www.medicalsystems.it

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio
Italiano

Francesca Torricelli, Costanza Giuliani

Farmacogenetica: aspetti diagnostici, applicazioni cliniche e prospettive future

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

225

... il futuro ha il cuore antico

MEDICAL SYSTEMS SpA

Tariffa R.O.C.: "Poste Italiane S.p.a. - Sped. in A.P. - D.L. 353/2003, (conv. in L. 27/02/2004 n. 46) art. 1 comma 1, DCB Genova" - n° 225- Gennaio 2010 - Dir. resp.: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Nuova ATA - Genova

Caleidoscopio
Italiano

Francesca Torricelli, Costanza Giuliani

SOD Diagnostica Genetica - Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi - Firenze

Farmacogenetica: aspetti diagnostici, applicazioni cliniche e prospettive future

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

225

... il futuro ha il cuore antico
MEDICAL SYSTEMS SpA

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INFORMAZIONI GENERALI. Caleidoscopio pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'International Committee of Medical Journal Editors. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte ovvero 100-130.000 caratteri (spazi inclusi). Si invita a dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. J. Nucl. Med. Allied. Sci 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): The Endocrine Hypothalamus. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse. Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. Riporre il dattiloscritto, le fotografie, una copia del testo in formato .doc oppure .rtf, ed copia di grafici e figure in formato Tiff con una risoluzione di almeno 240 dpi, archiviati su CD in buste separate.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista Caleidoscopio rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al seguente indirizzo:

Restless Architect of Human Possibilities sas
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Editoriale

La Farmacogenetica può essere definita come lo studio o la determinazione della variazione genetica che sta alla base alle diverse risposte ai farmaci mentre la farmacogenomica, che talvolta viene utilizzato in maniera elusivamente simile, è in realtà l'applicazione più ampia delle tecnologie genomiche alla individuazione di nuovi farmaci ed all'ulteriore caratterizzazione di farmaci "più vecchi". L'introduzione fatta dagli Autori di questa monografia ben chiarisce questi aspetti e precisa come i test farmacogenetici, "definendo l'influenza di fattori genetici sulla risposta individuale ai farmaci, permettono di individuare il farmaco giusto, al corretto dosaggio per il giusto paziente". Gli Autori ci conducono, quindi, nella comprensione dei "polimorfismi a singolo nucleotide" (SNPs), delle variazioni "puntiformi", dei polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLPs), delle variazioni del numero di copie ripetute in tandem (VNTRs e STRs o microsatelliti) e delle copy number variations (CNVs). Successivamente, si punta al centro delle tematiche analizzando i geni polimorfici coinvolti nella risposta farmacologica (cinetica e dinamica). Si passa quindi alla farmacogenetica applicata alla clinica con riferimento a linee guida e sperimentazioni che si è cercato di dare anche perché i "Comitati Etici sentono la necessità di avere a disposizione delle linee guida di riferimento sul comportamento da adottare nella valutazione di questo tipo di sperimentazioni". Questa splendida monografia si chiude con l'illustrazione dei benefici che la farmacogenetica e la farmacogenomica sono in grado di apportare alla pratica medica.

Gli Autori hanno la massima competenza sull'argomento. La dott.ssa Francesca Torricelli è attualmente Direttore della SOD Diagnostica Genetica (ex U.O. Citogenetica e Genetica) Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi di Firenze dopo essere stata Coadiutore del Servizio di Citogenetica e Genetica dell'Azienda Ospedaliera Careggi e prima ancora Responsabile del Servizio di Citogenetica presso la UO Citogenetica e Genetica, sempre della stessa Azienda Ospedaliera a Firenze ricoprendo avendo le mansioni di Responsabile del servizio di analisi citogenetiche per la Diagnosi Prenatale, Post-natale, Leucemie, Malattie Mieloproliferative, Tumori Solidi.

La formazione universitaria era iniziata con il conseguimento del Diploma di Laurea in Scienze Biologiche ed è proseguita con diploma di specializzazione in Genetica Medica. Ha investito notevoli risorse nella formazione sia del personale interno che esterno sui temi quali le metodologie di laboratorio, quelle gestionali ed organizzative, sulla implementazione delle linee guida, della applicazione della legge sulla "privacy" e su vari temi di bioetica. La dr.ssa Torricelli è stata artefice della introduzione di tecnologie avanzate nei Laboratori da Lei diretti ed è stata determinante nell'attivazione del Centro Regionale Genomico e post-Genomico per lo sviluppo e l'applicazione delle tecnologie ad alta innovazione in ambito biomedico. Ha attivato un Servizio Forense, un Servizio di caratterizzazione generiche per micobatteri e virus, di Centri di Riferimento per "Prevenzione e Diagnosi prenatale di malattie ereditarie", per la "Diagnosi di Fibrosi Cistica", della malattia di Anderson Fabbry, per lo "Studio dell'amiloidosi, di "Consulenza per l'Abuso e la violenza sessuale, per le "Cardiomiopatie ipertrofiche" e infine per le "Degenerazioni retiniche ereditarie". Ha ancora creato delle Banche di campioni biologici e l'attuazione di "Service" e convenzioni per altre strutture con invio dei dati in rete.

La dr.ssa Giuliani Costanza ha conseguito la laurea in Scienze Biologiche e, successivamente, il diploma di spccializzazione in Genetica medica presso l'Università degli Studi di Firenze. Ha ricoperto il ruolo di Ricercatore presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria dell'Università degli Studi di Firenze nell'ambito del programma "L'organizzazione di interventi che favoriscano l'accesso e la fruizione dei servizi da parte degli utenti dell'ospedale", e quindi, sempre come ricercatore, per altri Enti, nell'ambito del "Progetto fasce deboli: soggetti affetti da Miocardiopatia". Attualmente lavora presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria in qualità di Dirigente Biologo presso la SOD Diagnostica Genetica dove è Responsabile del settore "Farmacogenetica"; delle Analisi di Contaminazione materna (MCC) e della Zigosità in ambito prenatale; della Diagnosi genetica e di patologie ereditarie in ambito pre- e postnatale; della Consulenza genetica pre- test e post-test in ambito postnatale correlata alle patologie di cui esegue la diagnosi.

Ha una profonda conoscenza delle tecniche di laboratorio di genetica che vanno dall'allestimento di colture cellulari, all'allestimento di preparati di piastre metafasiche, dal bandeggio e colorazione di cromosomi metafasici alla lettura di piastra metafisica, dalla estrazione di DNA, al dosaggio di acidi nucleici tramite spettrofotometro, alla purificazione dei prodotti di PCR, all'allestimento di reazioni di squenza ed analisi mediante sequenziamento automatico, alla Real-time PCR ed alla tecnologia dei microarray applicata alla farmacogenetica.

Sergio Rassu

Introduzione alla farmacogenetica

Soggetti diversi rispondono in modo diverso allo stesso farmaco; tale diversità è legata al grande numero di proteine che intervengono nella risposta alla terapia farmacologica.

La variabilità nell'efficacia e nella tollerabilità di un farmaco sembra essere, almeno in parte, il risultato delle differenze genetiche dei singoli individui.

La FARMACOGENETICA si propone di studiare le variazioni di sequenza del DNA (le cosiddette "varianti polimorfiche" o "polimorfismi") capaci di influenzare la risposta di un individuo ad un determinato farmaco.

L'ipotesi di fondo della farmacogenetica è che individui diversi rispondano diversamente a un farmaco conseguentemente a differenti profili genetici.

L'obiettivo della farmacogenetica è quello di ricostruire per ogni individuo, un profilo genetico, capace di mettere in luce a livello del DNA la presenza di "varianti polimorfiche" implicate nel meccanismo d'azione dei farmaci.

L'individuazione, sulla base di un test genetico, di quale farmaco somministrare ed in quale dose rappresenta un obiettivo auspicabile e sempre più prossimo alla realizzazione.

L'identificazione delle varianti polimorfiche presenti nei geni codificanti gli enzimi, i recettori e le altre proteine coinvolte nella risposta farmacologica e la comprensione delle conseguenze fenotipiche ad esse associate, faciliterà la scelta del farmaco più appropriato per ogni paziente e consentirà di ridurre enormemente, fino ad evitare, la tossicità ed il fallimento terapeutico.

Il fine ultimo della farmacogenetica è quello di mettere a disposizione del clinico dei test di routine da inserire nella normale pratica clinica con lo scopo di poter predire "a priori" come un determinato paziente risponderà ad una certa terapia sia in termini di efficacia che di effetti collaterali.

I test farmacogenetici infatti, definendo l'influenza di fattori genetici sulla risposta individuale ai farmaci, permettono di individuare il farmaco giusto, al corretto dosaggio per il giusto paziente.

Nel momento in cui la farmacogenetica verrà introdotta nella pratica clinica assisteremo ad una rivoluzione del modo di prescrivere i farmaci, che porterà ad una serie di vantaggi tra i quali:

- una migliore efficacia dell'intervento terapeutico, con una più corretta scelta della dose ed una riduzione delle reazioni avverse. E' stato valutato che a causa degli eventi avversi insorti in seguito a farmaci correttamente prescritti, il ricovero ospedaliero si allunga in media di circa 1-4 giorni, aumentando la spesa sanitaria dai 2300-5600 US $ (25).

Uno studio condotto negli Stati Uniti (46) calcola che i costi associati agli effetti collaterali dei farmaci ammontino a circa 77 miliardi di dollari. Altre ricerche forniscono una stima di 2 milioni di ospedalizzazioni e di 100.000 decessi in un anno dovuti all'insorgenza di effetti collaterali; in base a questi dati emerge che le reazioni avverse ai farmaci sarebbero la sesta causa di morte negli Stati Uniti. Ne consegue che la conoscenza a priori di quali farmaci somministrare, a quale paziente e in che dosaggio, costituirebbe la soluzione ad un problema sia sanitario che socio-economico.

- Un impiego più sicuro dei farmaci da parte dei clinici, che potranno scegliere specifiche terapie in funzione del patrimonio genetico del singolo paziente;
- una ricerca mirata a sviluppare nuovi farmaci da somministrare ad individui che non rispondono o non possono assumere uno specifico trattamento;
- un impiego di risorse più razionale dovuto al non utilizzo di farmaci inefficaci e alla riduzione dei tempi di ricovero conseguenti agli effetti collaterali legati alla diverse terapie.

Nonostante queste premesse, esistono ancora alcune perplessità sull'applicazione dei test di farmacogenetica e sulla validità di alcuni "marcatori biologici" o "bio-marker" (ossia di fattori genetici per i quali è stata individuata una forte capacità di influenzare l'azione dei farmaci) identificati. Inoltre occorre ricordare che, a differenza degli altri test di laboratorio, i test di farmacogenetica sono test genetici a tutti gli effetti e sollevano importanti questioni di carattere etico o di tutela della privacy.

La comunità scientifica, pur sottolineando la necessità di norme di applicazione, incoraggia l'introduzione delle indagini farmacogenetiche in ambito della routine di laboratorio. A conferma dell'interesse sempre maggiore nei confronti di questa problematica, si osservano numerosi sforzi da parte di organizzazioni internazionali ed europee, quali ad esempio la FDA e l'EMEA per citarne alcune, nel redigere delle linee guida il cui scopo è quello di garantire un corretto utilizzo dei risultati dei test di farmacogenetica.

Sebbene la farmacogenetica venga considerata una scienza recente, le prime evidenze del fatto che alterazioni presenti in alcuni enzimi, capaci di spiegare effetti collaterali nei confronti dei farmaci, potessero essere ereditate, risalgono ad oltre mezzo secolo fa.

Durante la guerra in Corea, alcuni ricercatori osservarono che il 10% circa dei soldati afro-americani trattati antimalarici insorgeva un'anemia, mentre lo stesso tipo di effetto raramente, se non mai, si manifestava nei soldati di origine caucasica.

Solo dopo diversi anni di studi è stato possibile stabilire che la causa del problema risiedeva nella presenza di alcuni varianti a carico di uno specifico

gene, il gene della Glucosio 6-fosfato deidrogenasi (gene G6PD). Tali varianti risultavano comuni in individui appartenenti alla popolazione Africana ma non in quelli di origine Caucasica. La forma alterata del gene produce un enzima deficitario; una sua mancata attività espone gli eritrociti a danni ossidativi e può provocare anemia emolitica.

Nel 1959 fu Friedrich Vogel a coniare il termine "Farmacogenetica" per definire quella disciplina che studia la variabilità interindividuale di risposta ad un farmaco dovuta a fattori genetici ereditari, in termini di efficacia ed insorgenza di eventi avversi.

Da quel momento in poi sono stati condotti numerosi studi volti ad individuare le varianti polimorfiche nella sequenza dei geni coinvolti nella risposta ai farmaci. Da questi studi è emerso che i polimorfismi genetici svolgono un ruolo fondamentale sia nella farmacocinetica che nella farmacodinamica di numerosi farmaci comunemente prescritti.

In particolare tali varianti assumono una notevole rilevanza se presenti nei geni che codificano proteine deputate al trasporto e al metabolismo dei farmaci, o coinvolte nel loro meccanismo di azione.

Varianti a carico di questi geni determinano una variazione del destino del farmaco nell'organismo (farmacocinetica), e/o un diverso effetto terapeutico o tossico (farmacodinamica).

I polimorfismi genetici

Definizione e Nomenclatura

I termini "mutazione" e "polimorfismo" sono spesso e non correttamente utilizzati come sinonimi.

In realtà per definizione un polimorfismo indica un cambiamento a livello di una singola base nella sequenza del DNA che si verifica nella popolazione con una frequenza superiore all'1%. Il termine "allele" fa riferimento alle forme alternative del gene che occupano lo stesso locus cromosomico.

Nell'uomo, i tipi più comuni di varianti genetiche (o alleliche) sono rappresentate dai "polimorfismi a singolo nucleotide" (SNPs), variazioni "puntiformi" che coinvolgono, per lo più una, singola posizione nel gene e a livello della quale possono esistere due nucleotidi "alternativi".

Altri tipi di polimorfismi genetici comprendono i polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLPs), le variazioni del numero di copie ripetute in tandem (VNTRs e STRs o microsatelliti) e le copy number variations (CNVs).

Gli RFLPs (Restriction Fragment Lenght Polymorphisms) sono polimorfismi di lunghezza di frammenti di DNA prodotti per taglio con enzimi di restrizione. Un RFLP deriva da una variazione nella sequenza del DNA che determina la perdita o l'acquisto di un sito di restrizione.

I VNTRs (variable number of tandem repeats) chiamati anche minisatelliti, sono frammenti di lunghezza compresa tra 9 e 100 paia di basi dovuti alla ripetizione di sequenze ripetute in tandem.

Gli STRs (short tandem repeats) o microsatelliti, sono costituiti un numero variabile di brevi sequenze (il range va da 1 a 6 paia di basi) ripetute in tandem. Tali sequenze a livello di specifici loci, tendono a essere molto polimorfiche. Nel caso degli STRs la ripetizione è breve.

Le copy number variations (CNVs) sono segmenti di DNA a livello dei quali si identificano, in seguito al confronto di genomi differenti, delle differenze nel numero di copie di una sequenza. Il segmento interessato può avere dimensioni comprese tra una chilobase e diverse megabasi.

Il significato biologico di molte di queste varianti rimane ancora da chiarire; tuttavia è noto che la presenza dei polimorfismi nell'uomo rappresenta il risultato dell'evoluzione e garantisce la diversità tra gli individui.

Quando tali variazioni sono presenti a livello della sequenza codificante o regolatoria di un gene possono indurre variazioni nella sua funzione o nei suoi meccanismi di trascrizione e traduzione, modulandone in tal modo i livelli di espressione (e producendo una diversa "quantità" o "qualità" di mRNA e proteine).

Gli SNPs sono identificati utilizzando tre diversi sistemi di nomenclatura.

Il primo sistema utilizza un numero che identifica il locus genico a livello del quale si è verificato il cambiamento nucleotidico (che può essere rappresentato da una sostituzione, un'inserzione o una delezione). La lettera posta prima del numero identifica il nucleotide comunemente presente a livello del locus genico (che identifica l'allele "major" e dà luogo al fenotipo "wild-type") mentre la lettera posta a valle dello stesso numero rappresenta il nucleotide che ha subito il cambiamento e che identifica l'allele "minore". Quindi il polimorfismo A118G del gene codificante il recettore μ per gli oppioidi (OPRM1) determina la sostituzione dell'adenina (A) in posizione 118 del gene con una guanina (G).

Lo stesso polimorfismo può essere indicato in maniera analoga come 118A/G o 118 A>G.

I polimorfismi che determinano a livello dei "codoni" un cambiamento aminoacidico nella proteina, possono essere indicati impiegando le tre lettere che identificano gli aminoacidi che subiscono il cambiamento. Così il polimorfismo Asp70Gly del gene dell'enzima butirrilcolinesterasi coinvolge la sostituzione di un acido aspartico in posizione 70 della proteina con una glicina.

Infine, il terzo sistema di nomenclatura prevede l'identificazione del polimorfismo mediante i numeri che identificano l'allele. Così ad esempio, l'allele CYP2D6*4 è la terza (considerato che l'allele wild-type è l'allele *1) variante del gene del citocromo P450 isoforma 2D6 individuata. Quest'ultimo sistema è quello meno "descrittivo" poiché non viene sottolineato né il cambiamento nucleotidico né la conseguenza che questo ha sulla proteina ma risulta il più flessibile in quanto può essere utilizzato per comprendere alterazioni, diverse ma concordanti, anche di diverso grado di complessità (per esempio inserzioni o delezioni che coinvolgono ampie porzioni del gene).

Il database SNP (dbSNP) del National Center for Biotechnology Information (NCBI) è uno dei più completi database esistenti in rete. Questo database, di dominio pubblico, raccoglie un archivio di polimorfismi genetici descritti per i diversi organismi (dall'uomo al topo). La collezione raccoglie, tra gli altri, i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs), delezioni ed inserzioni di singole o multiple basi (IN-DELS o deletion insertion polymorphisms, DIPs) e gli short tandem repeats (STRs).

Per ogni polimorfismo descritto in questo database è riportata la sequenza genomica all'interno della quale è localizzata la variante polimorfica (cioè la sequenza circostante o di "contesto" per il polimorfismo), la frequenza stimata (ad esempio in una specifica popolazione) e le metodiche sperimentali ed i protocolli utilizzati per testare la variante.

Nel database viene assegnato ad ogni polimorfismo un numero "rs" (rs number) che corrisponde al numero di accesso di un determinato polimorfismo (RefSNP accession ID). Le varianti che mappano all'interno della medesima sequenza appartengono allo stesso RefSNP e sono identificati dallo stesso numero "rs".

Geni polimorfici coinvolti nella risposta farmacologica

Numerose proteine deputate all'assorbimento, al trasporto e al metabolismo dei farmaci oppure coinvolte nel loro meccanismo d'azione sono codificate da geni estremamente polimorfici nella popolazione.

I geni coinvolti nella risposta farmacologica possono essere distinti in:

A) Geni coinvolti nella cinetica del farmaco:

- Geni dell'assorbimento;
- Geni del metabolismo;
- Geni della distribuzione;
- Geni dell'escrezione;

B) Geni coinvolti nella farmacodinamica:

- Geni codificanti per proteine recettore;
- Geni codificanti per proteine trasportatrici.

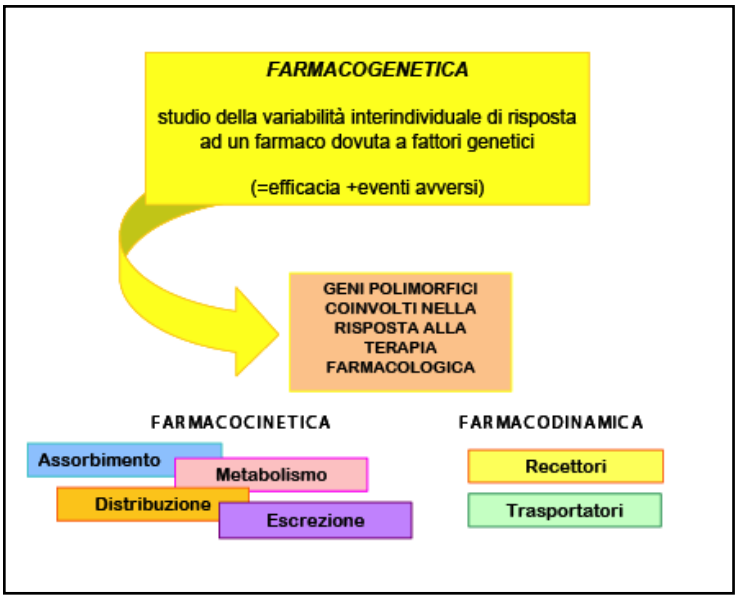


Figura 1. Soggetti diversi rispondono in modo diverso allo stesso farmaco; tali differenze sono legate al grande numero di proteine che intervengono nella risposta alla terapia farmacologia. La maggior parte dei geni codificante per proteine coinvolte nella risposta farmacologica sono polimorfici nella popolazione.

A titolo esemplificativo verranno presi in considerazione, per alcune delle sopraindicate categorie, i geni più significativi nei quali la presenza di varianti polimorfiche è stata associata, in maniera più o meno forte, ad una diversa risposta farmacologica interindividuale (tabella 1).

GENI	SUBSTRATI	EFFETTI
Metabolismo dei farmaci		
CYP2C9	Warfarin	Aumentato effetto anticoagulante del warfarin
CYP2C19	Omeprazolo	Aumentata efficacia antiulcera dell'omeprazolo
CYP2D6	Antidepressivi, antipsicotici, β-bloccanti, codeina	Aumentata tossicità di antidepressivi, diminuita risposta analgesica alla codeina
DPD	5-Fluorouracile	Aumentata tossicità
UGT1A1	Irinotecano	Aumentata tossicità gastrointestinale ed ematomidollare
TPMT	Mercaptopurina, tioguanina, azatioprina	Aumentata tossicità ematomidollare
Proteine Recettore trasportatrici e bersagli di farmaci		
ABCB1 (MDR-1)	Inibitori delle proteasi,	Diminuita risposta CD4 in pazienti HIV-positivi
Recettori β2-adrenergici	β2-agonisti	Ridotto effetto broncodilatante
Recettori β1-adrenergici	β1-antagonisti	Ridotta risposta cardiovascolare ai β1-bloccanti
Subunità αGs	β-bloccanti	Diminuito effetto antiipertensivo
5-lipoossigenasi (ALOX5)	Antagonisti dei recettori leucotrienici	Minore efficacia degli antiasmatici antileucotrieni
Trasportatore della serotonina (5-HTT)	Antidepressivi	Diminuito effetto antidepressivo

Tabella 1. Correlazione esistente tra polimorfismi genetici e risposta farmacologica.

Geni del metabolismo

Citocromo P450 (CYP450)

Il sistema del citocromo P450 (CYP450) comprende una famiglia di oltre 60 geni codificanti per isoenzimi localizzati sulle membrane microsomiali del reticolo endoplasmatico liscio. Tali geni risultano espressi prevalentemente a livello epatico ma anche in tessuti extraepatici (tratto gastrointestinale, reni, polmoni, cute e sistema nervoso centrale). Tutte le isoforme enzimatiche del CYP450 sono proteine contenenti un gruppo eme, gruppo prostetico che produce una caratteristica banda di assorbimento spettrofotometrico a 450 nM.

Gli isoenzimi appartenenti al sistema del CYP450 sono responsabili del metabolismo di molti farmaci comunemente prescritti in quanto catalizzano la maggior parte delle reazioni di ossidazione che avvengono a livello epatico (reazione di fase I) (Fig.2); ogni isoforma possiede una propria specificità nei confronti della sostanza da ossidare.

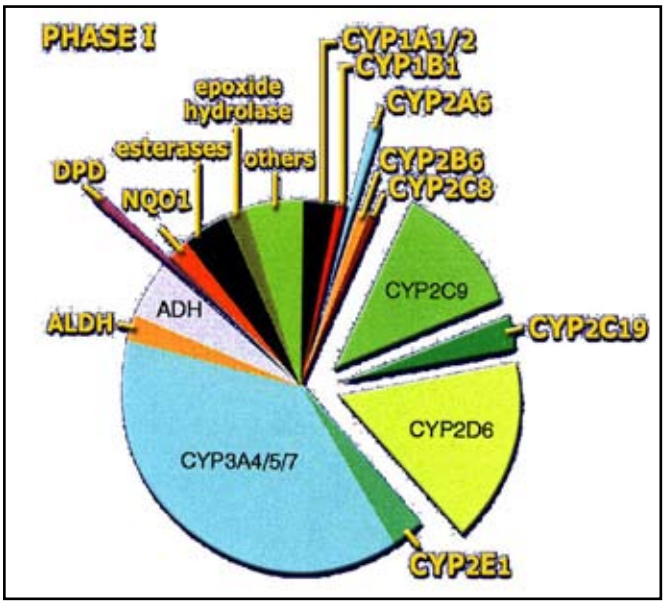


Figura 2. Tra gli enzimi di fase I, il sistema del CYP450 è il più rappresentato. (Mod. da Evans WE and Relling MV: Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. Science 286:487-91, 1999).

Nel fegato umano le diverse isoforme sono presenti in percentuali diverse che non sempre corrispondono alla relativa importanza che ogni citocromo riveste nel metabolismo dei diversi xenobiotici(Fig.3).

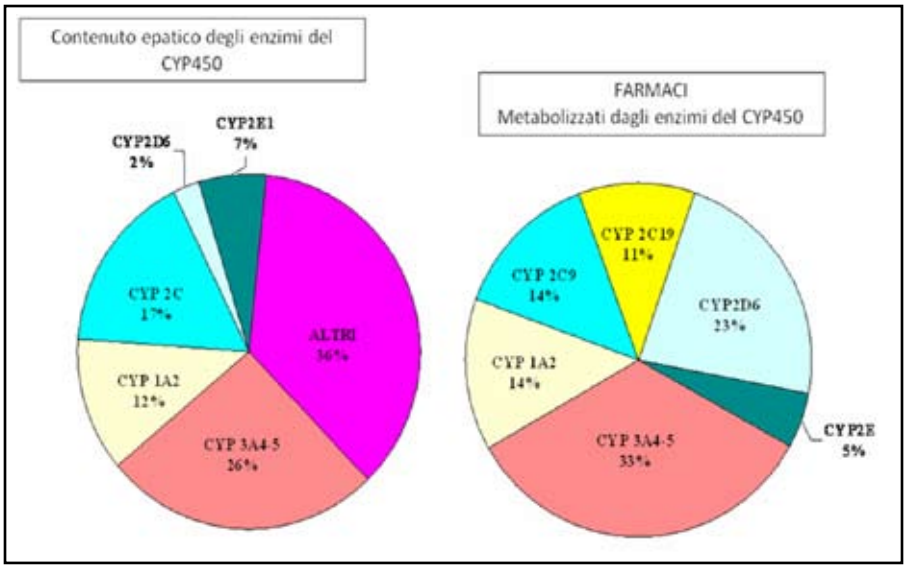


Figura 3. Contenuto epatico di ciascun isoenzima appartenente al sistema del citocromo P450 confrontata con la porzione di farmaci metabolizzati da ciascuna isoforma.

L'assunzione contemporanea di più farmaci o di farmaci ed alcune sostanze è associata a diversi tipi di interazioni; tali interazioni sono responsabili di un alterato effetto farmacologico che può portare o al fallimento terapeutico o all'insorgenza di effetti collaterali.

Le interazioni farmacologiche che si verificano a livello metabolico e che coinvolgono il CYP450 comprendono fenomeni di inibizione e induzione enzimatica.

Il meccanismo di inibizione si verifica quando due o più molecole vengono metabolizzate dallo stesso isoenzima e "competono" tra di loro per legarsi al sito catalitico dell'enzima stesso. Il risultato di questa interazione è che il tasso di metabolismo della molecola a minore affinità si riduce e di conseguenza viene meno l'effetto farmacologico legato a questa sostanza. In base al tipo di interazione che si instaura tra isoforma enzimatica e substrato (farmaco o suoi metaboliti), i meccanismi di inibizione del CYP450 possono essere distinti in:

- reversibili;
- quasi-irreversibili;
- irreversibili.

A differenza del meccanismo di inibizione, il processo di induzione è un processo regolatorio associato ad un lento aumento della trascrizione genica e della biosintesi enzimatica come risposta adattativa della cellula che si protegge da xenobiotici tossici aumentando la sua capacità detossificante.

Le conseguenze del meccanismo di induzione sono:

- un aumentato metabolismo (inattivazione) del farmaco e una riduzione della concentrazione plasmatica del farmaco attivo con conseguente riduzione degli effetti farmacologici;
- una compromissione dell'efficacia del farmaco in maniera tempo-dipendente;
- una riduzione della tossicità legata ad una detossificazione più rapida oppure un aumento della tossicita' per maggiore produzione di metaboliti attivi.

Il livello di espressione e di funzionalità dei geni del sistema del CYP450 è geneticamente determinato e influenza in modo rilevante l'efficacia farmacologica.

Tali geni sono identificati mediante una successione di numeri e lettere che si riferiscono rispettivamente alla famiglia e al sottogruppo di appartenenza (Fig. 4).

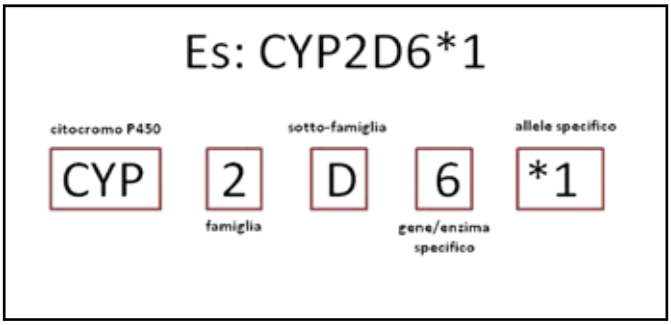


Figura 4. Nomenclatura utilizzata per identificare i geni del sistema del CYP450: l'acronimo CYP è l'abbreviazione per citocromo P450; se l'omologia di sequenza è inferiore al 40% i geni appartengono a famiglie diverse indicate con numeri (2); le sottofamiglie (≥ 55% omologia di sequenza) sono identificate con una lettera (D); il gene o l'enzima specifico viene indicato con un secondo numero (6); *1 fa riferimento all'allele (ossia alla specifica variante o alla specifica combinazione di varianti).

Citocromo P450 2D6 (CYP2D6)

Il Citocromo P450 isoforma 2D6 (CYP2D6), sebbene quantitativamente poco rappresentato a livello epatico (< 5 % del totale), è coinvolto nel metabolismo ossidativo del 25% circa dei farmaci correntemente prescritti (62).

In tabella 2 sono riportati alcuni esempi di substrati, inibitori ed induttori del CYP450.

Questa isoforma oltre che a livello epatico è espressa, seppur a livelli minori, anche a livello cerebrale.

SUBSTRATI	INIBITORI	INDUTTORI
Antidepressivi	***Antidepressivi***	***Antidepressivi***
Amitriptilina Bupropione Clomipramina Desipramina Doxepina Fluoxetina Fluvoxamina Imipramina Nortriptilina Paroxetina Tradozone Trimipramina Venlafaxina	Amitriptilina Bupropione Clomipramina Desipramina Flufenazina Fluoxetina Fluvoxamina Imipramina Nefazodone Nortriptilina Paroxetina Sertralina Venlafaxina	
Antipsicotici	***Antipsicotici***	***Antipsicotici***
Aloperidolo Clorpromazina Flufenazina Mesoridazina Olanzapina Perfenazina Risperidone Tioridazina	Aloperidolo Clorpromazina Clozapina Flufenazina Perfenazina Risperidone Tioridazina	
Farmaci Anti-HIV	***Farmaci Anti-HIV***	***Farmaci Anti-HIV***
Amprenavir Delavirdina Ritonavir	Delavirdina Efavirenz Indinavir Nelfinavir Ritonavir Saquinavir	-

(Tabella 2. segue)

SUBSTRATI	INIBITORI	INDUTTORI
Cardiovascolari	***Cardiovascolari***	***Cardiovascolari***
Alprenololo Carvedilolo Flecainide Mexiletina Metoprololo Penbutolo Propranololo Propafenone Timololo Verapamil	Amiodarone Flecainide Nicardipina Propafenone Propanololo Quinidina	- - - -
Analgesici	***Analgesici***	***Analgesici***
Acetoaminofene Idrossicodone Metadone Ossicodone Tramadolo Codeina	Metadone Celecoxib Diclofenac	-
Altri	***Altri***	***Altri***
Anfetamine Atomoxetina Clorfeniramina Ciclobenzodiazapine Destrometorfano Doxorubicina Metoclorpramide Ondansetrone Ranitidina Tamoxifene Timolo	Astemizolo Azelastina Clorfeniramina Cloroquina Cimetidina Cisapride Cocaina Quinidine Doxorubicina Lansoprazolo Metoclorpramide Metadone Tamoxifene Terbinafina Terfenadina Timololo	Phenobarbitale

Tabella 2. Substrati inibitori ed induttori del CYP2D6.

A carico del CYP2D6 sono stati descritte oltre 90 varianti alleliche (http://www.cypalleles.ki.se/), a molte delle quali è stato associato un preciso effetto fenotipico. La tabella 3 riporta alcune delle varianti polimorfiche individuate e l'attività enzimatica ad esse correlata.

Polimorfismi del gene CYP2D6		
Allele	**Cambiamento Nucleotidico**	**Attività enzimatica**
*1	Nessuno	Normale
*2	2850C>T	Normale
*3	2549A>del	Nessuna
*4	1846G>A	Nessuna
*5	Delezione del gene	Nessuna
*6	1707T>del	Nessuna
*7	2935A>C	Nessuna
*8	1758G>T	Nessuna
*11	883G>C	Nessuna
*12	124G>A	Nessuna
*9	2613-2615 delAGA	Parziale
*10	100C>T	Parziale
*17	1023C>T	Parziale
*41	2988G>A	Parziale
Duplicazione genica	Duplicazione del gene	Aumentata

Tabella 3. Associazione tra alcune varianti polimorfiche del CYP2D6 e attività dell'enzima.

I genotipi 2D6 risultano altamente variabili tra i diversi individui, non solo perchè esistono numerosi polimorfismi a carico di questo gene ma anche perchè un evento di duplicazione determina in alcuni di essi l'esistenza di più copie attive del gene. La duplicazione genica è alla base di una di una più alta produzione di enzima rispetto ai normali livelli riscontrati negli individui wild-type (allele CYP2D6*1). La prevalenza dei soggetti con la duplicazione (CYP2D6*1xN) varia ampiamente all'interno della popolazione e in maniera strettamente dipendente dall'origine etnica; si va da un valore dello 0.5% della Cina al 29% dell'Etiopia, al 4-5% degli USA al 10% di incidenza stimata nella popolazione italiana (50).In base al genotipo sono state individuate quattro categorie fenotipiche: UM "ultra rapid metabolizers", EM "extensive metabolizers", IM "intermediate metabolizers" e PM "poor metabolizer". I soggetti con fenotipo "extensive" o "intermediate" hanno un'attività' enzimatica rispettivamente normale o inferiore ai limiti della norma, mentre i

metabolizzatori "poveri" i PM e gli "ultra-rapidi" UM, presentano una capacità metabolica rispettivamente molto inferiore o molto superiore ai livelli normali. Gli individui appartenenti a queste due ultime categorie possono essere soggetti a reazioni avverse oppure a ridotti effetti terapeutici se il farmaco somministrato è substrato del prodotto del gene CYP2D6 (Fig. 5).

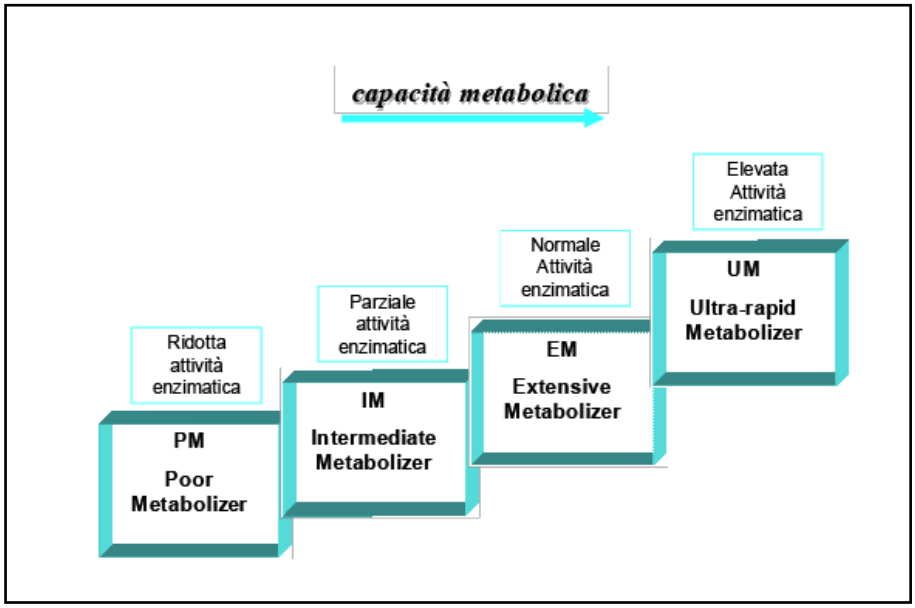


Figura 5. Categorie metaboliche individuate in base al genotipo relativo al gene CYP2D6. La direzione della freccia indica l'aumentare della capacità metabolica.

La capacità metabolica varia non soltanto tra i singoli individui ma anche tra i diversi gruppi etnici. Ad esempio tra i caucasici circa il 7% è rappresentato da PM per la debrisochina (probe drug utlilizzato per caratterizzare il fenotipo per questo enzima), mentre la percentuale è di circa l'1% nella popolazione Asiatica (63). Il dosaggio di un farmaco metabolizzato dal CYP2D6 da un determinato individuo, dovrà essere adattato alla sua capacità metabolica per evitare il rischio di un mancato un effetto terapeutico o di insorgenza di effetti collaterali. Infatti, se somministriamo ad un PM dosi standard di un pro-farmaco che deve essere attivato dal CYP2D6 a farmaco attivo, in questo individuo l'effetto terapeutico sarà inferiore (se non assente) rispetto ad un EM in quanto il suo enzima ha una capacità metabolica ridotta (Fig. 6).

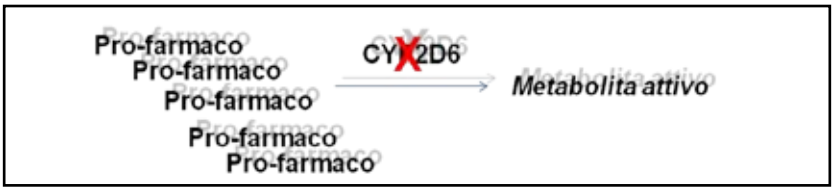


Figura 6. Rappresentazione schematica della mancata trasformazione di un pro farmaco a farmaco attivo in un PM.

Viceversa se a questo stesso soggetto vengono somministrate dosi standard di un farmaco attivo che viene inattivato dal CYP2D6, è molto probabile che questo individuo vada incontro a reazioni avverse in quanto, a causa della sua ridotta capacità metabolica, si accumuleranno nel suo organismo notevoli quantità di principio attivo (Fig. 7).

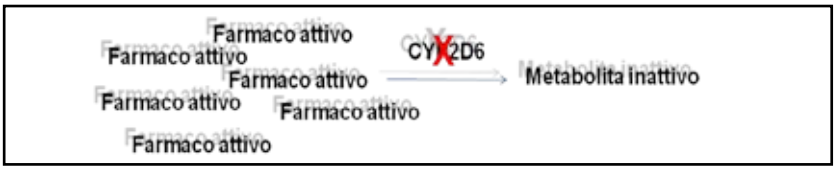


Figura 7. Rappresentazione schematica della inattivazione di un farmaco attivo a composto inattivo in un PM.

All'estremità opposta si collocano gli UM. Se ad un soggetto UM vengono somministrate dosi standard di un pro-farmaco il rischio è che, a causa della rapida trasformazione a farmaco attivo, il soggetto possa andare incontro ad effetti collaterali (Fig. 8).

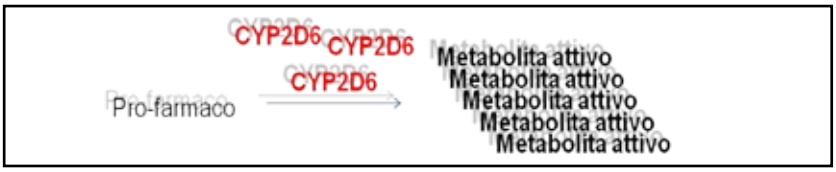


Figura 8. Rappresentazione schematica della rapida attivazione di un pro farmaco a molecola farmacologicamente attiva in un UM.

Viceversa la somministrazione di un farmaco attivo allo stesso soggetto lo espone ad un mancato effetto terapeutico che si osserva per la rapida trasformazione del principio attivo in metabolita inattivo ancor prima che il primo possa raggiungere i suoi target farmacologici (Fig. 9).

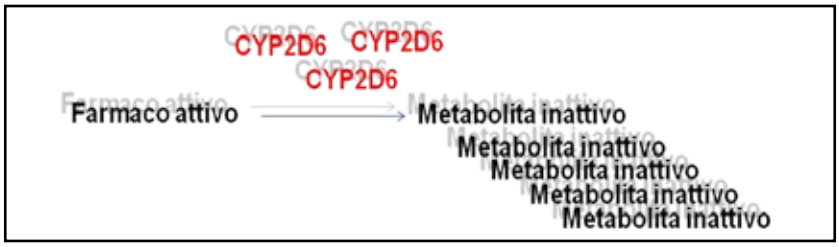


Figura 9. Rappresentazione schematica della rapida inattivazione di un farmaco attivo a composto inattivo in un UM.

Accanto alla capacità metabolica geneticamente determinata sarà altrettanto fondamentale valutare le eventuali interazioni farmacocinetiche che, soprattutto nel caso del CYP2D6 (coinvolto nel metabolismo di moltissimi farmaci), risultano non meno importanti (30). A titolo di esempio, ammettiamo di somministrare una terapia a base di codeina (precursore della morfina) ad un soggetto che ha un genotipo CYP2D6*1/ CYP2D6*1 (due alleli wild-type) con capacità metabolica nei livelli della norma. La co-somministrazione di una terapia a base di fluoxetina (potente inibitore enzimatico del CYP2D6) rende il soggetto in questione, che geneticamente presenta le caratteristiche di EM, un soggetto con capacità metabolica ridotta (33).

Citocromo P450 2C19 (CYP2C19)

Il citocromo P450 isoforma 2C19 (CYP2C19) rappresenta il 4% circa degli isoenzimi del CYP450 a livello epatico. Anche se in misura minore, la sua attività sembra essere presente anche a livello intestinale. Il CYP2C19 è responsabile del metabolismo di numerosi farmaci clinicamente rilevanti come ad esempio gli antidepressivi imipramina, amitriptilina, clomipramina, citalopram e moclobemide, così come di quello del diazepam, del desmetil-diazepam, del farmaco anti-ulcera omeprazolo, dell'antimalarico proguanil, e dell'anticonvulsivante mefenitoina. Come il CYP2D6, anche il CYP2C19 presenta una serie di induttori ed inibitori che influenzano la sua attività (Tab. 4).

SUBSTRATI	INIBITORI
Clomipramina Diazepam Imipramina Omeprazolo Propranololo	Fluoxetina Sertralina Omeprazolo Ritanovir

Tabella 4. Substrati inibitori ed induttori del CYP2C19.

Oltre 20 varianti alleliche sono state descritte a carico del gene (64). Una risposta variabile all'idrossilazione della mefenitoina ha portato alla classificazione degli individui in "poor metabolizers" (PM) ed "extensive metabolizers" (EM) (7). E' stato osservato che la presenza dei PM risulta essere più comune tra gli asiatici rispetto alla popolazione dei bianchi e che tale fenotipo è dovuto alla presenza di varianti polimorfiche a carico del gene CYP2C19. Gli alleli più comuni, identificati come CYP2C19*2 e CYP2C19*3, rendono conto di circa il 99% dei PM tra gli Asiatici e dell'87% circa dei PM tra i bianchi. Analogamente a quanto accade nel caso del CYP2D6 anche per il CYP2C19 l'identificazione del genotipo è fondamentale per stabilire in che modo il paziente potrà rispondere alla somministrazione di una determinata terapia. Consideriamo ad esempio il proguanile. Il profarmaco (inattivo) viene trasformato a cicloguanile (attivo) in seguito all'intervento del CYP2C19. Nei PM l'azione antimalarica del cicloguanile può risultare molto diminuita. Tuttavia, a differenza di quanto riportato per il CYP2D6, non sono stati riscontrate evidenze di interazioni farmacologiche e di eventi avversi da farmaci in soggetti PM o privi dell'enzima.

Citocromo P450 2C9 (CYP2C9)

L'isoforma più rappresentata tra i citocromi a livello epatico è quella del CYP2C9 che da solo rappresenta il 17% circa di tutti gli isoenzimi del sistema del CYP450.

Tra i farmaci substrato del CYP2C9 il warfarin, numerosi FANS, il progesterone, l'omeprazolo, lo xenobarbital, la ciclofofsfamide, fenitoina, clopidrogrel, ed il propanololo solo per citarne alcuni.

Tra i suoi inibitori ed induttori ricordiamo invece il cloramfenicolo, la fluoxetina, il chetoconazolo, l'omeprazolo, il topiramato e la carbamazepina, la rifampicina, il prednisone rispettivamente (Tab. 5).

SUBSTRATI	INIBITORI	INDUTTORI
FANS	Fluconazolo	Rifampicina
Fenitoina	Ketoconazolo	
S-warfarina	Metronidazolo	
Torsemide	Itraconazolo	
	Ritanovir	

Tabella 5. Substrati inibitori ed induttori del CYP2C9.

Le varianti alleliche CYP2C9*2 (636G>A) e CYP2C9*3 (681G>A) sono state associate ad una diversa attività enzimatica rispetto a quella osservata negli individui wild-type (CYP2C9*1).

Gli individui con l'allele CYP2C9*3 metabolizzano alcuni FANS (ibuprofene, piroxicam, celecoxib, naprossene, flurbiprofene) più lentamente di individui che non presentano tale allele. In particolare negli individui omozigoti (CYP2C9*3/CYP2C9*3) la ridotta capacità metabolica risulta maggiore rispetto agli individui eterozigoti (3). Queste osservazioni potrebbero suggerire che tali individui necessitino di una dose inferiore di FANS per ottenere un effetto terapeutico; al momento, tuttavia, dagli studi condotti non sono emerse forti evidenze.

Il CYP2C9 interviene anche nell'idrossilazione dell'enantiomero S del warfarin, portando alla formazione di metaboliti inattivi. Una diminuita attività dell'enzima, (dovuta ai polimorfismi genetici o alla presenza di farmaci inibitori) può portare all'aumento del tempo di protrombina, conseguenza clinicamente molto rilevante.

Citocromo P450 3A4 (CYP3A4)

Il CYP3A4 (Citocromo P450 3A4) insieme al CYP3A5, (con il quale presenta una sovrapposizione di specificità dei substrati) sono i due citocromi maggiormente rappresentati a .livello epatico dell'uomo adulto. Il CYP3A4 risulta prevalente nella popolazione bianca mentre il CYP3A5 nei neri/afroamericani (62).

Il CYP3A4 è responsabile del metabolismo di circa il 50-60% dei farmaci tra i quali l'acetaminofene (59), la codeina, alcuni oppioidi sintetici (ad esempio il tramadolo) (30), la buprenorfina, il metadone, la ciclosporina, l'eritromicina ed il fentanyl (Tab. 6). Svolge inoltre un ruolo predominante nel metabolismo degli ormoni steroidei (62).

SUBSTRATI	INIBITORI	INDUTTORI
Antidepressivi	*Antidepressivi*	*Antidepressivi*
Amitriptilina Imipramina Nefazodone Sertralina Venlafaxina	Fluoxetina Fluvoxamina Nefazodone Paroxetina Sertralina Venlafaxina	
Benzodiazepine	**Benzodiazepine**	**Benzodiazepine**
Alprazolam Midazolam Triazolam		

Tabella 6. (segue)

Farmaci anti-HIV	Farmaci anti-HIV	Farmaci anti-HIV
Indinavir Nelfinavir Ritanovir Saquinavir		
Antifungini	**Antifungini**	**Antifungini**
Astemizolo Ketoconazolo	Fluconazolo Itraconazolo Ketoconazolo	
Altri	**Altri**	**Altri**
Carbamazepina Ciclosporina Cisapride Desametasone Eritromicina Etinilestradiolo Gliburide Lovastatina Teofillina Terfenadina Testosterone Verapamil	Cimetidina Claritromicina Diltiazem Eritromocina Indinavir Nelfinavir Ritanovir Saquinavir	Carbamazepina Desametasone Fenobarbitale Fenitoina Rifampicina

Tabella 6. Substrati inibitori ed induttori del CYP3A4.

Sebbene fino ad oggi siano stati condotti numerosi studi in ambito farmacogenetico riguardanti questo citocromo, la maggior parte degli alleli relativi al CYP3A4 non sembra influenzare l'espressione genica o l'attività enzimatica in termini di farmacocinetica e farmacodinamica (62).

Delle oltre 38 varianti descritte per il CYP3A4, nessuna pareva fino ad ora alterare nettamente la attività catalitica dell'enzima in vivo (62).

Ad esempio lo SNP –391A>G identifica un aplotipo chiamato CYP3A4*1B la cui frequenza dell'omozigote è stata stimata, nei caucasici, intorno al 16% (41). Individui omozigoti per l'allele CYP3A4*1B mostrano una modesta diminuzione della clearance del midazolam e della ciclosporina. Tuttavia tali evidenze non sono state riscontrate nei confronti della nifedipina ed eritromicina.

Ad oggi, solo un allele recentemente individuato in una famiglia originaria del Brasile (CYP3A4*20) sembra avere degli effetti fenotipici. Il polimorfismo 25889_25890insA provoca l'introduzione di un prematuro codone di STOP determinando la formazione di una proteina tronca ed una completa perdita di funzione (60).

Geni *codificanti per* proteine recettore

Opioid receptor mu 1 (OPRM1)

Il recettore umano degli oppiodi (μ-oppioid receptor) è codificato dal gene OPRM1, e rappresenta il principale sito d'azione per gli oppioidi normalmente impiegati nella terapia analgesica (53). OPRM1 appartiene ad una famiglia di geni codificanti per proteine che mediano la risposta fisiologica all'azione di diversi oppioidi endogeni (endorfine, encefaline). Il gene situato sul cromosoma 6 (6q24–25) codifica per 4 diversi sottotipi del recettore μ per gli oppioidi (MOR-1, MOR-1A, MOR-1X e MOR-1O) e presenta oltre 800 polimorfismi nella sua sequenza (9).

Due varianti comuni del gene OPRM1 sono presenti in circa il 10-15% degli individui Caucasici: A118G (N40D) e G-172T.

L'importanza di varianti polimorfiche del gene OPRM1 associata a variazioni negli effetti degli oppioidi è stata dimostrata in diverse pubblicazioni (23; 38; 41).

Lo SNP A118G, ossia la sostituzione di una adenina in posizione 118 con una guanina, porta all'introduzione nella proteina di una asparagina in posizione 40 anzichè di un aspartato (N40D). Questa variazione nella sequenza proteica elimina un sito di N-glicosilazione a livello della regione extracellulare del recettore. L'effetto ipotizzato per l'allele G è una diminuzione degli effetti degli oppioidi di circa 2-3 volte: questo spiega un necessario aumento delle dosi di farmaco da somministrare agli individui che presentano tale variante. La frequenza dell'allele "minore" (MAF, minor allele frequency) ossia dell'allele polimorfico nella popolazione caucasica è stimata intorno al 10–15%.

Pazienti omozigoti wild-type sottoposti a terapia analgesica mostravano infatti ridotte necessità di morfina o del suo metabolita attivo (morfina-6-glucuronide) endovena rispetto ai soggetti eterozigoti per la variante. Questi studi dimostrano che la presenza del polimorfismo in soggetti sottoposti a terapia a base di morfina può essere utilizzata per valutare e pianificare il corretto dosaggio da somministrare al paziente (38).

Inoltre, si osservano numerose differenze interindividuali nella necessità di oppioidi in pazienti sottoposti ad intervento chirurgico (8). Sebbene il meccanismo molecolare alla base di questo fenomeno rimanga da chiarire, sembra che queste differenze possano essere in parte da imputare al polimorfismo del promotore del gene (-172G>T). Tale variante determina un'ampia variabilità nel numero di recettori prodotti più che nella funzionalità del recettore stesso; tuttavia è necessario sottolineare che alla percezione del dolore contribuiscono numerosi altri geni nonché numerosi fattori ambientali (61; 43; 49).

Geni *codificanti* proteine trasportatrici

ABCB1 (MDR1)

I trasportatori ATP-binding cassette (ABC) appartengono ad una famiglia di geni trasportatori, capaci di traslocare attraverso le membrane biologiche una grande varietà di substrati. Questi geni codificano per proteine deputate all'assorbimento, distribuzione ed eliminazione di numerosi farmaci.

Il gene ABCB1, conosciuto anche come MDR1 è il primo trasportatore ABC descritto, nonché il più studiato. Il gene MDR1 è localizzato sul cromosoma 7 e codifica per la P-glicoproteina (P-gp), una proteina integrale di membrana responsabile dell'escrezione, energia dipendente, di diverse sostanze in tessuti diversi, compreso il sistema nervoso centrale. Il gene MDR1 è estremamente polimorfico e a suo carico sono state descritte almeno 17 diverse varianti (5).

Il polimorfismo C3435T nell'esone 26 ha una notevole influenza nell'espressione della P-gp e mostra un'alta prevalenza nella popolazione caucasica. Gli effetti del polimorfismo C3435T sono attualmente oggetto di studio; si pensa che tale variante abbia un grosso impatto sulla biodisponibilità e sullo sviluppo della farmacoresistenza nei confronti dei substrati della P-gp.

Levran e collaboratori (31) hanno cercato di stabilire un'associazione tra 9 SNPs del gene ABCB1 e la corretta dose di farmaco in 98 pazienti in terapia di mantenimento con metadone, individuando nel gruppo dei soggetti trattati con dosi più alte (>150 mg/giorno) una "minor allele frequency (MAF)" (ossia la frequenza alla quale l'allele meno comune per un dato polimorfismo ricorre in una data popolazione) del polimorfismo C1236T significativamente superiore rispetto al gruppo trattato a dosi di metadone più basse (<150 mg/day). Inoltre, individui omozigoti per tre polimorfismi della regione codificante di ABCB1 (rs1128503, rs2032582, e rs1045642) risultavano essere candidati al trattamento a dosi di metadone >150 mg/giorno con una probabilità di 5 volte maggiore rispetto agli individui che presentavano un diverso pattern polimorfico. Viceversa individui eterozigoti per gli stessi tre polimorfismi, presentavano una probabilità superiore di circa tre volte di essere inseriti nel gruppo trattato a dosi più basse rispetto a soggetti che presentavano un diverso pattern polimorfico. Questi dati suggerivano che le varianti del gene ABCB1 potessero influenzare in maniera significativa la dose di metadone adatta al fine di evitare le ricadute e la sindrome di astinenza in soggetti trattati per dipendenza da eroina.

Altri studi tuttavia, non hanno confermato i risultati riguardo la correlazione esistente tra i diversi pattern allelici di ABCB1 e il corretto dosaggio

di metadone, sottolineando l'esigenza di intraprendere ulteriori indagini su popolazioni più ampie per stabilire gli effetti dei polimorfismi genetici di ABCB1 e la corretta dose di metadone (62).

La Farmacogenetica applicata alla clinica

Prima prendere in considerazione lo stato dell'arte in relativo alla farmacogenetica applicata alla clinica, abbiamo ritenuto opportuno dare una visione d'insieme su quelli che sono stati i tentativi da parte delle diverse autorità di dare una regolamentazione per il corretto approccio ai test di farmacogenetica. Sebbene le linee guida redatte abbiano avuto inizialmente lo scopo di definire un corretto percorso di validazione dei risultati ottenuti dai numerosissimi studi di farmacogenetica intrapresi nel corso degli anni, ultimamente si sta assistendo alla creazione di documenti che cercano di uniformare, a livello internazionale, le modalità di utilizzo dei test di farmacogenetica nell'ambito clinico.

Linee guida & regolamentazione

La sperimentazione Farmacogenetica

La maggiore difficoltà che si incontra nel disegnare uno studio di Farmacogenetica è la mancanza di criteri condivisi su come sia opportuno impostare e condurre questo tipo di ricerca. Le problematiche implicate riguardano non solo le modalità di conservazione dei campioni o il tipo di informazione che viene offerta ai pazienti e ai soggetti sani, ma principi più ampi e generali relativi all'utilità pubblica dello studio, alle risorse impegnate per la sperimentazione, alla capacità dello sperimentatore di condurre lo studio secondo le Good Clinical Practice GCP, garantendo quindi la bontà dei risultati e del loro utilizzo successivo (44). Un ulteriore problema è l'accesso ai dati ottenuti dalle sperimentazioni: è infatti oggetto di discussione il diritto degli sperimentatori di esaminare i risultati in modo indipendente o di pubblicarli senza un previo assenso dello Sponsor. Per assicurare trasparenza ed in considerazione dei pesanti risvolti di tipo clinico che possono derivare dal trasferimento di informazioni farmacogenetiche alla pratica clinica, risulta indispensabile la pubblicazione di risultati sia positivi che negativi derivanti dagli studi. La supervisione dei Comitati Etici è richiesta per qualsiasi raccolta di campioni biologici umani impiegati per test genetici; conseguentemente questo organo si trova direttamente coinvolto nella valutazione di protocolli di studio che propongono indagini farmacogenetiche. Vista la

novità della disciplina e la sua rapida espansione, i Comitati Etici sentono la necessità di avere a disposizione delle linee guida di riferimento sul comportamento da adottare nella valutazione di questo tipo di sperimentazioni. I principali aspetti presi in considerazione nella valutazione di un protocollo di Farmacogenetica sono i seguenti: disegno dello studio, gestione dei campioni genetici, testo di informazione al paziente, riservatezza, responsabilità nella sperimentazione. In particolare, per quanto riguarda la gestione dei campioni biologici, è necessario considerare che la loro raccolta, allo scopo di analizzare il corredo genetico, ha forti implicazioni etiche (44). Nei protocolli di Farmacogenetica vengono adottate diverse modalità di gestione dei dati relativi ai campioni di DNA. Ai due estremi sono i dati completamente identificati (sulla provetta è riportato il nome del paziente) e i dati completamente anonimi (il legame fra l'identità del paziente e il suo campione di sangue è stato irreversibilmente eliminato). Assicurare al soggetto inserito nello studio la totale riservatezza mediante completa anonimizzazione del campione comporta però l'impossibilita' di ritirare il consenso informato in qualsiasi momento e di ricevere comunicazione dei risultati dell'analisi (1). Esiste anche una metodologia intermedia che non elimina completamente il legame fra identità del paziente e dati genetici (livello anonimo) garantendo allo stesso tempo un livello di privacy accettabile (campioni non identificati). Sarà compito del Comitato Etico valutare di volta in volta quali sono le priorità da considerare. I campioni biologici dovrebbero essere conservati solo per la durata del trial ed eventualmente per un periodo successivo limitato, al fine di assicurare un ricorso agli stessi in caso di necessità. Nelle studi di Farmacogenetica il testo di informazione al paziente riveste un ruolo di particolare importanza. Il consenso informato dovrebbe indicare la descrizione dettagliata delle analisi che verranno condotte, le implicazioni che lo studio comporta sia per il paziente che per la famiglia, informazioni dettagliate sulle modalità di conservazione dei campioni biologici (per quanto tempo, con quale livello di identificabilità), la possibilità per il soggetto di essere informato dei risultati del test (argomento ancora oggi dibattuto) e la spiegazione degli eventuali benefici (13;24). Un'altra questione di difficile risoluzione e che richiede considerazioni specifiche è rappresentata dagli aspetti etici connessi con la possibilità di imbattersi, durante gli studi di Farmacogenetica, in informazioni "collaterali" su patologie o altro non direttamente collegato agli obiettivi della ricerca.

A livello legislativo già con il Decreto Ministeriale del 15 luglio 1997, che recepiva le Good Clinical Practice, ma soprattutto con il Decreto del 18 marzo 1998, sono stati definiti i compiti e le responsabilità dei Comitati Etici, chiamati oggi ad esprimersi sulla scientificità, eticità ed economicità delle sperimentazioni. A fronte di questi nuovi compiti il Ministero della Sanità, le Regioni e le Società Scientifiche hanno attivato numerosi programmi di formazione per

i componenti dei Comitati Etici. L'ambito di interesse del Comitato spazia dalla valutazione della sicurezza del prodotto in sperimentazione, alla analisi della scientificità del protocollo, alla tutela del paziente, alla valutazione della sostenibilità economica per l'Ente sede dello studio. Tutti i compiti dei Comitati Etici nella Sperimentazione clinica con farmaci sono stati dettagliati nei Decreti suddetti e più di recente sulla Gazzetta Ufficiale n. 53 del 09 luglio 2001 nell'ambito della Direttiva 2001/20/Comitato Etico del 4 aprile 2001, concernente le disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative relative all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione della sperimentazione di medicinali ad uso umano. Nella regolamentazione del disegno e della valutazione degli studi di Farmacogenetica, un importante passo avanti è stato compiuto con la pubblicazione della "Dichiarazione di Erice sui principi etici della ricerca farmacogenetica", elaborata da un gruppo di esperti di diversa estrazione, del mondo medico e sociale, che si è riunito nell'ambito della Scuola Internazionale di Farmacologia del centro Ettore Majorana il 17 e 18 Marzo 2001 (32). Nella stessa direzione la GlaxoSmithKline e la Società Italiana di Farmacia Ospedaliera (SIFO) hanno avviato, con il patrocinio di varie società scientifiche nazionali, il progetto "Verso una buona pratica farmacogenetica", nell'ambito del quale è stata realizzata una "Proposta di lineeguida per la valutazione di una sperimentazione farmacogenetica" (16). Il documento nasce dall'interazione tra genetisti, farmacisti ospedalieri, clinici, medici di medicina generale, farmacologi, esperti di bioetica e legislazione, rappresentanti di comitati etici, dei cittadini e dell'industria farmaceutica. Dalla fusione di tutte queste competenze scaturisce un documento che vuol essere di utilità pratica sia per quanti devono impostare un protocollo di sperimentazione, sia per coloro che hanno il compito di valutarlo. Per esigenze di chiarezza l'EMEA nel Novembre 2002 ha stilato un documento per chiarificare la terminologia maggiormente utilizzata nei protocolli di farmacogenetica quali la definizione dei diversi livelli di anonimicità dei campioni biologici (10). Nel 2001 sono iniziati i lavori del Nuffield Council all'interno di un Workshop sulla Bioetica per esaminare in dettaglio le implicazioni etiche connesse agli studi di Farmacogenetica. È stato nominato un gruppo di lavoro costituito da esperti in campo scientifico, filosofico, clinico, industriale e sociologico che ha realizzato nel Settembre 2003 un lavoro dal titolo Pharmacogenetics: Ethical Issues (40). Questa pubblicazione riassume considerazioni etiche riguardo a studi di farmacogenetica e presenta alcune raccomandazioni utili in fase di messa a punto di un protocollo o di uno studio sperimentale.

Applicabilità dei risultati degli studi di Farmacogenetica: necessità di una regolamentazione

Nel Novembre 2003 la Food and Drug Administration (FDA) ha pubblicato: "Guidance for Industry, Pharmacogenomic Data Submissions", un documento che racchiude il pensiero dell'organizzazione sull'argomento. Tale lavoro, aggiornato nel Marzo 2005 (13), non crea o conferisce diritti o doveri allo sperimentatore ma suggerisce un approccio al problema. I temi affrontati sono principalmente il possibile uso dei dati derivanti dagli studi di farmacogenetica, lo sviluppo e la commercializzazione di test farmacogenetici e la corretta interpretazione dei risultati che essi forniscono. La guida nasce dal dialogo con la comunità scientifica e con il pubblico, confluito in un workshop sul tema della farmacogenetica (Maggio 2002) e rappresenta un primo ma suggestivo sforzo per implementare e garantire la corretta applicazione dei risultati dei test di farmacogenetica. In seguito, nell'Aprile 2003, le conclusioni emerse sono state presentati in un meeting, organizzato con la collaborazione dell'EMEA (European Medicines Evaluation Agency), che ha affrontato come punto principale la regolamentazione delle strategie che conducono all'inserimento delle analisi farmacogenetiche nella pratica clinica. In particolare la FDA ha ritenuto opportuno aumentare la mole dei dati disponibili prima di valutare l'affidabilità' di un possibile test di farmacogenetica. A questo proposito è stata nominata un'apposita commissione, Interdisciplinary Pharmacogenomics Review Group (IPRG), che ha appunto il compito di assicurare un controllo sui dati prodotti da questa nuova disciplina.

Più recentemente, nell'agosto 2007, la FDA ha redatto delle nuove linee guida tese a facilitare l'utilizzo dei dati derivanti dagli studi di farmacogenetica. Queste linee guida, che si rifanno a quelle del 2005, rappresentano uno strumento in grado di garantire l'affidabilità dei risultati ottenuti ed il loro corretto utilizzo al fine di un diretto impiego di questi dati alla pratica clinica. (Fig.10)

Nel novembre del 2007, L'EMEA pubblica "NOTE FOR GUIDANCE ON DEFINITIONS FOR GENOMIC BIOMARKERS, PHARMACOGENOMICS, PHARMACOGENETICS,GENOMIC DATA AND SAMPLE CODING CATEGORIES"

(EMEA/CHMP/ICH/437986/2006), documento che introduce termini e definizioni specifici in ambito della farmacogenetica che devono essere applicati da tutti i membri aderenti alla International Conference onHarmonisation (ICH). L'impiego di una terminologia e di definizioni condivise ha lo scopo di facilitare l'integrazione della farmacogenetica e della farmacogenomica nel processo globale di sviluppo e approvazione dei farmaci.

Figura 10. Linee guida redatte dal'FDA.

Nello stesso anno (Dicembre 2007) la NACB (National Academy of Clinical Biochemestry) emanava la terza bozza delle "Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis and Application of Pharmacogenetics to Clinical Practice" (Fig. 11) il cui obiettivo era quello di stabilire delle regole semplici e dirette per l'applicazione della farmacogenetica nella pratica della medicina di laboratorio.

Il documento rappresenta una guida per l'applicazione dei test di farmacogenetica in specifici settori, definisce le potenziali relazioni esistenti tra il ruolo della farmacogenetica e del monitoraggio farmacologico in ambito clinico, formula linee guida per i laboratori che intendono introdurre i test di farmacogenetica nella loro routine e fornisce delle linee guida per le aziende di diagnostici in vitro relativamente alle caratteristiche dei saggi messi a punto per condurre test di farmacogenetica.

Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis and Application of Pharmacogenetics to Clinical Practice

Guideline Committee:

Chair:

Vice Chairs:

Members:

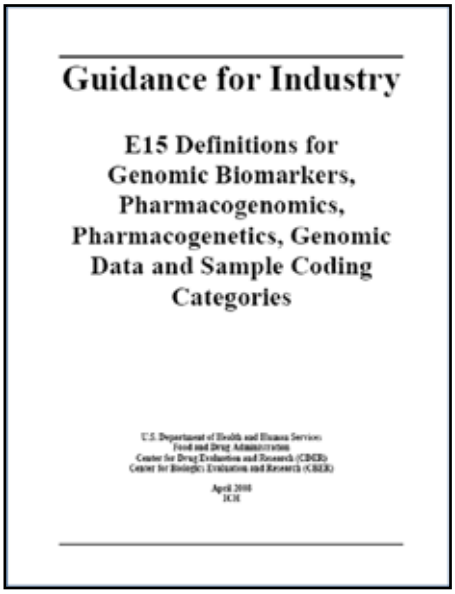
Other contributing authors:

Primary reviewers (to date):

Figura 11. Frontespizio delle "Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis and Application of Pharmacogenetics to Clinical Practice" a cura della NACB (National Academy of Clinical Biochemestry).

La International Conference on Harmonization (ICH) ha pubblicato nell'aprile 2008 una guida (Guidance for Industry E15 Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories, Fig.12) contenente termini e definizioni specifiche nell'ambito della farmacogenetica e della farmacogenomica.

Questa "guida alle definizioni", che si rifà a quella redatta dall'EMEA nel novembre 2007 (NOTE FOR GUIDANCE ON DEFINITIONS FOR GENOMIC BIOMARKERS, PHARMACOGENOMICS, PHARMACOGENETICS,GENOMIC DATA AND SAMPLE CODING CATEGORIES"), ha, analogamente alla precedente, lo scopo di facilitare l'integrazione della farmacogenetica nel processo di sviluppo e approvazione di nuovi farmaci e di consentire l'acquisizione di un linguaggio comune ai diversi professionisti (medici, biologi, chimici, farmacisti) che si avvicinano a questa disciplina emergente.



Guidance for Industry

E15 Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)

April 2008
ICH

Figura 12. Guidance for Industry E15 Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories, ICH, Aprile 2008.

A livello Europeo, L'EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) ha promosso una serie di workshop dai quali sono derivati dei documenti di carattere regolatorio (Report on the EMEA/EFPIA Pharmacogenetics Workshop on Integrating Pharmacogenetics Early into Drug Development: PK as a working example, December 19th 2008, EMEA Canary Wharf London).

Nelle intenzioni dell'EMEA c'era quella di creare dei gruppi di lavoro multidisciplinari capaci di dialogare sia con le industrie che con rappresentanti delle autorità legislative ed accademiche e di elaborare linee guida riguardanti l'applicazione dei biomarcatori farmacogenetici nelle fasi precoci dello sviluppo di nuovi farmaci (dalla Fase I alla Fase IIa).

Nel giugno 2009, l'EMEA ha elaborato una proposta di linee guida ("NOTE FOR GUIDANCE ON GENOMIC BIOMARKERS RELATED TO DRUG RESPONSE: CONTEXT, STRUCTURE AND FORMAT OF QUALIFICATION SUBMISSIONS (EMEA/CHMP/ICH/380636/2009)") il cui scopo è quello di fornire delle raccomandazioni sulla raccolta dei dati a supporto del processo di "qualificazione" di un biomarcatore genetico (per la definizione di "valido biomarcatore" vedi il paragrafo successivo).

Il processo di "qualificazione" dei biomarcatori di farmacogenetica è il processo per il quale un biomarcatore viene considerato "valido" ed i dati prodotti per lo specifico biomarcatore supportano il suo impiego nelle fasi di scoperta, di sviluppo, di approvazione e commercializzazione del farmaco.

Questo documento ha l'intento di:

- individuare quali dati servono per il processo di qualificazione del biomarcatore farmacogenetico (Tipo di dato da produrre);
- individuare metodi standard per la raccolta di questi dati;
- fornire una traccia di modulo per la sottomissione al processo di qualificazione, contenente sessioni specifiche da riempire nel modo corretto coi dati che le autorità regolatorie valuteranno per l'attribuzione della "qualificazione". (Fig.13)

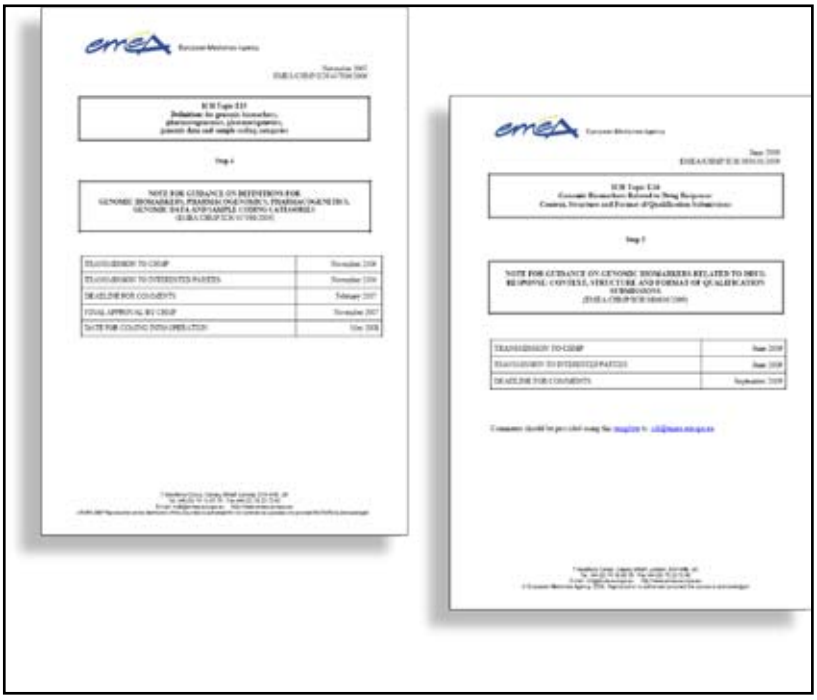


Figura 13. Documenti redatti dall'EMEA.

Inoltre, per l'anno 2010 l'EMEA ha pianificato una serie di eventi atti a facilitare la diffusione della farmacogenetica all'interno della comunità europea. Nel documento WORK PLAN FOR THE PHARMACOGENOMICS WORKING PARTY (PGWP) 2010, del 29 luglio 2009, è stato descritto un dettagliato programma delle azioni che l'EMEA intende attuare, in collaborazio-

ne con altri enti europei ed internazionali (Commissione europea, European Society of Human Genetics, EFPIA Efficacy/ PG Working Group, EuropaBio etc.), al fine di facilitare l'introduzione della farmacogenetica nella realtà comunitaria. Tra i numerosi intenti si annovera quello di adottare nuove linee guida che definiscano le corrette modalità per l'identificazione di nuovi validi biomarcatori nonché l'introduzione di nuovi test.

Validità dei biomarcatori genetici

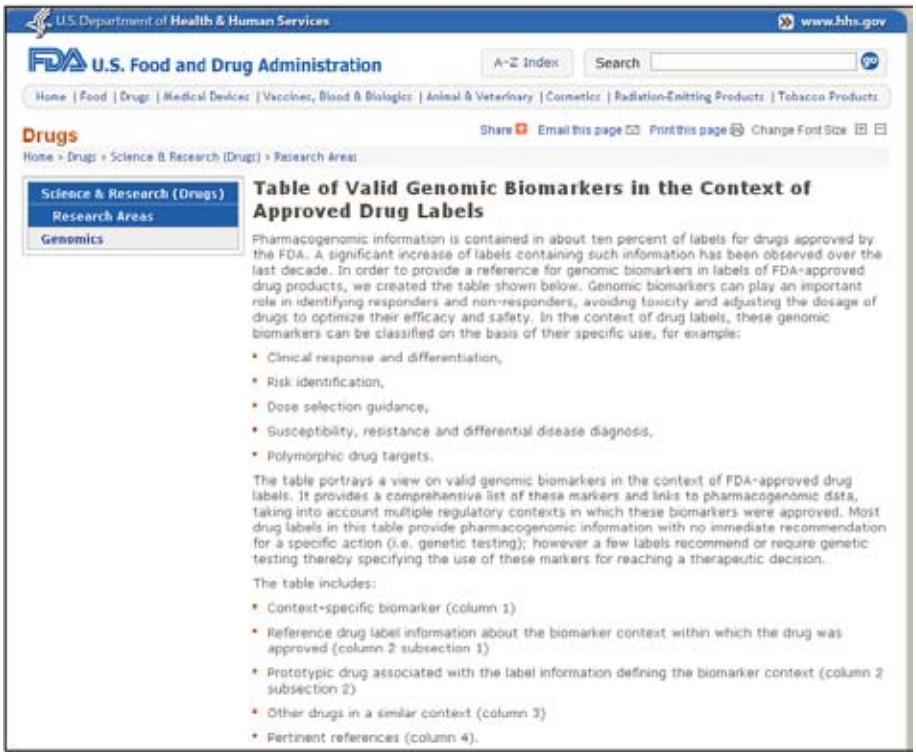
Per definizione (http://www.fda.gov/cder/genomics/genomic_biomarkers_table.htm), un biomarcatore è considerato valido quando è misurato attraverso un test analitico che presenti caratteristiche di resa ben note e per il quale esistano evidenze scientifiche che dimostrino il significato fisiologico, tossicologico, farmacologico o clinico dei risultati del test. I biomarcatori genetici considerati "validi" sono ritenuti svolgere un ruolo importante nella identificazione di soggetti capaci o incapaci di rispondere ad un determinato trattamento e nell'individuazione della dose ottimale da somministrare al fine di ottimizzare l'efficacia e la tollerabilità della terapia scelta (17).

Un test di farmacogenetica, ossia il test genetico capace di individuare quelle variazioni nella sequenza di geni codificanti proteine coinvolte nel trasporto, nel metabolismo e nel legame dei farmaci, può essere considerato un valido biomarcatore quando produce dati che permettono di stabilire un'associazione significativa tra il risultato del test e la presenza di una differente capacità di risposta ad un farmaco.

Nonostante i dati derivanti dagli studi di farmacogenetica siano sempre più numerosi, ad oggi ancora relativamente poche varianti polimorfiche descritte per i vari geni sembrano possedere le caratteristiche attribuite ad un valido biomarcatore; come conseguenza di questo i test di farmacogenetica condotti in ambito routinario al fine di ottimizzare una terapia sono ancora pochi (15).

Negli ultimi anni abbiamo assistito ad un gran susseguirsi da una parte di studi che millantavano di aver identificato dei validi biomarcatori e dall'altra di dichiarazioni di non utilità di alcuni test genetici da parte di autorevoli organismi scientifici.

L'FDA ha pubblicato sul suo sito internet una tabella contenente i validi biomarcatori che sono stati individuati fino ad oggi (www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics; Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels) (Fig. 14).


U.S. Department of Health & Human Services www.hhs.gov

U.S. Food and Drug Administration A-Z Index Search

Home | Food | Drugs | Medical Devices | Vaccines, Blood & Biologics | Animal & Veterinary | Cosmetics | Radiation-Emitting Products | Tobacco Products

Drugs Share Email this page Print this page Change Font Size

Home > Drugs > Science & Research (Drugs) > Research Areas

Science & Research (Drugs)
Research Areas
Genomics

Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels

Pharmacogenomic information is contained in about ten percent of labels for drugs approved by the FDA. A significant increase of labels containing such information has been observed over the last decade. In order to provide a reference for genomic biomarkers in labels of FDA-approved drug products, we created the table shown below. Genomic biomarkers can play an important role in identifying responders and non-responders, avoiding toxicity and adjusting the dosage of drugs to optimize their efficacy and safety. In the context of drug labels, these genomic biomarkers can be classified on the basis of their specific use, for example:

- Clinical response and differentiation,
- Risk identification,
- Dose selection guidance,
- Susceptibility, resistance and differential disease diagnosis,
- Polymorphic drug targets.

The table portrays a view on valid genomic biomarkers in the context of FDA-approved drug labels. It provides a comprehensive list of these markers and links to pharmacogenomic data, taking into account multiple regulatory contexts in which these biomarkers were approved. Most drug labels in this table provide pharmacogenomic information with no immediate recommendation for a specific action (i.e. genetic testing); however a few labels recommend or require genetic testing thereby specifying the use of these markers for reaching a therapeutic decision.

The table includes:

- Context-specific biomarker (column 1)
- Reference drug label information about the biomarker context within which the drug was approved (column 2 subsection 1)
- Prototypic drug associated with the label information defining the biomarker context (column 2 subsection 2)
- Other drugs in a similar context (column 3)
- Pertinent references (column 4).

Figura 14. Pagina del sito web dell'FDA che descrive la tabella relativa ai biomarcatori considerati validi.

La tabella elenca un esaustivo elenco di validi biomarcatori e fornisce i link relativi ai dati di farmacogenetica individuati per lo specifica variante descritta, includendo:

- il contesto all'interno del quale lo specifico biomarcatore è stato individuato (colonna 1);
- informazioni di riferimento contenute nel foglietto illustrativo del farmaco in questione riguardo il contesto del biomarcatore all'interno del quale il farmaco è stato approvato (colonna 2 sottosezione 1);
- criteri del test (colonna 2 sottosezione 2);
- farmaci "prototipo" associati con le informazioni contenute nel foglietto illustrativo capaci di definire il contesto del biomarcatore stesso (colonna 2 sottosezione 3);
- altri farmaci individuati nello stesso contesto (colonna 3);
- riferimenti bibliografici (colonna 4) (Fig. 15).

Biomarker	Label Context		Examples of other Drugs Associated with this Biomarker	References (PubMed ID)
	Representative Label	Drug		
CYP2C9 Variants with alternate context	**CYP2C9 Variant genotypes and drug dose** "The analysis suggested an increased bleeding risk for patients carrying either the CYP2C9*2 or CYP2C9*3 alleles. Patients carrying at least one copy of the CYP2C9*2 allele required a mean daily warfarin dose that was 17% less than the mean daily dose for patients homozygous for the CYP2C9*1 allele. For patients carrying at least one copy of the CYP2C9*3 allele, the mean daily warfarin dose was 37% less than the mean daily dose for patients homozygous for the CYP2C9*1 allele."	Warfarin		18034618; 17989110; 17955230

Figura 15. Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels. Per la spiegazione vedi testo.

La tabella viene aggiornata in maniera sistematica ogni tre mesi.

La maggior parte dei biomarcatori riportati in questa tabella rappresentano varianti riscontrate in geni deputati all'Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo ed Escrezione (ADME) del farmaco ossia coinvolte nella sua farmacocinetica.

Circa il 10% dei foglietti illustrativi di farmaci approvati dall'FDA contiene informazioni concernenti la farmacogenetica, e negli anni stiamo assistendo ad un notevole incremento di questa percentuale.

La maggioranza dei farmaci a cui si fa riferimento in tabella sono farmaci per i quali non sono raccomandate delle azioni specifiche (ad es. quella di eseguire il test genetico); tuttavia, alcuni dei loro foglietti illustrativi raccomandano l'esecuzione del test genetico prima di sottoporsi alla terapia, provvedendo pertanto a fornire delle informazioni specifiche sull'impiego di questi marcatori in ambito clinico.

Di seguito vengono riportati alcuni esempi di biomarcatori per i quali si è assistito ad un tentativo di applicazione del test farmacogenetica.

Per alcuni di questi avendo assunto, almeno in prima istanza, il significato di marcatore valido, era suggerito il test genetico; tuttavia, in seguito all'acquisizione di un maggior numero di risultati, ovvero in assenza di dati suffi-

cienti, a questi marcatori sono venute a mancare le caratteristiche di validità e di pari passo è venuta meno la necessità di esecuzione dell'indagine genetica. Per altri invece il test genetico è tutt'ora raccomandato e deve essere eseguito prima di qualsiasi decisione terapeutica.

Varianti del gene UGT1A1 e Irinotecano

L'irinotecano è un inibitore enzimatico impiegato nel trattamento del cancro al colon-retto (Fig. 16).

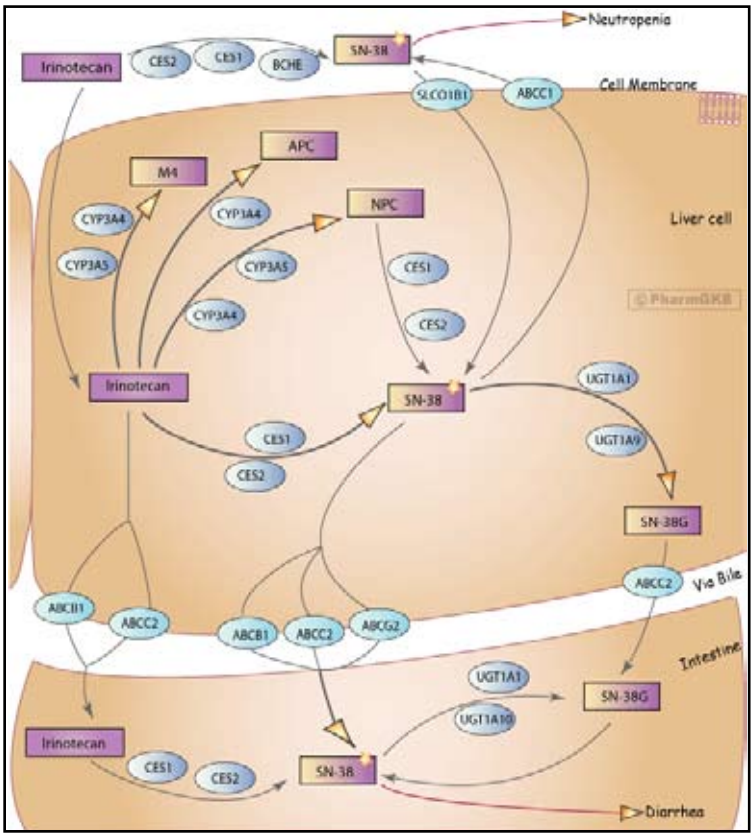


Figura 16. Pathway metabolico e farmacologico dell'irinotecano (da:http://www.pharmgkb.org/).

Il farmaco è un derivato della camptotecina, composto usato correntemente nella terapia dei carcinomi umani (in particolare del colon-retto e dell'ovaio) e di certi linfomi, che interagisce in maniera selettiva con l'enzima topoisomerasi I. Le topoisomerasi I sono enzimi capaci di indurre un rilassamento dei superavvolgimenti della doppia elica che si sono verificati durante la trascrizione e la replicazione: agiscono rompendo in modo reversibile una delle due catene del DNA, ruotandola attorno a quella integra e infine riunendo le estremità interrotte.

L'irinotecano ed il suo metabolica attivo, l'SN-38 si legano al complesso costituito da DNA e topoisomerasi I inibendo la giunzione delle estremità interrotte. La sua citotossicità sembra essere attribuibile al danno che questo farmaco produce a livello della doppia elica durante il processo di sintesi, quando gli enzimi di replicazione interagiscono col complesso ternario costituito da topoisomerasi I-DNA ed irinotecano stesso o SN-38. Le cellule infatti, non essendo in grado di riparare efficientemente la rottura a livello della doppia elica, vanno incontro a morte cellulare.

Numerosi dati scientifici suggeriscono che l'efficacia e tollerabilità del trattamento chemioterapico a base di irinotecano possa essere associata alla presenza di varianti genetiche a carico di una specfica regione del gene UDP-glucorosil-transferasi A1 (UGT1A1).

A livello della regione identificata come TATA box di UGT1A1, si osserva, nei diversi individui, un diverso numero di ripetizioni (rispettivamente 5, 6, 7 e 8) del dinucleotide timidina-adenina. A seconda del numero di ripetizioni presenti, si identificano genotipi diversi;

- genotipo omozigote wild type, per il quale si individuano 6 ripetizioni indicato come (TA)6/6;
- genotipo omozigote "mutato", per il quale si individuano 7 ripetizioni indicato come (TA)7/7;
- genotipo eterozigote per il quale si individuano 6 ripetizioni su una allele e 7 ripetizioni sull'altro indicato come (TA)6/7 (Tab. 7).

Allele UGT1A1	Numero ripetizioni dinucleotide TA	Capacità metabolica dell'enzima
***1**	**6**	Normale
***28**	**7**	**Ridotta**
***36**	**5**	**Aumentata**
***37**	**8**	**Ridotta**

Tabella 7. Varianti del gene UGT1A1 ed attività enzimatica associata.

La presenza di 7 ripetizioni TA induce una ridotta capacità metabolica a carico dell'enzima e determina la presenza di un aumentato livello del metabolita attivo dell'irinotecano con rischio di insorgenza di gravi effetti collaterali.

Individui omozigoti per l'allele UGT1A*28 sottoposti a terapia sono esposti ad un aumentato rischio di effetti collaterali (quali ad esempio neutropenia) se trattati a dosi standard di farmaco. Per questi soggetti dovrebbe essere considerata una dose iniziale ridotta rispetto alle dosi normalmente impiegate. Analogamente, una riduzione del dosaggio dovrebbe essere considerata anche per gli eterozigoti.

Il test di genotipizzazione di UGT1A1 era stato considerato pertanto un valido biomarcatore dal punto di vista clinico, per individuare i soggetti che potessero beneficiare maggiormente della chemioterapia a base di irinotecano (62).

Tuttavia recentemente (gennaio 2009) il gruppo di lavoro EGAPP (Evaluation of genomic applications and prevention), organismo statunitense che valuta i risultati dei test genetici promuovendo la loro applicazione dell'ambito della ricerca all'ambito della pratica medica, ha pubblicato delle raccomandazioni sull'impiego di alcuni test di farmacogenetica in specifici ambiti (65).

Dopo un'attenta revisione dei dati della letteratura, riguardo il test di genotipizzazione di UGT1A1 in pazienti affetti da carcinoma del colon-retto, il gruppo ha concluso che:

"Non esistono dati sufficienti per inserire nella diagnostica di routine il test di genotipizzazione del gene UGTA1A1 in pazienti affetti da tumore del colon retto trattati con irinotecano" e che "Il genotipo di UGT1A1 può non essere un utile indicatore per predire rischio di effetti collaterali. Devono essere fornite ulteriori evidenze della correlazione esistente tra utilità del test di genotipizzazione di UGT1A1 e protocolli di trattamento a base di irinotecano."

Sebbene sia stata riscontrata una evidenza scientifica significativa relativa all'associazione tra il genotipo di UGT1A1 e l'incidenza di neutropenia a dosi standard di irinotecano, ad un tasso di risposta significativamente più alto nei confronti dell'irinotecano in individui con genotipo UGT1A1*28/*28 (omozigoti mutati) trattati a dosi standard di farmaco e all'esistenza di una possibile associazione tra il genotipo di UGT1A1 e l'incidenza di diarrea severa (anche se il dato era di dimensioni irrilevanti e non statisticamente significativo), il gruppo non raccomanda l'impiego del test di farmacogenetica in quanto non rileva allo stesso modo una adeguata utilità clinica.

Antimetaboliti Purinici e varianti genetiche del gene TPMT

Gli antimetaboliti purinici sono farmaci dotati di struttura chimica simile ad alcuni metaboliti essenziali, capaci di inibire selettivamente la formazione di acidi nucleici o di loro precursori.

L'azatioprina è un antimetabolita purinico dotata di marcati effetti soppressivi su tutti i tipi cellulari ad elevato indice mitotico; più specificatamente essa agisce inibendo la biosintesi delle purine necessarie per la proliferazione di diversi tipi cellulari, tra i quali in particolare linfociti e leucociti. Date la sua caratteristiche antinfiammatorie ed immunosoppressive viene utilizzato sia come farmaco antitumorale che nel trattamento delle malattie autoimmuni (quali ad esempio l'artrite reumatoide, il morbo di Crohn ed il LES). La tioguanina possiede le stesse caratteristiche dell'azatioprina sia per i meccanismi di azione che terapeutici (Fig.17).

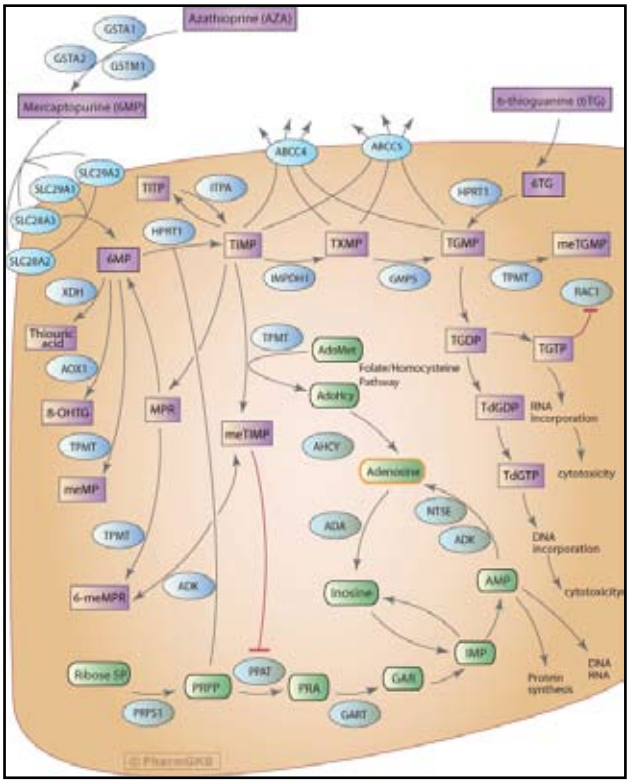


Figura 17. Pathway metabolico e farmacologico degli antimetaboliti purinici (Da: http://www.pharmgkb.org/).

L'azatioprina è un pro-farmaco che viene convertito nel metabolita 6-mercaptopurina (6-MP): l'attivazione della 6-MP avviene attraverso la via dell'ipoxantina-guanina-fosforibosil-transferasi (HGPRT) e di una serie di processi multi-enzimatici che coinvolgono l'enzima tiopurina S-metiltransferasi (TPMT) e alcune kinasi e portano rispettivamente alla formazione del 6 metil-mercaptopurina nucleotide (6MeMPN) e del 6-tioguanina nucleotide (6-TGN). La citotossicità dell'azatioprina è imputabile prevalentemente all'incorporazione del suo principale metabolita, il 6-TGN, nelle catene del DNA o dell'RNA durante i processi di replicazione cellulare. La 6-MP intraprende due vie principali di inattivazione: la principale è quella della tio-metilazione catalizzata dall'enzima tiopurina S-metiltransferasi (TPMT) che porta alla formazione del metabolita inattivo metil-6-MP (6-MeMP); l'altra è quella mediata dall'azione dell'enzima xantinossidasi (XO) che porta alla formazione dell'acido tiourico (6-TU) (Fig. 18).

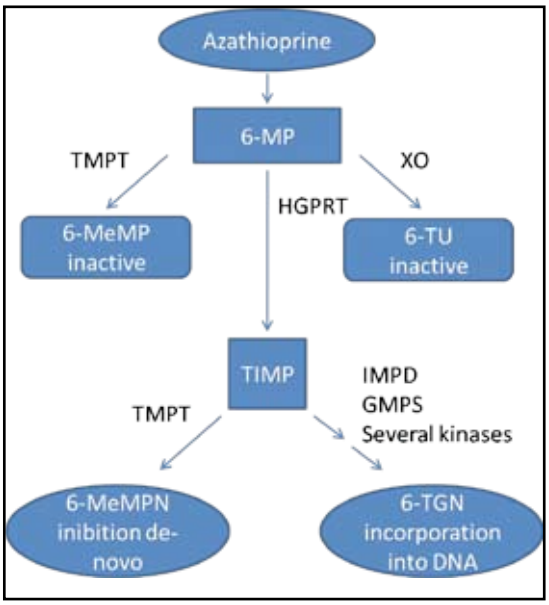


Figura 18. Pathway di inattivazione della 6-MP.

La 6-MP rilasciata svolge il suo ruolo citotossico principalmente attraverso tre vie:

- inibizione della biosintesi "ex-novo" delle purine dovuta alla formazione di tionucleotidi (6-MeMP);
- formazione di nucleotidi tioguaninici e loro incorporazione negli acidi nucleici (6-TGN);

- interruzione di meccanismi di trasduzione del segnale conseguente alla inibizione di G-proteine, indispensabili per la sopravvivenza cellulare.

Il metabolismo della 6-tioguanina è schematizzato in Fig.19.

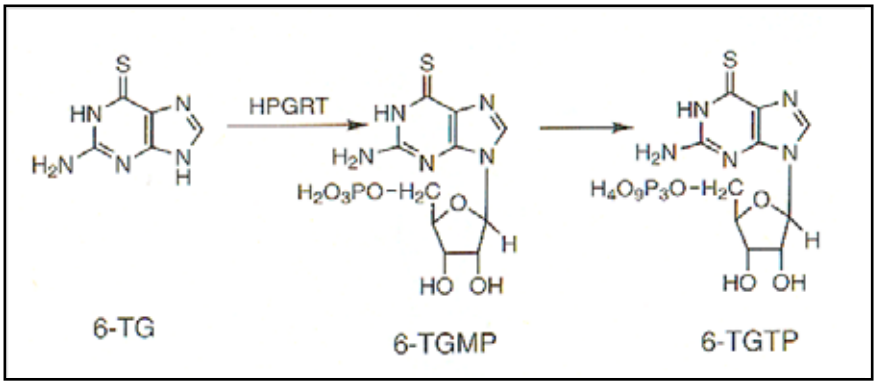


Figura 19. Reazione di attivazione della 6-tioguanina ai corrispondenti derivati monofosfato e tri-fosfato.

Dal punto di vista della sua attivazione, la tioguanina è convertita dall'enzima HGPRT in acido 6-tioguanilico (6-TGMP), capace di interferire sia con la biosintesi delle guanine sia delle purine in quanto inibitore di un enzima chiave (la glutammina 5 fosforibosilpirofosfato amido transferasi) per la loro sintesi "ex-novo".

La 6-TG è inoltre substrato della TPMT che la converte in 6 metil-tioguanina (6-MTG).

L'attività della TPMT è regolata dalla presenza di alcuni polimorfismi genetici.

Il gene TPMT consta di 10 esoni, mappa sul cromosoma 6p22.3 e possiede uno pseudogene situato sul cromosoma 18. Per questo gene sono state identificate 28 varianti alleliche, per lo più correlate alla presenza di SNPs non-sinonimi, molte delle quali sono associate ad una diminuita attività in vitro (62).

Tra i caucasici e gli afro-americani, circa il 10% della popolazione eredita un allele non-funzionale che conferisce ai portatori (eterozigoti) una capacità enzimatica ridotta rispetto ai soggetti "wild-type". Lo 0.3% della popolazione eredita due alleli polimorfici non funzionali che caratterizzano una capacità enzimatica per lo più assente.

Gli alleli associati ad una ridotta attività della TPMT (TPMT*2,*3A,*3B e *3C) sono stati accuratamente studiati sia dal punto di vista della loro implicazione clinica sia dal punto di vista del meccanismo molecolare che va ad inficiare sulla capacità enzimatica.

Gli alleli *3A, *3B, *3C e *2 determinano una significativa riduzione dei livelli di proteina TPMT e di conseguenza della sua attività enzimatica (57).

La prima variante allelica descritta (TPMT*2) è caratterizzata dal polimorfismo Ala80Pro. L'allele TPMT*3A, caratterizzato dalla presenza di due polimorfismi a singolo nucleotide, Ala154Thr a carico dell'esone 7 e Tyr240Cys a livello dell'esone 10, è l'allele più comune nella popolazione caucasica con una frequenza del 5% circa. L'allele TPMT*3C è quello più comune tra gli afro-americani e gli asiatici (frequenza approssimativa circa 2%),ed è caratterizzato dalla presenza di un unico SNP a livello dell'esone 10.

L'allele TPMT*2 è molto più raro di TPMT*3A e *3C. E' stato osservato che l'espressione in vitro degli alleli TPMT*2 e *3A era paragonabile a quella degli alleli wild-type ma che in questi ultimi l'attività enzimatica era circa 100 volte superiore rispetto a quella rilevata per i soggetti TPMT*2 e *3A.

Tai et al. (57) hanno dimostrato che la presenza di questi polimorfismi non incideva né sulla espressione genica né sull'attività della proteina ma era associata invece ad un'aumentata degradazione degli alloenzimi di TPMT codificati dagli alleli TPMT*2 e *3.

Altri alleli con una frequenza minore sono stati associati ad un'alterata capacità enzimatica; ad esempio, i polimorfismi che caratterizzano gli alleli TPMT*4 e *15 inducono un'alterazione del sito di splicing che porta rispettivamente alla sintesi di una proteina tronca e ad una diminuzione dell'espressione enzimatica.

Recentemente è stata descritta una variante che coinvolge tre nucleotidi (GCC) localizzati nella regione del promotore che potrebbe spiegare il fenotipo dell'1-2% circa dei soggetti caucasici che mostrano un fenotipo ultrarapido (62; 45).

Lennard et al. (27;28) hanno dimostrato che in bambini affetti da leucemia linfoblastica acuta (ALL) trattati con 6-MP, i livelli di 6-TGN eritrocitari correlavano in maniera inversamente proporzionale con l'attività enzimatica della TPMT dei globuli rossi (ossia in presenza di una più bassa capacità di S-metilazione, più farmaco risultava disponibile per la formazione di 6-TGN ad effetto citotossico).

E' stato inoltre dimostrato che i soggetti con scarsi livelli di TPMT eritrocitaria (per es individui omozigoti per gli alleli associati a ridotta capacità metabolica sopra descritti) erano esposti a seri rischi di grave mielosoppressione se trattati con dosi standard di tiopurine (29; 11). Al contrario, pazienti affetti da ALL con concentrazioni di 6-TGN al di sotto della media presentavano una maggiore capacità enzimatica e un conseguente minor tasso di recidive. Individui eterozigoti per gli alleli associati ad una minor capacità enzimatica si trovavano in una condizione intermedia (rispetto a quelle osservate per gli omozigoti "mutati" ed omozigoti wild-type) di tolleranza nei confronti della terapia a base di 6-MP (12). I livelli di TPMT eritrocitari sono stati associati ai

livelli della TPMT di altre cellule quali ad esempio epatociti, cellule del tessuto renale e linfociti (58; 56). Per questo motivo i polimorfismi genetici del gene TPMT rappresentano dei marcatori validi per stabilire la probabilità di eventi avversi quali la mielosoppressione in pazienti in terapia con tiopurine e potrebbero contribuire in maniera efficace ad individuare la dose ottimale e il miglior farmaco per il trattamento di pazienti affetti da ALL (54).

Il test di genotipizzazione relativo al gene TPMT rappresenta uno dei pochi esempi di applicazione della farmacogenetica nella pratica clinica.

Alcuni antimetaboliti purinici già contengono nel foglietto illustrativo l'"avviso farmacogenetico" che riporta come gli individui che mostrano una deficienza ereditaria dell'enzima tiopurina metiltransferasi (TPMT) possano essere "sensibili in modo non usuale all'effetto mielosoppressivo della azatioprina e portati a sviluppare una rapida depressione midollare a seguito del trattamento iniziale[…]"

Nel bugiardino dell'azatioprina della DSM Pharmaceuticals Inc (IMURAN®), nella sessione "Test di laboratorio" ("*Laboratory tests*") si legge:

"[…] particolare attenzione è raccomandata riguardo al genotipo o il fenotipo dell'enzima TPMT[…]. Test di genotipizzazione o fenotipizzazione sono disponibili a livello commerciale. I più comuni alleli associati a ridotti livelli di attività della TPMT sono gli alleli TPMT*2, TPMT*3A e TPMT*3C. Pazienti con due alleli non funzionali (omozigoti) possiedono una attività enzimatica bassa o assente, quelli con un allele non funzionale (eterozigoti), possiedono una attività enzimatica intermedia. Un'accurata valutazione della fenotipo eritrocitario (attività della TPMT dei globuli rossi) non è possibile in pazienti che hanno subito delle trasfusioni in periodi vicini all'inizio della terapia. Il test di genotipizzazione dovrebbe essere preso in considerazione anche in pazienti con valori anomali dell'emocromo non rispondenti ad una riduzione del dosaggio. Una rapida interruzione della terapia in questi pazienti è consigliabile. "

Nel foglietto illustrativo della azatioprina WELLCOME è scritto: "Esistono individui con deficienza ereditaria dell'enzima tiopurina metiltransferasi (TPMT) che possono essere sensibili in modo non usuale all'effetto mielosoppressivo della azatioprina e portati a sviluppare una rapida depressione midollare a seguito del trattamento iniziale con AZATIOPRINA WELLCOME.

[…]. Alcuni laboratori effettuano test per la deficienza di TPMT, sebbene tali test non abbiano dimostrato di identificare tutti i pazienti a rischio di tossicità grave."

Quello del PURINETHOL® (6-mercaptopurina) riporta una sessione denominata "*Metabolismo e Polimorfismi genetici*" in cui viene segnalato che "[…]L'attività dell'enzima TPMT può essere variabile nei diversi pazienti a

causa di polimorfismi a carico del gene TPMT. […] approssimativamente il 10% dei pazienti ha un allele del gene TPMT non funzionale (eterozigoti) che causa una bassa o intermedia capacità enzimatica e il 90% circa degli individui ha un'attività TPMT nomale dovuta alla presenza di due alleli funzionali. Pazienti omozigoti per due alleli non funzionali, se trattati a dosi standard di mercaptupurina accumulano livelli intracellulari eccessivi di nucleotidi tioguaninici capaci di esporli agli effetti tossici del PURINETHOL […]. Pazienti eterozigoti che mostrano una attività enzimatica intermedia o bassa accumulano concentrazioni di nucleotidi tioguaninici attivi più alte rispetto ad individui con un'attività normale della TPMT e sono esposti agli effetti citotossici della mercaptopurina con maggiore probabilità […]. Il test di genotipizzazione o fenotipizzazione della TPMT (attività della TPMT eritrocitaria) può identificare pazienti omozigoti (attività completamente deficitaria) o che hanno una bassa/intermedia attività della TPMT"".

Infine, nel foglietto illustrativo del "TABLOID®" (tioguanina) viene indicato, in maniera più generica, che "[…] ci sono individui che ereditano delle forme deficitarie dell'enzima TPMT e che possono essere particolarmente sensibili agli effetti mielosoppressivi della tioguanina ed esposti a sviluppare una rapida soppressione del midollo osseo conseguente all'inizio della terapia. Una sostanziale riduzione del dosaggio potrebbe essere necessaria per evitare l'insorgenza di fatale soppressione del midollo osseo […]. I medici prescriventi dovrebbero essere a conoscenza dei laboratori che eseguono test per individuare la deficienza enzimatica".

Da quanto esposto si evince come la farmacogenetica rappresenti un valido strumento in mano dei medici al fine di ottimizzare il dosaggio e la scelta della terapia.

Tuttavia si osserva che una relativa cautela sussiste nel raccomandare in modo rigoroso l'impiego di test di genotipizzazione. Questi test, laddove consigliati, devono comunque essere supportati da un attento monitoraggio clinico dei parametri ematologici.

Infine rimane da non sottovalutare il fatto che viene specificato che il test di genotipizzazione potrebbe non identificare tutti i pazienti a rischio di grave tossicità per intervento di meccanismi di natura diversa da quelli genetici che non vengono individuati mediante il test di farmacogenetica.

Polimorfismi del CYP2D6 e inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI)

Gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) sono un gruppo di farmaci costituito da sei molecole principali:

1. Fluoxetina;
2. Fluvoxamina;
3. Paroxetina;
4. Sertralina;
5. Citalopram;
6. Escitalopram.

Questi farmaci sono impiegati come terapia di prima linea per il trattamento degli stati depressivi in quanto, rispetto ad altre molecole (ad es. i triciclici (ADT)), presentano un alto indice terapeutico (rapporto tra dose letale e dose efficace) e una notevole riduzione degli effetti collaterali anticolinergici; pertanto offrono una maggiore maneggevolezza e hanno un'indicazione all'impiego anche per quelle categorie di pazienti per i quali gli ADT sono sconsigliati oppure del tutto controindicati.

La maggior parte degli SSRI è metabolizzata a livello epatico dal sistema del CYP450 (Fig.20).

In particolare, Fluoxetina, fluvoxamina e citalopram sono substrato del CYP2D6.

Come riportato precedentemente, la presenza di polimorfismi a carico del gene codificante per questo isoenzima determina l'esistenza di diverse categorie metaboliche (UM "ultra rapid metabolizers", EM "extensive metabolizers", IM "intermediate metabolizers" e PM "poor metabolizer"). I soggetti con fenotipo "extensive" o "intermediate" hanno una capacità' enzimatica che rientra nei range di normalità, mentre i metabolizzatori "poveri" (PM) e gli "ultra-rapidi" (UM), presentano una attività enzimatica rispettivamente molto inferiore o molto superiore ai livelli normali.

Poiché il metabolismo della fluoxetina (come avviene per gli antidepressivi triciclici ed altri antidepressivi selettivi a base di serotonina) coinvolge il sistema enzimatico del CYP450 a livello epatico, la co-somministrazione di farmaci anch'essi metabolizzati da questo isoenzima può portare ad un fenotipo metabolico diverso rispetto a quello geneticamente determinato.

Ad esempio, un soggetto con genotipo CYP2D6*1/ CYP2D6*1 (wild-type) che rientra nella categoria degli Extensive Metabolizer (EM), sottoposto a trattamento con fluoxetina potrebbe risultare, dal punto di vista della capacità metabolica, un metabolizzatore "lento" (PM), dato che fluoxetina e norfluoxetina (il suo metabolita attivo), sono potentissimi inibitori del CYP2D6.

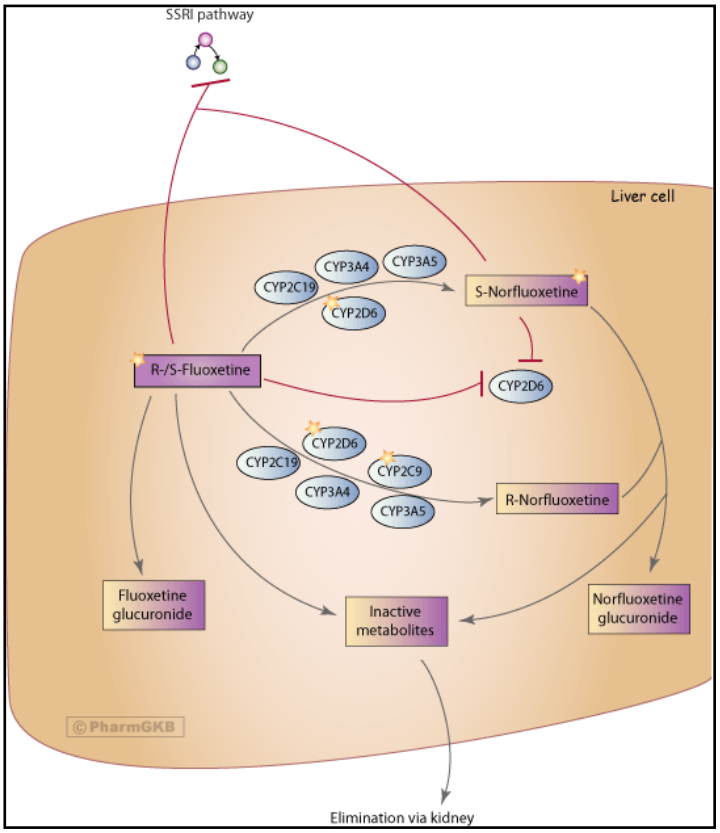


Figura 20. Pathway metabolico e farmacologico degli SSRI (Da: http://www.pharmgkb.org/).

Ricordiamo inoltre che la fluoxetina ha un'emivita di circa 6 giorni e la norfluoxetina di 19 giorni il che significa che il CYP2D6 rimane "bloccato" per parecchie settimane anche dopo la sospensione del farmaco.

Quindi la l'assunzione concomitante di fluoxetina ed altri farmaci metabolizzati dallo stesso isoenzima può necessitare di una riduzione della dose standard tanto della fluoxetina quanto dell'altro farmaco assunto in associazione.

Nonostante gli SSRI siano ampiamente utilizzati nella pratica, essi risultano associati ad un alto tasso di mancata risposta (50% circa) e di non aderenza alla terapia dovuta ad una scarsa tollerabilità (12% circa). Ad oggi non esistono delle precise strategie terapeutiche atte ad individuare gli SSRI più idonei per specifiche categorie di pazienti, ossia in grado di contribuire al raggiungimento di una completa efficacia, compliance ottimale e un minimo rischio di effetti collaterali. Per questo motivo l'interesse per i biomarcatori

genetici che possano fornire una guida per la scelta della terapia da intraprendere è notevole.

Nel dicembre 2007, l'EGAPP (Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention) Working Group (EWG) ha pubblicato un documento contenente delle raccomandazioni sull'impiego di test di farmacogenetica in alcuni ambiti, tra i quali quello dei farmaci SSRI (65).

Questo organismo non ha trovato nel test di genotipizzazione relativo ai geni del sistema del citocromo P450 epatico uno strumento utile per la gestione della terapia a base di SSRI in pazienti affetti da depressione. Sebbene gli studi eseguiti sulle caratteristiche di validità del test di genotipizzazione dei geni del CYP450 siano adeguati, solo una piccola parte di questi sono volti ad individuare la loro appropriatezza e utilità clinica.

Complessivamente in pazienti affetti da depressione che hanno raggiunto lo steady state per gli SSRI, i dati esistenti non dimostrano una chiara correlazione tra lo stato metabolico del sistema del CYP450 e concentrazione, efficacia e tollerabilità di questi farmaci.

Esistono diverse limitazioni degli studi concernenti queste potenziali associazioni.

Ad esempio, molti studi non prendono in considerazione le interazioni farmacologiche dovute alla co-somministrazione di più terapie che, come abbiamo detto, possono inibire o indurre alcune isoforme dei citocromi, né sembrano prendere in esame gli effetti della inibizione/induzione dei citocromi in presenza di polimorfismi genetici. Altri limiti riguardano studi che, pur valutando genotipi specifici, non considerano il fatto che più citocromi possano contribuire al metabolismo di uno specifico SSRI.

Infine, gli studi condotti fini ad oggi non sembrano valutare se i soggetti testati per i polimorfismi del CYP450 e trattati con SSRI per depressione abbiano raggiunto un miglior esito clinico rispetto a pazienti trattati con la stessa terapia ma non sottoposti al test di genotipizzazione. Pertanto le informazioni disponibili indicano l'assenza di dati sufficientemente "potenti" e di alta qualità derivanti da studi ben disegnati su casistiche sufficientemente numerose che diano una indicazione della utilità di sottoporsi al test genetico.

L'EWG, valutando che non sussiste una correlazione tra test di genotipizzazione del CYP450 e beneficio della terapia in pazienti adulti trattati con antidepressivi (SSRI) tale da raccomandare o sconsigliare l'impiego di questo tipo di test farmacogenetico, scoraggia il suo impiego fino a quando ulteriori studi clinici saranno completati.

Questa conclusione è in linea con quella dell'AHRA (US Agency for Healthcare Research and Quality) la quale aveva manifestato una mancanza di dati sufficienti relativi all'utilità del test di genotipizzazione del CYP450 in pazienti in trattamento con SSRI.

Varianti del gene CYP2C9 e terapia anticoagulante

Il warfarin è un farmaco ampiamente utilizzato nella prevenzione primaria e secondaria del tromboembolismo arterioso e venoso.

Il suo effetto anticoagulante si esplica tramite l'inibizione dell'enzima vitamina K epossido reduttasi (VKOR). Vari fattori della coagulazione (la protrombina ed i fattori VII, IX e X) per poter divenire attivi devono subire delle modificazioni post-traslazionali che consistono nella carbossilazione di alcuni residui di acido glutammico, al fine di generare l'acido γ-carbossiglutammico. Durante la reazione di carbossilazione la vitamina K, che fissa e poi cede la molecola di CO2, viene trasformata in vitamina K epossido che viene successivamente riconvertita nella forma ridotta per intervento dell'enzima VKOR. Affinché si esplichino gli effetti anticoagulanti del farmaco, è necessario che la vitamina K venga trasformato in epossido. Solo allora, infatti, i fattori della coagulazione prodotti non verranno resi attivi e non saranno in grado di svolgere la propria azione. È per tale ragione che gli effetti del farmaco iniziano a comparire dopo 8-12 ore dall'assunzione e raggiungono il massimo effetto dopo 48-72 ore (Fig. 21).

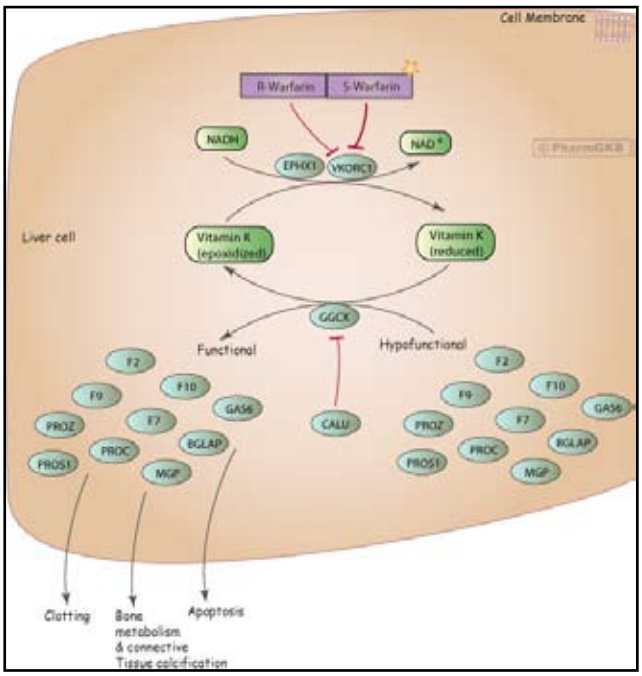


Figura 21. Mecanismo d'azione del warfarin. (Da: http://www.pharmgkb.org/).

Il warfarin si presenta come due enantiomeri: S-warfarin ed R-warfarin. L'enantiomero S ha un'attività anticoagulante maggiore rispetto all'R-warfarin.

Gli enantiomeri vengono metabolizzati da due diversi citocromi: il CYP2C9 ha come substrato l'S-warfarin, il CYP3A4 il racemo R.

Tali isoenzimi determinano la produzione di metaboliti inattivi che vengono coniugati con acido glucuronico a livello epatico ed eliminati attraverso feci ed urine (Fig 22).

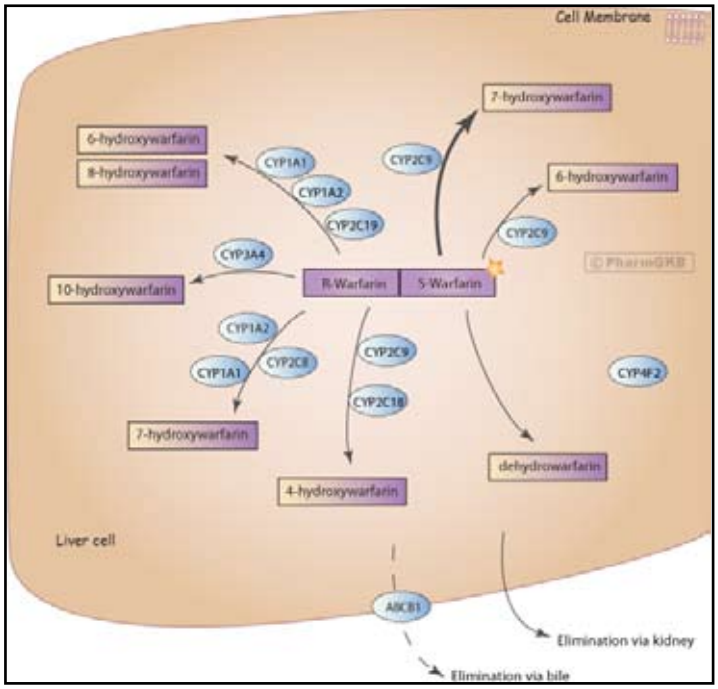


Figura 22. Pathway metabolico e farmacologico del warfarin (Da: http://www.pharmgkb.org/).

La terapia anticoagulante a base di warfarin presenta alcune problematiche legate alla ridotta finestra terapeutica e all'ampia variabilità del rapporto dose/risposta nei diversi soggetti. Il monitoraggio del tempo di protrombina (PT) e dell'International Normalized Ratio (INR) come indice di risposta terapeutica risulta fondamentale; valori di INR <2 sono associati ad un aumento del rischio di tromboembolismo e valori >4 ad un aumento del rischio di sanguinamento.

Recentemente, anche il ruolo della genetica nella variabilità del rapporto dose/risposta del warfarin è stato oggetto di numerose valutazioni (18).

Dagli studi condotti è emerso che oltre ai diversi fattori ambientali (Età, Peso, Altezza, Terapie concomitanti etc.) alcune varianti polimorfiche dei geni CYP2C9 e VKORC1, codificanti rispettivamente per l'enzima che metabolizza il warfarin e per il suo target farmacologico, contribuiscono alla variabilità individuale di risposta al farmaco.

Per il gene CYP2C9 sono state identificate due varianti alleliche prevalenti: l'allele CYP2C9*2, in cui in posizione 144 un residuo di arginina viene sostituito da una cisteina (Arg144Cys) e l'allele CYP2C9*3 in cui in posizione 359 un residuo di leucina viene sostituito da una isoleucina (Leu359Ile).

Dal punto di vista funzionale, pare che tali varianti siano associate ad un'alterata idrossilazione del warfarin.

I soggetti portatori di uno o entrambi gli alleli CYP2C9*2 e CYP2C9*3 richiedono un dosaggio di warfarin più basso per ottenere lo stesso effetto anticoagulante dei soggetti a genotipo CYP2C9*1 (wild-type), necessitano di un tempo più lungo per raggiungere l'INR target e risultano maggiormente esposti (rischio da 2 a 3 volte maggiore rispetto ad individui wild-type) ad eventi emorragici (2; 21).

Data l'elevata frequenza degli alleli CYP2C9*2 e CYP2C9*3 associati a scarso metabolismo del warfarin, l'analisi del genotipo CYP2C9 sembrerebbe essere utile nella messa a punto del trattamento farmacologico anticoagulante, soprattutto nella popolazione caucasica dove questi alleli risultano particolarmente frequenti.

Numerose varianti del gene VKORC1 descritte sembrano influenzare la suscettibilità agli effetti collaterali legati alla somministrazione del warfarin (47). I polimorfismi di VKORC1 sono responsabili del 30% della variabilità del dosaggio tra pazienti. Dal punto di vista dell'effetto fenotipico sembra che questi polimorfismi rendano l'enzima meno suscettibile alla soppressione da parte del farmaco.

Tra queste il polimorfismo 1173C>T a livello dell'introne 1 è molto comune in pazienti che necessitano di dosi più elevate di warfarin.

Dalla combinazione dei diversi polimorfismi a carico di VKORC1 sono stati descritti due aplotipi prevalenti: aplotipo A, che raggruppa i pazienti richiedenti un basso dosaggio di warfarin ed aplotipo B (o non-A) in cui rientrano i soggetti che necessitano di alte dosi del farmaco.

Pazienti con aplotipo A raggiungono l'INR terapeutico velocemente ma altrettanto velocemente possono arrivare ad un INR>4 che risulta associato a un maggior rischio di sanguinamento.

Alcuni ricercatori hanno messo a punto degli algoritmi capaci di calcolare, in base ad alcuni fattori clinici e farmacogenetici (CYP2C9*2, CYP2C9*3 e VKORC1-1639G>A), il dosaggio terapeutico ottimale di warfarin da somministrare a ciascun individuo.

In uno studio recente Caldwell et al (4) hanno identificato una nuova variante a carico del gene CYP4F2, la variante V433M (rs2108622) responsabi-

le di una ridotta capacità di metabolismo della vitamina K da parte di questo citocromo. E' stata formulata l'ipotesi in base alla quale questo polimorfismo causi un decremento delle concentrazioni epatiche dell'enzima durante lo steady state. In altre parole, sembra che il polimorfismo V433M riduca di circa il 60% la capacità metabolica del citocromo rispetto all'enzima wild-type e che contribuisca per circa il 7% alla variabilità interindividuale osservata nella dose di warfarin necessaria per raggiungere l'INR terapeutico.

Contrariamente a quanto accade per i soggetti portatori degli alleli CYP2C9*2 e CYP2C9*3, che necessitano di dosaggi inferiori di warfarin, il polimorfismo V433M risulta associato a più alti valori della dose media settimanale (MWWD mean weekly Warfarin doses, mg).

Se consideriamo la nuova variante allelica, la variabilità interindividuale di risposta al warfarin spiegabile con i soli fattori genetici individuati (5 polimorfismi in geni del metabolismo e target del farmaco) raggiunge il 45%. Se prendiamo in considerazione anche i fattori ambientali (peso,età etc.) è possibile arrivare a spiegare più del 60% della variabilità di risposta al trattamento con Warfarin predicendo in modo più esatto la dose necessaria del farmaco riducendo il rischio senza incorrere in eventi avversi gravi o nella mancanza di efficacia.

Le differenze interindividuali di risposta attribuite a polimorfismi genetici dell'enzima CYP2C9 e dell'enzima VKORC1 ha indotto la FDA, nell'agosto del 2007, a modificare la scheda tecnica del warfarin (Coumadin) riportando che " per i pazienti che presentano alcune varianti degli enzimi CYP2C9 e VKORC1 dovrebbero essere considerate dosi inziali inferiori".

La stessa FDA sottolinea "l'importanza per i medici prescrittori di impiegare il test genetico per migliorare la loro iniziale stima relativa alla dose ottimale da somministrare ad ogni individuo." [http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2007/ucm108967.htm].

Tuttavia determinare la dose appropriata di warfarin è notoriamente complesso; Le società scientifiche sono divise sull'opportunità di eseguire un test genetico per la individuazione della "corretta" dose iniziale.

Inoltre la FDA raccomanda, ma non richiede espressamente, il test genetico per i pazienti che intraprendono la terapia a base di warfarin.

Le critiche sono rivolte in prima istanza ai problemi pratici legati all'indagine genetica che non sempre è eseguita tanto rapidamente da consentire un'attesa ragionevole prima della somministrazione della prima dose e in secondo luogo al fatto che i risultati non danno automaticamente al medico l'indicazione della corretta posologia, dato che devono essere considerati anche i fattori non-genetici.

Inoltre, l'impiego del test genetico non esonera il paziente dal sottoporsi periodicamente ai test che valutano la capacità di coagulazione.

In base a queste considerazioni l'AMA (American Medical Association) ha pubblicato un a brochure intitolata "Personalized health care report 2008: Warfarin and genetic testing" pensata per i medici che comunemente prescrivono la terapia anticoagulante a base di warfarin ma che non necessariamente sono esperti di concetti di farmacogenetica e di test di farmacogenetica.

La brochure riporta che le varianti dei geni CYP2C9 and VKORC1 possono rendere conto del 45-60% della variabilità interindividuale nella risposta al warfarin ma che "[..] la stragrande maggioranza dei fattori che influenzano tale variabilità è ancora ignota".

Per questa ragione la genotipizzazione dei pazienti non deve essere considerata la "panacea" per la variabilità nella dose in soggetti sottoposti a terapia anticoagulante.

Nella brochure si sottolinea il fatto che "[..] una esplicita raccomandazione a sottoporsi al test genetico prima della somministrazione del farmaco non è inclusa nel foglietto illustrativo [..]" e che in ogni caso "[..] il test genetico non dovrebbe ritardare la prescrizione e la somministrazione della terapia [..]".

L'AMA conclude che "[..] Il cambiamento del foglietto illustrativo ha il solo scopo di informare i medici che una significativa percentuale dei loro pazienti potrebbe possedere varianti genetiche capaci di esporli ad un aumentato rischio di effetti collaterali se trattati con dosi standard di warfarin.[..]".

Tamoxifene e test genetico CYP2D6

Il tamoxifene è un agente antiestrogeno non steroideo, appartenente alla famiglia dei modulatori selettivi del recettore degli estrogeni, che viene impiegato nel trattamento del carcinoma mammario.

Inizialmente il farmaco veniva utilizzato, con buoni risultati, esclusivamente per il trattamento di tumori mammari metastatici; solo in un secondo momento è emerso che la molecola dava ottimi risultati anche per prevenire le recidive dei tumori ER+ (estrogen receptor positive) ossia che richiedono gli estrogeni per crescere e proliferare.

Il farmaco inibisce gli effetti degli estrogeni a livello del tessuto mammario deacetilando gli istoni, e quindi annullando gli effetti del legame estrogeno-recettore al DNA.

Il tamoxifene è un pro-farmaco metabolizzato e convertito nei suoi metaboliti endoxifene e 4-idrossi tamoxifene farmacologicamente molto più attivi del tamoxifene stesso. Gli enzimi del citocromo epatico P450 che catalizzano le reazioni di biotrasformazione sono prevalentemente il CYP3A4 e CYP3A5

ed il CYP2D6 (Fig.23); la principale via metabolica vede il prodotto del gene CYP2D6 essere l'enzima prevalente.

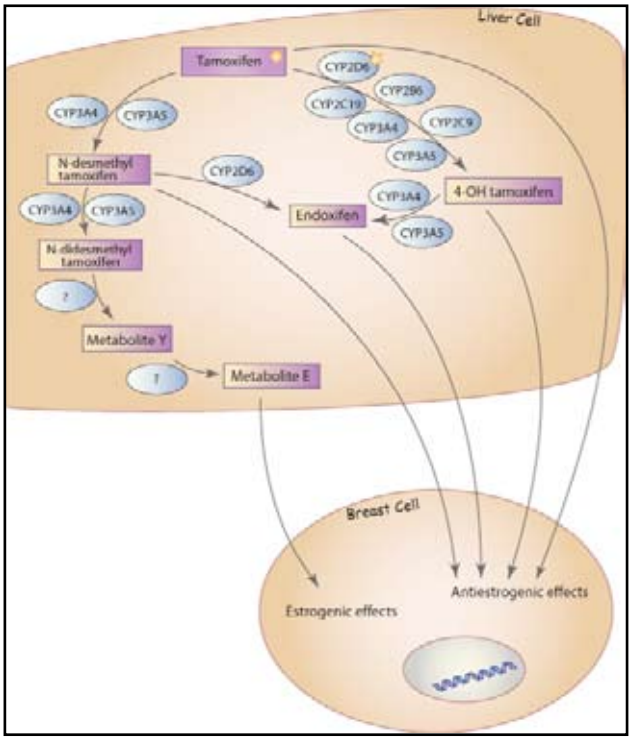


Figura 23. Pathway metabolico e farmacologico del Tamoxifene (Da: http://www.pharmgkb.org/).

Nell'ottobre del 2006 l'"Advisory Committee For Pharmaceutical Science Clinical Pharmacology Subcommittee" comitato consultivo interno all'FDA, si è riunito allo scopo di discutere e commentare i risultati ottenuti dalla ricerca farmacogenetica concernenti il tamoxifene e di dare delle raccomandazioni sull'aggiornamento del foglietto illustrativo del farmaco. In seguito alla revisione delle evidenze scientifiche ottenute fino ad allora, i membri del comitato giunsero alle seguenti conclusioni:

- l'endoxifene è un potente metabolita attivo del tamoxifene con un'esposizione allo steady–state da 5 a 10 volte superiore rispetto al suo metabolita 4-drossitamoxifene;
- studi *in vitro* dimostrano un ruolo fondamentale del CYP2D6 nella formazione dell'endoxifene;

- il genotipo relativo al gene CYP2D6 è associato in maniera significativa alle concentrazioni plasmatiche dell'endoxifene rilevate allo steady-state e, da parte del CYP2D6, si osserva un'effetto gene-dose;
- pazienti affette da carcinoma mammario ER+ in trattamento adiuvante con tamoxifene con genotipo CYP2D6 *4/*4 (CYP2D6 Poor Metabolizer, attività metabolica deficitaria) o in trattamento con potenti inibitori del CYP2D6 hanno un significativo decremento della sopravvivenza libera da recidive (*relapse-free survival*) e della sopravvivenza libera da malattia (*disease-free survival*) rispetto alle pazienti con genotipo CYP2D6 *1/*4 (eterozigoti per un allele non funzionale) o CYP2D6*1/*1 (omozigoti wild-type);
- pazienti in trattamento con potenti inibitori del CYP2D6 (paroxetina o fluoxetina) e tamoxifene mostrano una significativa riduzione delle concentrazioni plasmatiche dell'endoxifene rispetto a pazienti in solo trattamento a base di tamoxifene.

In base a tali conclusioni, il comitato sottolineò la necessità di aggiornare il foglietto illustrativo del farmaco. L'Advisory Committee raccomandò che gli aggiornamenti prevedessero informazioni relative ai genotipi CYP2D6 associati alle potenziali conseguenze sull'outcome delle pazienti in terapia con tamoxifene e alla possibilità di sottoporsi al test genetico per il CYP2D6.

Tuttavia i membri del comitato non avevano raggiunto un consensus riguardo al fatto che il test genetico dovesse essere raccomandato oppure essere considerato opzionale.

Nonostante tali raccomandazioni, nessun cambiamento del foglio illustrativo è stato adottato dalle case farmaceutiche produttrici del tamoxifene.

Nel novembre del 2008, durante il 31st annual San Antonio Breast Cancer Symposium tenuto dalla Cancer Therapy & Research Center-American Association for Cancer Research (CTRC-AACR), furono presentati i risultati di uno studio condotto dai ricercatori dalla Mayo Clinic in collaborazione con l'Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group (ABCSG).

I risultati di tale studio confermavano il ruolo fondamentale del CYP2D6 nella la terapia a base di tamoxifene.

Lo studio collaborativo prevedeva l'analisi del DNA di un sottogruppo di pazienti reclutate in un precedente studio (ABCSG-8).

Tale studio aveva arruolato circa 3900 pazienti il cui carcinoma mammario ER+ era stato rimosso mediante intervento chirurgico. Le pazienti erano state randomizzate in due bracci: il primo prevedeva il trattamento con tamoxifene per cinque anni l'altro prevedeva il trattamento con tamoxifene per due anni e per tre anni con anastrozolo, un inibitore delle aromatasi. I risultati dell'ABCSG-8, riportati nel 2005, dimostrarono che le pazienti del secondo braccio, passate alla terapia con anastrozolo, mostravano un rischio di ricorrenza del carcinoma mammario inferiore del 40% rispetto alle pazienti in solo trattamento con tamoxifene.

Lo scopo dello studio collaborativo era quello di determinare se le varianti genetiche del CYP2D6 fossero idonee per identificare un sottogruppo di pazienti ad aumentato rischio di ricorrenza per il carcinoma mammario nell'ambito del trial ABCSG-8.

Tra le pazienti trattate con tamoxifene, quelle con genotipo CYP2D6 associato al fenotipo di "Poor metabolizers" (PMs) presentavano un rischio di ricorrenza superiore di 3.8 volte rispetto alle "Extensive metabolizers" (EMs) durante i cinque anni di terapia, mentre tra le PMs del secondo braccio non si evidenziava nessun rischio di ricorrenza dal terzo al quinto anno di terapia.

I benefici del passaggio alla terapia a base di anastrozolo sembrava addirittura essere pronunciato nel gruppo di pazienti con attività metabolica CYP2D6 deficitaria, in quanto le pazienti "metabolizzatrici povere" (PMs) che sviluppavano una recidiva del tumore al seno nei primi due anni di terapia a base di tamoxifene traevano enorme beneficio dall'anastrozolo.

I risultati descritti dai ricercatori della Mayo Clinic e dall'ABCSG sottolineavano il ruolo fondamentale della genotipizzazione del CYP2D6 nell'ambito della terapia del cancro della mammella, suggerendo che fosse arrivato il momento di far entrare il test di farmacogenetica nella pratica clinica.

Il test genetico associato ad una corretta gestione della chemioterapia, poteva infatti migliorare l'outcome nel 35% delle pazienti affette da carcinoma mammario ER+ che non traevano beneficio dal trattamento a base di tamoxifene.

Nuovi e più recenti studi hanno confermato i dati ottenuti dallo studio condotto dalla Mayo Clinic e dall'ABCSG , ribadendo che la presenza di due alleli funzionali del gene CYP2D6 possa essere correlato con un esito clinico favorevole nelle pazienti in trattamento con tamoxifene (51). Tuttavia la comunità scientifica è tutt'oggi in attesa di linee guida e/o di documenti regolatori che dettino delle raccomandazioni o delle regole condivise per l'applicazione clinica del test di genotipizzazione del CYP2D6 in pazienti affette da carcinoma mammario e candidate alla chemioterapia con tamoxifene (65).

Allele HLA-B*5701 ed Abacavir

La terapia HAART (highly active antiretroviral therapy, terapia antiretrovirale altamente attiva) contro l'infezione da HIV nei pazienti affetti da AIDS è oggi sempre più frequentemente utilizzata.

Questo tipo di terapia prevede l'utilizzo di diverse combinazioni di farmaci antiretrovirali che bloccando la proliferazione del virus HIV, consentono la riduzione della viremia e di conseguenza della morbilità e mortalità degli affetti.

La terapia antiretrovirale utilizza farmaci appartenenti a tre classi:

- inibitori della trascrittasi inversa, comprendente inibitori nucleosidici (NRTI), nucleotidici (NtRTI) e non nucleosidici (NNRTI),
- inibitori della proteasi,
- inibitori della fusione.

Gli inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa, una volta sottoposti a fosforilazione da parte di chinasi intracellulari, competono con i desossinucleotidi necessari per la retrotrascrizione virale e, mancando di un gruppo 3-idrossilico, inducono una interruzione del meccanismo di allungamento della catena di DNA. Tra queste molecole ricordiamo:

- Abacavir
- ddI (Didanosina)
- ddC (Zalcitabina)
- d4T (Stavudina)
- 3TC (Lamivudina)
- ZDV (Zidovudina)

Anche gli NtRTI si comportano come inibitori competitivi della trascrittasi inversa, ma differiscono chimicamente dagli inibitori nucleosidici per la presenza di un gruppo fosfato legato ad una purina od una pirimidina che non rendono necessario, per la loro attivazione, il meccanismo di fosforilazione. L'unico NtRTI registrato in Italia è il TFV (Tenofovir).

Gli NNRTI legandosi direttamente al sito attivo dell'enzima impediscono la replicazione dell'HIV in maniera diretta. Tra questi farmaci ricordiamo:

- Delavirdina
- Nevirapina
- Efavirenz

Gli inibitori della proteasi interferiscono con l'ultima parte del ciclo replicativo di HIV in quanto, inibendo la proteasi, impediscono la maturazione delle proteine virali ed inducono un blocco dell'assemblaggio e del rilascio di nuovi virioni. Tra questi:

- Saquavir
- Indinavir

- Nelfinavir
- Ritonavir
- Amprenavir
- Lopinavir
- Atazanavir
- Emtricitabina
- Fosamprenavir

Gli inibitori della fusione sono farmaci recenti tra i quali, almeno ad oggi, l'unico esponente è l'Enfuvirtide: queste molecole agiscono bloccando l'ingresso dell'HIV-1 nelle cellule immunitarie bersaglio del virus e impedendo la fusione delle membrane virali e cellulari.

Nonostante i numerosi successi, la terapia HAART presenta lo svantaggio di un'incidenza relativamente alta di effetti collaterali e di una mancata risposta alla terapia da parte di alcuni soggetti.

L'insorgenza di eventi avversi rappresenta uno degli aspetti più complessi nella gestione dei pazienti HIV in trattamento con antiretrovirali, sia nel breve che nel lungo termine. Inoltre, non sono rare le reazioni allergiche.

Si stima che il tasso di interruzione/modificazione dei regimi terapeutici possa variare dall'8% al 50% e che la tossicità e/o l'intolleranza rappresentino le cause più frequenti (20). Gli eventi avversi, le manifestazioni legate alla tossicità e le reazioni allergiche possono essere correlati a un singolo farmaco o a un'intera classe di farmaci.

Reazioni di ipersensibilità sono state osservate più frequentemente con nevirapina ed abacavir (6). Nella maggior parte dei casi si tratta di eventi di grado lieve-moderato che insorgono nelle prime settimane di terapia. Tuttavia sono state descritte reazioni cutanee gravi che impongono un'immediata e permanente sospensione del farmaco.

Se da una parte l'incidenza di reazioni allergiche a nevirapina viene ridotta iniziando la somministrazione del farmaco a dosi progressivamente crescenti, l'ipersensibilità ad abacavir prevede altri tipi di interventi.

La prescrizione di abacavir è limitata a causa dell'insorgenza di reazioni di ipersensibilità (hypersensitivity reaction, HSR) che si manifestano entro le prime sei settimane di trattamento nel 5% circa dei pazienti sottoposti a terapia (55).

Tale reazione consiste nell'insorgenza di una sindrome clinica multiorgano caratterizzata da febbre, rash cutaneo, cefalea e disturbi gastrointestinali.

In linea generale i sintomi si risolvono con l'interruzione del farmaco, ma nel caso in cui il soggetto in futuro venga nuovamente esposto ad abacavir (per esempio nel caso del cosiddetto "Re-challenge" del paziente) esiste il rischio di manifestazioni sistemiche talmente severe da risultare persino fatali.

L'insorgenza di eventi avversi è la principale causa di interruzione del trattamento con abacavir e l'incertezza della diagnosi clinica ha spesso portato ad un mancato o non corretto utilizzo del farmaco.

E' stato dimostrata una forte associazione tra reazioni di ipersensibilità ad abacavir e la presenza dell'allele MHC di classe I HLA-B*5701 negli individui che manifestano tali reazioni (19; 34).

Il più grande studio clinico randomizzato, in doppio cieco, sull'identificazione dell'allele HLA-B*5701 in pazienti HIV positivi condotto fino ad oggi è lo studio PREDICT-1 (finanziato dal produttore dell'abacavir GlaxoSmithKline) (35). Per tale studio sono stati reclutati, da 314 centri europei ed australiani aderenti allo studio, 1956 soggetti "naive" all'abacavir. I 1956 soggetti sono stati randomizzati in due bracci: in uno i pazienti iniziavano la terapia con abacavir dopo essere stati sottoposti a screening prospettico per la presenza dell'allele HLA-B*5701, nell'altro (gruppo di controllo) i pazienti erano sottoposti a trattamento standard con una verifica retrospettiva sulla presenza dell'allele HLA-B*5701.

I risultati di questo studio dimostrano che lo screening per la presenza dell'allele HLA-B*5701 prima della somministrazione della terapia e la non somministrazione di abacavir in pazienti risultati positivi all'allele HLA-B*5701, ha ridotto in maniera significativa l'incidenza delle reazioni di ipersensibilità ad abacavir. E' stato stimato che dal 48% al 61% dei pazienti con allele HLA-B*5701, trattati con abacavir, è predisposto all'insorgenza di una reazione di ipersensibilità al farmaco entro 6 settimane dall'inizio della terapia, in confronto ad una percentuale che va dallo 0% al 4% dei pazienti che non presentano l'allele HLA-B*5701. Sebbene la popolazione dello studio PREDICT-1 fosse per la maggior parte di razza bianca, l'associazione tra la presenza dell'allele HLA-B*5701 e la reazione di ipersensibilità ad abacavir sembra essere generalizzata indipendentemente dall'etnia di appartenenza dei soggetti trattati (48). Questi risultati sono conformi a quelli ottenuti da studi retrospettivi condotti precedentemente.

In questo studio quindi il risultato del test HLA-B*5701 ha mostrato un valore predittivo negativo del 100% in quanto nessun paziente con un test negativo ha sviluppato la reazione di ipersensibilità e ha permesso di ridurre la percentuale di diagnosi di reazione di ipersensibilità rispetto al criterio clinico (36).

Sulla base di questi risultati, è attualmente controindicato l'impiego di abacavir in pazienti portatori dell'allele HLA-B*5701. L'associazione tra l'ipersensibilità ad abacavir e HLA-B*5701 è stata già trasferita nella pratica clinica, e il test per l'identificazione dell'allele è uno dei test validati in campo della farmaco genetica dalla Food and Drug Administration.

Su questa scia, in seguito al parere favorevole dell'agenzia europea per i medicinali (EMEA), l'Agenzia italiana del Farmaco (AIFA) nel marzo 2008 ha elaborato un documento in cui si raccomanda ai medici di richiedere il test genetico prima di prescrivere il medicinale (http://www.agenzia-farmaco.it/allegati/nii_abacavir070308.pdf) ed ha imposto delle modifiche al "Il Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto" di abacavir solfato (ZIAGEN TRIZIVIR e KIVEXA). Tali modifiche hanno coinvolto i paragrafi del RCP relativamente alle 'Indicazioni terapeutichè (paragrafo 4.1) ed alle 'Avvertenze speciali e precauzioni di impiego (paragrafo 4.4) nonché il Foglio Illustrativo.

Sebbene il test genetico non debba sostituire l'osservazione clinica delle reazioni avverse, dal momento che un test negativo non esclude in assoluto la possibilità che l'evento avverso si manifesti, la disponibilità di un test genetico predittivo valido consente una migliore gestione del paziente HIV positivo e porta ad una somministrazione di abacavir più sicura ed appropriata.

Farmacogenetica: presente o futuro?

Nonostante numerose evidenze della utilità dei test di farmacogenetica per definire una terapia sempre più personalizzata, l'introduzione di questa disciplina nella routine di laboratorio è ancora agli esordi.

Numerosi sono i motivi in grado di spiegare perché la farmacogenetica fino ad adesso abbia avuto un limitato impatto sulla pratica clinica.

In prima istanza, gli studi tesi a valutare la validità dei marcatori genetici individuati sono popolazione-specifici e spesso di piccole dimensioni e di potenza statistica non sufficiente. I biomarcatore individuati, sebbene apparentemente "validi" (ossia che dimostrano una relazione causa-effetto tra la presenza di una specifica variante genetica e le differenze nella risposta farmacologica) non sempre risultano significativi se confrontati in individui appartenenti a gruppi etnici diversi o in casistiche più ampie.

Inoltre è necessario sottolineare che la farmacogenetica da sola non è sufficiente per spiegare tutte le diversità interindividuali nell'efficacia e nella tollerabilità dei trattamenti; fattori ambientali quali sesso, età, funzionalità d'organo eccetera contribuiscono in maniera rilevante alla riuscita della terapia. Da questo deriva che la presenza degli stessi marcatori genetici in individui affetti da una stessa patologia e trattati con la stesso farmaco ma con caratteristiche fisiologiche diverse, influenzi in maniera differente la risposta che ciascuno di questi individui manifesta nei confronti della terapia.

Un altro aspetto da considerare è quello che riguarda la tecnologia. Le tecniche impiegate in passato per la genotipizzazione delle varianti polimorfiche non erano sufficientemente rapide, adeguate ed economiche per eseguire studi su larga scala e hanno fatto sì che la maggioranza degli studi di farmacogenetica si concentrasse su singole varianti in singoli geni. Oggi, grazie alla disponibilità di tecnologie "high-throughput" un simile approccio risulta approssimativo e insufficiente dato che siamo in grado di studiare più varianti in più geni contemporaneamente in modo tale da comprendere l'intero "percorso" dell'azione di un farmaco. Ricordiamo inoltre che il processo di automazione che ormai sta investendo anche i laboratori di genetica rende possibile un abbattimento dei costi impensabile fino a qualche anno fa; proseguendo su questa strada si potranno realizzare scansioni dell'intero genoma umano che permetteranno non solo di identificare su larga scala ed in tempi rapidi numerosi varianti geniche ma anche di correlare tra di loro le varianti individuate sull'intero patrimonio genetico di un individuo.

Da queste considerazioni emerge come la Farmacogenetica rappresenti una potente arma in mano della comunità scientifica. Quest'ultima incoraggia la sua introduzione nella pratica di laboratorio (14), seppur con dovute

cautele e sottolineando la necessità di regole appropriate per poter gestire in modo corretto le informazioni e i dati che risultano dagli studi condotti, sempre più numerosi.

L'esistenza di un modello di riferimento comune, definito da normative o linee guida in grado di garantire l'affidabilità' dei risultati ottenuti al fine di una diretta applicabilità alla clinica è infatti ritenuta di fondamentale importanza (22). E' evidente che sia le promesse che i rischi della medicina predittiva siano elevati. Il prevalere delle prime o dei secondi emergerà nei prossimi anni, sulla base della capacità di affrontare il problema in tutti i suoi diversi aspetti (scientifici, etici e sociali) e di risolverlo con il maggior consenso possibile.

Conclusioni

Alla luce di quanto precedentemente esposto, risulta chiaro che la farmacogenetica potrebbe costituire una potente arma in mano dei clinici al fine di identificare la migliore terapia e di adattarla a specifici pazienti.

In effetti sono stai citati numerosi possibili test "farmacogenetici" per i quali è stata individuata una relazione tra i risultati del test genetico e parametri farmacocinetici, efficacia clinica della terapia o insorgenza di eventi avversi legati alla somministrazione del trattamento farmacologico. Tuttavia, solo per alcuni dei test presi in considerazione è stata identificata la "validità" del marcatore biologico esaminato e laddove presente, ancora si stenta a riconoscerla tale da rendere necessario l'inserimento del test di farmacogenetica nella routine diagnostica.

Nonostante questo, il test rappresenta spesso uno strumento utile nella prescrizione di certe categorie di farmaci.

L'educazione, intesa come corretta formazione ed informazione della classe medica e degli utenti-pazienti riguardo l'uso appropriato dei test di farmacogenetica è essenziale per favorirne il loro impiego.

I test di farmacogenetica e ancor più quelli di farmacogenomica hanno il potenziale di cambiare il modo in cui i farmaci vengono sviluppati, prescritti e somministrati; questo sicuramente è il primo passo del percorso della medicina personalizzata (42).

Se dovessimo elencare i benefici che la farmacogenetica e la farmacogenomica sono in grado di apportare alla pratica medica potremmo includere:

- Terapie farmacologiche più efficaci.
  Le aziende farmaceutiche svilupperanno farmaci in funzione di molecole proteiche, enzimatiche e di RNA associate a geni e malattie. Questo faciliterà la scoperta di nuove molecole e permetterà alle industrie di produrre terapie sempre più specifiche per specifiche patologie. Tale accuratezza non solo massimizzerà gli effetti terapeutici ma diminuirà l'insorgenza degli effetti collaterali o dei danni alle cellule non-target delle terapie (39).
- Farmaci migliori e più sicuri alla prima somministrazione.
  La teoria "un'unica dose per tutti i pazienti " che si accompagnava all'approccio trial-and-error nell'associare il paziente con il farmaco adatto, sarà soppiantata dalla possibilità del prescrittore di conoscere il profilo genetico del soggetto prima della somministrazione della terapia e di conseguenza di scegliere da subito il trattamento più adatto al paziente. Questo non solo consentirà di individuare il farmaco corretto ma accelererà i tempi di ricovero laddove ve ne fosse la necessità ed

aumenterà la sicurezza delle terapie dato che la probabilità di effetti collaterali risulterebbe estremamente diminuita. In altre parole l'applicazione della farmacogenetica potrà potenzialmente ridurre le 100.000 morti/anno e le 2 milioni ospedalizzazioni/anno stimate negli USA conseguenti agli eventi avversi ai farmaci.

- Metodi più accurati per determinare la corretta dose da somministrare.
  I metodi utilizzati attualmente per individuare la posologia e basati sul peso, funzionalità d'organo ed'età del paziente verranno soppiantati da dosaggi individuati in base all'assetto genetico di ogni individuo da trattare. Questo consentirà di massimizzare i benefici della terapia e di ridurre il rischio di sovradosaggi o di dosaggi sub-terapeutici.
- Miglioramento dei processi di scoperta e sviluppo dei farmaci e snellimento dei processi di approvazione
  L'attuale processo di ricerca e sviluppo di un nuovo farmaco prevede un tempo di circa 10 anni ed investimenti da parte delle aziende farmaceutiche di milioni di euro (52). Solo una parte (la stima si aggira intorno a 1/ 5000) delle nuove molecole individuate saranno immesse sul mercato. Con l'impiego della farmacogenetica e della farmacogenomica l'industria farmaceutica sarà in grado di identificare molecole più efficaci utilizzando target genomici (37). I processi di approvazione dei farmaci saranno facilitati ed i costi ed i rischi dei trial clinici verranno ridotti poiché mirati solo a quegli individui geneticamente candidati a rispondere ad uno specifico farmaco.
- Abbattimento dei costi complessivi dell'assistenza sanitaria
  La riduzione degli effetti collaterali, dei fallimenti dei trial farmacologici, del tempo di approvazione di nuove molecole, della durata delle terapie, del numero dei tentativi necessari per individuare la terapia ottimale e dall'altra parte un incremento del ventaglio di scelta dei possibili target farmacologici, favorirà un netto abbattimento dei costi della assistenza sanitaria

Quali sono allora le barriere esistenti che ancora ostacolano il processo di applicazione della farmacogenetica nella pratica clinica?

Probabilmente la complessità "pratica" nel correlare le varianti genetiche individuate con la riposta al farmaco insieme alla difficoltà nell'individuare quali geni sono coinvolti nella risposta ad una specifica terapia:

Dato che molti geni contemporaneamente sono capaci di influenzare la risposta farmacologica ottenere una visione d'insieme dell'impatto che ciascun gene ha su tale risposta è ancora difficoltoso. Sebbene l'impiego di tecnologie innovative consentano di ottenere dati anche sull'intero genoma di un individuo in tempi rapidi, spesso è difficile attribuire un significato clinico a queste informazioni.

In secondo luogo la limitata gamma di farmaci a disposizione per il trattamento di un condizione patologica. Se un determinato paziente possiede caratteristiche genetiche tali da rendere un determinato trattamento inadatto per quel paziente, devono esistere delle alternative per curare quell'individuo e spesso tali alternative non sono disponibili.

Inoltre, gli interessi dell'industria farmaceutica nel produrre farmaci molto efficaci ma che verranno utilizzati solo per porzioni di popolazione, sono ancora troppo scarsi. La maggior parte delle case produttrici di farmaci sono economicamente favorite dal classico approccio "one size fits all" per lo sviluppo di nuovi farmaci. Investire milioni di dollari per nuove molecole che verranno impiegate solo per una nicchia di pazienti non sarà allettante fino a quando il rapporto costi/benefici non verrà implementato .

Infine è necessaria, come abbiamo precedentemente accennato, una corretta formazione ed informazione medici che prescrivono le terapie. L'introduzione di numerosi farmaci capaci di curare la stessa condizione in popolazioni geneticamente differenti complicherà sicuramente il modo di prescrivere e somministrare la terapia.

I medici dovranno prevedere un ulteriore step "diagnostico" per individuare il farmaco più adatto per ogni paziente. Inoltre tutti i medici prescrittori, indipendentemente dalla loro specialità, necessiteranno di basi culturali di natura "farmacogenetica" al fine di interpretare correttamente il risultato del test genetico e di raccomandare ad ogni paziente il trattamento più adatto da seguire.

Bibliografia

1) Agostini M, Arslan P, Caruso G, Chiamenti G, Del Zompo M, Ferro L, Garattini S, Iacobelli M, Deschenes M. Cardinal G. Knoppers BM. Glass KC. "Human genetic research, DNA banking and consent: a question of 'form'?". Clinical Genetics. 59:221-39, 2001.

2) Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK.: Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. Lancet 1999 Feb 27;353(9154):717-9.

3) Brenner SS, Herrlinger C, Dilger K, Murdter TE, Hofmann U, Marx C, Klotz U.: Influence of age and cytochrome P450 2C9 genotype on the steady-state disposition of diclofenac and celecoxib. Clin Pharmacokinet 2003; 42:283–92

4) Caldwell MD, Awad T, Johnson JA, Gage BF, Falkowski M, Gardina P, Hubbard J, Turpaz Y, Langaee TY, Eby C, King CR, Brower A, Schmelzer JR, Glurich I, Vidaillet HJ, Yale SH, Qi Zhang K, Berg RL, Burmester JK.: CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose. Blood 2008 Apr 15;111(8):4106-12. Epub 2008 Feb 4

5) Cascorbi I, Haenisch S. Pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters and clinical implications. Methods Mol Biol. 2010;596:95-121.

6) Cutrell AG, Hernandez JE, Fleming JW, Edwards MT, Moore MA, Brothers CH, Scott TR.: Updated clinical risk factor analysis of suspected hypersensitivity reactions to abacavir. Annals of Pharmacother. 2004;38:2171-2. 26.

7) Damle BD, Uderman H, Biswas P, Crownover P, Lin C, Glue P.: Influence of CYP2C19 polymorphism on the pharmacokinetics of nelfinavir and its active metabolite. Br J Clin Pharmacol. 2009 Nov;68(5):682-9.

8) Darbari DS, van Schaik RH, Capparelli EV, Rana S, McCarter R, van den Anker J.: Presence of UGT2B7 -840G allele is associated with significantly reduced glucuronidation of morphine and thus contributes to the variability in hepatic clearance of morphine in SCD." Am. J. Hematol. 2007.

9) Edwards RR.: Genetic predictors of acute and chronic pain. Curr Rheumatol Rep. 2006 Dec;8(6):411-7

10) EMEA/CPMP/3070/01 "Commettee for proprietary medicinal products - Position Paper on Terminology in Pharmacogenetics". Londra 21 Novembre 2002.

11) Evans WE, Horner M, Chu YQ, Kalwinsky D, Roberts WM.: Altered mercaptopurine metabolism, toxic effects, and dosage requirement in a thiopurine methyltransferase-deficient child with acute lymphocytic leukemia. J Pediatr 1991 Dec;119(6):985-9.

12) Evans WE, Hon YY, Bomgaars L, Coutre S, Holdsworth M, Janco R, Kalwinsky D, Keller F, Khatib Z, Margolin J, Murray J, Quinn J, Ravindranath Y, Ritchey K, Roberts W, Rogers ZR, Schiff D, Steuber C, Tucci F, Kornegay N, Krynetski EY, Relling MV.: Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. J Clin Oncol 2001 Apr 15;19(8):2293-301.

13) FDA "Guidance for Industry, Pharmacogenomic Data Submissions". http://www.farmagenomica.tk/.

14) FDA "Stagnation or Innovation? – Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products"). Marzo 2004. http://www.fda.gov/oc/initiatives/criticalpath/

15) Frueh FW, Amur S, Mummaneni P, Epstein RS, Aubert RE, Deluca TM, Verbrugge RR, Burckart GJ, Lesko LJ.: Pharmacogenomic biomarker information in drug labels approved by the United States food and drug administration: prevalence of related drug use. Pharmacotherapy 2008 Aug;28(8):992-8

16) GlaxoSmithKline, SIFO. "Proposta di lineeguida per la valutazione di una sperimentazione farmacogenetica". Novembre 2001.

17) Goodsaid F, Frueh F.: Biomarker qualification pilot process at the US Food and Drug Administration, AAPS J. 2007 Mar 23;9(1):E105-8

18) Glurich I, Burmester JK, Caldwell MD.: Understanding the pharmacogenetic approach to warfarin dosing. Heart Fail Rev. (2008), Blood 2008 Nov 8.

19) Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, Spreen W, Lai E, Davies K,Handley A, Dow DJ, Fling ME, Stocum M, Bowman C, Thurmond LM, Roses AD.: Genetic variations in HLA-B region and hypersensivity reaction to abacavir. Lancet 2002;359:1121-2.

20) Hetherington S, McGuirk S, Powell G, Cutrell A, Naderer O, Spreen B, Lafon S, Pearce G,Steel H.: Hypersensitivity reactions during therapy with the nucleoside reverse transcriptase inhibitor abacavir. Clin Ther. 2001;23:1605-1614.

21) Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, Rettie AE.: Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. JAMA 2002 Apr 3;287(13):1690-8.

22) Hodgson J, Marshall A.: Pharmacogenomics: will the regulators approve? Nature Biotechnolgy 16: 243-246. 1998 3.

23) Johnson MP, Fernandez F, Colson NJ, Griffiths LR.: A pharmacogenomic evaluation of migraine therapy. Expert Opin Pharmacother. 2007 Aug;8(12):1821-35.

24) Landegren U. "Consulting the source code: prospects for gene-based medical diagnostics. Journal of Internal Medicine". 248:271-6, 2000

25) Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN.: Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA Apr 15, 1998. 279(15):1200-5.

26) Lee YS, Kim H, Wu TX, Wang XM, Dionne RA.: Genetically mediated interindividual variation in analgesic responses to cyclooxygenase inhibitory drugs. Clin Pharmacol Ther. 2006 May;79(5):407-18

27) Lennard et al.: Thiopurine pharmacogenetics in leukemia: correlation of erythrocyte thiopurine methyltransferase activity and 6-thioguanine nucleotide concentrations Clin Pharmacol Ther. 1987 Jan;41(1):18-25.

28) Lennard L, Lilleyman JS, Van Loon J, Weinshilboum RM.: Genetic variation in response to 6-mercaptopurine for childhood acute lymphoblastic leukaemia. Lancet 1990 Jul 28;336(8709):225-9.

29) Lennard L, Van Loon JA, Weinshilboum RM.: Pharmacogenetics of acute azathioprine toxicity: relationship to thiopurine methyltransferase genetic polymorphism. Clin Pharmacol Ther 1989 Aug;46(2):149-54.

30) Levo A, Koski A, Ojanpera I, Vuori E, Sajantila A: Post-mortem SNP analysis of CYP2D6 gene reveals correlation between genotype and opioid drug (tramadol) metabolite ratios in blood. Forensic Sci Int. 2003; 135:9-15

31) Levran O, O'Hara K, Peles E, Li D, Barral S, Ray B, Borg L, Ott J, Adelson M, Kreek MJ.: ABCB1 (MDR1) genetic variants are associated with methadone doses required for effective treatment of heroin dependence. Hum Mol Genet. 2008 Jul 15;17(14):2219-27. Epub 2008 Apr 17.

32) LoGiudice M, Meneguz A, Mori M, Orru A, Pignatti P, Pirazzoli A, Porciani F, Recchia G, Rizzini, Samani F, Santi L, Satolli R, Scroccaro G, Velo G, Venturini F. "Dichiarazione Di Erice Sui Principi Etici Della Ricerca farmacogenetica". 2001

33) Lotsch J, Geisslinger G.: Current evidence for a genetic modulation of the response to analgesics. Pain. 2006 Mar;121(1-2):1-5. Epub 2006 Feb 10.

34) Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, Sayer D, Castley A, Mamotte C, Maxwell D, James I, Christiansen FT.: Association between presence of HLA-B*5701, HLADR7,and HLA-DQ3 and hypersensivity to HIV-1 reverse transcriptase inhibitor abacavir. Lancet 2002;359:727-32.

35) Mallal S, Phillips E, Carosi G et al.: PREDICT-1: a novel randomised prospective study to determine the clinical utility of HLA-B*5701 screening to reduce abacavir hypersensitivity in HIV-1 infected subjects (study CNA106030). 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment, and Prevention July 22- 25, 2007. Sydney. Abstract WESS101.

36) Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomažič J, Jägel-Guedes E, Rugina S,Kozyrev O, Flores Cid J, Hay P, Nolan D, Hughes S., Hughes A, Thorborn D, Benbow A.: HLA-B*5701 screening for hypersensivity to abacavir. N Engl J Med 2008; 358:586-79.

37) Marrer E, Dieterle F.: Promises of biomarkers in drug development--a reality check. Chem Biol Drug Des. 2007 Jun; 69(6):381-94

38) Nagashima M, Katoh R, Sato Y, Tagami M, Kasai S, Ikeda K.: Is there genetic polymorphism evidence for individual human sensitivity to opiates? Curr Pain Headache Rep. 2007 Apr;11(2):115-23.

39) Nakamura Y.: Pharmacogenomics and Drug Toxicity. N Engl J Med. 2008 Jul 23

40) Nuffield Council on Bioethics. "Pharmacogenetics: Ethical Issues". www.nuffieldbioethics.org/pharmacogenetics

41) Palmer SN, Giesecke NM, Body SC, Shernan SK, Fox AA, Collard CD.: Pharmacogenetics of anesthetic and analgesic agents. Anesthesiology 2005 Mar;102(3):663-71.

42) Pistoi S.: Facing your genetic destiny, part II. Scientific American. February 25, 2002

43) Rakvag TT, Klepstad P, Baar C, Kvam TM, Dale O, Kaasa S, Krokan HE, Skorpen F.: The Val158Met polymorphism of the human catechol-O-methyltransferase (COMT) gene may influence morphine requirements in cancer pain patients. Pain 2005 Jul;116(1-2):73-8

44) Recchia G: "2010: medicina predittiva e terapia personalizzata: quali problemi etici dovremo affrontare?". Bioetica, 1/2000

45) Roberts RL, Gearry RB, Bland MV, Sies CW, George PM, Burt M, Marinaki AM, Arenas M, Barclay ML, Kennedy MA.: Trinucleotide repeat variants in the promoter of the thiopurine S-methyltransferase gene of patients exhibiting ultra-high enzyme activity. Pharmacogenet Genomics 2008 May;18(5):434-8.)

46) Rodriguez-Monguio R, Otero M.J, Rovira J: Assessing the economic impact of adverse drug effects. Pharmacoeconomics 2003; 21:623–50

47) Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hörtnagel K, Pelz HJ, Lappegard K, Seifried E, Scharrer I, Tuddenham EG, Müller CR, Strom TM, Oldenburg J.: Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. Nature 2004 Feb 5;427(6974):537-41.

48) Saag M, Balu R, Brachman P et al.: High sensitivity of HLA-B*5701 in whites and blacks in immunologically-confirmed cases of abacavir hypersensitivity. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment, and Prevention. July 22-25, 2007. Sydney. Abstract WEAB305

49) Sawyer MB, Innocenti F, Das S, Cheng C, Ramirez J, Pantle-Fisher FH, Wright C, Badner J, Pei D, Boyett JM, Cook E Jr, Ratain MJ.: A pharmacogenetic study of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase

2B7 in patients receiving morphine. Clin Pharmacol Ther. 2003; 73:566–74

50) Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E.: Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. Pharmacol Res. 2004 Aug;50(2):195-200

51) Schroth W.: Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. JAMA 2009 Oct 7;302(13):1429-36.

52) Shashi A., Felix F., Lawrence L., Shiew-Mei H.: Integration and use of biomarkers in drug development, regulation and clinical practice: a US regulatory perspective. Biomarkers in Medicine, June 2008; Vol. 2, No. 3, Pages 305-311 (doi:10.2217/17520363.2.3.305)

53) Somogyi AA, Barratt DT, Coller JK.: Pharmacogenetics of opioids. Clin Pharmacol Ther. 2007 Mar;81(3):429-44

54) Stanulla M, Schaeffeler E, Flohr T, Cario G, Schrauder A, Zimmermann M, Welte K, Ludwig WD, Bartram CR, Zanger UM, Eichelbaum M, Schrappe M, Schwab M.: Thiopurine methyltransferase (TPMT) genotype and early treatment response to mercaptopurine in childhood acute lymphoblastic leukemia. JAMA 2005 Mar 23;293(12):1485-9.

55) Symonds W, Cutrell A, Edwards M, Steel H, Spreen B, Powell G, McGuirk S, Hetherington S.: Risk factor analysis of hypersensitivity reactions to abacavir. Clin Ther. 2002; 24:565-73.

56) Szumlanski CL, Honchel R, Scott MC, Weinshilboum RM.: Human liver thiopurine methyltransferase pharmacogenetics: biochemical properties, liver-erythrocyte correlation and presence of isozymes. Pharmacogenetics 1992 Aug;2(4):148-59.

57) Tai HL, Krynetski EY, Schuetz EG, Yanishevski Y, Evans WE.: Enhanced proteolysis of thiopurine S-methyltransferase (TPMT) encoded by mutant alleles in humans (TPMT*3A, TPMT*2): mechanisms for the genetic polymorphism of TPMT activity. Tai et al :Proc Natl Acad Sci U S A 1997 Jun 10;94(12):6444-9

58) Van Loon JA, Weinshilboum RM.: Thiopurine methyltransferase biochemical genetics: human lymphocyte activity. Biochem Genet 1982 Aug;20(7-8):637-58.

59) Ueshima Y, Tsutsumi M, Takase S, Matsuda Y, Kawahara H.: Acetaminophen metabolism in patients with different cytochrome P-4502E1 genotypes. Alcohol Clin Exp Res. 1996 Feb;20(1 Suppl):25A-28A.

60) Westlind-Johnsson A, Hermann R, Huennemeyer A, Hauns B, Lahu G, Nassr N, Zech K, Ingelman-Sundberg M, von Richter O.: Identification and characterization of CYP3A4*20, a novel rare CYP3A4 allele without functional activity. Clin Pharmacol Ther. 2006 Apr;79(4):339-49. Epub 2006 Feb 28.

61) Zubieta JK, Heitzeg MM, Smith YR, Bueller JA, Xu K, Xu Y, Koeppe RA, Stohler CS, Goldman D.: COMT val158met genotype affects mu-opioid neurotransmitter responses to a pain stressor. Science 2003 Feb 21;299(5610):1240-3.

RISORSE INTERNET

62) www. Pharmgkb.org
63) (http://www.farmacovigilanza.org/).
64) (http://www.cypalleles.ki.se/).
65) http://www.egappreviews.org/workingrp/recommendations.htm

Indice

Editoriale ..... pag. 3

Introduzione alla farmacogenetica ..... » 5

I polimorfismi genetici ..... » 9

Geni polimorfici coinvolti nella risposta farmacologica ..... » 11

Geni del metabolismo ..... » 13

La Farmacogenetica applicata alla clinica ..... » 29

Linee guida & regolamentazione ..... » 29

Varianti del gene UGT1A1 e Irinotecano ..... » 40

Antimetaboliti Purinici e varianti genetiche del gene TPMT ..... » 43

Polimorfismi del CYP2D6 e inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) ..... » 49

Varianti del gene CYP2C9 e terapia anticoagulante ..... » 52

Tamoxifene e test genetico CYP2D6 ..... » 56

Allele HLA-B*5701 ed Abacavir ..... » 60

Farmacogenetica: presente o futuro? ..... » 65

Conclusioni ..... » 67

Bibliografia ..... » 71

Indice ..... » 78

Caleidoscopio Italiano

...il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

1. Rassu S.: *Principi generali di endocrinologia.* Gennaio '83
2. Rassu S.: *L'ipotalamo endocrino.* Giugno '83
3. Rassu S.: *L'ipofisi.* Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina.* Aprile '84
5. Rassu S.: *Il pancreas endocrino.* Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza).* Luglio '84.
7. Rassu S.: *L'obesita'.* Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.:*Aspetti morfofunzionali dell'ovaio.* Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1).* Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima.* Gennaio'85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda.* Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima.* Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.: *Il TSH.* Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La β-endorfina plasmatica e liquorale.* Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1).* Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda.* Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale.* Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica.* Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti.* Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica.* Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma.* Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici.* Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia.* Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimoimmunologico e fluoroimmunologico.* Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche.* Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rassu S.: *Le banche dati in medicina.* Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea.* Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale.* Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche.* Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica.* Novembre '87.

31. Kubasik N.P.: ***Ibridomi ed anticorpi monoclonali.*** **Gennaio '88.**
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: ***Diagnostica del carcinoma mammario.*** **Febbraio '88.**
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: ***Neuroendocrinologia dello stress.*** **Marzo '88.**
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: ***La fecondazione*** **in vitro. Maggio '88.**
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: ***Il gozzo nodulare.*** **Giugno '88.**
36. Baccini C.: ***Le droghe d'abuso (2).*** **Luglio '88.**
37. Piantino P., Pecchio F.: ***Markers tumorali in gastroenterologia.*** **Novembre '88.**
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: ***Le leucemie acute infantili.*** **Gennaio '89.**
39. Sommariva D., Branchi A.: ***Le dislipidemie.*** **Febbraio '89.**
40. Butturini U., Butturini A.: ***Aspetti medici delle radiazioni.*** **Marzo '89.**
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: ***Diagnostica delle neoplasie colo-rettali.*** **Aprile '89.**
42. Palleschi G.: ***Biosensori in Medicina.*** **Maggio '89.**
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: ***HTLV-I.*** **Giugno '89.**
44. Fanetti G.: ***Emostasi: fisiopatologia e diagnostica.*** **Luglio '89.**
45. Contu L., Arras M.: ***Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie.*** **Settembre '89.**
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: ***Immunologia dell'occhio.*** **Ottobre '89.**
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: ***Infezioni opportunistiche in corso di AIDS.*** **Gennaio '90.**
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: ***La coriogonadotropina umana.*** **Febbraio '90.**
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: ***L'immunologia del diabete mellito.*** **Marzo '90.**
50. Cappi F.: ***La trasfusione di sangue: terapia a rischio.*** **Aprile '90.**
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: ***I micobatteri.*** **Maggio '90.**
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: ***Anticorpi antinucleo.*** **Giugno '90.**
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: ***Le macchine in terapia intensiva.*** **Luglio '90.**
54. Goracci E., Goracci G.: ***Gli allergo-acari.*** **Agosto '90.**
55. Rizzetto M.: ***L'epatite non A non B (tipo C).*** **Settembre '90.**
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: ***Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali.*** **Ottobre '90.**
57. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (I).*** **Gennaio '91.**
58. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (II).*** **Febbraio '91.**
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: ***Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti.*** **Marzo '91.**
60. Bedarida G., Lizioli A.: ***La neopterina nella pratica clinica.*** **Aprile '91.**
61. Romano L.: ***Valutazione dei kit immunochimici.*** **Maggio '91.**
62. Dondero F. e Lenzi A.: ***L'infertilità immunologica.*** **Giugno '91.**
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: ***Gli Oncogèni.*** **Luglio '91.**
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: ***Infezione-malattia da HIV in Africa.*** **Agosto '91.**
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: ***L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni.*** **Settembre '91.**
66. Gentilomi G.A.: ***Sonde genetiche in microbiologia.*** **Ottobre '91.**
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: ***Le sonde di DNA e la virulenza batterica.*** **Gennaio '92.**

68. Zilli A., Biondi T.: ***Il piede diabetico.*** **Febbraio '92.**
69. Rizzetto M.: ***L'epatite Delta.*** **Marzo '92.**
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: ***Gli screening neonatali.*** **Aprile '92.**
71. Tavani A., La Vecchia C.: ***Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari.*** **Luglio '92.**
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: ***L'ormone della crescita.*** **Agosto '92.**
73. Contu L., Arras M.: ***Molecole di membrana e funzione immunologica (I).*** **Settembre '92.**
74. Ferrara S.:***Manuale di laboratorio I.*** **Ottobre '92.**
75. Gori S.: ***Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti.*** **Novembre '92.**
76. Ferrara S.: ***Manuale di laboratorio II.*** **Gennaio '93.**
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: ***Ipertensione Arteriosa.*** **Febbraio '93.**
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: ***I linfomi non Hodgkin.*** **Marzo '93.**
79. Arras M., Contu L.: ***Molecole di membrana e funzione immunologica (II).*** **Aprile '93.**
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: ***Terapia antiretrovirale.*** **Maggio '93.**
81. Rizzetto M.: ***L'epatite C.*** **Settembre '93.**
82. Andreoni S.: ***Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti.*** **Ottobre '93.**
83.Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: ***Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow.*** **Novembre '93.**
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: ***Chemiluminescenza.*** **Dicembre '93.**
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: ***Applicazioni degli esami immunologici.*** **Gennaio 94.**
86. Arras M., Contu L.: ***Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Infociti B.*** **Febbraio '94.**
87. Rossetti R.: ***Gli streptoccocchi beta emolitici di gruppo B (SGB).*** **Marzo '94.**
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: ***Marcatori biochimici del rimodellamento osseo.*** **Aprile '94.**
89. Fanetti G.: ***Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare.*** **Settembre '94.**
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: ***Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario.*** **Ottobre '94.**
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: ***Helicobacter pylori.*** **Novembre '94.**
92. Parazzini F.: ***L'epidemiologia della patologia ostetrica.*** **Febbraio '95.**
93. Proietti A., Lanzafame P.: ***Il virus di Epstein-Barr.*** **Marzo '95.**
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P, Romano L.: ***Immunoflogosi nell'asma bronchiale.*** **Maggio '95.**
95. Manduchi I.: ***Steroidi.*** **Giugno '95.**
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: ***Sindromi tossiche sostenute da principi di origine vegetale.*** **Luglio '95.**
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: ***Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani.*** **Ottobre '95.**
98.La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: ***Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica.*** **Dicembre '95.**
99.Zilli A., Biondi T., Conte M.: ***Diabete mellito e disfunzioni conoscitive.*** **Gennaio '96.**
100.Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: ***Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma.*** **Marzo '96.**
101.Cogato I. Montanari E.: ***La Sclerosi Multipla.*** **Aprile '96.**

102.Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: ***Malattie a trasmissione sessuale.*** **Maggio '96.**
103.Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: ***Il linfoma di Hodgkin*****. Giugno '96.**
104.Marcante R., Dalla Via L.: ***Il virus respiratorio sinciziale*****. Luglio '96.**
105.Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: ***Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative.*** **Ottobre '96.**
106.Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: ***Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*****. Novembre '96.**
107.Morganti R.: ***Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*****. Dicembre '96.**
108.Andreoni S.: ***Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*****. Gennaio '97.**
109.Salemi A., Zoni R.: ***Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*****. Febbraio '97.**
110.Meisner M.: ***Procalcitonina*****. Marzo '97.**
111.Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: ***Malattie a trasmissione sessuale (2)*****. Aprile '97.**
112.Palleschi G. Moscone D., Compagnone D.: ***Biosensori elettrochimici in Biomedicina.*** **Maggio '97.**
113.Valtriani C., Hurle C.: ***Citofluorimetria a flusso*****. Giugno '97.**
114.Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barcucci P.: ***Alcol e problemi correlati*****. Settembre '97.**
115.Piccinelli M.: ***Depressione Maggiore Unipolare*****. Ottobre '97.**
116.Pepe M., Di Gregorio A.: ***Le Tiroiditi*****. Novembre '97.**
117.Cairo G.: ***La Ferritina*****. Dicembre '97.**
118.Bartoli E.: ***Le glomerulonefriti acute*****. Gennaio '98.**
119.Bufi C., Tracanna M.: ***Computerizzazione della gara di Laboratorio*****. Febbraio '98.**
120.National Academy of Clinical Biochemistry: ***Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide.*** **Marzo '98.**
121.Fava G., Rafanelli C., Savron G.: ***L'ansia*****. Aprile '98.**
122.Cinco M.: ***La Borreliosi di Lyme*****. Maggio '98.**
123.Giudice G.C.: ***Agopuntura Cinese*****. Giugno '98.**
124.Baccini C.: ***Allucinogeni e nuove droghe (1)*****. Luglio '98.**
125.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Basofili*****. Settembre '98.**
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: ***Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo 1*****. Novembre '98.**
127.Baccini C.: ***Allucinogeni e nuove droghe (1I)*****. Dicembre '98.**
128.Muzi P., Bologna M.: ***Tecniche di immunoistochimica*****. Gennaio '99.**
129.Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: ***Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivirali*****. Febbraio '99.**
130.Castello G., Silvestri I.:***Il linfocita quale dosimetro biologico*****. Marzo '99.**
131.AielloV., Caselli M., Chiamenti C.M.: ***Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - correlata.*** **Aprile '99.**
132.Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: ***Medicina Termale e Malattie Reumatiche.*** **Maggio '99.**
133.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Eosinofili.*** **Giugno '99.**
134.Fusco A., Somma M.C.: ***NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*****. Luglio '99.**
135.Chieffi O., Bonfirraro G., Fimiani R.: ***La menopausa*****. Settembre '99.**

136.Giglio G., Aprea E., Romano A.: ***Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi.*** **Ottobre '99.**
137.Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: ***Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati.*** **Novembre '99.**
138.Giovanella L.: ***Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica.*** **Dicembre '99.**
139.Paladino M., Cerizza Tosoni T.: ***Umanizzazione dei Servizi Sanitari: il Case Management.*** **Gennaio 2000.**
140.La Vecchia C.: ***Come evitare la malattia.*** **Febbraio 2000.**
141.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Cellule dendritiche.*** **Marzo 2000.**
142.Dammacco F.: ***Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (I).*** **Aprile 2000.**
143.Dammacco F.: ***Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (II).*** **Maggio 2000.**
144.Croce E., Olmi S.: ***Videolaparoscopia.*** **Giugno 2000.**
145.Martelli M., Ferraguti M.: ***AllergoGest.*** **Settembre 2000.**
146.Giannini G., De Luigi M.C., Bo A., Valbonesi M.: ***TTP e sindromi correlate: nuovi orizzonti diagnostici e terapeutici.*** **Gennaio 2001.**
147.Rassu S., Manca M.G., Pintus S., Cigni A.: ***L'umanizzazione dei servizi sanitari.*** **Febbraio 2001.**
148. Giovanella L.: ***I tumori della tiroide.*** **Marzo 2001.**
149.Dessì-Fulgheri P., Rappelli A.: ***L'ipertensione arteriosa.*** **Aprile 2001.**
150. The National Academy of Clinical Biochemistry: ***Linee guida di laboratorio per lo screening, la diagnosi e il monitoraggio del danno epatico.*** **Settembre 2001.**
151.Dominici R.: ***Riflessioni su Scienza ed Etica.*** **Ottobre 2001.**
152.Lenziardi M., Fiorini I.: ***Linee guida per le malattie della tiroide.*** **Novembre 2001.**
153.Fazii P.: ***Dermatofiti e dermatofitosi.*** **Gennaio 2002.**
154.Suriani R., Zanella D., Orso Giacone G., Ceretta M., Caruso M.: ***Le malattie infiammatorie intestinali (IBD) Eziopatogenesi e Diagnostica Sierologica.*** **Febbraio 2002.**
155. Trombetta C.: ***Il Varicocele.*** **Marzo 2002.**
156.Bologna M., Colorizio V., Meccia A., Paponetti B.: ***Ambiente e polmone.*** **Aprile 2002.**
157. Correale M., Paradiso A., Quaranta M.: I ***Markers tumorali.*** **Maggio 2002.**
158. Loviselli A., Mariotti S.: ***La Sindrome da bassa T3.*** **Giugno 2002.**
159. Suriani R., Mazzucco D., Venturini I., Mazzarello G., Zanella D., Orso Giacone G.: ***Helicobacter Pylori: stato dell'arte.*** **Ottobre 2002.**
160. Canini S.: ***Gli screening prenatali: marcatori biochimici, screening nel 1° e 2° trimestre di gravidanza e test integrato.*** **Novembre 2002.**
161. Atzeni M.M., Masala A.: ***La β-talassemia omozigote.*** **Dicembre 2002.**
162. Di Serio F.: ***Sindromi coronariche acute.*** **Gennaio 2003.**
163. Muzi P., Bologna M.: ***Il rischio di contaminazione biologica nel laboratorio biosanitario.*** **Febbraio 2003.**
164. Magni P., Ruscica M., Verna R., Corsi M.M.: ***Obesità: fisiopatologia e nuove prospettive diagnostiche.*** **Marzo 2003.**
165. Magrì G.: ***Aspetti biochimici e legali nell'abuso alcolico.*** **Aprile 2003.**
166. Rapporto dello Hastings Center: ***Gli scopi della medicina: nuove priorità.*** **Maggio 2003.**
167. Beelke M., Canovaro P., Ferrillo F.: ***Il sonno e le sue alterazioni.*** **Giugno 2003.**

168. Macchia V., Mariano A.: ***Marcatori tumorali nel cancro della vescica*****. Luglio 2003.**
169. Miragliotta G., Barra Parisi G., De Sanctis A., Vinci E.: ***La Turbercolosi Polmonare: Diagnostica di Laboratorio*****. Agosto 2003.**
170. Aebischer T.: ***Il Comitato Internazionale della Croce Rossa ed il Diritto Internazionale Umanitario*****. Settembre 2003.**
171. Martino R., Frallicciardi A., Tortoriello R.: ***Il manuale della sicurezza*****. Ottobre 2003.**
172. Canigiani S. e Volpini M.: ***Infarto acuto del miocardio: biochimica del danno cellulare e marcatori di lesione*****. Novembre 2003.**
173. La Brocca A. Orso Giacone G. Zanella D. Ceretta M.: ***Laboratorio e clinica delle principali affezioni tiroidee*****. Dicembre 2003.**
174. Savron G.: ***Le Fobie*****. Gennaio 2004.**
175. Paganetto G.: ***Evoluzione storica del rischio di patologie umane per contaminazione chimica ambientale*****. Febbraio 2004.**
176. Giovanella L.: ***Iperparatiroidismo e tumori paratiroidei*****. Marzo 2004.**
177. Severino G., Del Zompo M.: ***Farmacogenomica: realtà e prospettive per una "Medicina Personalizzata".*** **Aprile 2004.**
178 Arigliano P.L.: ***Strategie di prevenzione dell'allergia al lattice nelle strutture sanitarie.*** **Maggio 2004.**
179. Bruni A.: ***Malattia di Alzheimer e Demenza Frototemporale.*** **Giugno 2004.**
180. Perdelli F., Mazzarello G., Bassi A.M., Perfumo M., Dallera M.: ***Eziopatogenesi e diagnostica allergologica.*** **Luglio 2004.**
181. Franzoni E., Gualandi P. Pellegrini G.: ***I disturbi del comportamento alimentare.*** **Agosto 2004.**
182. Grandi G., Peyron F.: ***La toxoplasmosi congenita*****. Settembre 2004.**
183. Rocca D.L., Repetto B., Marchese A., Debbia E.A: ***Patogeni emergenti e resistenze batteriche*****. Ottobre 2004.**
184. Tosello F., Marsano H.: ***Scientific English Handout*****. Novembre 2004.**
185. La Brocca A., Orso Giacone G., Zanella D.: ***Ipertensione arteriosa secondaria: clinica e laboratorio*****. Dicembre 2004.**
186. Paganetto G.: ***Malattie Neoplastiche: dalla Paleopatologia alle Fonti Storiche*****. Gennaio 2005.**
187. Savron G.: ***La sindrome dai mille tic: il disturbo di Gilles de la Tourette*****. Febbraio 2005.**
188. Magrì G., Baghino E., Floridia M., Ghiara F.: ***Leishmania.*** **Marzo 2005.**
189. Lucca U., Forloni G., Tiraboschi P., Quadri P., Tettamanti M., PasinaL.: ***Invecchiamento, deterioramento cognitivo e malattia di Alzheimer*****. Aprile 2005.**
190. Volpe G., Delibato E., Orefice L., Palleschi G.: ***Tossinfezioni alimentari e metodiche recenti ed innovative per la ricerca dei batteri patogeni responsabili*****. Maggio 2005.**
191. Mazzarello M.G., Albalustri G., Audisio M., Perfumo M., L. Cremonte G.: ***Aerobiologia ed allergopatie*****. Giugno 2005.**
192. Scalabrino G., Veber D., Mutti E.:***Nuovi orizzonti biologici per la vitamina B12*****. Luglio 2005.**
193. Zepponi E.: ***Guida pratica per gli utenti del laboratorio analisi*****. Settembre 2005.**
194. Faricelli R., Esposito S., Martinotti S.: ***La sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi.*** **Ottobre 2005.**
195. Baccini C., Bezzi F., Conti M., Tazzari V.: ***Doping e antidoping nello sport*****. Novembre 2005.**

196. Lozzi M.: ***La Mediazione pacifica dei conflitti. Una risorsa socio-relazionale in ambito medico-sanitario*****. Dicembre 2005.**
197. Bracco G.: ***Progettare un Laboratorio di Analisi*****. Gennaio 2006.**
198. Angelucci A.: ***Apoptosi e sistema immunitario: regolazione e patologie associate*****. Febbraio 2006.**
199. Commissione Tecnica sul Rischio Clinico: ***Risk management in Sanità. Il problema degli errori*****. Marzo 2006**
200. Casati G., Marchese E., Roberti V., Vichi M.C.: ***La gestione dei processi clinico assistenziali per il miglioramento delle prassi*****. Aprile 2006.**
201. Zanella D., Ceretta M., Orso Giacone G.: ***Peptidi natriuretici: nuove frontiere in cardiologia?*** **Maggio 2006.**
202. Cicala M., Dal Lago U., Vinci P., Maggiorotti M.: ***L'accusa di malpractice in ambito medico*****. Giugno 2006.**
203. Martino R.: ***Manuale Qualità UNI EN ISO 9001*****. Luglio 2006.**
204. Mazzarello M.G., Arata M., Perfumo M., Marchese A., Debbia E.A.: ***Tubercolosi e micobatteri*****. Settembre 2006.**
205. Matrullo R.: ***Anoressia: la negazione della sessualità come difesa narcisistica*****. Ottobre 2006.**
206. Crotti D.: ***Le parassitosi intestinali ed uro-genitali*****. Novembre 2006.**
207. Orso Giacone G., Zanella D., Ceretta M.: ***Il referto interpretativo in infettivologia*****. Dicembre 2006.**
208. Baghino E., Magrì G., Nicoletti L., Novaro G., Vignale C., Mazzei C.: ***Stato dell'arte delle aneuploidie fetali, dall'indagine clinica prenatale alla diagnosi anatomo-patologica*****. Gennaio 2007.**
209. Mazzarello M.G., Brunetti R., Perfumo M., Torriglia A.M., Montresor G.: ***Principali Tecniche Analitiche in uso nei Laboratori di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche*****. Febbraio 2007.**
210. Orso Giacone G., Zanella D., Ceretta M.: ***Celiachia dalla A alla Z*****. Marzo 2007.**
211. Cingolani M., Sparviero E.: ***Decidere ora per allora: il testamento biologico (dichiarazioni anticipate di trattamento). Aprile 2007.***
212. Barletta G., Pastacaldi V., Peracino A.P.: ***La misura dei processi nella medicina di laboratorio*****. Maggio 2007.**
213. Rassu S., Masia L., Delussu P., Chessa P., Demartis M.G., Moroso G.: ***Manuale per il supporto vitale di base e la defibrillazione precoce (BLS-D)*****. Giugno 2007.**
214. Anchisi R., M. Gambotto Dessy: ***Il Burnout del personale sanitario*****. Marzo 2008.**
215. Gulletta E., Orrico F., Foti D.P.: ***Clinical Governance nel Laboratorio Biomedico*****. Aprile 2008.**
216. Rochira V., Scaltriti S., Zirilli L., Carani C.: ***Il ruolo degli estrogeni nel maschio*****. Maggio 2008.**
217. Gulletta E., Foti D.P., Corsi M.M., Galliera E.: ***Citochine e Chemochine*****. Giugno 2008.**
218. Zambotto F.M.: ***La biotecnologia transgenica utilizzata nella produzione degli alimenti di origine vegetale*****. Settembre 2008**
219. Cavallini M.: ***Tecniche di Ringiovanimento del viso*****. Ottobre 2008**

220. Morra A., Odetto L., Bozza C., Bozzetto P., Agostinis S., Bariona M.: ***Compendio di Medicina delle Grandi Emergenze*****. Novembre 2008**
221. Di Lonardo A., Fagnani C., Pulciani S.: *I Microarray***. Dicembre 2008.**
222. Di Lonardo A., Fagnani C., Pulciani S.: *Applicazioni dei microarray (1)***. Marzo 2009**
223. Di Lonardo A., Fagnani C., Pulciani S.: *Applicazioni dei microarray (2)***. Giugno 2009**
224. Di Carlo A., Mariano A., Macchia V.: *Struttura e Funzioni delle Matrix Metallo-Proteinasi (MMPs)***. Settembre 2009**

I volumi disponibili su Internet nel sito www.medicalsystems.it sono riportati in nero mentre in grigio quelli non ancora disponibili su Internet.

Inoltre sono disponibili un limitato numero di copie di alcuni numeri del Caleidoscopio che ormai sono "storiche". Qualora mancassero per completare la collana potete farne richiesta al collaboratore Medical Systems della Vostra zona. I numeri sono: Caleidoscopio 14, 18, 33, 40, 48, 49, 50, 54, 65, 68, 84, 100, 106, 118, 121, 126, 129, 130, 131, 132, 133, 134. I volumi verranno distribuiti sino ad esaurimento e non verranno ristampati se non in nuove edizioni.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 28, numero 225

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Tel. mobile 338 2202502
E-mail: sergiorassu@yahoo.it

Responsabile Ufficio Acquisti
Giusi Cunietti

Servizio Abbonamenti
Laura Cecchi

Progettazione e Realizzazione

Restless Architect of Human Possibilities s.a.s.
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel. 079 5907759
http://sites.google.com/site/sites/

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Maria Speranza Giola

EDITORE

...il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS Sp

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. 010 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax 010/8340310- 809070.
Internet URL: http://www.medicalsystems.it

Stampa
Tipolitografia Nuova ATA
Via Gelasio Adamoli, 281 - Genova
Tel. 010 513120 - Fax 010 503320 - info@nuovaata.com - www.nuovaata.com

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989
Iscrizione al Registro degli Operatori di Comunicazione (ROC) n° 1188

Finito di stampare: Febbraio 2010
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano