تعیین توالی ژنوم بســـتری برای مطالعات فارماکوژنتیک در کودکان

زهرا انتشاری[1]
۱- کارشناس بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس ژن

مقدمه

در طول دهه گذشته، استفاده از اطلاعات ژنتیکی برای شخصی‌سازی مراقبت‌های بالینی رشد چشمگیری داشته است. آزمایش‌های فارماژوژنتیک به ویژه به دلیل افزایش علاقه به برنامه‌های اطلاع از میزان ایمنی بیمار افزایش یافته است. این آزمایش‌ها فرصتی برای شناسایی بیمارانی است که احتمالاً به داروهای خاصی پاسخ می‌دهند و یا کسانی که احتمال ابتلا به عوارض جانبی ناشی از تنوع ژنتیکی در آنها به صورت شدیدی وجود دارد. با این حال، اکثر این مطالعات بر روی گروه‌های بزرگسالان انجام می‌شود. اگرچه تحقیقات فارماکوژنتیک کودکان در حال حاضر نتایج امیدوارکننده‌ای به همراه داشته است، پیشرفت در فناوری‌های تعیین توالی ژنوم این فرصت را برای گسترش و تعمیق دامنه داروسازی مختص کودکان به عنوان یک ابزار غربالگری ایمنی داروهای پیشگیرانه فراهم می‌کند.

در حـال حـاضـر، اکـثر آزمایشگاه‌هـــایی که آزمـایـش فارماکوژنتیک را انجام می‌دهند، از فناوری‌های مطالعه‌ی هدفمندژنوم‌استفاده‌می‌کنندتاازنظربالینی‌برهمکنش‌های دارویی و وریته‌های خاص ژنتیکی به خوبی مشخص شوند. نمونه‌هایی از این فناوری‌ها شامل آزمایش‌های PCR، طیف سنجی جرمی و آزمایش‌های مبتنی بر روش ایمنی (Luminex) و میکرو آرایه (Affymetrix) است.

علاوه بر ارائه ابزاری قدرتمند برای تشخیص اختلالات ارثی در دوران کودکی، توالی یابی کلی exome (WES) و genome (WGS) نوید شناسایی وریته‌های مختلف فارماکوژنتیکی مرتبط با مراقبت‌های بالینی را می‌دهد. استخراج داده‌های توالی برای انواع فارماژوژنتیک خصوصاً

در کودکان بیمار جذاب است و به عنوان یک خدمت حوزه‌ی پزشکی شخصی محسوب می‌شود. به منظور استفاده از این داده‌ها، باید مشخص شود که آیا انواع مختلف وریته‌ها ژنی به خوبی پوشش داده شده است و دقت پلتفرم‌های توالی یابی ژنوم به اندازه کافی بالا می‌باشد. مقایسه‌های قبلی بین اگزوم/ ژنوم و هدف‌گیری ژنوتیپ، پتانسیل این حوزه را نشان می‌دهد. با این حال تنوع تعداد کپی (CNV) فارماکوژن در همان گروه کودکان بیمار مورد بررسی قرار نگرفته است.

ما با استفاده از نقشه برداری از ۹۸ کودک تحت WGS، میزان پوشش WGS را با مقایسه بین WGS و مطالعه هدفمند ژنوم برای مجموع ۶۷ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) و ۱۹ وریته indel فارماکوژنز، بررسی کردیم. ما همچنین تنوع تعداد کپی ژن CYP۲D۶ را بین WGS و مطالعه‌ی هدفمند ژنوم بررسی کردیم. اگرچه هدف اصلی این نیست، اما ما از WES برای تجزیه و تحلیل فارماکوژنتیک ۱۲ نمونه در گروه استفاده کردیم زیرا این داده‌ها در دسترس بودند. انتخاب SNP بر پایه تعامل ژن و دارو (دستورالعمل دوز ژن و همچنین داروی شناخته شده) منتشر شده با پتانسیل ایجاد دستورالعمل‌های فارماکوژنتیک در آینده بود. دستورالعمل‌های دوزسنجی ژن و همچنین داروهای شناخته شده، پتانسیل اطلاع رسانی در مورد تصمیمات دارویی در آینده را دارند بنابراین فرصتی برای تقویت ایمنی بیمار فراهم می‌کنند.

نتایج:

استخراج داده‌های فارماکوژنتیک از پلتفرم‌های مختلف آزمایش

برای تعیین صحت داده‌های فارماکوژنتیک استخراج شده از یک پلتفرم توالی یابی ژنومی (ژنومیک کامل)، ما ۶۷ مکان فارماکوژنتیکی متعلق به ۹۸ بیمار مقایسه کردیم؛ ژنوتیپ‌ها با استفاده از دو پانل مطالعه هدفمند ژنوم تولید شده بودند. (جدول ۱)

ما ۶۷ ژنوتیپ را برای ۹۸ بیمار با ژنوتیپ‌های تولید شده با استفاده از دو پانل مطالعه هدفمند ژنوم مقایسه کردیم. برای ارزیابی وریته و پیش بینی وضعیت تعداد کپی ژن CYP۲D۶ از مطالعه هدفمند ژنوم استفاده کردیم. پس از آن وضعیت فنوتیپی ژن متابولایزر را مورد بررسی قرار دادیم. ما ساختار ژنتیکی بیست و نه SNP ژن CYP۲D۶ را به واسطه‌ی پنل iPLEX® ADME C۲D۶ با میزان موفقیت ۹۹/۸ درصد، مورد بررسی قرار دادیم، این نمونه‌ها متعلق به همان ۹۸ مورد بود (ژنوتیپ ۲۸۳۵) برای ۳۸ وریته باقیمانده (در ۱۸ ژن دیگر)، ما یک پانل iPlex سفارشی با دو چاه را طراحی کردیم. در این مجموعه ۹۸ نفر برای ۳۸ وریته با موفقیت مورد بررسی قرار گرفتند و تنها یک عدم موفقیت در یکی از موقعیت‌های (ABCG۲, rs۲۲۳۱۱۳۷) یکی از نمونه‌ها ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های WGS عمق متوسط پوشش ۲۰ X یا بیشتر را برای همه ۶۷ جایگاه در ۹۸ مورد نشان داد (متوسط دامنه‌ی ۲۱.۶ X- ۷۹.۵X، تصویر ۱ a). عبور خوانش‌های کیفی برای ٪۹۶ از داده‌ها مشاهده شد (۶۳۱۲ موقعیت از ۶۵۶۶ موقعیت، ۱ b). این مقدار در موقعیت‌های غیر CYP۲D۶ بیش از ٪۹۹ بود. در بخشی از نمونه‌های مورد مطالعه، موقعیت ژنومی دیگر (CYP۲C۱۹*۹, rs۱۷۸۸۴۷۱۲) با خوانش‌های کم کیفیت مشاهده شد (۱۷/۹۸).

تجزیه و تحلیل داده‌های CYP2D:

هفت موقعیت در خوانش CYP۲D۶ به دلیل کیفیت کم خوانش در بیش از ۱۰ بیمار در WGS مفقود شده است (شکل b ۱). rs۱۶۹۴۷، یک نوع رایج CYP۲D۶ موجود در هاپلوتایپ CYP۲D۶*۲ است، که اغلب از دست رفته بود (۶۰ مورد از ۹۸ مورد). با این حال، در این نمونه خوانش این موقعیت با موفقیت انجام شد، rs۱۶۹۴۷ به صورت تقریبی دارای عمق پوشش ۵۰ می‌باشد. برای نمونه‌های مفقود شده یک خوانش برای rs۱۶۹۴۷ و یا وریته‌های اضافی انجام شد، به احتمال زیاد دیپلوتایپ CYP۲D۶ با استفاده از نامگذاری ستاره دار CYP۲D۶ به صورت دستی و جداگانه اختصاص داده شده (جدول S۱). اما به دلیل از دست رفتن خوانش در موقعیت‌های کلیدی، یک دیپلوتایپ نمی‌تواند به ۱۴ مورد از ۹۸ مورد اختصاص یابد. شش مورد از این ۱۴ مورد (شناسه بیمار: ۱۰۲۲، ۱۰۳۱، ۱۰۶۶، ۱۰۷۵، ۱۰۹۲، ۱۱۰۸) دارای وریته‌ی rs۳۸۹۲۰۹۷ هستند که هاپلوتایپ CYP۲D۶*۴ را تعیین می‌کند و هفت مورد (شناسه بیمار: ۱۰۳۹، ۱۰۵۳، ۱۰۶۳، ۱۰۸۶، ۱۰۹۰،

۱۰۹۳, ۱۰۹۶) دارای افزایش یا از دست رفتن تعداد کپی CYP2D6 بودند (شرح زیر). یک نمونه (شناسه بیمار: ۱۰۹۳) ترکیبی از هر دو را داشت.

در آخر، ما به وریته‌های کدگذاری در ژن CYP2D6 در خارج از مجموعه‌ای که در اینجا مورد بررسی قرار گرفته، پرداختیم (جدول S3). ما سه وریته مشابه و ده وریته غیر مشابه را مشاهده کردیم که به طور جداگانه برای اثر بالقوه بر فعالیت CYP2D6 مورد بررسی قرار گرفتند. دوازده از ۱۳ وریته در افراد انتخاب شده مشاهده شد. اگرچه برخی پیش بینی می‌کردند باعث آسیب می‌شوند اما اکثر وریته‌ها، وضعیت متابولایزر CYP2D6 را در این نمونه تغییر ندادند. با این حال، دو وریته (P41L و R329L) بیشتر به دلیل پتانسیل تأثیرگذاری بر وضعیت متابولیزه بسته به آلل موجود در آن، مورد بررسی قرار گرفت. بازرسی از پرونده‌های BAM برای هماهنگ‌سازی نشان می‌دهد که وریته‌ی P41L در آلل ۴* است (P34S)، اگرچه این تعداد کمی از خوانش‌ها را پشتیبانی می‌کند که هر دو نوع را شامل می‌شود. وضع وریته‌ی R329L از پرونده BAM قابل تعیین نیست و اهمیت بالینی این وزیته ناشناخته باقی مانده است.

تطابق خوانش ژنوتیپ و تخمین تعداد کپی در داده‌های WGS در مقایسه با داده‌های مطالعه هدفمند ژنوم

بین WGS و مجموعه داده‌های هدفمند، شش ژنوتیپ ناسازگار در سه ژن وجود داشت (یکی در CYP2C9، یکی در HLA-A و چهار عدد در IFNL3) (جدول S2). با این حال ۲۵۴ خوانش از دست رفته یا کم کیفیت (اکثرا در CYP2D6) مقایسه کاملی از این پلتفرم‌ها را محدود می‌کند.

CNV در CYP2D6 نسبتاً متداول است، و به عنوان مهمترین اطلاعات همراه در بررسی CYP2D6 ایجاد شده است. وقتی CNVهای دارای تداخل در CYP2D6 را در پرونده‌های کامل ژنومی cnvSegmentsDiploidBeta و پرونده‌های High ConfidenceSVEventsBeta مورد بررسی قرار دادیم، فقط یک نمونه به خاطر افزایش تعداد کپی CYP2D6 نشانه گذاری شد. ما در عوض پوشش نسبی (به عنوان یک سطح پوشش عادی تحت یک مدل دیپلوئید تعریف شده است، مقدار "۱" از دو نسخه) مربوط به یک روزنه‌ی ۶ kb حاوی CYP2D6 را استخراج کردیم. ما یک انحراف پوشش متوسط نسبی بیش از ۰.۲ از ارزش ۱ در ۲۵ نمونه مشاهده کردیم (شکل ۱ c)، که احتمال CNV را پیشنهاد می‌کند. هفت نمونه انحراف پوشش نسبی نزدیک به ۰.۵ (حذف هتروزیگوس یا تعداد کپی ۱) را نشان دادند، در حالی که هشت نمونه نزدیک به ۱.۵ (تکثیر یا کپی شماره ۳) داشتند. یک نفر به طور متوسط انحراف پوشش نسبی ۱.۹۶ (شماره نسخه ۴) داشت. زیر مجموعه‌ای از نه نمونه برای این نسخه از تعداد کپی بی‌نتیجه بود، زیرا آنها مقادیر متوسط پوشش نسبی متوسط (بین ۰.۵ تا ۱ یا بین ۱ تا ۱.۵) را به نمایش گذاشتند (شکل 1c). جالب است که اکثر این نمونه‌ها (۷/۹) حاوی CYP2D6*4وریته rs3892097 هستند (جدول s1). در نمونه‌های سه نسخه‌ای هتروزیگوت، ما به طور دستی تعداد مرجع و تعداد خوانش‌های جایگزین را در موقعیت‌های حاوی اطلاعات بررسی کردیم تا آلل‌های تکراری را شناسایی کنیم. ما توانستیم از این طریق آلل تکثیر شده را برای سه نمونه (شناسه بیمار: ۱۰۱۲، ۱۰۱۸، ۱۰۲۹) تعیین کنیم. تعداد خوانش در این موقعیت‌های پر اطلاعات در هر سه نمونه ۷۵ یا بیشتر بود (جدول s1).

نرم افزار Agena Typer هفت نمونه را با یک نسخه از CYP2D6، ۸۱ نمونه با دو نسخه، نه نمونه با سه نسخه و یک نمونه با چهار نسخه از CYP2D6 شناسایی کرد. با این حال، در نمونه‌های سه کپی هتروزیگوت ما نمی‌توانیم نمی‌توانیم با بررسی دستی از میزان SNPهای حاوی اطلاعات در یک آلل خاص نتیجه‌ای بگیریم.

در برآورد CNVهای CYP2D6 بین WGS و مطالعه‌ی هدفمند ژنوم دو نمونه متناقض وجود دارد: ۱- در یک نمونه (شناسه بیمار: ۱۰۸۸) با WGS یک نسخه اما با مطالعه هدفمند دو نسخه تخمین زده شده است و ۲- یک نمونه (شناسه بیمار: ۱۰۷۵) با WGS دو نسخه اما با پانل ژنوتیپ سه نسخه تخمین زده شده است. از نه نمونه (شناسه بیمار: ۱۰۰۹، ۱۰۲۵، ۱۰۳۱، ۱۰۴۳،

۱۰۶۸، ۱۰۷۰، ۱۰۷۲، ۱۰۷۴، ۱۱۱۲) غیرقابل شمارش برای تعداد کپی ژنومی CYP۲D۶ در داده‌های WGS، یک نمونه (شناسه بیمار: ۱۰۷۴) به عنوان یک نسخه تخمین زده شد و هشت نمونه دیگر با استفاده از پانل ژنوتیپ هدفمند (جدول s۱) به عنوان دو نسخه طبقه بندی شدند.

تطابق خوانش ژنوتیپ در WES در مقایسه با WGS و پلتفورم‌های بررسی هدفمند ژنوم

داده‌ها از WES برای ۱۲ نمونه از همان گروه بیمار در دسترس بود و بنابراین مورد تجزیه و تحلیل ما قرار گرفت. در ۱۲ نمونه WES، ۶۷ جایگاه به عمق متوسط ۱۴۰X توالی یابی شدند، و هیچ گونه خوانش از دست رفته‌ای برای وریته‌ها در مناطق اگزونیک (شکل a۱) وجود ندارد. دو موقعیت بیش از ۱ کیلوبایت بالادست اگزون ۱ (CYP۲D۶: rs۱۰۸۰۹۸۵, rs۲۸۷۳۵۵۹۵) توسط این مجموعه داده WES پوشش داده نشده است، با این حال، ژنوتیپ تمام موقعیت‌های CYP۲D۶ دیگر با موفقیت بررسی شدند. با توجه به موقعیت با عبور خوانش‌های کیفی (n= ۶۳۱۲)، تطابق بین WGS، WES و بررسی هدفمند ژنوم زیاد بود (> ٪۹۹.۹).

ابزار کلینیکی فارماکوژنومیک با استفاده از پلتفرم توالی یابی genome-wide

به منظور افزایش فهم در مورد کاربرد بلقوه بالینی از فارماکوژنتیک استخراج شده از پلتفرم توالی یابی genome-wide، ما داده‌های ژنتیکی از WGS و پلتفرم بررسی هدفمند ژنوم را برای همه ۹۸ کودک ادغام و از دستورالعمل‌های فارماکوژنتیک منتشر شده به منظور بررسی اثرات متقابل دارو-ژن استفاده کردیم جدول ۲). در داده‌های ترکیبی، ما قادر به پیش بینی فنوتیپ ژنهای درگیر در متابولیسم و حذف داروها برای هر ۹۸ بیمار هستیم (شکل S۱). در ۹۵ مورد از ۹۸ بیمار از نظر بالینی حداقل یک وریته که می‌تواند به انتخاب داروی شخصی و یا تنظیم دوز مرتبط باشد را تشخیص دادیم (شکل ۲).

ما ارتباط اطلاعات فارماکوژنتیک را برای هر فرد در نظر گرفتیم و دستورالعمل‌های دوز دارویی را به موارد زیر تقسیم کردیم. تجزیه و تحلیل‌های ما نشان داد که ٪۷۰ از بیماران این گروه به طور خاص از تنظیم دوز در داروهایی که عمدتاً در قلب و روان استفاده می‌شوند، بهره مند می‌شوند، این درصد برای باقی بیماری‌ها به ترتیب: بیماری‌های عفونی (٪۵۴)، عصب‌شناسی (٪۴۲)، دستگاه گوارش (٪۳۰)، پیوند (٪۲۵)، درد (٪۹) و انکولوژی (٪۸) می‌باشد. ارزیابی اثرات متقابل دارو و ژن نشان داد که در ٪۲۳ از نمونه‌های بیمار خطر ابتلا به عوارض جانبی جدی در داروهای مورد استفاده در عصب‌شناسی (٪۹)، آنکولوژی (٪۸)، بیماری عفونی (٪۶) و مدیریت درد (٪۳) افزایش یافته است (شکل S۲).

یافته‌های ما پتانسیل فارماکوژنتیک را با استفاده از داده‌های توالی یابی ژنوم برجسته می‌کند تا از قرار گرفتن افراد در معرض خطر ابتلا به حوادث جانبی دارویی یا نارسایی درمانی داروها با تعامل شناخته شده دارویی و ژن در طول زندگی جلوگیری کند.

بحث:

فناوری‌های توالی یابی ژنوم در حال حاضر به مراقبت‌های بالینی ترجمه می‌شوند و توانایی ایجاد تشخیص در اختلالات ارثی را به طور قابل توجهی بهبود بخشیده‌اند. از آنجا که بیشتر این اختلالات در کودکی آشکار است، نقش فناوری‌های توالی یابی ژنوم به ویژه در کودکان قابل ملاحظه است. تعیین توالی ژنوم یک نوید مهم در زمینه فارماکوژنتیک دارد، منطقه‌ای موجبات جلوگیری از عوارض جانبی شدید و درمان‌های دارویی بی‌اثر را فراهم می‌کند.

قبلاً گزارش شده است که داده‌های توالی یابی ژنوم را می‌توان برای وریته‌های فارماکوژنتیک استخراج کرد. مطالعات متعددی از مقایسه پلتفرم‌های توالی یابی ژنوم مربوط به برخی از انواع دارویی گزارش شده است. این مطالعات به طور کلی نتیجه می‌گیرند که تطابق بین پلتفرم‌های توالی یابی برای انواع ژنتیکی رایج در مناطق کدگذاری زیاد است. در مطالعه ما، ما به طور سیستماتیک ۶۷ گونه SNP و indel با ارتباط فارماکوژنتیک بالینی گزارش شده در سه سیستم عامل مختلف (WGS، WES، و مطالعه هدفمند ژنوم) را در همان گروه بیمار بررسی کردیم. هدف ما این بود که نه تنها تأیید کنیم که وریته‌های فارماکوژنتیک را می‌توان از مجموعه داده‌های داده توالی یابی نامید، بلکه همچنین تعیین کردیم که (۱) چقدر خوب هر وریته در نمونه‌ها پوشش داده شده

است همچنین (۲) کیفیت خوانش وریته‌ها و (۳) صحت این گونه‌ها در مقایسه با یک روش استاندارد توالی یابی ژنوم سنجیده شد.

ما یک تطابق بالا (> ٪۹۹) بین SNP و وریته‌های indel که با WGS خوانش شده بود با آن‌هایی که از پانل مطالعه‌ی هدفمند ژنوم به دست آمده مشاهده کردیم. با این حال، ما همچنین دریافتیم که WGS قادر به بررسی دقیق ساختار ژنوم در چند موقعیت CYP۲D۶ نبود. به طور خاص اطلاعات ژنومی برای پلی مورفیسم rs۱۶۹۴۷ که CYP۲D۶*۲ که هاپلوتایپ‌های مرتبط در اکثر افراد (۶۰/۹۸) را تعریف می‌کند با WGS وجود نداشت. این مستلزم دستیابی به دیپلوتایپ‌ها بر اساس خوانش‌های باقیمانده است و می‌توان با اطمینان در بسیاری از موارد این کار را انجام داد. در یک شرایط کلینیکی، این افراد با استفاده از مطالعه هدفمند ساختار CYP۲D۶ نیاز به آزمایش رفلکس دارند. ما دریافتیم که افراد با وریته‌ی rs۳۸۹۲۰۹۷ به (CYP۲D۶*۴) احتمال زیاد دارای خوانش‌های مبهم (خوانش انجام نشده یا فقط خوانش یک آلل با اطمینان صورت گرفته است) در چند موقعیت CYP۲D۶ هستند. انواع ساختاری مربوط به هاپلوتیپ * ۴ به خوبی شناخته شده است و تست‌های بر پایه‌ی PCR برای پیکربندی‌ها مختلف و ترکیبی برای تحقیقات آینده خواهد بود. یافته‌های ما همچنین با مدل‌سازی silico سازگار است که نشان می‌دهد خوانش‌های کوتاه CYP۲D۶ به صورت همتراز با ژن‌های مشابه CYP۲D۷ و CYP۲D۸ منجر به این فرض معقول می‌شود که نوع خوانش CYP۲D۶ به دلیل تغییر در پوشش توالی یابی ناشی از تغییر شیمیایی، طول خوانش و ابزارهای بیوانفورماتیک پایین دست، وابسته به beplatform خواهد بود. در این زما، ما توصیه می‌کنیم برای تأیید داده‌های WGS از آزمایش‌های هدفمند دیگر را برای مطالعه‌ی CYP۲D۶ دنبال کنید. به طور کلی، شش خوانش ناسازگار (هم مثبت و هم منفی کاذب) بین WGS و پانل بررسی هدفمند ژنوم در سه ژن مختلف (HLA-A، IFNL۳ و CYP۲C۹) مشاهده شد، که در حال حاضر مورد بررسی قرار می‌گیرند (جدول S۲).

در این مطالعه ما تکرارها یا حذف‌های مربوط به ژن CYP۲D۶ را در ۱۷ نفر از ۹۸ بیمار شناسایی کردیم، شیوع آن که CNVهای شناخته شده CYP۲D۶ را در جمعیت آمریکا بازتاب می‌دهد. در سه مورد افزایش تعداد کپی (شناسه بیمار: ۱۰۱۲، ۱۰۱۸، ۱۰۲۹)، ما توانستیم به صورت دستی نسبت‌های مرجع را بررسی کنیم و آلل‌های متناوب در موقعیت‌های حاوی اطلاعات در داده‌های کل ژنوم بررسی کنند تا بتوانیم آلل تکراری را تشخیص دهیم. این ممکن است مزیت تعیین توالی نسبت به مطالعه هدفمند ژنوم را نشان دهد، زیرا همان کار را نمی‌توان با اطمینان توسط داده‌های ژنوم انجام داد. در پنج نمونه با افزایش تعداد کپی (شناسه بیمار: ۱۰۱۲، ۱۰۱۸، ۱۰۲۰، ۱۰۶۱، ۱۰۸۵) پیش بینی وضعیت متابولیزه CYP۲D۶ در مقایسه با فردی با همان ژنوتیپ بدون تکثیر تغییر کرد (جدول S۱). اگرچه در بیشتر موارد می‌توان تعداد کپی‌های CYP۲D۶ را با استفاده از داده WGS مشخص کرد اما در تعداد ۹ مورد از ۹۸ نمونه مورد بررسی، وضعیت شماره کپی مبهم بود. ما حدس می‌زنیم که مسائل مربوط به نقشه برداری، همانطور که در بالا بحث شد، تعیین تعداد کپی‌ها را پیچیده می‌کند. از طرف دیگر، این افراد ممکن است تغییرات ساختاری CYP۲D۶ مانند هیبریدهای CYP۲D۶/ CYP۲D۷ و یا مجموعه‌های پیچیده پشت سر هم را نداشته باشند.

پیشرفت‌های اخیر در هزینه و دقت WES، استفاده از آن به عنوان یک ابزار تشخیصی مولکولی برای بیماران ارجاع شده را امکان پذیر کرده است. بنابراین، ما داده‌های WES (از قبل موجود) را از ۱۲ نفر از افراد گروه بیمار خود بررسی کردیم و داده‌های حاصل از خوانش ۶۷ موقعیت را با داده‌های مطالعه هدفمند ژنوم مقایسه کردیم. ما مسائل مربوط به خوانش‌های مشابه که در داده‌های WGS مشاهده شده است را پیش بینی کردیم، جالب اینکه، خوانش وریته‌ی WES در CYP۲D۶ با مطالعه هدفمند ژنوم مطابقت داشت و هیچ موقعیتی نرخ مشابه داده‌های مفقود را نشان نمی‌داد. دو SNP در (rs۱۰۸۰۹۸۵ و rs۲۸۷۳۵۵۹۵) خارج از اگزون‌هایی که به طور معمول برای اختصاص هاپلوتیپ CYP۲D۶ مورد بررسی قرار می‌گیرند، پیدا نشدند (شکل ۱a).

توجه داشته باشید که وریته (CPY۲C۱۹*۱۷) بالادست rs۱۲۲۴۸۵۶۰ در عمق کافی (میانگین ۴۷ X) برای خوانش با وریته‌های تحت پوشش باشد که نشان می‌دهد بعضی از مجموعه‌های طعمه‌های ممکن است

برای پیدا کردن مناطق نادر داخلی بررسی شود.

طی قرن‌های گذشته عرف پزشکی تغییر کرده و تحول چشمگیری داشته است. در قرن نوزدهم، تمرکز بیشتر به درمان علائم و به دنبال آن درمان بیماری‌ها در قرن بیستم صورت گرفت. اکنون آغاز قرن بیست و یکم تمرکز بر روی پیش بینی و پیشگیری وقوع بیماری‌ها می‌باشد این اجازه می‌دهد تا از یک پارادایم درمانی دیرهنگام به واکنش سریع در اوایل بیماری، که به طور فزاینده‌ای امکان پذیر است، تغییر کند. فارماکوژنتیک نقش مهمی در این تغییر پارادایم به سمت داروهای پیشگیرانه و فردی ایفا خواهد کرد و برای به حداکثر رساندن فواید آن باید از آن در گگروه کودکان نیز استفاده شود. اگرچه، هنگامی که یک رابطه ژنوتیپ - فنوتیپ مشخص می‌شود، باید اثر عوامل تاثیرگذار مانند تغییر فعالیت آنزیم در نظر گرفته شود زیرا این امر تا حد زیادی بر پاسخ دارو و تحمل در کودکان تأثیر می‌گذارد. با این وجود، عوامل موثر ژنتیکی در پاسخ به دارو در طول زندگی پایدار است بنابراین نوید بزرگی به درمان دارویی فرد می‌دهد.

در اینجا ما نشان دادیم که ۹۵ نمونه از ۹۸ نمونه‌ی اوریته‌های فارماکوژنتیک از نتایج کلینیکی قابل قبول برخوردارند که توسط داروهای مبتنی بر شواهد دارویی، براساس دستورالعمل‌های منتشر شده توسط سازمان‌های مرتبط است. این سازماهای شامل کنسرسیوم پیاده‌سازی فارماکوژنتیک بالینی، گروه کاری هلندی فارماژنتیک و سازمان غذا و دارو است. داده‌های ما مطابق با نتایج توصیف شده قبلی است. علاوه بر این، ۲۳ نمونه از این افراد وریته‌ای از فارماکوژنتیک را حمل کردند که احتمال بروز عوارض جانبی جدی دارویی و تهدید کننده زندگی را دارند (شکل ۲؛ شکل S2). این یافته‌ها نشان میدهند که اگرچه مجموعه‌ی کمی از وریته‌های فارماکوژنتیک وجود دارد که از داده‌های عملی بهره میبرد، اما اگر آزمایش ژنتیکی بطور گسترده و مناسب در کلینیک مستقر شود، می‌توان در آینده تجویزها را برای این افراد بهینه کرد. در حال حاضر، فقط تعداد کمی از کیت‌های آزمایش فارماکوژنومیک کودکان بصورت تجاری در دسترس است و در عمل بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

از آنجا که فناوری‌های توالی یابی ژنوم در رابطه با طول خوانش، تجزیه و تحلیل داده‌ها و تفسیر وریته‌ها، بهبود می‌یابند، آزمایش دارویی باید در تنظیمات مختلف مراقبت‌های اولیه، سرپایی و بستری در نظر گرفته شود. ما یک روش دوتایی برای جمع آوری داده‌های دارویی در کلینیک و کاربرد در فرایند تجویز دارو پیشنهاد می‌کنیم. در یک سو پانل بررسی ژنوم معمولی، برای داروهای دارای دستورالعمل تجویز دوز در ویزیت‌های اولیه و همچنین ویزیت‌های بستری در بیمارستان، سرپایی و اورژانس به عنوان بخشی از یک آزمایش خون انجام شود. در یک شرایط کلینیکی که در آن نتایج اغلب در طی انجام آزمایش‌های تشخیصی مورد نیاز است، استفاده از داده‌های هدفمند ژنوم به خاطر صرفه جوییی در هزینه‌ها، تجزیه و تحلیل آسان داده‌ها و سرعت بالای دسترسی به نتایج سودمند است زیرا مستقیماً گزینه‌های درمانی قابل استفاده در دارو را مشخص می‌کند. در حال حاضر، استخراج فارماکوژن‌ها از توالی ژنومی برای اطلاعات پیشگیرانه افرادی که به دنبال یک آزمایش تشخیصی ژنومی برای یک نشانه غیر مرتبط با فارماکوژنتیک هستند، در دسترس است. مطالعه ما شواهدی را ارائه می‌دهد که می‌توان از داده‌های نتیجه ژنومی نیز برای استخراج وریته‌های فارماکوژنتیکی استفاده کرد. با این وجود، توجه به این نکته ضروری است که خوانش وریته، به خصوص در ژن CYP۲D۶ بسته به بستر توالی مورد استفاده، می‌تواند چالش برانگیز باشد. برای CYP۲D۶، تفسیر دستی از داده‌های WGS در قالب تجزیه و تحلیل هدفمند CNV، بررسی از عمق خوانش آلل و تصمیم‌گیری در مورد نشانگرهای مفقود شده، با داده‌های تولید شده بر روی پلتفرم کامل ژنوم ضروری بود. همچنین آزمایش‌های بیشتر مبتنی بر PCR می‌تواند در بعضی از افراد انجام شود تا مشخص شود آیا آن‌ها وریته‌های ساختاری CYP۲D۶ را با روش‌های موجود در اینجا قابل تشخیص نیستند. تا آنجا که سایر فناوری‌های WGS در دسترس باشند، ما به استفاده دقیق هر یک از پلتفرم‌ها برای خوانش وریته‌های فارماکوژنتیک توصیه می‌کنیم. در whole-exome، در حالی که بیشتر نشانگرهای فارماکوژنتیک مورد توجه برای خوانش وریته‌ها پوشش کافی دارند، الگوریتم‌های تعیین تعداد کپی از این داده‌ها به طور کامل توسعه نیافته‌اند. در مورد CYP۲D۶، وضعیت تعداد کپی جزء لاینفک بررسی یک فرد است بنابراین این آزمایش باید

به روش جداگانه از طریق روش PCR یا روش دیگر انجام شود. در همه موارد، داروسازان بالینی آموزش دیده شده توسط متخصصین فارماکوژنتیک و یا داروسازان باید در تفسیر نتیجه شرکت کنند و گزارشی تهیه کنند که داده‌های مربوط به عملکرد پزشکی و بالینی مربوط به پزشک اصلی را برجسته می‌کند، بنابراین به پزشک معالج اجازه می‌دهد تا تصمیمات درمانی مؤثر و بی‌خطر را برای بزرگسالان و همچنین برای کودکان اتخاذ کند.

همچنین باید اطمینان حاصل کنید که این اطلاعات و نتایج درمانی با واسطه دارو بخشی از پرونده پزشکی الکترونیکی باقی بماند تا در طول عمر از آن استفاده شود (شکل ۳).

منبع:

https: //www.nature.com/articles/s41525-017-0021-8