόσος να εξελιχθεί στο άτομο μεμονωμένα. 2) Το τεστ, το οποίο μπορεί να διακρίνει τη διαφορά στα άτομα τα οποία μπορεί να προσβληθούν από τη νόσο και σε αυτά που δεν θα νοσήσουν [85].
Πρόβλεψη κινδύνου	Ομάδες αξιόπιστων τεστ που μπορούν να κάνουν πρόγνωση για την εξέλιξη της νόσου ή για την επίτευξη του τελικού κλινικού σταδίου.
Βιοδείκτης ασφάλειας	Οι βιοδείκτες, οι οποίοι παρουσιάζουν αντίστροφη απόκριση στη χορηγούμενη θεραπεία. Οι τοξικοί βιοδείκτες είναι χαρακτηριστικά παραδείγματα των βιοδεικτών αυτών [86].
Βιοδείκτες ελέγχου	Ο βιοδείκτης που μπορεί να διακρίνει τα υγιή άτομα και τα άτομα τα οποία βρίσκονται στα πρώτα στάδια της νόσου, ενώ οι εξεταζόμενοι είναι όλοι ασυμπτωματικοί [82].
Βιοδείκτες ταξινόμησης	Οι βιοδείκτες που μπορούν να ταξινομήσουν τα στάδια της χρόνιας νόσου [82].
Ενδεικτικοί βιοδείκτες	Ο βιοδείκτης, ο οποίος θεωρείται αξιόπιστη πηγή πληροφορίας για το τελικό κλινικό στάδιο. Επιλέον με τη χρήση του προβλέπεται το επιθυμητό κλινικό αποτέλεσμα [79,82].
Βιοδείκτης στόχου	Ο βιοδείκτης που ανταποκρίνεται στις αλληλεπιδράσεις του φαρμάκου-στόχου [82].
Βιοδείκτης τοξικότητας	Ο βιοδείκτης που δείχνει την επίδραση της τοξικότητας του φαρμάκου (in vivo/in vitro) [82].

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432208/?report=reader>)

Γενικά οι **DNA βιοδείκτες** είναι *ευκολότερα μετρήσιμοι* από τους καρκινικούς και γενικούς βιοδείκτες. Επιπλέον είναι *πιο διαχειρίσιμοι*, η *εξέταση του δείγματος κοστίζει λιγότερο*, είναι *συντομότερη* και η *δημιουργία πρωτοκόλλου αποθήκευσης τους είναι απλούστερη* από αυτή των καρκινικών και γενικών βιοδεικτών. Όμως και οι βιοδείκτες του DNA έχουν και αυτοί κάποια **μειονεκτήματα**, όπως:

Πρώτον, λόγω της *μη μεταβολής* τους σε όλη τους τη ζωή **δεν** μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην εξέταση επιπέδων φαρμάκων στο αίμα, στο τομέα της φαρμακοδυναμικής ή ως ενδεικτικοί βιοδείκτες. Το δεύτερο μεγάλο πρόβλημα έχει να κάνει με την

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

«ανθεκτικότητα» τους ως δείκτες ανακάλυψης νέων DNA βιοδεικτών εξ αιτίας της συχνής τους επανεμφάνισης στα προϊόντα του κυτταρικού κύκλου. Αν ένας καρκινικός βιοδείκτης για παράδειγμα, μετρηθεί σε μία βιοψία είναι πιθανόν το ένα δείγμα να είναι φυσιολογικό και ένα άλλο να είναι σε παθολογική κατάσταση. Και με τη μέτρηση του λάθους δείγματος βιοδείκτη να οδηγήσει σε λανθασμένο χειρισμό της θεραπείας ή της διάγνωσης. Σε αντίθεση με τους γενικούς βιοδείκτες (π.χ αυτοί που μετρούνται στο πλάσμα) έχουν σταθερές τιμές από την αρχή της μέτρησης τους.

Οι διαφορές τους περιγράφονται συνοπτικά στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Διαφορές βιοδεικτών			
Χαρακτηριστικά	DNA βιοδείκτες	DNA καρκινικοί βιοδείκτες	Γενικοί βιοδείκτες
Επίπεδο μέτρησης	Διακρίνονται σε SNPs, σε ένα από τους 3 διαφορετικούς γονότυπους ανά αντικείμενο.	Διακρίνονται αν το γονίδιο παρουσιάζει πολυμορφισμό ή όχι.	Δεν διαχωρίζονται. Οι συγκεντρώσεις του RNA, των πρωτεϊνών και των μεταβολιτών μπορούν να πάρουν όλες τις θετικές τιμές.
Σταθερότητα, επαναληψιμότητα	Ναι	Μη απαραίτητη όσο οι πολυμορφισμοί εμφανίζονται σε διαφορετικά μέρη του όγκου.	Μόνο σε συγκεκριμένο στάδιο της νόσου.
Χρήσιμοι για την διαδικασία ελέγχου	Όχι	Ναι	Ναι
Χρήσιμοι στη φαρμακοδυναμική	Όχι	Ναι	Ναι
Χρήσιμοι ως αντικαταστάτες	Όχι	Όχι, γενικά	Ναι
Επίπεδο δυσκολίας της μέτρησης	Χαμηλό	Υψηλό	Υψηλό
Χρόνος που απαιτείται για τη μέτρηση όπως:	Χαμηλό	Υψηλό	Υψηλό

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

η λήψη δείγματος και η διαδικασία της προετοιμασίας			
Χρόνος μέτρησης	Δεν χρειάζεται να διευκρινιστεί.	Πρέπει να διευκρινιστεί προκαταβολικά.	Πρέπει να διευκρινιστεί προκαταβολικά.
Εγκυρότητα αναδρομικής εξέτασης του βιοδείκτη	Ναι	Όχι	Όχι
Αντοχή στο τεστ του τελικού βιοδείκτη	Μικρή έως μεγάλη.	Μεσαία έως και μεγάλη.	Μεσαία έως και μεγάλη.
Σχεδιασμός έρευνας	Αναδρομική ή μελλοντική.	Αναδρομική μόνο.	Αναδρομική μόνο.
Οι βιοδείκτες του DNA μπορούν να μετρηθούν στο αίμα, οι καρκινικοί βιοδείκτες μετρούνται στο καρκινικό ιστό και οι γενικοί βιοδείκτες μετρούνται στα βιολογικά υγρά, στους ιστούς ή στις κυτταρικές σειρές.			

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432208/?report=reader>)

3.3.1 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ

Οι πιο σημαντικοί βιοδείκτες στα διαγνωστικά τεστ (Πίνακας 3), έχουν την ιδιότητα του διαχωρισμού των υγιών ατόμων και των ατόμων που βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο της νόσου. Για παράδειγμα τα test που διατείθονται όπως το POCT, το Rheuma-Chec, το CCPoint, η δοκιμασία ορού για αντισώματα έναντι της τροποποιημένης κίτρουλλινωμένης βιμεντίνης (MCV) ή των κίτρουλλινωμένων πεπτιδίων/πρωτεϊνών (anti-CCP antibodies) και το test anti-CCP χρησιμοποιούνται για τη ανίχνευση της ασυμπτωματικής αρθρίτιδας και αφορούν τους φαινομενικά μη πάσχοντες ανθρώπους [87].

Εάν η διάγνωση είναι έγκυρη, τότε οι προγνωστικοί βιοδείκτες έχουν τη δυνατότητα πρόβλεψης της εξέλιξης της νόσου σε ένα ορισμένο πληθυσμό και υπό τη χορήγηση συγκεκριμένης μορφής θεραπείας. Ένα παράδειγμα είναι το MammaPrint, στο οποίο ο καρκινικός βιοδείκτης για το μαστό χρησιμοποιείται μετά τη χειρουργική επέμβαση για να υποδείξει αν θα παρουσιαστεί αργότερα μετάσταση και να οδηγήσει τον ιατρό σε χορήγηση συγκεκριμένης μορφής θεραπείας για τον κάθε ασθενή ξεχωριστά [88]. Οι προβλεπτικοί βιοδείκτες υπολογίζουν το βαθμό απόκρισης (αποτελεσματικότητα και ασφάλεια) του ασθενή στη χορηγούμενη θεραπεία, βάσει του καλύτερου κλινικού αποτελέσματος που μπορεί επιτευχθεί (Πίνακας 3). Για παράδειγμα ο οργανισμός

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

Genome-Wide Association Studies – GWAS διενέργησε μία έρευνα το 2011, όπου χώρισε το πληθυσμό σε 3 ανεξάρτητες ομάδες (Βόρειο-Αμερικάνοι, Αυστραλοί/ Βόρειο-Ευρωπαίοι και Ιάπωνες) και προέκυψε ότι το γονίδιο IL28B αποτελεί έναν ισχυρό δείκτη απόκρισης της θεραπείας σε άτομα που πάσχουν από ηπατίτιδα C τύπου 1 (HCV-1) [89]. Επιπλέον στην έρευνα αποδείχθηκε ότι υπάρχει κατηγοριοποίηση των τύπων του γονιδίου IL28B εξού και η μεγάλη ποικιλία των φαρμακευτικών αποκρίσεων στις θεραπείες ανά εθνικότητα. Συγκεκριμένα η Καυκάσια φυλή έχει το γονίδιο της «καλής απόκρισης» άρα και μεγάλες πιθανότητες ίασης. Το γεγονός αυτό αναφέρεται στον Ανεπίσημο Οδηγό Θεραπείας του HCV, στον οποίο σημειώνεται ότι η θεραπεία με χρήση εξειδικευμένων αναστολέων θα αποφέρει λιγότερα επιθυμητά αποτελέσματα σε άτομα με το γονίδιο της «κακής απόκρισης» ή της Αφρικανικής καταγωγής [90].

Στο Πίνακα 3 περιγράφονται συνοπτικά οι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται σήμερα.

Πίνακας 3 - Χρήσεις βιοδεικτών							
Όνομα	Τύπος	Εύρος της εφαρμογής	Εμπορική χρήση	Ένδειξη	Στάδιο μέτρησης	Αποτέλεσμα	Πηγές
Blue Print	DNA tumor	Πρόβλεψη	Ναι	Καρκίνος μαστού	Γνωστό, διάγνωση μετά το χειρουργείο.	Αντιμετώπιση με μεμονωμένες θεραπείες.	Krijgsmann et al. 2012 [91].
EGFR	DNA tumor	Πρόβλεψη	PCO	Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα.	Γνωστό, διάγνωση πριν την έναρξη της πρώτης μορφής της θεραπείας.	EGFR TKI ή χημειοθεραπεία	Keedy et al. 2011 [92].
IL28B	DNA	Πρόβλεψη	-----	(HCV-1) Ηπατίτιδα Γ τύπου 1	Γνωστό, διάγνωση πριν τη θεραπεία.	Αντιμετώπιση με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη (Peg-IFN) σε συνδυασμό με (RBV).	Holmes et al. 2011 [89].
K-RAS	DNA tumor	Πρόγνωση	PCO	Καρκίνος του παχέος εντέρου.	Γνωστό, διάγνωση πριν την έναρξη της χημειοθεραπείας.	Θεραπεία με cetuximab	Karapetis et al. 2008 [93].

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

MammaPrint	DNA tumor	Πρόγνωση	Ναι	Καρκίνος του μαστού	Γνωστό, διάγνωση μετά το χειρουργείο	Ακριβές στάδιο και επιθετικότητα του όγκου	Buyse et al. 2011 [84].
OncoTypDX	DNA tumor	Πρόγνωση / πρόβλεψη	Ναι	ER-positive, HER2-negative Καρκίνος του μαστού και του κόλου	Γνωστό, διάγνωση μετά το χειρουργείο	Προτείνεται Χημειοθεραπεία	Buyse et al. 2011 [84].
RheumaCheck CCPoint assay	Γενικός	Διαγνωστικός	Ναι	Ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA)	Πριν την έναρξη των πρώτων συμπτωμάτων.	Πρώιμη θεραπεία για (RA)	Egerer et al. 2009 [87].
SLCO1B1	DNA	Πρόβλεψη	-----	Έμφραγμα μυοκαρδίου	Γνωστή διάγνωση πριν τη θεραπεία.	Η μείωση των δόσεων της στατίνης προκαλεί μυοπάθεια, παρακολούθηση.	Link et al. 2008 [69].

EGFR epidermal growth factor receptor (Υποδοχέας αυξητικού επιδερμικού παράγοντα), EGFR TKI EGFR tyrosine kinase inhibitor (αναστολέας της τυροσινικής κινάσης), ER estrogen receptor (υποδοχέας οιστρογόνου), HER2 hormone receptor (υποδοχέας ορμόνης),

K-RAS Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (Γικό ογκογονιδιακό ομόλογο που απομονώθηκε από Kirsten rat sarcoma), PCO provisional clinical opinion of the American Society of Clinical Oncology (προσωρινή κλινική συμβουλή της Αμερικανικής Εταιρείας Κλινικής Ογκολογίας)

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3432208/?report=reader>)

3.4 ΝΕΕΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Μόλις πρόσφατα άρχισαν να αξιοποιούνται και να εφαρμόζονται νέες αναλυτικές μέθοδοι, όπως η υγρή βιοψία που θα συμβάλλουν σημαντικά στην εξέλιξη της ιατρικής της ακρίβειας.

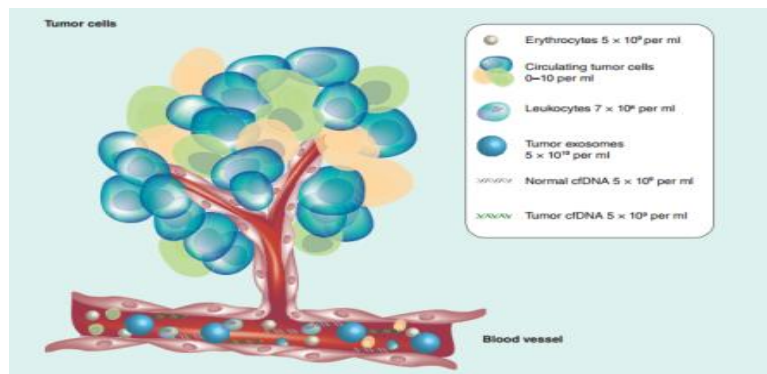
3.4.1 Υγρή βιοψία

Ο καρκίνος του πνεύμονα μπορεί να θεωρηθεί ως μία γενετική νόσος που προκαλείται από συγκεκριμένες μεταλλάξεις στο προφίλ του ασθενούς. Αυτή τη μοριακή πληροφορία την λαμβάνουμε από ιστολογικές βιοψίες ή από χειρουργικά δείγματα. Η παρακολούθηση των όγκων και της νόσου αξιολογούνται σήμερα από τα κλινικά και ακτινοσκοπικά ευρήματα. Ωστόσο, δεν είναι πάντοτε δυνατό να αποκτηθεί αρκετό υλικό βιοψίας λόγω της επεμβατικής φύσης της διαδικασίας και της κακής κατάστασης των ασθενών.

Τα υπό εξέταση δείγματα των όγκων σπάνια προσφέρουν μία καθαρή εικόνα της εξέλιξης της νόσου και συχνά εμφανίζουν ετερογένεια τόσο σε ιστολογικό όσο και σε γενετικό επίπεδο. Ο όρος «υγρή βιοψία» αναφέρεται σε εξέταση αίματος που χρησιμοποιείται αυστηρά για την απομόνωση και τον χαρακτηρισμό των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων (CTCs) βάσει των κυτταροπαθολογικών τους χαρακτηριστικών. Υπάρχουν τρεις κύριες πηγές καρκινικών DNA και RNA που μπορούν να αξιολογηθούν στη κυκλοφορία μίας μη επεμβατικής προσέγγισης:

- Τα ctDNA [94,95].
- Τα CTCs [96,97].
- Τα κυκλοφορούντα εξωκυτταρικά κυστίδια (εξωσώματα) [96,97].

Ο όρος ctDNA αναφέρεται σε κυκλοφορούντα θραύσματα του καρκινικού DNA που είναι ανιχνεύσιμα στην κυκλοφορία ως «γυμνά» νουκλεϊκά οξέα. Ο όρος CTCs αναφέρεται στα κύτταρα που χαρακτηρίζονται τόσο από τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες όσο και από επιφανειακά τους μόρια που τα καθιστούν ευαίσθητα στην απομόνωση από το αίμα. Τα εξωσώματα είναι εξωκυτταρικά κυστίδια που περιέχουν RNA, θραύσματα DNA, πρωτεΐνες και μεταβολίτες και απελευθερώνονται από διάφορους τύπους κυττάρων (Εικόνα 5).

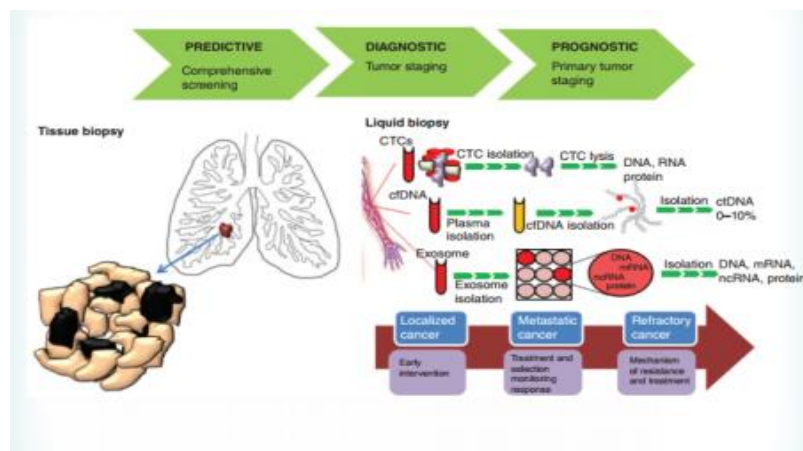


Εικόνα 5. Πρωτογενείς όγκοι.

(https://www.researchgate.net/figure/The-primary-tumors-or-metastasis-are-a-composite-of-genetically-heterogeneous-cancer-and_fig1_305041776)

Τα CTCs αντιπροσωπεύουν ένα υποσύνολο καρκινικών κυττάρων που εγκαταλείπουν την κύρια και μεταστατική περιοχή του όγκου και μεταφέρονται μέσω της κυκλοφορίας σε μακρινά όργανα [98]. Ως εκ τούτου, τα CTCs αποτελούν τη βασική προϋπόθεση για την εμφάνιση μεταστάσεων.

Τα CTCs έχουν διαγνωστεί σε ένα ευρύ φάσμα επιθηλιακών καρκίνων και μελέτες που αφορούσαν την απομόνωσή και το χαρακτηρισμό τους βοήθησαν στη κατανόηση της παθοφυσιολογίας του καρκίνου του πνεύμονα. Εκτός από τις βιολογικές μελέτες στα CTCs, έχουν διεξαχθεί κλινικές μελέτες και δοκιμές, υποδεικνύοντας υποσχόμενες εξελίξεις στο τομέα της θεραπείας των ασθενών. Οι κλινικές εφαρμογές των CTCs περιλαμβάνουν την αναγνώριση προγνωστικών, προβλεπτικών και φαρμακοκινητικών βιοδεικτών (Εικόνα 6). Επιπλέον, η συνεχής παρακολούθηση (real-time) των γονότυπων των CTCs μπορούν να αναδείξουν μια νέα μη επεμβατική μέθοδος εντοπισμού νέων βιοδεικτών, που σχετίζονται με το βαθμό ευαισθησίας του φαρμάκου και της αντίστασης [99-106].



Εικόνα 6. Κύρια στάδια βιοψίας ιστού και υγρής βιοψίας

(https://www.researchgate.net/figure/Main-aspects-of-conventional-tissue-biopsy-and-liquid-biopsy-Tumor-tissue-represents-the_fig2_305041776)

Η σχέση μεταξύ του αριθμού των CTCs και της πρόγνωσης σε ασθενείς με μεταστατική νόσο έχει παρουσιαστεί τόσο σε νοσούντες με NSCLC όσο και με SCLC, βασιζόμενοι στα ποσοστά της ελεύθερης επιβίωσης και της ολικής [107-110].

Ο μοριακός και γενετικός χαρακτηρισμός των CTCs μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως μια μορφή μη επεμβατικής «υγρής βιοψίας». Ο προσδιορισμός του προφίλ των CTCs μπορεί να παρέχει κρίσιμες πληροφορίες σχετικά με τα γενοτυπικά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ενός όγκου χωρίς την ανάγκη της επεμβατικής βιοψίας. Πιο ενδιαφέρον, εκτός από την ανίχνευση των μεταλλάξεων είναι ότι η ανάλυση των CTCs εξετάζει το βαθμό της ανθεκτικότητας των φαρμάκων κατά τη διάρκεια της θεραπείας και έτσι μπορεί να ανιχνεύει τις τυχόν μεταλλάξεις που προκαλούν την αντίσταση στα φάρμακα.

Παρά το σημαντικό πλεονέκτημα ότι είναι μία ημι-αυτοματοποιημένη και υψηλά αναπαραγώγιμη μέθοδος, όλες οι ανοσολογικοί μέθοδοι έχουν περιορισμό εξ αιτίας της ενδογενούς ποικιλομορφίας των κοινών επιθηλιακών ειδικών δεικτών που χρησιμοποιούνται μέσω της έκφρασης τους στα CTCs σε διαφορετικά επίπεδα και φάσεις της νόσου [111]. Παρ' όλα αυτά, αυτές οι νέες συσκευές μικροκυκλοφορίας των CTCs δεν έχουν πλήρως επικυρωθεί μέχρι σήμερα όσον αφορά την ειδικότητα, την αναπαραγωγικότητα και την κλινική σημασία.

Η βασική υπόθεση είναι ότι κατά την αύξηση του όγκου παρατηρείται αυξημένη δραστηριότητα του κυτταρικού κύκλου. Αυτό ενισχύει την απόπτωση και τις διαδικασίες νέκρωσης των κυττάρων και οδηγεί στη συσσώρευση καρκινικών κυτταρικών υπολειμμάτων. Έτσι το καρκινικό DNA μπορεί να διαπεράσει το κύτταρο και να βγει στη κυκλοφορία [112]. Η «αποβολή» του καρκινικού DNA ουσιαστικά φαίνεται να είναι ένα παθολογικό φαινόμενο. Είναι κοινώς αποδεκτό ότι η αποπτωτική διαδικασία της πρωτογενούς μάζας του όγκου αντιπροσωπεύει τη σημαντικότερη πηγή του κλάσματος του ctDNA. Η υπόθεση αυτή βασίζεται από την παρατήρηση ότι το μεγαλύτερο μέρος του ctDNA περιέχει θραύσματα που είναι πολλαπλάσια μήκους 180-185 ζευγών βάσεων, χαρακτηριστικό μέγεθος DNA στην απόπτωση [113].

Η ποσότητα του ctDNA επηρεάζεται από την εξέλιξη του όγκου, τον κύκλο ζωής και το μέγεθος του όγκου καθώς και από την κάθαρση, την αποδόμηση και το φιλτράρισμα από το αίμα και την λεμφική κυκλοφορία. Επιπλέον ο χρόνος ημίσειας ζωής μπορεί να είναι διαφορετικός ανάλογα με τον μηχανισμό απελευθέρωσης [114].

Το κύριο πλεονεκτήματα του ctDNA είναι η εξαγωγή του από το αίμα, η δυνατότητα εύκολης απομόνωσης των CTCs και δεν απαιτούνται ειδικές συσκευές. Η αξιολόγηση της ανάλυσης μπορεί να γίνει από τα βιολογικά υγρά (π.χ το κατεψυγμένο πλάσμα). Οι πιο κοινές μέθοδοι εκχύλισης του ctDNA είναι τα εμπορικά διαθέσιμα kit εκχύλισης στήλης spin (spin column extraction kits) [115]. Άλλες μέθοδοι εκχύλισης περιλαμβάνουν μαγνητικά σφαιρίδια, εκχύλιση με φαινόλη / χλωροφόρμιο και αλκαλικό άλας [116-118]. Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης του ctDNA παραμένει μία δύσκολη

τεχνική επειδή τα επίπεδα του ctDNA είναι συχνά εξαιρετικά χαμηλά και μπορούν να επηρεάσουν άμεσα το αποτέλεσμα της ανίχνευσης της μετάλλαξης.

Πρόσφατη μελέτη από το Marchetti, έδειξε ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της ανίχνευσης της μετάλλαξης, του αριθμού των αντιγράφων του *EGFR* κατά τις πρώτες ημέρες της θεραπείας και της κλινικής απόκρισης σε θεραπείες TKI με σχετικές επιπτώσεις στη διαχείριση της θεραπείας του NSCLC [119-120].

Όλα αυτά τα θετικά αποτελέσματα και οι αποδείξεις των ερευνών που συνδυάζουν το μοριακό προφίλ του ctDNA και τη περιοχή του όγκου οδήγησαν στην έγκριση της εξέτασης του ctDNA για μεταλλάξεις του EGFR ως προς την **γεφτινίμπη (gefitinib)**. Πιο συγκεκριμένα στην Ευρώπη σε ασθενείς στους οποίους ένα δείγμα του όγκου δεν αξιολογήθηκε σωστά δημιουργήθηκε από τους επιστήμονες ο πρώτος αναστολέας του EGFR-TKI που ανιχνεύεται από την εξέταση του ctDNA [120-122]. Το ctDNA θα μπορούσε να αποτελέσει χρήσιμη πηγή μοριακού προφίλ σε ασθενείς με θετικό ALK στο NSCLC, οι οποίοι παρουσίαζαν μεταστάσεις κατά τη πορεία της θεραπείας με κριζοτινίμπη (**cryzotinib**) [123-124]. Οι επιγενετικές αλλοιώσεις είναι ένα συχνό φαινόμενο στο NSCLC, που μπορεί να ανιχνευθεί με τεχνικές στα θραύσματα ctDNA, βασιζόμενες στη κατάσταση της μεθυλίωσης που βρίσκεται ο ίδιος ο όγκος. [125-127]. Τα αποτελέσματα των ερευνών στις μεταβολές των μεθυλιωμένων γονιδίων στο ctDNA των ασθενών με NSCLC, έδειξαν ότι η υπερμεθυλίωση πολλαπλών γονιδίων έπαιξε σημαντικό ρόλο στην παθογένεση NSCLC και ότι τα μεθυλιωμένα γονίδια στα ctDNA μπορεί να είναι δυνητικά υποψήφιοι βιοδείκτες για την ανίχνευση NSCLC [128-132]. Ωστόσο, η μέτρηση της μεθυλίωσης του DNA δείχνει μικρότερη ειδικότητα από την ανίχνευση γονιδιωματικών αλλοιώσεων, λόγω των αλλαγών μεθυλίωσης που συχνά ανιχνεύονται στον όγκο που περιβάλλει τους φυσιολογικούς ιστούς [133].

Όπως και στα κύτταρα, τα εξωσώματα αποτελούνται από μια λιπιδική διπλοστιβάδα και μπορούν να περιέχουν μοριακά συστατικά ενός κυττάρου, όπως πρωτεΐνες σήματος ή και πεπτιδίων, RNA, DNA και λιπιδίων [134,135]. Το RNA τους περιλαμβάνει miRNAs, mRNA και πρόσθετα δομικά και μη κωδικοποιημένα RNAs [136,137]. Ο ακριβής ρόλος των εξωσωμάτων παραμένει άγνωστος.

Πέραν του φυσιολογικού τους ρόλου, έχουν αποδειχθεί ότι τα εξωσώματα αυξάνονται σε ποσότητα και σε ετερογένεια στις παθολογικές καταστάσεις. Όπως στο αίμα των ασθενών με καρκίνο, που περιέχει περίπου 4000 τρισεκατομμύρια ετερογενή εξωσώματα, σε σύγκριση με τα 2000 τρισεκατομμύρια που ανιχνεύονται σε φυσιολογικά άτομα [138].

Με βάση τα δεδομένα αυτά, η δυνατότητα των καρκινικών εξωσωμάτων να απομονώνονται από τη κυκλοφορία του αίματος των καρκινοπαθών αποτελεί μία καινοτόμο μορφή βιοδεικτών που μάλιστα έχει αυξηθεί ραγδαία τα τελευταία χρόνια. Πολλές μεθοδολογίες έχουν χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση και την ανάλυση των

εξωσωμάτων αλλά η εφαρμογή τους στη κλινική πράξη και στη τεχνολογική διαδικασία είναι το ζητούμενο.

Η ανάλυση των κυτταροκαλλιιεργειών και των σωματικών υγρών αποδεικνύει ότι τα εξωσώματα που προέρχονται από όγκο εκφράζουν πολλές πρωτεΐνες που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό, τη μετακίνηση και την εισβολή των καρκινικών κυττάρων και αυτό έχει αποτέλεσμα την ανάδειξη τους ως προγνωστικούς και διαγνωστικούς βιοδείκτες [139].

Εκτός από τις μοριακές πληροφορίες, τα εξωσώματα προσφέρουν καλύτερη κατανόηση της παθολογίας και εξέλιξης του καρκίνου του πνεύμονα.

Συμπερασματικά, οι υγρές βιοψίες αντιπροσωπεύουν μια νέα γενιά βιοδεικτών. Παρόλα αυτά υπάρχουν σημαντικές δυσκολίες στις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τη σύλληψη, την απαρίθμηση και τη μοριακή ανάλυση των CTCs, cfDNA και των εξωσωμάτων. Η μελλοντική εφαρμογή της υγρής βιοψίας θα συμβάλλει στην αποτελεσματικότητα αυτών των τριών διαφορετικών μη επεμβατικών πηγών νουκλεϊνικού οξέος και στη παρουσίαση ενός εφαρμόσιμου τρόπου φροντίδας του ασθενούς, ιδίως στον τομέα της εξατομικευμένης ιατρικής [140].

3.4.2 Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΩΝ/ΠΡΟΒΛΕΠΤΙΚΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

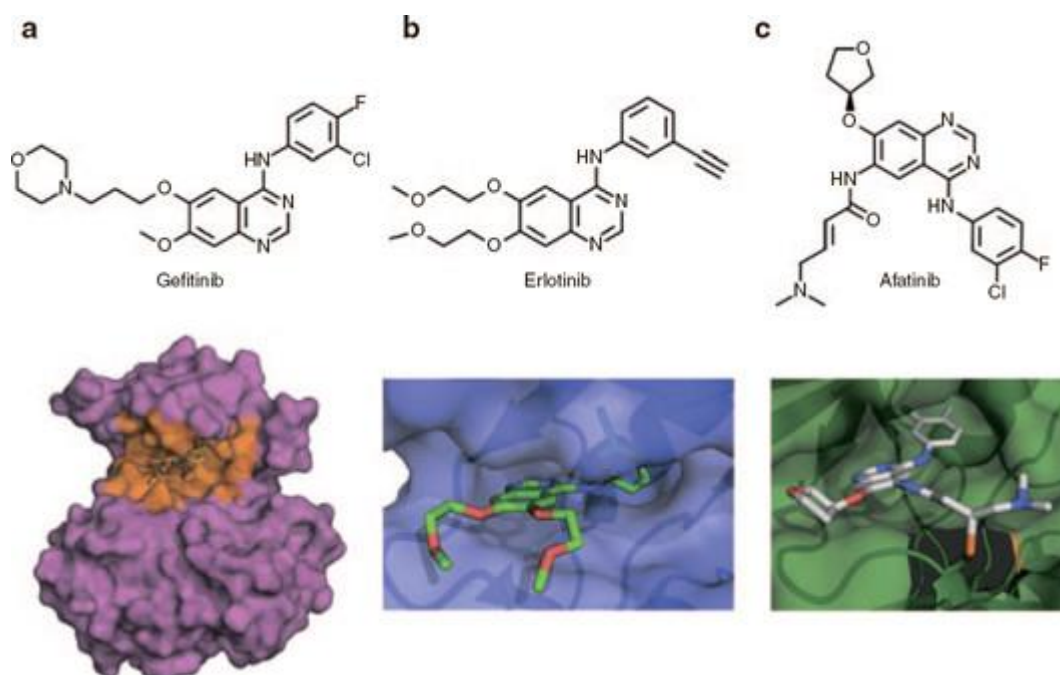
Έχοντας γνώση οι επιστήμονες από την πρωτοποριακή χρήση του αντισώματος του HER2 (**trastuzumab**) κατά του καρκίνου του μαστού, την εφαρμογή του αναστολέα του BCR-ABL1 (**imatinib**) κατά της χρόνιας μυελολογενούς λευχαιμίας, των αναστολέων της κινάσης του EGFR (**gefitinib & erlotinib**) κατά του μη-μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (Σχ.4), τις νέες έρευνες που αφορούν τη χρήση του αναστολέα του BRAF (**vemurafenib**) κατά του μελανώματος, και του διπλού αναστολέα των ALK-MET (**crizotinib**) κατά του μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα [141,142], κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο κατάλληλος σχεδιασμός και η σωστή χρήση των αναστολέων των κινάσων για τον καρκίνο, είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με την ανίχνευση των προβλεπτικών βιοδεικτών των ασθενών. Όσο αφορά την εξατομικευμένη θεραπεία κατά του καρκίνου, οι συνοδευτικές διαγνωστικές εξετάσεις μεταπήδησαν στη πρώτη γραμμή της στοχευμένης θεραπευτικής αγωγής που θα πρέπει να ακολουθήσει ο ασθενής. Δηλαδή για το σχεδιασμό της θεραπευτικής αγωγής, οφείλει το ιατρικό προσωπικό να πορευθεί με γνώμονα το μοριακό προφίλ του ιστού του κάθε ασθενούς [142].

Κάτι που δεν είναι ευρέως γνωστό, είναι ύπαρξη άλλων κλινικών εφαρμογών στη μοριακή διαγνωστική εξέταση όσον αφορά την ογκολογία. Για παράδειγμα, ο μοριακός χαρακτηρισμός της λευχαιμίας και του λεμφώματος είναι σημαντικό μέρος της διάγνωσης όπως και άλλες μοριακές ανωμαλίες που έχουν συμπεριληφθεί στη λίστα

ταξινόμησης των αιματολογικών κακοηθειών [143] του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Παρομοίως η μοριακή ανάλυση του μαλακού ιστού του σαρκόματος αποδεικνύεται ως ένα σημαντικό εργαλείο για τη διαφοροποίηση της διάγνωσης. Οι αναλύσεις περιλαμβάνουν την εξέταση συγχώνευσης των γονιδίων SS18-SSX στο αρθρικό σάρκωμα, την αναδιάταξη του γονιδίου *EWSR1* στο σάρκωμα του Ewing και τη μοριακή ανίχνευση χρωμοσωμικής μετάθεσης *PAX3/7-FKHR* στο ραβδομυοσάρκωμα του πνεύμονα [144].

Μία ακόμη σημαντική δυνατότητα της μοριακής διαγνωστικής είναι η ανάλυση των προγνωστικών βιοδεικτών για τις σοβαρές κακοήθειες όπως η χρόνια λευκοκυτταρική λευχαιμία (π.χ οι μεταλλάξεις του TP53 [145,146], IGHV [147] και της έκφρασης του CLLU1 [148]), ο καρκίνος του μαστού (π.χ η ανίχνευση υποτροπής της νόσου μέσω του OncotypeDx και του Mammaprint, η ανοσοϊστοχημική μέθοδο IHC4 που μετράει την έκφραση του υποδοχέα του οιστρογόνου, του υποδοχέα της προγεστερόνης, του ανθρώπινου EGFR2/HER2 και του Ki67 [149-152]). Επίσης σημαντική είναι η μοριακή παρακολούθηση στην χρόνια μυελοειδή λευχαιμία, μέσω του προσδιορισμού της έκφρασης του *BCR-ABL1* [153,154] και στην οξεία παιδική λεμφοπλαστική λευχαιμία (ALL) με την αξιολόγηση των υποδοχέων των μεταλλαγμένων γονιδίων των ανοσοσφαιρίνων και T-λευκοκυττάρων [155,156].

Παρόλα αυτά, η αυξημένη ευαισθησία των τεστ μπορεί να οδηγήσει στην ανίχνευση «υποκλινικών» πολυμορφισμών, οι οποίοι υπάρχουν σε ένα μικρό αντίγραφο του DNA του καρκινικού κυττάρου και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα συμπεράσματα σε ότι αφορά το τρόπο θεραπείας. Για παράδειγμα, μία σημαντική μερίδα ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία και ενώ τα επίπεδα πολυμορφισμού του p.T790M του *EGFR* είναι χαμηλά έχουν μικρό ποσοστό επιβίωσης. Η περίπτωση αυτή ονομάζεται «gatekeeper mutation» και οδηγεί στη μείωση της δέσμευσης και της ανθεκτικότητας του φαρμάκου προς τους αναστολείς της τυροσινικής κινάσης (TKIs) gefitinib & erlotinib σε ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (μαζί με άλλες μεταλλάξεις του *EGFR* που προκαλούν ευαισθησία στα στελέχη αυτά) [157]. Η ανίχνευση της παρουσίας πολλών μεταλλάξεων στη βιοψία γίνεται ολοένα και πιο εμφανής ειδικά μετά την έλευση των υψηλής ευαισθησίας μεθόδων όπως η αντιστοίχιση των αλληλουχιών του DNA. Συγκεκριμένα με την απόκτηση όλο και περισσότερων γνώσεων ως προς την ολιγονυκλωνική ετερογένεια και την επιλογή των καρκινικών αντιγράφων από το ανθρώπινο DNA [158,159]. Στο Σχήμα 13 φαίνονται οι χημικές δομές αναστολέων της τυροσινικής κινάσης και η μοριακή σύνδεσή τους στον υποδοχέα EGFR.



Σχήμα 13

Η χημική υπόσταση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) της τυροσινικής κινάσης και οι μοριακοί τρόποι δέσμευσης τους στο στόχο.

(a) Η δισδιάστατη (2D) δομή του αναστρέψιμου αναστολέα της γεφιτινίμπης και η τρισδιάστατη (3D) δομή του συμπλόκου με το EGFR (PDB code 3UG2).

(b) Η δισδιάστατη δομή 2D του αναστρέψιμου αναστολέα ερλοτινίμπης και η τρισδιάστατη δομή της περιοχής δέσμευσης του EGFR με την ερλοτινίμπη (PDB code 4HJO).

(c) Η δισδιάστατη δομή 2D του ισχυρού μη αναστρέψιμου αναστολέα αφατινίμπης (BIBW-2992) και η τρισδιάστατη δομή της περιοχής δέσμευσης του EGFR με αφατινίμπη, αποκαλύπτοντας την ομοιοπολική αλληλεπίδραση με το Cys797 που επισημαίνεται με πορτοκαλί χρώμα (PDB code 4G5J). PDB, Protein Data Bank.

(<https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/clpt.2012.237>)

Μετά από όλα τα ανωτέρω, είναι ξεκάθαρο ότι χρειάζεται βελτίωση της εγκυρότητας των κλινικών διαγνωστικών τεστ, που στα αποτελέσματα τους έχουν ανιχνευθεί συγκεκριμένοι βιοδείκτες οι οποίοι αποδεδειγμένα συνδέονται με το κλινικό αποτέλεσμα. Βάσει των προηγούμενων, συγκρίνοντας τα νεότερα δεδομένα με παλαιότερες αναλύσεις έδειξαν διαφορετικούς πολυμορφισμούς σε συγκεκριμένα γονίδια και επομένως η θεραπεία που είχε ακολουθηθεί σε όλες τις περιπτώσεις μπορεί να μην ήταν η ενδεδειγμένη. Με την αυξανόμενη χρήση της εξατομικευμένης θεραπείας ως κύριο

εργαλείο για τη θεραπεία (όπως η χρήση των δοκιμαστικών φαρμάκων στη φάση I,II,III στις κλινικές δοκιμές) αρχίζει και απομακρύνεται η ανάγκη ανάλυσης μόνο ενός βιοδείκτη. Αντιθέτως η ανάγκη εστιάζεται στα «συνδυαστικά πάνελ βιοδεικτών» για την ανίχνευση εν δυνάμει σημαντικών βιοδεικτών, οι οποίοι θα κατευθύνουν τη στοχευμένη θεραπεία που θα εφαρμοστεί [160].

Είναι σημαντικό ο όγκος που θα δεχθεί τη στοχευμένη θεραπεία να εξεταστεί βάσει της *μοριακής γονοτύπισης*. Διαφορετικοί τύποι όγκων μπορεί να προέρχονται από διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους και οι οποίοι συχνά κατευθύνονται από τους διαφορετικούς συνδυασμούς των γενετικών πολυμορφισμών. Σε ορισμένους καρκίνους, όπως στο μη κακόηθες μελάνωμα (Τριχωτή Κυτταρική Λευχαιμία - Hairy cell leukemia, HCL) [161], η θεραπεία με αναστολείς του BRAF μπορεί να επιτύχει παρόμοιο βαθμό ανταπόκρισης. Σε άλλους καρκίνους, όπως στο καρκίνο του παχέος εντέρου υπάρχουν πολύπλοκοι μηχανισμοί οι οποίοι εμποδίζουν τη θεραπευτική αγωγή π.χ η ύπαρξη ενός «επανατροφοδοτικού κυκλώματος» το οποίο αυξάνει την έκφραση του EGFR. Έχοντας υπόψη το τελευταίο εύρημα, η ενδεδειγμένη θεραπευτική λύση βρίσκεται στη συνδυαστική φόρμουλα κατά των κινασών του BRAF & EGFR, η οποία μάλιστα πρέπει να εφαρμόζεται και σε άλλες παρόμοιες περιπτώσεις [162].

3.4.2.1 ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΦΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΥ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ ΣΤΟΝ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Όπως είναι γνωστό, η διαδικασία σχεδιασμού ενός φαρμάκου έχει προκαθοριστεί σε 4 φάσεις. Το φάρμακο εισέρχεται σε ένα προκλινικό πρόγραμμα στο οποίο εξετάζεται η ασφάλεια, η φαρμακοδυναμική του ικανότητα πάνω σε πειραματόζωα. Οι πρώτες 3 κλινικές φάσεις ουσιαστικά έθεσαν τις βάσεις για τις επιστήμες της Φαρμακοδυναμικής και της Φαρμακοκινητικής, οι οποίες εξετάζουν την απαιτούμενη δόση, το κλινικό αποτέλεσμα και τα οφέλη/ κινδύνους που μπορεί να προκύψουν. Η τελευταία φάση ορίζει αν θα μπορέσει να βγει στην αγορά το φάρμακο και αφορά την μελέτη της επίδρασης του στη νόσο και το βαθμό θνησιμότητας αν χορηγηθεί [163].

Η φάση του σχεδιασμού ενός νέου τεστ καθορίζεται από τις ενδιαφερόμενες εταιρείες που προωθούν στην αγορά τα διαγνωστικά *in vivo* τεστ (οι ραδιοφαρμακευτικές εταιρείες ή οι εταιρείες που χρησιμοποιούν τεχνολογίες απεικόνισης όπως μαγνητικούς τομογράφους). Στη προκειμένη περίπτωση υπάρχει ένας λεπτομερής πίνακας φάσεων, ο οποίος βοηθάει στη κατανόηση σχεδιασμού μελέτης νέων διαγνωστικών ή προγνωστικών βιοδεικτών και μπορεί να βρεθεί με μία απλή αναζήτηση στο διαδίκτυο [164-167].

Η χρήση των βιοτραπεζών για μελλοντική πιστοποίηση μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στα ήδη υπάρχοντα φάρμακα που βρίσκονται στην αγορά. Αν τα βιοϋλικά επιτρέπουν περαιτέρω συστηματικές έρευνες για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου ή της ασφάλειας του τότε μπορεί να δημιουργηθούν υποομαδες βιοδεικτών. Η εξέταση των προβλεπτικών βιοδεικτών στη φαρμακευτική

βιομηχανία σύντομα θα παίζει σημαντικό ρόλο στο τομέα της φαρμακοεπαγρύπνισης και στη παρακολούθηση του φαρμάκου μετά την έξοδο του στο εμπόριο. Αξιόπιστα συμπεράσματα δεν είναι πιθανόν να βγουν αν το υλικό που χρειάστηκε για να γίνει η γονοτύπηση είναι διαθέσιμο μόνο για τα δείγματα που είναι εύχρηστα [168].

3.4.3 ΓΟΝΙΔΙΑ ΣΤΟΧΟΙ ΩΣ ΦΑΡΜΑΚΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΝΟΥΚΛΕΪΚΑ ΟΞΕΑ

Σε μοριακό επίπεδο, ο κακοήθης σχηματισμός είναι μια πολύπλοκη σειρά λειτουργιών. Επομένως, οι επιδράσεις των ογκογονιδίων είναι συχνά πολυλειτουργικές και ε-φαπτόμενες με πολλές λειτουργίες του οργανισμού. Τα ογκογονίδια είναι παράγοντες μεταγραφής, εμπεριέχουν τους μηχανισμούς μεταγωγής σήματος του κυττάρου, εμπλέ-κονται σε πολλές ρυθμιστικές λειτουργίες, όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η α-ναστολή της απόπτωσης, η εισβολή, κλπ [169]. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται κύρια γονίδια στόχοι που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία μέσω ε-ξειδικευμένων γονιδίων κατά του καρκίνου (Πίνακας 4).

Πίνακας 4 - Γονίδια στόχοι			
Φάσεις καρκινο-γένεσης	Γονίδιο στόχος	Λειτουργία	Φάρμακα καταστολής λειτουργίας
	<i>Ras oncogenes</i> (<i>K-ras</i> , <i>H-ras</i> η <i>N-ras</i>)	Αποτελεί μέρος του κυτ-ταρικού συστήματος μετα-φοράς σήματος και ρυθμίζει μία μεγάλη γκάμα λειτουργιών (πολ-λαπλασιασμός, διαφ/ση, ε-πιβίωση) [170].	asON, ribozymes, siRN A
	c-myc	Ενεργοποιεί τον πολ/σμο των καρκινικών κυττάρων [171,172].	asON, siRN A, DNAzymes
	PKC-α	Εμπλέκεται στο κυτταρικό σύστημα μεταφοράς σή-ματος, ελέγχει τον πολ/σμό και την κυττα-ρική επιβίωση [173,174].	asON, ribozymes, DNAzymes

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑ-
ΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

Εξάπλωση	Clusterin	Εμπλέκεται στη μεταφορά λιπιδίων, στη κυτταρική διαίρεση και στην απόπτωση. Ενισχύει τη κυτταρική επιβίωση ως απάντηση στη θεραπεία και αυξάνει την ανθεκτικότητα στα κυττ/κα φάρμακα [175,176].	asON
	IGF-1R	Ενεργοποιεί τα σηματοδοτικά μονοπάτια MAPK και PI-3K, τα οποία ενισχύουν τον πολ/σμό, τη μιτογένεση και την αναστολή της απόπτωσης [177-179].	asON
Μπλοκάρισμα α-πόπτωσης	bcl-2	Ρυθμίζει αρνητικά την απόπτωση εξ αιτίας της παύσης της απέκκρισης του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια στο κυτταρόπλασμα [180].	asON, siRN A, ribozymes
	Survivin	Ρυθμίζει τη κυτταρική διαίρεση (αλληλεπιδρά με μικροσωληνάρια στη μιτωτική άτρακτο και προωθεί τη μιτωτική είσοδο από τη φάση G ₂ στη M) και αναστέλλει την απόπτωση (αναστέλλει το μονοπάτι της inner caspase-9-dependant) [181,182].	asON, ribozymes
	bcr-abl	Ενισχύει το σήμα για τη μίτωση και την αντι-απόπτωση που έχει ως	Ribozymes, DNazymes,

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

		μεσολαβητή τα μονοπάτια που ρυθμίζονται από το Ras [183,184].	siRN A
	c-raf	Ενεργοποιεί την αλληλουχία MAPK/ER K και ρυθμίζει αρνητικά την απόπτωση με την απενεργοποίηση της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης [185,186].	asON
Φαρμακευτική αντοχή	MDR1	Δημιουργεί διαμεμβρανικά κανάλια για να αποβληθεί η ATP που χρειάζονται τα φάρμακα έξω από το κύτταρο, το οποίο ενισχύει την ανθεκτικότητα του όγκου προς το φάρμακο [187-189].	asON, siRN A, ribozymes
	γ-glutamylcysteine syntetase (glutathione system)	Ενδοκυτταρική αποτοξίνωση των αντικαρκινικών φαρμάκων [187].	Ribozymes
Δυσλειτουργία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων	DNMT1	Υπερμεθυλίωση και απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων [190,191].	asON
Αύξηση της ζωής των κυττάρων όγκου	hTERT	Υπερλειτουργία του μηχανισμού επιμήκυνσης των επαναλήψεων των τελομερών με αποτέλεσμα την αύξηση της ανωμαλίας και της ζωής των τροποποιημένων κυττάρων	asON, ribozymes

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

		[192].	
Αναχαίτιση της σύνθεσης του DNA	<i>RRR2 / RRM2</i>	Ελέγχει τη ποσότητα των δεοξυριβονουκλεοτιδίων που χρειάζονται για να γίνει η σύνθεση του DNA μέσω της ρύθμισης της μετατροπής των ριβονουκλεοτιδίων σε δεοξυριβονουκλεοτίδια [193].	asON, siRN A
Αγγειογένεση του όγκου	<i>Flt-1</i> (VEGFR)	Ενεργοποιεί τη διαδικασία της αγγειογένεσης και καταστέλει την ανοσολογική απόκριση κατά του καρκίνου [194,195].	asON, ribozymes, DNAzymes, siRN A
	neu (HER 2 or ErbB2, EGFR family)	Ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μεταγωγικού μονοπατιού, το οποίο οδηγεί στην ενίσχυση των λειτουργιών του όγκου (π.χ πολ/σμος, εισβολή και αναστολή της απόπτωσης) [196,197].	asON, ribozymes
	eIF4E	Αυξάνει τον αριθμό μετάφρασης των αυξητικών παραγόντων όπως VEGF, C-myc [198-200].	asON
	PTN	Είναι αυξητικός παράγοντας, ενισχύει την ανάπτυξη του όγκου και την αγγειογένεση [201-203].	Ribozymes
	ALK	Είναι τυροσυνική κινάση του υποδοχέα PTN [204].	Ribozymes
	MMP9	Εξουδετέρωση των εξωκυττάρων συστατικών και της βασικής μεμβράνης	Ribozymes, siRN A

Εισβολή όγκου		και προωθεί την καρκινική «εισβολή» [205-207].	
	FGF-BP	Ενεργοποίηση του FGF-2, το οποίο προκαλεί τον πολ/σμο των καρκινικών κυττάρων και αυξάνει το βαθμό επιθετικότητας και της αγγειογένεσης [208].	Ribozymes
	Egr-1	Ενεργοποιεί τον πολ/σμο και την επιθετικότητα του όγκου και εμπλέκεται στη δημιουργία του φαινότυπου MDR [209-210].	DNAzymes
	FAK	Ρυθμίζει το βαθμό προσκόλλησης και επιθετικότητας στο εξωκυττάριο περιβάλλον[211].	siRN A
	CXCR 4	Ενισχύει τη διαδικασία της μετάστασης[212].	siRN A

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3347510/>)

3.4.4 Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΤΩΝ CAR-T CELLS

Το πολλαπλούν μυέλωμα (ΠΜ) είναι μία εξαιρετικά θανατηφόρος αιμοποιητική κακοήθεια και για αυτό το λόγο απαιτούνται νέες και ασφαλείς θεραπείες. Με τις συνεχείς έρευνες, προέκυψαν νέα δεδομένα που οδήγησαν τους επιστήμονες στην ανοσοθεραπεία BCMA CAR-T με ελπιδοφόρα αποτελέσματα [213-215].

Το πολλαπλούν μυέλωμα είναι μια κακοήθης πολλαπλασιαστική ασθένεια των κυττάρων πλάσματος (πλασματοκύτταρα). Οι ανοσοσφαιρίνες που παράγονται από τα κλωνικά κύτταρα πλάσματος (πλασματοκύτταρα-PCs), τα οποία πολλαπλασιάζονται και συσσωρεύονται ανώμαλα εντός του μυελού των οστών (BM) και μπορούν να οδηγήσουν σε αιματοποιητικές ανεπάρκειες και αλλοιώσεις των οστών (λυτικές βλάβες). Οι υπερβολικά πολλές ανοσοσφαιρίνες παραμένουν στον ίστο με αποτέλεσμα την εμφάνιση νεφρικής ανεπάρκειας, αμυλοείδωσης και καρδιακής δυσλειτουργίας. Τα κατάγματα, η υπερασβεστιαμία και οι συχνές λοιμώξεις είναι επίσης οι συνήθεις κλινικές εκδηλώσεις του ΠΜ [216-220].

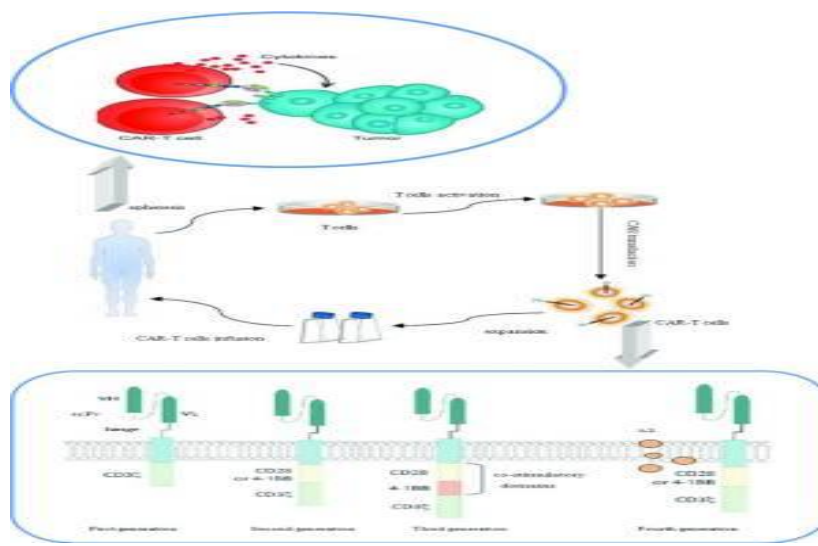
Το κύτταρο στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών (BM) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη συντήρηση και την εξέλιξη του ΠΜ [220]. Τα κύτταρα εκκρίνουν βοηθητικούς αυξητικούς παράγοντες όπως *IL-6, IGF-1, SDF-1α*, παράγοντες ενεργοποίησης *B κυττάρων (BAFF)*, σύμπλοκα που επαγάγουν τον πολλαπλασιασμό (*APRIL*) και αλληλεπιδρούν άμεσα με τα κύτταρα του ΠΜ, τα οποία μεσολαβούν στην απόδραση από το ανοσοποιητικό σύστημα με αποτέλεσμα την λειτουργική εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή καθώς και ανάπτυξη ανοχής στα φάρμακα. Επιπλέον, τα κύτταρα *Th1*, τα κυτταροτοξικά *CD8⁺ T κύτταρα*, τα μακροφάγα, τα *NK κύτταρα*, τα *Th2 κύτταρα* και τα δενδριτικά κύτταρα (*DCs*) μεσολαβούν στην ανοσία και προάγουν την ανάπτυξη του όγκου που σχετίζεται με τον κακοήγη μετασχηματισμό της νόσου [221,222].

Η παραδοσιακή θεραπεία είναι η μείωση του κακοήθους φορτίου των πλασματοκυττάρων και ακολουθείται συντηρητική θεραπεία. Την τελευταία δεκαετία έχουν χρησιμοποιηθεί νέα θεραπευτικά μέσα όπως αναστολείς πρωτεασώματος, ανοσορυθμιστικά φάρμακα, mAbs και αναστολείς των αποακετυλασών των ιστογόνων για τη βελτίωση των ποσοστών επιβίωσης και της ποιότητας ζωής των ασθενών.

Τα τελευταία χρόνια, έχει δοθεί μεγάλη προσοχή στις ανοσοθεραπείες για το ΠΜ όπως τα ανοσοτροποποιητικά φάρμακα (IMiDS), η αλλογενής μεταμόσχευση προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων (allogeneic stem cell transplantation, allo-SCT), τα μονοκλωνικά αντισώματα, οι Αναστολείς Σημείων Ελέγχου (ΑΣΕ) του ανοσοποιητικού συστήματος (immune checkpoint inhibitors), τα CAR T-λεμφοκύτταρα (T-λεμφοκύτταρα με χιμαιρικό υποδοχέα αντιγόνου, chimeric antigen receptor T-cells), τα δενδριτικά κύτταρα (DC) βασιζόμενα στα εμβόλια, κυτοκίνες που επάγουν τα κύτταρα φονείς (CIKs) και τα διηθούντα τον όγκο λεμφοκύτταρα (Tumor Infiltrating Lymphocytes-TILs) [219,223,224,225]. Παρ'όλα αυτά η μέθοδος CAR T-λεμφοκύτταρα φαίνεται να κερδίζει έδαφος λόγω των ελπιδοφόρων αποτελεσμάτων.

Η ανοσοθεραπεία με τη μέθοδο των T-λεμφοκυττάρων με χιμαιρικό υποδοχέα αντιγόνου (CAR T-cells) είναι μια νέα υποσχόμενη θεραπεία η οποία συνδυάζει την εξειδίκευση του στόχου των μονοκλωνικών αντισωμάτων και την κυτταροτοξικότητα των T-λεμφοκυττάρων. Τα T-λεμφοκύτταρα των ασθενών συλλέγονται για να τροποποιηθούν έτσι ώστε να εκφράζουν ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνειά τους που ονομάζονται *χιμαιρικοί υποδοχείς αντιγόνου (chimeric antigen receptors - CARs)*. Η τροποποίηση αυτή γίνεται από *lenti-viruses* φορείς ή *retroviruses* που είναι τα κύτταρα CAR-T. Στη συνέχεια, τα κύτταρα CAR-T εγχύονται πίσω στους ασθενείς. Τα τροποποιημένα CAR T κύτταρα δεν βασίζονται σε ενδογενή ενεργοποίηση και στη συν-διέγερση αλλά λαμβάνουν διεγερτικά σήματα μέσω του CAR. Τα ανασυνδυασμένα T-λεμφοκύτταρα μπορούν να ταυτοποιήσουν, να δεσμεύσουν και να «λύσουν» τα στοχευόμενα κύτταρα καθώς και να πολλαπλασιαστούν. Επομένως, βάσει των παραπάνω η μέθοδος αυτή έχει υψηλό βαθμό ανθεκτικότητας και αποτελεσματικότητας.

Τα CD4⁺ και τα CD8⁺ κύτταρα εμφανίζουν ικανότητα ενεργοποίησης εξειδικευμένου στόχου και επιπλέον το ποσοστό των CD4⁺ είναι υψηλότερο από των CD8⁺. Τα CAR-T κύτταρα αποτελούνται από μια εξωκυτταρική εξειδικευμένη περιοχή και από διάφορους τομείς ενδοκυτταρικής σηματοδότησης, οι οποίοι συνδέονται με μια κοινή διαμεμβρανική περιοχή άρθρωσης που συνήθως προέρχεται από CD8 ή IgG4. Το εξωκυτταρικό τμήμα είναι ένα μεταβλητό θραύσμα μονής αλυσίδας (scFv) που προέρχεται από ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο μπορεί να ταυτοποιήσει και να δεσμεύσει το ειδικό επιφανειακό αντιγόνο που σχετίζεται με τον όγκο (TAAs) με έναν μη περιορισμένο τρόπο μέσω των αντιγόνων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας MHC (Major Histocompatibility Complex). Στο ενδοκυτταρικό τμήμα υπάρχουν οι τομείς ενεργοποίησης των κυττάρων CAR-T που περιλαμβάνουν την αλυσίδα CD3ζ και ένα (δεύτερης ή τέταρτης γενιάς CAR) ή δύο (τρίτης γενιάς CAR) διεγερτικούς τομείς όπως CD28, 4-1BB και CD27 που μπορούν να ενισχύσουν τη μεταγωγή σήματος των κυττάρων CAR-T και να επηρεάσουν τις λειτουργίες τους. Η τέταρτη γενιά CAR μπορεί επίσης να εκφράσει τη κυτοκίνη όπως την IL-12 που μπορεί να προωθήσει τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων (Εικόνα 7) [217,226-230].



Εικόνα 7

(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop_pmc/tileshop_pmc_inline.html?title=Click%20on%20image%20to%20zoom&p=PMC3&id=6423312_277_2018_3592_Fig1_HTML.jpg)

Ο μηχανισμός και η δομή των CAR-T κυττάρων.

Τα ίδια τα T-λεμφοκύτταρα του ασθενή συλλέγονται με σκοπό να τροποποιηθούν σε συγκεκριμένα CAR, τα οποία θα μετασχηματιστούν από από lentivirικούς φορείς ή ρετροϊούς. Έπειτα τα CAR-T κύτταρα εγχύονται πίσω στους ασθενείς για να ταυτοποιήσουν, να δεσμεύσουν και να λύσουν τα κύτταρα στόχους. Τα ανασυνδρασμένα CAR-T κύτταρα αποτελούνται από μια εξωκυτταρική εξειδικευμένη περιοχή και από διάφορους τομείς ενδοκυτταρικής σηματοδότησης. Οι τομείς αυτοί συνδέονται με μια κοινή διαμεμβρανική περιοχή άρθρωσης. Το εξωκυτταρικό τμήμα είναι ένα μεταβλητό θραύσμα μονής αλυσίδας (scFv) που προέρχεται από ένα μονοκλωνικό αντίσωμα και στο ενδοκυτταρικό τμήμα υπάρχουν οι τομείς ενεργοποίησης των κυττάρων CAR-T που περιλαμβάνουν την αλυσίδα CD3ζ και ένα (δεύτερης ή τέταρτης γενιάς CAR) ή δύο (τρίτης γενιάς CAR) διεγερτικούς τομείς όπως CD28, 4-1BB και CD27 που μπορούν να ενισχύσουν τη μεταγωγή σήματος των κυττάρων CAR-T και να επηρεάσουν τις λειτουργίες τους. Η τέταρτη γενιά CAR μπορεί επίσης να εκφράζει κυτοκίνη όπως η IL-12 που προάγει τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων.

Πρόσφατα, η προσοχή έχει εστιαστεί στο αντιγόνο ωρίμανσης B λεμφοκυττάρων (BCMA) και αποτελεί ιδανικό στόχο για ανοσοθεραπεία CAR κατά του ΠΜ.

Το BCMA ή το CD269, ο υποδοχέας παράγοντα νέκρωσης του όγκου της υπεοικογένειας 17 (TNFRSF17) παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ωρίμανσης των B κυττάρων, διαφοροποιώντας τα σε PCs και μεσολαβώντας στην επιβίωση τους [227,231-234]. Αν και η θεραπεία με BCMA CAR-T κύτταρα έχει εμφανίσει μεγάλη επιτυχία κατά του ΠΜ, υπάρχουν ακόμα πολλά προβλήματα που πρέπει να επιλυθούν.

Το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκίνης (CRS) είναι μια κρίσιμη μορφή τοξικότητας που εμφανίζεται στις διάφορες δοκιμές κυττάρων CAR-T και σχετίζεται με την επέκταση και την ενεργοποίηση κυττάρων CAR-T. Η δραματική αύξηση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η IL-6, IL-10, IFN-γ και GM-CSF είναι το κύριο χαρακτηριστικό του CRS. Οι περισσότεροι άνθρωποι έχουν ήπια συμπτώματα όπως γρίπη και υπόταση. Σε πιο σοβαρές περιπτώσεις, μπορεί να παρατηρηθεί υποξία, μεγάλου βαθμού υπόταση, σύνδρομο διαφυγής τριχοειδών και διαταραχές του μηχανισμού της πήξης του αίματος. Τα εξής παραπάνω μπορούν να οδηγήσουν στη δυσλειτουργία πολλών οργάνων και ακόμη σε φλεγμονώδη αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο (HLH).

Η νευροτοξικότητα, που ονομάζεται σύνδρομο εγκεφαλοπάθειας σχετιζόμενη με κύτταρα CAR-T (CRES), η οποία μπορεί να εμφανιστεί ταυτόχρονα ή μετά από το CRS, είναι η δεύτερη πιο συχνή ανεπιθύμητη ενέργεια. Απαιτείται εντατική παρακολούθηση και άμεση αντιμετώπιση των τοξικοτήτων [235-238]. Η απελευθέρωση του αντιγόνου και η ανθεκτικότητα των κυττάρων BCMA-CAR είναι επίσης προβλήματα που πρέπει να ληφθούν υπόψη. Συνήθως παρατηρείται υποτροπή του ΠΜ με επανεμφάνιση BCMA⁺ ή BCMA⁻ κακοηθών κυττάρων μετά από BCMA-CAR θεραπεία [239].

Ένα άλλο μειονέκτημα των BCMA CARs είναι ότι μπορούν να στοχεύσουν μόνο το διαλυτό BCMA στον ορό. Το αν υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των BCMA CAR-T κυττάρων και BCMA⁺ ΠΜ κυττάρων είναι ακόμα άγνωστο. Αλλά έχει αποδειχθεί ότι η πρωτεΐνη του BCMA στα θρεπτικά υποστρώματα δεν μπορεί να εμποδίσει την αμοιβαία αναγνώρισή τους και τα anti-BCMA CAR-T κύτταρα μπορούν επίσης να αναστείλουν την ανάπτυξη των κυττάρων του ΠΜ στο πειραματόζωο που έχει ανθρώπινο BCMA [216].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ - ΔΗΜΙΟΥΡ- ΓΙΑ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥ-ΒΙΟΗΘΙΚΟΥ ΚΑΙ ΝΟΜΙΚΟΥ ΠΛΑΙΣΙΟΥ

Η ποσότητα των γενωμικών δεδομένων που δημιουργούνται γύρω από τους ασθενείς, τους συμμετέχοντες στην έρευνα και τους καταναλωτές συνεχώς αυξάνεται. Το **The Global Alliance for Genomics and Health (GA4GH)** είναι μια διεθνής δημόσια / ιδιωτική κοινοπραξία, η οποία σχεδιάζει τεχνικά πρότυπα και νομικά πλαίσια, τα οποία θα μπορούν διευκολύνουν την ανταλλαγή δεδομένων υγείας και γονιδιώματος μεταξύ του συστήματος της υγειονομικής περίθαλψης, της έρευνας και των ατόμων. Η ανά-λυση και η ανταλλαγή αυτών των δεδομένων οδηγεί σε νέες προοπτικές και ευκαιρίες [240] αλλά επίσης εγείρει δεοντολογικά ερωτήματα σχετικά με τη ροή δεδομένων πίσω στα άτομα. Η συζήτηση επικεντρώνεται σχετικά με τα είδη των ευρημάτων που πρέπει να αναφέρονται από τη δοκιμή ή την έρευνα [241], στην κλινική εγκυρότητα, στη χρη-σιμότητα των αποτελεσμάτων και εάν τα άτομα επιθυμούν ή όχι να τα λάβουν [242,243]. Ένα σημαντικό ερώτημα είναι εάν οι ασθενείς ή οι συμμετέχοντες στην έ-ρευνα θα πρέπει να μπορούν να έχουν πρόσβαση στα δεδομένα "ακατέργαστων" (μη ερμηνευμένων) γονιδιωματικών αλληλουχιών [244,245].

Μια ομάδα εργασίας του GA4GH με αντικείμενο την ατομική πρόσβαση δημιουργή-θηκε για να διερευνήσει πώς τα γενωμικά δεδομένα της κλινικής αλλά και της υγειο-νομικής έρευνας μπορούν να μοιράζονται τόσο σε μεμονομένους ασθενείς όσο και σε συμμετέχοντες σε έρευνες. Οι συμμετέχοντες στην έρευνα θέλουν κυρίως δεδομένα που είναι κλινικά σχετικά με αυτά ή τις οικογένειές τους [246,247]. Επίσης αυτοί προσ-δίδουν «εγγενή» αξία στα γονιδιωματικά αυτά δεδομένα, ώστε να αναμένουν να έχουν πρόσβαση σε δεδομένα που "ανήκουν σε αυτούς". Από τα 4140 άτομα που συμμετέ-χουν σε μια διεθνή έρευνα της GA4GH, το 61% θα ήθελε να έχει πρόσβαση στα στοι-χεία της πρώτης κατηγορίας (με τους περισσότερους να έχουν την πρόθεση να χρησιμοποιήσουν τα δεδομένα αυτά ως βάση για περαιτέρω έρευνα) [248]. Οι διαδι-κασίες που επιτρέπουν στα άτομα να έχουν πρόσβαση σε *μη ερμηνευμένα δεδομένα* διαφέρουν στις πολιτικές ή στις διαδικασίες για την επιστροφή των επιμέρους ευρημά-των. Οι τελευταίες είναι προνομιούχες όσον αφορά την κλινική σημασία της πληροφο-ρίας ή τη δυνατότητα δράσης. Το δικαίωμα πρόσβασης σε μη ερμηνευμένα δεδομένα δεν υπονομεύει το δικαίωμα του ατόμου να μην γνωρίζει ποιος και από που παρέχεται η πληροφορία κατόπιν αιτήματος. Ωστόσο, υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με την ακρί-βεια και χρησιμότητα των μη ερμηνευμένων δεδομένων και οι φόβοι για κατάχρηση από ιδιώτες ή υπηρεσίες τρίτων που μπορούν να οδηγήσουν σε ψυχικές βλάβες ή

οικονομικές κυρώσεις [249]. Ανεξάρτητα από αυτό, διάφορες ερευνητικές πρωτοβουλίες επιλέγουν να προσφέρουν ατομική πρόσβαση, κυρίως η Αμερικάνικη πρωτοβουλία «ALL OF US» [250] και η Βρετανική «100,000 Genomes» [251], καθώς και άλλα ερευνητικά προγράμματα όπως «Personal Genome Project» [252]. Με βάση την σύνοψη της σημερινής πρακτικής λειτουργίας και την ανάλυση του νομικού δικαιώματος πρόσβασης σε προσωπικά δεδομένα υγείας, θα παρουσιαστούν πρακτικές οδηγίες για τα κλινικά εργαστήρια ή ερευνητικά προγράμματα που επιδιώκουν να παρέχουν στους συμμετέχοντες πρόσβαση σε μη ερμηνευμένα γονιδιωματικά δεδομένα. Εν τέλει, η ατομική πρόσβαση θα απαιτείται από τους ενδιαφερόμενους καθώς η γονιδιωματική όλο και περισσότερο εμπλέκεται στο κλινικό κομμάτι και το κοινό αρχίζει να επιμένει στην τμηματική διακυβέρνηση των δεδομένων.

4.1 Η ΕΚΘΕΣΗ BELMONT

Το 1979 δημοσιεύτηκε η *Έκθεση Belmont*, η οποία ουσιαστικά είναι το αποτέλεσμα της έρευνας που πραγματοποίησε η Εθνική Επιτροπή για τη Προστασία των Συμμετεχόντων σε Έρευνες Βιοϊατρικής και Συμπεριφοράς. Παρακάτω, θα καταγραφούν εν συντομία, οι 3 βασικές αρχές από την έκθεση αυτή.

1. *Ο σεβασμός του ανθρώπου.* Στη συγκεκριμένη αρχή περιλαμβάνεται η ηθική έννοια της αυτονομίας και η ξεχωριστή προστασία που χρειάζονται τα άτομα με μειωμένη αυτονομία. Ιδιαίτερη σημασία στην αρχή αυτή δίνεται στη συγκατάθεση του ατόμου που θα μετέχει στην έρευνα κατόπιν ενημέρωσης. Η αυτονομία του ατόμου ερμηνεύεται ως η πλήρης ανεξαρτησία του ατόμου να μπορεί να πάρει όλες τις αποφάσεις που αφορούν την υγειονομική του περίθαλψη. Όμως σε περιπτώσεις που αφορούν άτομα με μειωμένη αυτονομία, όπως παιδιά και άτομα με νοητική στέρηση μπορεί να υπάρξει μεγαλύτερος βαθμός προστασίας. Επίσης σημαντικό να αναφερθεί είναι ότι οι όροι «ιδιωτική ζωή» και «απόρρητο» εμπεριέχονται στην αρχή του σεβασμού για το άτομο. Η αρχή του σεβασμού για το άτομο μπορεί επίσης να περιέχει απαιτήσεις για την παρουσίαση πολιτιστικής, γλωσσικής ευαισθησίας και επάρκειας κατά τη διάρκεια της έρευνας και την περίθαλψη μειονοτήτων. Η έννοια της πολιτιστικής ευαισθησίας και επάρκειας διαφέρει μεταξύ ατόμων ή κοινωνικών ομάδων. Τέλος η επαρκής πληροφόρηση είναι πολύ σημαντική από τη μονόπλευρη ερμηνεία που μπορεί να δοθεί από κάποιους.
2. *Η Ωφέλεια.* Στην αρχή της ωφέλειας περιλαμβάνεται η μέγιστη πιθανή ωφέλεια και η ελάχιστη πιθανή βλάβη για όλους όσους συμμετέχουν στην έρευνα. Είναι σημαντικό η αξιολόγηση των κινδύνων και των ωφελειών κατά το σχεδιασμό ενός ερευνητικού προγράμματος καθώς και η διερεύνηση εναλλακτικών μεθόδων για την υλοποίηση των επιθυμητών στόχων με όσο πιο μικρή πιθανότητα κινδύνου στους συμμετέσχοντες

αλλά και εν τέλει για ολόκληρη την κοινωνία. Η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ της πρόσβασης στην έρευνα και στην προστασία από πιθανές βλάβες κατά τη διάρκεια της έρευνας είναι το κύριο χαρακτηριστικό που αποτυπώνεται στην αρχή αυτή.

3. *Η δικαιοσύνη.* Οι 2 κύριοι άξονες της αρχής της δικαιοσύνης είναι η δίκαια μεταχείριση των ατόμων που μετέχουν στο πρόγραμμα αλλά και ίση κατανομή του κινδύνου/οφέλους. Κατά τη διάρκεια της εξέτασης της κατανομής των κινδύνων και των ωφελειών θα πρέπει να ληφθούν υπόψιν οι διάφοροι ειδών κίνδυνοι, όπως οι οικονομικοί, οι ιατρικοί, οι νομικοί, οι ψυχολογικοί αλλά και οι κοινωνικοί (π.χ ντροπή, κοινωνικός στιγματισμός, διακρίσεις) [285]. Ο αποκλεισμός ενός ατόμου από μία έρευνα πρέπει να οφείλεται εξ αιτίας αξιόπιστων επιστημονικών ή ηθικών λόγων. Με τον όρο «δικαιοσύνη» συμπεριλαμβάνονται και οι περιπτώσεις όπου ένα άτομο ή μία ομάδα που δεν θα μπορέσει να επωφεληθεί από την έρευνα θα πρέπει αυτομάτως να αποκλείεται από αυτήν. Επιπλέον υπάρχει και η περίπτωση όπου μία ομάδα ή ένα άτομο που μετέχει στην έρευνα να έχει σοβαρές πιθανότητες κινδύνου οπότε θα πρέπει να αναμένει πολύ μεγάλο όφελος από το αποτέλεσμα της έρευνας αυτής. Εν κατακλείδι στη φαρμακογονιδιοματική η δικαιοσύνη σημαίνει **ισότητα στη συμμετοχή** (αν υπάρχουν μοιρασμένες πιθανότητες κινδύνου και ωφέλους για τις εθνικές-φυλετικές μειονότητες).

4.2 ΔΙΚΑΙΩΜΑ ΣΤΗ ΠΡΟΣΒΑΣΗ

Σε πολλές χώρες, τα άτομα έχουν νόμιμο δικαίωμα πρόσβασης στα προσωπικά τους δεδομένα, τα οποία κατέχουν κυβερνητικοί φορείς και συγκεκριμένες επιχειρήσεις [253-257]. Δικαίωμα πρόσβασης στα προσωπικά δεδομένα περιλαμβάνεται στον κανονισμό γενικής προστασίας δεδομένων της Ε.Ε (GDPR) (άρθρο 15), ο οποίος τίθεται σε ισχύ τον Μάιο του 2018 [253,254,256]. Αυτό το διεθνώς αναγνωρισμένο δικαίωμα εξουσιοδοτεί τους ιδιώτες να εξακριβώνουν ποια δεδομένα έχουν οι κυβερνητικοί και εμπορικοί φορείς που τους αφορούν και πως αυτά τα δεδομένα χρησιμοποιούνται. Το δικαίωμα αυτό επιτρέπει επίσης στα άτομα να διασφαλίζουν ότι τα δεδομένα τους είναι ακριβή, ενημερωμένα και χρησιμοποιούνται κατά τρόπο διαφανή, δίκαιο και νόμιμο. Κατόπιν αιτήματος, τα άτομα πρέπει να έχουν στη διάθεσή τους αντίγραφο των δεδομένων τους σε εύλογο χρονικό διάστημα, σε εύχρηστη μορφή και σε εύλογο κόστος. Υπάρχει μεγάλη αβεβαιότητα σχετικά με το κατά πόσον τα γενετικά δεδομένα νομικώς θεωρούνται ή όχι εγγενώς αναγνωρίσιμα. Τα γονιδιοματικά δεδομένα θα εξακολουθούν να εμπίπτουν στους ευρείς ορισμούς των προσωπικών δεδομένων που χρησιμοποιούνται σε πολλές χώρες (π.χ GDPR παρ.4.1) εφ' όσον σχετίζεται με ένα άτομο, το οποίο συμβαίνει όλο και περισσότερο στις περιπτώσεις που αφορούν δεδομένα γονιδιακών κλινικών, εμπορικών και μεταφραστικών ερευνητικών πλαισίων.

Παρομοίως, οι ασθενείς έχουν νόμιμο δικαίωμα πρόσβασης στο αρχείο υγείας τους [253-258], (παρ.19). Αυτό εξασφαλίζει τη διαφάνεια στη σχέση ιατρού-ασθενή και επιτρέπει στους ασθενείς τη διόρθωση ανακριβών πληροφοριών (που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τρίτους όπως οι ασφαλιστές) ή τη μεταφορά αρχείων κατά την αλλαγή των ιατρών. Η πρόσβαση στα προσωπικά τους δεδομένα τους παρέχει επίσης τη δυνατότητα να αναλάβουν ενεργό ρόλο στην υγειονομική τους περίθαλψη. Αν και τα μη επεξεργασμένα εργαστηριακά δεδομένα δεν θεωρούνται συνήθως μέρος του αρχείου υγείας, αυτό δεν ισχύει για τη γονιδιωματική. Στις ΗΠΑ, οι πρόσφατες νομοθετικές τροποποιήσεις και οι ερμηνευτικές οδηγίες διευρύνουν το δικαίωμα πρόσβασης από το Αμερικανικό Ομοσπονδιακό δίκαιο περί προστασίας της ιδιωτικής ζωής, σε ένα ευρύ φάσμα αρχείων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη λήψη αποφάσεων σχετικά με τα άτομα, συμπεριλαμβανομένων και των πληροφοριών που παράγονται στο πλαίσιο μιας εργαστηριακής εξέτασης [259]. Όμως για τη γενετική ανάλυση της αλληλουχίας του DNA, αυτό μπορεί να περιλαμβάνει την "πλήρη πληροφορία γονιδιακής παραλλαγής που παράγεται από το τέστ" [260] και για τη γονιδιωματική αλληλούχιση, τα δεδομένα μη επεξεργάσιμης ακολουθίας [261]. Τα ερευνητικά προγράμματα γονιδιωματικής αλληλουχίας που παρέχουν το δικαίωμα πρόσβασης πρέπει να το αναφέρουν στη μορφή συγκατάθεσης, μαζί με τις βασικές πληροφορίες σχετικά με το τι είναι διαθέσιμο και τον τρόπο υποβολής αίτησης πρόσβασης. Τα έντυπα συναίνεσης θα πρέπει να διευκρινίζουν σαφώς τα δικαιώματα πρόσβασης και άλλες μορφές επικοινωνίας, όπως η επιστροφή μεμονωμένων ευρημάτων κλινικής σημασίας [252].

Το δικαίωμα πρόσβασης όμως υπόκειται γενικά σε περιορισμένες εξαιρέσεις: όταν αποκαλύπτει εμπιστευτικές πληροφορίες (σχετικά με άλλους ασθενείς ή επαγγελματίες υγείας) και όταν διακινδυνεύει σοβαρή βλάβη του ατόμου [262]. Η παροχή ατομικής πρόσβασης στα γονιδιωματικά δεδομένα δεν θα παρεμπόδιζε νομικώς τους επαγγελματίες υγείας ως προς τη ρήτρα εμπιστευτικότητας σε τρίτους ή θα παρουσίαζε σοβαρούς κινδύνους για το άτομο. Μια σημαντική νομική διάκριση για τα ερευνητικά πλαίσια είναι ότι πολλές χώρες περιορίζουν την ατομική πρόσβαση σε ερευνητικά δεδομένα, συνήθως για την προστασία των εμπορικών συμφερόντων και την επιστημονική εγκυρότητα [263]. Ωστόσο, είναι συχνά ασαφές αν οι εξαιρέσεις από την έρευνα όσον αφορά τη γενική πρόσβαση σε πληροφορίες είχαν σκοπό να περιορίσουν την πρόσβαση των συμμετεχόντων στα δικά τους δεδομένα [264]. Οι διεθνείς και οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ηθική της έρευνας είναι σε μεγάλο βαθμό «σιωπηλές» σχετικά με την ατομική πρόσβαση στα δεδομένα υγείας. Αυτό είναι εντυπωσιακό, δεδομένου ότι πολλοί ενσωματώνουν άλλες αρχές προστασίας δεδομένων [265-267]. Ορισμένοι αναφέρουν ότι οι συμμετέχοντες έχουν το δικαίωμα πρόσβασης στα κλινικά τους δεδομένα κατόπιν αιτήσεως, εκτός εάν η προσωρινή ή μόνιμη μη γνωστοποίηση εγκριθεί από την επιτροπή δεοντολογίας της έρευνας για συγκεκριμένους λόγους [268]. Ανεξάρτητα από αυτό, οι εξαιρέσεις από την έρευνα είναι απίθανο να εφαρμοστούν ως κινήσεις ρουτίνας σε κλινικά ή υβριδικά πλαίσια κλινικής έρευνας. Οι ερευνητές που επιδιώκουν να παρέχουν στα άτομα πρόσβαση σε γονιδιωματικά δεδομένα μπορεί επίσης να έχουν να αντιμετωπίσουν τις κλινικές υπηρεσίες, τα κλινικά εργαστήρια και

τους ιατρικούς κανονισμούς. Οι κανονισμοί των ΗΠΑ, για παράδειγμα, απαιτούν οποιαδήποτε αποτελέσματα εξετάσεων που χρησιμοποιούνται για κλινικές δοκιμές λήψης αποφάσεων να γίνονται από πιστοποιημένο εργαστήριο [269]. Παρ'όλο που αυτοί οι περιορισμοί ενδέχεται να εμποδίσουν την επιστροφή κλινικά σημαντικών επιμέρους ευρημάτων από ερευνητικά εργαστήρια, δεν είναι σαφές γιατί θα πρέπει να εφαρμόζονται επίσης σε μη «ερμηνευμένα» γονιδιωματικά δεδομένα.

Συμπερασματικά, είναι πιθανό τα κλινικά εργαστήρια να έχουν ή σύντομα θα έχουν τη νομική υποχρέωση να παρέχουν στα άτομα τα πρωτογενή γονιδιωματικά δεδομένα τους κατόπιν αιτήματος. Παρ'όλο που είναι λιγότερο πιθανό να εφαρμοστεί ένα νομικό δικαίωμα σε πλαίσια έρευνας, τα ερευνητικά προγράμματα πρέπει να εξακολουθήσουν να εξετάζουν το ενδεχόμενο παροχής δικαιώματος των συμμετεχόντων στη πρόσβαση των δικών τους γονιδιωματικών δεδομένων κατόπιν αιτήματος. Οποιοσδήποτε εξαιρέσεις στην πρόσβαση θα πρέπει να αναφέρονται με διαφάνεια, να αιτιολογούνται σαφώς και να εγκρίνονται από μια επιτροπή δεοντολογίας έρευνας. Εάν η πρόσβαση θέτει σε κίνδυνο τον πρωταρχικό στόχο της μελέτης, θα μπορούσε να ανασταλλεί το δικαίωμα της πρόσβασης μέχρις ότου επιτευχθεί ο στόχος. Στα ερευνητικά και κλινικά προγράμματα, οι διαχειριστές των δεδομένων που παρέχουν ατομική πρόσβαση πρέπει να κάνουν προσπάθειες ώστε τα δεδομένα να είναι υψηλής ποιότητας και να είναι διαλειτουργικά. Οι συνηθισμένες συμφωνίες χρήσης θα μπορούσαν να συνοδεύουν την πρόσβαση, εξηγώντας ότι τα δεδομένα παρέχονται "ως έχουν", χωρίς σιωπηρή ή ρητή εγγύηση (π.χ. ότι τα δεδομένα είναι κατάλληλα για συγκεκριμένο σκοπό - λήψης αποφάσεων) και αποποίηση της ευθύνης για τυχόν βλάβη που προκύπτουν από τη χρήση των δεδομένων από τον ιδιώτη.

4.3 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ ΔΥΣΚΟΛΙΩΝ

Υπάρχουν πολλοί λόγοι για τους ερευνητές να παρέχουν πρόσβαση στα ατομικά μη επεξεργασμένα δεδομένα. Οι μελέτες δείχνουν ότι πολλοί άνθρωποι πιστεύουν ότι τα γονιδιωματικά τους δεδομένα τους ανήκουν - ότι έχουν δικαίωμα πρόσβασης, χρήσης και διανομής των δεδομένων τους, όπως κρίνουν αυτοί σκόπιμο [270] - ακόμη και αν αυτό αντίκειται στους νόμους ή στους τρόπους συγκατάθεσης [271,272]. Η παροχή πρόσβασης μπορεί επίσης να δημιουργήσει εμπιστοσύνη και να ενθαρρύνει τη συμμετοχή των ασθενών σε διάφορα ερευνητικά προγράμματα [273]. Επιπλέον, οι ασθενείς είναι συχνά ενήμεροι για την κατάστασή τους και έτσι μπορεί να ευαισθητοποιηθούν περισσότερο για να προσδιορίσουν την κρισιμότητα των υγειονομικών δεδομένων τους από ό,τι οι ερευνητές που επικεντρώθηκαν στην ανακάλυψη [274]. Η πρόσβαση θα επιτρέψει στους επιστήμονες να εξερευνήσουν τις μυριάδες έννοιες του DNA. Η έρευνα μπορεί να ευδοκιμήσει ακόμη και όταν τα ίδια τα άτομα μοιράζονται δεδομένα με τα μητρώα των ασθενών [275,276], στα ερευνητικά έργα ή στα δημόσια αποθετήρια όπως το openSNP [277,278] ή το Open Humans [278]. Η χρησιμότητα των μη επεξεργασμένων γονιδιωματικών δεδομένων θα αυξηθεί με βελτιώσεις στην ποιότητα και τη

διαλειτουργικότητα των δεδομένων, την επέκταση της βάσης γνώσης γονότυπου-φαινοτύπου και τη διαθεσιμότητα αξιόπιστων άλλων υπηρεσιών. Τα περισσότερα δεδομένα κατέχονται από ιδιωτικές επιχειρήσεις, όπως και οι περισσότερες πύλες που μπορούν να συνδέουν τους χρήστες με τα ερευνητικά προγράμματα [279,280]. Το ίδιο ισχύει για τις υπηρεσίες ερμηνείας για τον Έλεγχο Πατρικής Προγονικής Καταγωγής, τη γενεαλογία του ενδιαφερόμενου καθώς και πληροφορίες για την υγεία και επιστημονικές εφαρμογές για τη διευκόλυνση ερμηνείας από τον ίδιο τον εξεταζόμενο [281].

Ωστόσο, υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με τις υπηρεσίες τρίτων που μπορεί να παρέχουν αβέβαιες, ενδεχομένως ανακριβείς πληροφορίες ή ελάχιστου οφέλους και μπορεί να οδηγήσουν σε άγχος ή περιττή ιατρική παρακολούθηση [281]. Προκειμένου να ενισχυθεί η υπεύθυνη χρήση, οι διαχειριστές δεδομένων θα μπορούσαν να παράσχουν στα άτομα που ζητούν πρόσβαση πληροφορίες σχετικά με τους περιορισμούς στην ποιότητα των δεδομένων και των ερμηνειών που διενεργήθηκαν από τρίτους καθώς και τη σημασία της ασφαλούς αποθήκευσης και της υπεύθυνης κοινής χρήσης. Συγκεκριμένα, απαιτείται σαφήνεια ώστε τα δεδομένα να μην χρησιμοποιούνται ως βάση για κλινική ερμηνεία ή λήψη αποφάσεων χωρίς να ζητούνται ιατρικές συμβουλές και επαναληπτικές εξετάσεις από διαπιστευμένο εργαστήριο. Οι διαδικτυακές πύλες χρηστών θα μπορούσαν να διευκολύνουν τη λήψη και την επικοινωνία ή ακόμα και την άμεση μεταφορά / δωρεά των δεδομένων σε αξιόπιστες πλατφόρμες αποθήκευσης ή σε ερευνητικά προγράμματα. Οι διαχειριστές δεδομένων πρέπει επίσης να διασφαλίζουν ότι οι διαδικασίες πρόσβασης είναι προστατευμένες και ασφαλείς. Πρέπει να απαιτούν βασικές διαδικασίες επαλήθευσης ταυτότητας (είναι πραγματικά ο συμμετέχων; - αυτό είναι στην πραγματικότητα το γονιδίωμα του συμμετέχοντα;) και ένα μέσο επαναπροσδιορισμού ενός γονιδιώματος (πώς μπορώ να σπάσω τον κώδικα;). Ο εμπιστευτικός χαρακτήρας του ερευνητή μπορεί να παραβιαστεί εάν οι αιτούντες δεν έχουν πιστοποιηθεί σωστά ή εάν τα δεδομένα προέρχονται από το λάθος γονιδίωμα, οπότε τα δεδομένα αυτά θα πρέπει να επιστρέφονται. Οι ανησυχίες για την παραβίαση της ιδιωτικής ζωής εξακολουθούν να υφίστανται και μετά την πρόσβαση στα δεδομένα. Τα άτομα ενδέχεται να μην έχουν προετοιμαστεί σωστά ώστε να διατηρήσουν τα δικά τους δεδομένα ασφαλή και οι υπηρεσίες τρίτων ενδέχεται να μην προσφέρουν τον ανάλογο βαθμό ασφάλειας της ιδιωτικής ζωής [283]. Και πάλι τα ερευνητικά προγράμματα θα μπορούσαν να παρέχουν στους ιδιώτες συμβουλές σχετικά με τον τρόπο προστασίας των δεδομένων τους. Ενώ οι ερευνητές θα πρέπει να καταβάλουν κάθε προσπάθεια για να ενθαρρύνουν τα άτομα να αποθηκεύουν και να χρησιμοποιούν τα δεδομένα τους προσεκτικά, η τελική ευθύνη πάντα θα ανήκει στο άτομο.

Υπάρχουν επίσης φόβοι ότι η πρόσβαση μπορεί να εκτρέψει τους πόρους μακριά από κλινικές ή ερευνητικές δραστηριότητες. Επιπλέον, τα άτομα που αναζητούν επαγγελματική ερμηνεία των δεδομένων τους θα μπορούσαν να εγκαταλείψουν σταδιακά την πρωτοβάθμια περίθαλψη και τις γενετικές υπηρεσίες του συστήματος υγείας. Αυτό μπορεί να σπαταλήσει οικονομικούς πόρους από το σύστημα της δημόσιας υγείας και να παρουσιαστεί το φαινόμενο της άσκοπης εκτροπής πόρων από τα πιο υγιή και

μορφωμένα άτομα. Ωστόσο, η πρόσβαση δεν πρέπει να είναι δαπανηρή όσον αφορά την ερμηνεία της ή την παροχή συμβουλών, όπως συμβαίνει για την επιστροφή των επιμέρους αποτελεσμάτων. Το κόστος θα περιοριζόταν στις βασικές διαδικασίες εντοπισμού, επαλήθευσης ταυτότητας και επικοινωνίας - ήδη εφαρμόζεται σε πολλά εργαστήρια και κλινικές - και στο κόστος λήψης.

Επί του παρόντος, πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι πρέπει να παρέχουν πρόσβαση σε προσωπικά δεδομένα σε ασθενείς και σε συμμετέχοντες, αλλά δεν διαθέτουν τους κατάλληλους πόρους για να το κάνουν. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, οι φορείς χρηματοδότησης της έρευνας θα μπορούσαν να βοηθήσουν με την παροχή πόρων, υποδομών και κινήτρων. Αντί το κάθε ερευνητικό πρόγραμμα να δημιουργεί το δικό του σύστημα, θα μπορούσαν να δημιουργηθούν κοινές πλατφόρμες διαχείρισης δεδομένων που θα επιτρέπουν την ατομική πρόσβαση (όπως εκείνες που ήδη προσφέρονται στους ερευνητές από τις εταιρείες άμεσης κατανάλωσης προς τους καταναλωτές) [284]. Οι χώροι αποθήκευσης δεδομένων που επιτρέπουν την ευρεία πρόσβαση στην ερευνητική κοινότητα θα μπορούσαν να τροποποιηθούν για να επιτρέψουν την ατομική πρόσβαση. Οι ατομικές εγκρίσεις πρόσβασης θα μπορούσαν να αναγνωρίσουν τις προσπάθειες των εργαστηρίων ή των ερευνητών για την ανταλλαγή δεδομένων με τους ενδιαφερόμενους συμμετέχοντες και τους ασθενείς.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η συνεχόμενη ανάπτυξη της επιστήμης έχει μεγάλο θετικό αντίκτυπο στο σημαντικό αλλά και ιδιαίτερο τομέα της υγείας. Όμως δεν εξελίσσεται μόνο ο άνθρωπος και η επιστήμη αλλά δυστυχώς εξελίσσονται/μεταλλάσσονται οι ασθένειες, οι ιοί ή οι αιτίες που τις προκαλούν. Για αυτό τον λόγο οι επιστήμονες σε συνδυασμό με την τεχνολογία προσπαθούν να ξεπεράσουν αυτήν την «πολυπλοκότητα» ώστε να καταφέρουν να υπερκεράσουν τα εμπόδια αυτά. Εκτός αυτού, η επιστημονική καινοτομία έχει να αντιμετωπίσει πάντα το υψηλό οικονομικό κόστος. Από την άλλη, είναι γνωστό, ότι όλες οι κυβερνήσεις προσπαθούν να δώσουν λύση στην αντιμετώπιση των νέων ασθενειών, με όσο πιο μικρό οικονομικό κόστος. Γεγονότα που πολλές φορές είναι ασυμβίβαστα.

Μετά από μακροχρόνιες έρευνες, στους τομείς των -omics έγινε κατανοητό πλέον ότι δεν πρέπει να εστιάζουμε μόνο την θεραπευτική προσπάθεια, δηλαδή στη νόσο αλλά και τον άνθρωπο (ολιστική προσέγγιση). Ο κάθε άνθρωπος έχει μοναδικά χαρακτηριστικά, ως ξεχωριστή οντότητα με διαφορετικό DNA. Αυτή η ποικιλομορφία αντιστοιχεί στη διαφορετική αντιμετώπιση που έχει το κάθε ανθρώπινο σύστημα προς στην αντίστοιχη γενικευμένη θεραπεία. Είναι βιβλιογραφικά τεκμηριωμένο, ότι κάποιοι άνθρωποι οργανισμοί έχουν αυξημένα επίπεδα του κυτοχρώματος P₄₅₀, που επάγει το μεταβολισμό των ξενοβιοτικών στον ανθρώπινο οργανισμό. Ετσι οι άνθρωποι με αυξημένα επίπεδα του κυτοχρώματος P₄₅₀ δεν μπορούν να λαμβάνουν την ίδια δόση με τους ασθενείς που έχουν φυσιολογικά επίπεδα, ούτε με αυτούς που έχουν χαμηλά επίπεδα.

Η συνύπαρξη πλέον των σύγχρονων επιστημονικών τομέων της Φαρμακογενετικής/Φαρμακογενωμικής, με τις κλασικές προσεγγίσεις της Φαρμακολογίας (Φαρμακοδυναμικής/Φαρμακοκινητικής, ADME) που αναπτύχθηκε στα προηγούμενα κεφάλαια, έρχεται να δώσει πειστικές απαντήσεις στα παραπάνω ευρήματα/ερωτήματα. Η Φαρμακογενετική (μελέτη των πολυμορφισμών του ανθρώπου στο βαθμό δράσης των φαρμάκων) και η Φαρμακογονιδιοματική (μελέτη ολόκληρου του ανθρώπινου γονιδιώματος ως προς τον βαθμό ανταπόκρισης στη φαρμακολογική λειτουργία), σε συνδυασμό με τη γνώση των πολυμορφισμών του DNA, την αξιοποίηση προγνωστικών/ διαγνωστικών βιοδεικτών για νεοπλασματικές νόσους, αυτοάνοσα κ.α. σοβαρά νοσήματα και την εκτεταμένη χρήση τεχνητής νοημοσύνης και βιοπληροφορικής είναι πολύ σημαντικά κλειδιά στη προσέγγιση της επιλογής της κατάλληλης και εξατομικευμένης φαρμακοθεραπείας.

Κατά συνέπεια, ο κάθε ασθενής ως ξεχωριστή οντότητα, πρέπει να αντιμετωπίζεται ατομικά. Πρέπει ο θεράπων ιατρός του να μπορεί να γνωρίζει όλα τα προσωπικά βιολογικά, παθολογικά και προσωπικά του στοιχεία ώστε να έχει μία ολοκληρωμένη εικόνα της κατάστασης του ασθενή του. Για αυτό το λόγο στο άμεσο μέλλον θα αρχίσει να εφαρμόζεται άμεσα ο ηλεκτρονικός φάκελος υγείας του κάθε ασθενή. Μέσα στον ηλεκτρονικό αυτό φάκελο θα μπορούν να εμπεριέχονται όλες οι εξετάσεις που έχει

κάνει, το ιστορικό με τις ασθένειες που έχει νοσήσει, καθώς και μία πλήρης εξέταση του DNA του. Με τα δεδομένα αυτά, ο θεράπων ιατρός θα μπορέσει να διαγνώσει με ένα πιο ασφαλή και γρήγορο τρόπο την αιτία του προβλήματος καθώς και την απαιτούμενη θεραπεία που πρέπει να ακολουθήσει ο ασθενής. Αυτό δυστυχώς δεν συμβαίνει ακόμη και σήμερα στις περισσότερες περιπτώσεις, διότι οι ασθενείς αντιμετωπίζονταν ως ένα σχεδόν απρόσωπο σύνολο και λαμβάνουν το θεραπευτικό σχήμα, σύμφωνα με την διαγνωσμένη ασθένεια τους. Αυτό είχε και έχει ως συνέπεια ενώ όλοι λαμβάνουν την ίδια θεραπεία (δόση, φάρμακο) να βλέπουμε διακυμάνσεις ως προς την επιτυχία της αντιμετώπισης της νόσου ως προς το χρόνο ή προς τον αριθμό των ασθενών.

Ένα άλλο σημαντικό θέμα που πρέπει να εμπλέκεται η Ιατρική της ακρίβειας είναι η μετεξέλιξη των ιών και των στελεχών τους με τη πάροδο των χρόνων. Το κλασικό παράδειγμα των στελεχών των ενδονοσοκομειακών ιογενών λοιμώξεων είναι χαρακτηριστικό. Δυστυχώς πολλά αντιβιοτικά δεν μπορούν να καταπολεμήσουν τα στελέχη αυτά όπως τα προηγούμενα χρόνια εξ αιτίας των μεταλλάξεων τους και την βαθμιαία αύξηση της ανθεκτικότητάς τους. Αυτό το φαινόμενο θα μπορούσε να εξαληφθεί εάν πριν πάρει ο κάθε ασθενής ένα αντιβιοτικό, ο ιατρός κατείχε τον ηλεκτρονικό ιατρικό φάκελο του.

Παραπέρα, η εξατομικευμένη θεραπεία πέρα των πολλών θετικών που μπορεί να προσφέρει πρέπει να εφαρμοστεί με μεγάλη προσοχή γιατί δυστυχώς η εφαρμογή της εμπεριέχει και κάποια αρνητικά στοιχεία. Το πιο επικίνδυνο σημείο που πρέπει να ληφθεί υπόψη από τον επιστήμονα υγείας είναι η απερίσκεπτη και χωρίς δικλείδες ασφαλείας διανομή των προσωπικών του δεδομένων σε «τρίτα» άτομα. Για να μπορέσει να λειτουργήσει επωφελώς το μοντέλο της εξατομικευμένης θεραπείας πρέπει το κάθε άτομο να έχει τον δικό του προσωπικό φάκελο υγείας με τα δικά του υγειονομικά δεδομένα. Ο φάκελος αυτός θα πρέπει να είναι στη διάθεση του θεράποντα ιατρού, εφόσον έχει τη συγκατάθεση του ασθενούς. Η κατοχή του με μη νόμιμο τρόπο αποτελεί παραβίαση των ιατρικών προσωπικών δεδομένων και οι ποινές που προβλέπονται από την σημερινή νομοθεσία είναι πολύ αυστηρές. Δεν μπορεί π.χ. μία ασφαλιστική εταιρεία να κατέχει τον ιατρικό φάκελο χωρίς τη συγκατάθεση του άμεσα εμπλεκόμενου. Και τούτο διότι ο συγκεκριμένος φάκελος εμπεριέχει πληροφορίες με εν δυνάμει μελλοντικές γενετικές αλλοιώσεις ή μεταλλάξεις που μπορεί να οδηγήσουν σε κάποια ασθένεια. Αν αυτές οι πληροφορίες γίνουν γνωστές σε τρίτους όπως π.χ σε ιδιωτική εταιρεία που έχει ενδιαφερθεί για την πρόσληψη του ατόμου, τότε δυστυχώς θα υπάρξει μία μεροληπτική στάση ως προς την πρόσληψη του.

Επομένως, η υιοθέτηση της εξατομικευμένης φαρμακοθεραπείας, από τα Συστήματα Υγείας, που θα στοχεύει στην σωστή επιλογή σκευάσματος-δοσολογίας, παράλληλα με την πρόβλεψη ανεπιθύμητων ενεργειών σε προσωπικό επίπεδο, θα βελτιώσει ποιοτικά την παρεχόμενη υγειονομική περίθαλψη, με ταυτόχρονη μείωση του κόστους,

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑ- ΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

αφού ο ασθενής θα μπορεί να διαγνωστεί, σε συντομότερο χρόνο και με μεγαλύτερη ακρίβεια και λιγότερες παρενέργειες.

Αλλά, με την αυστηρή προϋπόθεση, ότι οι προσωπικές ιατρικές πληροφορίες που εμπεριέχονται στους φακέλους αυτούς θα πρέπει να φυλάσσονται και να διακινούνται με εξασφαλισμένη ασφάλεια, εμπιστευτικότητα και διακριτικότητα.

Για τη υλοποίηση όλων των παραπάνω, απαραίτητη και ικανή συνθήκη είναι αφενός η δημιουργία κεντρικών εξειδικευμένων και αξιόπιστων εργαστηρίων μοριακής διαγνωστικής, που θα συνεργάζονται με τα περιφερικά νοσοκομεία και αφ' ετέρου η εκπαίδευση/αποδοχή στις νέες τεχνολογίες γενωμικής, ο συντονισμός του ιατρικού, του ερευνητικού, του φαρμακευτικού/εργαστηριακού και νοσηλευτικού προσωπικού σε τοπική και διεθνή κλίμακα.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rang HP, D.M., Ritter JM & Gardner P., *Pharmacology*. 7th ed ed. 2011, New York: Churchill Livingstone.
2. Alcorn, J. and P.J. McNamara, *Pharmacokinetics in the newborn*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003. **55**(5): p. 667-86.
3. Katzung, B.G., *Basic & Clinical Pharmacology*. 12th ed ed. 2012, New York: McGraw-Hill.
4. Beierle, I., B. Meibohm, and H. Derendorf, *Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics*. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 1999. **37**(11): p. 529-47.
5. T., C.V.B., *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition*. *Transmembrane movement of drug molecules, The distribution of drugs*, ed. H.G.M.a.E.L.W. B.N.La Du. 1979, Melbourne: Krieger Publishing Co.
6. Conner, S.D. and S.L. Schmid, *Regulated portals of entry into the cell*. *Nature*, 2003. **422**(6927): p. 37-44.
7. Evans, W.E., *Pharmacogenomics: marshalling the human genome to individualise drug therapy*. *Gut*, 2003. **52 Suppl 2**: p. ii10-8.
8. Clark, D.E. and P.D. Grootenhuys, *Predicting passive transport in silico--history, hype, hope*. *Curr Top Med Chem*, 2003. **3**(11): p. 1193-203.
9. Reidenberg, M.M., *Evolving ways that drug therapy is individualized*. *Clin Pharmacol Ther*, 2003. **74**(3): p. 197-202.
10. Margolskee, A., et al., *IMI - Oral biopharmaceutics tools project - Evaluation of bottom-up PBPK prediction success part 2: An introduction to the simulation exercise and overview of results*. *Eur J Pharm Sci*, 2017. **96**: p. 610-625.
11. H, D.J.L., *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. *Oral Drug Absorption: Prediction and Assessment*, ed. D.J.L. H. 2000, New York: Marcel Dekker.
12. Hilal-Dandan R, B.L., *Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*, ed. S. Edition. 2014, New York: McGraw-Hill Education.
13. KA, W., *Dermatological and Transdermal Formulations*. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*. 2002, New York: Marcel Dekker.
14. Zhang, Y. and L.Z. Benet, *The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein*. *Clin Pharmacokinet*, 2001. **40**(3): p. 159-68.
15. Ansel HC, A.L.P.N., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 7th ed ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2004, Baltimore.
16. Miyake, M.M. and B.S. Bleier, *The blood-brain barrier and nasal drug delivery to the central nervous system*. *Am J Rhinol Allergy*, 2015. **29**(2): p. 124-7.
17. Langer, R., *Drug delivery and targeting*. *Nature*, 1998. **392**(6679 Suppl): p. 5-10.
18. T., B., *Fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition*. *The distribution of drugs*, ed. B.N. La Du, Mandel, H.G. and Way, E.L. 1979, Melbourne.
19. WM., S., *Drug Delivery: Engineering Principles for Drug Therapy*. 2001, New York: Oxford University Press.
20. Ayrtton, A. and P. Morgan, *Role of transport proteins in drug absorption, distribution and excretion*. *Xenobiotica*, 2001. **31**(8-9): p. 469-97.
21. Bertucci, C. and E. Domenici, *Reversible and covalent binding of drugs to human serum albumin: methodological approaches and physiological relevance*. *Curr Med Chem*, 2002. **9**(15): p. 1463-81.
22. Benet, L.Z., *Understanding bioequivalence testing*. *Transplant Proc*, 1999. **31**(3A Suppl): p. 7S-9S.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

23. Begley, D.J. and M.W. Brightman, *Structural and functional aspects of the blood-brain barrier*. *Prog Drug Res*, 2003. **61**: p. 39-78.
24. de Boer, A.G., I.C. van der Sandt, and P.J. Gaillard, *The role of drug transporters at the blood-brain barrier*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003. **43**: p. 629-56.
25. Hendricks, B.K., A.A. Cohen-Gadol, and J.C. Miller, *Novel delivery methods bypassing the blood-brain and blood-tumor barriers*. *Neurosurg Focus*, 2015. **38**(3): p. E10.
26. Garland, M., *Pharmacology of drug transfer across the placenta*. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 1998. **25**(1): p. 21-42.
27. Briggs, G.G., *Drug effects on the fetus and breast-fed infant*. *Clin Obstet Gynecol*, 2002. **45**(1): p. 6-21.
28. Champe, M.J.M.R.A.H.P.C., *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*. 2 ed. 1997, 227 East Washington Square, Philadelphia, PA 19106-3780 U.S.A: Lippincott-Raven Publishers.
29. Lennard, M.S., *Genetically determined adverse drug reactions involving metabolism*. *Drug Saf*, 1993. **9**(1): p. 60-77.
30. Goldstein, D.B., S.K. Tate, and S.M. Sisodiya, *Pharmacogenetics goes genomic*. *Nat Rev Genet*, 2003. **4**(12): p. 937-47.
31. Bressler, R. and J.J. Bahl, *Principles of drug therapy for the elderly patient*. *Mayo Clin Proc*, 2003. **78**(12): p. 1564-77.
32. Currie, G.M., *Pharmacology, Part 1: Introduction to Pharmacology and Pharmacodynamics*. *J Nucl Med Technol*, 2018. **46**(2): p. 81-86.
33. Rang H, D.M., Ritter J, Flower R., *Rang and Dale's Pharmacology*. 6th ed. Vol. 3. 2008, London, U.K.
34. Waller D, R.A., Hillier K., *Medical Pharmacology and Therapeutics*. 2nd ed. Vol. 3. 2006, London, U.K.: Elsevier.
35. Bryant B, K.K., Salerno E., *Pharmacology for Health Professionals*. 2nd ed. Vol. 1. 2007, Sydney, Australia: Mosby Elsevier.
36. B., G., *Rapid Revision in Clinical Pharmacology*. Vol. 4. 2008, New York, NY: Radcliffe Publishing.
37. Golan DE, T.A., Armstrong EJ, Armstrong AW, *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. 3rd ed. Vol. 1. 2012, Philadelphia, PA: Lippincott, Williams & Wilkins.
38. WE., S., *The dose makes the medicine*. *Drug Discov Today*, 2006. **11**.
39. Patrick, G.L., *An Introduction to Medicinal Chemistry*. 4th ed. 2009: Oxford University Press.
40. Lemke, T.L., Williams, D. A., Roche, V. F., Zito, S. W., *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*. 6 ed. 2008: Lippincott Williams & Wilkins.
41. Denison, M.S. and S.R. Nagy, *Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003. **43**: p. 309-34.
42. T, F.J.J., *Textbook of Receptor Pharmacology*. 2 ed. 2002: Boca Raton: CRC Press.
43. Pandit, N. and R. Soltis, *Introduction to the Pharmaceutical Sciences: An Integrated Approach*. 2 ed. 2011, Baltimore: MD: Lippincott Williams & Wilkins.
44. Meibohm, B., I. Beierle, and H. Derendorf, *Clin. Pharmacokinet*. Vol. How important are gender differences in pharmacokinetics? 2002. 329-342.
45. Willson, T. and S. Kliewer, *PXR, CAR and drug metabolism*. *Nat. Rev. Drug Discov*, 2002. **1**: p. 259.
46. Hardman, J. and L. Limbard, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed. 12. 2011, New York: McGraw-Hill.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

47. Walsh , C. and R. Schwartz-Bloom, *Pharmacology: Drug Actions and Reactions (LEVINE)*. 2004, New York, London: Taylor & Francis.
48. Waller, D. and T. Sampson, *Medical Pharmacology and Therapeutics*. 4th ed. 2014: Elsevier.
49. Guengerich, F.P., Update information on human P450s. *Drug Metab Rev*, 2002. **34**(1-2): p. 7-15.
50. Lewis , D., *Guide to Cytochromes P450: Structure & Function*. 2001, London: Taylor & Francis.
51. Konstandi M, M.M., Radon-Camus AM, Johnson E & Lang MA, The role of stress in the regulation of drug metabolizing enzymes in mice. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 1998. **23**: p. 483-490.
52. Marselos, M., Genetic variation of drug-metabolizing enzymes in the wistar rat. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 1976. **39**(2): p. 186-97.
53. Marselos M, T.R., Koivula T & Koivusalo M., Comparison of phenobarbital and carcinogeninduced aldehyde dehydrogenases in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1979. **583**: p. 110-118.
54. Marselos M, S.S.M.G., Enhancement of aldehyde dehydrogenase activity in human and rat hepatocyte cultures by 3-methyl-cholanthrene. *Cell Biology and Toxicology*, 1986. **2**: p. 257-269.
55. Marselos, M. and G. Michalopoulos, Phenobarbital enhances the aldehyde dehydrogenase activity in rat hepatocytes in vitro and in vivo. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 1986. **59**: p. 403-409.
56. Pappas P, et al., *Molecular Pathology of Alcoholism*. Vol. Changes in the inducibility of a hepatic aldehyde dehydrogenase after treatment with a glutathione depletor. 1991: NATO ASI Series.
57. Pappas, P., et al., Responses of rat liver cytosolic aldehyde dehydrogenase to toxic chemicals, glutathione depletion, and other forms of stress. *Biochemical Pharmacology*, 1994. **48**.
58. Pappas, P., et al., Zoxazolamine paralysis in two rat substrains - Differences of hepatic drug metabolism. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 1998. **23**: p. 461-467.
59. Marselos M, A.P., Lang M & Törrönen R., Studies on the mechanism by which disulfiram and diethyldithiocarbamate affect drug metabolism,. *Microsomes and Drug Oxidations*, 1977: p. 589-596.
60. Conney, A.H., Induction of drug-metabolizing enzymes: a path to the discovery of multiple cytochromes P450. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003. **43**: p. 1-30.
61. Guengerich, F.P., Cytochrome P-450 3A4: regulation and role in drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1999. **39**: p. 1-17.
62. Lang, M., M. Marselos, and R. Torronen, Modifications of drug metabolism by disulfiram and diethyldithiocarbamate. I. Mixed-function oxygenase. *Chem Biol Interact*, 1976. **15**(3): p. 267-76.
63. Bock, K.W., Vertebrate UDP-glucuronosyltransferases: functional and evolutionary aspects. *Biochem Pharmacol*, 2003. **66**(5): p. 691-6.
64. Denison, M.S. and S.R. Nagy, Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003. **43**: p. 309-34.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

65. Pappas, P., et al., *Studies on the induction of rat class 3 aldehyde dehydrogenase*, In: *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism* 5. Vol. 372, *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1995, New York: Plenum Press.
66. Marselos, M., M. Lang, and R. Torronen, *Modifications of drug metabolism by disulfiram and diethyldithiocarbamate. II. D-Glucuronic acid pathway*. *Chem Biol Interact*, 1976. **15**(3): p. 277-87.
67. Tukey, R. and C. Strassburg *Human UDP-glucuronyltransferases: metabolism, expression, and disease*. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 2000. **40**: p. 581-616.
68. Manolio TA (2010) *Genomewide association studies and assessment of the risk of disease*. *N Engl J Med* 363(2):166-176. doi:10.1056/NEJMra0905980.
69. Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, Collins R (2008) *SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study*. *N Engl J Med* 359(8):789-799. doi:10.1056/NEJMoa0801936.
70. Verschuren JJ, Trompet S, Wessels JA, Guchelaar HJ, de Maat MP, Simoons ML, Jukema JW (2012) *A systematic review on pharmacogenetics in cardiovascular disease: is it ready for clinical application?* *Eur Heart J* 33(2):165-175. doi:10.1093/eurheartj/ehr239
71. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown G, Chao C, Chitipiralla S, et al. *ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants*. *Nucleic Acids Res*. 2016 Jan 4; 44(Database issue):D862-D868. [PubMed: 26582918].
72. Rehm HL PhD, Berg JS, Brooks LD, Bustamante CD, Evans JP, Landrum MJ, et al. *ClinGen — The Clinical Genome Resource*. *N Eng J Med*. 2015; 372:2235-2242.
73. [Accessed December 6, 2017]. <http://exac.broadinstitute.org/about>
74. *Roundtable on Translating Genomic-Based Research for Health; Board on Health Sciences Policy; Institute of Medicine. Genomics-Enabled Learning Health Care Systems: Gathering and Using Genomic Information to Improve Patient Care and Research: Workshop Summary*. National Academies Press; Washington, DC: 2015.
75. Ginsburg GS. *Medical Genomics: Gather and Use Genetic Data in Health Care*. *Nature*. 2014 Apr 24. 508:451-453. [PubMed: 24765668].
76. Trusheim MR, Berndt ER, Douglas FL (2007) *Stratified medicine: strategic and economic implications of combining drugs and clinical biomarkers*. *Nat Rev Drug Discov* 6(4):287-293. doi:10.1038/nrd2251
77. Buchner AM, Blonski W, Lichtenstein GR (2011) *Update on the management of Crohn's disease*. *Curr Gastroenterol Rep* 13(5):465-474. doi:10.1007/s11894-011-0220-x
78. Cottone M, Orlando A, Renna S (2010) *Investigational agents for Crohn's disease*. *Expert Opin Investig Drugs* 19(10):1147-1159. doi:10.1517/13543784.2010.510513
79. *Biomarkers Definitions Working Group (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. *Clin Pharmacol Ther* 69(3):89-95. doi:10.1067/mcp.2001.113989
80. Hicks T, Coquoz R (2009) *Forensic DNA evidence*. In: Li SZ (ed) *Encyclopedia of biometrics*. Springer, New York, pp 573-579

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

81. Food and Drug Administration (2011) *In vitro* companion diagnostic devices. [http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/Device RegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM262327.pdf](http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/Device%20RegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM262327.pdf). Last accessed Feb 13, 2012
82. Kroll W (2008) Biomarkers—predictors, surrogate parameters—a concept definition. In: Schmitz G, Endres S, Goette D (eds) *Biomarker*. Schattauer, Stuttgart, pp 1–14
83. Bock C (2009) Epigenetic biomarker development. *Epigenomics* 1(1):99–110. doi:10.2217/epi.09.6
84. Buyse M, Michiels S, Sargent DJ, Grothey A, Matheson A, de Gramont A (2011) Integrating biomarkers in clinical trials. *Expert Rev Mol Diagn* 11(2):171–182. doi:10.1586/erm.10.120
85. Janssens AC, van Duijn CM (2008) Genome-based prediction of common diseases: advances and prospects. *Hum Mol Genet* 17(R2):R166–R173. doi: [10.1093/hmg/ddn250](https://doi.org/10.1093/hmg/ddn250)
86. Sistare FD, Dieterle F, Troth S, Holder DJ, Gerhold D, Andrews-Cleavenger D, Baer W, Betton G, Bounous D, Carl K, Collins N, Goering P, Goodsaid F, Gu YZ, Guilpin V, Harpur E, Hassan A, Jacobson-Kram D, Kasper P, Laurie D, Lima BS, Maciulaitis R, Mattes W, Maurer G, Obert LA, Ozer J, Papaluca-Amati M, Phillips JA, Pinches M, Schipper MJ, Thompson KL, Vamvakas S, Vidal JM, Vonderscher J, Walker E, Webb C, Yu Y (2010) Towards consensus practices to qualify safety biomarkers for use in early drug development. *Nat Biotechnol* 28(5):446–454. doi:10.1038/nbt.1634
87. Egerer K, Feist E, Burmester GR (2009) The serological diagnosis of rheumatoid arthritis: antibodies to citrullinated antigens. *Dtsch Arztebl Int* 106(10):159–163. doi: [10.3238/arztebl.2009.0159](https://doi.org/10.3238/arztebl.2009.0159)
88. Slodkowska EA, Ross JS (2009) MammaPrint 70-gene signature: another milestone in personalized medical care for breast cancer patients. *Expert Rev Mol Diagn* 9(5):417–422. doi: [10.1586/erm.09.32](https://doi.org/10.1586/erm.09.32)
89. Holmes JA, Desmond PV, Thompson AJ (2011) Redefining baseline demographics: the role of genetic testing in hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 15(3):497–513. doi: [10.1016/j.cld.2011.05.009](https://doi.org/10.1016/j.cld.2011.05.009)
90. Thomas DL, Bartlett JG, Peters MG, Sherman KE, Sulkowski MS, Pham PA (2012) Provisional guidance on the use of hepatitis C virus protease inhibitors for treatment of hepatitis C in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. doi: [10.1093/cid/cir882](https://doi.org/10.1093/cid/cir882)
91. Krijgsman O, Roepman P, Zwart W, Carroll JS, Tian S, de Snoo FA, Bender RA, Bernards R, Glas AM (2012) A diagnostic gene profile for molecular subtyping of breast cancer associated with treatment response. *Breast Cancer Res Treat* 133(1):37–47. doi: [10.1007/s10549-011-1683-z](https://doi.org/10.1007/s10549-011-1683-z)
92. Keedy VL, Temin S, Somerfield MR, Beasley MB, Johnson DH, McShane LM, Milton DT, Strawn JR, Wakelee HA, Giaccone G (2011) American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation testing for patients with advanced non-small-cell lung cancer considering first-line EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy. *J Clin Oncol* 29(15):2121–2127. doi: [10.1200/JCO.2010.31.8923](https://doi.org/10.1200/JCO.2010.31.8923)
93. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, Simes RJ, Chalchal H, Shapiro JD, Robitaille S, Price TJ, Shepherd L, Au HJ, Langer C, Moore MJ, Zalberg JR (2008) K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 359(17):1757–1765. doi: [10.1056/NEJMoa0804385](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0804385)

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

94. Ma M, Zhu H, Zhang C, Sun X, Gao X, Chen G. "Liquid biopsy"-ctDNA detection with great potential and challenges. *Ann. Transl. Med.* 3(16), 235 (2015).
95. Kawaguchi T, Holland WS, Gumerlock PH. Methods for isolation and genetic analysis of circulating tumor DNA in patient plasma. *Methods Mol. Med.* 85, 257–262 (2003)
96. Alix-Panabieres C, Pantel K. Challenges in circulating tumour cell research. *Nat. Rev. Cancer.* 2014;14(9):623–631. [[PubMed](#)]. [[Google Scholar](#)].• This report proposes a conceptual framework of circulating tumor cells assays and point out current challenges of circulating tumor cell research, which might structure this dynamic field of translational cancer research.
97. Kosaka N. Decoding the secret of cancer by means of extracellular vesicles. *J. Clin. Med.* 2016;5(2):22.
98. Aceto N, Bardia A, Miyamoto DT, et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell.* 2014;158(5):1110–1122.
99. Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *N. Engl. J. Med.* 2008;359(4):366–377.
100. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann. Oncol.* 2009;20(7):1223–1229.
101. Stott SL, Lee RJ, Nagrath S, et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer. *Sci. Transl. Med.* 2010;2(25):25ra23.
102. Krebs MG, Hou JM, Sloane R, et al. Analysis of circulating tumor cells in patients with non-small cell lung cancer using epithelial marker-dependent and - 95. independent approaches. *J. Thorac. Oncol.* 2012;7(2):306–315.
103. Yu M, Bardia A, Wittner BS, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Science.* 2013;339(6119):580–584.
104. Tjensvoll K, Nordgard O, Smaaland R. Circulating tumor cells in pancreatic cancer patients: methods of detection and clinical implications. *Int. J. Cancer.* 2014;134(1):1–8.
105. Sullivan JP, Nahed BV, Madden MW, et al. Brain tumor cells in circulation are enriched for mesenchymal gene expression. *Cancer Discov.* 2014;4(11):1299–1309.
106. Luo X, Mitra D, Sullivan RJ, et al. Isolation and molecular characterization of circulating melanoma cells. *Cell Rep.* 2014;7(3):645–653.
107. Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2011;29(12):1556–1563.
108. Normanno N, Rossi A, Morabito A, et al. Prognostic value of circulating tumor cells' reduction in patients with extensive small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2014;85(2):314–319.
109. Igawa S, Gohda K, Fukui T, et al. Circulating tumor cells as a prognostic factor in patients with small cell lung cancer. *Oncol. Lett.* 2014;7(5):1469–1473.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

110. Hamilton G, Rath B, Holzer S, Hochmair M. Second-line therapy for small cell lung cancer: exploring the potential role of circulating tumor cells. *Transl. Lung Cancer Res.* 2016;5(1):71–77.
111. Naito T, Tanaka F, Ono A, et al. Prognostic impact of circulating tumor cells in patients with small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2012;7(3):512–519.
112. Figg WD, 2nd, Reid J. Monitor tumor burden with circulating tumor DNA. *Cancer Biol. Ther.* 2013;14(8):697–698.
113. Diaz LA, Jr, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J. Clin. Oncol.* 2014;32(6):579–586.
114. Mouliere F, Robert B, Arnau Peyrotte E, et al. High fragmentation characterizes tumour-derived circulating DNA. *PLoS ONE.* 2011;6(9):e23418.
115. Mauger F, Dulary C, Daviaud C, Deleuze JF, Tost J. Comprehensive evaluation of methods to isolate, quantify, and characterize circulating cell-free DNA from small volumes of plasma. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015;407(22):6873–6878.
116. Benesova L, Belsanova B, Suchanek S, et al. Mutation-based detection and monitoring of cell-free tumor DNA in peripheral blood of cancer patients. *Anal. Biochem.* 2013;433(2):227–234.
117. Diehl F, Li M, Dressman D, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005;102(45):16368–16373.
118. Xue X, Teare MD, Holen I, Zhu YM, Woll PJ. Optimizing the yield and utility of circulating cell-free DNA from plasma and serum. *Clin. Chim. Acta.* 2009;404(2):100–104.
119. Thress KS, Brant R, Carr TH, et al. EGFR mutation detection in ctDNA from NSCLC patient plasma: a cross-platform comparison of leading technologies to support the clinical development of AZD9291. *Lung Cancer.* 2015;90(3):509–515.
120. Marchetti A, Palma JF, Felicioni L, et al. Early prediction of response to tyrosine kinase inhibitors by quantification of EGFR mutations in plasma of NSCLC patients. *J. Thorac. Oncol.* 2015;10(10):1437–1443.
121. Fenizia F, De Luca A, Pasquale R, et al. EGFR mutations in lung cancer: from tissue testing to liquid biopsy. *Future Oncol.* 2015;11(11):1611–1623.
122. Luo J, Shen L, Zheng D. Diagnostic value of circulating free DNA for the detection of EGFR mutation status in NSCLC: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 2014;4:6269.
123. Bordi P, Del Re M, Tiseo M. Crizotinib resensitization by compound mutation. *N. Engl. J. Med.* 2016;374(18):1790.
124. Liang W, He Q, Chen Y, et al. Metastatic EML4–ALK fusion detected by circulating DNA genotyping in an EGFR-mutated NSCLC patient and successful management by adding ALK inhibitors: a case report. *BMC Cancer.* 2016;16:62.
125. Begum S, Brait M, Dasgupta S, et al. An epigenetic marker panel for detection of lung cancer using cell-free serum DNA. *Clin. Cancer Res.* 2011;17(13):4494–4503.
126. Wielscher M, Vierlinger K, Kegler U, Ziesche R, Gsur A, Weinhausel A. Diagnostic performance of plasma DNA methylation profiles in lung cancer, pulmonary fibrosis and COPD. *EBioMedicine.* 2015;2(8):927–934.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

127. Zhang Y, Wang R, Song H, et al. Methylation of multiple genes as a candidate biomarker in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2011;303(1):21–28.
128. Nie K, Jia Y, Zhang X. Cell-free circulating tumor DNA in plasma/serum of non-small cell lung cancer. *Tumour Biol.* 2015;36(1):7–19.
129. Zhang Y, Wang R, Song H, et al. Methylation of multiple genes as a candidate biomarker in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett.* 2011;303(1):21–28.
130. Lee SM, Park JY, Kim DS. Methylation of TMEFF2 gene in tissue and serum DNA from patients with non-small cell lung cancer. *Mol. Cells.* 2012;34(2):171–176.
131. Zhang YW, Miao YF, Yi J, Geng J, Wang R, Chen LB. Transcriptional inactivation of secreted frizzled-related protein 1 by promoter hypermethylation as a potential biomarker for non-small cell lung cancer. *Neoplasma.* 2010;57(3):228–233.
132. Hoffmann AC, Vallbohmer D, Prenzel K, et al. Methylated DAPK and APC promoter DNA detection in peripheral blood is significantly associated with apparent residual tumor and outcome. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2009;135(9):1231–1237.
133. Li M, Chen WD, Papadopoulos N, et al. Sensitive digital quantification of DNA methylation in clinical samples. *Nat. Biotechnol.* 2009;27(9):858–863.
134. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.* 2007;9(6):654–659.
135. Balaj L, Lessard R, Dai L, et al. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. *Nat. Commun.* 2011;2:180.
136. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(16):7223–7233.
137. Nolte-'t Hoen EN, Buermans HP, Waasdorp M, Stoorvogel W, Wauben MH, T Hoen PA. Deep sequencing of RNA from immune cell-derived vesicles uncovers the selective incorporation of small non-coding RNA biotypes with potential regulatory functions. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(18):9272–9285.
138. De Toro J, Herschlik L, Waldner C, Mongini C. Emerging roles of exosomes in normal and pathological conditions: new insights for diagnosis and therapeutic applications. *Front Immunol.* 2015;6:203.
139. Sharma A, Khatun Z, Shiras A. Tumor exosomes: cellular postmen of cancer diagnosis and personalized therapy. *Nanomedicine (Lond.)* 2016;11(4):421–437.
140. Fontana S, Saieva L, Taverna S, Alessandro R. Contribution of proteomics to understanding the role of tumor-derived exosomes in cancer progression: state of the art and new perspectives. *Proteomics.* 2013;13(10–11):1581–1594.
141. Collins I., & Workman P. New approaches to molecular cancer therapeutics. *Nat. Chem. Biol.* 2006;2:689–700.
142. Hoelder S., Clarke P.A., & Workman P. Discovery of small molecule cancer drugs: successes, challenges and opportunities. *Mol. Oncol.* 2012;6:155–176.
143. Vardiman, J.W. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes *Blood* 114937–951.2009

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

144. Thway K. et al. Utility of sarcoma-specific fusion gene analysis in paraffin-embedded material for routine diagnosis at a specialist centre *J. Clin. Pathol* 63:508–512.2010
145. Gonzalez D. et al. Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial *J. Clin. Oncol* 29:2223–2229.2011
146. Pospisilova S. et al. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia *Leukemia* 26:1458–1461.2012
147. Oscier D. et al. Prognostic factors identified three risk groups in the LRF CLL4 trial, independent of treatment allocation *Haematologica* 95:1705–1712.2010
148. Gonzalez D. et al. CLLU1 expression has prognostic value in CLL after first-line therapy in younger patients and those with mutated IGHV genes *Haematologica* 2012e-pub ahead of print 16 August 2012
149. Paik S. et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer *N. Engl. J. Med* 351:2817–2826.2004
150. Glas A.M. et al. Converting a breast cancer microarray signature into a high-throughput diagnostic test *BMC Genomics* 7:278.2006
151. Bartlett J.M. et al. Mammostrat as an Immunohistochemical Multigene Assay for Prediction of Early Relapse Risk in the Tamoxifen Versus Exemestane Adjuvant Multicenter Trial Pathology Study *J. Clin. Oncol* 2012e-pub ahead of print 8 October 2012
152. Cuzick J. et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer *J. Clin. Oncol* 29:4273–4278.2011
153. Kantarjian H.M. et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION) *Blood* 119:1123–1129.2012
154. Kantarjian H.M. et al. Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukaemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial *Lancet Oncol* 12:841–851.2011
155. Schrappe M. et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study *Blood* 118:2077–2084.2011
156. Conter V. et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study *Blood* 115:3206–3214.2010
157. Su K.Y. et al. Pretreatment epidermal growth factor receptor (EGFR) T790M mutation predicts shorter EGFR tyrosine kinase inhibitor response duration in patients with non-small-cell lung cancer *J. Clin. Oncol* 30:433–440.2012
158. Gerlinger M. et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing *N. Engl. J. Med* 366:883–892.2012

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

159. Anderson K. et al. Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia *Nature* 469:356–361. 2011
160. Kim E.S. et al. The BATTLE trial: personalizing therapy for lung cancer *Cancer Discov* 1:44–53. 2011
161. Dietrich S., Glimm H., Andrulis M., von Kalle C., Ho A.D., & Zenz T. BRAF inhibition in refractory hairy-cell leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2012;366:2038–2040.
162. Prahallad A. et al. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR *Nature* 483:100–103. 2012
163. European Medicines Agency (1998b) ICH Topic E8: general considerations for clinical trials. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002877.pdf. Last accessed Feb 13, 2012
164. Pepe MS. The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction. New York: Oxford University Press; 2003
165. Pepe MS, Etzioni R, Feng Z, Potter JD, Thompson ML, Thornquist M, Winget M, Ya sui Y. Phases of biomarker development for early detection of cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(14):1054–1061. doi: 10.1093/jnci/93.14.1054.
166. Baker SG, Kramer BS, McIntosh M, Patterson BH, Shyr Y, Skates S. Evaluating markers for the early detection of cancer: overview of study designs and methods. *Clin Trials.* 2006;3(1):43–56. doi: 10.1191/1740774506cn130oa.
167. Riley RD, Sauerbrei W, Altman DG. Prognostic markers in cancer: the evolution of evidence from single studies to meta-analysis, and beyond. *Br J Cancer.* 2009;100(8):1219–1229. doi: 10.1038/sj.bjc.6604999.
168. Wang SJ, O'Neill RT, Hung HJ. Statistical considerations in evaluating pharmacogenomics-based clinical effect for confirmatory trials. *Clin Trials.* 2010;7(5):525–536. doi: 10.1177/1740774510375455.
169. Kopnin B.P. *Biochimica.* 2000;65(1):5–33.
170. Campbell S.L., Khosravi-Far R., Rossman K.L., et al. *Oncogene.* 1998;17(11):1395–1413.
171. Bishop J.M. *Adv. Cancer Res.* 1982;37:1–32.
172. Bouchard C., Staller P., Eilers M., et al. *Trends Cell Biol.* 1998;8(5):202–206.
173. Jaken S. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1996;8(2):168–173.
174. Deacon E.M., Pongracz J., Griffiths G., Lord J.M. *Mol. Pathol.* 1997;50(3):124–131.
175. Rosenberg M.E., Silkensen J. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1995;27(7):633–645.
176. Humphreys D.T., Carver J.A., Easterbrook-Smith S.B., Wilson M.R. *J. Biol. Chem.* 1999;274(11):6875–6881.
177. Blakesley V.A., Stannard B.S., Kalebic T., et al. *J. Endocrinol.* 1997;152(3):339–344.
178. Guo Y.S., Jin G.F., Houston C.W., et al. *J. Cell Physiol.* 1998;175(2):141–148.
179. Singleton J.R., Dixit V.M., Feldman E.L., et al. *J. Biol. Chem.* 1996;271(50):31791–31794.
180. Decaudin D., Geley S., Hirsch T., et al. *Cancer Res.* 1997;57(1):62–67.
181. Altieri D.C. *Trends Mol. Med.* 2001;7(12):542–547.
182. Altieri D.C., Marchisio P.C. *Lab. Invest.* 1999;79(11):1327–1333.
183. Rowley J.D. *Nature.* 1973;243(5405):290–293.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

184. Lugo T.G., Pendergast A.M., Muller A.J., Witte O.N. *Science*. 1990;247(4946):1079–1082.
185. Daum G., Eisenmann-Tappe I., Fries H.W., et al. *Trends Biochem. Sci.* 1994;19(11):474–480.
186. Downward J. *Nat. Cell Biol.* 1999;1(2):E33–E35.
187. Stavrovskaya A. *Biochimia*. 2000;65(1):95–106.
188. Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. *Nat. Rev. Cancer*. 2002;2(1):48–58.
189. Ambudkar S.V., Kimchi-Sarfaty C., Sauna Z.E. *Oncogene*. 2003;22(47):7468–7485.
190. Szyf M. *Drug Resist. Updat.* 2003;6(6):341–353.
191. Adams R.L., McKay E.L., Craig L.M., Burdon R.H. *Biochim. Biophys. Acta*. 1979;563(1):72–81.
192. Bryan T.M., Cech T.R. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1999;11(3):318–324.
193. Engström Y., Eriksson S., Jildevik I., et al. *J. Biol. Chem.* 1985;260(16):9114–9116.
194. Dvorak H.F., Brown L.F., Detmar M., Dvorak A.M. *Am. J. Pathol.* 1995;146(5):1029–1039.
195. Zachary I., Glikli G. *Cardiovasc. Res.* 2001;49(3):568–581.
196. Stern D.F., Heffernan P.A., Weinberg R.A. *Mol. Cell Biol.* 1986;6(5):1729–1740.
197. Di Fiore P.P., Pierce J.H., Fleming T.P., et al. *Cell*. 1987;51(6):1063–1070.
198. De Benedetti A., Graff J.R. *Oncogene*. 2004;23(18):3189–3199.
199. Mamane Y., Petroulakis E., Rong L., et al. *Oncogene*. 2004;23(18):3172–3179.
200. Gingras A.C., Kennedy S.G., O'Leary M.A., et al. *Genes Dev.* 1998;12(4):502–513.
201. Li Y.S., Milner P.G., Chauhan A.K., et al. *Science*. 1990;250(4988):1690–1694.
202. Wellstein A., Fang W.J., Khatrri A., et al. *J. Biol. Chem.* 1992;267(4):2582–2587.
203. Kojima S., Inui T., Muramatsu H., et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995;216(2):574–581.
204. Morris S.W., Kirstein M.N., Valentine M.B., et al. *Science*. 1994;263(5151):1281–1284.
205. Ochieng J., Fridman R., Nangia-Makker P., et al. *Biochemistry*. 1994;33(47):14109–14114.
206. Sires U.I., Griffin G.L., Broekelmann T.J., et al. *J. Biol. Chem.* 1993;268(3):2069–2074.
207. Bernhard E.J., Muschel R.J., Hughes E.N. *Cancer Res.* 1990;50(13):3872–3877.
208. Gospodarowicz D., Ferrara N., Schweigerer L., et al. *Endocr. Rev.* 1987;8(2):95–114.
209. Huang R.P., Fan Y., de Belle I., et al. *Int. J. Cancer*. 1997;72(1):102–109.
210. Gill P.K., Gescher A., Gant T.W. *Eur. J. Biochem.* 2001;268(15):4151–4157.
211. Tsutsumi K., Kasaoka T., Park H.M., et al. *Int. J. Oncol.* 2008;33(1):215–224.
212. Liang Z., Yoon Y., Votaw J., et al. *Cancer Res.* 2005;65(3):967–971.
213. Dimopoulos MA, Richardson PG, Moreau P, Anderson KC. Current treatment landscape for relapsed and/or refractory multiple myeloma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015;12(1):42–54.
214. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2016 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2016;91(7):720–734.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

215. Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Zeldenrust SR, Dingli D, Russell SJ, Lust JA, Greipp PR, Kyle RA, Gertz MA. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008;111(5):2516–2520.
216. Tai YT, Anderson KC. Targeting B-cell maturation antigen in multiple myeloma. *Immunotherapy*. 2015;7(11):1187–1199.
217. Ormh JM, Bedoya F, Frigault MJ, Maus MV. CARs in the lead against multiple myeloma. *Curr Hematol Malig Rep*. 2017;12(2):119–125.
218. Palumbo A, Anderson K. Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 2011;364(11):1046–1060.
219. Liu H, Pan Y, Meng S, Zhang W, Zhou F. Current treatment options of T cell-associated immunotherapy in multiple myeloma. *Clin Exp Med*. 2017;17(4):431–439.
220. Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, Pandey S, Kapoor P, Dingli D, Hayman SR, Leung N, Lust J, McCurdy A, Russell SJ, Zeldenrust SR, Kyle RA, Rajkumar SV. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia*. 2014;28(5):1122–1128.
221. Elgueta R, de Vries VC, Noelle RJ. The immortality of humoral immunity. *Immunol Rev*. 2010;236:139–150.
222. Dhodapkar MV, Borrello I, Cohen AD, Stadtmauer EA. Hematologic Malignancies: plasma cell disorders. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2017;37:561–568.
223. Al-Hujaily EM, Oldham R, Hari P, Medin JA. Development of novel immunotherapies for multiple myeloma. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1506.
224. Ayed AO, Chang L-J, Moreb J. Immunotherapy for multiple myeloma: current status and future directions. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015;96(3):399–412.
225. Köhler M, Greil C, Hudecek M, Lonial S, Raje N, Wäsch R, Engelhardt M. Current developments in immunotherapy in the treatment of multiple myeloma: immunotherapy in multiple myeloma. *Cancer*. 2018;124(10):2075–2085.
226. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, Teachey DT, Chew A, Hauck B, Wright JF. Chimeric antigen receptor–modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368(16):1509–1518.
227. Mikkilineni L, Kochenderfer JN. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for multiple myeloma. *Blood*. 2017;130(24):2594–2602.
228. Gill S, Maus MV, Porter DL. Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25 years in the making. *Blood Rev*. 2016;30(3):157–167.
229. Fesnak AD, June CH, Levine BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(9):566–581.
230. Brooks S, Frey N, Porter D, June C, Lacey S, Bagg A. The cytological features of CAR(T) cells. *Br J Haematol*. 2016;175(3):366.
231. Laabi Y, Gras MP, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. The BCMA gene, preferentially expressed during B lymphoid maturation, is bidirectionally transcribed. *Nucleic Acids Res*. 1994;22(7):1147–1154.
232. Laâbi Y, Gras MP, Carbonnel F, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. A new gene, BCM, on chromosome 16 is fused to the interleukin 2 gene by a

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

- t(4;16)(q26;p13) translocation in a malignant T cell lymphoma. EMBO J. 1992;11(11):3897–3904.*
233. Madry C, Laabi Y, Callebaut I, Roussel J, Hatzoglou A, Le Coniat M, Mornon JP, Berger R, Tsapis A. The characterization of murine BCMA gene defines it as a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Int Immunol.* 1998;10(11):1693–1702.
234. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, Cook WJ, Weaver LK, Ahonen C, Lin L-L, Mantchev GT, Bram RJ, Noelle RJ. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med.* 2004;199(1):91–98.
235. Brudno JJ, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood.* 2016;127(26):3321–3330.
236. Mei H, Jiang H, Wu Y, Guo T, Xia L, Jin R, Hu Y (2017) Neurological toxicities and coagulation disorders in the cytokine release syndrome during CAR-T therapy. *Br J Haematol*
237. Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, Wierda W, Gutierrez C, Locke FL, Komanduri KV, Lin Y, Jain N, Daver N, Westin J, Gulbis AM, Loghin ME, de Groot JF, Adkins S, Davis SE, Rezvani K, Hwu P, Shpall EJ. Chimeric antigen receptor T-cell therapy - assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15(1):47–62.
238. Jin Z, Xiang R, Qing K, Li X, Zhang Y, Wang L, Zhu H, Mao Y, Xu Z, Li J. The severe cytokine release syndrome in phase I trials of CD19-CAR-T cell therapy: a systematic review. *Ann Hematol.* 2018;97(8):1327–1335.
239. Ali SA, Shi V, Maric I, Wang M, Stroncek DF, Rose JJ, Brudno JN, Stetlerstevenson M, Feldman SA, Hansen BG. T cells expressing an anti-B-cell-maturation-antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma. *Blood.* 2016;128(13):1688–1700.
240. Chatzimichali EA, Brent S, Hutton B, Perrett D, Wright CF, Bevan AP, et al. Facilitating collaboration in rare genetic disorders through effective matchmaking in DECIPHER. *Hum Mutat.* 2015;36:941–9.
241. Jarvik GP, Amendola LM, Berg JS, Brothers K, Clayton EW, Chung W, et al. Return of genomic results to research participants: the floor, the ceiling, and the choices in between. *Am J Hum Genet.* 2014;94:818–26.
242. Wolf SM, Crock BN, Van Ness B, Lawrenz F, Kahn JP, Beskow LM, et al. Managing incidental findings and research results in genomic research involving biobanks and archived data sets. *Genet Med.* 2012;14:361–84.
243. Holm IA, Iles BR, Ziniel SI, Bacon PL, Savage SK, Christensen KD, et al. Participant satisfaction with a preference-setting tool for the return of individual research results in pediatric genomic research. *J Empir Res Hum Res Ethics.* 2015;10:414–26
244. Kish LJ, Topol EJ. Unpatients—why patients should own their medical data. *Nat Biotechnol.* 2015;33:921–4
245. Nelson S. Geneticists should offer data to participants. *Nat News.* 2016;539:7
246. Fernandez CV, Bouffet E, Malkin D, Jabado N, O'Connell C, Avar D, et al. Attitudes of parents toward the return of targeted and incidental genomic research findings in children. *Genet. Med.* 2014;16:633–40.

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

247. *Facio FM, Eidem H, Fisher T, Brooks S, Linn A, Kaphingst KA, et al. Intentions to receive individual results from whole-genome sequencing among participants in the ClinSeq study. Eur J Hum Genet. 2013;21:261–5.*
248. *Middleton A, Wright CF, Morley KI, Bragin E, Firth HV, Hurles ME, et al. Potential research participants support the return of raw sequence data. J. Med. Genet. 2015;52:571–74.*
249. *Janssens ACJ. Raw data: access to inaccuracy. Science. 2014;343:968.*
250. *All of Us Research Program. Core Protocol V1 (2017). https://allofus.nih.gov/sites/default/files/allofus-initialprotocol-v1_0.pdf*
251. *Genomics England. 100,000 Genomes Project Protocol (2017). Genomics Engl. <https://www.genomicsengland.co.uk/100000-genomes-projectprotocol/>. Accessed 2 Nov 2017*
252. *Lunshof JE, Church GM, Prainsack B. Raw personal data: providing access. Science. 2014;343:373–4.*
253. *Linderman MD, Nielsen DE, Green RC. Personal genome sequencing in ostensibly healthy individuals and the PeopleSeq Consortium. J Pers Med. 2016;6:14*
254. *Corpas M, Whicher C, Kovalevskaya NV, Byers T, McMurray AA, Nielsen FG, et al. 10 simple rules for sharing human genomic data. bioRxiv (2017). <https://www.biorxiv.org/content/early/2017/01/12/094110>. Accessed 12 Oct 2017.*
255. *OECD. Recommendation of the Council concerning Guidelines governing the Protection of Privacy and Transborder Flows of Personal Data (2013). Jul. Report No.: C(80)58/FINAL, as amended on 11 July 2013 by C(2013)79. <http://sec-law.co.il/images/2013-oecd-privacy-guidelines.pdf>*
256. *European Parliament & Council. Regulation on the protection of natural persons with regard to the processing of personal data and on the free movement of such data, and repealing Directive 95/46/EC (General Data Protection Regulation) (2016). L119 Apr 5, 2016. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32016R0679&from=FR>*
257. *Federal Trade Commission. Privacy & Data Security Update (2016). <https://www.ftc.gov/reports/privacy-data-security-update-2016>. Accessed 13 Oct 2017.*
258. *International Covenant on Civil and Political Rights (1966). 999 UNTS 171 Dec 19, 1966. <http://www.ohchr.org/EN/ProfessionalInterest/Pages/CCPR.aspx>*
259. *U.S. DHHS. CLIA program and HIPAA privacy rule: patients' access to test reports. Final rule. Fed. Regist. 2014;79:7289–316*
260. *U.S. DHHS. Individuals' right under HIPAA to access their health information (2016). <https://www.hhs.gov/hipaa/for-professionals/privacy/guidance/access/index.html>. Accessed 12 Oct 2017.*
261. *Evans BJ. HIPAA's individual right of access to genomic data: reconciling safety and civil rights. Am J Hum Genet. 2018;102:5–10.*
262. *Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD Guidelines on the Protection of Privacy and Transborder Flows of Personal Data (1980). <https://www.oecd.org/sti/economy/oecdguidelinesonthe-protection-of-privacy-and-transborder-flows-of-personal-data.htm>. Accessed 12 Oct 2017.*

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

263. Kaye J. *The tension between data sharing and the protection of privacy in genomics research*. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2012;13:415–31.
264. Ries NM. *Research participants' rights to access information about themselves held by public research institutions*. *Health Law Rev*. 2010;18:5.
265. WMA. *Declaration of Helsinki—ethical principles for medical research involving human subjects*. 2013.
266. United States. *Federal policy for the protection of human subjects—final rule* (2017). *Fed Regist*. Vol 82 No 12 Jan 19, 2017 p. 7149–7274. Available from: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2017-01-19/pdf/2017-01058.pdf>
267. Tri-Council Policy Statement (TCPS). *Ethical conduct for research involving humans* (2014). http://www.pre.ethics.gc.ca/pdf/eng/tcps2-2014/TCPS_2_FINAL_Web.pdf
268. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) in collaboration with the World Health Organization (CIOMS/WHO). *International ethical guidelines for health-related research involving humans* (2016). <http://cioms.ch/ethical-guidelines-2016/WEB-CIOMSEthicalGuidelines.pdf>
269. CMS. *Research Testing and Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Regulations* [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 12]. Available from: <https://www.cms.gov/Regulations-and-Guidance/Legislation/CLIA/index.html?redirect=/clia/>
270. Bredenoord AL, Kroes HY, Cuppen E, Parker M, van Delden JJM. *Disclosure of individual genetic data to research participants: the debate reconsidered*. *Trends Genet*. 2011;27:41–7
271. Kelly SE, Spector TD, Cherkas LF, Prainsack B, Harris JM. *Evaluating the consent preferences of UK research volunteers for genetic and clinical studies*. *PLoS One*. 2015;10:e0118027.
272. Kaye J, Kanellopoulou N, Hawkins N, Gowans H, Curren L, Melham K. *Can I access my personal genome? The current legal position in the UK*. *Med Law Rev*. 2014;22:64–86
273. Haeusermann T, Greshake B, Blasimme A, Irdam D, Richards M, Vayena E. *Open sharing of genomic data: who does it and why?*. *PLoS ONE* (2017). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5423632/>. Accessed 12 Oct 2017
274. Sanderson SC, Linderman MD, Suckiel SA, Zinberg R, Wasserstein M, Kasarskis A, et al. *Psychological and behavioural impact of returning personal results from whole-genome sequencing: the HealthSeq project*. *Eur J Hum Genet*. 2017;25:280–92.
275. Philippakis AA, Azzariti DR, Beltran S, Brookes AJ, Brownstein CA, Brudno M, et al. *The matchmaker exchange: a platform for rare disease gene discovery*. *Hum Mutat*. 2015;36:915–21.
276. Home—matchmaker exchange (2017). <http://www.matchmakerexchange.org/>. Accessed 13 Oct 2017
277. Greshake B, Bayer PE, Rausch H, Reda J *openSNP—a crowdsourced web resource for personal genomics* *PLOS ONE* 2014;9:e89204.
278. Home—Open Humans (2017). *Open Hum*. <https://www.openhumans.org/>. Accessed 2 Nov 2017.
279. DNA.LAND (2017). *About*. <https://dna.land/>. Accessed 12 Oct 2017

ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΘΕΡΑΠΕΙΑ (PERSONALIZED MEDICINE)

- 280. *openSNP* (2017). *Welcome OpenSNP*. <https://opensnp.org/>. Accessed 12 Oct 2017
- 281. *Promethease* (2017). <https://promethease.com/ondemandagreed>. Accessed 2 Nov 2017
- 282. Allen C, Gabriel J, Norkunas Cunningham T, Flynn M, Wang C. *The impact of raw DNA availability and corresponding online interpretation services: a mixed-methods study*. *Transl. Behav. Med.* 2017;(in press).
- 283. Badalato L, Kalokairinou L, Borry P. *Third party interpretation of raw genetic data: an ethical exploration*. *Eur J Hum Genet.* 2017;25:1189.
- 284. 23andMe. *23andMe for researchers* (2016). <https://researchers.23andme.org/>. Accessed 24 Jan 2018.
- 285. Morgan GA, Harmon RJ, Gliner JA. *Ethical problems and principles in human research*. *Child Adolesc Psychiatry* 2001;40:1231-33.