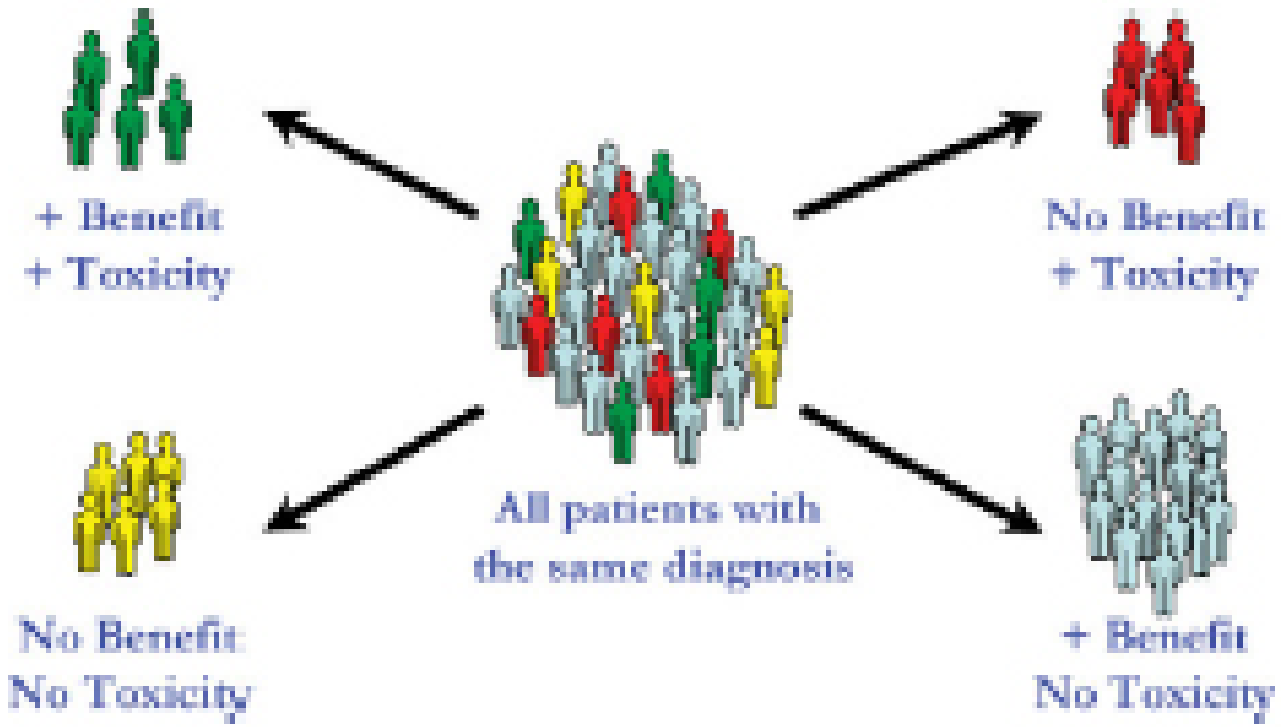
Lo stato dell'arte in Farmacogenetica e Farmacogenomica

Maria Cristina Rosatelli

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie
Università degli Studi di Cagliari

SOCIETA' ITALIANA DI FARMACIA
OSPEDALIERA E DEI SERVIZI FARMACEUTICI
DELLE AZIENDE SANITARIE
XXXI Congresso nazionale

Variabilità nella risposta ai farmaci



Rosatelli SIFO 2010

Reazioni avverse ai farmaci Adverse Drug Reaction (ADR)

- 5-20% dei pazienti ammessi in ospedali soffrono di reazioni avverse
- >100 000 morti all'anno negli USA quarta causa di morte dopo malattie cardiovascolari, tumori e ictus (Lazarou et al, JAMA 1998; 279: 1200-1205)
- La maggior parte dei decessi causata da variabilità individuale nella risposta a farmaco ha base prevalentemente genetica

Variabilità individuale nella risposta ai farmaci

Geni

Polimorfismi in
•Geni bersaglio del farmaco
•Geni implicati nell'assorbimento, metabolismo ed eliminazione

Ambiente

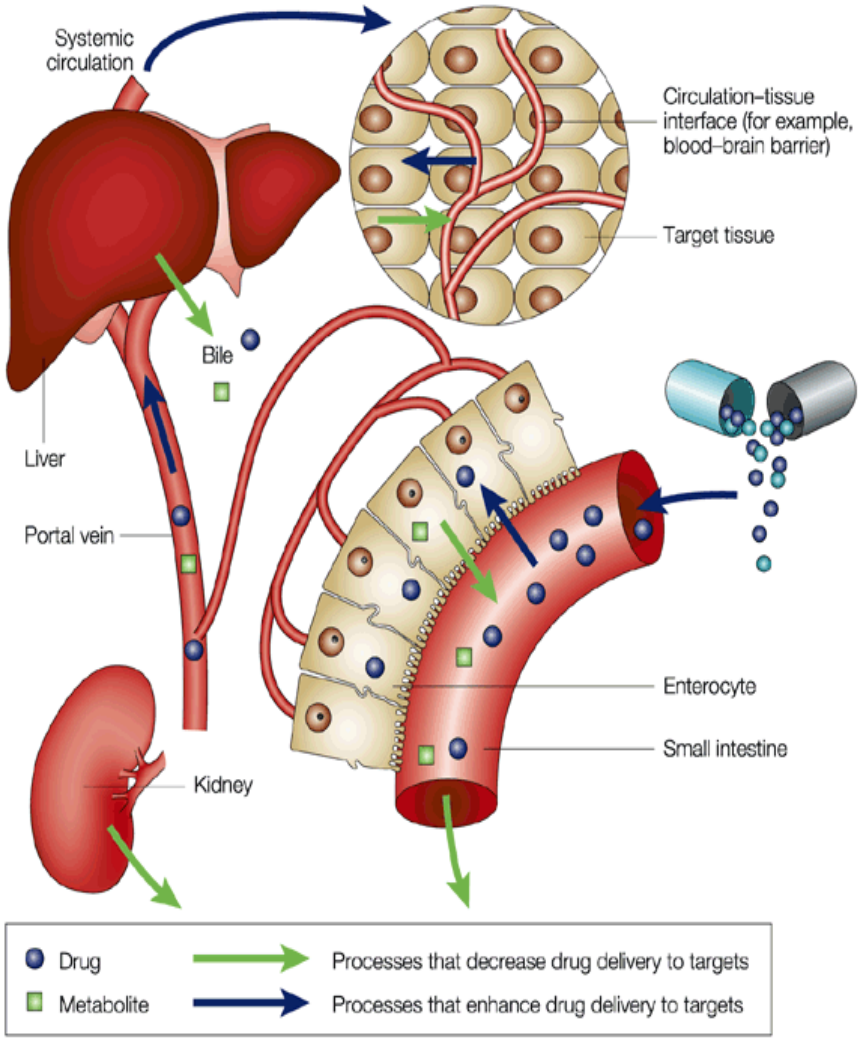
• Fisiologici: Età, sesso, peso corporeo
•Patologici: funzionalità epatica e renale, presenza di altre malattie
•Ambientali: dieta, alcol, tabacco, altri farmaci

Geni che influenzano la risposta al farmaco

Geni codificanti per proteine coinvolte nella biodisponibilità del farmaco influenzano:

Assorbimento
Distribuzione
Metabolismo
Escrezione
(ADME)

Farmacocinetica



Geni codificanti per il bersaglio terapeutico del farmaco e/o pathway correlate

Recettori,
canali ionici,
enzimi,
proteine regolatorie

Farmacodinamica

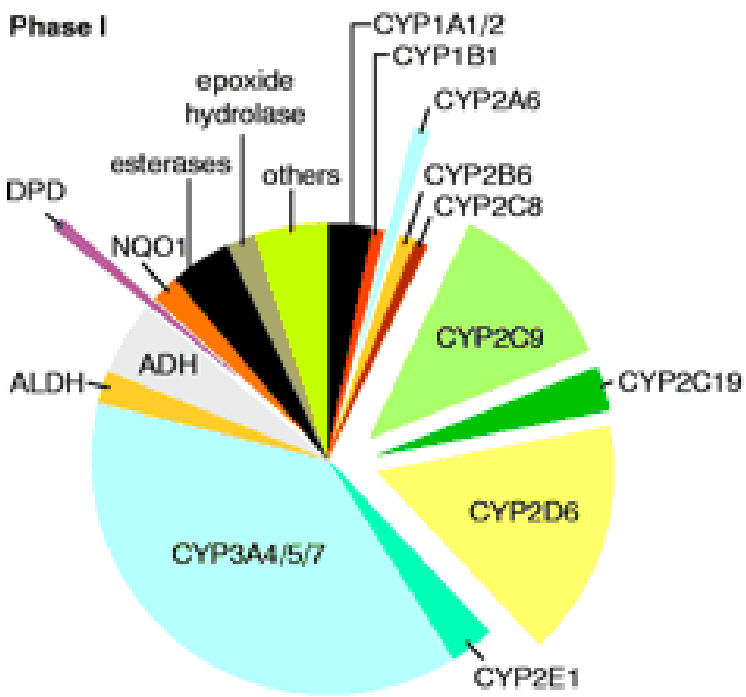
Rosatelli SIFO 2010

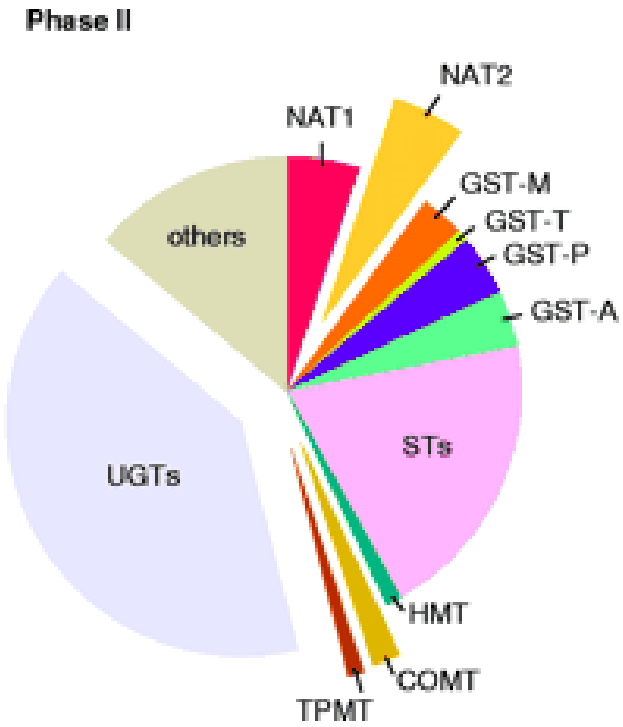
Nature Reviews | Drug Discovery

Principal enzymes exhibiting a polymorphism implicated in drug metabolism

Phase I reactions:
Modification of funtional groups

Phase II reactions:
Conjugation with endogenous substituents





Rosatelli SIFO 2010

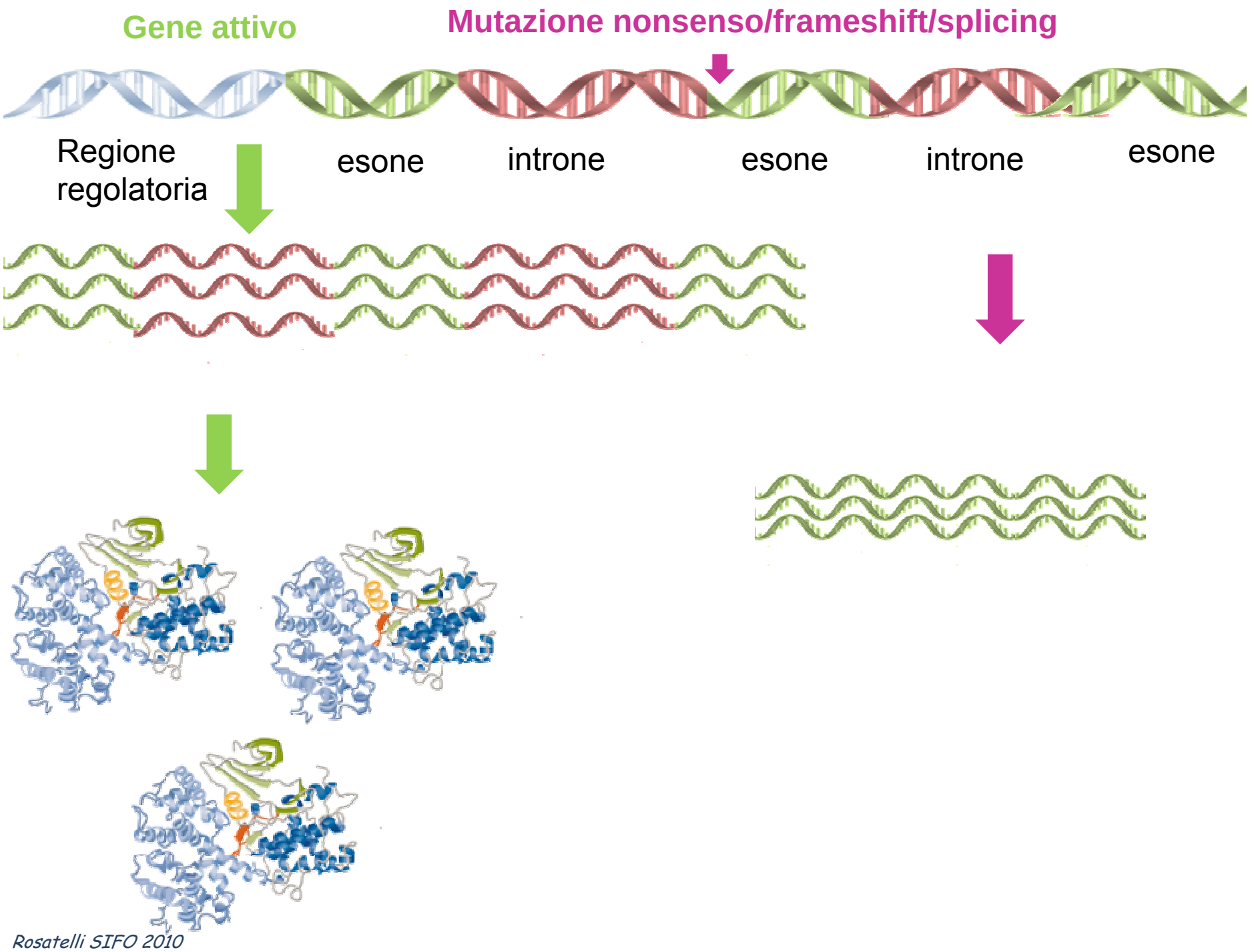
Evans &Relling, Science 286, 1999

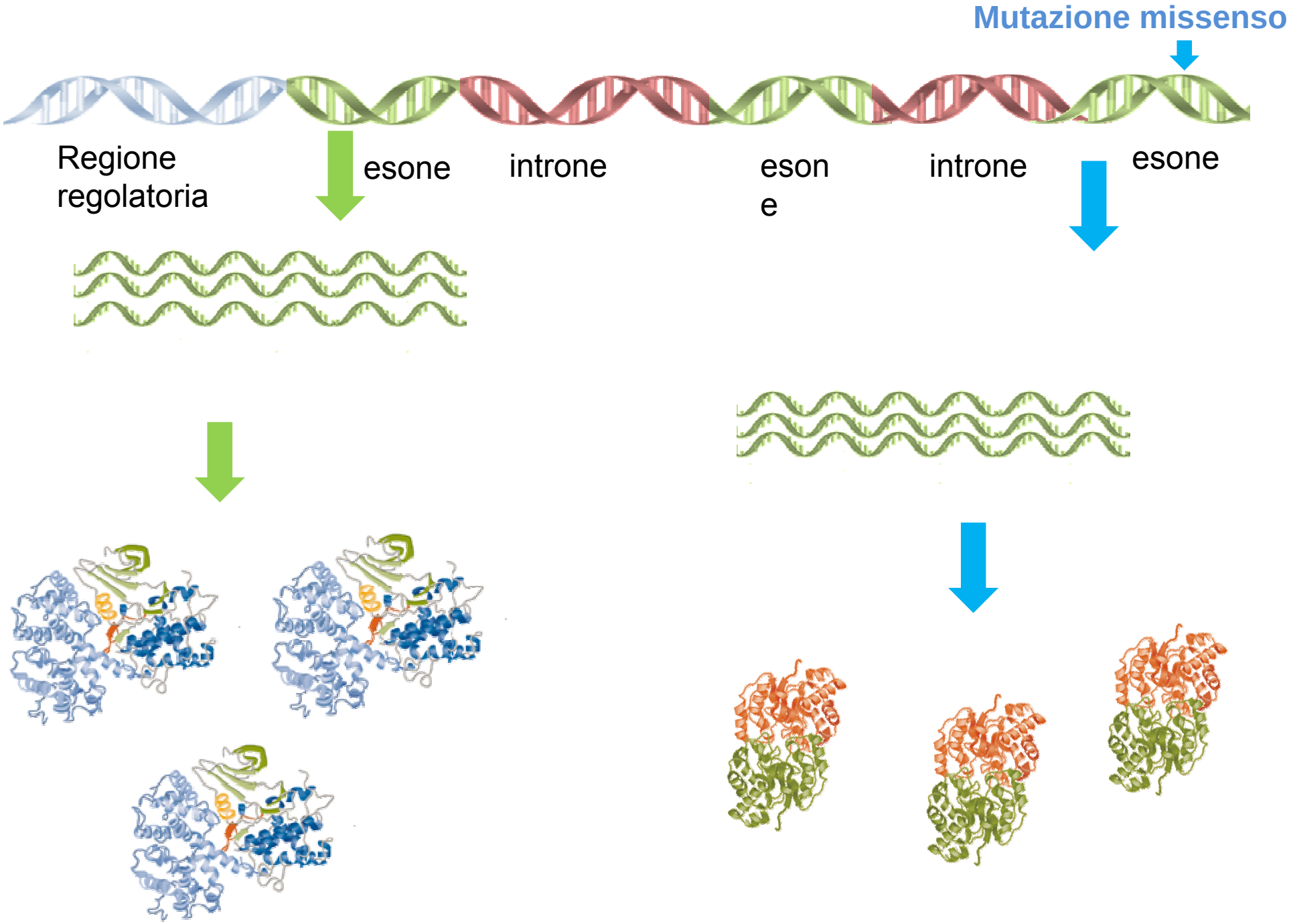
Farmacogenetica

Studio di geni candidati coinvolti in vie metaboliche specifiche, allo scopo di evidenziare variazioni genetiche correlabili con la risposta individuale ai farmaci in termini di efficacia e di rischio

Farmacogenomica

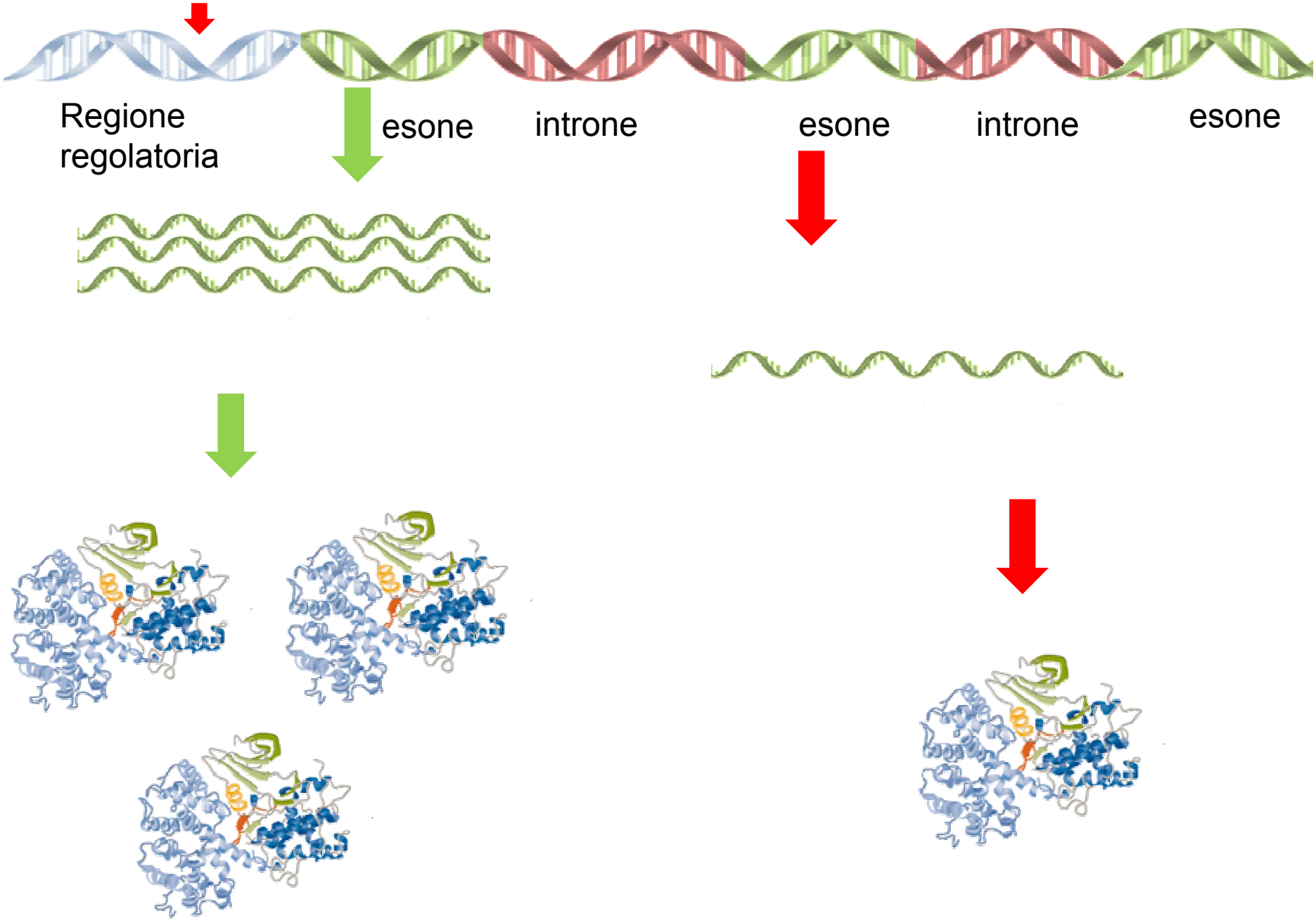
Analisi dell'intero genoma (DNA) e dei suoi prodotti (RNA e proteine) allo scopo di individuare variazioni che correlano con la risposta al farmaco presente a livello cellulare, tessutale, di individuo o di popolazione, al fine di individuare nuovi bersagli terapeutici, scoprire e sviluppare farmaci o studiare la risposta ad essi.


Gene attivo
Mutazione nonsenso/frameshift/splicing
Regione regolatoria
esone
introne
esone
introne
esone
Rosatelli SIFO 2010

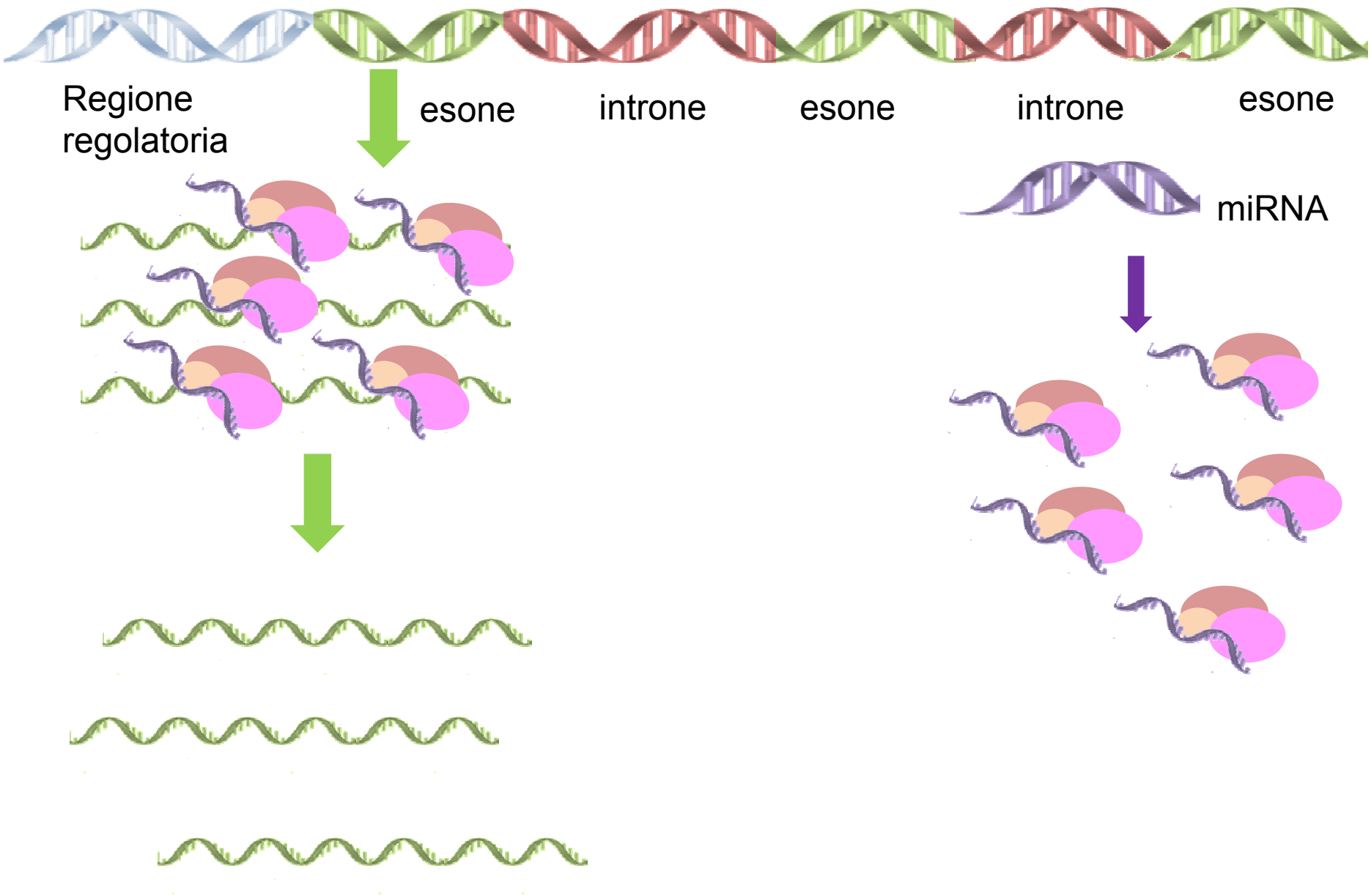


Rosatelli SIFO 2010

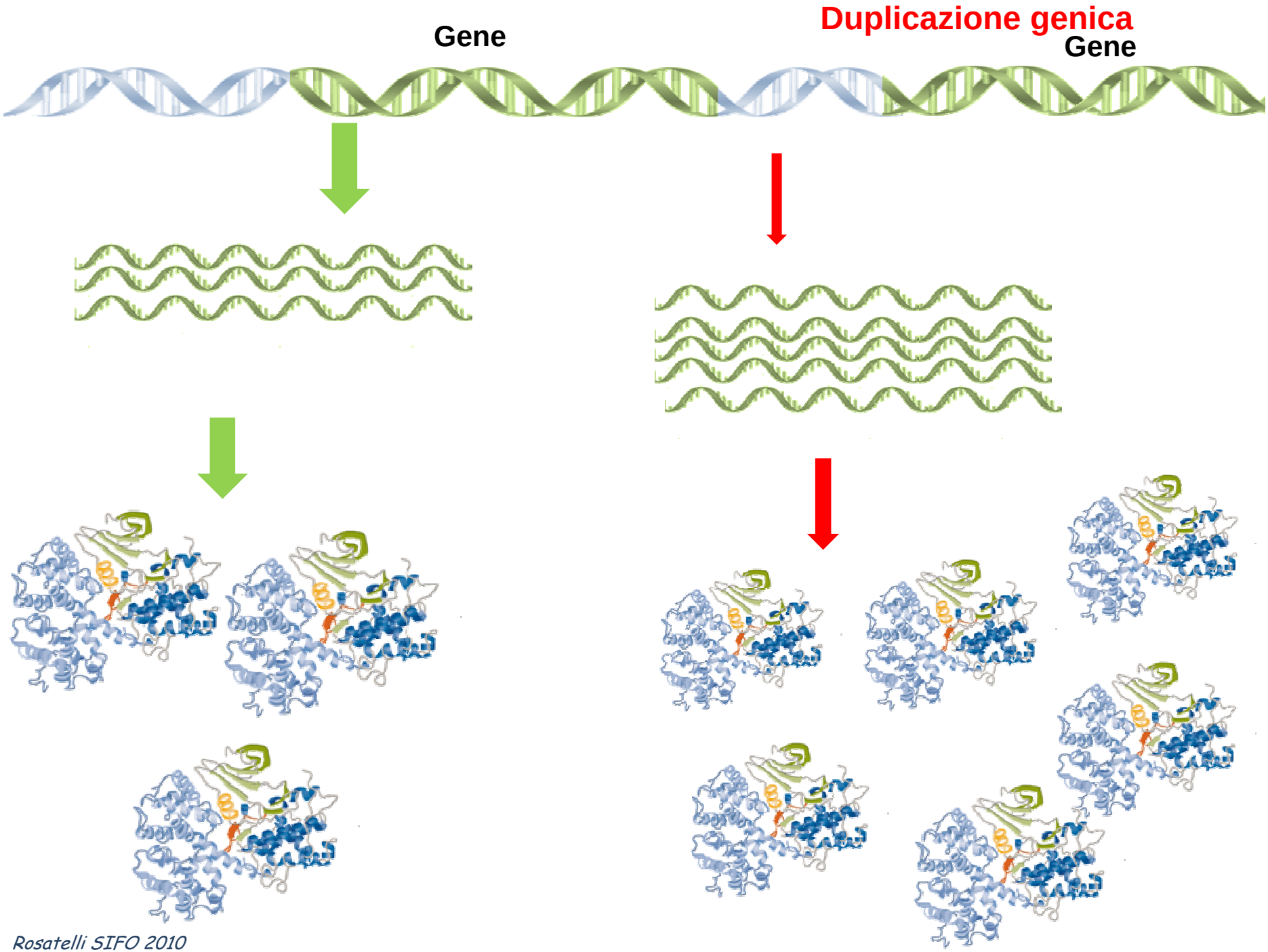
Mutazione nelle regioni regolatorie



Rosatelli SIFO 2010

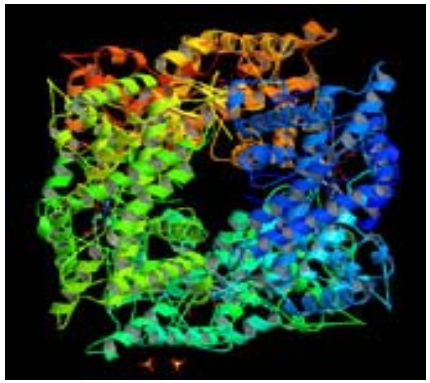


Rosatelli SIFO 2010



Rosatelli SIFO 2010

Enzimi microsomiali del Citocromo p450



- Agiscono su:
  Substrati endogeni
  Xenobiotici
  - Sono implicati nel metabolismo del 50-60% dei farmaci
- Reazione tipica idrossilazione:
  $NADPH^+ + H^+ + O_2 + RH \rightarrow NADP^+ + H_2O + R\text{-}OH$
- Circa 60 geni nell'uomo
- Mostrano varianti alleliche polimorfe
- Le variazioni portano a fenotipi di metabolizzatori da ultrarapidi a lenti

Polimorfismi di CYP2D6

> di 100 varianti alleliche

- Responsabile per il 25-30% del metabolismo di farmaci Antidepressivi triciclici, Antiaritmici, Beta bloccanti, Neurolettici, Antitussivi, Narcotici, Antitumorali

- L'attività è influenzata da inibitori come paroxetina, fluoxetina

Polimorfismi di CYP2D6

> di 100 varianti alleliche

➢ Gene inattivo

(5-10% pop bianca omozigote)

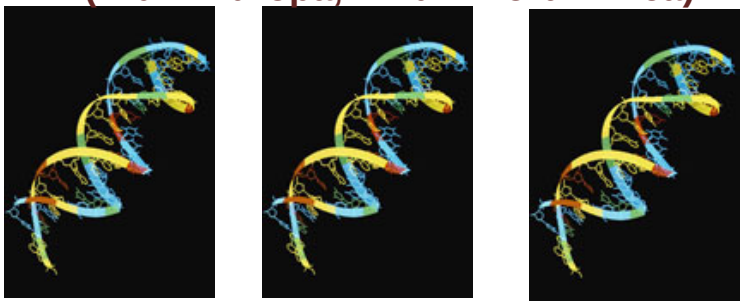
Assenza enzima

Assenza metabolismo

Fenotipo metabolizzatori lenti

➢ Gene duplicato

(1% in Europa, 24% in nord-Africa)



mRNA mRNA mRNA

Alti livelli enzimatici, Aumentato metabolismo

Fenotipo metabolizzatori ultrarapidi

Rosatelli SIFO 2010

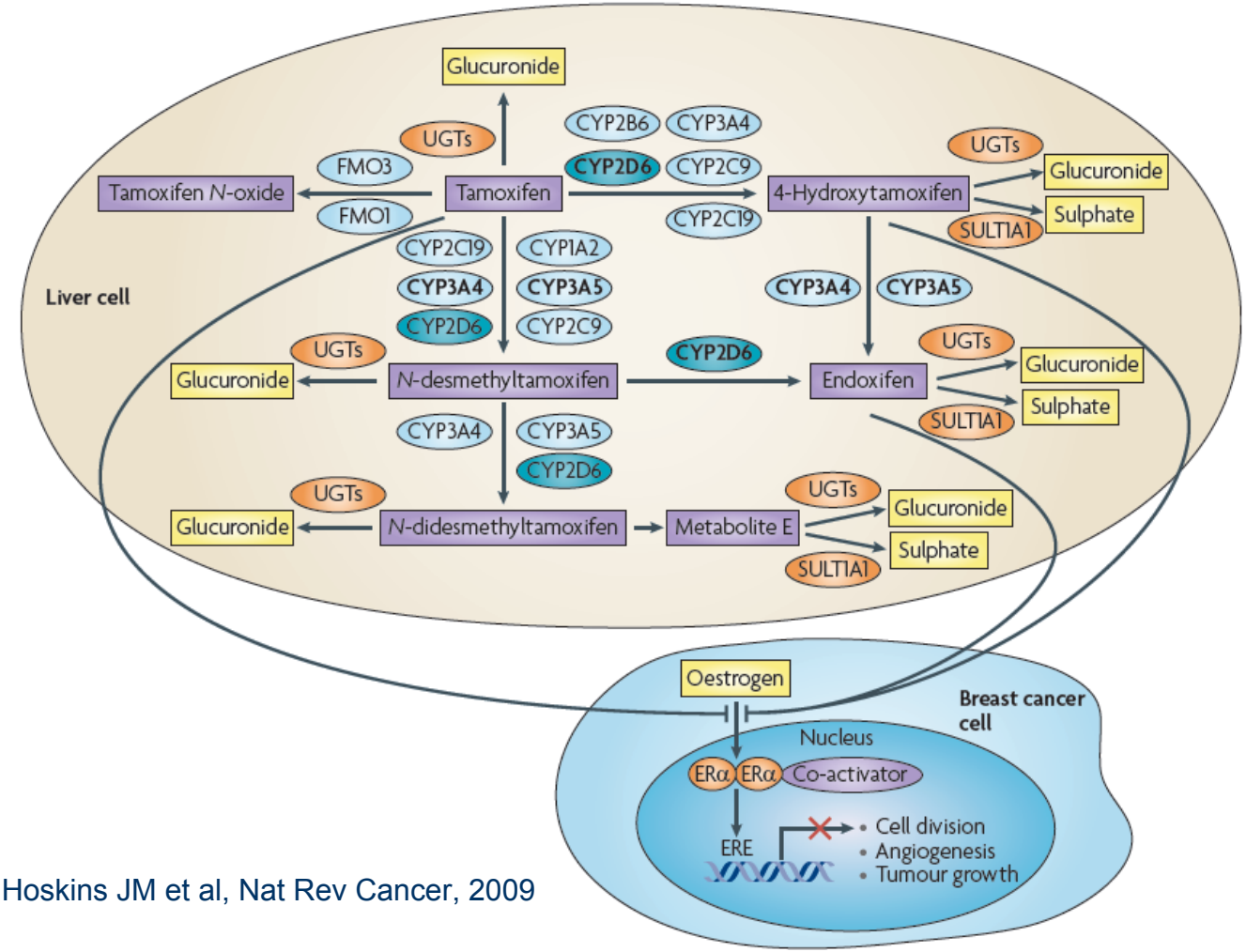
Table 1 | **Cytochrome P450 2D6 (*CYP2D6*) alleles and their effects on CYP2D6 enzyme activity**

CYP2D6 alleles	Allele designation	Enzyme activity	Allele abbreviation
*1, *2, *33, *35	Normal or wild type	Normal	EM
*3, *4, *5-*8, *11-*16, *18-*21, *36, *38, *40, *42, *44, *56, *62	Null	No protein, inactive or negligible	PM
*9, *10, *17, *29, *41, *59	Reduced activity	Decreased	IM
*22-*28, *30-*32, *34, *37, *39, *43, *45-*55	Unknown activity	Unknown	Not applicable
Duplicated alleles			
*1×*N*, *2×*N*, *35×*N*	Multiplication of normal alleles	Increased	UM
*10×*N*, *17×*N*, *29×*N*, *41×*N*	Multiplication of reduced activity alleles	Decreased	IM
*4×*N*, *6×*N*, *36×*N*	Multiplication of null alleles	Inactive or negligible	PM
*43×*N*, *45×*N*	Multiplication of alleles of unknown activity	Unknown	Not applicable

EM, extensive metabolizer allele; IM, intermediate metabolizer allele; PM, poor metabolizer allele; UM, ultra-rapid metabolizer allele.

Hoskins JM et al, Nat Rev Cancer, 2009

Partial metabolic pathway of tamoxifen and its interaction with oestrogen receptors (ers)



Hoskins JM et al, Nat Rev Cancer, 2009

Polimorfismi CYP2D6*4 e CYP2C19*17 riducono disponibilità forma attiva
Antidepressivi Fluoxetina e paroxetina potenti inibitori di CYP2D6

Rosatelli SIFO 2010

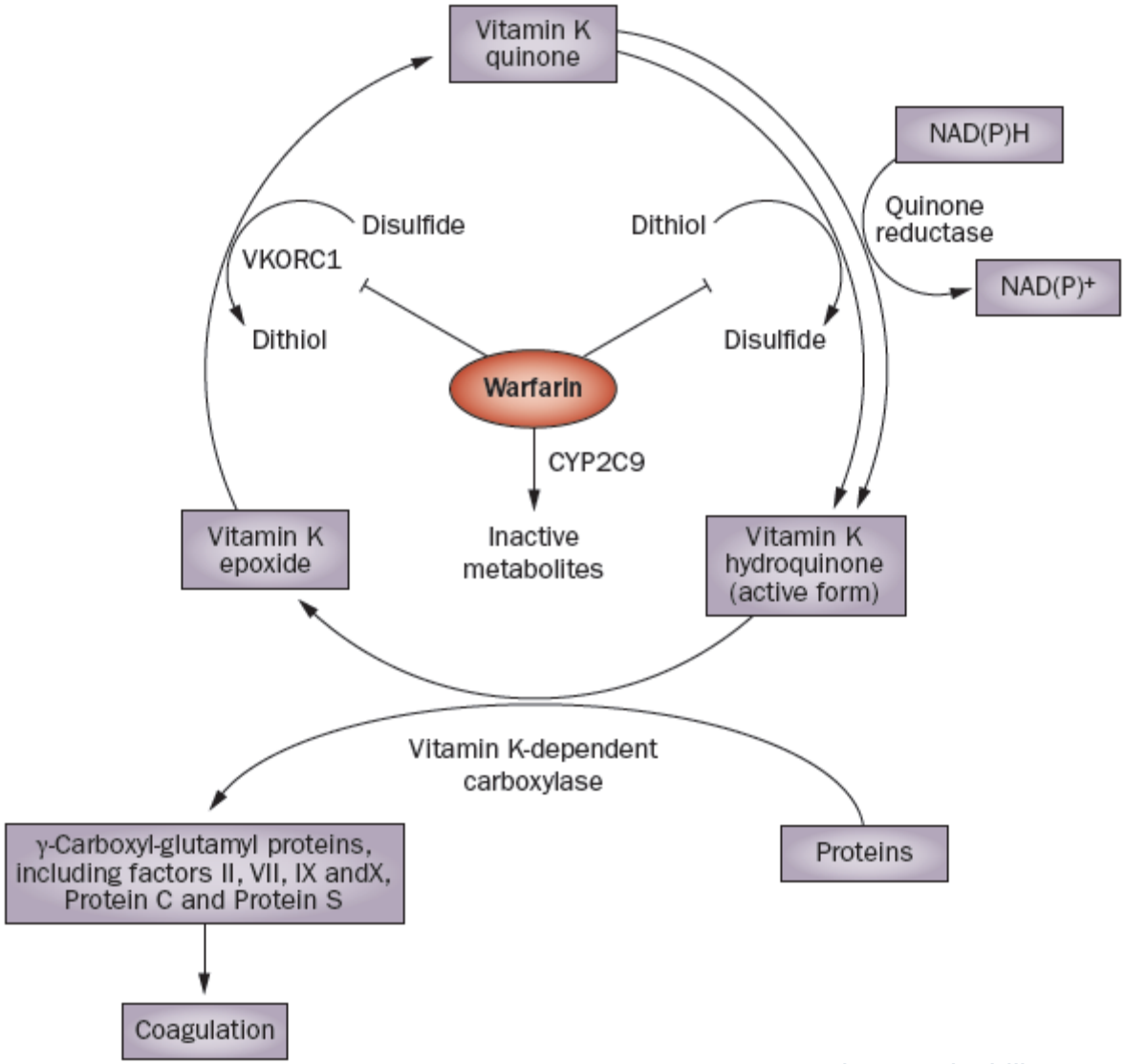
Esempio farmaco anticoagulante Warfarin

Anticoagulante orale utilizzato nella profilassi e nel trattamento di malattie trombo-emboliche, attacchi ischemici transitori, fibrillazione atriale

Il meccanismo d'azione della Warfarina è dovuto alla sua capacità di antagonizzare le funzioni della vitamina K, uno dei principali fattori che partecipano alla coagulazione del sangue (necessaria per la gamma-carbossilazione postraduzionale di diversi fattori della coagulazione)

Difficoltà nel dosaggio del farmaco a causa della complessa relazione dose-risposta: emorragie in caso di dose eccessiva, profilassi inadeguata in caso di dose insufficiente

The vitamin K cycle and Warfarin metabolism



Rosatelli SIFO 2010

Pereira &Weinshilboum, Nat Rev Cardiol, 2009

Esempio di influenza poligenica con effetto sulla farmacodinamica e farmacocinetica del farmaco: l'anticoagulante Warfarin

Il dosaggio del Warfarin è influenzato da:

- diversi fattori "ambientali", terapie concomitanti, età, patologie concomitanti (17-21% della variabilità)
- polimorfismi nei geni VKORC1 (vitamina K epossido reduttasi complesso 1) e CYP2C9

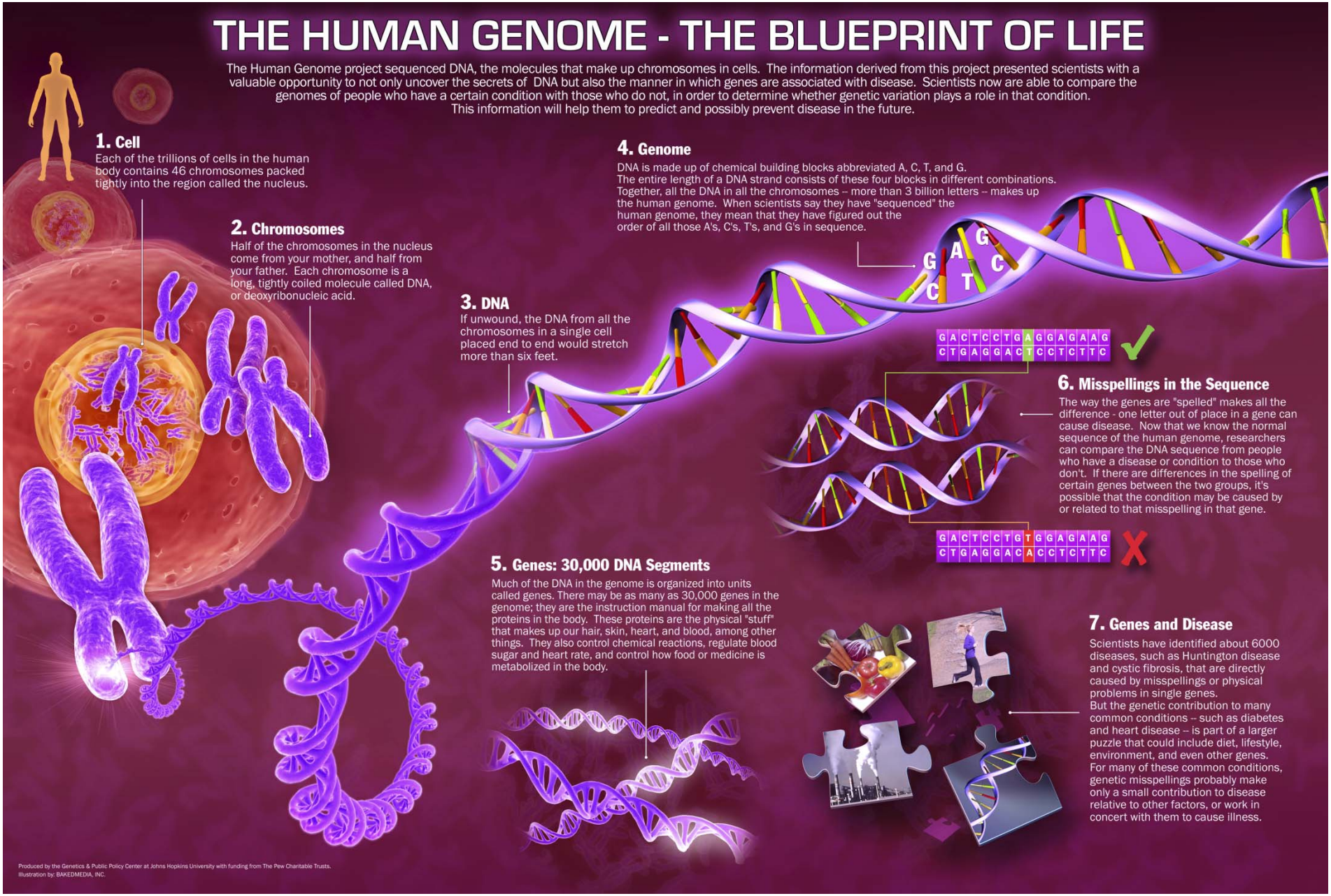
Polimorfismi di VKORC1 (-1639 G->A) sono responsabili del 15-30% di variabilità nel dosaggio, quelli di CYP2C9 (CYP2C9*2 e CYP2C9*3) del 6-18%

Nel 2007 l'FDA (Food and Drug Administration) ha approvato cambiamenti nella scheda tecnica, istruendo i medici a far uso del test genetico, disponibile in commercio, per determinare il dosaggio iniziale del Warfarin.Nel 2009 è stato dimostrato che l'approccio farmacogenetico era migliore dell'algoritmo clinico nel predire il dosaggio

E se l'approccio dei geni candidati fallisce?

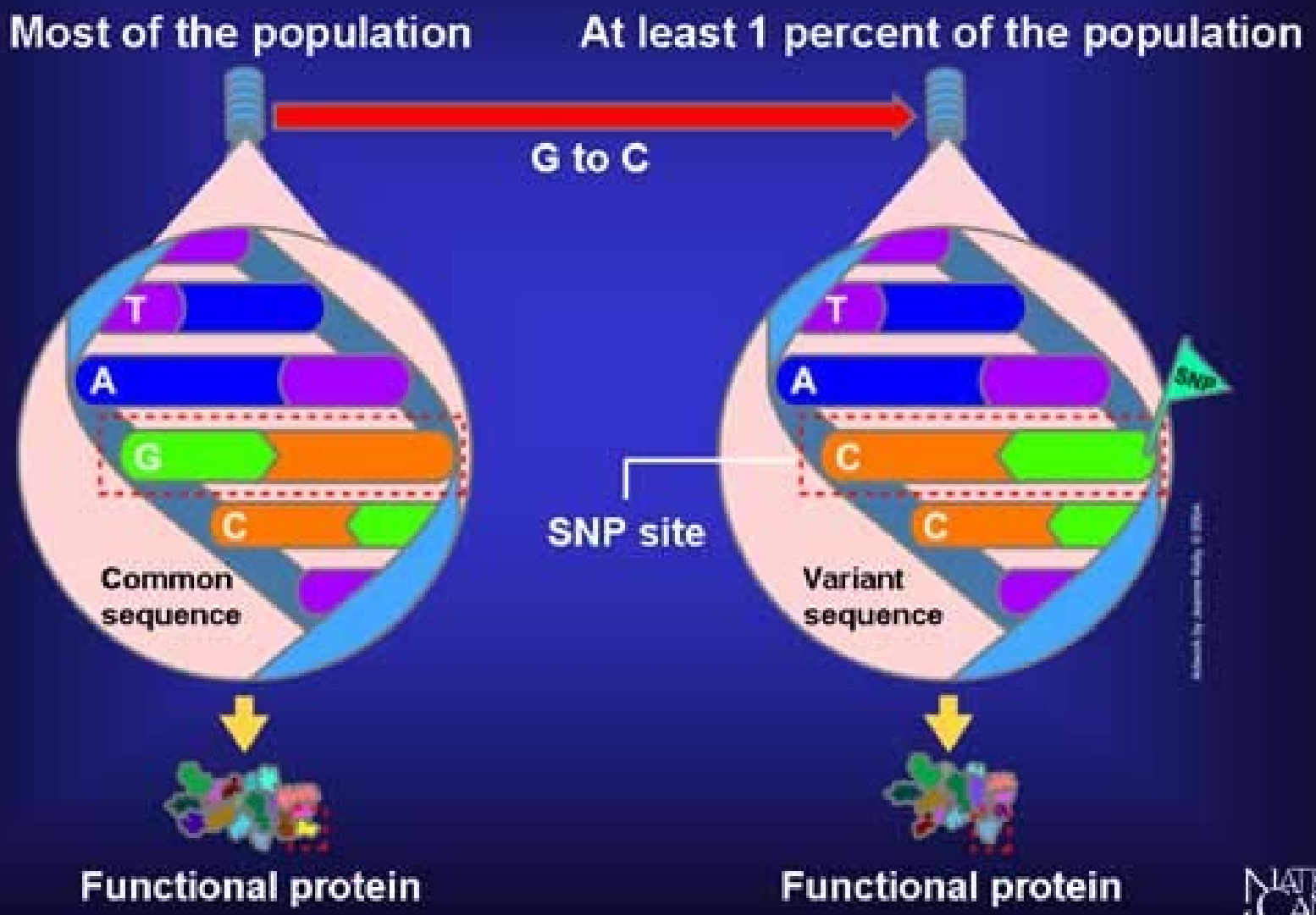
La farmacogenomica e l'approccio GWAS (Genome-Wide Association studies)

La farmacogenomica studia i polimorfismi dell'intero g

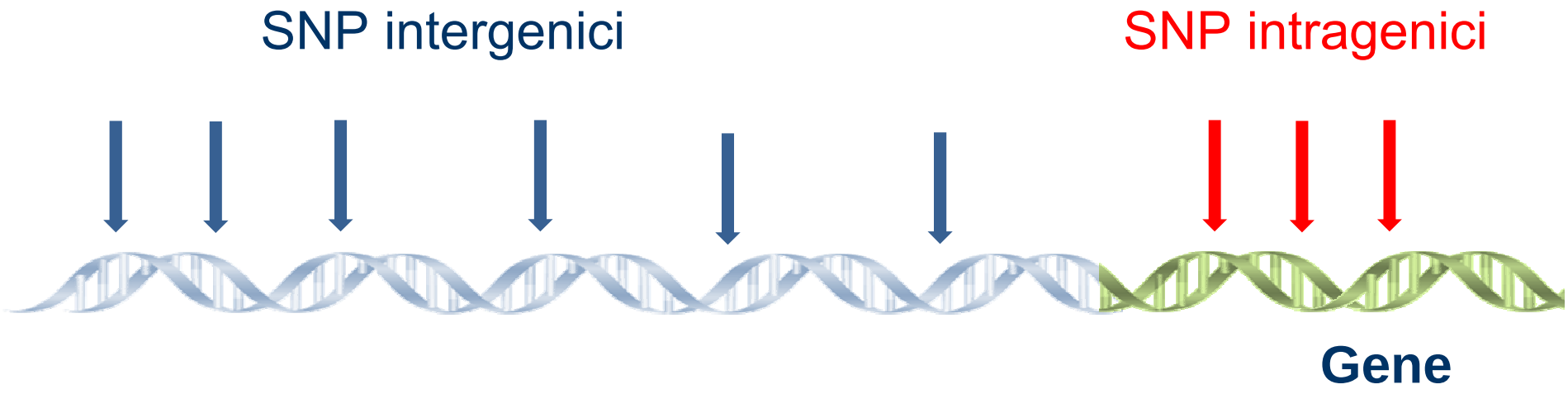


Rosatelli SIFO 2010

SNPs: Frequently Occurring Genetic Variants



NATIONAL CANCER INSTITUTE


SNP intergenici
SNP intragenici
Gene

Cosa è un SNP?

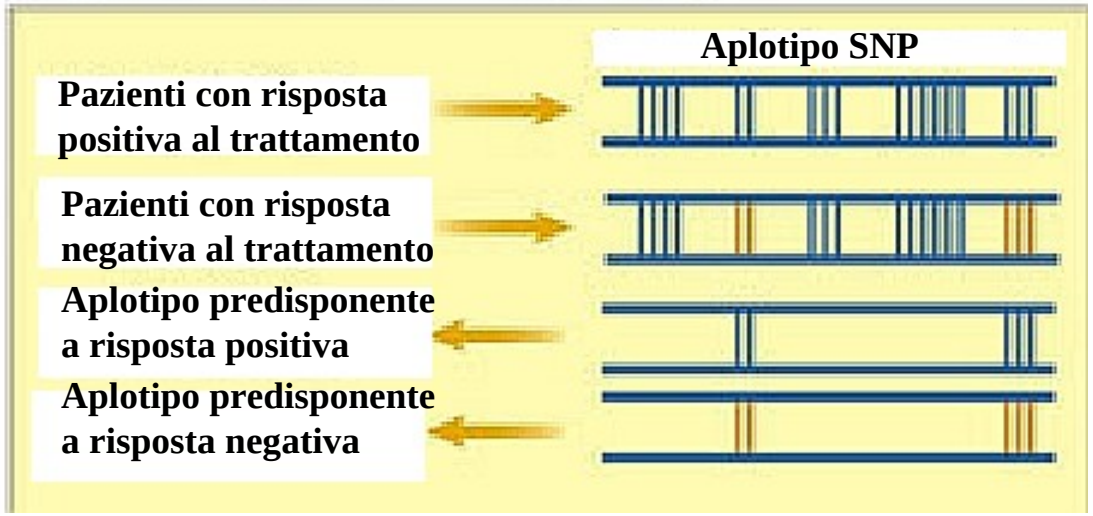
Persone diverse possono avere un diverso nucleotide in un particolare locus in un particolare cromosoma

E una mappa di SNP?

La localizzazione degli SNP sui cromosomi

DNA umano

Come utilizzare gli SNP per predire la risposta ai farmaci?



Principali risultati dei GWAS

- 70% degli studi riguardano la risposta al farmaco
- 30% reazioni avverse al farmaco

Studi GWAS su risposta al farmaco pubblicati

Drug	Response	Number of cases	Genome-wide significance/ replication	Lowest *p* value	SNP genotyping platform	Significant gene(s)	Refs
Warfarin	Maintenance dose	181; 1,053	Yes/Yes	6×10^{-13}; 1×10^{-78}	Illumina 550K; Illumina CNV370	*VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2*	7,8
Acenocoumarol	Maintenance dose	1,451	Yes/Yes	2×10^{-123}	Illumina 550K	*VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2*, *CYP2C18*	9
Interferon-α	Response in hepatitis C infection assessed by absence of viral RNA in serum	1,137; 293; 154	Yes/Yes	1×10^{-25}; 9×10^{-9}; 3×10^{-15}	Illumina 610 quad	*IL28B*	3–5
Clopidogrel	Antiplatelet effect assessed by platelet aggregometry	429	Yes/Yes	4×10^{-11}	Affymetrix 500K or 1M	*CYP2C19*	6
Methotrexate	Drug clearance and incidence of gastrointestinal toxicity in childhood leukaemia patients	434	Yes/Yes	1.7×10^{-10}	Affymetrix 500K	*SLCO1B1*	37
Thiazide	Diuretic response assessed by diastolic blood pressure change	389*	Yes/No	2×10^{-7} ‡	Affymetrix 100K	Region of chromosome 12q15	49
Interferon-β	Response in multiple sclerosis assessed by clinical scoring	206	No/No	0.004	Affymetrix 100K	None found	48
Anti-tumour necrosis factor	Response in rheumatoid arthritis assessed by clinical scoring	89	No/No	0.00009	Illumina 300K	None found	25
Methylphenidate	Response in attention-deficit hyperactivity syndrome assessed by clinical scoring	309	No/No	3×10^{-6}	Affymetrix 6.0	None found	50
Various	Response in childhood leukaemia based on presence of minimal residual disease	487	No/No	1.5×10^{-6}	Affymetrix 100K and 500K	None found	51
Iloperidone	Response in schizophrenia assessed by clinical scoring	210	No/No	1×10^{-7} §	Affymetrix 500K	None found	26
Antidepressants	Response in depression assessed by clinical scoring	339	No/No	8×10^{-7}	Illumina Human-1 and Hap300	None found	52
Citalopram	Response in depression assessed by clinical scoring	1,948	No/No	5×10^{-7} (response); 4×10^{-7} (remission)	Affymetrix 500K and 5.0	None found	53

*50% good responders, 50% poor responders. ‡Genome-wide significant difference between good responders and poor responders of African-American origin only. §Not formally significant after correction for multiple testing. CYP, cytochrome P450; GWA, genome-wide association; *IL28B*, interleukin-28B (also known

Daly AK,Nature Rev Genet, 2010

Studi GWAS su reazione avversa al farmaco

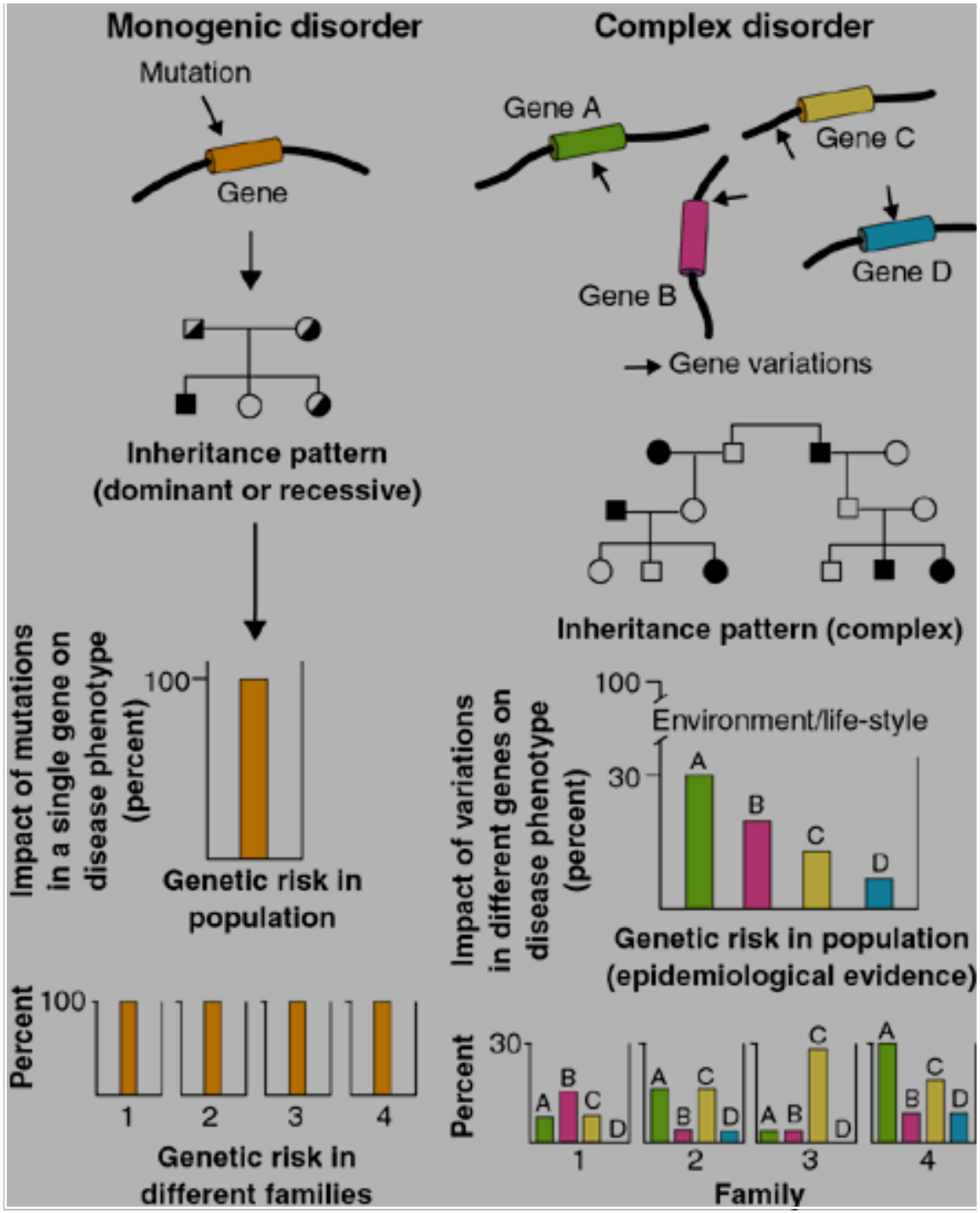
Drug	Response	Number of cases/ controls	Genome-wide significance/ replication	Lowest *p* value	SNP genotyping platform	Significant gene	Refs
Simvastatin	Myopathy assessed by symptoms and elevated creatine kinase	85/90	Yes/Yes	4×10^{-9}	Illumina Hap 300K	*SLCO1B1*	10
Flucloxacillin	Liver injury assessed by elevated liver enzymes and/or bilirubin	51/282	Yes/Yes	8.7×10^{-33}	Illumina 1M	*HLA-B*5701*	11
Etoposide	Secondary leukaemia diagnosed cytogenetically	13/169	No	<0.001	Affymetrix 100K	None found	54
Antipsychotics	Tardive dyskinesia assessed by clinical scoring	50/50	No	0.00005	Illumina Human 1 (approx. 40,000 tag SNPs)	None found	55
Ximelagatran	Transaminitis* diagnosed by elevated alanine transaminase activity	74/169	No	6×10^{-6}	Perlegen 250K	None found	39
Bisphosphonates	Osteonecrosis of the jaw diagnosed by clinical examination	25/65	No	1×10^{-6}	Affymetrix 500K	None found	41
Iloperidone	QT‡ prolongation diagnosed by electrocardiography	183/0	No	1.6×10^{-6}	Affymetrix 500K	None found	56

*The elevation of plasma alanine aminotransferase or aspartate aminotransferase activity above the normal maximum level. This indicates the possibility of liver damage. ‡The QT interval is a measure of the time between the start of the Q wave and the end of the T wave in the heart's electrical cycle. GWA, genome-wide association; HLA, human leukocyte antigen; *SLCO1B1*, solute carrier organic anion transporter family, member 1B1.

Daly AK,Nature Rev Genet, 2010

La risposta ai farmaci è prevalentemente di tipo multifattoriale e pertanto la valutazione dei risultati prevede l'utilizzo di modelli complessi

Un test di farmacogenetica è un test genetico e come tale deve essere gestito



Farmacogenetica e farmacogenomica nella pratica clinica

- Il successo della medicina personalizzata dipende dalla disponibilità di test diagnostici accurati e rapidi che identifichino i pazienti che possono trarre beneficio da una terapia
- A tutt'oggi solo il 10 % dei farmaci approvati da FDA contengono informazioni "farmacogenomiche"
- I marcatori molecolari validati sono numerosi ma non altrettanto i test diagnostici

http://www.roche.com/med_backgr-ampli.htm

Author Area

inghirami g - PubMed Results

At your Service

Search

Home > Media > Background Information > AmpliChip CYP450

Company | Figures & Reports | Sustainability | Media | Investors

Divisions | Countries | Health | Diseases | Products | R&D | Careers

- Group News
- Divisional News
- Conferences & Events
- Interactive Media
- Background Information
- AmpliChip CYP450
- Contacts

Background Information

AmpliChip CYP450

AmpliChip: DNA chip-based diagnostic test that provides information on a patient's metabolic status

The AmpliChip CYP450 Test analyzes variations in two genes that play a major role in the metabolism of many widely prescribed drugs. It has been cleared by the FDA and bears the CE mark, allowing the test to be used for diagnostic purposes in the United States and the European Union.

Roche Diagnostis is working on development of AmpliChip microarrays and other gene-based assays for earlier and more specific detection of disease and identification of factors that can influence disease risk, disease progression, or therapy response.

Available images of the Roche AmpliChip CYP450

Download low-resolution image - JPEG, 41 KB
Download high-resolution image - JPEG, 4.9 MB

Download illustration of array technology
JPEG, 237 KB

Background Information

- The CYP450 Gene Family & Drug Metabolism
  PDF, 152 KB
- Learn more about the AmpliChip CYP450 Test in the US on www.amplichip.us.
- Personalized Healthcare
  PDF, 64 KB
- The technology behind AmpliChip microarrays
  PDF, 314 KB

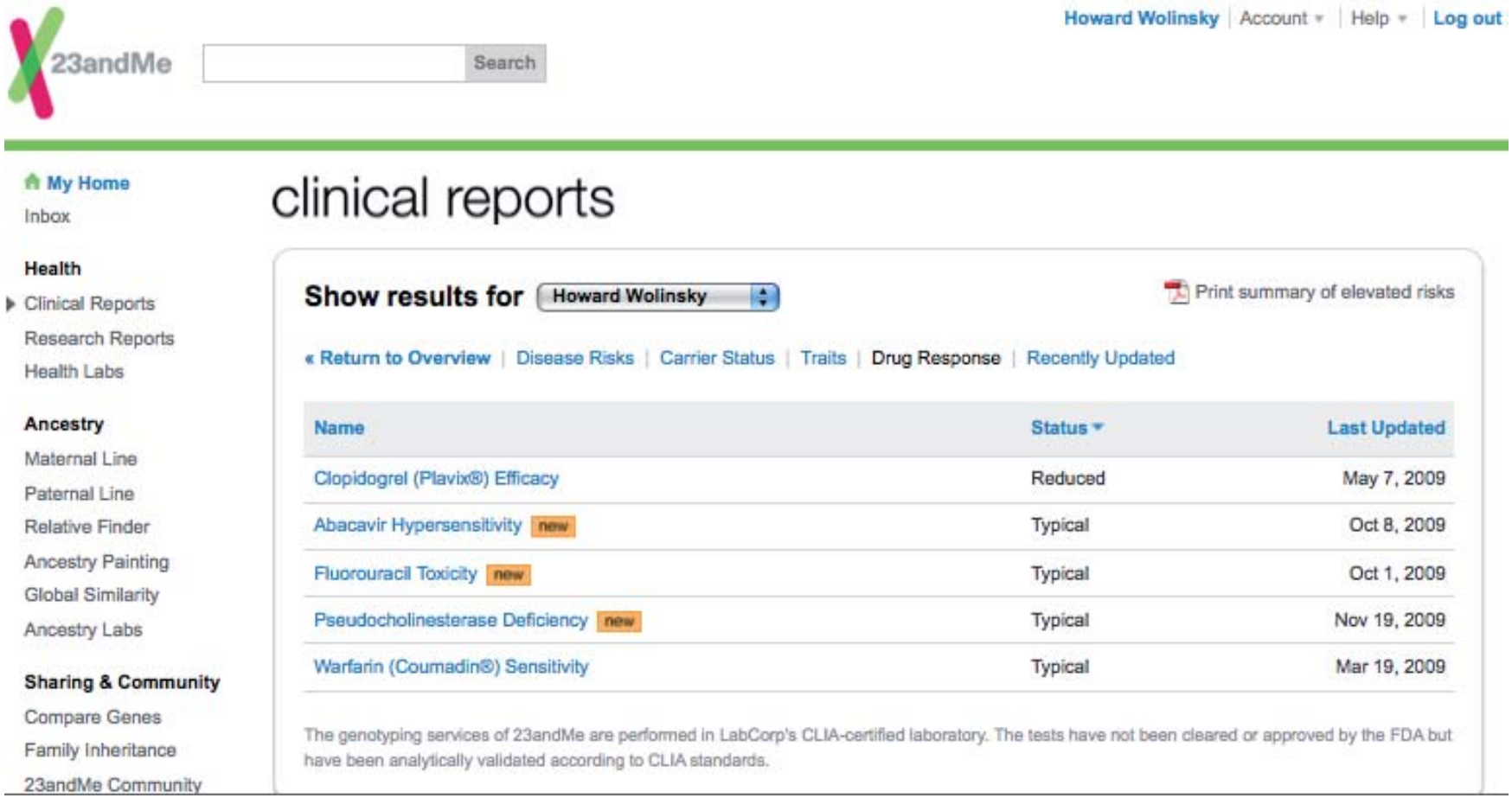
Valutazione di un test genetico

- I criteri ACCE:
- Validità analitica(sensibilità, specificità, DT)
- Validità clinica
- Utilità clinica
- Aspetti etici

Farmacogenetica e farmacogenomica nella pratica clinica

- Il farmacista deve conoscere per quali farmaci esiste una approvazione dall'agenzia del farmaco e se sono state definiti validità clinica e utilità clinica e validità analitica del test e deve conoscere le basi genetiche della disciplina per colmare il gap tra colui che si occupa di genetica molecolare e colui che si occupa di farmaco
- Il genetista in quanto delegato all'interpretazione dei test genetici ed alla conseguente consulenza pre e post test deve avere esperienze specifiche nel campo della farmacogenomica

Direct-to-consumer (DTC) genetic testing and pharmacogenomics



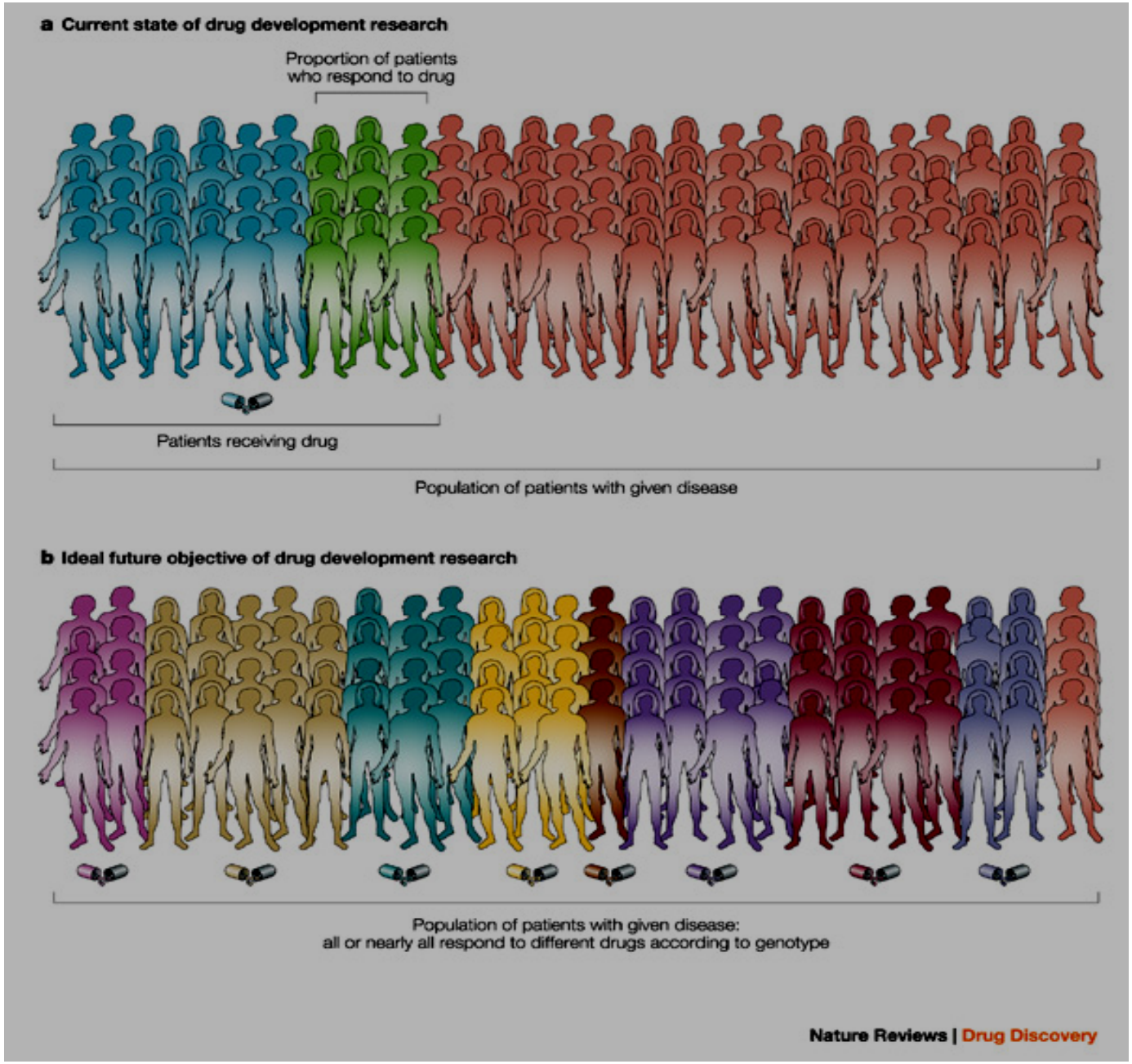
Uno sguardo al futuro….
TEST FARMACOGENETICI PERMETTERANNO UNA TERAPIA PERSONALIZZATA

1) Analisi individuale tramite Chip

2) Elaborazione informatica e studio di possibile risposta avversa al farmaco

3) Farmaco specifico per l'individuo in esame

Il futuro della farmacogenomica …..



Rosatelli SIFO 2010