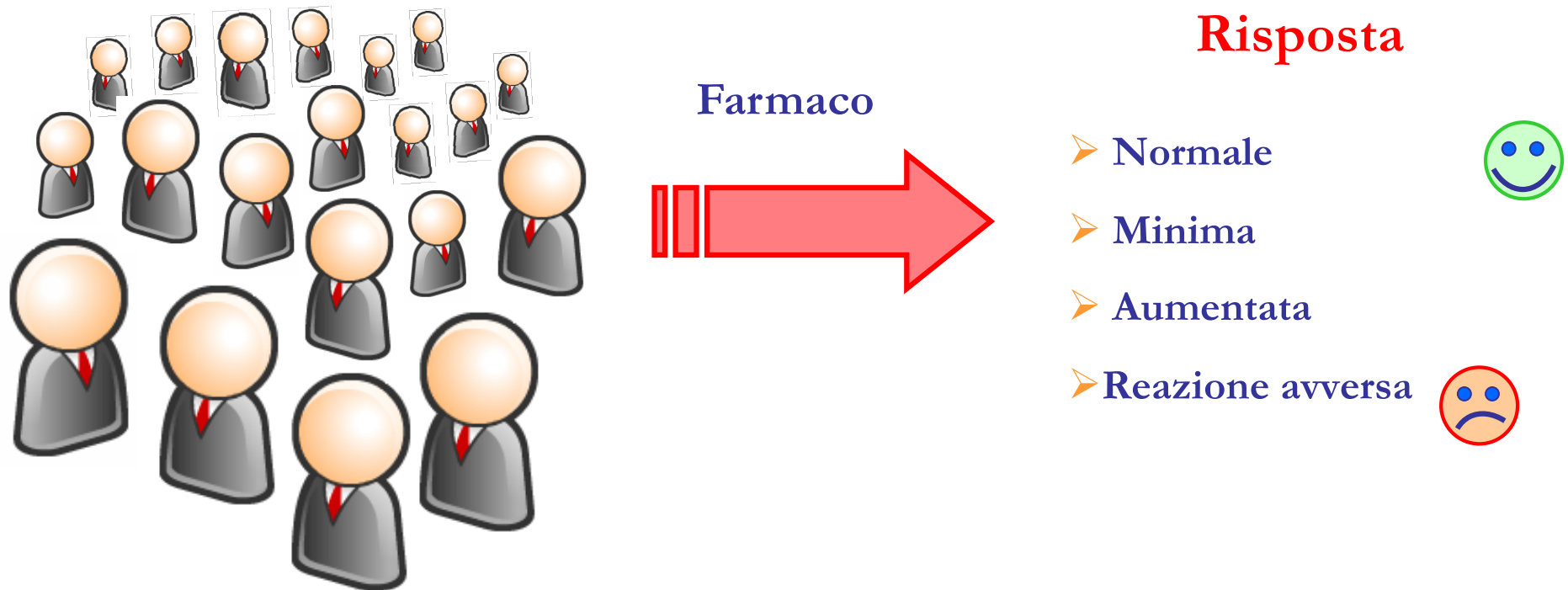


Farmacogenetica e Farmacogenomica

Argomenti della lezione

1. Farmacogenetica e Farmacogenomica: concetti
2. Polimorfismi e CYP2D6
3. Esempi di casi clinici
4. Come identificare i fattori genetici
5. Prospettive future in medicina

Variabilità individuale nelle risposte alla terapia farmacologica



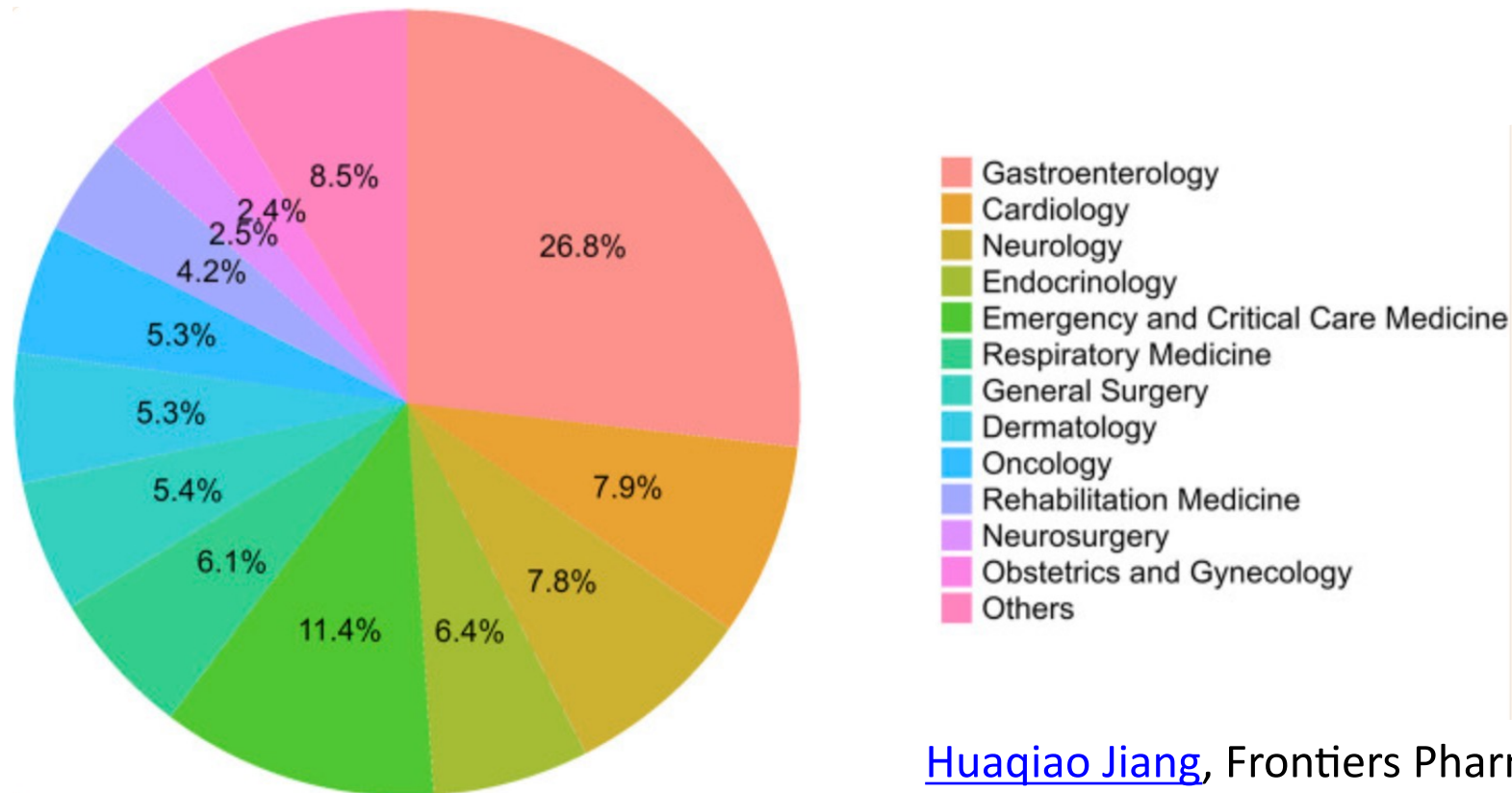
Variabilità nella efficacia terapeutica dei farmaci

	<u>% Pazienti con scarsa risposta</u>
• Antagonisti della angiotensina 2 (Anti-ipertensivi)	10-25%
• ACE inibitori (ipertensione arteriosa)	10-25%
• Beta-bloccanti	15-25%
• Antidepressivi ciclici	20-50%
• Agonisti beta- adrenergici 2 (antiasmatici)	40-70%

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:

❖ Fisiologici

- ❖ 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 genomiche con lo **stato o la risposta al farmaco** identificabile a livello cellulare, tissutale, di individuo o di popolazione, **al fine di individuare nuovi bersagli terapeutici, scoprire e sviluppare farmaci o studiare la risposta ai farmaci**

❖ Farmacogenetica:

- limitata ad un numero definito di geni noti

❖ Farmacogenomica:

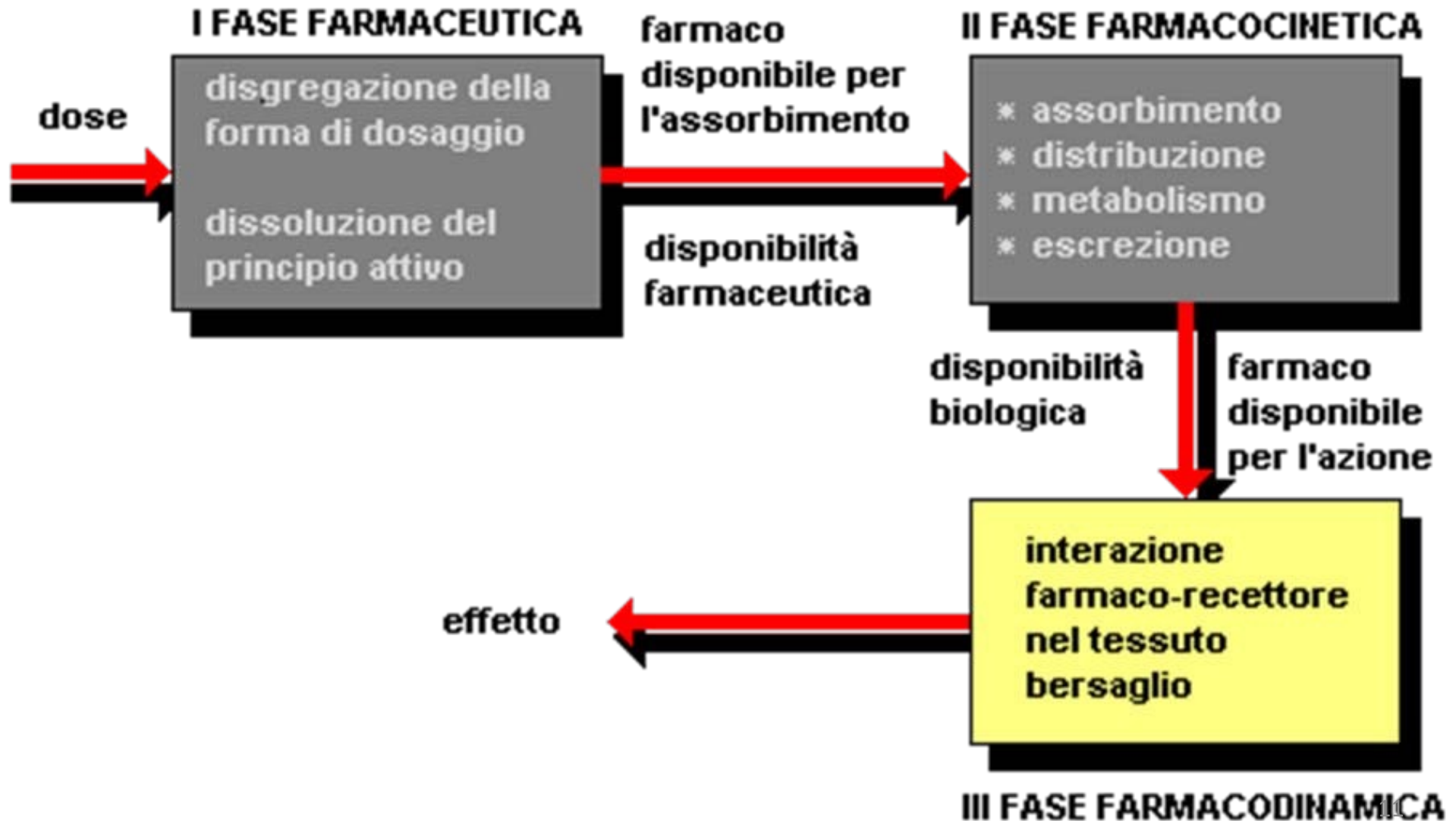
- intero genoma

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*

Farmacocinetica: il tasso con il quale il corpo assorbe, trasporta, metabolizza, o elimina i farmaci o i loro metaboliti

Farmacodinamica: effetti biochimici e fisiologici dei farmaci sull'organismo, ed il loro meccanismo d'azione



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

Polimorfismi definizione

Una variazione della sequenza genomica che si verifica con una frequenza $>$ all'1%

Polimorfismi noti:

ripetizione microsatellite di 2, 3 o 4 nucleotidi (più frequenti sono le ripetizioni CA)

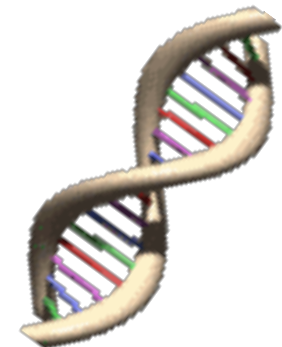
~ 1 ogni 50 kb (Alleli multipli)

Polimorfismi a singolo nucleotide (SNP)

Sostituzione di una singola base

~ 1 ogni 1 kb (2 alleli)

Il 90% delle variazioni sono SNPs



Microsatellite

GAACGTACTCACACACACACACATTGAC

TTCGATGATAGATAGATAGATAGATACGT

SNP

- **Variazione di un singolo polimorfismo**

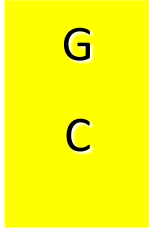
GTGGACGTGCTT[G/C]TCGATTACCTAG

genotipo



GG
GC
CC

Allele



G
C

Variazioni fenotipica

differenti fenotipi \longleftrightarrow *differenti varianti di sequenze*

Karen
Debo
Jose
Thomas
Anupriya
Robert
Michelle
Zhijun



Karen	AGCTTGAC	TCCA	TGATGATT
Debo	AGCTTGAC	GCCA	TGATGATT
Jose	AGCTTGAC	TCCC	TGATGATT
Thomas	AGCTTGAC	GCCC	TGATGATT
Anupriya	AGCTTGAC	TCCA	TGATGATT
Robert	AGCTTGAC	GCCA	TGATGATT
Michelle	AGCTTGAC	TCCC	TGATGATT
Zhijun	AGCTTGAC	GCCC	TGATGATT

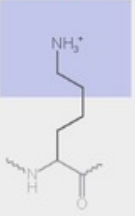
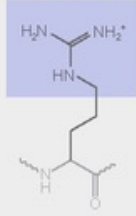
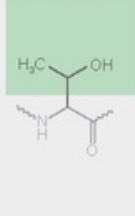
In termini di sequenza del DNA, tutti gli umani sono simili al 99,5%

0.5% differenze

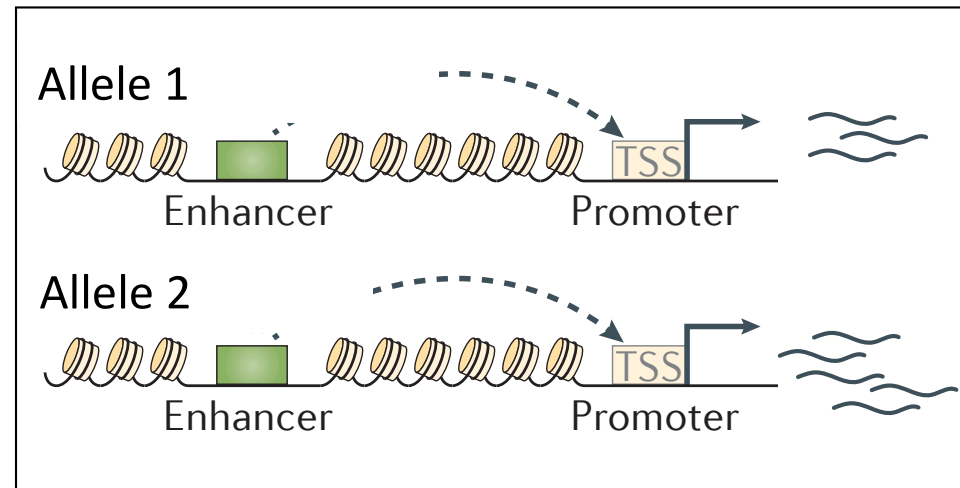
SNPs associati alla risposta ai farmaci

Regioni codificanti

SNPs nonsinonimi

Silent	Nonsense	Missense	
		conservative	non-conservative
TTT	ATC	TCC	TGC
AAA	UAG	AGG	ACG
Lys	STOP	Arg	Thr
			

Regioni regolatrici



SNPs che regolano l'espressione genica in cis

Polimorfismi degli enzimi responsabili del metabolismo dei farmaci

Metabolismo del farmaco

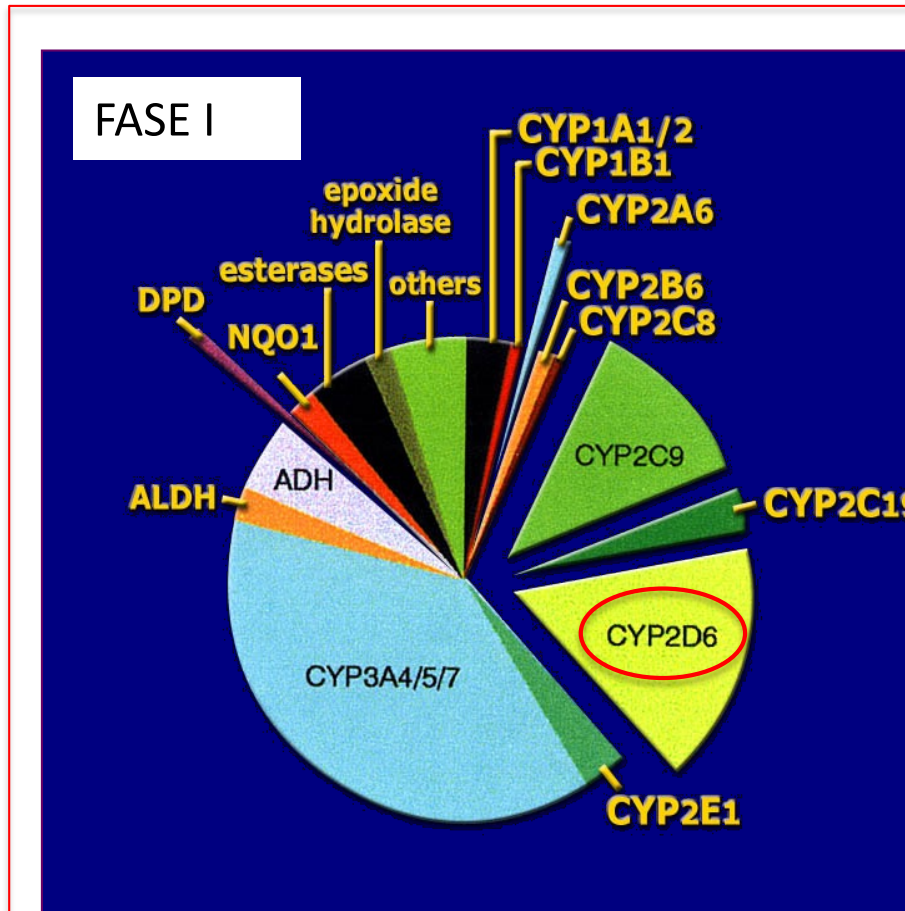
❖ Reazioni di fase I

- Trasformazione dei gruppi funzionali della molecola
- Ossidazioni, riduzioni ed idrolisi

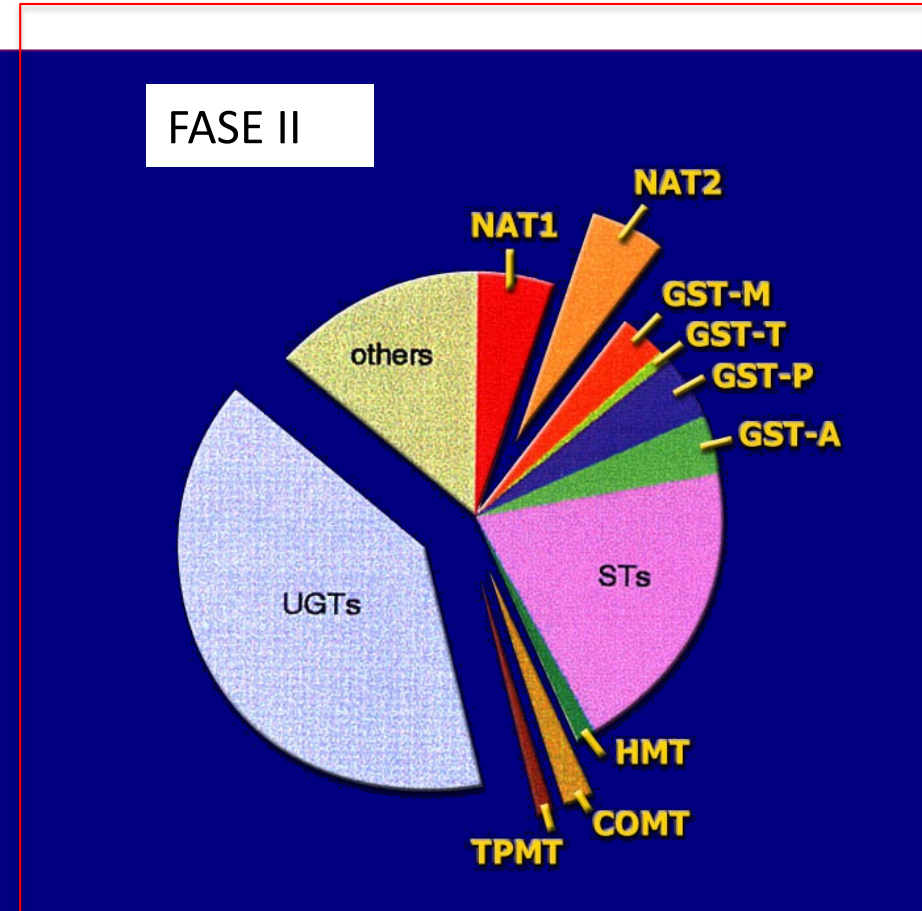
❖ Reazioni di fase II

- Coniugazione con sostanze endogene per la formazione di composti inattivi
- Solfatazione, acetilazione, metilazione

Polimorfismi degli enzimi di fase I e II



Citocromo P-450: 56 enzimi funzionali

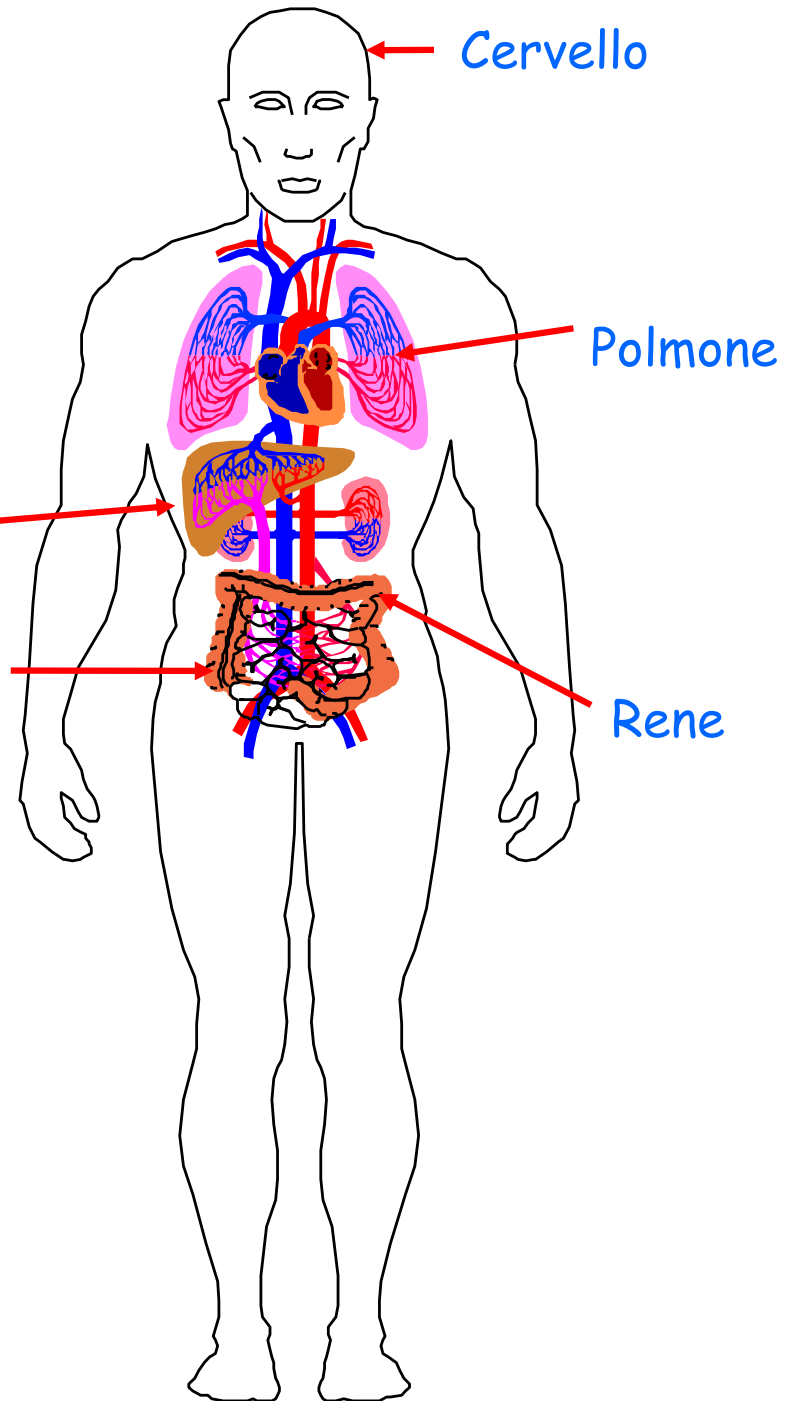


GST glutathione transferases: 5 enzimi
UDP-glucuronosyltransferase (UGT)

Citocromo P-450 enzimi

- ❖ Presenti in vari organi nel corpo
- ❖ Il fegato è la maggior risorsa

Monociti
Macrofagi
Linfociti



Citocromo p450 CYP2D6

❖ Reazioni di fase I

- Trasformazione dei gruppi funzionali della molecola
- Ossidazioni, riduzioni ed idrolisi

❖ **Responsabile per il metabolismo del 25-30% dei**

farmaci: *l'azione del gene è di iniziare il processo di detossificazione attraverso una serie di reazioni che rendono il farmaco meno attivo e più facile da eliminare*

- **Beta-bloccanti (propranololo, metoprololo)**
- **Antiaritmici (nimodipina)**
- **Antidepressivi triciclici (imipramina, fluossetina)**
- **Neurolettici (aloperodolo)**
- **Antitussivi (destrometorfano)**
- **Narcotici (codeina)**

Polimorfismi di CYP2D6

- > 75 varianti alleliche
- SNPs
- Delezioni oppure inserzioni di una singola base
- Delezioni del gene
- Duplicazioni del gene (2x-13x)

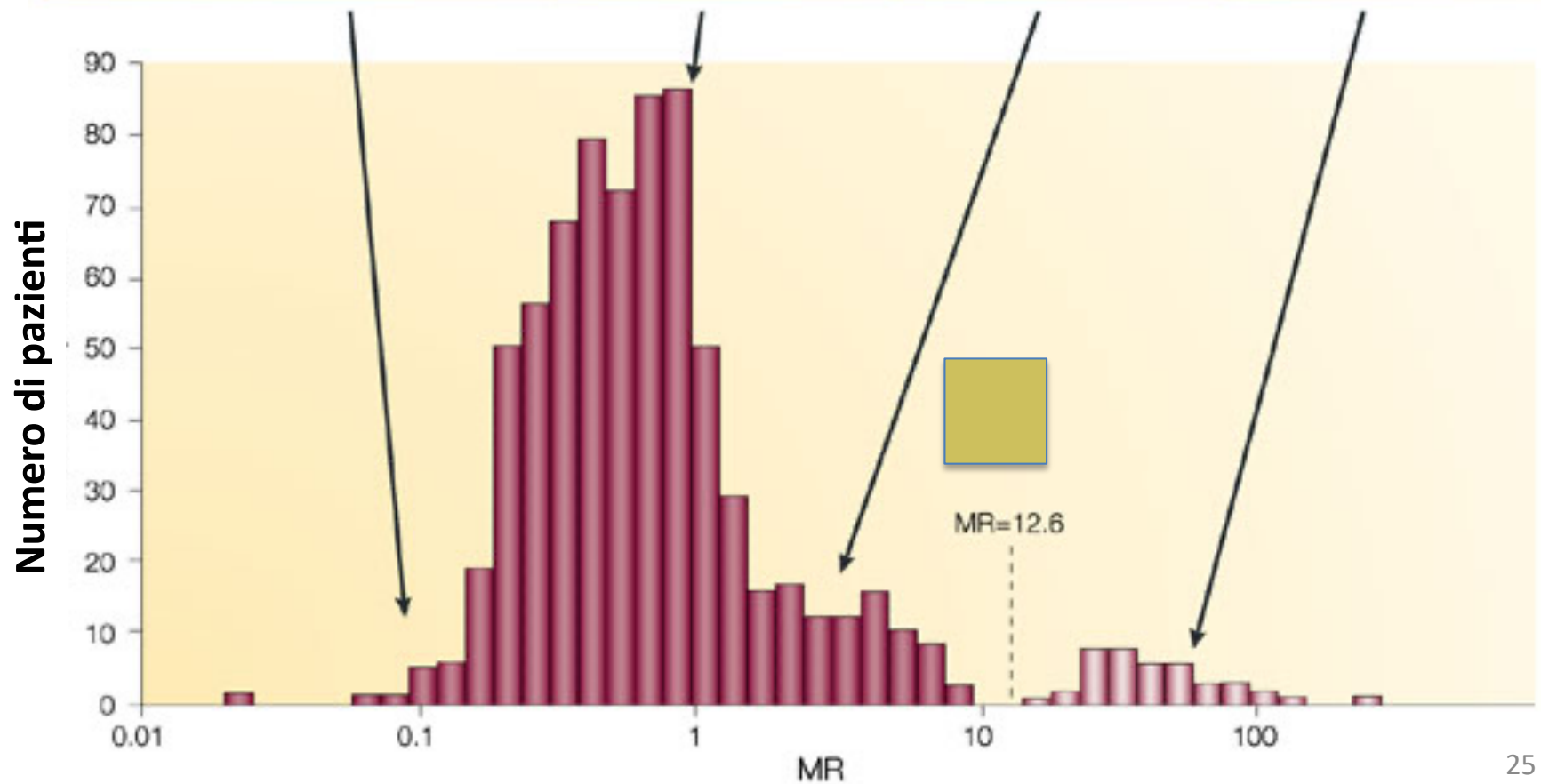
Modulare la dose del farmaco in base alla genetica del paziente: Esempio CYP2D6



È possibile ridurre la reazione avversa al farmaco correggendo la dose del farmaco in relazione all'attività enzimatica geneticamente prevista

Fenotipi polimorfici di CYP2D6

Genotype				
Phenotype	Ultrarapid metabolizers	Extensive metabolizers	Intermediate metabolizers	Poor metabolizers
Frequency (Caucasians)	5–10%	80–65%	10–15%	5–10%



Distribuzione etnica dei fenotipi polimorfici di CYP2D6

❖ **Metabolizzatori lenti**

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

❖ **Metabolizzatori Ultra-rapidi**

- Scandinavi 1.5 %
- Spagnoli 7 %
- Etiopi 20 %

Effetti farmacologici in pazienti con polimorfismi di CYP2D6

fenotipo metabolizzatore

lento

**ultra-
rapido**

Antidepressivi triciclici

cardiotossicità'
tachicardia,
costipazione,
debolezza

inefficace

Antiarritmici

disturbi visivi
vertigine,
nausea,
vomito, aritmie

inefficace

Codeina

inefficace

euforia,
nausea

Case Report

Pharmacogenetics of morphine poisoning in a breastfed neonate of a codeine-prescribed mother

Gideon Koren, James Cairns, David Chitayat, Andrea Gaedigk, Steven J Leeder

Avvelenamento da morfina in un neonato

- neonato con parto naturale (peso 3,88 Kg)
- Primi giorni di vita: sonnolenza
- Settimo giorno: difficoltà di suzione e letargia
- Dodicesimo giorno: il neonato era pallido e la quantità di latte che stava prendendo era diminuita
- Dopo Tredici giorni: morte
- Autopsia: nessuna anomalia anatomica
- Sono escluse le anomalie congenite del metabolismo e i disordini endocrini congeniti
- Analisi della concentrazione di morfina nel sangue ha rivelato un valore **di 70 ng / mL** (la concentrazione di morfina nel sangue dei neonati nelle madri che allattano ricevendo la codeina raggiunge un massimo **di 2,2 ng / mL**)

Perche' ?

- Per il trattamento del dolore da episiotomia (perineo), la madre aveva assunto per due settimane un'associazione di **codeina e paracetamolo**.
- Il dosaggio è stato ridotto a causa dell'insorgenza della sonnolenza e della stitichezza della madre.
- È stato quindi analizzato un campione di latte materno, che ha mostrato una concentrazione di morfina di **87 ng / ml** il cui livello previsto per 60 mg di dosi di codeina ogni 6 ore è compreso tra **1,9 e 20,5 ng / mL**.

La madre è stata successivamente classificata come un **metabolizzatore ultra rapido** per il polimorfismo del gene CYP2D6 (duplicazione in eterozigosi: CYP2D6 *2A)

Questo polimorfismo aumenta la formazione di morfina da codeina (alcaloide contenente 3-metilmorfina)

Data la frequenza di questo genotipo (1% in Finlandia, 10% in Danimarca, fino a 29% in Etiopia), questo **polimorfismo è clinicamente importante**

Sindrome di Stevens-Johnson (SJS)

Forma estrema rara: **Necrolisi epidermica tossica (TEN)**



- Desquamazione (tipo ustioni) della pelle superiore al 10- 30% della superficie corporea
- Malessere e febbre
- Necrosi epidermica



Figura C-1 **A**, Numerose coalescenze di lesioni scure con bolle flaccide e siti multipli di distacco dell'epidermide che coinvolgono il 10-30% della superficie cutanea. Questa entità di distacco epidermico è nella "zona di sovrapposizione" tra sindrome di Stevens-Johnson e necrolisi epidermica tossica. **B**, Sindrome di Stevens-Johnson, questa immagine mette in evidenza il coinvolgimento delle labbra e delle mucose della bocca.



R. L. Nussbaum
R. R. McInnes, H. F. Williard
Thompson & Thompson
Genetica in Medicina
Edises

Patogenesi

- Rischio 50% per SJS e TEN: individui che assumono il farmaco antivirale abacavir e sono portatori dell'allele (antigeni leucocitari umani) HLA-B*5701
- Reazione immunitaria cellulo-mediata anomala in individui con l'allele HLA-B*5701 trattati con abacavir

Rischio di ricorrenza

- Eredità autosomica co-dominante
- 50% dei pazienti portatori sviluppa SJS o TEN
- La frequenza dell'allele HLA-B*5701 è molto diversa tra i gruppi etnici
- Associazioni simili sono state osservate con il farmaco antiepilettico carbamazepina e l'allele HLA-B*1502

Popolazione	Frequenza dell'allele HLA-B*5701 (%)
Bianca	8-10
Afroamericana	2,5
Cinese	0-2
Indiana	5-20
Tailandese	4-10



R. L. Nussbaum
R. R. McInnes, H. F. Williard
Thompson & Thompson
Genetica in Medicina
EdiSES

Prevenzione

- Screening di tutti i pazienti per i quali è in corso di trattamento con abacavir



Caso Clinico

- Uomo 37 anni ricoverato: mancanza di respiro, polmonite ed encefalite da *Toxoplasma gondii*
- Diagnosi: AIDS
- Trattamento: trimetoprim-sulfametossazolo associato a terapia antiretrovirale (ART) con l'inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa **abacavir**
- Dopo guarigione da polmonite ed encefalite viene dimesso
- Due settimane dopo l'inizio dell'ART: eruzione cutanea di macchie rosso scuro disseminata sul 90% della superficie corporea, con un distaccamento del 5% dell'epidermide, ulcerazioni genitali, stomatiti erosiva. L'applicazione di una leggera pressione sulla cute provocava la desquamazione della pelle (segno di Nikolsky)

Caso clinico

- La biopsia cutanea risultò compatibile con la sindrome di Stevens-Johnson
- La somministrazione del farmaco abacavir venne sospesa e l'uomo venne trasferito in un reparto per ustionati e trattato con terapia di supporto
- L'epidermide cominciò a guarire dopo una settimana, e le lesioni cutanee furono completamente risolte dopo 3 settimane
- L'ART venne cambiata con una combinazione di inibitori della proteasi e altri inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa, senza ricomparsa di reazione cutanee
- La carica virale scese fino a diventare non rilevabile, e la conta dei CD4 tornò nella normalità

Caso clinico

- Dopo un anno venne dimostrato che la necrosi epidermica tossica indotta da abacavir (SJS) era conseguente alla presenza dell'allele HLA-B*5701

L'ipertermia maligna

E' un'affezione genetica della cellula muscolare striata che si manifesta con un quadro di ipermetabolismo, danno del tessuto muscolare ed ipertermia quando persone affette (**SUSCETTIBILI**) vengono a contatto con determinati farmaci anestesiológicos.

Farmaci trigger

- Succinilcolina (Curari depolarizzanti)
- Anestetici alogenati
 - - Alotano
 - - Isoflurane
 - - Sevoflurane
 - - Desflurane

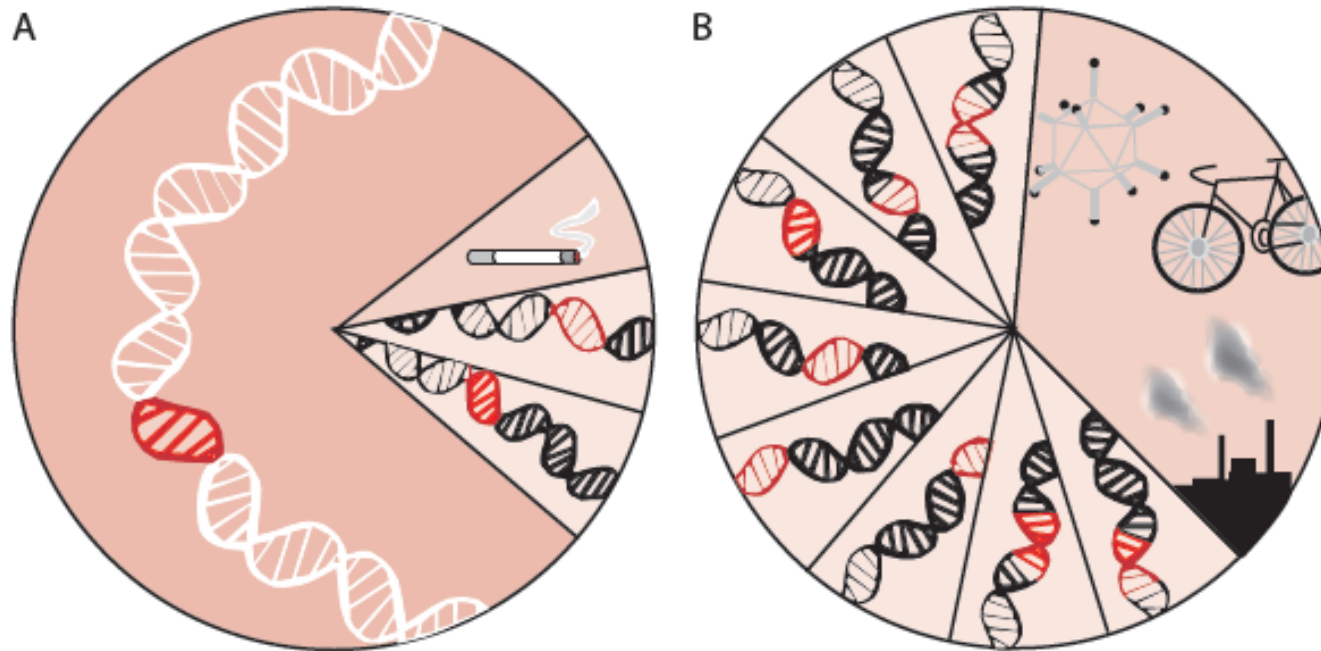
L'ipertermia maligna

- Incidenza 1 su 50,000 adulti che si sottopongono ad anestesia
- Mutazioni nel gene RYR1 che codifica per un canale ionico del calcio intracellulare.
- Mutazioni nel gene RYR1 rappresentano circa il 50% dei casi
- Mutazioni nel gene CACNL1A3 che codifica per la subunità alfa1 di un canale di calcio

Combinazioni gene-farmaco per le quali vi sono informazioni farmacogenetiche nei foglietti illustrativi fornite dalla FOOD and DRUG ADMINISTRATION degli Stati Uniti

Gene	Farmaco(i)
<i>CYP2C19</i>	Clopidogrel, voriconazolo, omeprazolo, pantoprazolo, esomeprazolo, diazepam, nelfinavir, rabeprazolo
<i>CYP2C9</i>	Celecoxib, warfarin
<i>CYP2D6</i>	Atomoxetina, venlafaxina, risperidone, inalazione di bromuro di tiotropio, tamoxifene, timololo maleato, fluoxetina, cevimelina, tolterodina, terbinafina, tramadolo e acetaminofene, clozapina, aripiprazolo, metoprololo, propranololo, carvedilolo, propafenone, tioridazina, protriptilina, tetrabenazina, codeina
<i>DPYD</i>	Capecitabina, fluorouracile
<i>G6PD</i>	Rasburicasi, dapsons, primachina, cloroquina
<i>HLA-B*1502</i>	Carbamazepina
<i>HLA-B*5701</i>	Abacavir (Caso 1)
<i>NAT</i>	Rifampina, isoniazide e pirazinamide; isosorbide dinitrato e idralazina idrocloruro
<i>TPMT</i>	Azatioprina, tioguanina, mercaptopurina
<i>UGT1A1</i>	Irinotecan, nilotinib
<i>VKORC1</i>	Warfarin

La risposta ai farmaci è un tratto complesso

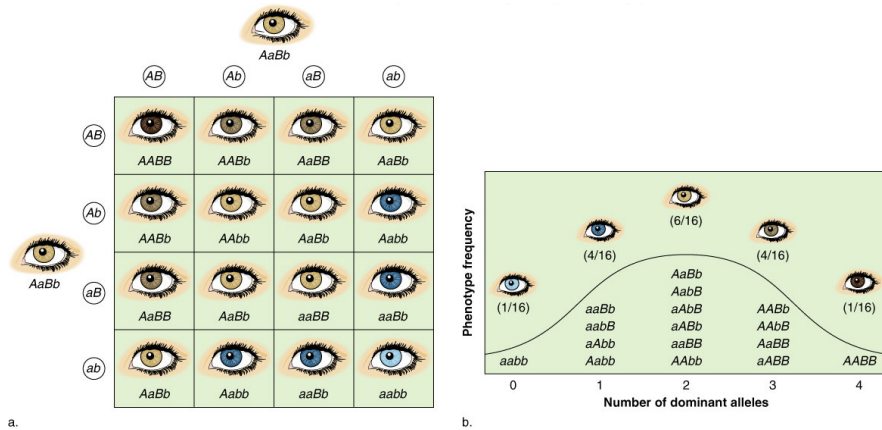


A. Tratto monogenico o oligogenico: il contributo di una singola o poche varianti determina il fenotipo. Il contributo dell'ambiente è quasi inesistente

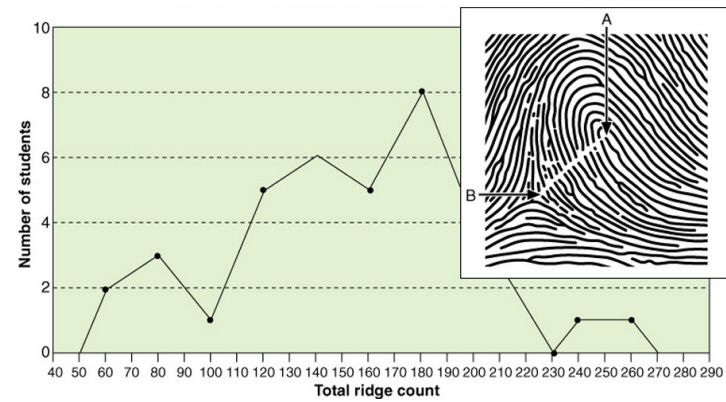
B. Tratto complesso: il contributo di molte varianti con piccolo effetto determina il fenotipo insieme ai fattori ambientali

Risposta ai farmaci come qualsiasi altro tratto complesso

Colore degli occhi



Impronte digitali



peso

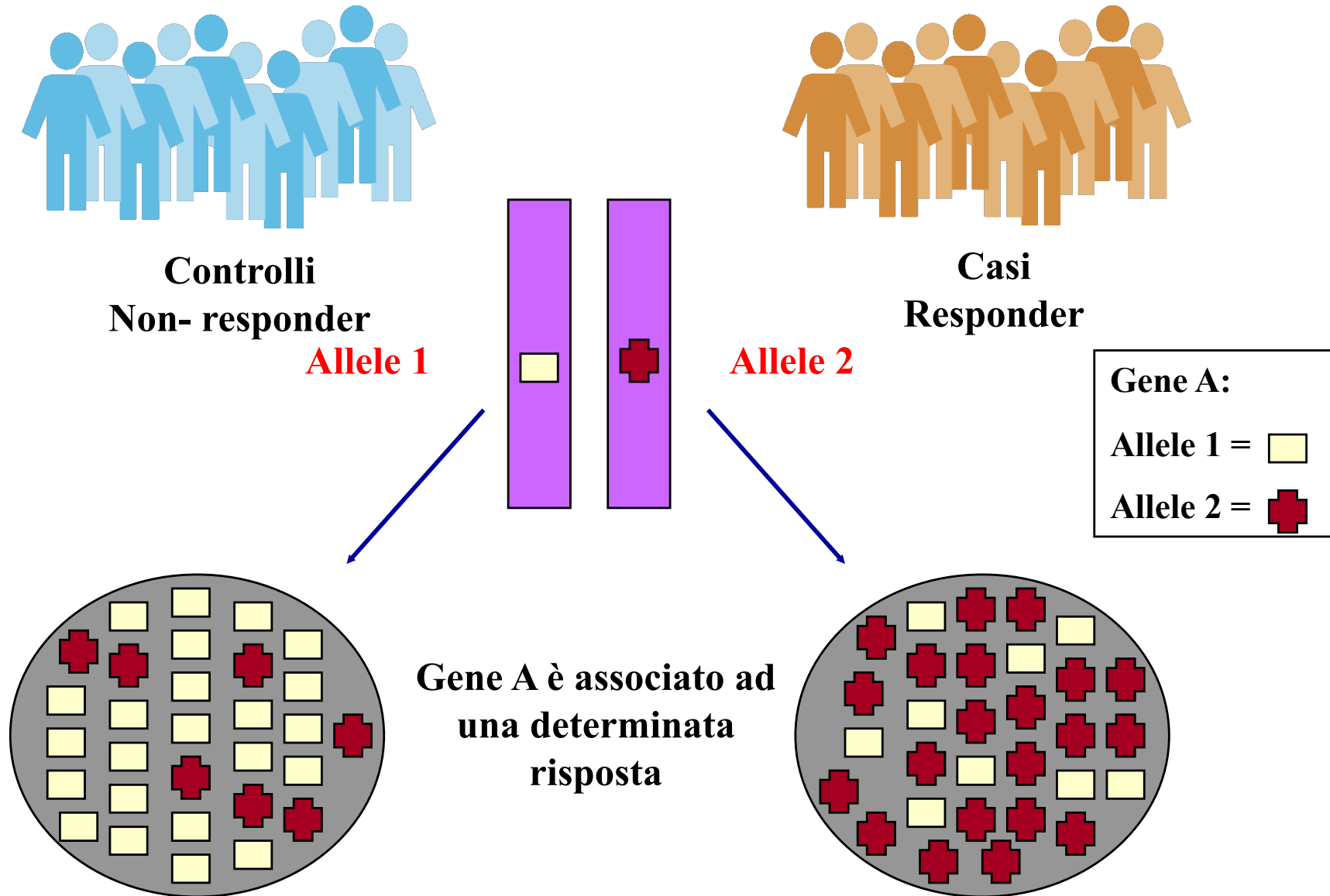


Colore della pelle

La risposta ai farmaci è un tratto complesso

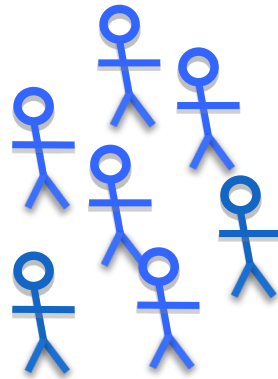
- **Varianti di uno o più loci** possono interagire sinergicamente o antagonisticamente per potenziare o per ridurre l'efficacia di un farmaco o aumentare i suoi effetti collaterali
- **Profilo farmacogenomico** completo che prenda in considerazione **molte varianti genetiche così come fattori ambientali** per valutare il loro impatto complessivo sul **risultato della terapia farmacologica.**

Studio genetico di associazione

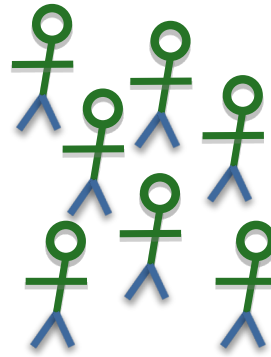


Genome-wide association studies: da pochi geni all'intero genoma

Controlli



Casi



SNP chip



1 milione SNPs

Catalogo degli Genome-Wide Association Studies

“Response to drug”

Studi: **393**, Associazioni: **6075**, Tratti: **352**



❖ Pharmacogenetics Knowledge Base (PharmGKB)

❖ <http://www.PharmGkb.org>

PharmGKB
Pharmacogenomics Knowledge Base

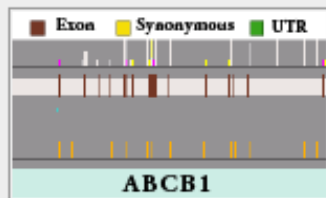
[Sign In](#)[Feedback](#)[Home](#)[Search](#)[Submit](#)[Download](#)[Help](#)[PGRN](#)[Contributors](#)[Clinical PGx](#)

Our Mission: To collect, encode, and disseminate knowledge about the impact of human genetic variations on drug response. We curate primary genotype and phenotype data, annotate gene variants and gene-drug-disease relationships via literature review, and summarize important PGx genes and drug pathways.

Find Data By Type

You can find what you're looking for by browsing or searching the four major data types we store. If you need a pointer, check out our [tutorial](#). You can also do a general search in the search box at the top of the page.

Genes



- [Important PGx genes](#)
- [Pharmacokinetic genes](#)
- [Pharmacodynamic genes](#)
- [Genotyped genes](#)

[examples](#)

hint: enter a gene, rsid, drug, disease

Variants

VKORC1, G3673A ★★

Causative allele for the low dose phenotype

Related drug: Warfarin

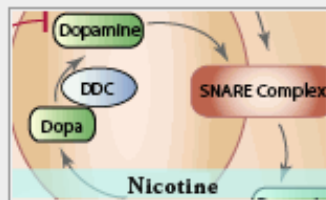
rs9923231

- [Annotated SNPs by gene](#)
- [Annotated SNPs by drug](#)
- [Annotated SNPs by disease](#)
- [Download all annotated SNPs](#)

[examples](#)

hint: enter a gene, rsid, drug, disease

Pathways



- [Pathways by therapeutic categories](#)
- [Pharmacokinetic pathways](#)
- [Pharmacodynamic pathways](#)
- [All pathways](#)

[examples](#)

hint: enter a gene, drug, disease

Drugs & Small Molecules

Related gene: TPMT
disease: Leukemia

Mercaptopurine

- [Drugs by therapeutic categories](#)
- [Drugs with genetic information](#)
- [Drugs with data](#)

[examples](#)

hint: enter a gene, rsid, drug, disease

Curators' Favorite Papers

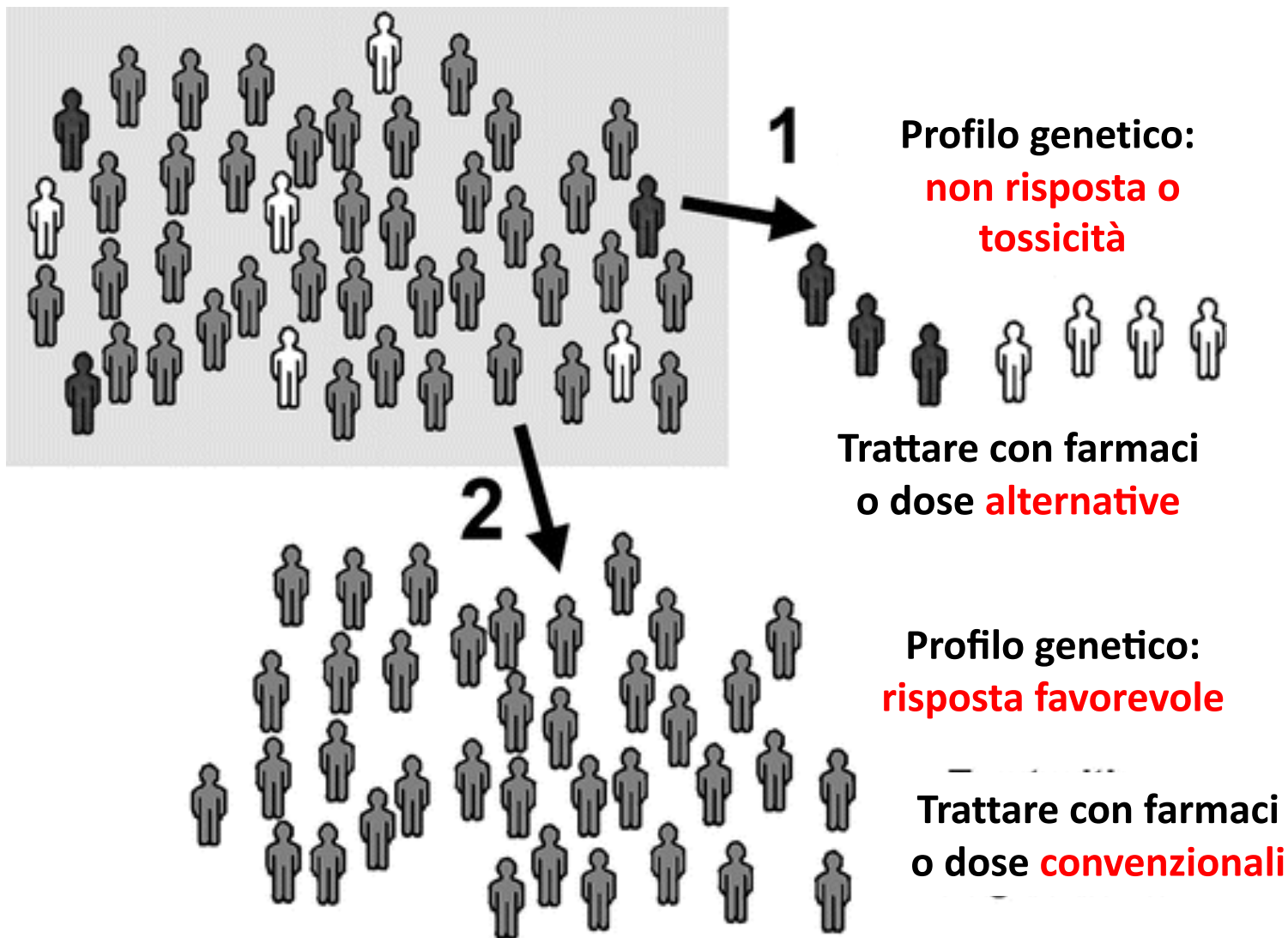
- [Pharmacogenetics and Stroke](#) **GN**
- [Cytochrome P450 2C8 pharmacogenetics: a review of clinical studies](#) **PK GN**
- [Recurring Mutations Found by Sequencing an Acute Myeloid Leukemia Genome](#) **GN**

Updated 21/09/09.
[See the archives for more.](#)

PGx in the News

- [Analyzing Cancer Cells to Choose Treatments - MIT Technology Review \(blog\)](#)
- [IoM to Study Effectiveness of FDA's 510 \(k\) Review Process for Medical Devices](#)
- [PsoriasisDx Says Gene Test for Early Detection of Psoriatic ... - GenomeWeb Daily News](#)

Farmacogenomica e medicina predittiva e terapia personalizzata



Il farmaco giusto alla dose giusta per il paziente giusto