

LA FARMACOGENETICA: ASPETTI TEORICI E PRATICI

V. PAOLETTI (a), C. PARLAPIANO (a) e N. MUCCI (b)

(a) Istituto di Terapia Medica, Servizio Autonomo di Farmacologia Clinica, Università degli Studi "La Sapienza", Roma
(b) Laboratorio di Immunologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. — Gli autori, dopo aver illustrato i presupposti teorici della farmacogenetica in considerazione di alcune anomale risposte ai farmaci nell'uomo, esaminano il ruolo di questa disciplina nell'ambito della farmacologia umana. Viene analizzato il rapporto fra le alterazioni dei principali processi di biotrasformazione dei farmaci e le probabili modificazioni genetiche ad esse correlate partendo dalle principali manifestazioni cliniche d'interesse farmacogenetico. In particolare, attenendosi alla classificazione di Vesell, distinguono: condizioni genetiche che alterano il metabolismo dei farmaci e condizioni genetiche svelate dalla somministrazione dei farmaci.

Summary. (Pharmacogenetics: theoretical and practical aspects). — The authors illustrated theoretical bases of the pharmacogenetics for some abnormal human responsiveness to drugs, related to modifications of their pharmacokinetics. After an introduction on the most important drug biodegradation processes, the authors review the major clinical conditions of pharmacogenetics interest. According to the Vesell's classification, they recognize: genetic conditions altering drug metabolism and genetic conditions revealed by drug administration.

Introduzione

Una precisa correlazione tra etiopatogenesi di un quadro morboso ed azione di un farmaco è necessaria dal punto di vista teorico, ma non è sufficiente nella pratica clinica per approntare il piano terapeutico nel singolo paziente. Infatti, è necessario precisare la posologia di un farmaco in rapporto a fattori di ordine fisiologico (età, sesso, peso o superficie corporea) e di ordine patologico (alterazioni dell'assorbimento, del metabolismo e dell'escrezione). Dovranno anche essere considerati fattori ambientali e l'eventuale interazione con altri farmaci. Tutto questo ha valore per quanto riguarda l'usuale e prevedibile risposta al farmaco nella maggioranza dei soggetti. Occorre tuttavia considerare che anche la perso-

nalità genetica del soggetto, a causa del polimorfismo genetico, gioca un ruolo importante nella variabilità della risposta ad un farmaco. Ciò implica la necessità di individuare eventuali soggetti che possano presentare risposte sfavorevoli, soprattutto se tossiche, in conseguenza di tale variabilità genetica [1].

Generalità sulla farmacogenetica

L'assenza di un beneficio terapeutico dopo somministrazione di un farmaco, sia pure perfettamente indicato e a dosi piene o anche elevate, così come la comparsa di una risposta da ipersensibilità, anche per dosi inferiori a quelle standard, sono situazioni estreme spesso osservate in clinica, legate alla variabilità individuale di risposta.

Il termine generico di idiosincrasia, con cui venivano spesso etichettate molte di queste manifestazioni, ha in gran parte trovato negli ultimi vent'anni una sua più precisa caratterizzazione alla luce di rinvenute differenze individuali di natura genetica. Difatti, già agli inizi degli anni 50 si scoprì che le anomale risposte a due farmaci, la succinilcolina e la primachina, erano causate da differenze di natura genetica che influenzavano il loro metabolismo. Queste erano dovute rispettivamente alla presenza di varianti atipiche della colinesterasi sierica ed alla carenza della glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD). Fu tuttavia solo nel 1959 che Vogel coniò il termine preciso di "farmacogenetica", dando così il concreto avvio ad una larga serie di studi ed esperienze in questo campo. Da allora l'interesse per queste manifestazioni si è andato sempre più allargando ed il ruolo esercitato dalla genetica nella farmacologia clinica ha assunto prospettive tali da ampliare a dismisura, ed in modo non sempre organico, il campo di speculazione che essa aveva all'inizio. Se difficile può risultare oggi la definizione dei limiti entro cui va riportata la farmacogenetica, nessun dubbio sussiste più sulla sua importanza e sulla necessità di conoscere appieno le sue implicazioni cliniche.

I dati riguardanti l'incidenza che hanno in clinica le manifestazioni da effetti indesiderati dovuti a farmaci (comprendendo anche quelle non dovute a cause geneti-

che) indicano che il 3 - 5% di tutti i ricoveri ospedalieri sono dovuti a reazioni collaterali da farmaci ed il 18 - 30% dei ricoverati in ospedale presentano reazioni da farmaci [2]. Da questi dati si evince la necessità di ridurre e soprattutto prevenire tali possibili risposte anomale all'uso di sostanze medicamentose, anche e soprattutto attraverso una più attenta comprensione dei meccanismi che ne sono alla base. Tra questi meccanismi, come si è detto, largo spazio va dato alla variabilità farmacometabolica individuale, dovuta a fattori genetici.

Lo scopo della farmacogenetica non è solo quello di studiare e identificare quelle manifestazioni collaterali da farmaci imputabili a cause genetiche, ma anche quello di prevenire, nei limiti del possibile, la loro insorgenza, ponendo in evidenza quei soggetti che potrebbero sviluppare una volta venuti in contatto con quel farmaco. Fissati gli obiettivi, resta tuttavia la difficoltà pratica di eseguire studi di natura genetica su vasta scala ai fini sia di ricerca, data la necessità di disporre di gemelli mono- e bi-coriali o di gruppi familiari, sia di prevenzione, data la necessità di ricorrere a *screenings* di massa, per una serie di manifestazioni cliniche che allo stato attuale non sembrano fortunatamente molto frequenti. Al momento, ci sembra utile procedere alla ricerca ed allo studio di tali anomalie genetiche nei parenti e consanguinei di soggetti che abbiano presentato manifestazioni cliniche ad esse imputabili.

Il ruolo della genetica nella farmacocinetica umana

Il profilo farmacocinetico di un medicamento è una catena articolata, composta da una serie di tappe che avvengono nell'organismo: assorbimento, distribuzione, biotrasformazione ed eliminazione. Ognuna di queste fasi è regolata dall'intervento di sostanze di natura proteica, con funzioni di legame, di trasporto e di trasformazione; per ciò è ben comprensibile come, essendo la sintesi di tali molecole proteiche sotto il diretto controllo genetico, siano possibili alterazioni delle suddette fasi in conseguenza di anomalie genetiche. In particolare, mutazioni genetiche che modifichino la quantità e/o la qualità di queste proteine possono alterare la biotrasformazione, il trasporto e la biodisponibilità a livello dei recettori di questi farmaci.

A sintesi degli studi di molti anni, possiamo dire che il meccanismo genetico responsabile della variabilità farmacocinetica tra gli individui si concretizza in due forme essenziali: una, conosciuta da tempo come responsabile di talune anomalie, quali la carenza di G6PD, le varianti della colinesterasi sierica, il polimorfismo della acetiltransferasi, ecc., si sviluppa attraverso un controllo monogenico. Tale ereditarietà legata a un solo gene comporta una variazione biologica discontinua, conducendo così alla formazione di sub-popolazioni distinte, portatrici o meno del tratto ereditario. In pratica, avremo una distribuzione cosiddetta bimodale o trimodale (Figg. 1-3) [24, 36, 20]. Un esempio banale di variazione discontinua ci viene fornito dal carattere sessuale, che divide la popolazione umana in maschi e femmine. L'altra forma, assur-

ta a rilevanza più di recente e documentata per la velocità di eliminazione del fenilbutazone, della nortriptilina, ecc. [3], si estrinseca per mezzo di un controllo poligenico, simile a quello prospettato anche per certe variabilità naturali come la statura, l'intelligenza, la pressione arteriosa, ecc. Questa ereditarietà costituisce una variazione biologica continua e dà vita ad una curva di distribuzione normale o curva di Gauss. L'importanza di conoscere anche l'esistenza di un modello d'eredità poligenica è legata alla maggiore difficoltà che incontriamo nello studio di tale meccanismo ed alle conseguenti scarse informazioni di cui disponiamo in proposito.

Come abbiamo riferito in precedenza, accanto a quelli genetici, anche altri fattori, in particolare quelli cosiddetti ambientali, esercitano un importante ruolo nel determinare la risposta individuale alla somministrazione di un farmaco. Pertanto, constatata l'esistenza di una risposta anomala, occorre valutare l'effettiva importanza dei fattori genetici, soprattutto nei confronti di quelli ambientali. La valutazione della diversa incidenza di questi due ordini di fattori, sia pure in modo generico e quindi suscettibile di molte critiche [4], può essere fatta per mezzo di ricerche condotte su gemelli monocoriali, quindi con genomi identici, e gemelli bicoriali, aventi in comune solo la metà dei loro geni. E' così possibile mettere a punto un parametro atto a distinguere il ruolo dei fattori genetici da quello dei fattori ambientali calcolando la varianza media fra gruppi di gemelli mono- e bi-coriali in base alla formula dell'ereditabilità (H_2) *.

$$H_2 = \frac{\text{varianza tra paia di gemelli bicoriali} - \text{varianza tra paia di gemelli monocoriali}}{\text{varianza tra paia di gemelli bicoriali}}$$

Con questa formula si ottengono valori di H_2 che variano da 0, che indica un controllo genetico nullo ed un controllo ambientale pressoché completo, ad 1, che esprime un' influenza completamente ereditaria [3]. Esempi dell'applicazione concreta di tale formula sono riportati da Vesell e Page [5], Vesell *et al.* [6], Bonicci e Lisboa [7], Biehl [8].

Una volta stabilita l'importanza del fattore genetico, va precisato l'esatto tipo della ereditarietà. Attraverso ricerche condotte su coppie di gemelli, si comporranno le curve di distribuzione, evidenziando una variazione continua o discontinua. Infine si passerà allo studio di gruppi familiari, avendo l'accortezza di prendere in considerazione gli individui agli estremi della curva di distribuzione, per i quali si dovrà approfondire la conoscenza degli alberi genealogici.

* H_2 (ereditabilità): è un termine tecnico riferito alla frazione della totale varianza fenotipica ascrivibile alla varianza genetica; varianza è un termine statistico, direttamente rapportabile alla deviazione standard. La varianza può essere calcolata con la seguente formula: $(\text{differenze tra gemelli})^2 / 2n$. Esempi dell'applicazione pratica di quest'ultima formula si trovano in Vesell e Page [5], Vesell *et al.* [6].

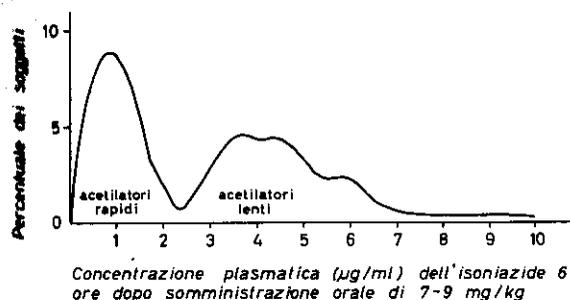


Fig. 1. — Distribuzione degli acetilatori rapidi e lenti di isoniazide in un gruppo di 267 soggetti del Caucaso

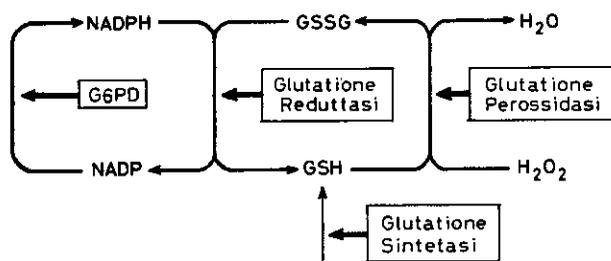


Fig. 2 — Ruolo fisiologico della G6PD

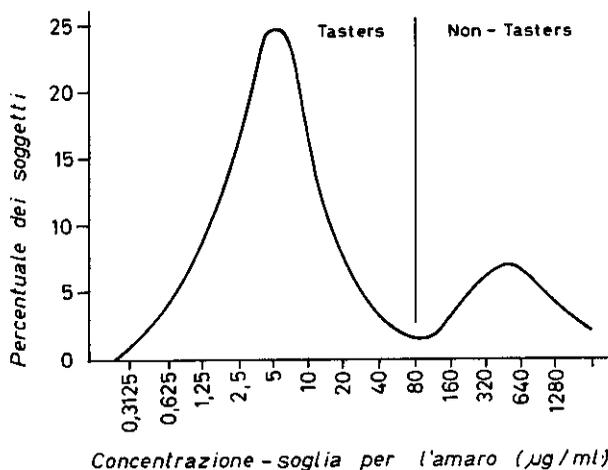


Fig. 3. — Curva della sensibilità all'amaro per la feniltiourea nella popolazione del Caucaso (distribuzione bimodale)

La biotrasformazione dei farmaci

Lo studio delle vie di metabolizzazione delle sostanze attive farmacologicamente consentirà di valutare, nella giusta misura, l'importanza che possono assumere sul piano clinico certe anomalie enzimatiche di natura gene-

tica, in conseguenza della somministrazione di alcuni farmaci. Tutte le reazioni di biotrasformazione dei farmaci avvengono tramite l'intervento di specifici catalizzatori enzimatici, geneticamente controllati. Queste reazioni si svolgono in vari organi del nostro organismo e soprattutto nel fegato. Esse sono di vario tipo, ma fondamentalmente riportabili a due categorie, *reazioni di trasformazione chimica* e *reazioni di coniugazione*, che si attuano generalmente in due fasi successive.

Le reazioni di trasformazione chimica costituiscono in genere la prima fase della biotrasformazione determinando nella struttura del farmaco modificazioni chimiche, anche complesse, mediante processi di ossidazione, di riduzione, di idrolisi (Tab. 1). A catalizzare questo tipo di reazioni sono chiamati due diversi gruppi di enzimi, gli enzimi microsomiali e quelli non-microsomiali. I primi sono quasi completamente devoluti alla biotrasformazione dei farmaci. Essi sono localizzati a livello del reticolo endoplasmico liscio degli epatociti, privi di specificità, e in grado di metabolizzare sostanze a differente struttura purché liposolubili. E' ormai provato che tanto le differenze individuali nell'attività degli enzimi microsomiali quanto la loro suscettibilità ad una induzione o ad una inibizione enzimatica si trovano sotto il controllo genetico. Gli enzimi non-microsomiali sono localizzati oltre che nel fegato in molti altri organi e presentano una moderata specificità.

Le reazioni di coniugazione, che costituiscono la seconda tappa della biotrasformazione dei farmaci, danno luogo alla combinazione chimica del farmaco o dei suoi metaboliti con una molecola fornita dallo stesso organismo. La possibilità di combinarsi con una data molecola (generalmente un aminoacido, un carboidrato, ecc.) dipende dalla presenza di uno specifico gruppo coniugabile (carbossile-COOH, idrossile-OH, aminico-NH, sulfidril-SH) nella formula di struttura della sostanza da coniugare. Le principali forme di reazioni di questo tipo sono riportate nella Tab. 2. Il sistema enzimatico microsomiale epatico è responsabile della catabolizzazione della principale di queste forme, la glicuronoconiugazione. Tutte le trasformazioni metaboliche dei farmaci danno origine a metaboliti più polari, e quindi, meno liposolubili e più idrosolubili, tali cioè da poter essere eliminati dall'emuntorio renale. I prodotti intermedie finali possono essere dotati di un'attività farmacologica che può essere superiore o inferiore rispetto alla sostanza originaria. E' così possibile talvolta la formazione di metaboliti attivi o più attivi, partendo da farmaci inizialmente privi di ogni attività o scarsamente attivi.

Manifestazioni cliniche di interesse farmacogenetico

Attualmente è ancora difficile porre precisi limiti entro cui configurare le manifestazioni cliniche d'interesse farmacogenetico. Ci limiteremo pertanto all'esame di quelle forme oramai da tempo conosciute e documentate, seguendo la classificazione proposta da Vesell [11, 12]. In questa sono comprese le condizioni genetiche, in cui è presente un singolo deficit, che alterano

Tabella 1. — Reazioni di trasformazione chimica

Tipo di reazione	Varietà della reazione	Esempi di farmaci metabolizzati
Ossidazione	Idrossilazione aromatica	Difenilidantoina, fenacetina, fenilbutazone, fenobarbitale, warfarina, ecc.
	Idrossilazione alifatica	Chinidina, fenilbutazone, pentazocina, pentobarbitale, spironolattone, ecc.
	O-dealchilazione	Fenacetina, griseofulvina, papaverina, ecc.
	N-dealchilazione	Aminopirina, clorpromazina, imipramina, lidocaina, meperidina, ecc.
	N-ossidazione delle amine terziarie	Clorpromazina, dimetilanfetamina, guanetidina, nicotinamide, ecc.
	Deaminazione ossidativa	Imipramina, istamina, mescalina, tiramina, ecc.
	N-idrossilazione	Acetanilide, fenacetina
Riduzione	S-ossidazione	Clorpromazina, spironolattone, ecc.
	Riduzione chetonica	Itrato di cloralio, prednisone, warfarina, ecc.
Idrolisi	Nitro-riduzione	Nitrazepam, ecc.
	Idrolisi rapida degli esteri	Cloramfenicolo, procaina, reserpina, succinilcolina
	Idrolisi lenta delle amidi	Isoniazide, procainamide, ecc.

Ripresa dalle referenze [9] e [10].

Tabella 2. — Reazioni di coniugazione

Tipo di reazione	Esempi di farmaci metabolizzati
Glicurono- coniugazione	Acido acetilsalicilico, acido nicotnico, fenacetina, idrato di cloralio, morfina, probenecid, ecc.
Amino- coniugazione	Acido nicotnico, acido salicilico, ecc.
Acetilazione	Acido para-aminosalicilico, idralazina, isoniazide, istamina, sulfonamidi, ecc.
Metilazione	Chinidina, nicotinamide, tiouracile, ecc.
Solfato- coniugazione	Diidroandrosterone, 3-tidrossicumarina, ecc.

il modo con cui l'organismo metabolizza i farmaci (Tab. 3), e quelle che, di per sé asintomatiche o scarsamente patologiche, tuttavia, a seguito di somministrazione di farmaci possono evidenziarsi o aggravarsi con una o più manifestazioni patologiche (Tab. 4).

In aggiunta a quanto segnalato da Vesell, sembra opportuno includere nella trattazione l'anomala risposta a certi farmaci da parte di soggetti affetti da porfiria congenita.

Condizioni genetiche che alterano il metabolismo dei farmaci

Acatalsia. — Questa rara anomalia genetica fu occasionalmente osservata da Takahara [13]. Questi notò, dopo applicazione topica di H_2O_2 su una ferita della mucosa orale, l'assenza delle caratteristiche bolle d'ossigeno, dovute all'azione della catalasi sul farmaco, accompagnata dall'imbrunimento della mucosa circostante, presumibilmente a causa di una denaturazione ossidativa dell'emoglobina prodotta dal farmaco stesso.

Da un punto di vista clinico si conoscono tre stadi

Tabella 3. — Condizioni genetiche che alterano il metabolismo dei farmaci

Manifestazione clinica	Deficit presente	Trasmissione ereditaria	Farmaci responsabili
Acatalsia	Deficienza di catalasi eritrocitaria	Autosomica recessiva	Peroossido di idrogeno
Ipersensibilità alla succinilcolina	Presenza di colinesterasi sieriche (pseudocolinesterasi) atipiche	Autosomica codominante	Succinilcolina
Effetti collaterali da accumulo per acetilazione lenta	Deficienza di N-acetil-transferasi	Autosomica recessiva	Dapsone, fenelzina, idralazina, isoniazide, procainamide, sulfametazina ed altre sulfonamidi
Effetti tossici da accumulo di difenilidantoina	Deficienza di para-idrossilazione	Autosomica dominante	Difenilidantoina
Metaemoglobinemia da fenacetina	Deficienza di O-dealchilazione	Autosomica recessiva	Fenacetina
Ipersensibilità al dicumarolo	Deficienza di idrossilazione	Sconosciuta	Dicumarolo

Tabella 4. — Condizioni genetiche svelate dall'impiego di farmaci

Manifestazione clinica	Deficit presente	Trasmissione ereditaria	Farmaci responsabili
Emolisi da carenza della normale G6PD	Presenza di varianti atipiche della G6PD	Codominante incompleta legata al cromosoma X	(v. Tab. 6)
Emolisi da emoglobine farmaco-sensibili	1) Emoglobina Zurigo 2) Emoglobina H 3) Emoglobina S	Autosomica dominante Autosomica recessiva Autosomica recessiva	Sulfonamidi (v. Tab. 6) Anestetici
Ageusia per la feniltiourea	Assenza dei recettori periferici specifici (?)	Autosomica recessiva	Farmaci aventi il gruppo N=C=S
Ipertemia maligna	Alterato trasporto intracellulare del calcio (?)	Autosomica dominante	Anestetici
Resistenza agli anticoagulanti orali	Aumentata affinità per la vitamina K nel sistema sintetizzante i fattori coagulativi II-VII-IX-X (?)	Autosomica dominante	Cumarinici e derivati dell'indanedione
Porfirie farmaco-sensibili	Azione inducente dei farmaci sulla ALA-sintetasi (?)	Autosomica dominante	(v. Tab. 7)
Ipertensione intra-oculare da cortisonici (glaucoma)	Ipersensibilità dei recettori specifici intraoculari (?)	Autosomica recessiva	Cortisonici

di questa anomalia [13]. La più leggera è caratterizzata dalla presenza di ulcere sugli alveoli dentari; la forma di media gravità è caratterizzata dalla presenza di gangrena alveolare; nella forma più grave si osserva un riassorbimento dell'osso alveolare.

L'eziologia di queste lesioni è legata alla carenza di catalasi, trasmessa come carattere autosomico recessivo, nella mucosa orale di questi soggetti. Si determina così un accumulo di H_2O_2 prodotta da alcuni microrganismi normalmente presenti nella mucosa orale [13]. Raramente si osserva una vera e propria acatalasemia, dal momento che spesso è riconoscibile, anche negli omozigoti recessivi, una residua attività enzimatica. Si tratta quasi sempre di una ipocatalasia, specialmente nel caso di soggetti eterozigoti nei quali è presente un'attività catalasica intermedia tra omozigoti recessivi e individui normali [14].

Nishimura [14] ha messo in evidenza, in 5 famiglie portatrici di tale anomalia genetica, una distribuzione trimodale, legata ad un meccanismo ereditario monogenico, corrispondente a tre sottogruppi: acatalasemici, ipocatalasemici e normali.

Dal punto di vista epidemiologico, tale anomalia mostra la più alta incidenza in Giappone dove colpisce in alcune località anche l'1% della popolazione. Una minore incidenza è stata rilevata in Corea e in Cina, mentre casi sporadici sono stati trovati in Germania, in Svizzera e in Israele, dove però sono generalmente asintomatici.

Ipersensibilità alla succinilcolina. — Questo farmaco, per la sua azione miorelaxante intensa e di breve durata, è largamente usato in anesthesiologia, specialmente nella riduzione delle fratture, per agevolare talune manovre endoscopiche, nonché nel trattamento del tetano. Una transitoria paralisi respiratoria conseguente alla somministrazione del farmaco ha in genere scarsa rilevanza clinica. Dopo somministrazione il farmaco viene idrolizzato rapidamente a succinilmonocolina (un derivato inattivo) ad opera di una colinesterasi sierica, detta anche pseudocolinesterasi per distinguerla dalla colinesterasi vera o acetilcolinesterasi presente negli eritrociti e nel tessuto nervoso.

Nel soggetto normale sono possibili ampie oscillazioni nei valori della colinesterasi sierica. Esistono condizioni patologiche in cui si registra una riduzione significativa del tasso di questa pseudocolinesterasi (epatopatie, gravi anemie, ustioni, malnutrizioni, esposizione a composti organofosforici, somministrazione di alcuni farmaci come gli aminoglicosidi, la ciclofosfamide, gli inibitori della monoaminoossidasi, ecc.); ve ne sono altre in cui si registra un aumento (ipertensione arteriosa, tireotossicosi, nefrosi, ecc.).

Kalow [15] osservò che 1 su 3000 soggetti sono portatori di una pseudocolinesterasi atipica, a causa di anomalie enzimatiche su base genetica, dotata di minore affinità per il suo substrato biologico. La somministrazione della succinilcolina in questi soggetti provoca una apnea prolungata (2-3 ore), per cui è necessario intervenire con mezzi meccanici per mante-

nere la funzione ventilatoria. Occorre inoltre somministrare tempestivamente sangue o plasma freschi oppure preparazioni purificate dell'enzima [16]. La prevenzione può essere attuata determinando l'attività della colinesterasi sierica prima di somministrare ad un paziente succinilcolina per la prima volta. Kalow [15] evidenziò la resistenza di queste pseudocolinesterasi atipiche agli inibitori della comune colinesterasi. Impiegando una sostanza, quale l'anestetico dibucaina, capace di inibire l'enzima normale ma con scarso potere di inibizione sulle forme atipiche, Kalow eseguì uno screening su numerosi soggetti rilevando l'esistenza di tre distinti gruppi che suddivise in base alla percentuale d'inibizione della colinesterasi normale, detto numero di dibucaina (DN): gli omozigoti normali con DN 80%, gli eterozigoti con DN 52-69% e gli omozigoti patologici con DN 20%. Harris e Whittaker [17], usando invece come inibitore il fluoruro di sodio, rinvennero una nuova variante genetica resistente, dovuta alla esistenza di un altro allele per lo stesso locus. Liddell e Lehmann [18] scoprirono individui eterozigoti, dotati di un'attività colinesterasica ridotta a 2/3 del normale, ed altri omozigoti con attività completamente assente, per la presenza di un gene denominato "silente".

Nonostante il polimorfismo genetico della pseudocolinesterasi non sia stato completamente chiarito, dagli studi riportati in precedenza si può ipotizzare che nel locus genetico relativo alla colinesterasi sierica, indicato come E_1 , è comunemente situato il gene normale, definito secondo la dizione inglese, *usual* (U) [16-19]. Tuttavia è possibile la presenza nello stesso locus di altri geni alleli codominanti. Si tratta di quelli prima elencati: l'allele *atypical* dibucaina resistente (a), quello *fluoride* fluoruro-resistente (f) e l'ultimo *silent* (s), tutti trasmessi in maniera autosomica codominante. Le forme atipiche differiscono dalla colinesterasi sierica normale per la loro composizione in aminoacidi e possono essere identificate con metodi cromatografici. Attualmente si è arrivati all'identificazione di 10 distinti genotipi e altrettanti fenotipi (Tab. 5).

In soggetti che presentano una resistenza all'effetto della succinilcolina, sono state segnalate varianti della colinesterasi sierica, dotate di attività superiore alla norma, probabilmente attive su di un locus accessorio E_2 . Si tratta della variante "Cynthiana" e della variante "C₅". La prima, rilevata nella popolazione degli USA [19], è trasmessa da un gene autosomico dominante [20]. La seconda è stata rilevata come una quinta frazione enzimatica nel siero del 5% circa della popolazione britannica [19]. La recente acquisizione di queste due varianti, tuttavia, non consente, al momento attuale, una loro precisa collocazione [20], per cui non sono state inserite nella Tab. 4.

Conseguenza pratica del polimorfismo delle pseudocolinesterasi è la necessità di adeguare la posologia del farmaco per ottenere un pieno effetto terapeutico.

Effetti collaterali da accumulo per acetilazione lenta. — Numerosi farmaci di tipo aminico o idrazinico, una volta introdotti nell'organismo umano subiscono a livello

Tabella 5. — *Ipersensibilità alla succinilcolina dovuta alla presenza di colinesterasi sieriche atipiche.*

Genotipi	Incidenza	Attività colinesterasica %	Risposta alla succinilcolina
Omozigoti :			
U U	96%	100	Normale
a a	1/2500	25-50	Molto prolungata
f f	Assai raro	60	Prolungata
s s	Raro	0-5	Molto prolungata
Eterozigoti :			
U a	1/26	75	Quasi normale
U f	1/280	80	Quasi normale
U s	1/190	70	Quasi normale
a f	Raro	60	Prolungata
a s	Raro	20	Molto prolungata
f s	Assai raro	60	Prolungata

Elaborata sui dati riportati da Rasore-Quartino, A. *et al.* [19] e da Bowman, W. C. & Rand, M. J. [20]

epatico un processo di trasformazione mediante acetilazione. Si tratta di una reazione in cui ad un gruppo amminico della sostanza viene legato acido acetico sotto forma di acetil-CoA. Esistono tre diversi tipi di enzima acetilante con differente e specifica selettività, in funzione della diversa natura stereochimica dei farmaci contenenti il gruppo amminico [21]. La carenza a livello epatico della N-acetiltransferasi, determinata geneticamente e trasmessa come carattere autosomico recessivo, porta alla costituzione di una vasta popolazione d'individui conosciuti come "acetilatori lenti" o "inattivatori lenti" nei confronti di numerosi farmaci quali isoniazide, idralazina, procainamide, fenelzina, sulfanilamide ed altre sulfonamidi, acido paraaminosalicilico, dapsona, ecc.

Oltre alla determinazione nel singolo soggetto della emivita del farmaco in esame, un metodo per stabilire la capacità individuale di acetilare tutti i farmaci metabolizzati per questa via può essere attuato somministrando una singola dose di sulfapiridina e poi valutando le concentrazioni plasmatiche ed urinarie della quota immodificata e di quella acetilata.

Sul piano clinico gli acetilatori lenti, dopo la somministrazione di uno dei farmaci ricordati, presentano tassi plasmatici più elevati del normale, a cui possono far seguito specifici effetti tossici. Dopo trattamenti prolungati, soprattutto a dosi elevate, è possibile in alcuni soggetti la comparsa di una sindrome di tipo

lupoide [22, 23]. Reidemberg [22] riporta una maggiore frequenza negli "acetilatori lenti" anche del *lupus* spontaneo. Ciò sarebbe possibile attraverso l'azione di un qualche fattore chimico ambientale non identificato, forse presente nella dieta, che nell'organismo umano subisca un analogo processo di acetilazione.

D'altra parte, esiste una popolazione di cosiddetti "acetilatori rapidi" i quali, oltre una minore efficacia terapeutica o anche una vera resistenza per le stesse dosi del farmaco, possono presentare particolari effetti dannosi collaterali se i metaboliti intermedi sono attivi o tossici [8].

a) *Isoniazide*. — Sia Bonicke e Lisboa [7] che Biehl [8], studiando le quote di isoniazide non acetilata nelle urine delle 24 ore di gemelli mono e bicoriali hanno dimostrato che i due tipi di acetilazione, rapida e lenta, sono sotto controllo genetico. Normalmente gli "acetilatori rapidi" eliminano immodificato soltanto il 3% della dose di isoniazide, mentre gli "acetilatori lenti" possono raggiungere il 30-35%. Sempre dagli studi su gemelli è risultato inoltre che, mentre il fenotipo lento viene trasmesso geneticamente in maniera autosomica recessiva, quello rapido deriva da un' ereditarietà autosomica dominante [24].

Kalow [25] riporta che l'emivita plasmatica del farmaco varia tra 45 e 80 minuti per l'inattivatore rapido e tra 140 e 200 minuti per quello lento. Ne consegue la possibilità di classificare un soggetto come "acetilatore rapido" o "acetilatore lento" determinando l'emivita del farmaco oppure la sua concentrazione plasmatica 6 ore dopo la somministrazione di una dose standard (circa 9 mg/kg). Evans *et al.* [24] utilizzando tale metodo, hanno studiato la distribuzione degli "acetilatori rapidi" e "acetilatori lenti" in un gruppo di 267 soggetti del Caucaso (Fig. 1), mettendo in evidenza una distribuzione bimodale di tale carattere. La distribuzione geografica e razziale del fenotipo a lenta acetilazione mostra una bassa incidenza nella popolazione esquimese (5%) [20] e dell'Estremo Oriente (10% circa) [20], mentre giungiamo al 50% nella popolazione del Caucaso e degli Stati Uniti, al 60-70% in quella europea e della razza negra, fino all'83% in quella egiziana [20].

E' utile citare le esperienze di Harris [26], che in 775 pazienti con tubercolosi polmonare, trattati con uguali dosi di isoniazide, ha osservato negli "acetilatori lenti" un miglioramento (chiusura delle caverne e negativizzazione dell'espettorato) più rapido, che tuttavia diventava equivalente a quello degli "acetilatori rapidi" dopo sei mesi di trattamento. Tra gli "acetilatori lenti" è possibile non solo la comparsa di anticorpi antinucleo, ma anche una più alta percentuale di neuropatie periferiche, in genere sotto forma di polinevriti, legate ad una carenza di piridossina dovuta agli elevati tassi ematici d'isoniazide: occorre quindi integrare la terapia isoniazidica con somministrazione di vitamina B₆. Negli "acetilatori lenti" è anche più frequente l'insorgenza di un danno epatico con ittero nei trattamenti antitubercolari, in cui all'isoniazide venga associata la rifampicina.

Per gli "acetilatori rapidi", a lato di una risposta terapeutica piena più lenta nel tempo, va segnalata la più frequente comparsa di effetti epato-tossici, probabilmente perché viene liberata nel fegato una più grande quantità di acetyl-idrazina, metabolita acetilato altamente epatotossico. Le differenze nella velocità di acetilazione dell'isoniazide sono importanti per le possibili conseguenze sul piano clinico e per la necessità di provvedere a un adeguamento posologico della terapia.

b) Idralazina. — Anche la biotrasformazione dell'idralazina (idrazinofalazina) e l'acetilazione a livello epatico rappresentano un punto chiave, che risente, così come nel caso dell'isoniazide, della variabilità genetica dell'enzima responsabile. Infatti, anche per questi farmaci è documentata [22, 27] una distribuzione bimodale dei genotipi acetilanti, rapido o lento. In particolare, negli "acetilatori rapidi" la trasformazione metabolica avviene precocemente nel primo passaggio del farmaco attraverso il fegato [22].

Nonostante che, per questo particolare comportamento farmacocinetico, le dosi antipertensive efficaci di idralazina siano più basse negli "acetilatori lenti" che

negli "acetilatori rapidi", in genere non è necessaria una determinazione delle concentrazioni plasmatiche del farmaco per procedere al corretto adeguamento posologico nel trattamento degli ipertesi. Data la diretta correlazione tra dose del farmaco ed effetto ipotensivo, nella pratica è sufficiente iniziare la terapia con le dosi più basse e poi, se necessario, aumentarle gradualmente. Negli "acetilatori lenti" la presenza di maggiori livelli plasmatici provoca alcuni effetti collaterali, fra cui la già citata sindrome lupoidale [22]. Questa peraltro si manifesta soltanto per trattamenti prolungati e per dosi molto elevate, superiori in genere a 200/300 mg al giorno [22].

c) Procainamide. — La procainamide è un altro farmaco per il quale è stata evidenziata una trasformazione metabolica per acetilazione [28] ed un polimorfismo genetico dell'enzima acetilante [28]. Nel corso di trattamenti prolungati, oltre ad una maggiore cardiotossicità, è stata osservata la comparsa di anticorpi antinucleo. Tali effetti compaiono nel 50% dei pazienti trattati per sei mesi [29-30] e nel 100% di quelli trattati per più di un anno [29], verosimilmente in rapporto ad un più rapido manifestarsi di questi fenomeni negli "acetilatori lenti".

Effetti tossici da accumulo di difenilidantoina. — Kutt [31] rilevò la comparsa in alcuni soggetti di effetti tossici a carico del sistema nervoso centrale (ataxia, disartria, nistagmo, sonnolenza), dovuti ad accumulo di difenilidantoina (o fenitoina), anche a dosi terapeutiche, conseguente ad una sua ridotta capacità di biotrasformazione da parte del sistema microsomiale epatico. Per questa anomalia si prospetta una carenza, geneticamente indotta in maniera autosomica dominante, della specifica idrossilasi epatica [20, 31]. In questi soggetti è necessario adeguare le dosi in modo da ottenere livelli plasmatici del farmaco terapeuticamente efficaci, ma non tali da provocare fenomeni da accumulo.

E' importante ricordare come alla base di una carente idrossilazione della difenilidantoina possa esserci anche una interazione con altri farmaci (anticoagulanti cumarinici, cloramfenicolo, fenilbutazone e derivati, disulfiram, isoniazide, metilfedinato, ecc). A livello del sistema microsomiale epatico, infatti, la difenilidantoina agisce da induttore o inibitore enzimatico di molti farmaci. A sua volta, essa subisce un aumento o una diminuzione metabolica da parte di molti altri farmaci [1/II]. Tali interazioni metaboliche positive o negative dipendono dalla dose e dalla durata di somministrazione delle sostanze in causa. La carente idrossilazione della difenilidantoina, quando è determinata da una interazione con l'isoniazide, assume particolare rilievo negli "acetilatori lenti" di questa sostanza [32].

Fra le altre interazioni è interessante ricordare quella con l'alcool etilico, che inibisce il metabolismo della difenilidantoina nell'intossicazione acuta, mentre lo stimola nell'intossicazione cronica [20].

Metaemoglobinemia da fenacetina. — La normale biotrasformazione di questo farmaco procede, a livello microsomiale epatico, attraverso una reazione di O-dealchilazione (O-de-etilazione), con formazione di acetaminofene e successiva glicurono- e solfatoconiugazione. Un'altra via di trasformazione, normalmente assai meno importante, porta alla produzione di metaboliti idrossilati. Pertanto, dal normale metabolismo della fenacetina originano soltanto quantitativi molto modesti di metaemoglobina e di metaboliti idrossilati urinari. Shadidi [33] osservò in due sorelle una crisi emolitica accompagnata da marcato aumento di metaemoglobina nel sangue e di 2-idrossifenetidina nelle urine a seguito di assunzione di fenacetina. L'autore ipotizza che l'anomalo comportamento metabolico sia causato da una carenza genetica della dealchilasi microsomiale epatica, trasmessa come carattere autosomico recessivo, con conseguente prevalenza della via metabolica di idrossilazione. Si determina così la produzione di metaboliti tossici, come la fenetidina, e la formazione non solo di metaemoglobina ma anche di piccole quantità di sulfamoglobina. A conferma di tale ipotesi è stato visto che, nei soggetti affetti da questa anomalia, il pretrattamento con induttori enzimatici, quali il fenobarbital, sulla idrossilasi epatica causa, dopo somministrazione di fenacetina, una emolisi ancora più grave con una notevole metaemoglobinemia [20]. La sintomatologia clinica è quella di una grave anemia emolitica e di disturbi neurologici proporzionali all'aumento della metaemoglobinemia [20].

Si deve sottolineare che la fenacetina è responsabile di crisi emolitiche con metaemoglobinemia nei pazienti con deficienza della glucosio-6-fosfatodeidrogenasi, indipendentemente dalla presenza di alterazioni genetiche del suo metabolismo [20].

Ipersensibilità al dicumarolo. — Sono da segnalare al riguardo due casi (un paziente e la madre, entrambi trattati in corso di infarto del miocardio), riportati da Solomon [34], nei quali l'emivita plasmatica del dicumarolo (o bisidrossicumarina) superò le 82 ore contro le normali 30 ore circa, dopo somministrazione di una dose di 150 mg. Si verificò quindi un accentuato prolungamento del tempo di coagulazione che, nel caso della madre, portò alla formazione di un ematoma spinale e al successivo sviluppo di paraplegia permanente.

Vesell [35] su gemelli mono- e bi-coriali ha evidenziato che il metabolismo di questa sostanza è sottoposto a controllo genetico di tipo poligenico. Pur essendo ancora impossibile stabilire l'incidenza ed i limiti di questa anomalia genetica, è intuibile la sua importanza per spiegare la notevole variabilità individuale di risposta al dicumarolo e, in generale, agli anticoagulanti cumarici, che si osserva in clinica. Di qui anche la necessità di ricorrere a ripetute determinazioni della concentrazione plasmatica di questi farmaci o, almeno, del loro effetto sull'attività protrombinica, specialmente nei trattamenti di lunga durata.

Condizioni genetiche svelate dall'impiego di farmaci

Emolisi da carenza della normale glucosio-6-fosfato deidrogenasi. — L'enzima G6PD svolge, a livello eritrocitario, un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'integrità cellulare, specialmente nei confronti di possibili agenti ossidanti. L'invecchiamento eritrocitario si accompagna, nei soggetti normali, ad una riduzione di attività della G6PD, che è più marcata nei soggetti portatori di una carenza enzimatica su base genetica [35]. Tramite questo enzima si perpetua, lungo la via dei pentosi, una rigenerazione continua di NADPH ridotto, che funge da coenzima della glutatione-reduttasi; per l'azione di quest'ultima viene prodotto glutatione ridotto GSH che, divenendo substrato della glutatione-perossidasi, assicura l'eliminazione di sostanze ossidanti che sarebbero dannose (Fig. 2). Una carenza di G6PD comporta un'aumentata sensibilità dell'eritrocita all'effetto emolitico conseguente all'azione ossidante di molti farmaci (Tab. 6). Alcuni di questi farmaci (per esempio, la fenilidrazina) possono provocare emolisi e metaemoglobinemia anche in soggetti normali, ma sono attivi in dosi molto minori quando sia presente una deficienza di G6PD. Questa deficienza è anche alla base del "favismo" che si manifesta con una emolisi acuta a seguito di ingestione di *Vicia faba* o di inalazione del polline dei suoi fiori. In questo caso, tuttavia, sembra necessaria la concomitanza di un altro deficit genetico, che comporta una riduzione del catabolismo della DOPA, aminoacido contenuto largamente nelle fave [20, cap. 21, p. 45].

Tabella 6. — *Principali agenti responsabili dell'emolisi da carenza di G6PD*

<i>Farmaci:</i>	
Analgesici	(Acetanilide, ac. acetilsalicilico, fenacetina, piramidone)
Antibiotici	(Cloramfenicolo, streptomina)
Antimalarici	(Cloroquina, pamachina, pentachina, primachina)
Nitrofuranci	(Nitrofurantoina, furazolidone)
Sulfonamidi e sulfoni	(Sulfacetamide, sulfametossipridazina, sulfanilamide, sulfapiridina, sulfatiazolo, sulfisoxazolo, dapsona, tiazolsulfone, ecc.)
Vitamina K—simili	(Menadione e suoi derivati)
Vari	(Chinidina, fenilidrazina, probenecid, naftalina ingerita casualmente da bambini)
<i>Fave (Favismo)</i>	

La carenza di G6PD è la più frequente fra le enzimopatie umane, al punto che nel mondo ne sono affetti più di 100 milioni d'individui, di cui i 2/3 sono donne. Studi epidemiologici ne hanno evidenziato la diffusione presso le popolazioni negre dell'Africa (fino al 27%) [37-38] e dell'America (10-20%) [20] le popolazioni del Mediterraneo (fino al Sud Europa ed al Medio Oriente) [39] e nelle regioni del Sud-Est asiatico (India, Indonesia, Filippine, Cina meridionale) [40]. In Italia l'anomalia è particolarmente frequente in Sardegna con un'incidenza del 14,35% [41], ma è presente pure in Sicilia (incidenza 1%) e nel Meridione (incidenza 0,43%) [41]. Poichè in queste zone è stata registrata in passato una diffusione endemica della malaria, si pensa che, come per l'anemia drepanocitica, le emazie con deficienza della G6PD siano state positivamente selezionate dall'infezione parassitaria malarica e siano in un certo grado protette verso le forme più gravi di essa. Queste emazie infatti sono emolizzate precocemente e captate dal sistema reticolo-endoteliale prima della maturazione intra-eritrocitaria del parassita malarico e della sua diffusione nel torrente circolatorio.

Sono numerosi i metodi proposti per riconoscere i soggetti affetti da questa tara genetica; un test semplice si basa sull'osservazione che, in presenza di bleu di metilene, la metaemoglobina degli eritrociti carenti di G6PD si riduce in un tempo molto più lungo del normale. Questo difetto genetico viene trasmesso come un carattere a dominanza incompleta, legato al cromosoma X. Sul piano clinico, quindi, la tara raggiunge la massima espressione nei maschi emizigoti e nelle femmine omozigote. Le donne eterozigote mostrano generalmente una patologia e una sensibilità ai farmaci intermedie, a causa della presenza contemporanea del gene difettoso in uno dei cromosomi X e di un allele normale nell'altro, cosicchè l'uno mitiga gli effetti dell'altro. In queste donne è stata però dimostrata la presenza di una doppia popolazione eritrocitaria (normale ed enzimopatica) piuttosto che una uniforme riduzione dell'attività enzimatica di tutte le emazie [42]. La presenza del gene anomalo si manifesta attraverso mutazioni che portano alla sintesi di varianti strutturali della molecola enzimatica con attività catalitica, proprietà cinetiche, stabilità e mobilità elettroforetica alterate. Si calcola che esistano circa 130 varianti della G6PD, non tutte ugualmente sensibili alla somministrazione dei farmaci citati. Unicamente le varianti con attività inferiore al 30% del normale sarebbero le forme di interesse clinico [43].

La carenza di G6PD si ripercuote, oltre che a livello eritrocitario, anche nell'ambito di quelle cellule che sono normalmente provviste di questo enzima (leucociti, piastrine, epatociti, cellule della mucosa duodenale), tuttavia la loro compromissione non assurge quasi mai a rilievo clinico.

Il fenotipo delle diverse varianti esistenti si esprime con la sigla Gd, seguita da un segno (+) o (-), che ne precisa il grado di attività, e da una lettera (come nel caso delle varianti normali A e B) o dal nome del luogo in cui è stata identificata questa specifica

variante. Gd (+)B rappresenta l'enzima normale comunemente presente nella maggioranza degli individui; accanto ad esso è pure reperibile il tipo Gd(+)A, presente nella razza negra e distinguibile dal primo per una diversa mobilità elettroforetica [20, 44]. La vasta eterogeneità genetica di questa enzimopatia ne giustifica il polimorfismo clinico da tempo conosciuto. Oltre le frequenti forme enzimopeniche completamente asintomatiche e quelle, più rare, accompagnate da un quadro di anemia emolitica cronica non sferocitica, esistono forme, abbastanza frequenti, che si manifestano con crisi emolitiche acute sotto l'azione dei farmaci già ricordati nella Tab. 6. In questo ambito è conosciuta la diversa gravità con cui si sviluppa il quadro emolitico nella variante Gd(-)A (a carico della popolazione negra) e nella variante Gd(-) mediterranea (che colpisce la razza bianca e quella asiatica). Nella prima si assiste a un quadro meno grave, con tendenza alla autolimitazione del fenomeno emolitico. L'attività dell'enzima è quasi normale nei reticolociti ed assai scarsa unicamente nelle emazie più vecchie [44]. La sopravvivenza delle emazie è normale fino a che i pazienti non assumono farmaci ossidanti. L'episodio emolitico può accompagnarsi anche a livelli elevati di metaemoglobinemia e presenza di corpi di Heinz nelle emazie, ma con emoglobinemia ed emoglobinuria modeste e transitorie, perché solo le emazie vecchie sono vulnerabili, mentre quelle giovani con normali attività G6PD aumentano in risposta all'emolisi. Pertanto la quantità di emazie torna normale, anche se la somministrazione del farmaco induttore viene continuata [44]. Nella seconda invece si sviluppa una condizione clinica di maggiore impegno (necessita infatti della immediata sospensione del farmaco) con un'emolisi che coinvolge sia gli eritrociti più vecchi sia quelli giovani, infatti si registra una riduzione dell'attività della G6PD sia nei reticolociti che nelle emazie più vecchie. Una modesta anemia cronica di tipo emolitico è spesso già presente in questi pazienti, anche indipendentemente da episodi acuti [44]. La crisi emolitica si manifesta dopo 2 o giorni dall'assunzione del farmaco con brividi, febbre, dolori diffusi o localizzati in particolare alla schiena, urine brune per la presenza di abbondante emoglobina libera, livelli ematici elevati di metaemoglobina e frequente presenza di corpi di Heinz, a dimostrazione del danno ossidativo. La crisi può essere aggravata da un'infezione intercorrente e da uno stato di cheto-acidosi o di uremia. Quando la metaemoglobina dal normale valore del 2% aumenta a tassi di circa il 15% iniziano fenomeni tossici e cianosi; se i livelli raggiungono il 30-40% si manifestano anossia, dispnea, tachicardia, cefalea, astenia muscolare, sonnolenza; con più alte concentrazioni si aggiungono vomito, stato stuporoso e perdita della coscienza. Una metaemoglobinemia del 70% può portare a morte per insufficienza circolatoria. In questo campo una particolare attenzione deve essere rivolta alla patologia neonatale. Infatti, nei neonati con deficienza della normale G6PD, specialmente se prematuri, sono

frequenti sindromi emorragiche da anemia emolitica con iperbilirubinemia ed ittero; l'iperbilirubinemia può dar luogo ad un ittero nucleare (Kern-icterus) con lesioni neurologiche irreversibili.

Per correggere lo stato di ipotrombinemia da carenza di vitamina K, presente normalmente nei primi giorni dopo la nascita, è maggiormente indicata la somministrazione di preparati di fitomenadione (vitamina K_1), a dosi giornaliere che non superino 1 mg nei neonati e 0,5 mg nei prematuri. Difatti, specialmente nei soggetti G6PD-deficienti, i derivati idrosolubili del menadione (cosiddetti vitamine K-simili) e dosaggi elevati di K_1 , perfino se somministrati a scopo profilattico alla madre nei giorni che precedono il parto, possono provocare ed aggravare l'emolisi e l'ittero, che si intendevano combattere.

Le differenze cliniche indotte dalle due varianti suddette sembrano legate alla deficienza di G6PD, che può essere dipendente da: 1) ridotta sintesi dell'enzima nei precursori eritrocitari (fenomeno invero assai raro, se non addirittura ipotetico); 2) una ridotta attività catalitica di talune mutanti enzimatiche; 3) una instabilità molecolare di altre mutanti [44].

Emolisi da emoglobine farmaco-sensibili. — Alcuni dei farmaci, e in particolar modo le sulfonamidi, responsabili dei fenomeni d'emolisi nei soggetti con deficit di G6PD possono causare una fenomenologia di tipo emolitico in soggetti portatori di talune varianti dell'emoglobina, rese instabili a causa della sostituzione di singoli amino-acidi nella normale struttura della globina. E' il caso dell'emoglobina Zurigo [45], rinvenuta proprio in seguito alla somministrazione di sulfonamidi in membri di una famiglia di portatori della tara, e della emoglobina H, sensibile ai farmaci elencati nella Tab. 6. Altre due emoglobine instabili farmaco-sensibili, assai più rare, sono la Torino e la Shepards Bush che vengono ereditate come forme autosomiche codominanti [20].

Da segnalare, nel merito della sensibilità ai farmaci, la suscettibilità degli individui con emoglobina S, responsabile dell'anemia falciforme, a determinati farmaci anestetici. Questi ultimi possono scatenare crisi anemiche drepanocitiche attraverso un meccanismo ipossiemiizzante [20].

Ageusia per la feniltiourea. — La scoperta di un polimorfismo genetico per la capacità di percepire il sapore della feniltiourea (o feniltiocarbamide) è avvenuta subito dopo la sua prima preparazione nel 1932. La sensazione del sapore amaro di questa sostanza presenta nei vari individui una distribuzione bimodale (Fig. 3) [20] e la sua regolazione viene ereditata come carattere autosomico recessivo. I soggetti privi di tale capacità (*non-tasters*, secondo l'espressiva dizione inglese) sono omozigoti recessivi con costituzione genetica tt, mentre quelli dotati di tale capacità (*tasters*, secondo la dizione inglese) presentano due genotipi, omozigoti TT ed eterozigoti Tt, questi ultimi meno sensitivi degli omozigoti. E' importante notare come anche la percezione gustativa di altre sostanze, che contengono nella loro formula di struttura

il gruppo N-C=S presente nella feniltiourea, sia soggetta alle stesse modalità di trasmissione ereditaria [46]. Fra queste sostanze vanno ricordati i farmaci antitiroidei metil- e propiltiouracile e l'anetoltritone poiché è stata posta in risalto una relazione fra la capacità di percezione del gusto della feniltiourea e la patologia tiroidea. Infatti è riportata una significativa incidenza tra i *non-tasters* di bassi livelli di PBI, con manifestazioni cliniche di ipotiroidismo, quali il gozzo, sporadico ed endemico, ed il cretinismo endemico [47].

L'ageusia per questi farmaci presenta una distribuzione geografica non ancora chiarita; infatti i *non-tasters* sono circa il 33% della popolazione europea ed indù, circa il 10% di quella cinese e giapponese e soltanto il 3% di quella africana [25].

Ipertermia maligna. — L'ipertermia maligna rappresenta una grave ed inattesa complicazione in corso di anestesia effettuata con alotano, ciclopropano, etere, metossifluorano, succinilcolina, ecc., con una incidenza di 1 caso ogni 2000 anestesie [48].

La natura ereditaria dell'ipertermia maligna fu suggerita per la prima volta da Denborough [49] che ne descrisse, in una famiglia di 38 persone, ben 10 casi, tutti manifestatisi dopo esposizione ad un anestetico. Tale condizione, apparentemente trasmessa come autosomica dominante, presenta probabilmente una trasmissione ereditaria più eterogenea, vista la grande variabilità del grado di rigidità muscolare. La patogenesi andrebbe ricercata in un difettoso meccanismo di trasporto del calcio, ione di riconosciuta importanza nella contrazione-decontrazione muscolare [48].

Si manifesta clinicamente, circa un'ora dopo l'inizio dell'anestesia, con la comparsa di tachicardia, che può costituire un sintomo prodromico, e soprattutto di febbre elevata, a cui si associano iperventilazione, cianosi, ipossia e, in due terzi dei casi, rigidità muscolare. I dati ematochimici mostrano uno stato acidotico, ipocalcemia con iperfosfatemia ed un aumento della Kaliemia, della magnesiemia e della glicemia. Questi reperti sono accompagnati da un incremento del metabolismo muscolare che provoca l'ipertermia; l'aumento poi di alcune attività enzimatiche (CPK, LDH e transaminasi) e la comparsa di mioglobinuria documentano un danno muscolare. La prognosi di questa forma è sempre grave e l'esito assai spesso infausto (più del 65% dei casi) [48].

Il trattamento deve essere immediato e diretto a ridurre la temperatura corporea e la spasticità muscolare con impacchi di ghiaccio e la somministrazione di procaina o procainamide. A tale scopo è molto indicato il Dantrolene, farmaco efficace per controllare la rigidità muscolare e quindi la produzione di calore, che però non è disponibile in Italia.

Nonostante la rarità dell'ipertermia maligna, la sua gravità e l'impossibilità di farvi fronte efficacemente hanno spinto gli studiosi a tentare di prevenire il fenomeno evidenziando i soggetti predisposti. A parte una maggiore predisposizione a questa forma nei pazienti che presentano una forma miotonica o altre anomalie

muscolari, tale possibilità si basa sulla esecuzione di test farmacologici *in vitro* e su biopsie di muscolo scheletrico [48].

Un test di semplice esecuzione si fonda sulla valutazione delle concentrazioni di caffeina capaci di determinare un aumento standard della contrazione muscolare in presenza oppure in assenza di alotano. Se, in presenza di alotano, le concentrazioni di caffeina necessarie raggiungono o superano 1,3 mM, il test può considerarsi normale [48].

Resistenza agli anticoagulanti orali. — Un'altra rara condizione genetica, che si manifesta clinicamente con una resistenza agli anticoagulanti cumarinici e ai derivati dell'indanedione, è quella dimostrata con l'uso della warfarina. O'Reilly [50] ha riportato in due gruppi familiari una significativa incidenza di individui resistenti all'effetto anticoagulante della warfarina, attribuibile ad una alterazione genetica con trasmissione autosomica dominante. Tali soggetti necessitavano di dosi venti volte superiori al normale per ottenere una diminuzione dell'attività protrombinica. E' stato ipotizzato, quale meccanismo responsabile, l'esistenza di un recettore o di un enzima con alterata affinità per la vitamina K [51]. Com'è noto, gli anticoagulanti di tipo cumarinico e i derivati dell'indanedione agiscono per competizione con la vitamina K nei riguardi di specifici recettori posti a livello di un sistema enzimatico deputato alla sintesi dei fattori II, VII, IX e X della coagulazione. Nei soggetti resistenti alla warfarina, per una mutazione genetica i siti recettori e/o enzimatici avrebbero una aumentata affinità per la vitamina K, per cui sono necessarie dosi più elevate di anticoagulante.

Porfirie farmaco-sensibili. — Le porfirine sono derivati della porfirina per sostituzione dell'idrogeno posto agli angoli dei 4 anelli pirrolici, che ne formano la struttura, con catene laterali più o meno complesse. La loro importanza deriva dal ruolo essenziale svolto da una di esse, la protoporfirina, come costituente organico dell'eme.

Nel gruppo delle porfirie, che comprendono le diverse condizioni patologiche dovute ad errori nel metabolismo delle porfirine e nella biosintesi dell'eme, di particolare interesse per la farmacogenetica sono le forme epatiche congenite, per il ruolo rivelatore o scatenante svolto sulle loro manifestazioni cliniche da numerosi farmaci di varia natura (Tab. 7). Si tratta della porfiria acuta intermittente, della porfiria variegata o mista e della coproporfiria, tutte a trasmissione autosomica dominante. La prima è diffusa nel Nord Europa e, in particolare, in Svezia (1,5 su 100.000 abitanti) e in Lapponia (1 su 1000); la seconda si riscontra nella popolazione di origine boera vivente nel Sud Africa (3 su 1000), la terza risulta assai più rara [25].

Dal punto di vista clinico, la porfiria acuta intermittente non presenta manifestazioni cutanee da fotosensibilità ed è caratterizzata da episodi acuti

Tabella 7. — *Principali agenti scatenanti e rivelatori di porfirie*

Alcaloidi dell'ergotamina	
Analgesici	(Aminofenazone, pentazocina)
Anticonvulsivanti	(Barbiturici, idantoinici)
Chemioterapici	(Cloramfenicolo, cloroquina, griseofulvina, sulfonamidi)
Metil-dopa	
Ormonici	(Androgeni, estrogeni, progestinici)
Sedativi	(Clordiazepossido, meprobamati)
Sulfoniluree	(Clorpropamide, tolbutamide)
Etanolo	

di disturbi gastro-intestinali (dolori addominali, tanto gravi da simulare una condizione di emergenza chirurgica, accompagnati da vomito e diarrea) e neurologici, periferici (paresi e parestesie di un piccolo gruppo muscolare fino alla quadriplegia flaccida ed alla paralisi respiratoria) e centrali (confusione, sonnolenza, convulsioni, psicosi). Sono spesso presenti febbre, ipertensione e tachicardia. Tali disturbi sono scatenati, oltre che dai farmaci ricordati, da infezioni intercorrenti o dal digiuno; nella donna, in cui sono più frequenti, possono presentarsi durante il ciclo mestruale e subito dopo il parto. In questa forma l'assenza di reazioni cutanee è dovuta alla mancanza di ritenzione delle porfirine, mentre tutte le altre manifestazioni cliniche sono attribuite al danno delle terminazioni nervose provocato dall'accumulo nei tessuti dei loro precursori. Un compito particolarmente impegnativo è il trattamento di questi attacchi di porfiria acuta, perché molti farmaci che potrebbero essere impiegati per combatterne la sintomatologia (analgesici, barbiturici, sedativi, ecc.) possono agire come induttori aggravandone notevolmente il decorso (vedi Tab. 7). E' consigliabile, pertanto, usare come sedativo l'idrato di clorale o la paraldeide e come neurolettico la fenotiazina.

Nella porfiria variegata o mista, al contrario di quella precedente, le manifestazioni maggiori sono costituite dalle caratteristiche reazioni cutanee da fotosensibilità, ma non sono del tutto rari anche attacchi acuti simili a quelli della porfiria acuta intermittente. Eccezionalmente questi possono presentarsi anche nella coproporfiria, che è in genere asintomatica o caratterizzata da manifestazioni lievi e mal definibili di tipo neurologico e mentale.

Nel corso degli attacchi acuti, da un punto di vista

biochimico, tutte le forme suddette sono accompagnate da una cospicua escrezione urinaria dei precursori porfirinici, acido delta-aminolevulinico (ALA) e porfobilinogeno (PBG), mentre le vere e proprie porfirine, escrete sia con le urine che con le feci, variano in rapporto al tipo di deficit enzimatico responsabile della singola forma. Infatti ciascuna delle 3 forme di porfiria è dovuta ad un difetto enzimatico specifico lungo la via della biosintesi dell'eme. Nella porfiria acuta intermittente è presente una riduzione del 50% dell'attività delle uroporfirinogeno-sintetasi e nella coproporfiria un deficit parziale delle coproporfirinogeno-ossidasi; la porfiria variegata, infine, sarebbe dovuta ad una carenza di ferro-chelatasi (Fig. 4).

Alcuni farmaci possono scatenare le crisi acute; questi stessi farmaci possono evidenziare clinicamente forme decorse in precedenza in modo del tutto silente. Per quanto riguarda il meccanismo con cui i farmaci svolgono questa azione, è ormai accertato che essi stimolano l'aumento dell'ALA-sintetasi, l'enzima fulcro che regola l'avvio ed il grado di ampiezza di tutta la catena di reazioni che portano all'eme. Resta tuttavia controverso il meccanismo attraverso il quale ciò si rende possibile. Secondo una prima ipotesi, proposta da Meyer [52], a causa della deficienza enzimatica disseminata lungo la via di sintesi dell'eme, l'ALA-sintetasi diverrebbe più sensibile all'azione inducente dei farmaci in causa. Invece, secondo altri AA [20], i farmaci potrebbero interrompere il complesso meccanismo a tipo feedback negativo che lega la sintesi dell'ALA-sintetasi all'eme, bloccando l'inibitore attraverso il quale l'eme stesso regola la sintesi dell'enzima.

Pertanto, l'aumento di attività dell'ALA-sintetasi, che normalmente è un meccanismo di compenso alla carente formazione di eme, nelle porfirie invece pro-

vocherebbe un'eccessiva produzione di precursori porfirinici e di porfirine, incapaci poi di una ulteriore normale evoluzione per il difetto enzimatico ai vari livelli compromessi.

Ipertensione intraoculare da cortisonici (glaucoma). —

Un aumento della pressione endo-oculare di vario grado, fino a provocare un glaucoma, può essere provocato, dopo istillazioni di collirio o applicazioni locali di glucocorticoidi (prednisolone, betametassone, triamcinolone ecc), ma non di corticosteroidi mineralo-attivi [20]. Il meccanismo di questa azione dei cortisonici è attribuito ad un'alterazione delle glicoproteine del tessuto trabecolare cui consegue una ridotta permeabilità del tessuto all'escrezione dei liquidi.

In funzione dell'intensità della risposta ipertensiva, si ottiene una distribuzione degli individui in tre gruppi: rispettivamente, del 66% con modesti aumenti della pressione endo-oculare (< 6 mm Hg), del 29% con innalzamenti di valore medio (6—15 mm Hg) e, infine, del 5% con aumenti elevati (> 15 mm Hg). Questa distribuzione, geneticamente indotta, è rappresentata da tre differenti genotipi: omozigoti LL per gli aumenti più lievi, eterozigoti Lh per quelli medi, omozigoti hh per i rimanenti ad elevato innalzamento.

Armaly [53] ha posto in risalto come i genotipi hh e Lh siano assai più frequenti nei soggetti affetti da glaucoma. Studi condotti su famiglie di pazienti glaucomatosi hanno inoltre evidenziato che la risposta ai cortisonici dei genotipi hh ed Lh è geneticamente controllata attraverso una ereditarietà di tipo autosomico recessivo e che il gene h è direttamente associato allo sviluppo del glaucoma.

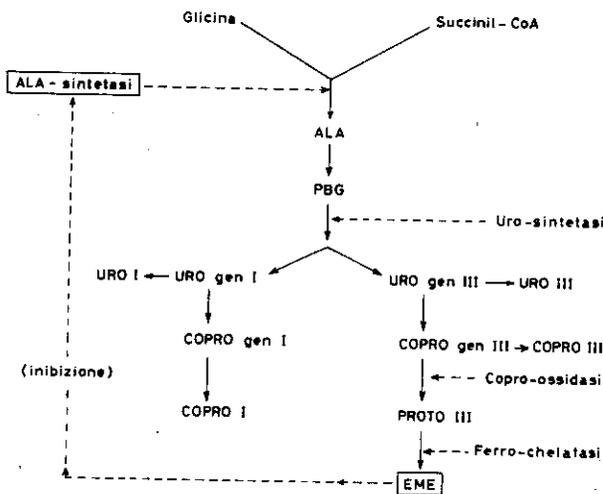


Fig. 4. — Schema della biosintesi dell'eme

Considerazioni conclusive

Da tutta la precedente esposizione è facilmente deducibile la vastità e l'eterogeneità delle implicazioni pratiche della farmacogenetica. Ciò deve stimolare la vigile attenzione dello stesso medico pratico. Infatti, come più volte segnalato, è spesso l'occasionalità del rilievo clinico a fornire utili indicazioni alla ricerca per un approfondimento di questi studi da parte dei genetisti e dei farmacologi. Il costante miglioramento delle metodiche di indagine, la diffusione dei centri di ricerca specializzati e la più profonda conoscenza della farmacogenetica agevoleranno in futuro tale compito.

BIBLIOGRAFIA

1. LENTINI, S. 1977. *Le associazioni di farmaci in terapia*. Ed. L. Pozzi, Roma. I) pp. 18-24; II) pp. 51-58.
2. MELMON, K. L. & MORRELLI, H. F. 1972. *Clinical pharmacology*. McMillan, New York. p. 574.
3. VESELL, E. S. 1974. Polygenic factors controlling drug response. *Med. Clin. North Am.* 58 (5): 951-963.
4. MOTULSKY, A. G. 1978. Multifactorial inheritance and heritability in pharmacogenetics. *Hum. Genet. Suppl.* 1: 7-11.
5. VESELL, E. S. & PAGE, J. G. 1969. Genetic control of the phenobarbital induced shortening of plasma antipyrine half-lives in man. *J. Clin. Invest.*, 48: 2202-2209.
6. VESELL, E. S., PAGE, J. G. & PASSANANTI, G. T. 1971. Genetic and environmental factors affecting ethanol metabolism in man. *Clin. Pharm. Therap.* 12: 192-202.
7. BONICKE, R. & LISBOA, B. P. 1957. Über die Erbbedingtheit der intraindividuellen Konstanz der Isoniazidausscheidung beim Menschen. *Naturwissenschaften* 44: 314.
8. BIEHL, J. P. 1956. The role of the dose and the metabolic fate of isoniazid in the emergence of isoniazid resistance. In: *Transactions of the Conference on chemotherapy of tuberculosis*, 15. Conf., J. Many Jr. Foundation, New York. pp. 279-282.
9. DRAYER, D. E. 1974. Pathways of drug metabolism in man. *Med. Clin. North Am.* 58 (5): 927-944.
10. LEVINE, R. R. 1978. *Pharmacology: drug actions and reactions*. 2. ed. Little-Brown, Boston.
11. VESELL, E. S. 1972. Pharmacogenetics. *N. Engl. J. Med.* 287 (18): 904-909.
12. VESELL, E. S. 1978. Twin studies in pharmacogenetics. *Hum. Genet. Suppl.* 1: 19-30.
13. TAKAHARA, S. 1952. Progressive oral gangrene probably due to lack of catalase in the blood. *Lancet* 2: 1101-1104.
14. NISHIMURA, E. T. et al. 1959. Carrier state in human acatalasemia. *Science* 130: 333-334.
15. KALOW, W. & GENEST, K. 1957. A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine numbers. *Can. J. Biochem. Physiol.* 35: 339-346.
16. GOEDDE, H. W. & AGARWAL, D. P. 1978. Pseudocholinesterase variation. *Hum. Genet. Suppl.* 1: 45-55.
17. HARRIS, H. & WHITTAKER, M. 1961. Differential inhibition of human serum cholinesterase with fluoride: recognition of two new phenotypes. *Nature (London)* 191: 496-498.
18. LIDDELL, J., LEHMANN, H. & SILK, E. 1963. A silent gene in pseudocholinesterase polymorphism. *Nature (London)* 198: 1090.
19. RASORE-QUARTINO, A., PERRONI, L. & NAPPI, C. 1978. Gli anestetici in farmacogenetica. In: *Atti del I Congresso Nazionale Associazione Italiana di Genetica Medica*. G. Pacini (Ed.), pp. 125-136.
20. BOWMAN, W. C. & RAND, M. J. 1980. *Textbook of pharmacology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford-London.
21. GLAUSER, S. C. 1974. Drug metabolism: conjugations and multiple pathways. *Med. Clin. North Am.* 58 (5): 945-949.
22. REIDEMBERG, M. M. & DRAYER, D. E. 1978. Aromatic amines and hydrazines. Drugs acetylation and lupus erythematoses. *Hum. Genet. Suppl.* 1: 57-63.
23. ALARCON-SEGOVIA, D. 1975. Drug-induced systemic lupus erythematosus and related syndromes. *Clin. Rheum. Dis.* 1: 573-582.
24. EVANS, D. A. P., MANLEY, K. A. & KUSICK, V. C. 1960. Genetic control of isoniazid metabolism in man. *Br. Med. J.* 2: 485-491.

25. KALOW, W. 1962. *Pharmacogenetics: heredity and the response to drugs*. Saunders, Philadelphia.
26. HARRIS, H. W. 1961. High-dose isoniazid compared with standard-dose isoniazid with PAS, in the treatment of previously untreated cavity pulmonary tuberculosis. In: *Transactions of the Conference on chemotherapy of tuberculosis*, 20. Conf., J. Macey Jr. Foundation, New York. pp. 39-68.
27. KOCH-WESER, J. 1974. Individualization of antihypertensive drug therapy. *Med. Clin. North Am.* 58 (5): 1027-1036.
28. DREYFUSS, J. et al. 1972. Metabolism of procainamide in rhesus monkey and man. *Clin. Pharmacol. Ther.* 13: 366-371.
29. KOSOWSKY, B. D. et al. 1973. Long term use of procaine amide following acute myocardial infarction. *Circulation*, 47: 1024-1210.
30. BLOMGREN, S. E., CONDEMI, J. J. & VAUGHAN, J. H. 1972. Procainamide-induced lupus erythematosus. Clinical and laboratory observations. *Am. J. Med.* 52: 338-348.
31. KUTT, H. et al. 1964. Insufficient parahydroxylation as a cause of diphenydantoin. *Neurology (Minneapolis)* 14: 542-548.
32. KUTT, H., VEREBELY, K. & McDOWELL, F. 1968. Inhibition of diphenylhydantoin metabolism in rats and in rat liver microsomes by antitubercular drugs. *Neurology (Minneapolis)* 18: 706-710.
33. SHAHIDI, N. T. 1967. Acetophenetidin sensitivity. *Am. J. Dis. Child.* 113: 81-82.
34. SOLOMON, H. M. 1968. Variations in metabolism of coumarin anticoagulants drugs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 151: 932-935.
35. VESELL, E. S. 1973. Advances in pharmacogenetics. *Prog. Med. Genet.* 9: 291-367.
36. BERNARD, J. & LEVY, J. P. 1978. *Abrégé d'hématologie*. 4, ed. Masson Paris. p. 21.
37. MOTULSKY, A. G. 1965. Theoretical and clinical problems of G6PD deficiency. In: *Abnormal haemoglobins in Africa*. A symposium, Ibadan, 18-23 March 1963. J. H. P. Jonxis (Ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford - London. pp. 143-196a.
38. MARKS, P. A. & GROSS, R. T. 1959. Erythrocyte G6PD deficiency. Evidence of differences between negroes and caucasians with respect to this genetically determined trait. *J. Clin. Invest.* 38: 2253-2257.
39. STAMATOYANNOPOULOS, G., PANAYOTOPOULOS, A. & MOTULSKY, A. G. 1966. The distribution of G6PD deficiency in Greece. *Am. J. Hum. Genet.* 18: 296-301.
40. CHAN, T. K. & TODD, D. 1972. Characteristics and distribution of G6PD - deficient variants in South-China. *Am. J. Hum. Genet.* 24: 475-484.
41. SALVIDIO, E., PANNACCIULLI, I., TIZIANELLO, A., GAETANI, G. & PARAVIDINO, G. 1969. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Italy. *Acta Haematol.* 41: 331-340.
42. SANSONE, G., RASORE-QUARTINO, A. & VENEZIANO, G. 1963. Dimostrazione su strisci di sangue di una doppia popolazione eritrocitaria nelle donne eterozigote per la deficienza di G6PD. *Pathologica* 55: 371-375.
43. KIRKMAN, H. N. 1968. Glucose-6-phosphate dehydrogenase variants and drug-induced hemolysis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 151: 753-764.
44. KAHN, A. 1978. G6PD variants. *Hum. Genet. Suppl.* 1: 37-44.
45. MOTULSKY, A. G. & STAMATOYANNOPOULOS, G. 1968. Drugs, anesthesia and abnormal hemoglobins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 151: 807-820.
46. HARRIS, H. & KALMUS, H. 1950. Chemical specificity in genetic differences of taste sensitivity. *Ann. Eugen.* 15: 32-45.
47. KITCHIN, F. D. et al. 1959. PTC taste response and thyroid disease. *Br. Med. J.* 1: 1069-1074.

48. KALOW, W. 1978. Malignant hyperthermia. *Hum. Genet.* (Springer-Verlag). Suppl. 1: 69-70.
49. DENBOROUGH, M. A. *et al.* 1962. Anesthetic deaths in a family. *Br. J. Anaesth.* 34: 395-396.
50. O'REILLY, R. A. *et al.* 1964. Hereditary transmission of exceptional resistance to coumarin anticoagulant drugs: first reported kindred. *New Engl. J. Med.* 271: 809-815.
51. O'REILLY, R. A. & AGGELER, P. M. 1970. Determinants of the response to oral anticoagulant drugs in man. *Pharmacol. Rev.* 22: 35-96.
52. MEYER, U. A. 1978. Drug sensitivity in hereditary hepatic porphyria. *Hum. Genet.* (Springer-Verlag). Suppl. 1: 71-78.
53. ARMALY, M. F. 1968. Genetic factors related to glaucoma. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 151: 861-875.