

Farmacogenetica e Farmacogenomica

LO STATO DELL'ARTE IN FARMACOGENETICA E FARMACOGENOMICA

Maria Cristina Rosatelli

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie Università degli Studi di Cagliari

È sempre più evidente che lo sviluppo di terapie farmacologiche personalizzate sulla base di particolari genotipi individuali, può portare ad un netto miglioramento nella risposta al trattamento ma anche ad una riduzione significativa delle reazioni avverse al farmaco.

Già negli anni '50 prima Motulsky e poi Vogel, partendo dall'osservazione che una componente ereditaria o una caratteristica di particolari gruppi etnici era correlabile con la risposta anomala ai farmaci, posero le basi per una nuova disciplina, la Farmacogenetica, che correlava la risposta individuale ai farmaci con determinanti genetici. Fu solo negli anni '80 e '90 però che queste osservazioni furono suffragate da studi biochimici prima e molecolari più tardi, che portarono alla caratterizzazione di particolari geni, o famiglie di geni le cui varianti alleliche ben correlavano con la diversa risposta individuale a numerosi farmaci.

Attualmente la Farmacogenetica studia la correlazione tra le varianti alleliche di geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo di farmaci, o per target farmacologici o, con maggiore difficoltà, di altri geni che hanno un ruolo importante nell'influenzare la risposta ai farmaci, e la risposta individuale, intesa come aumentata, scarsa o assente risposta ad un farmaco, e sua tossicità. L'approccio dello studio dei geni candidati ha dato importanti risultati identificando geni le cui varianti alleliche singolarmente possono determinare diverse risposte, specialmente nel campo delle tossicità farmacologica.

Vi sono alcuni esempi consolidati di singoli geni coinvolti in reazioni avverse ai farmaci quali le tiopurine, come la azatioprina, usati come immunosoppressori e antitumorali, che causano soppressione dell'attività midollare se somministrati a soggetti con particolari mutazioni inattivanti del gene tiopurina-S-metiltransferasi (TMPT) o l'irinotecano, altro farmaco antitumorale, che causa neutropenia in pazienti che portano un particolare allele sul gene UGT1A1, UDP glucuronosil transferasi, (allele UGT1A1*28) deputato alla glucuronazione di diversi target endogeni ed esogeni. Nel caso dell'Abacavir, farmaco anti HIV, inibitore della trascrittasi inversa, il gene correlato non è coinvolto direttamente nel metabolismo del farmaco ma è uno dei geni del sistema maggiore di istocompatibilità, l'HLA-B. La maggior parte dei pazienti che hanno sviluppato una ipersensibilità al farmaco sono infatti risultati portatori dell'allele HLA-B 5701. Per tutti questi geni

sono stati sviluppati test genetici diagnostici per i quali è stata dimostrata la validità sia clinica che analitica, e il loro uso è stato raccomandato dall'FDA americana, ma anche da altre agenzie del farmaco.

L'approccio dei geni candidati è risultato meno utile nella comprensione della risposta al farmaco, probabilmente perché a questa concorrono anche geni non direttamente coinvolti nel metabolismo. Alcune importanti eccezioni riguardano gli anticoagulanti cumarinici (warfarina e acenocumarolo) per i quali il dosaggio dipende sia da fattori ambientali quali età e indice di massa corporea che genetici. Un terzo della variabilità è infatti correlato con particolari alleli del gene CYP2C9, appartenente alla famiglia del CitocromoP450 ossidasi, che metabolizza i due farmaci e del gene VKORC1 (vitamina K-epossido-reduttasi complesso1) che codifica per l'enzima target dei farmaci stessi.

Con il sequenziamento del genoma umano, avvenuto negli primi anni 2000 attraverso il progetto «The Human Genome Project,» è stata rilevata la presenza in numero estremamente elevato di variazioni di sequenza sparse nel nostro genoma che presentano una frequenza superiore all'1% nella popolazione e che rappresentano una caratteristica distintiva di ogni singolo individuo. Tali variazioni sono definite polimorfismi del DNA e sono rappresentate principalmente da mutazioni di singoli nucleotidi o SNP e varianti strutturali (duplicazioni, inserzioni, inversioni, CNV). I polimorfismi a singolo nucleotide, sono particolarmente frequenti, tanto che si ritiene che in ogni gene, siano presenti almeno 1-3 SNP e che la loro presenza possa modificare la funzionalità del gene stesso e quella delle proteine. Un particolare assetto di SNP o aplotipo, può perciò determinare o essere comunque correlabile con uno specifico fenotipo che nel campo della farmaco genomica può essere rappresentato da una particolare risposta ad un farmaco, come pure, nel campo delle malattie complesse, nella predisposizione individuale a contrarre una malattia.

Da queste osservazioni nasce la Farmacogenomica intesa come quella disciplina che correla le variazioni dell'intero genoma alla variabilità individuale di risposta ai farmaci. Allo sviluppo di questa disciplina è fortemente legata anche la disponibilità di tecnologie sofisticate ad alta processività che consentono di analizzare milioni di SNP, l'intera sequenza di un genoma umano o profili di espressione in diversi tessuti in tempi relativamente brevi con un costo non proibitivo.

Studi di associazione di tipo GWA (Genome Wide Association study) sono stati avviati con l'intento di trovare nuovi geni correlati con la risposta individuale ai farmaci, in particolare quelli che codificano per target farmacologici, categoria meno studiata e compresa rispetto a quella dei geni coinvolti nel metabolismo. Da quando il primo studio è stato avviato nel 2007, alcune decine di studi GWA sono stati sviluppati, ma solo

pochi di questi hanno dato dei risultati tangibili. Alcuni sono stati molto utili nel confermare la correlazione, già peraltro nota, tra geni e particolari farmaci, come nel caso degli anticoagulanti cumarinici, e nella correlazione tra il farmaco antiplastrinico clopidrogel e l'allele 2 del gene CYP2C19. Nuove acquisizioni invece sono state raggiunte nel trattamento del virus dell'epatite C, dove tre diversi studi GWS hanno dimostrato che polimorfismi del gene IL28B correlano con la probabilità di risposta al trattamento con interferone α . In sintesi, comunque, nonostante le promesse che l'approccio GWA sembrava prospettare, la maggior parte dei risultati trasferibili alla pratica clinica provengono ancora oggi dallo studio dei geni candidati.

Nel futuro si prevede comunque una forte espansione delle conoscenze sul nostro genoma e sui meccanismi che ne regolano la funzione che porterà sicuramente ad una crescita esponenziale di test genetici. La definizione della validità clinica e analitica dei test, la loro applicazione nella pratica clinica, la diffusione dell'informazione alla popolazione, la tutela della privacy e le implicazioni che queste acquisizioni hanno non solo per il paziente ma anche per i suoi familiari, saranno problemi che dovranno essere affrontati dalla diverse figure professionali tra cui sicuramente i farmacisti e i genetisti avranno un ruolo di spicco.

FARMOGENETICA E FARMOGENOMICA: FRONTIERA VERSO UNA TERAPIA PERSONALIZZATA

C. Carcassi
Università di Cagliari

La farmacogenetica studia le basi genetiche della risposta ai farmaci: dalla variabilità di risposta individuale alla individuazione di nuovi bersagli terapeutici, più recentemente, grazie ai progressi nello studio del genoma umano, è anche possibile identificare nuovi geni attraverso studi di associazione, analisi di casi familiari o studi di espressione genica condotti sui tessuti bersaglio dei diversi farmaci; a questo nuovo campo è stato dato il nome di farmacogenomica.

Comincia a essere possibile suddividere malattie eterogenee in entità discrete e spiegare la variabilità clinica di queste patologie su basi genetiche. Le ricadute più importanti della genomica probabilmente non riguarderanno a breve termine la diagnosi e la prevenzione delle malattie complesse sulla base di test predittivi. Questo perché le mutazioni individuali che causano patologie come il cancro, il diabete o l'aterosclerosi, avvengono con una frequenza relativamente bassa nella popolazione e, quindi, hanno uno scarso valore predittivo o terapeutico. Più promettente sembra invece l'impiego delle tecnologie della ricerca genomica per indirizzare in modo più sicuro ed efficace l'uso e la scoperta di farmaci. Obiettivo principale è quello di soddisfare istanze che sono sia cliniche sia industriali, sulla base dell'assunzione che l'emergere della variabilità genetica (che, a livello individuale, influenza l'azione dei farmaci) porterà allo sviluppo di nuove procedure diagnostiche e di prodotti terapeutici che consentiranno di prescrivere farmaci più efficaci e sicuri per il paziente.

A tutt'oggi disponiamo come bersagli per i farmaci di sole 507 proteine tra le oltre 300.000 esistenti. A questo punto è indispensabile scoprire nuove porte, nuove proteine. La Farmacogenomica sta portando a scoprire nuove porte e secondo gli scienziati, entro la fine di questo decennio il numero delle proteine disponibili come nuovi bersagli per i farmaci potrebbe passare dalle 500 attuali a più di 10.000.

BIOBANCHE E LORO POTENZIALITÀ NELLA RICERCA CLINICA

M. Filocamo
IRRCG G. Gaslini, Genova

Le Biobanche genetiche sono definite come unità di servizio, finalizzate alla raccolta, alla conservazione e alla distribuzione di materiale biologico umano per diagnosi e per ricerca.

La disponibilità in una biobanca genetica di campioni di materiale biologico e dei dati collegati rappresenta infatti la fonte primaria per studi multidisciplinari che permettono diagnosi, prevenzione e messa a punto di protocolli terapeutici per malattie genetiche rare.

La tipologia dei campioni conservata nelle biobanche genetiche comprende materiale biologico (tessuti, linee cellulari, acidi nucleici...) derivato da:

- persone e famiglie con patologie genetiche;
- soggetti idonei per lo studio di variazioni genomiche associate alla diversa risposta ai farmaci;
- gruppi di popolazione con caratteristiche genetiche idonee per lo studio di geni di suscettibilità (popolazioni con ridotta variabilità interindividuale, elevato tasso di endogamia...);
- gruppi di popolazione utilizzati come controllo.

Le applicazioni della ricerca biomedica possono essere sintetizzate come segue:

- identificazione di nuovi difetti genetici;
- identificazione dei meccanismi patogenetici alla base di malattie genetiche;
- identificazione di geni di suscettibilità;
- studi epidemiologici;
- studi di farmacogenetica e di farmacogenomica;
- messa a punto di test diagnostici;
- sperimentazione in vitro di terapie innovative.

Poiché le malattie genetiche sono spesso rare o rarissime, i risultati della ricerca in questo settore sono prevalentemente legati alla possibilità di centralizzare i campioni di persone affette e loro familiari. Da questa esigenza nasce in Italia, nell'ambito di un progetto quinquennale di Telethon, il primo Network di Biobanche Genetiche (TGBN). Il TGBN è stato istituito con lo scopo di coordinare Biobanche Genetiche Italiane qualificate, con decennale esperienza. È finalizzato a ottimizzare, sia per la comunità scientifica internazionale che per i donatori (pazienti e famiglie), i servizi da esse offerti.

Le attività e la regolamentazione del TGBN sono definite in una Carta Costituente che include linee guida riguardanti aspetti organizzativi ed etici, e definisce benefici e doveri di ciascun componente. Sebbene le Biobanche siano dislocate su tutto il

territorio nazionale, lo sviluppo di un sistema informatico centralizzato permette che il Network appaia all'esterno come un'unica Biobanca virtuale (www.biobanknetwork.org) con un catalogo comune che comprende oltre 450 diversi difetti genetici per un totale di circa 28.000 campioni di diversa tipologia: cellule coltivate (fibroblasti, linfoblasti, mioblasti, linfociti, amniociti, villi coriali), tessuti (nervo, muscolo, vari tessuti fetali), acidi nucleici (DNA, RNA). L'infrastruttura informatica facilita la gestione uniforme dei campioni biologici e dei dati allegati tramite la standardizzazione delle procedure di acquisizione e distribuzione dei campioni. È inoltre uno strumento di massima trasparenza per le Biobanche del network, in quanto monitora il flusso dei campioni richiesti e di quelli distribuiti, e di gestire in formato elettronico la compilazione della modulistica di accesso ai campioni del Network. La richiesta dei campioni, preceduta dalla registrazione on-line del ricercatore, avviene infatti esclusivamente al sito web del Network.

LA CONSULENZA FARMACOTOSSICOLOGICA IN GRAVIDANZA: STRUMENTO PREZIOSO NELL'ASSISTENZA AL CITTADINO

C. F. Intra, E. Zaninoni, F. Trovato, S. Gamba, C. Nazzaro, P. Barabino, I. Lorenzi, E. Panetta, R. Rossi
U.O. Farmacia, I. G. Gaslini - Genova

Premessa ed obiettivi. L'utilizzo dei farmaci in gravidanza è un argomento molto dibattuto, vista la difficoltà nel reperire dati clinici sui loro effetti avversi. A partire dagli anni '60, a seguito del «caso Talidomide» sempre maggiore attenzione è stata posta sulla prescrizione di farmaci in donne in gravidanza a causa degli effetti nocivi specie teratogeni. Tuttavia, la maggiore attenzione agli eventi avversi, ha indotto a misure precauzionali sempre più stringenti, fino a generare l'assunto di «gravidanza uguale no farmaco». Lo scopo principale di questo studio osservazionale, in collaborazione con il Laboratorio di Genetica Molecolare, è pertanto quello di fornire una documentata e quanto più precisa informazione sugli eventuali effetti avversi sul feto di farmaci assunti dalla madre e/o dal padre nel periodo antecedente alla gestazione o in sua concomitanza.

Materiali e Metodi. Il registro delle consulenze fornite a uomini e donne, volontarie, in età fertile, sia in gravidanza, che in epoca preconcezionale e postconcezionale. I dati riguardanti i farmaci assunti sono raccolti tramite intervista del medico alla paziente. Le informazioni ottenute sono riportate su apposito format che viene inviato alla farmacia, la quale fornisce una consulenza di tipo farmacologico e farmaco-epidemiologico al fine di attestare l'effettivo rischio teratogeno del farmaco. In particolare nel caso di terapie croniche vengono suggerite le terapie di scelta. La relazione risultante viene poi presentata alla paziente. Gli strumenti utilizzati sono: schede tecniche farmaci, banca dati Micromedex®, Farmaci e Gravidanza valutazione del rischio teratogeno a cura dell'Agenzia Italiana del Farmaco, Up To Date®, contatti diretti con ditta produttrice.

Risultati. Gennaio-Dicembre 2009 numero pazienti registrati: 60 (3 uomini, 57 donne); numero di principi attivi assunti: 186, di cui: 138 in gravidanza, 40 in epoca preconcezionale, 2 in epoca postconcezionale, 6 assunti da uomini.

Conclusioni. Il momento più critico di tale consulenza è sicuramente la raccolta dei follow up, nel periodo preso in esame ne sono stati raccolti meno di 5, infatti le pazienti che portano a compimento la gravidanza difficilmente danno comunicazione al clinico circa l'esito. Si ritiene quindi di potenziare questa attività sottolineando nel colloquio con le pazienti l'importanza della completezza delle informazioni.

GENERICI E BIOSIMILARI A CONFRONTO: PROBLEMATICHE FARMACOLOGICHE E REGOLATORIE

E. M. Proli (1), S. Scaccianoe (2), E. Jacoboni (3)
1. Farmacia Direttore, Policlinico A. Gemelli - Roma; 2. Fisiologia e Farmacologia Professore, Univ. La Sapienza - Roma; 3. Farmacia Farmacologo, Policlinico A. Gemelli - Roma

Premessa ed obiettivi. Il mercato dei farmaci biologici rappresenta il 40% della spesa farmaceutica ospedaliera, aggirandosi sui cinque miliardi di euro, pari al 20% del settore farmaceutico italiano. Il processo produttivo biotecnologico presenta nelle sue fasi un certo grado di variabilità tale per cui un biosimilare non è una copia esatta del prodotto originale, bensì una riproduzione la cui qualità dipende da vari fattori. Attualmente i biosimilari disponibili sul mercato italiano sono: ormone della crescita, eritropoietine alfa, fattori di stimolazione di crescita (G-CSF); a breve il loro numero è destinato ad aumentare. Obiettivo dello studio è stato sottolineare le differenze e le criticità esistenti tra farmaci generici e biosimilari, analizzando le due categorie sotto diversi aspetti.

Materiali e Metodi. I riferimenti legislativi dello studio sono stati:

- disegno legge numero 1875 concernente Modifiche all'articolo 7 del D. L. 18 settembre 2001 n.347;
- legge 549 (28/12/95), 425 (08/08/96), 347 (29/12/01); omissis. e D. Lvo 219/2006 -linee guida Emea/Cpmp/Bwp/1113/98, 3207/00 ed 3097/02 I farmaci biosimilari sono stati valutati mediante letteratura, consultazione delle schede tecniche e per confronto con i generici. Si sono considerati vari aspetti:
 - strutture;
 - profili farmacocinetici;
 - processi produttivi;
 - profili di efficacia e sicurezza;
 - procedure e controlli necessari per l'immissione in commercio.

Lo studio ha anche messo in luce i differenti tempi di sviluppo (da 5 mesi a 3 anni per i generici, da 6 a 9 anni per i biosimilari), la tipologia e i costi degli studi clinici (al massimo 3 milioni di euro per i generici, dai 20 ai 50 milioni per i biosimilari). È stata effettuata anche una valutazione sulle differenze di costo tra i farmaci generici e biosimilari e gli originators.

Risultati. Essendo i biosimilari farmaci ottenuti mediante tecniche del DNA ricombinante, una loro prerogativa è data dalla variabilità della materia prima e dalle moltitudini di varianti dei processi di produzione, non presenti durante la sintesi chimica dei generici. Ne consegue che l'efficacia e la sicurezza dei biosimilari non sono così prevedibili come per i farmaci generici.

Conclusioni. Il concetto di bioequivalenza non è più sufficiente

per definire l'uguaglianza tra due farmaci, almeno non per quelli biologici. Quindi il cambiamento o la sostituzione del farmaco biologico con il biosimilare dovrà essere inteso come un cambio di terapia. Il verosimile e promettente utilizzo dei farmaci biosimilari consentirà (così come per i generici) ingenti economie da parte del SSN, favorendo nel contempo una maggiore facilità di innovazione ed un allargamento del loro impiego.

La formazione in radiofarmacia

THE RADIOPHARMACIST IN SPAIN AND IN EUROPE: SPECIALIZATION AND PROFESSIONAL COMPETENCE

I. Peñuelas

Dipartimento di medicina Nucleare, Clinica Universitaria di Navarra – Pampalona (Spagna)

1. The Specialization in Radiopharmacy in Spain

1.1. Historical perspective. The Specialization in Radiopharmacy was created in Spain back in 1982, at the same time that all the other Pharmaceutical Specializations. Radiopharmacy was configured as a residency-based specialization. However, it was only in 1993 when the first residents started their formation. It was also in 1993 when a Royal Decree on radiopharmaceuticals (RP) for human use first defined the basic characteristics of the Radiopharmacy Units and the procedures for the preparation of RP.

In 2002 Radiopharmacy was recognized as a hospital-based specialization, but the real need of a Specialist in Radiopharmacy as the only responsible of radiopharmaceuticals was not legally recognized till 2006.

It has been a very long run, but the current situation in Spain is quite stable now, after very many years of struggle with the nuclear medicine doctors community, with whom we currently have a fruitful cooperation and synergy once the unique responsibilities of Radiopharmacists have been recognized.

1.2. Current Status. Radiopharmacy in Spain is currently a 3-year hospital-based specialization. Both Pharmacists and Chemists can have access to the residency period after passing a competitive national exam, that permits just a few of them (6-8 per year) have access to the residency studies. Currently most positions are reserved only for Pharmacists.

1.3. Professional competence. The Spanish Law on Medicinal Products from 2006 and the legislation derived from it have only very roughly established the professional competence of Radiopharmacists, although a more clear and specific definition is needed. Importantly, it is at least stated that the preparation of radiopharmaceuticals must be made under the responsibility of a Specialist in Radiopharmacy in an authorized Radiopharmacy

Unit. The Specialist of Radiopharmacy can thus be envisioned as the Qualified Person responsible of the preparation, control and release of Radiopharmaceuticals. The legal competence to buy RP in a hospital is already reserved to Hospital Pharmacists, albeit the nowadays more common presence of Radiopharmacists in the therapeutic commissions of the hospitals is making the overall decision process more rational and fluent. Nonetheless, the characteristics of the Radiopharmacy Units and the legal requisites for the preparation of RP must already be defined. The Spanish Society of Radiopharmacy (SERFA) is hardly working on these specific topics, based on the general directives of the Radiopharmacy Committee of the European Association of Nuclear Medicine (EANM).

2. Specialization in Radiopharmacy in Europe

2.1 An overview. The situation of Radiopharmacy in Europe is very variable. In general, there is no official recognition of Radiopharmacists or definition of their professional competence. In some countries chemists have traditionally been responsible of the preparation of radiopharmaceuticals, albeit usually the responsibility for batch release and dispensing of radiopharmaceuticals is reserved to pharmacists. Nonetheless, significant exceptions to this rule do exist.

2.2 The situation in France. France is probably (along with Spain) the only EU country in which Radiopharmacy is considered an official post-graduate Specialization. In this case the Radiopharmacy Specialization is, in the practice, reserved for Pharmacists. DES students are for 4 years in a hospital and in the last year, the interested students can start the DESC of radiopharmacy diploma (one year in residency program, one year outside).

2.3. The EANM European Specialization Certificate in Radiopharmacy. The Radiopharmacy Committee of the EANM has established a European postgraduate specialization certificate in Radiopharmacy. It has no official value, as it is a certificate issued by a scientific society, but in some countries it is at least recognized by the authorities as a way to certify the theoretical knowledge and practical experience needed to assume responsibility for the small-scale production and quality control of radiopharmaceuticals.