



RUOLO DELLA FARMACOGENETICA NEGLI STUDI CLINICI E NELLO SVILUPPO DI NUOVI FARMACI

Prof. Mario Del Tacca

*Divisione di Farmacologia e Chemioterapia
Dipartimento di Medicina Interna
Università di Pisa*

*Università di Cagliari
29 Giugno 2006*

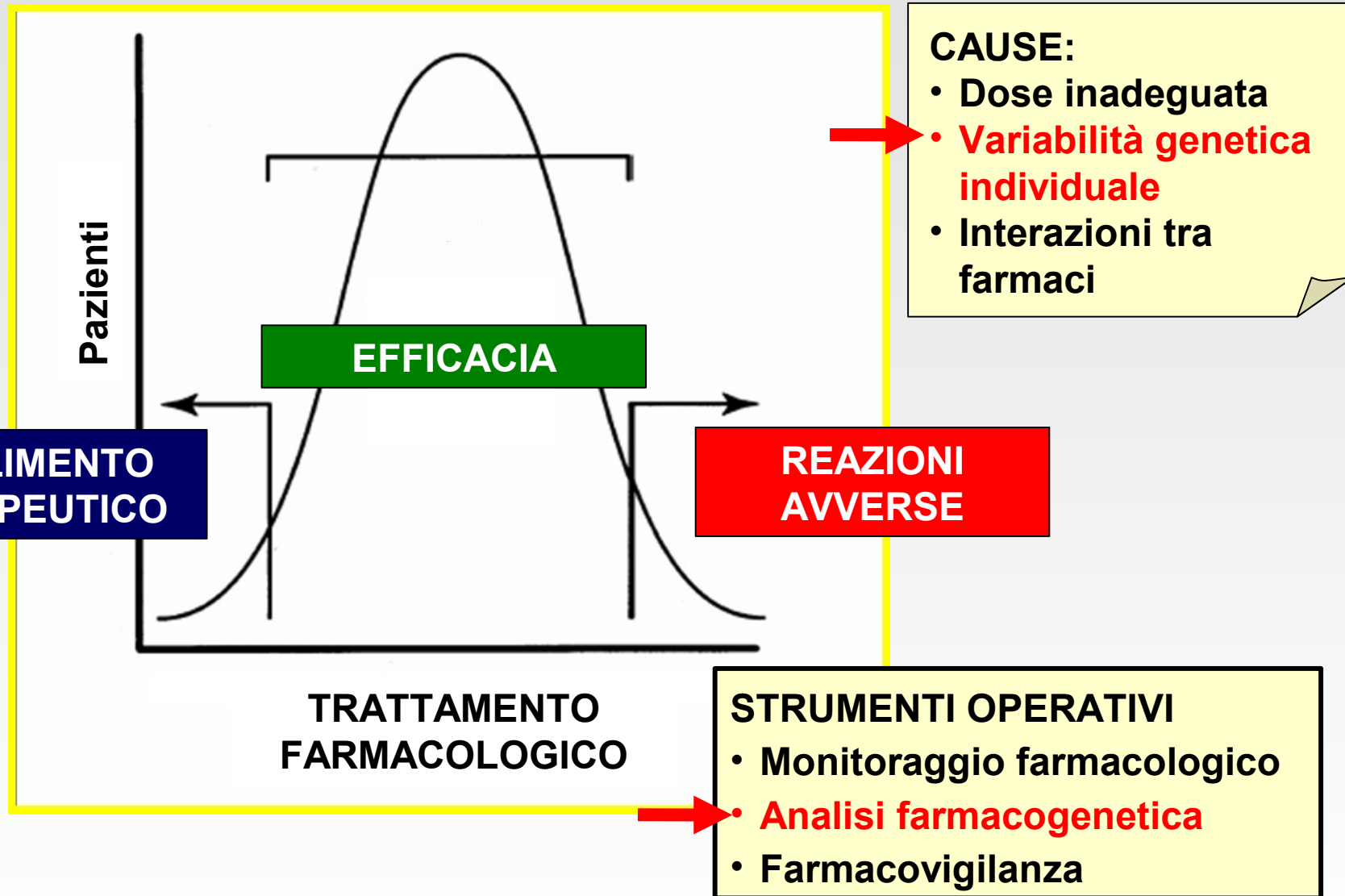
DEFINIZIONI

FARMACOGENETICA: Scienza che studia le differenze individuali nella risposta ai farmaci specialmente i polimorfismi genetici che modificano il metabolismo (**farmacocinetica**) e le risposte (**farmacodinamica**) ai farmaci

FARMACOGENOMICA: Disciplina medica emergente derivata dalla farmacogenetica con lo scopo di applicare le conoscenze sul genoma allo sviluppo di nuovi farmaci e all'individualizzazione delle terapie

SCOPO: Migliorare **efficacia** e **tollerabilità** dei farmaci. Personalizzare le terapie farmacologiche, specialmente quelle a maggiore rischio tossico

EFFICACIA DEL TRATTAMENTO FARMACOLOGICO: FALLIMENTI TERAPEUTICI E REAZIONI AVVERSE



Dalla farmacogenetica alla farmacogenomica

- ◆ Oltre all'**ereditarietà**, altri fattori possono contribuire alla variabilità della risposta ai farmaci: **età, sesso, interazioni con altri farmaci, patologie concomitanti**
- ◆ La maggior parte dei **tratti ereditari** farmacogenetici classici condiziona il **metabolismo** dei farmaci. Un esempio molto noto riguarda le differenze nel processo di **N-acetilazione di isoniazide**, dovute al **polimorfismo del gene N-acetiltransferasi-2 (NAT2)**

Influenza della farmacogenetica di NAT2 sulla variabilità dei livelli plasmatici di isoniazide

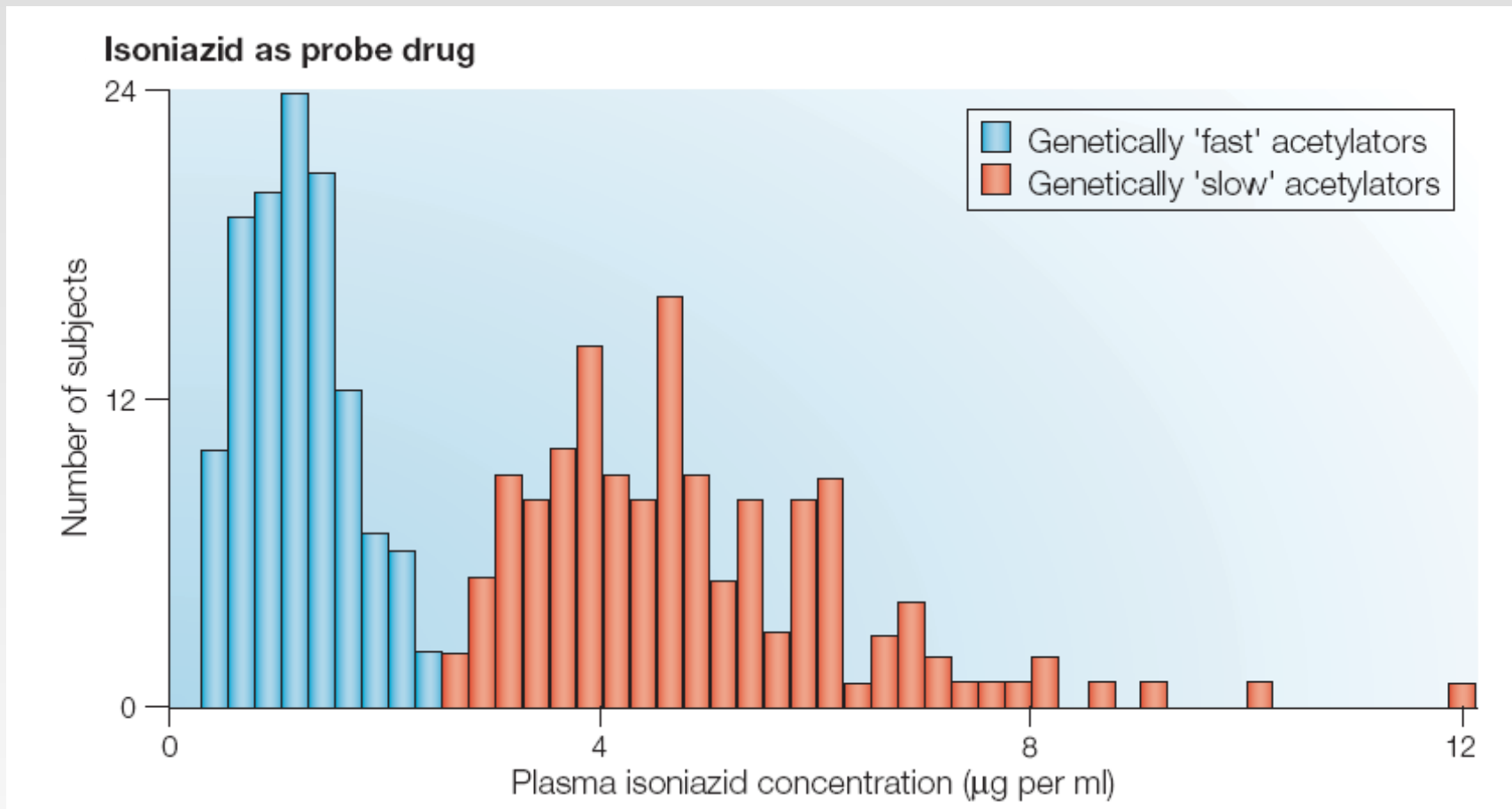
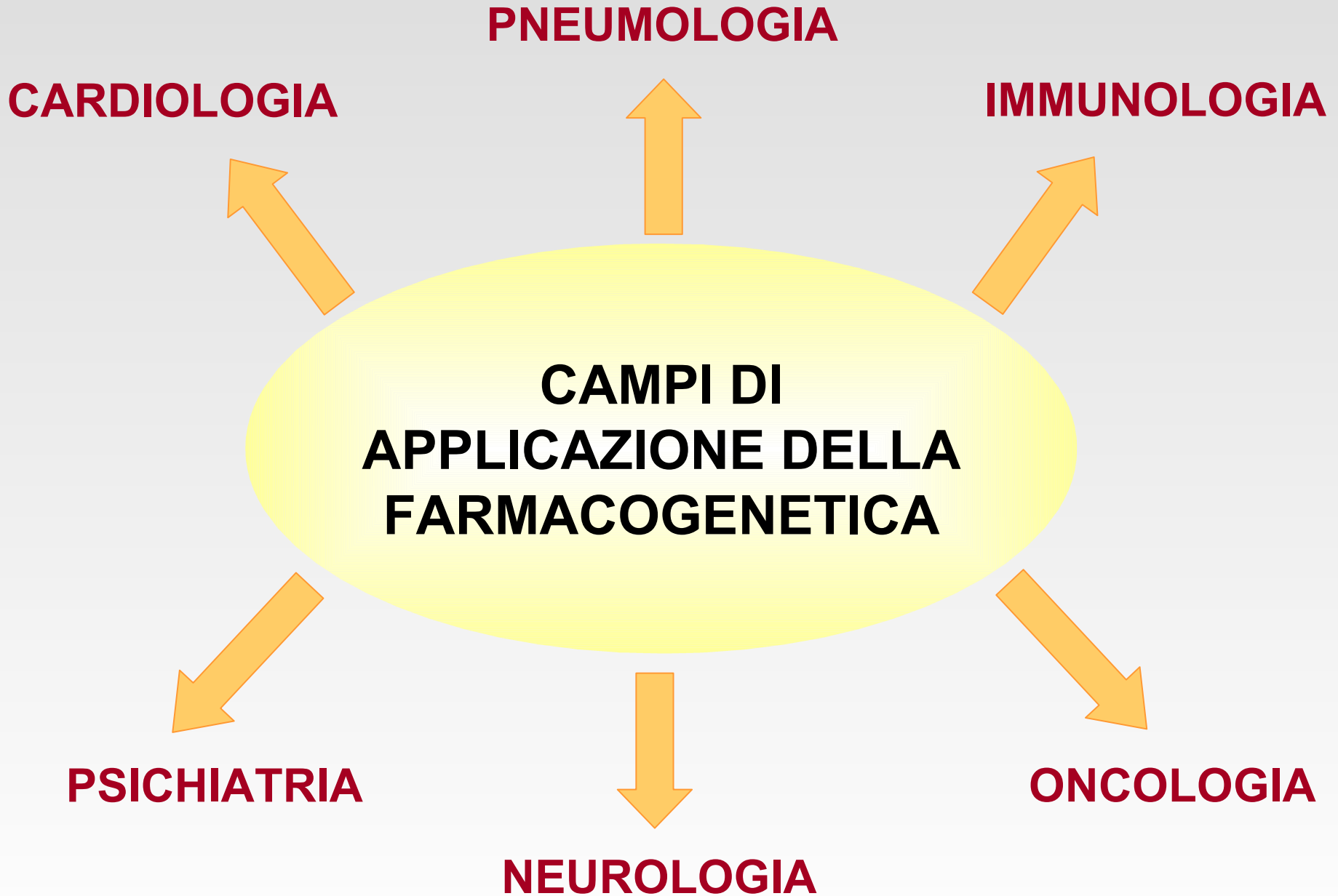


Figure 1 | **Classic pharmacogenetic traits: inherited variation in *N*-acetylation.** Plasma concentrations of the antituberculosis agent isoniazid in 267 subjects 6 hours after an oral dose. The bimodal distribution results from **polymorphisms in the gene encoding *N*-acetyltransferase-2 (*NAT2*)**, which catalyses the metabolism of isoniazid.



Cardiovascular Pharmacogenomics

RODEN DM. Circulation 108, 3071, 2003

Genetic causes of response variability

1) Pharmacokinetic mechanisms

Drug	Gene	Reported association
Digoxin	MDR1	Variable drug levels due to variable bioavailability and clearance (P-glycoprotein)
Warfarin	CYP2C9	Greater anticoagulation with hypofunctional alleles
Losartan, irbesartan	CYP2C9	Greater blood pressure drop with hypofunctional alleles
Metoprolol, timolol	CYP2D6	Poor metabolizers display greater β -blockade (5-10% in Caucasian populations)
Procainamide isoniazid	NAT2	Poor acetylators at greater risk for drug-induced lupus

Cardiovascular Pharmacogenomics

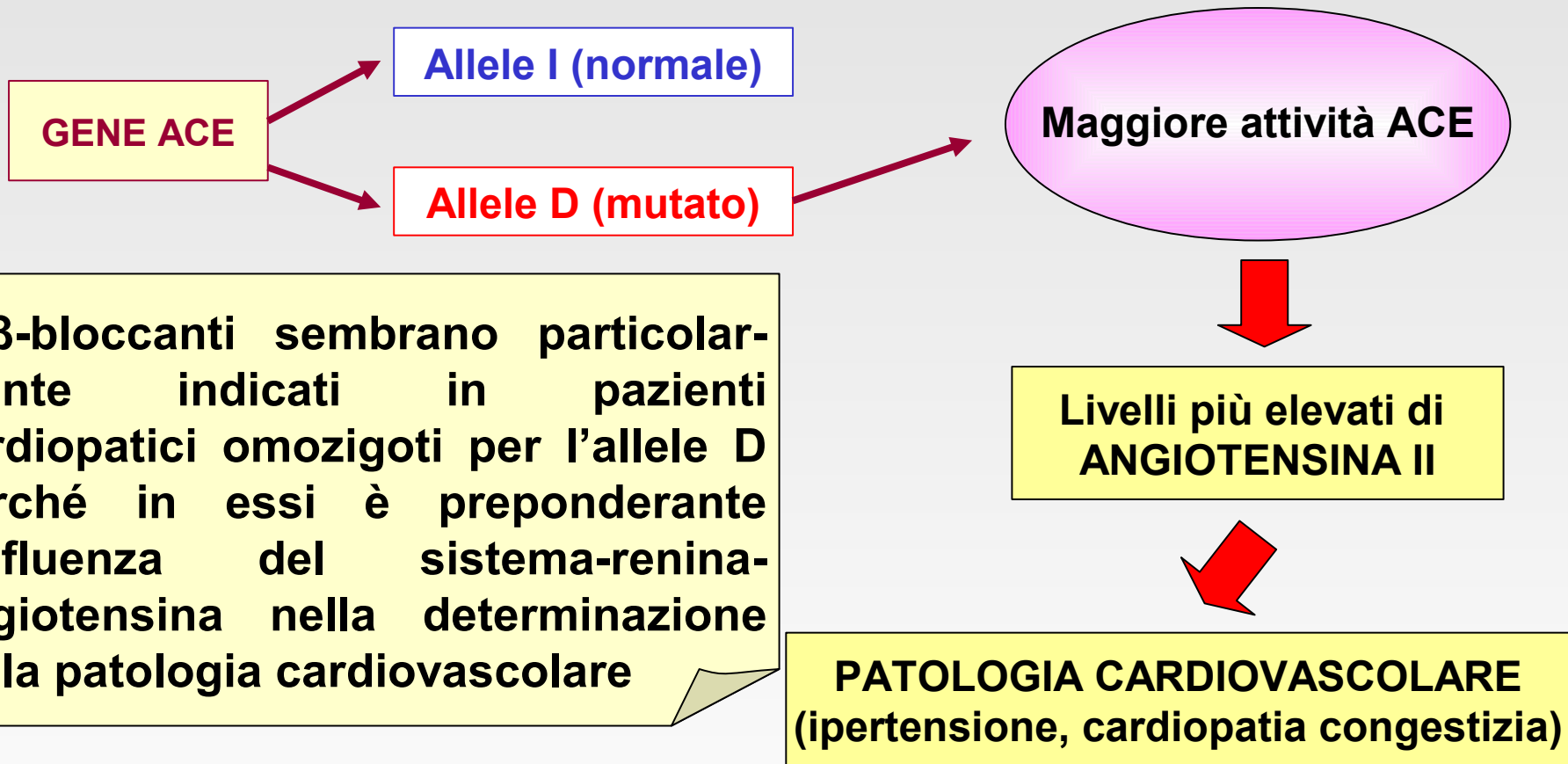
RODEN DM. Circulation 108, 3071, 2003

2) Pharmacodynamic mechanisms

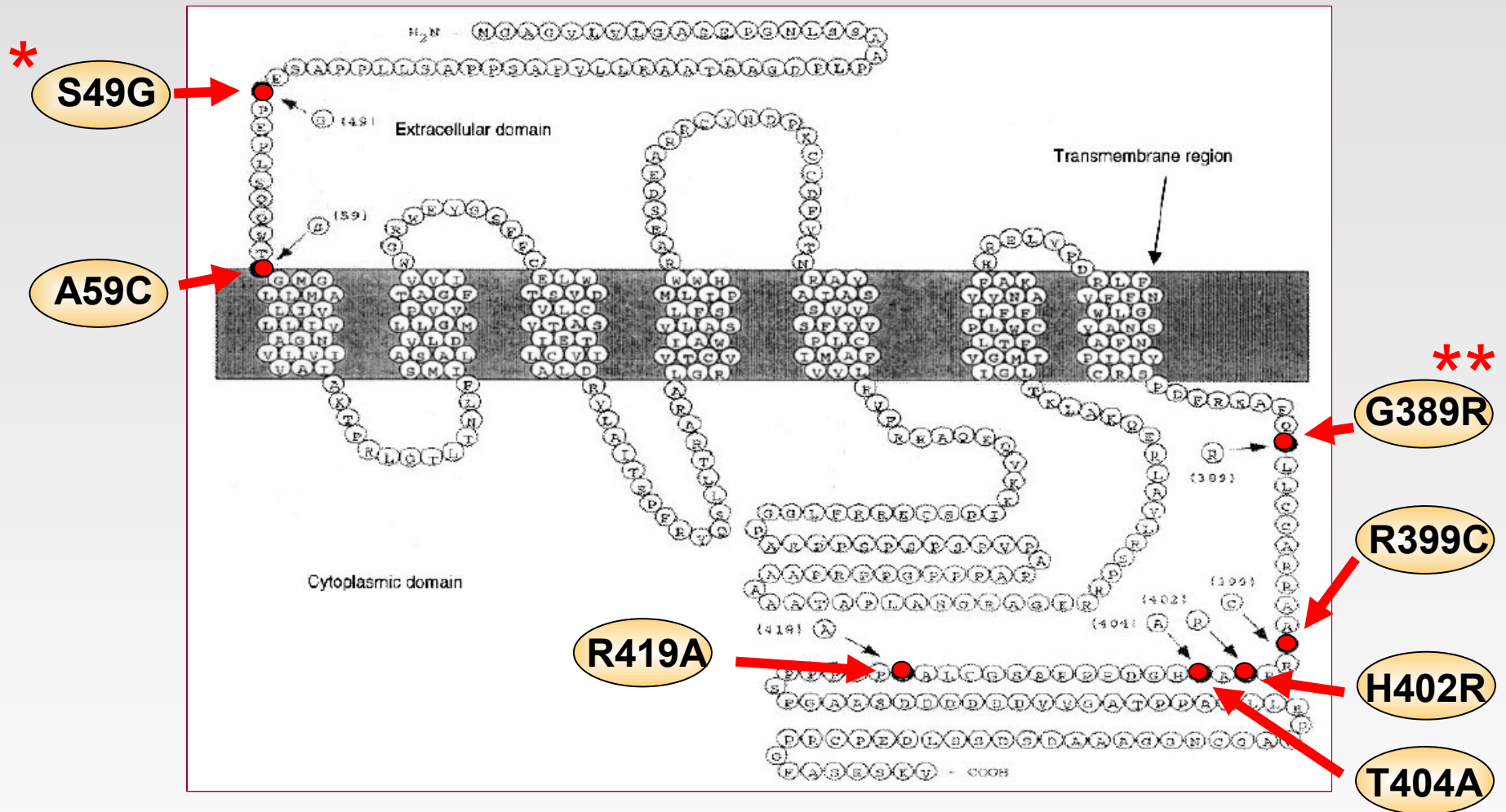
Drug	Gene	Reported association
QT-prolonging drugs	KCNH2, KCNE2,	Increased torsades de pointes risk
ACE inhibitors	ACE	Decreased response in subjects with the "DD" genotype
Diuretics	α -adducin	Improved blood pressure response; reduced stroke incidence
β -blockers	β 1 β 2 adrenergic receptors	Variability in heart rate and blood pressure
Fluvastatin	ABCA1 transporter	Fluvastatin resistance
Pravastatin	Cholesteryl ester transfer protein	Variable regression of atherosclerosis
Lipid-lowering therapy	Hepatic lipase	Variable lipid lowering

POLIMORFISMI DELL'ENZIMA ACE E TERAPIA CON β -BLOCCANTI

L'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) è caratterizzato da un polimorfismo localizzato nell'introne 16 del gene ACE, che consiste nella presenza (I) o assenza (D) di una sequenza di 287 basi



POLIMORFISMI GENETICI DEL RECETTORE β_1

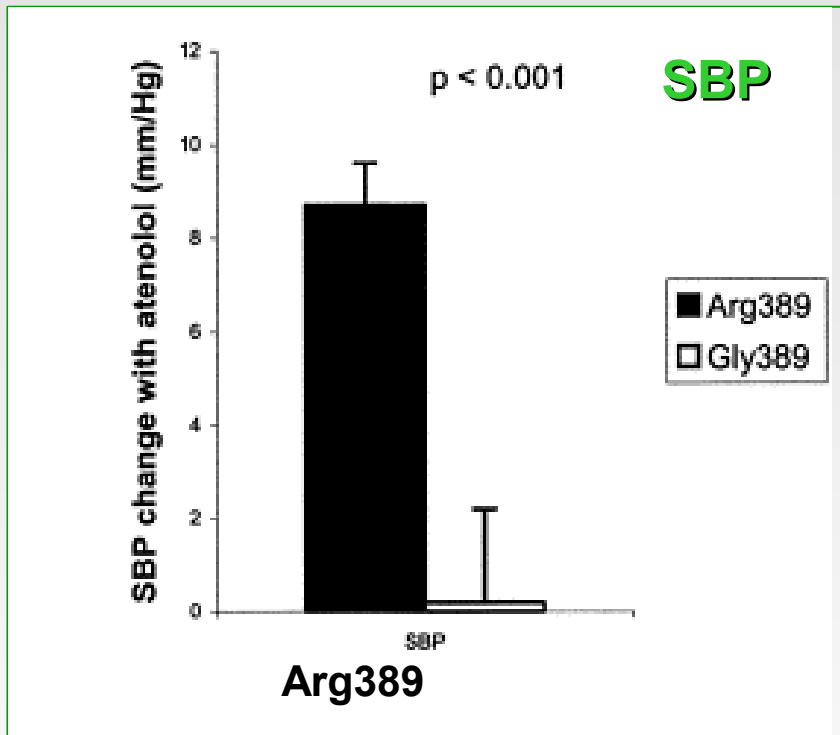


Johnson JA, Terra SG. Pharm Res 19, 1779, 2002

POLIMORFISMI DEL GENE CHE CODIFICA PER IL RECETTORE ADRENERGICO β_1

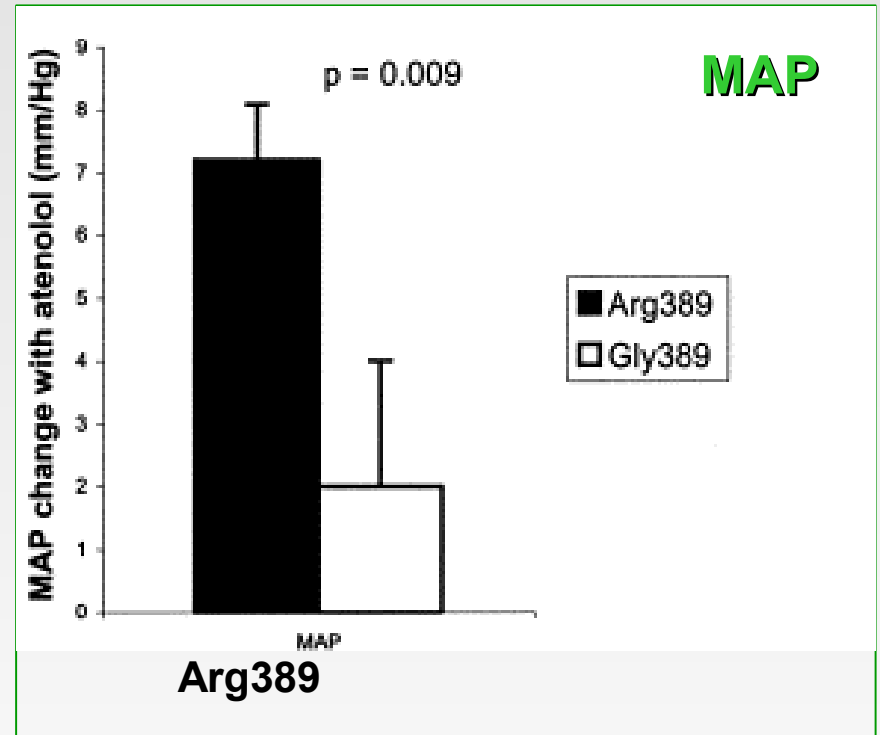
- Identificati 7 polimorfismi SNP nel gene β_1 , tra i quali è funzionalmente importante la mutazione **Gly389Arg**
- Individui omozigoti mutati **389Arg** presentano:
 - ➡ **Maggiore sensibilità del tessuto cardiaco alla stimolazione dei recettori β_1**
 - ➡ **Aumento del rischio di ipertensione e di infarto del miocardio**
 - ➡ **Risposta ipotensiva e bradicardica più marcata al trattamento con β -bloccanti**

ATENOLOLO RIDUCE SIGNIFICATIVAMENTE LA PRESSIONE ARTERIOSA IN PAZIENTI IPERTESI CON GENOTIPO Arg389 (MUTATO) DEL RECETTORE β_1



ATENOLOLO

SBP = systolic blood pressure



ATENOLOLO

MAP = mean arterial pressure

FARMACOGENETICA DEI FARMACI ANTI-IPERTENSIVI

I **pazienti asmatici** mostrano una marcata variabilità inter-individuale nella risposta al trattamento con agonisti attivi sui **recettori adrenergici beta-2**

Questa variabilità potrebbe essere causata da un polimorfismo non-sinonimo (I772M) del gene che codifica per l'**adenilciclasi di tipo 9 (AC9)**

FARMACI ANTIASMATICI: POLIMORFISMI DEI RECETTORI ADRENERGICI β_2

- Polimorfismo comune: **Arg16Gly**
- Polimorfismo Arg16Gly molto diffuso (frequenza allelica 67-72% della popolazione generale). Associato a diminuita risposta al trattamento con farmaci β_2 -agonisti

Erickson RP, Graves PE. Drug Metab Dispos 29, 557, 2001

- Albuterolo è 5,3 volte più potente (FEV1) in bambini asmatici con genotipo Arg-Arg rispetto a omozigoti mutati Gly-Gly mentre gli eterozigoti Arg-Gly mostrano risposte intermedie (2,3 volte > Gly-Gly)

Israel E *et al.* Lancet 364, 1505, 2004

- Nell'adulto il polimorfismo Arg16Gly protegge dalla tachifilassi all'albuterolo che si manifesta soprattutto negli omozigoti non mutati Arg-Arg

AMERICAN JOURNAL OF TRANSPLANTATION

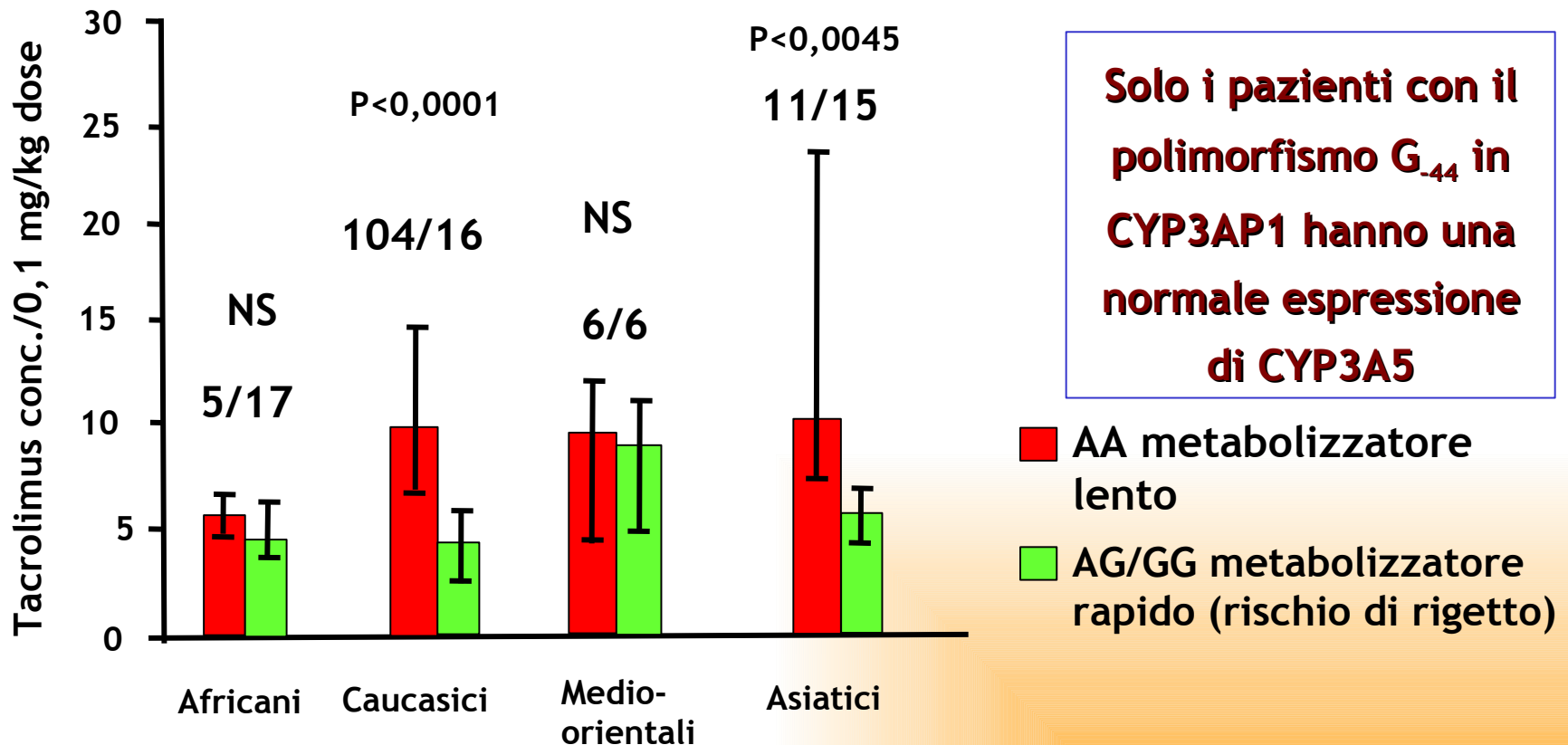
Vol 4, 299-310, 2004

From pharmacokinetics to pharmacogenomics: a new approach to tailor **immunosuppressive** therapy

Cattaneo D, Perico N, Remuzzi G

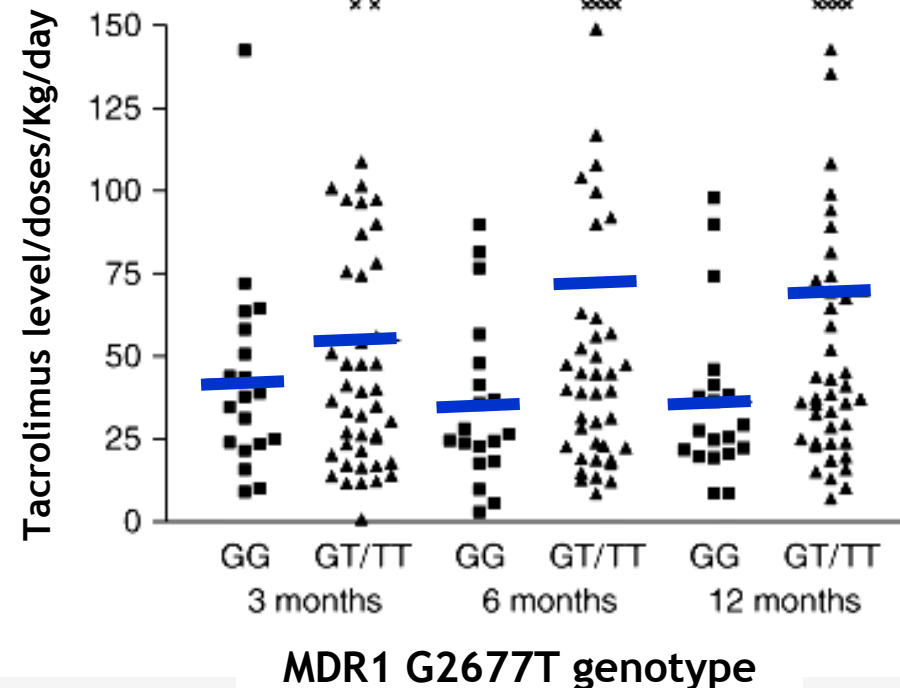
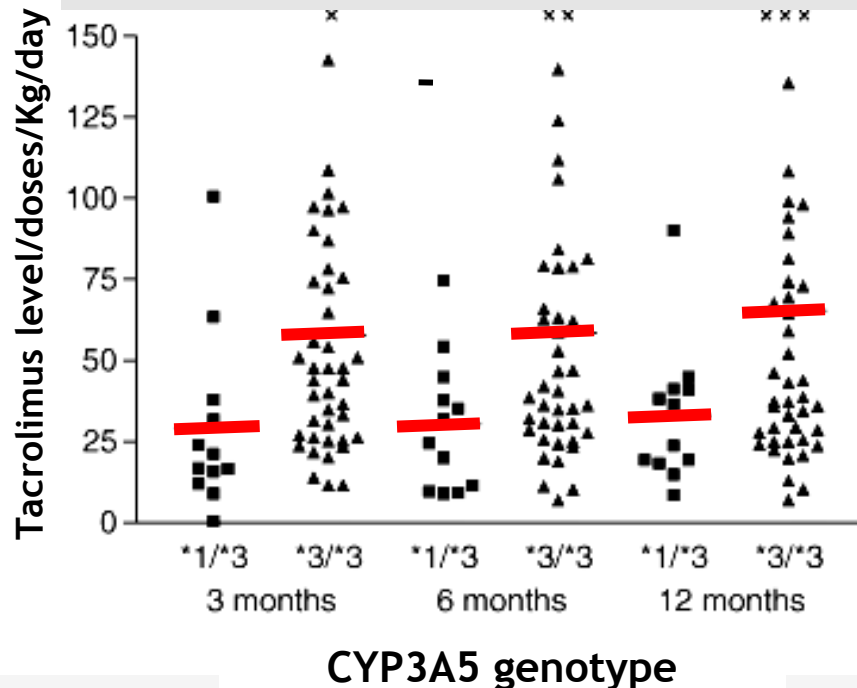
Pazienti con trapianto d'organo

Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome **P4503A5** and P-glycoprotein correlate with dose requirement in renal transplant recipients



Associazione tra l'allele CYP3A5 G₋₄₄ (3A5) e la dose di tacrolimus 3 mesi dopo il trapianto di rene

Tacrolimus Dosing in Pediatric Heart Transplant Patients is Related to CYP3A5 and *MDR1* Gene Polymorphisms



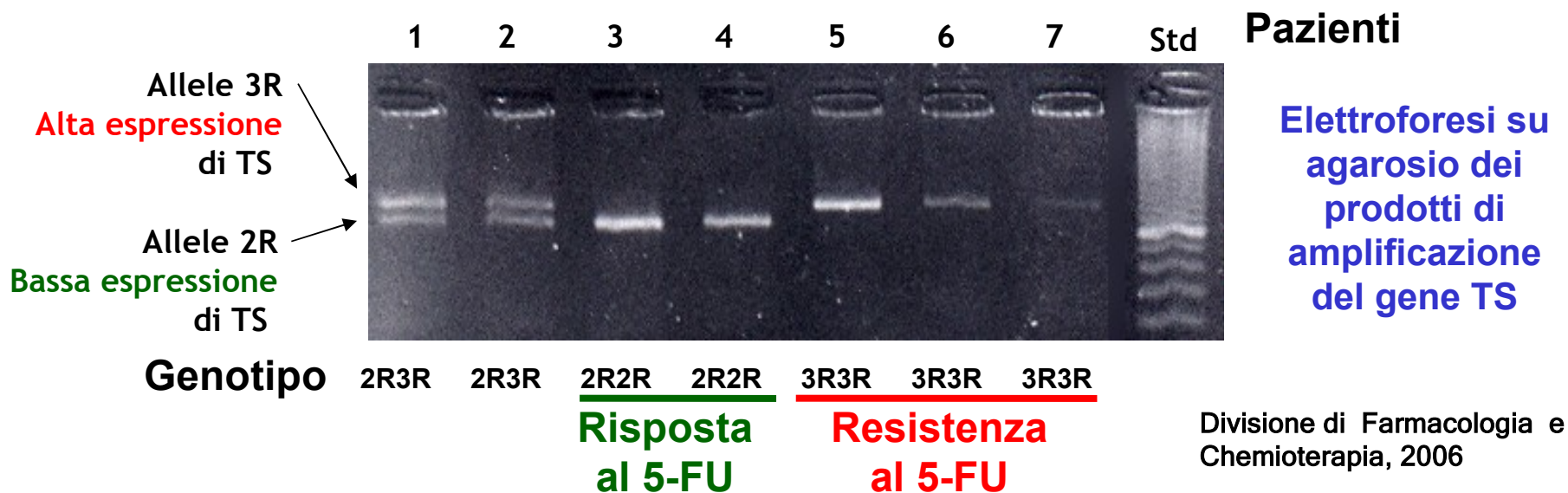
Tacrolimus doses correlate with *1/*3 CYP3A5 genotype (**high metaboliser**) and GG or GT/TT MDR1 genotype (**high or low absorption**)

Zheng HX *et al*, Am J Transplant 3, 477, 2003

Farmacogenetica di 5-fluorouracile: timidilato sintetasi

- Il 5-fluorouracile inibisce l'enzima **timidilato sintetasi (TS)**, necessario alla proliferazione cellulare
- Un polimorfismo del gene codificante TS può causare elevate concentrazioni dell'enzima TS nelle cellule tumorali, una ridotta efficacia del trattamento, e quindi una diminuita sopravvivenza del paziente (**Marsh S et al. Int J Oncol 19, 383, 2001**)

Analisi farmacogenetica su biopsie di carcinomi del colon di pazienti candidati al trattamento con 5-fluorouracile

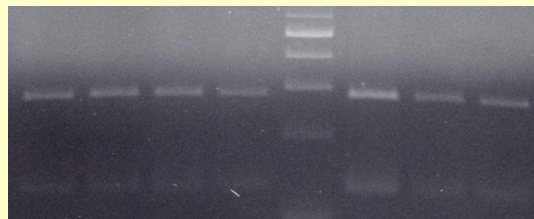


Farmacogenetica di 5-fluorouracile: diidropirimidina deidrogenasi

- Nel 3-5% dei pazienti che sono trattati con 5-fluorouracile si manifestano gravi reazioni tossiche, anche mortali
- E' stato dimostrato che la tossicità letale da 5-fluorouracile è dovuta al **deficit dell'enzima diidropirimidina deidrogenasi (DPD)** che trasforma il farmaco in metaboliti inattivi
- L'analisi farmacogenetica su campioni di sangue ha dimostrato che la ridotta attività dell'enzima è dovuta ad una **mutazione** (polimorfismo) del **gene DPD (Van Kuilenburg AB et al. Clin Cancer Res 7, 1149, 2001)**

Analisi farmacogenetica DPD in pazienti candidati al trattamento con 5-fluorouracile

Pazienti
1 2 3 4 Std 5 6 7



← Allele normale non mutato



I pazienti non sono a rischio di gravi tossicità da 5-fluorouracile

Farmacogenetica della tiopurina-S-metil-transferasi (TPMT)

- ◆ Un altro esempio classico, che riveste notevole rilevanza clinica, è rappresentato dal **polimorfismo** del gene **tiopurina-S-metil-transferasi (TPMT)**
- ◆ Nel caso di **TPMT** il fenotipo studiato è rappresentato dall'attività di questo enzima, misurata nei globuli rossi

Farmacogenetica della tiopurina-S-metil-transferasi (TPMT)

- ◆ **TPMT** catalizza la S-metilazione delle **tiopurine** (6-mercaptopurina, azatioprina), farmaci indicati per il trattamento della leucemia linfoblastica acuta nel bambino, malattie autoimmuni, trapianti
- ◆ Le tiopurine sono caratterizzate da un **indice terapeutico ristretto**. La principale forma di tossicità è rappresentata dalla **mielosoppressione** (che può essere letale)
- ◆ Individui **omozigoti per TPMT*3A** (principale variante allelica nella popolazione caucasica, responsabile di **un'attività enzimatica** molto bassa) sono a rischio di mielosoppressione quando vengono trattati con dosi standard di tiopurine. Questi soggetti devono essere trattati con **circa 1/10 della dose standard** ed essere sottoposti a un **monitoraggio accurato**

Farmacogenetica della tiopurina-S-metil-transferasi (TPMT)

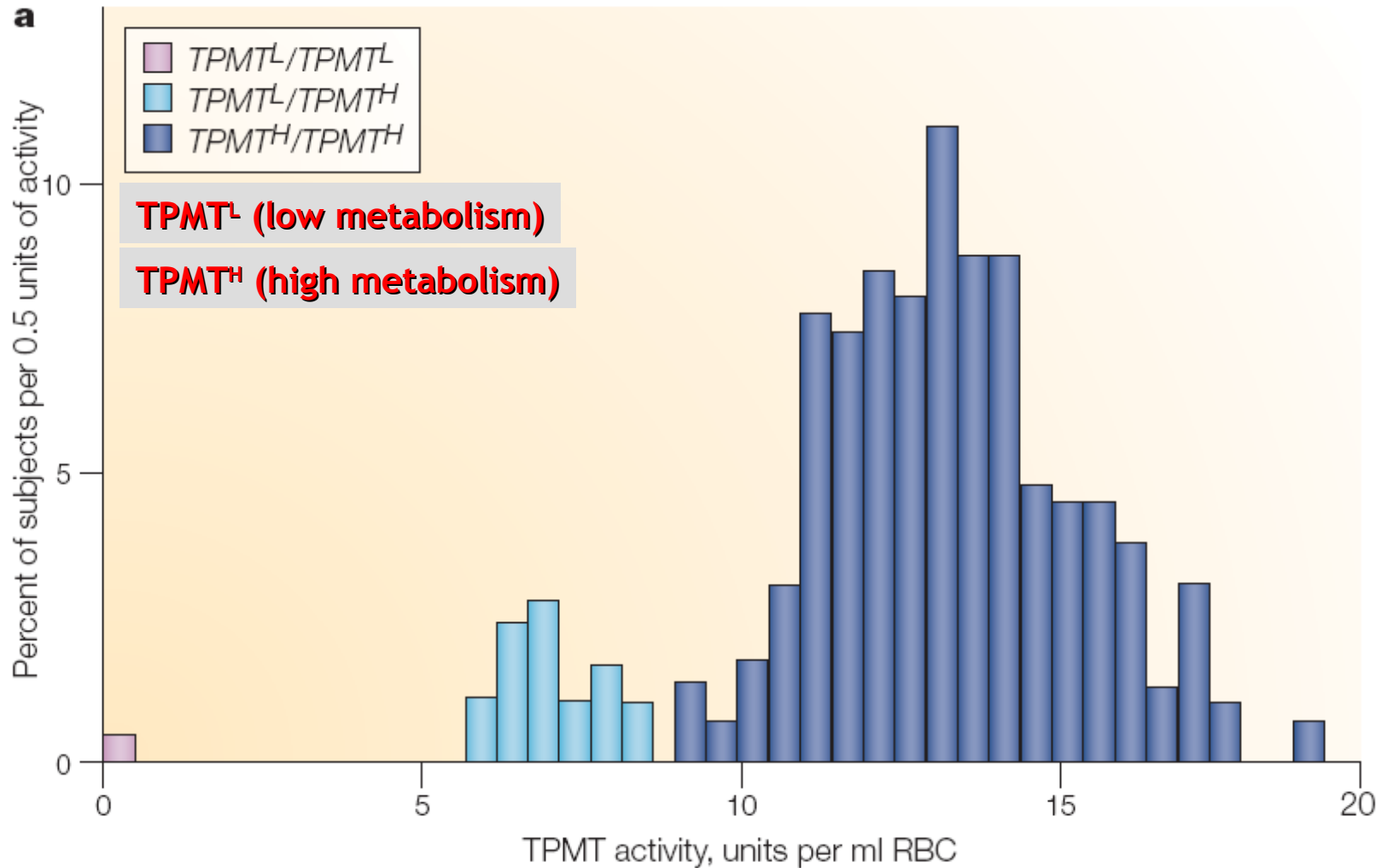


Figure 2 | **Classic pharmacogenetic traits: the thiopurine S-methyltransferase polymorphism. a** | Activity of the drug-metabolizing enzyme thiopurine S-methyltransferase (TPMT) in red blood cells (RBCs) from **298 randomly selected Caucasian blood donors**. Presumed genotypes for the *TPMT* genetic polymorphism are also indicated. *TPMT^L* and *TPMT^H* are designations for alleles resulting in 'low' and 'high' activity, respectively. These allele designations were used before the molecular basis for the polymorphism was understood.

Farmacogenetica della tiopurina-S-metil-transferasi (TPMT)

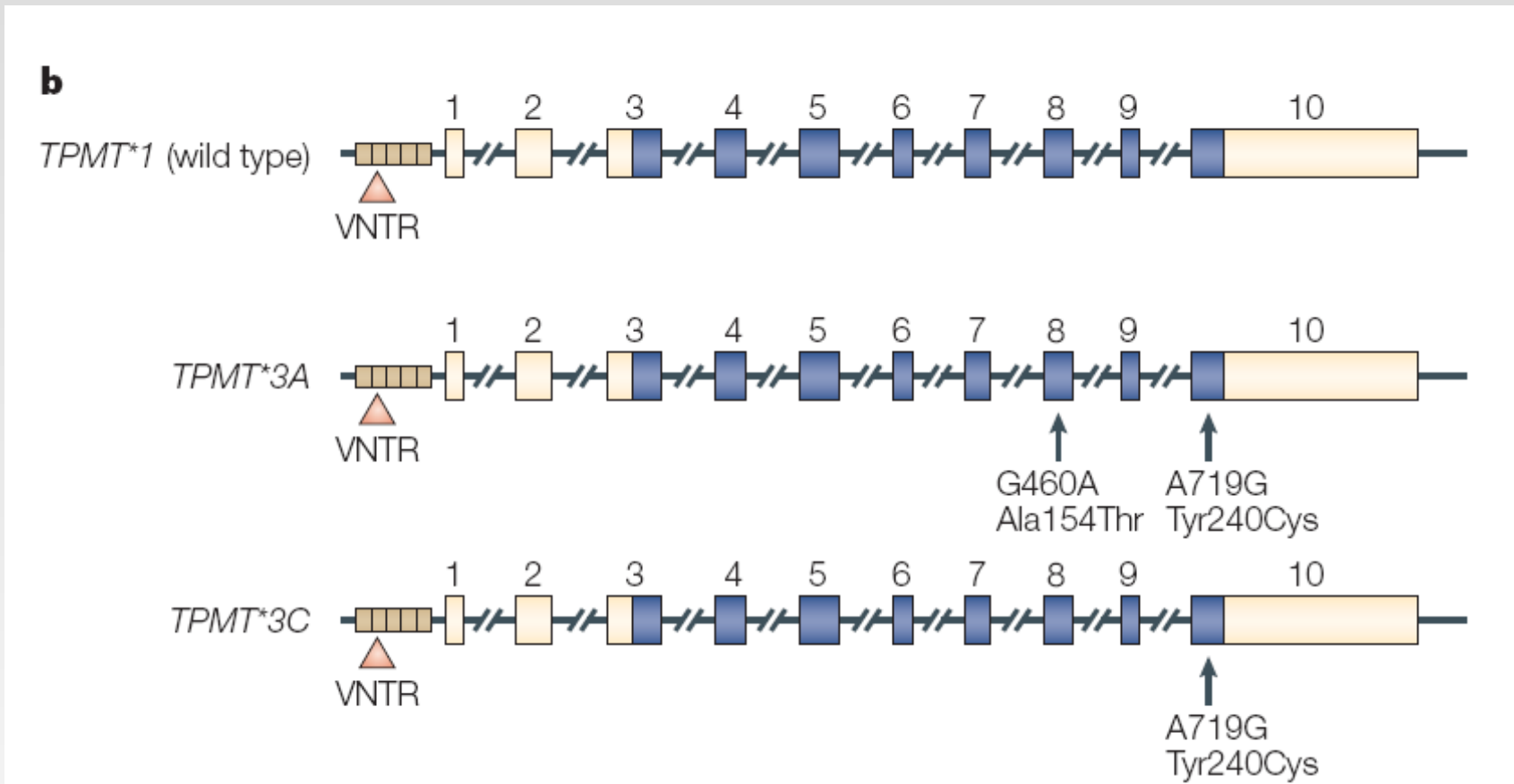


Figure 2 | **Classic pharmacogenetic traits: the thiopurine S-methyltransferase polymorphism. b |** *TPMT* alleles. ***TPMT*1*** is the **most common allele (wild type)** and ***TPMT*3A***, with two nonsynonymous coding single-nucleotide polymorphisms (SNPs), is the **most common variant allele** in **Caucasian** subjects. ***TPMT*3C*** is the **most common variant allele** in **East Asian** subjects. Rectangles represent exons, with blue areas representing the open reading frame. The arrows indicate two SNPs, as well as a polymorphic variable number of tandem repeats (VNTR) in the promoter.

FARMACOGENETICA DEI FARMACI ANTI-EPILETTICI (I)

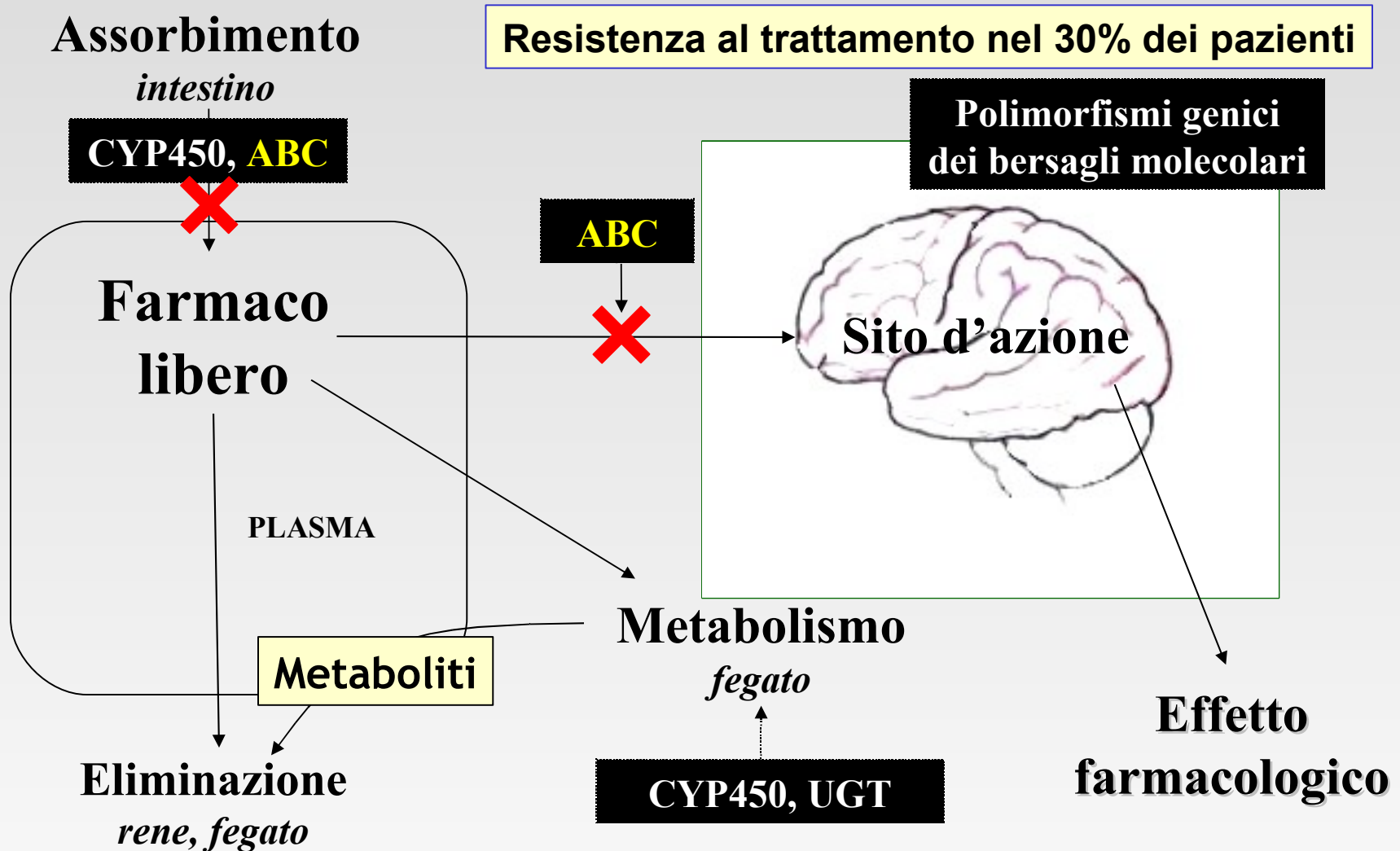
L'**epilessia** è una patologia difficile da trattare, poichè pazienti diversi necessitano di differenti intervalli di dosi dei farmaci e, in alcuni casi, si possono manifestare **effetti avversi** quali aumento della frequenza di convulsioni, depressione e diplopia

FARMACOGENETICA DEI FARMACI ANTI-EPILETTICI (II)

La **farmaco-resistenza** rappresenta uno dei problemi maggiori nel trattamento dell'**epilessia**

La superespressione della glicoproteina P (P-gp), codificata dal **gene** della **multiresistenza ABCB1 (MDR1)**, e di altri trasportatori di efflusso nell'endotelio cerebrovascolare, nella regione del focus epilettogeno, è una delle cause della **resistenza ai farmaci antiepilettici**

Farmacogenetica dell'epilessia resistente ai farmaci



Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy

Farmacogenetica degli antiepilettici

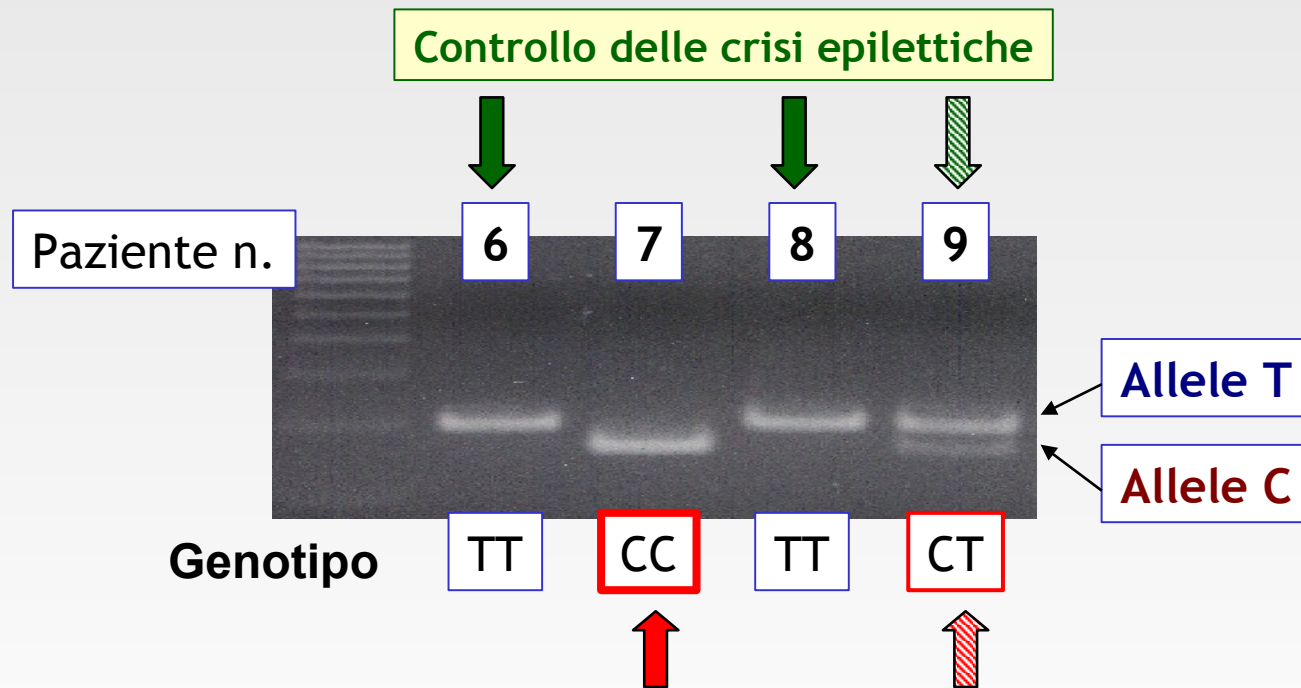
Proteine di trasporto: glicoproteina P (MDR1, ABCB1)

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) sull'esone 26

C3435 → T

Allele C = elevata espressione di ABCB1

Allele T = bassa espressione di ABCB1



Farmacoresistenza
Necessità di elevati dosaggi

BIPOLAR DISORDERS

AN INTERNATIONAL JOURNAL OF PSYCHIATRY AND NEUROSCIENCES

Genotype A1/A2 associated with neuroleptic malignant syndrome

**Del Tacca M, Lattanzi L, Lastella M, Di Paolo A, Mungai F,
Danesi R, Menichetti F, Dell'Osso L, Cassano GB**

Del Tacca M *et al.* Bipolar Disord 7, 390, 2005

Farmacogenetica degli antipsicotici

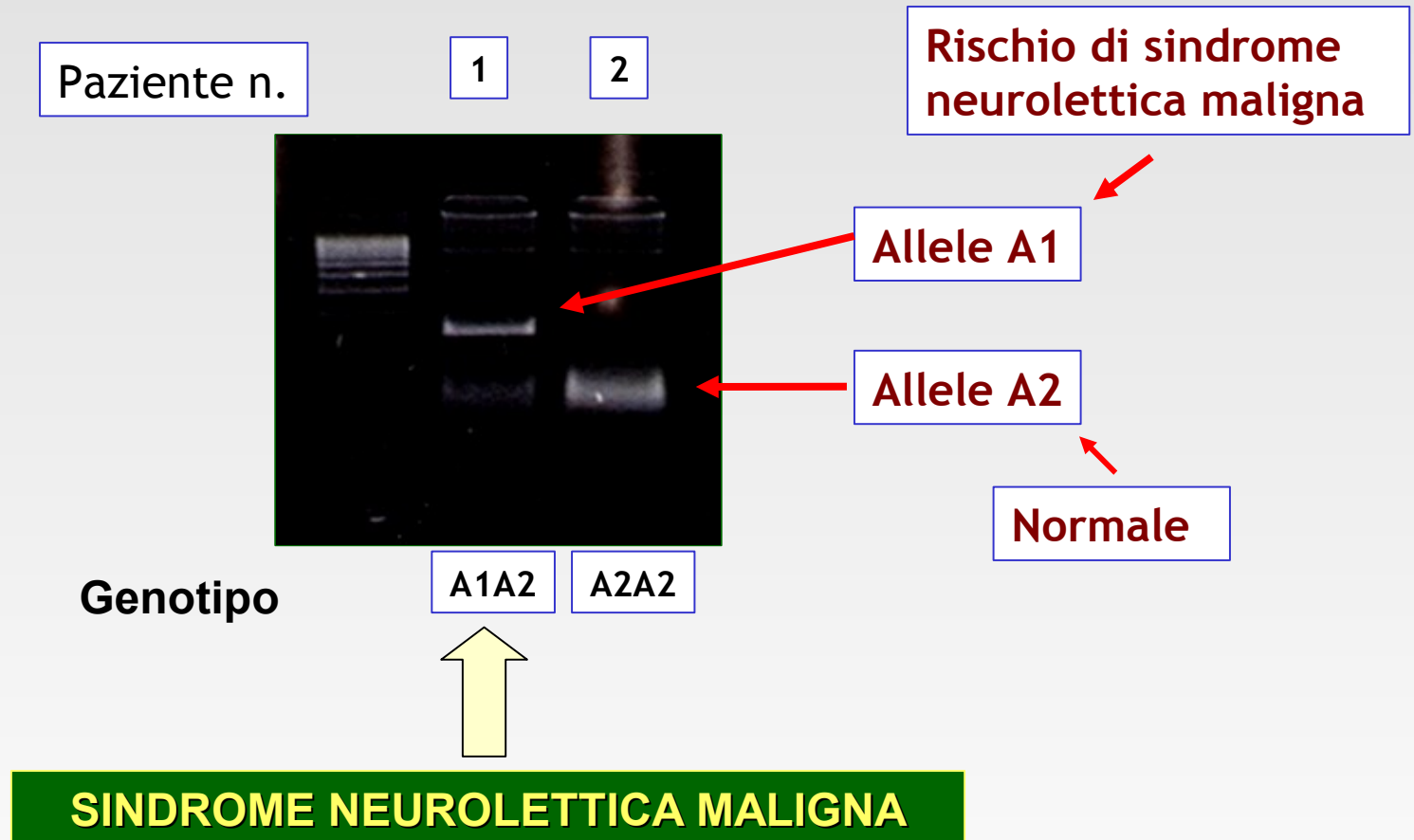
Sindrome neurolettica maligna

- La sindrome neurolettica maligna (iperpiressia, sintomi extrapiramidali, catatonia e disturbi del sistema nervoso autonomo) è rara ma potenzialmente fatale
- Il gene che codifica per il recettore dopaminergico D2 contiene un **polimorfismo** definito come **TaqI α**
- **L'allele A1** è associato ad una ridotta presenza di recettori D2 nello striato e nel nucleo caudato, e a una ridotta attività dopaminergica nelle regioni dell'encefalo
- I portatori **dell'allele A1** sono soggetti a un maggior blocco dopaminergico da parte dei farmaci antipsicotici e predisposti a sviluppare una **sindrome neurolettica maligna rispetto ai pazienti omozigoti A2**

Jönsson EG et al, Mol Psychiatry 4, 290, 1999
Chandran GJ et al, Can Med Ass J 169, 439, 2003

Farmacogenetica degli antipsicotici

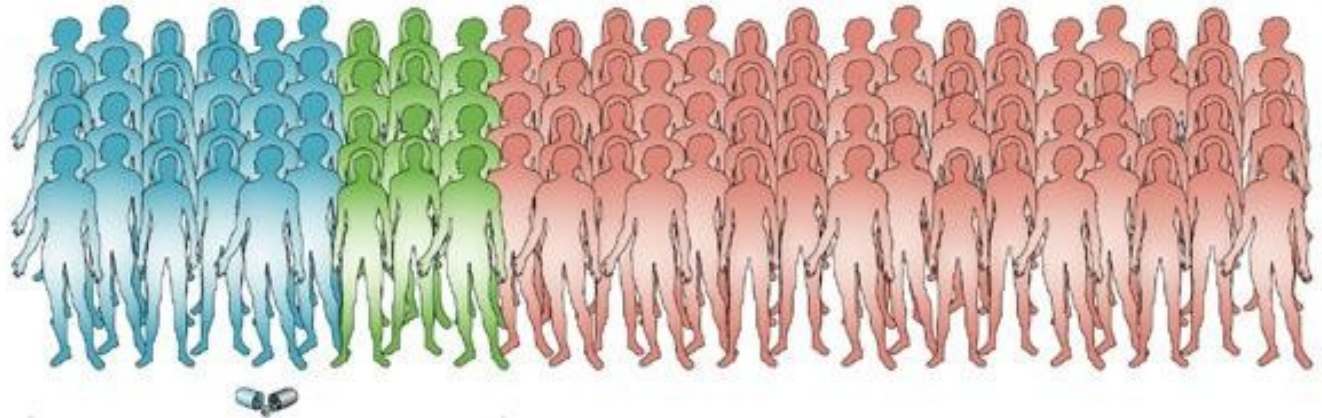
Sindrome neurolettica maligna: allele A1



Del Tacca M *et al.* *Bipolar Disorders* 7, 390, 2005

CURRENT STATE OF DRUG DEVELOPMENT RESEARCH

Proportion of patients who respond to drug



Patients receiving drug

Proportion of patients with given disease

IDEAL FUTURE OBJECTIVE OF DRUG DEVELOPMENT RESEARCH



Population of patients with given disease:

All or nearly all respond to different drugs according to genotype

Issa AM. Nature Rev Drug Discov 1, 300, 2002

Sviluppo di nuovi farmaci dal Genoma

- ◆ **Genomica medica**: in rapida crescita dal 1992 con un'accelerazione significativa dal 1995 ad oggi, grazie al “Progetto Genoma” e al rapido sviluppo della bioinformatica
- ◆ Il **sequenziamento completo** del **genoma umano** ha creato la prospettiva di identificare i geni responsabili delle malattie e di sviluppare **farmaci innovativi** (**più selettivi sui meccanismi eziopatogenetici delle malattie**)

Nuovi farmaci dal Genoma

- ◆ La maggior parte delle **malattie** è dovuta a **difetti genetici**: malattie ereditarie, malattie ad ampia diffusione quali tumori, aterosclerosi, Alzheimer, osteoporosi
- ◆ La conoscenza dei **geni espressi nei tessuti sani** e dei **geni alterati nei tessuti patologici** può consentire di **disegnare farmaci mirati** alle cause delle malattie (e non solo ai sintomi) per le quali non è ancora disponibile un trattamento adeguato

Farmacogenetica (1)

- ◆ **Correlazione** tra genotipo e fenotipo: le tecniche di **microarray** consentono di **stratificare i pazienti** sulla base del **profilo genico**, cioè di costruire **DNA library** individuali
- ◆ Durante gli **studi clinici** con **farmaci sperimentali** è già **possibile associare l'efficacia**, la maggiore sensibilità o la **comparsa di effetti collaterali** a un determinato **genotipo** e perciò identificare le **relazioni tra genotipo** del paziente e **risposta** alla terapia

Farmacogenetica (2)

- ◆ **Classi di farmaci** potranno essere adattate a determinate popolazioni di pazienti, ottimizzandone il trattamento (**massima efficacia, minima incidenza di eventi avversi**)
- ◆ Per realizzare questi studi esistono **problemi etici** rilevanti, quali la tutela della **privacy**, la correttezza dell'**informazione** e del **consenso** del paziente, le modalità e i tempi di **conservazione** del **campione di DNA**, e **problemi economici** (costi per la sanità pubblica)

Farmacogenetica (3)

- ◆ Lo studio delle malattie è destinato a evolvere verso un metodo basato sull'individuazione dei **geni di suscettibilità** identificati con l'analisi delle **differenze genetiche** tra individui **ammalati** e quelli **sani** con il **metodo dei geni candidati** oppure lo **scanning dell'intero genoma con marcatori SNPs**
- ◆ Lo **sviluppo** dei **farmaci** con le tecniche di **farmacogenomica** sta per rendere disponibile un **nuovo farmaco antiaterosclerotico**. Infatti è stato identificato il **gene della fosfolipasi A2** che svolge un ruolo significativo nella patogenesi dell'aterosclerosi. E' stata quindi sintetizzata **una nuova molecola** in grado di **interagire** con questa **proteina** per **modificare il processo aterosclerotico**

Farmacogenetica (4)

- ◆ Nel corso dello stesso processo è stato sviluppato e brevettato un **test genetico** di “**suscettibilità all’aterosclerosi**” che **permetterà di selezionare i pazienti più indicati per il trattamento**

CONCLUSIONI (I)

1. La **farmacogenetica** e la **farmacogenomica** rappresentano settori di studio innovativi della medicina, utili per comprendere le basi delle **variazioni inter-individuali** delle **risposte ai farmaci**
2. E' importante considerare che la risposta ai farmaci può essere modulata anche da **fattori non genetici**, quali trattamenti con **più farmaci** o la presenza di **più patologie**

CONCLUSIONI (II)

3. Sebbene i **polimorfismi genetici** possano essere associati a scarsa **efficacia** e **reazioni avverse** ai farmaci, la loro effettiva rilevanza clinica deve essere approfondita
4. Risultati più attendibili potrebbero derivare **dall'analisi di linkage** su ampie regioni del **genoma**, piuttosto che dalla genotipizzazione di **singoli geni**

CONCLUSIONI (III)

5. L'approfondimento della conoscenza e delle **tecniche di farmacogenomica** consentirà lo sviluppo di **nuovi farmaci** molto più efficaci e privi di reazioni avverse, destinati a **pazienti selezionati** con **test genetici**