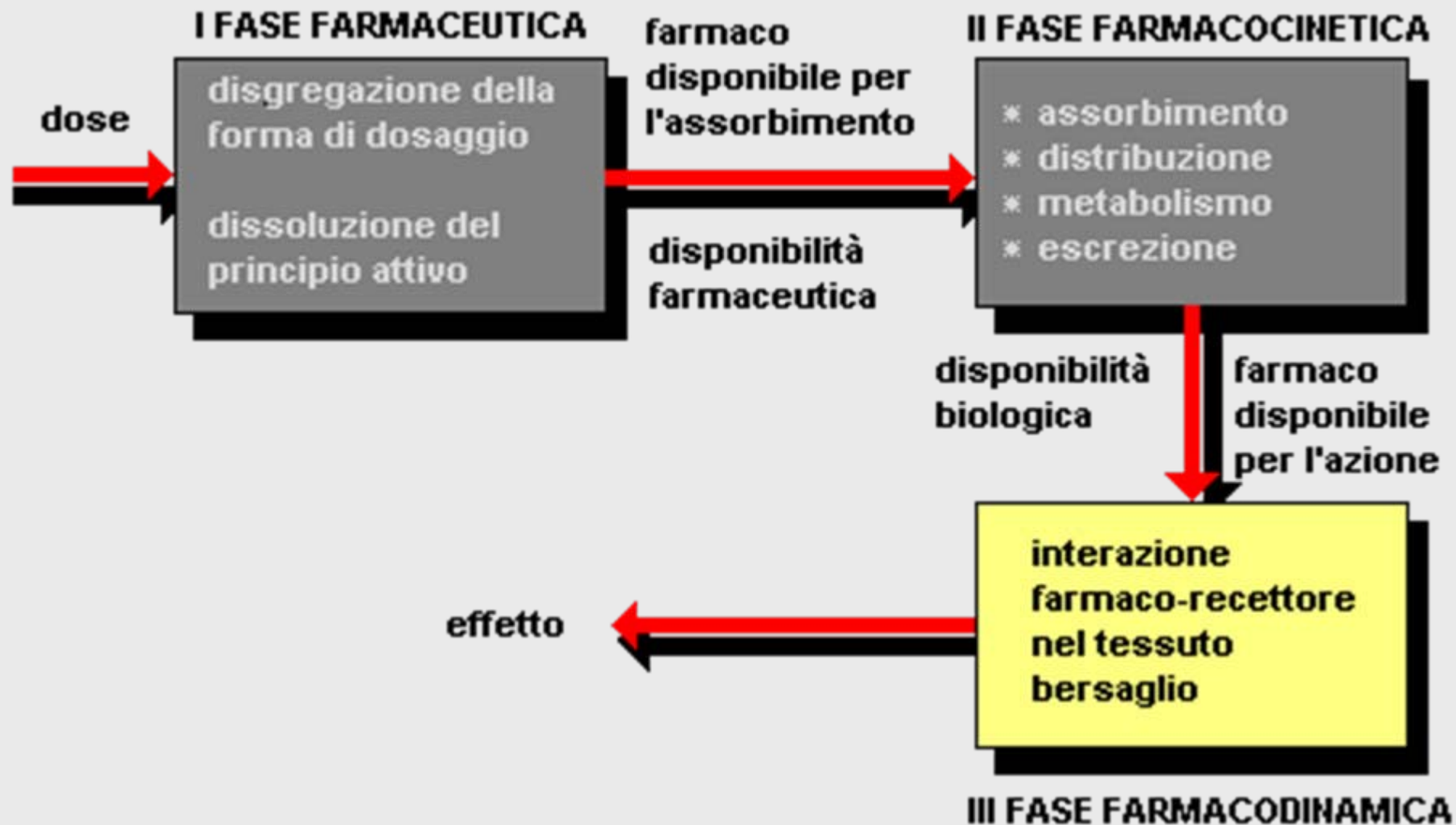


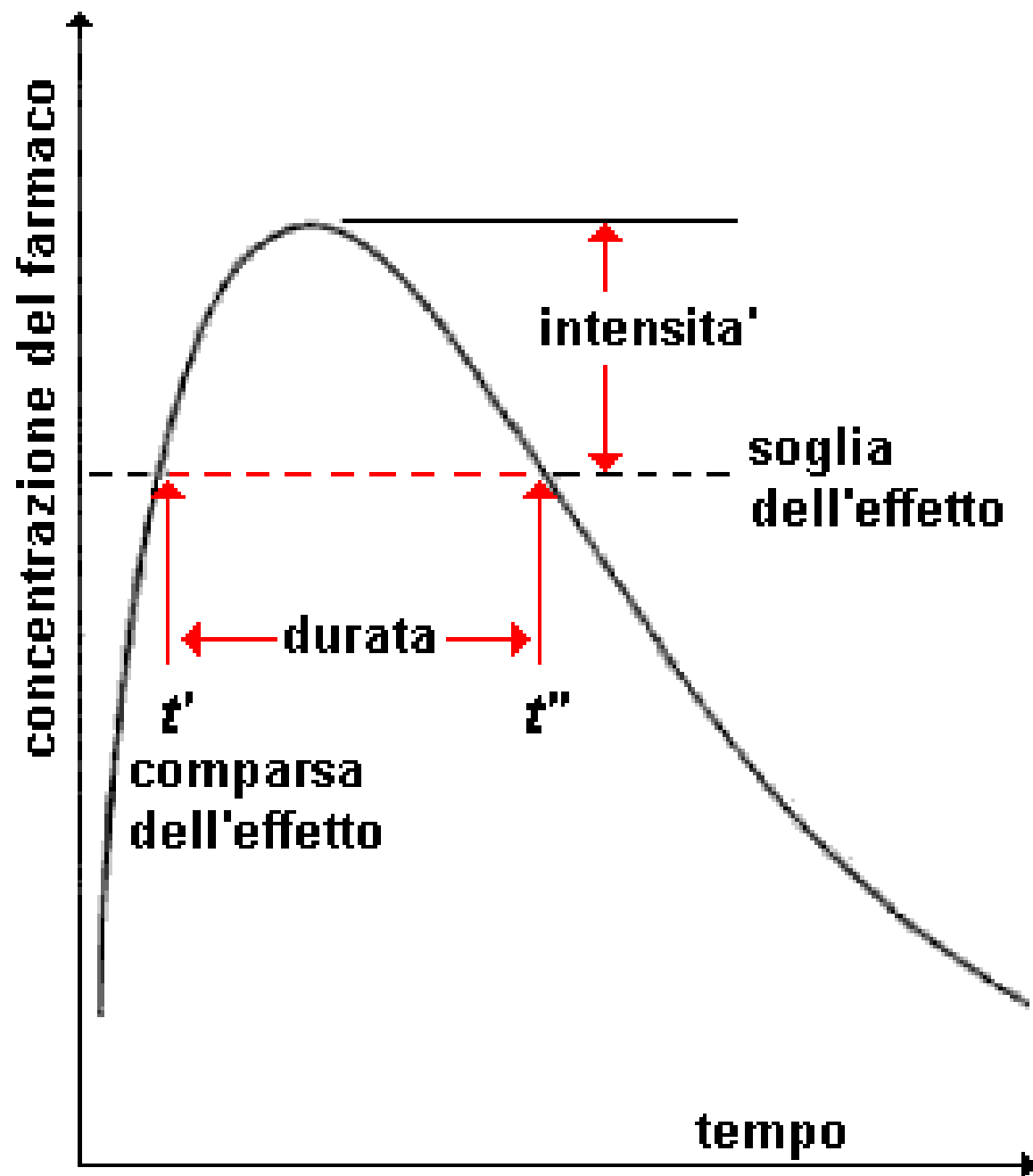
Farmacogenetica e farmacogenomica



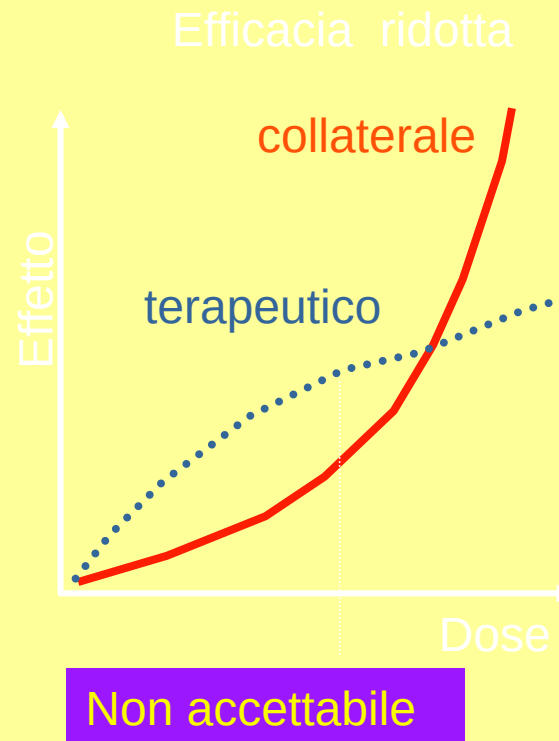
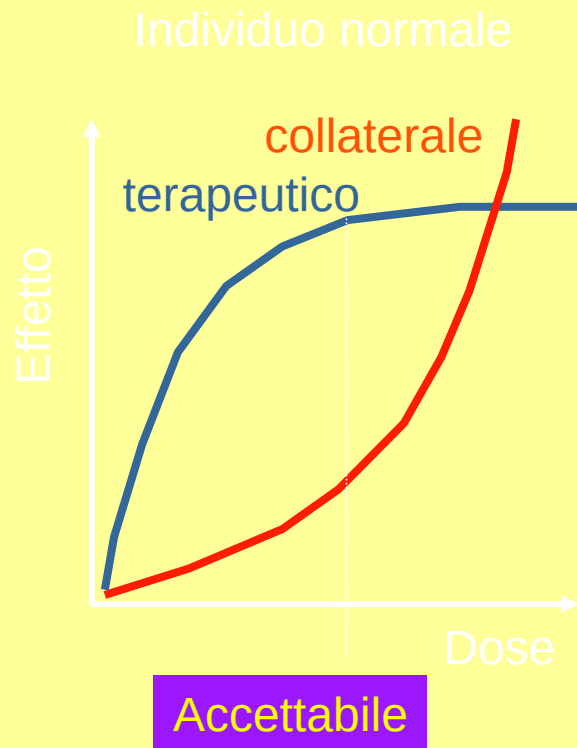
Variabilità individuale nelle risposte alla terapia farmacologica

- Efficacia
- Effetti collaterali / reazioni avverse





Variabilità individuale nella efficacia terapeutica dei farmaci



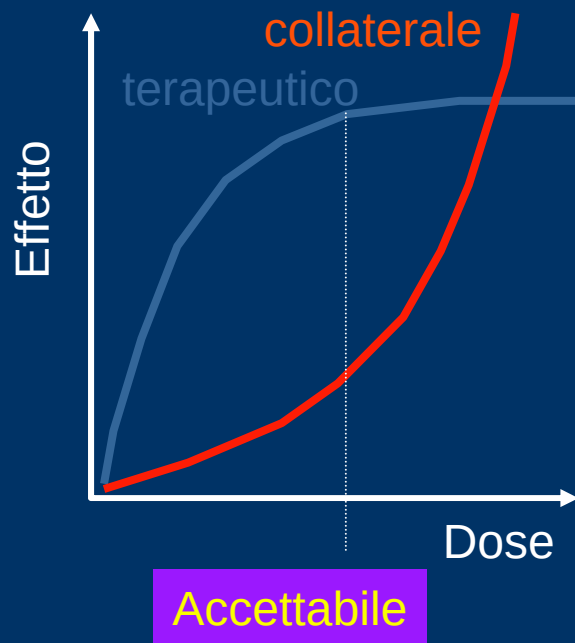
Variabilità nella efficacia terapeutica dei farmaci

% pazienti con
scarsa risposta

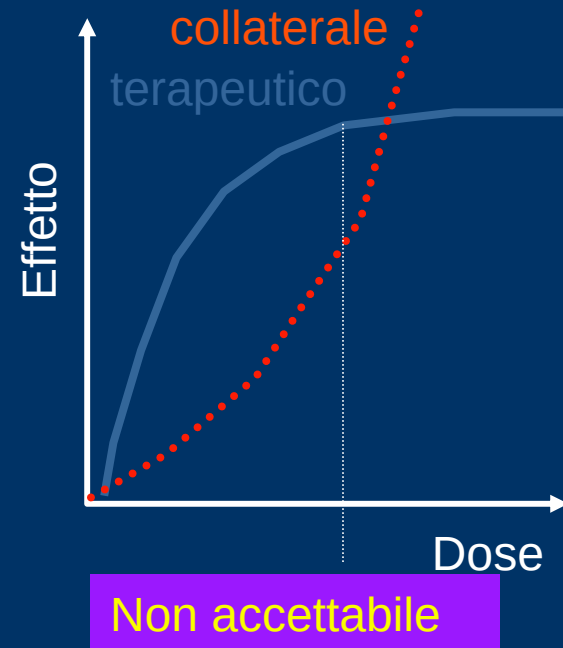
Antagonisti dell'angiotensina 2	10-25%
ACE inibitori	10-25%
Beta-bloccanti	15-25%
Antidepressivi triciclici	20-50%
Agonisti beta-2 adrenergici	40-70%

Variabilità individuale negli effetti collaterali dei farmaci

Individuo normale



Aumento di effetti collaterali



Reazioni avverse ai farmaci

Adverse Drug Reactions (ADR)

- 5-20% dei pazienti ammessi in ospedali soffrono di reazioni avverse
- >100 000 morti all'anno negli USA
 - quarta causa di morte dopo malattie cardiovascolari, tumori e ictus (Lazarou et al, JAMA 1998; 279: 1200-1205)

La variabilità individuale nelle risposte ai farmaci è dovuta a fattori:

- Fisologici
 - età, sesso, peso corporeo
- Patologici
 - “disease status”, livello di funzionalità epatica o renale
- Ambientali
 - dieta, alcool, tabacco, altri farmaci
- Genetici
 - polimorfismi

Farmacogenetica

Lo studio della variabilità di risposta a un farmaco dovuta a fattori genetici ereditari, negli individui o a livello di popolazione

Friedrich Vogel, 1959

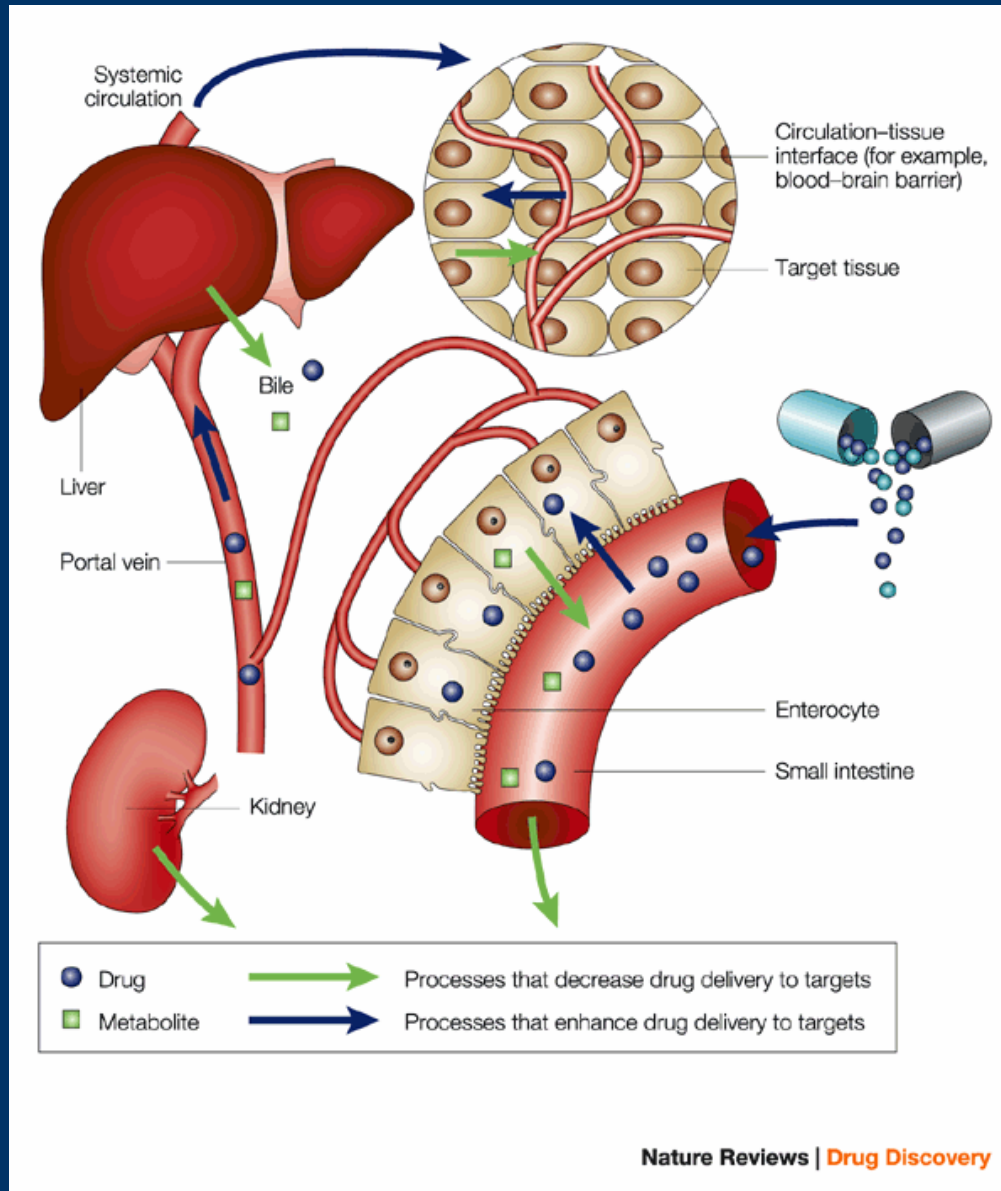
Farmacogenomica

La determinazione e l'analisi del genoma (DNA) e dei suoi prodotti (RNA e proteine) allo scopo di correlare queste informazioni con lo stato o la risposta al farmaco presente a livello cellulare, tissutale, di individuo o di popolazione, al fine di individuare nuovi bersagli terapeutici, scoprire e sviluppare farmaci o studiare la risposta ad essi.

- Farmacogenetica:
 - limitata ad un numero definito di geni noti
- Farmacogenomica:
 - intero genoma

Farmacocinetica

Assorbimento
Distribuzione
Metabolismo
Escrezione
(ADME)



Farmacodinamica

Geni che influenzano la risposta al farmaco

- Geni codificanti per **proteine coinvolte nella biodisponibilità del farmaco (farmacocinetica)**
 - Trasportatori, enzimi del metabolismo
- Geni codificanti per **il bersaglio terapeutico del farmaco (farmacodinamica)**
 - Recettori, canali ionici, enzimi, proteine regolatrice

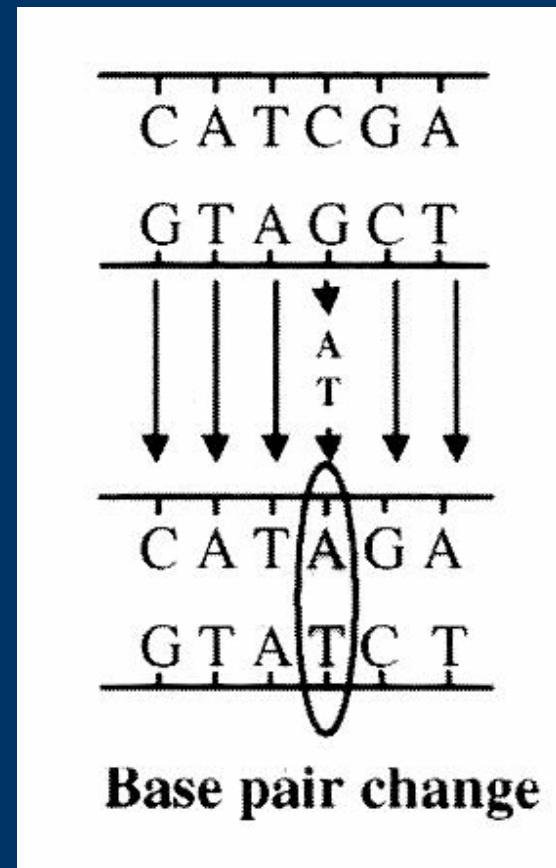
I geni che influenzano la risposta ai farmaci possono presentare **varianti alleliche** nella popolazione, cioè, in altri termini, essere **polimorfici**

Polimorfismi

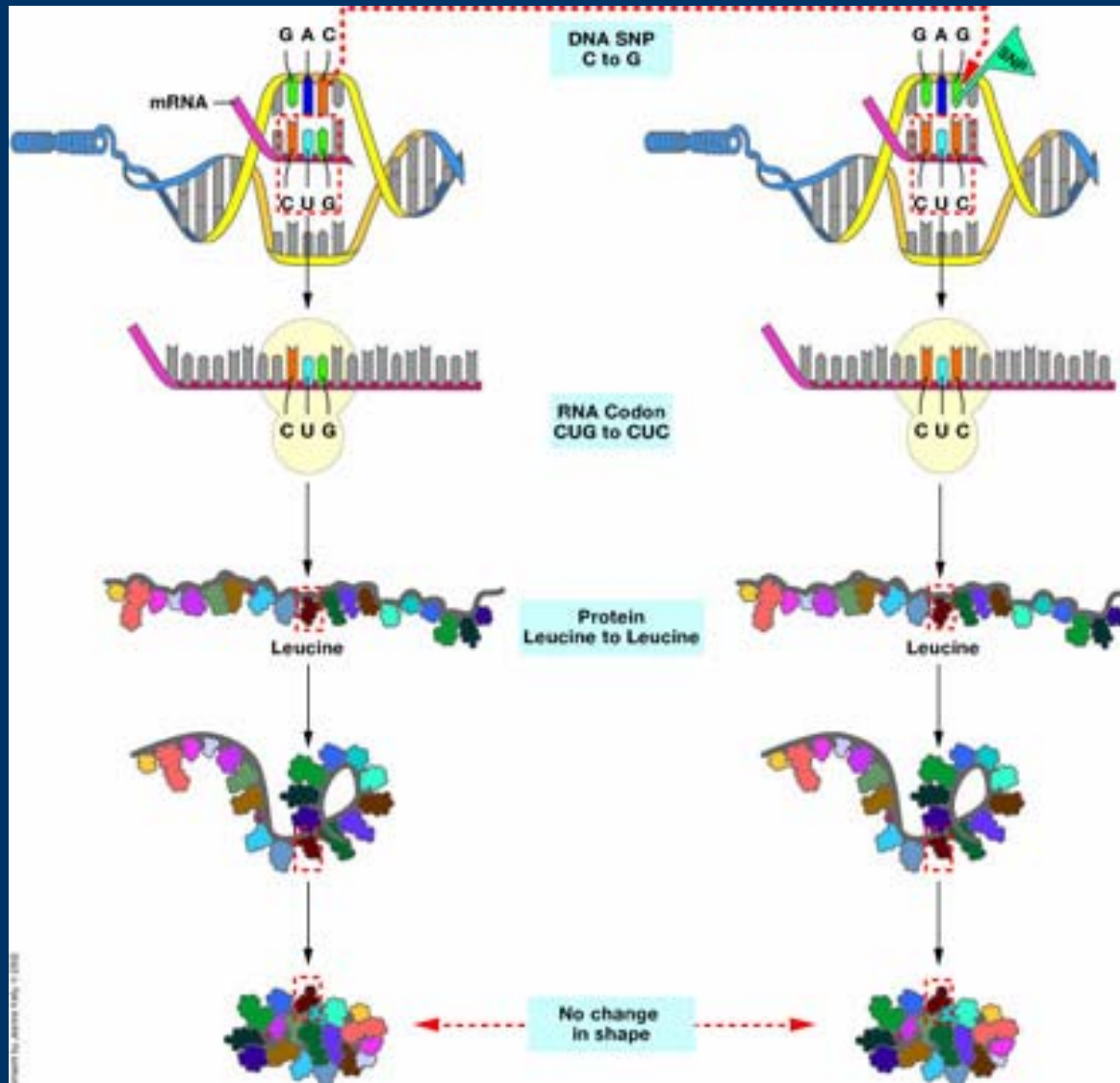
- Varianti alleliche presenti in $>1\%$ della popolazione
- Dovute a sostituzioni di singole basi, inserzioni e delezioni, ed a variazioni nel numero di tandem repeats
- Il tipo più comune sono i Single Nucleotide Polimorphisms (SNPs), polimorfismi a nucleotidi singoli

Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

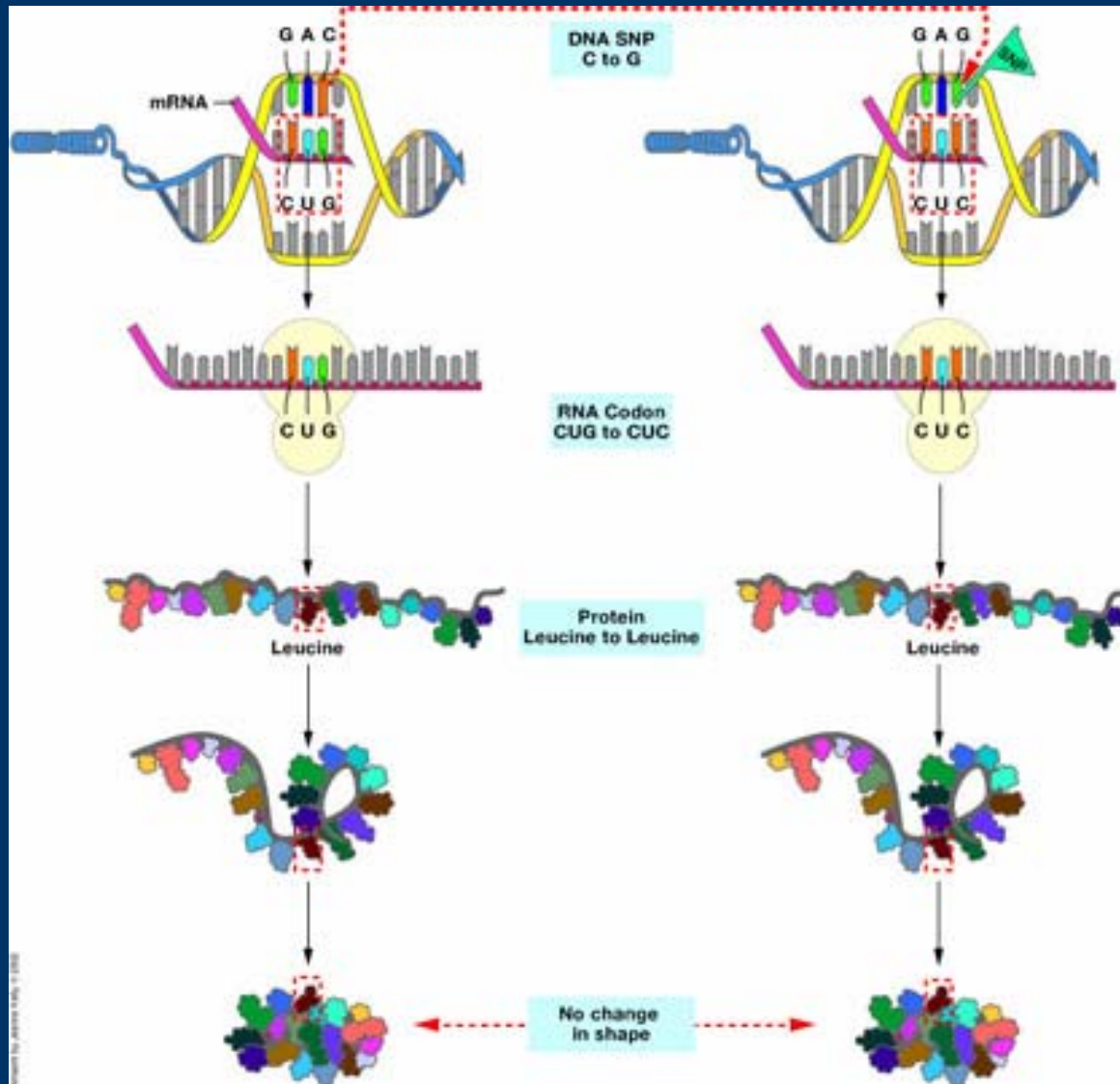
- Sostituzione di una singola base
- 1 SNP ogni 1000 basi
- 3-10 milioni nel genoma umano
 - 1.8 milioni identificati
- 5-10 SNPs per gene
- 1% possono avere significato biologico
 - SNPs nelle regioni coding o regolatrici (gene promoters)



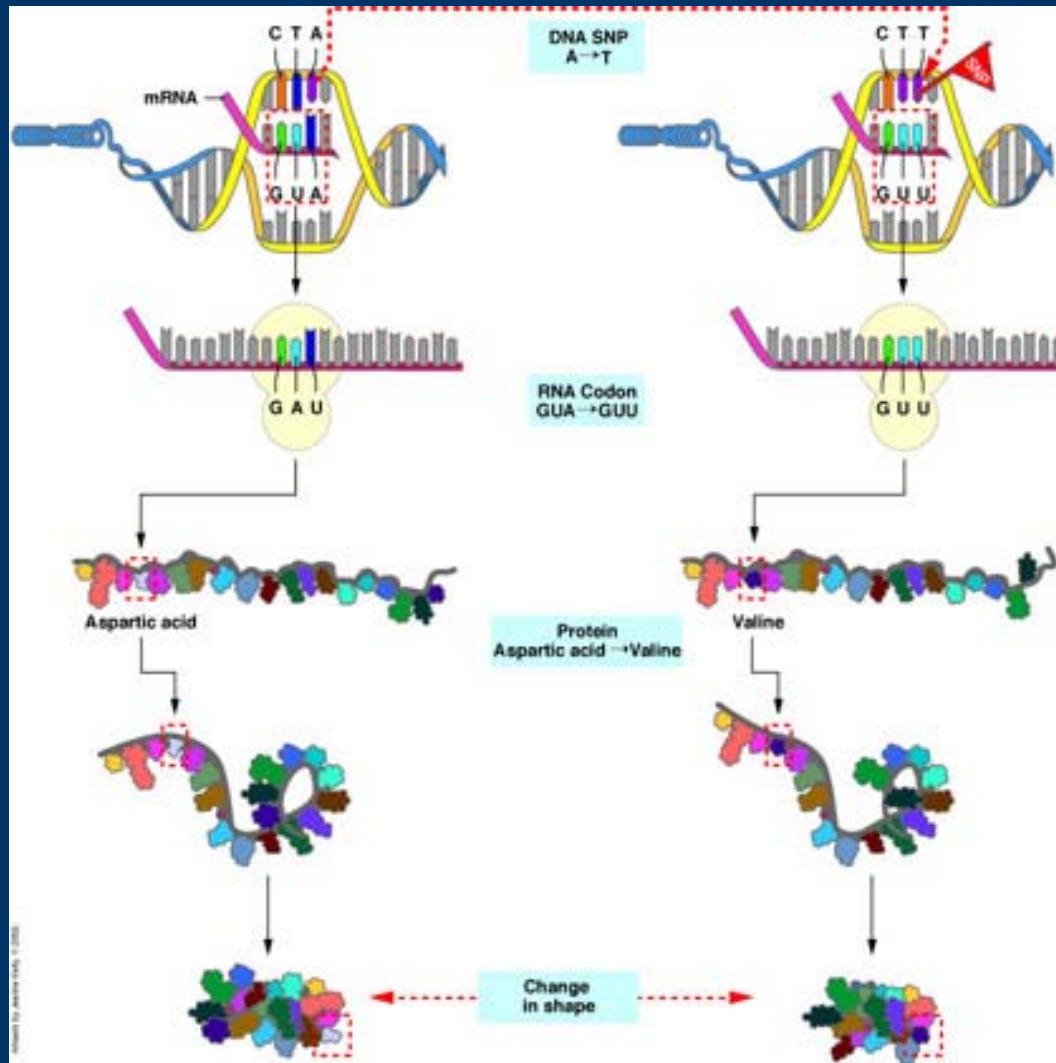
SNP ridondante – nessuna sostituzione aminoacidica



SNP con sostituzione aminoacidica ma effetti minimi sulla proteina



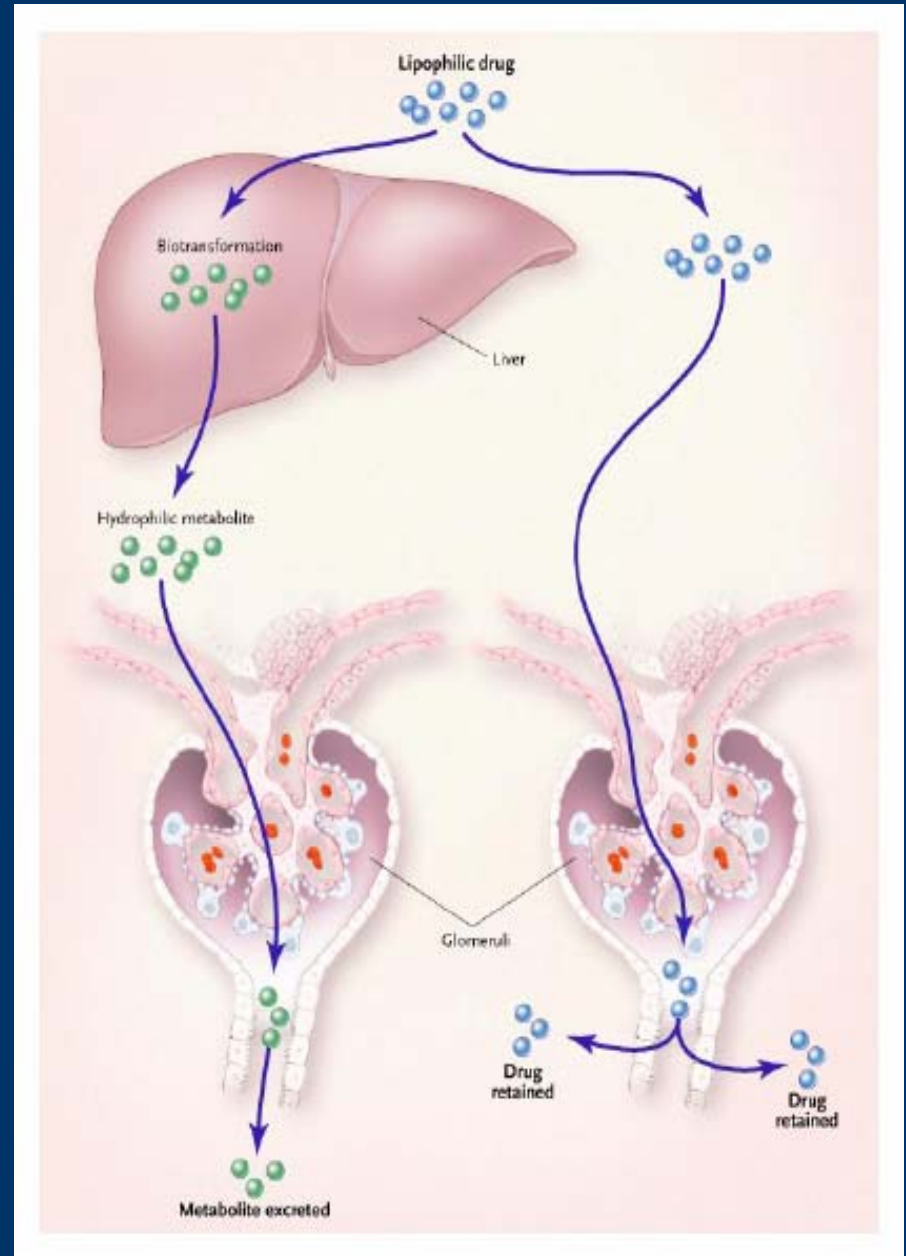
SNP con cambiamento aminoacidico risultante in alterazione significativa sulla struttura e funzione della proteina



Polimorfismi degli enzimi responsabili del metabolismo dei farmaci

Biotrasformazione epatica

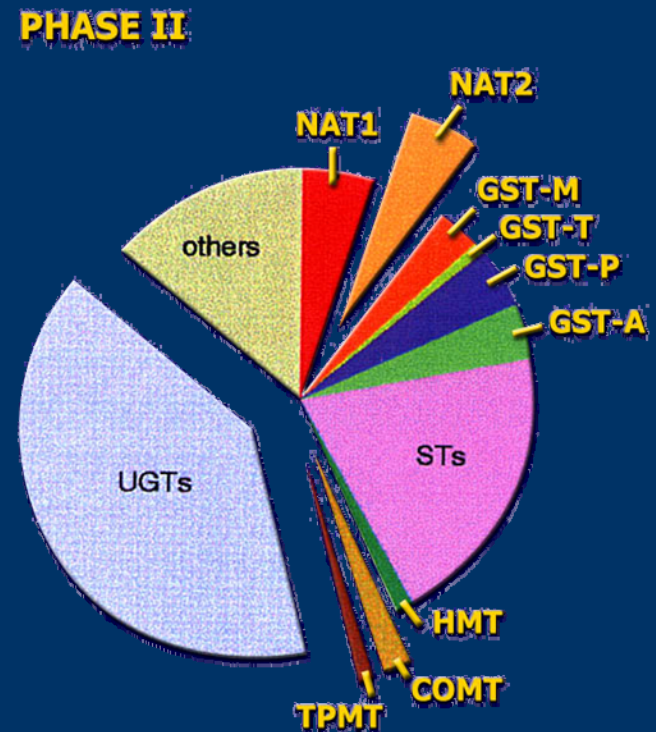
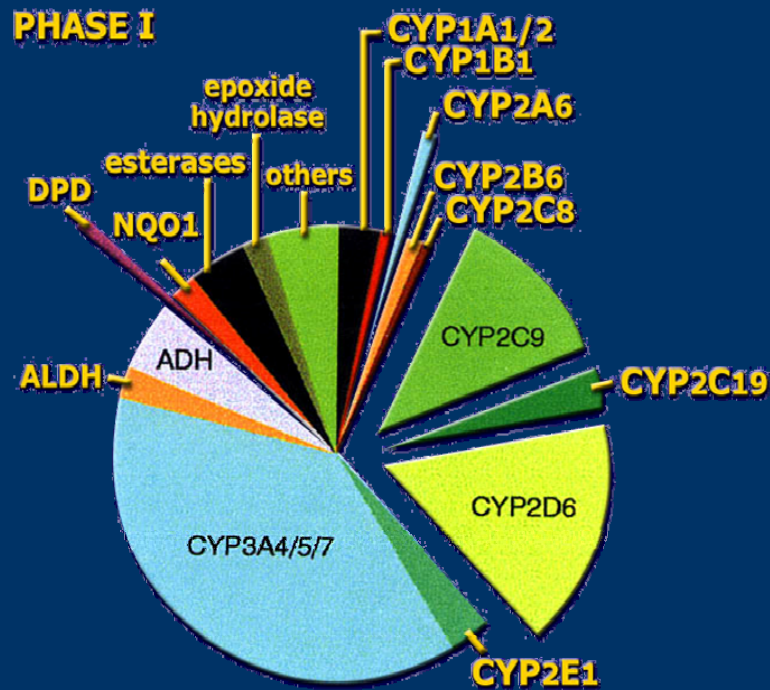
- Meccanismo principale per la regolazione della concentrazione del farmaco
- Trasforma composti lipofili in metaboliti più idrosolubili e facilmente eliminabili con l'urina



Metabolismo del farmaco

- Reazioni di fase I
 - Trasformazione dei gruppi funzionali della molecola
 - Ossidazioni, riduzioni ed idrolisi
- Reazioni di fase II
 - Coniugazione con sostanze endogene per la formazione di composti inattivi
 - Solfatazione, acetilazione, metilazione

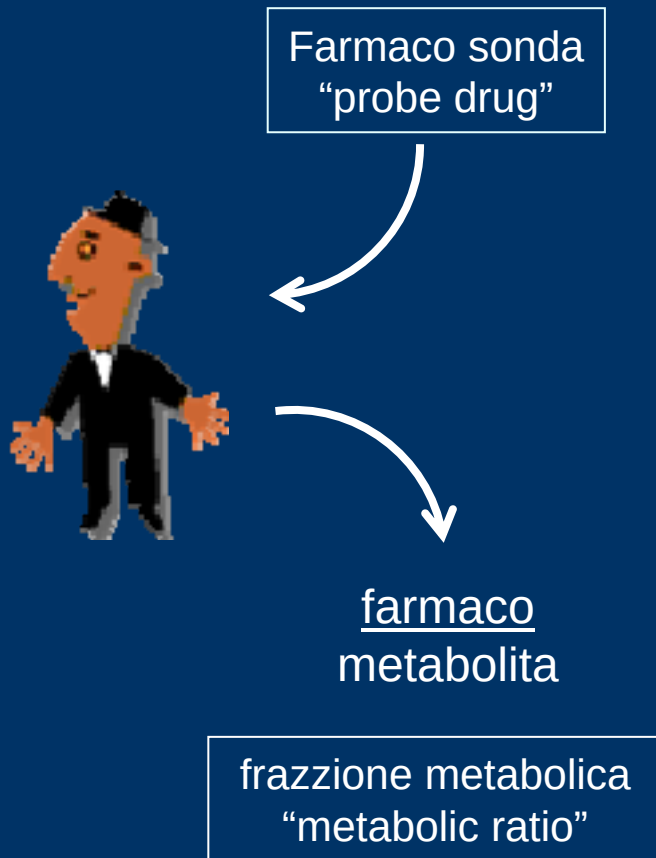
Polimorfismi degli enzimi di fase I e II



Citocromo p450 CYP2D6

- Responsabile per il metabolismo del 25-30% dei farmaci
 - Beta-bloccanti (propranololo, metoprololo)
 - Antiaritmici (nimodipina)
 - Antidepressivi triciclici (imipramina, fluossetina)
 - Neurolettici (aloperodolo)
 - Antitussivi (destrometorfano)
 - Narcotici (codeina)

Identificazione dei pazienti con il fenotipo polimorfico del metabolismo



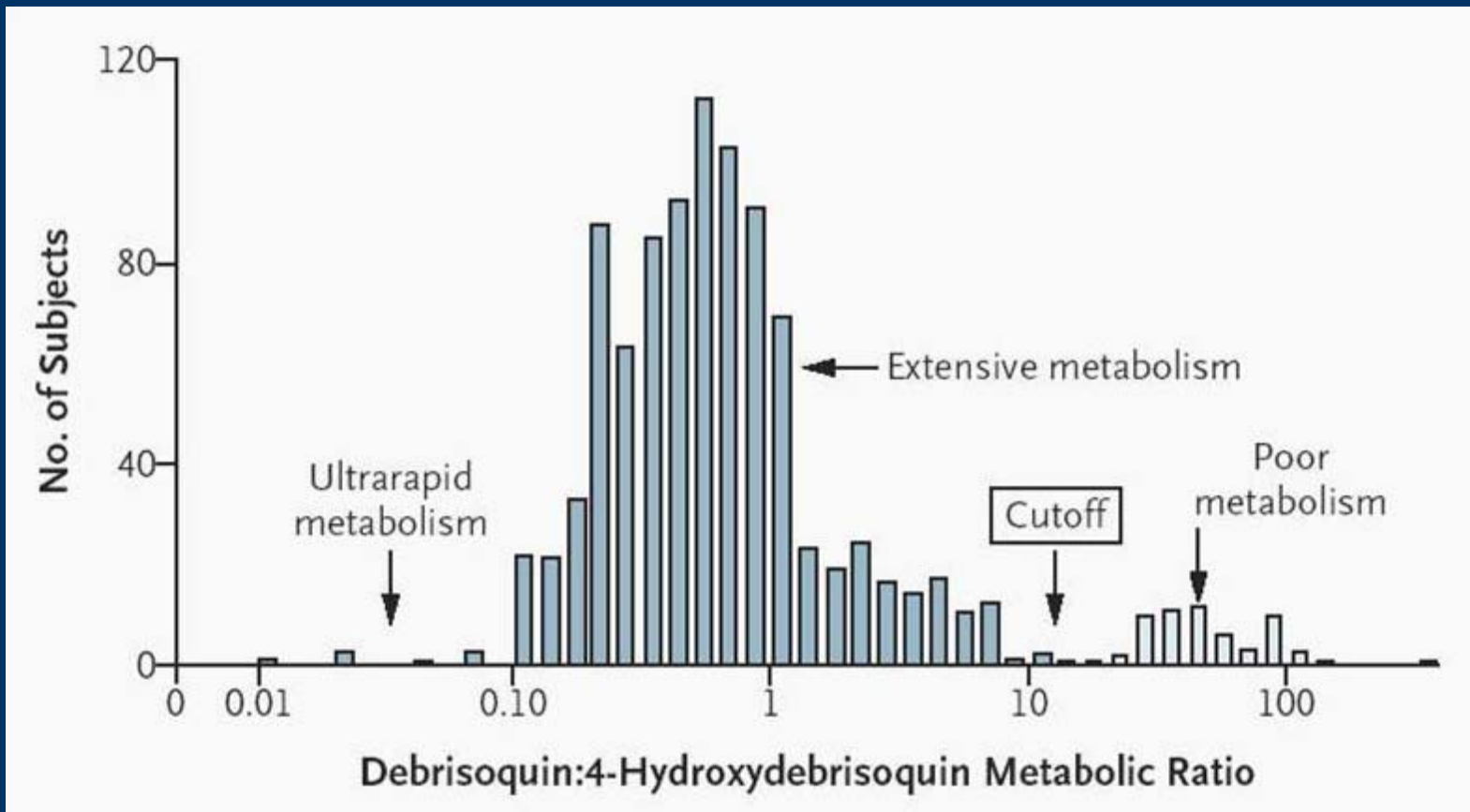
popolazione polimorfica

popolazione normale



metabolic ratio

Distribuzione polimorfica dell'attività di CYP2D6 *in vivo*



Fenotipi polimorfici di CYP2D6

	% popolazione generale
■ Extensive metabolizer (EM) metabolizzatore rapido	85-95
■ Poor metabolizer (PM) metabolizzatore lento	5-10
■ Ultra-rapid metabolizer (UM) metabolizzatore ultra-rapido	1-10

Distribuzione etnica dei fenotipi polimorfici di CYP2D6

■ Poor metabolizer

■ Europei	5-10 %
■ Africani (USA)	2-5 %
■ Orientali	<1 %

■ Ultra-rapid metabolizer

■ Scandinavi	1.5 %
■ Spagnoli	7 %
■ Etiopi	20 %

Effetti farmacologici in pazienti con polimorfismi di CYP2D6

fenotipo metabolizzatore

poor

ultra-rapid

Antidepressivi triciclici

cardiotossicità
tachicardia,
costipazione, debolezza

inefficace

Antiaritmici

parestesie
disturbi visivi
vertigine, nausea,
vomito, aritmie

inefficace

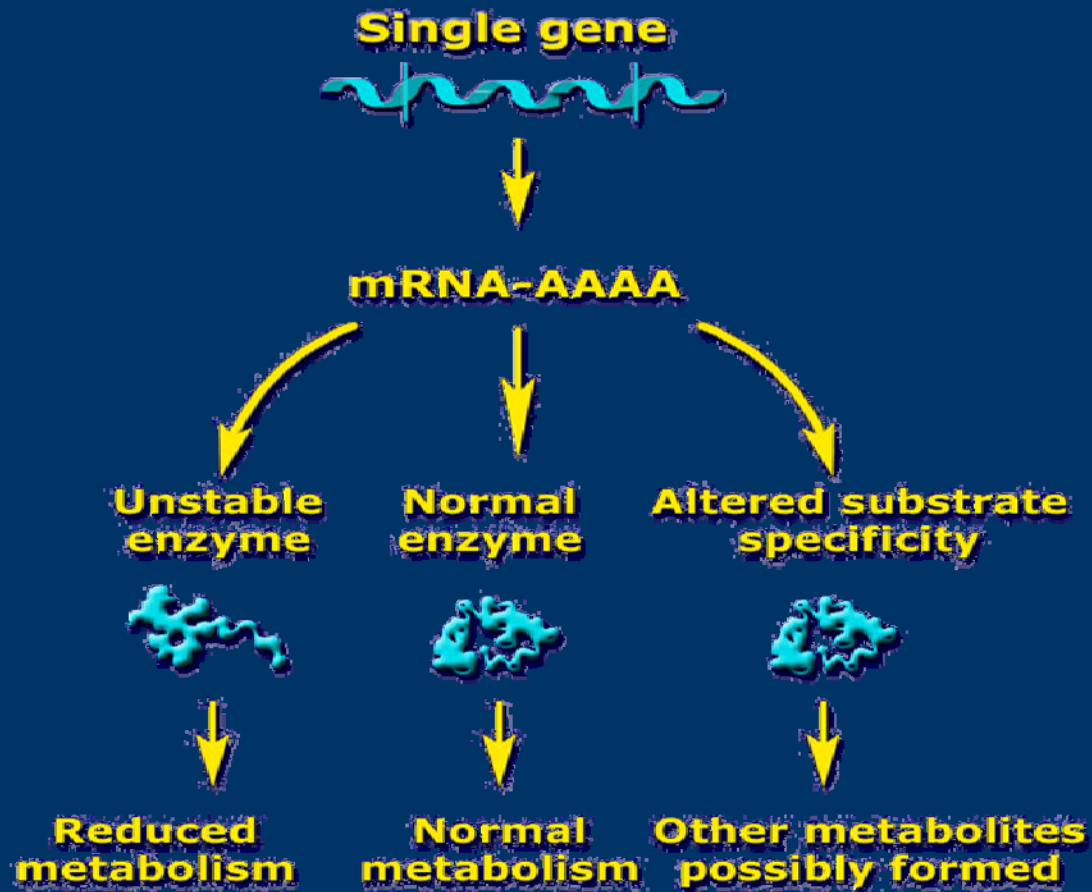
Codeina

inefficace

euforia, nausea

Polimorfismi di CYP2D6

- >75 varianti alleliche
 - SNPs
 - delezione o addizione di una singola base
 - delezione del gene
 - duplicazioni del gene (2x-13x)



Deleted gene



**No
enzyme**



**No
metabolism**



Activation of alternative
metabolic pathways

**Duplicated or
multiduplicated genes**



**mRNA-AAAA
mRNA-AAAA
mRNA-AAAA**

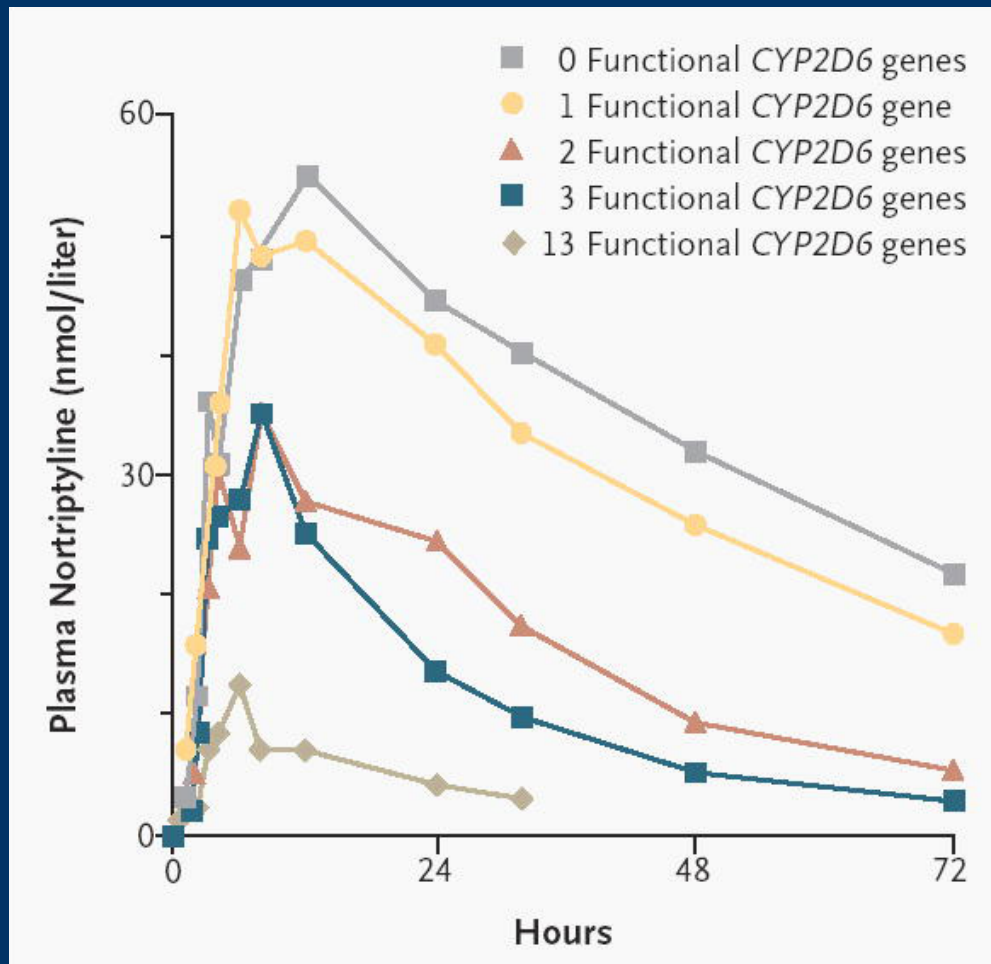


**Higher
enzyme levels**



**Increased
metabolism**

Concentrazioni medie plasmatiche di nortryptiline dopo somministrazione di una singola dose orale in pazienti con 0, 1, 2, 3, o 13 copie funzionali del gene CYP2D6



Polimorfismi nei bersagli dei farmaci

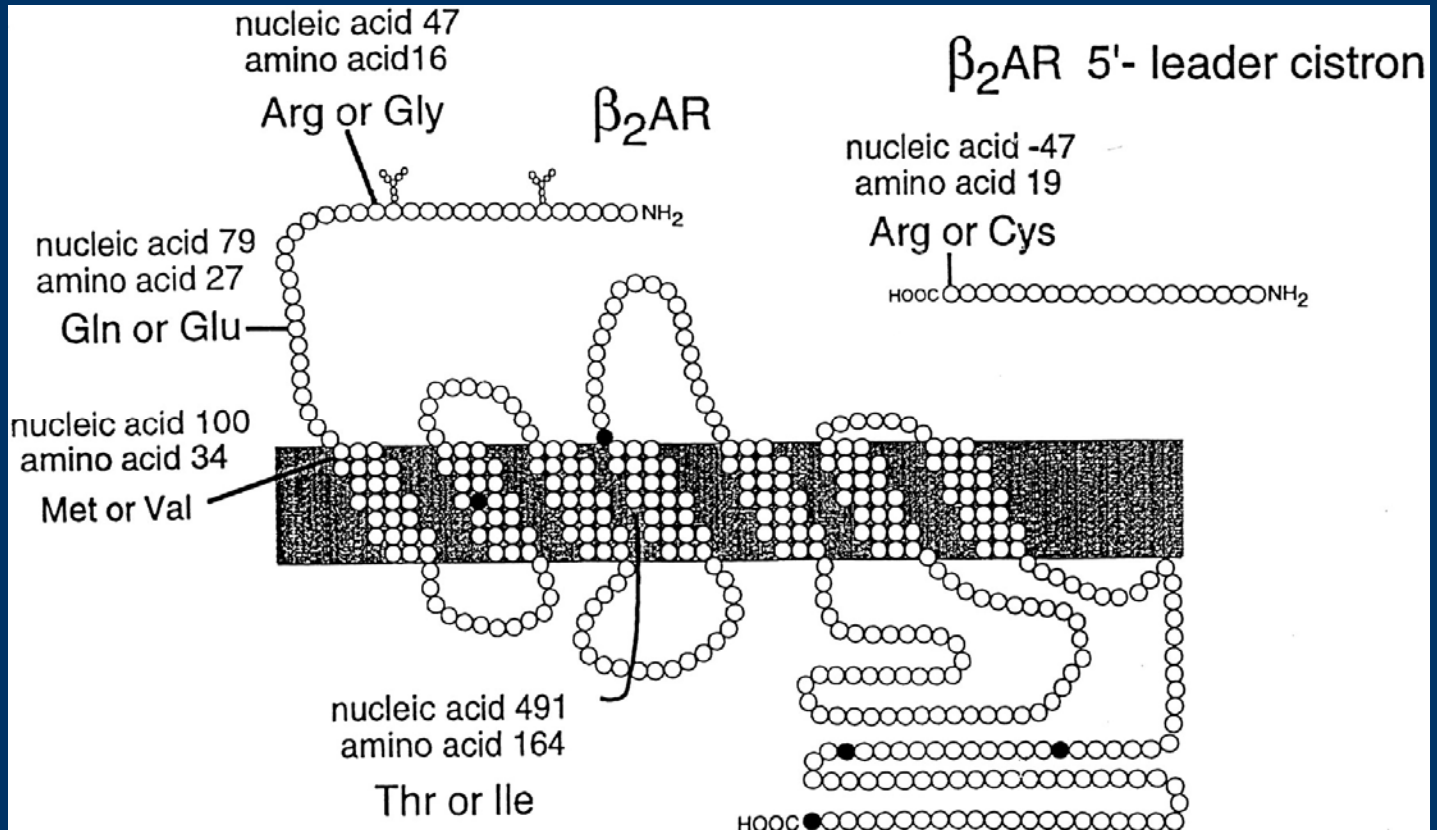
Terapia dell'asma e il polimorfismo del recettore adrenergico beta-2

- Esiste una notevole variabilità individuale nella efficacia e nella durata di azione dei farmaci broncodilatatori (beta adrenergici) tra i pazienti asmatici .
- Parte di questa variabilità è dovuta alla desensibilizzazione del paziente al farmaco nel tempo causata dalla riduzione del numero di recettori beta-2 adrenergici.

Polimorfismi del recettore adrenergico beta-2

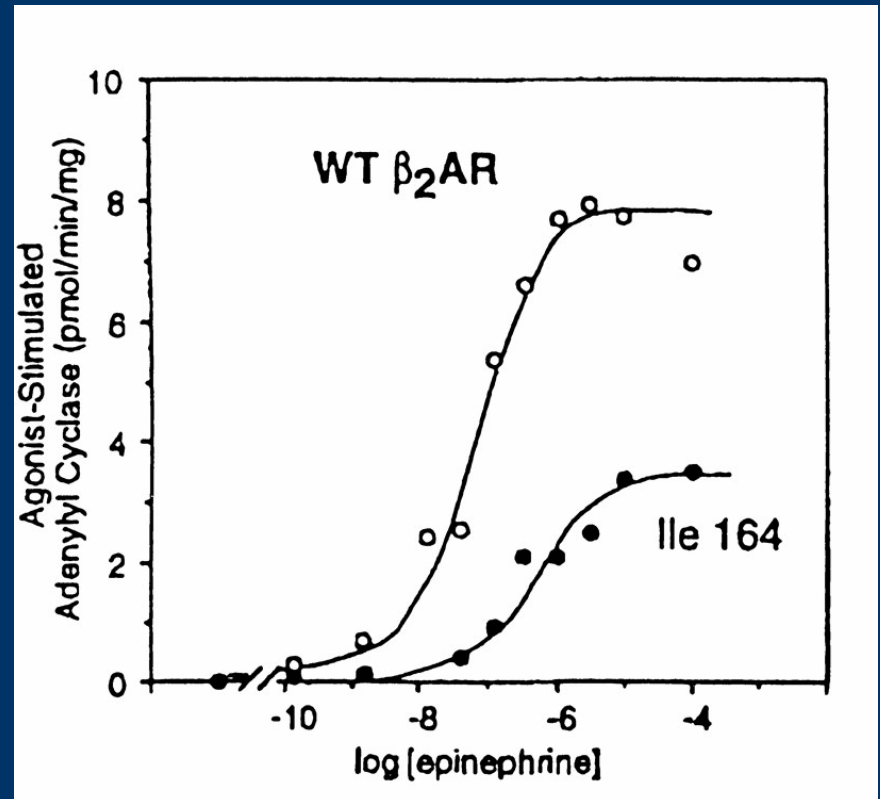
- 9 SNPs in coding region del gene
 - 5 silenti (senza sostituzione aminiacidica)
 - 4 con sostituzione aminoacidica in 16, 27, 34 and 164 aa
- >10 SNPs nella regione 5' a monte (5'-upstream region)
 - 1 dei 10 si trova in una sequenza (5'-leader cistron) che codifica per un peptide di 19-aa (BUP), il quale regola l'espressione del recettore beta-2

Polimorfismi del recettore adrenergico beta-2



Effetto farmacologico del polimorfismo nella posizione 164 aa

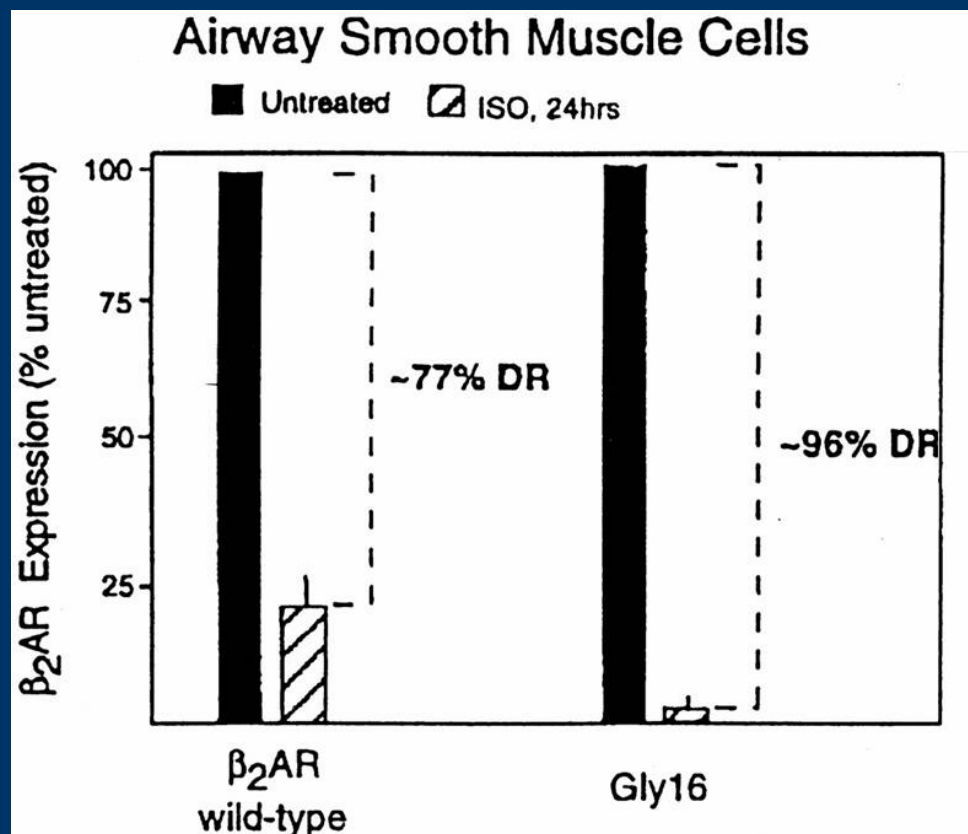
- *In vitro*: Riduzione nell'attivazione del recettore beta-2 sul muscolo liscio bronchiale.
- *In vivo*: Riduzione di broncodilatazione (?)



Green (1993) *J Biol Chem* 268 23116-23121.

Effetto farmacologico del polimorfismo nella posizione 16 aa

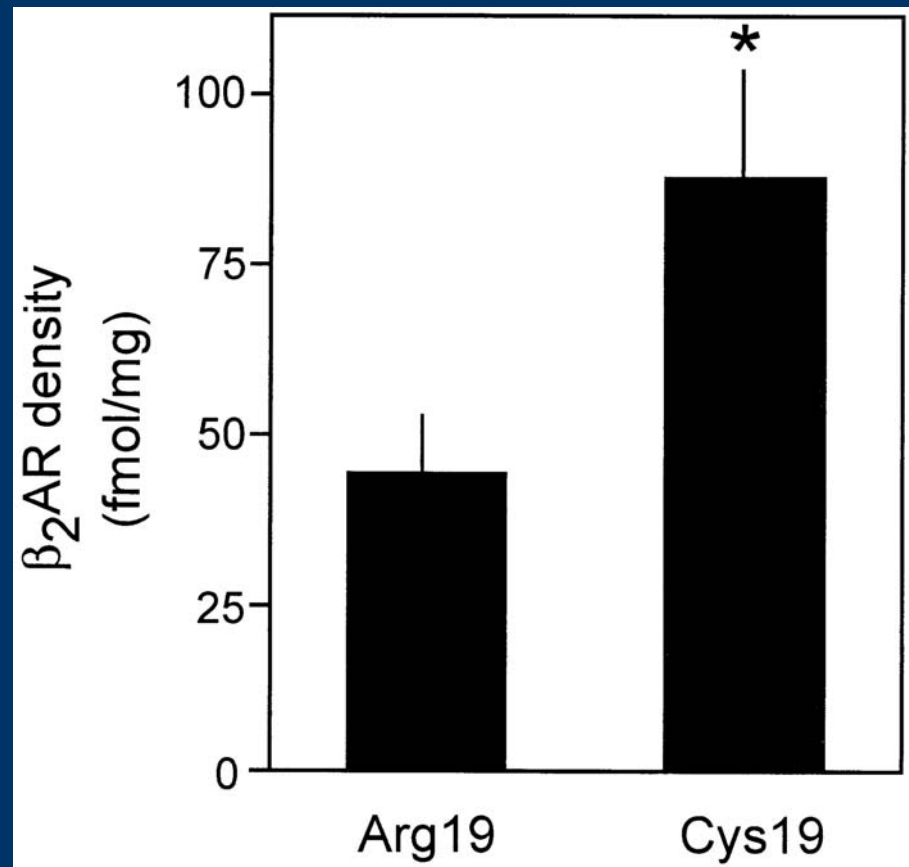
- *In vitro* : Aumento nella desinsibilizzazione del recettore beta-2 conseguente alla esposizione prolungata al beta adrenergico
- *In vivo* : Riduzione della durata di azione dei beta-adrenergici che causa la desinsibilizzazione del paziente nel tempo (?)



Liggett (2000) *Am J Respir Crit Care Med* 161 S197-S201.

Effetto farmacologico del polimorfismo del peptide regolatore BUP

- *In vitro* : aumento nel numero di recettori adrenergici beta-2
 - *In vivo* : aumento nella broncodilatazione causata da beta-2 agonisti (?)
- Polimorfismo con effetto benefico



McGraw (1998) *J Clin Invest* 102: 1927-1932.

Effetti farmacologici dei polimorfismi del recettore adrenergico beta-2

- *In vitro*
 - Alterazioni nella funzione ed espressione del recettore
- *In vivo*
 - Studi clinici **non** hanno dimostrato una chiara associazione tra SNPs individuali e risposta broncodilatatoria
 - **aplotipi di SNPs sono predittivi della risposta broncodilatatoria**

Identificazione degli aplotipi per il recettore adrenergico beta-2

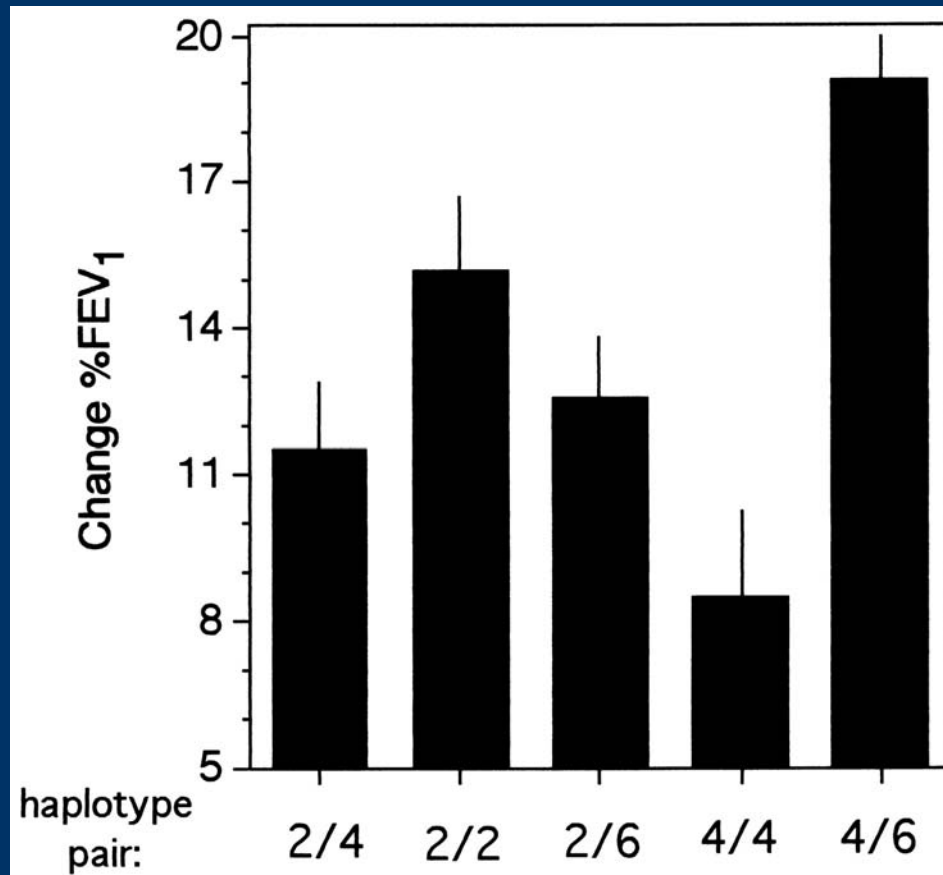
							▼		▼			▼	
Nucleotide:	-1023	-709	-654	-468	-406	-367	-47	-20	46	79	252	491	523
Alleles:	G/A	C/A	G/A	C/G	C/T	T/C	T/C	T/C	G/A	C/G	G/A	C/T	C/A
Haplotype													
1	A	C	G	C	C	T	T	T	A	C	G	C	C
2	A	C	G	G	C	C	C	C	G	G	G	C	C
3	G	A	A	C	C	T	T	T	A	C	G	C	C
4	G	C	A	C	C	T	T	T	A	C	G	C	C
5	G	C	A	C	C	T	T	T	G	C	G	C	C
6	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	A	C	A
7	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	A	T	A
8	G	C	A	C	C	T	T	T	A	C	A	C	A
9	A	C	G	C	T	T	T	T	A	C	G	C	C
10	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	A	C	C
11	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	G	C	C
12	A	C	G	G	C	T	T	T	A	C	G	C	C

Drysdale (2001) PNAS 97: 10483-10488.

Distribuzione etnica degli aplotipi del recettore beta-2 adrenergico

Haplotype	Haplotype frequency (%)				
	Caucasian	African American	Asian	Hispanic Latino	
1	0.7	25.0	12.5	10.0	
2	48.3	6.3	10.0	26.7	←
3	0.7	0.0	0.0	0.0	
4	33.0	29.7	45.0	40.0	←
5	1.4	0.0	0.0	0.0	
6	13.2	31.2	30.0	13.3	←
7	1.0	1.6	0.0	3.3	
8	0.7	0.0	0.0	0.0	
9	0.0	4.7	0.0	0.0	
10	0.7	0.0	0.0	3.3	
11	0.3	0.0	2.5	0.0	
12	0.0	1.6	0.0	3.3	

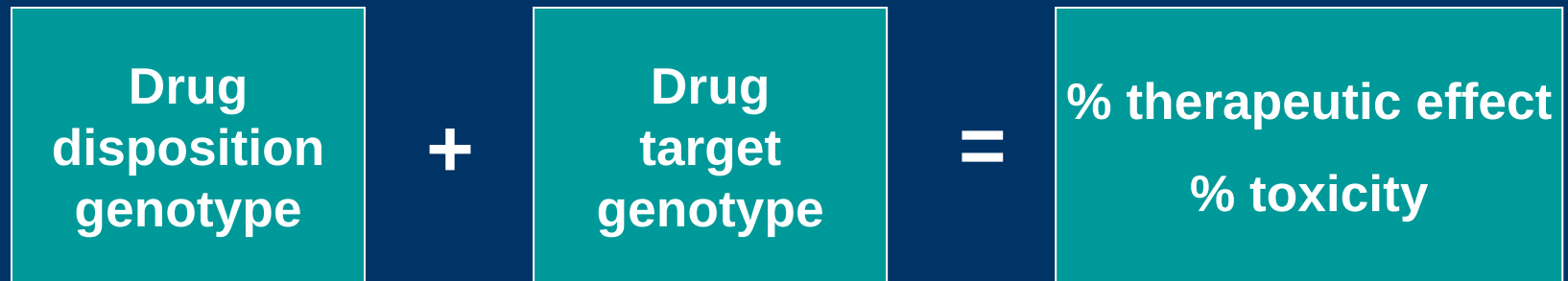
Gli aplotipi determinano la risposta broncodilatrice dei beta agonisti



Drysdale (2001) PNAS 97: 10483-10488.

Complessità poligenica

La risposta al farmaco non è un tratto monogenico



Modulatori dell'azione di un farmaco ("Modulators of drug action")

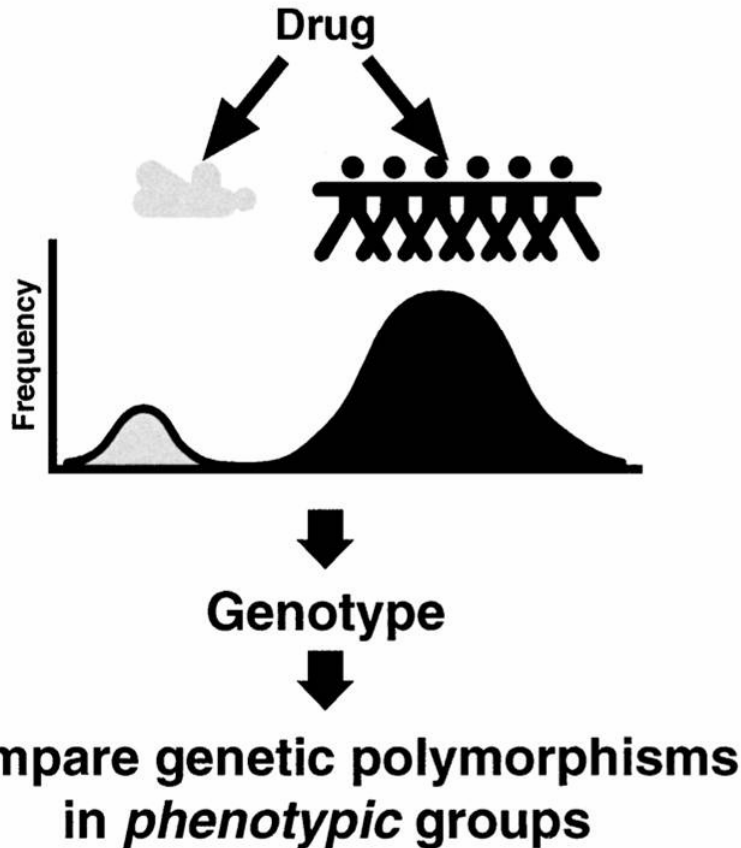
- La risposta ad un farmaco puo' essere modulata da polimorfismi di **disease-modifying genes** i quali influenzano la severita' o il decorso della malattia.

Apolipoproteina E (APOE) e la terapia per il morbo di Alzheimer

- Polimorfismi del gene di APOE modulano la risposta alla terapia del morbo di Alzheimer con tacrina (inibitore dell'acetilcolinesterasi).
 - Pazienti con il variante APOE4 hanno una ridotta risposta alla tacrina.
 - Associazione tra polimorfismi di APOE e la efficacia di tacrina e piu' marcata nelle donne.

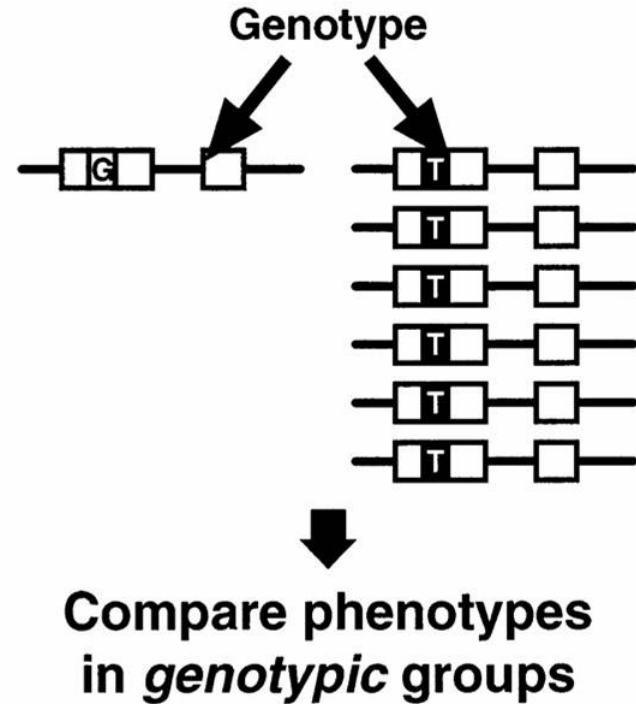
Pharmacogenetic Discovery

Pre-Genomics



farmacogenetica

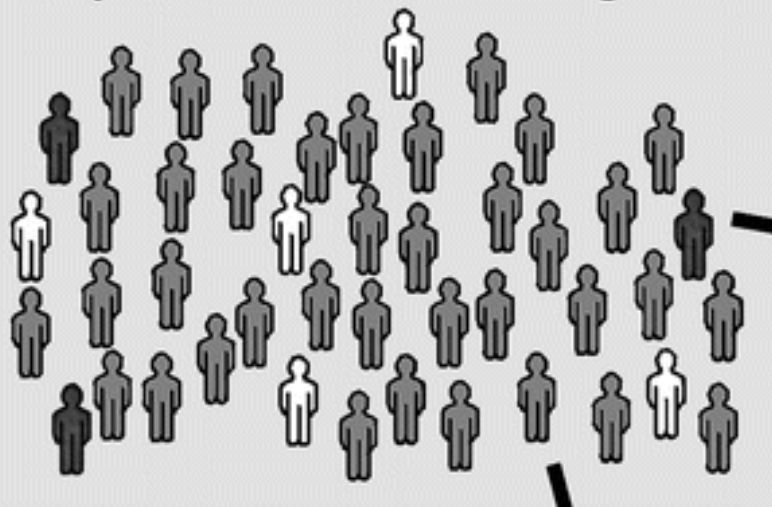
Post-Genomics



farmacogenomica

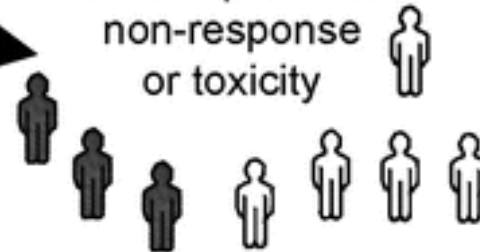
Potential of Pharmacogenomics

All patients with same diagnosis



1

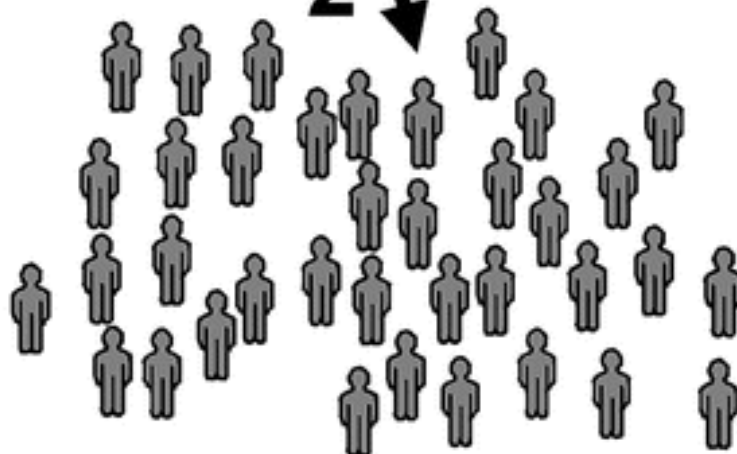
Genetic profile for
non-response
or toxicity



Treat with alternative
drug or dose

2

Genetic profile for
favorable response



Treat with
conventional
drug or dose

Il futuro della farmacogenomica

Medicina predittiva e terapia personalizzata

Il farmaco giusto alla dose giusta per il paziente giusto

References

- Weinshilboum R. Inheritance and drug response. N Engl J Med 248: 529-537, 2003.
- Evans WE and McLeod HL. Pharmacogenomics – Drug disposition, drug targets, and side effects. N Eng J Med 348: 538-549, 2003.
- Roden DM and Geroge AL. The genetic basis of variability in drug responses. Nature Reviews Drug Discovery 1: 37-44, 2002.
- Evans WE and Johnson JA. Pharmacogenomics: The inherited basis for interindividual differences in drug response. Annu Rev Hum Genet 2: 9-39, 2001.