

IDENTIFICAZIONE DEI POLIMORFISMI Del gene CYP2C19

CYP2C19*2 681G>A - CYP2C19*3 636G>A - CYP2C19*17 806C>T

AMPLI-set CYP2C19

Cat. n. 2.037RT

La modificazione chimica di farmaci attraverso reazioni di biotrasformazione comporta generalmente cessazione dell'attività biologica attraverso una diminuita affinità per i recettori o altri bersagli cellulari, con una più rapida eliminazione dei farmaci dal corpo. Il Citocromo P450 (CYP) sono eme (una classe di emoproteina la cui principale funzione biologica è il trasferimento di elettroni soprattutto nella respirazione cellulare) contenente proteine che catalizzano la formazione biotrans-ossidativa di composti esogeni, quali farmaci e tossici ambientali, nonché il metabolismo di molte sostanze endogene lipofile. Il metabolita principale del **Clobazam** (principio attivo dell'**Urbanyl[®]**) viene metabolizzato dal **CYP2C19**. Alcuni studi hanno dimostrato che la presenza di un solo allele mutato aumenta dalle 10 alle 27 volte il rapporto fra Ndesmethylclobazam (metabolita principale del farmaco) e clobazam nel plasma (N-CLB/CLB) rispetto ad un individuo che non presenta il polimorfismo su nessuno dei due alleli. La conseguenza dell'accumulo di metabolita/principio attivo nel sangue è un aumento degli effetti collaterali e della tossicità. Il gene **CYP2C19** può presentare dei polimorfismi che lo rendono meno attivo nei confronti dei farmaci, dando origine a differenze inter-individuali in risposta all'azione degli stessi. Nel contesto del trattamento, queste variazioni possono influenzare la corretta determinazione della dose iniziale di molti farmaci. Dando luogo sia ad un'overdosaggio che ad un'incapacità di mantenere l'efficacia terapeutica. Nel caso di individui cosiddetti "poor metabolizer" (PM), la reazione di idrossilazione avviene più lentamente rispetto agli individui normali, portando ad un accumulo tossico del farmaco, oppure rallentando gli effetti benefici di quei farmaci che necessitano di essere attivati per agire. Esistono diversi polimorfismi che diminuiscono l'attività di questo citocromo rendendo l'individuo PM, ma il più importante è il **CYP2C19*2** (Rs4244285) (rappresentato dal **4,25%** della popolazione generale). La conoscenza di questi polimorfismi è utile nella scelta del tipo di farmaco oppure nel dosaggio dello stesso, per ottenere il miglior effetto terapeutico e evitare spiacevoli effetti secondari. Gli alleli più comuni sono il **CYP2C19*2** (75-85% degli asiatici e circa il 15% degli europei e degli afro-americani), ed il **CYP2C19*3** (Rs4986893) (6-10% degli asiatici, raro negli europei ed afro-americani). Mentre **CYP2C19*2** crea un aberrante sito di splicing e dà origine a un prematuro stop codon e ad una proteina troncata non funzionale, il **CYP2C19*17** risiede in una regione regolatoria del gene ed è associato ad una aumentata attività trascrizionale. Queste varianti operano quindi in maniera opposta e indipendentemente. I portatori della variante **CYP2C19*17** (rs12248560) hanno un aumentata risposta ai farmaci (**es. maggiore risposta al clopidogrel** e di conseguenza aumentato rischio di sanguinamento). La genotipizzazione degli alleli permette la discriminazione di 3 categorie di pazienti: **metabolizzatori lenti** (Poor Metabolizer - **PMs**): sono pazienti che presentano una mutazione non funzionale in entrambi gli alleli del gene, cioè presentano due alleli non funzionali del gene **CYP2C19** (es. *2.*3 oppure *2.*2). I PM sono persone con deficienze nel metabolismo che quindi hanno una capacità d'attivazione dei farmaci estremamente ridotta o assente, o presentano una ridotta capacità metabolica per numerosi composti. I PM tenderanno ad accumulare o ad eliminare più lentamente i substrati o i farmaci che sono maggiormente metabolizzati dal **CYP2C19**, avranno quindi una maggiore concentrazione a livello ematico del farmaco e generalmente un maggior effetto, a parità di dosaggio, rispetto ad individui che possiedono le forme funzionali dell'enzima. I metabolizzatori lenti sono più frequentemente esposti ad effetti indesiderati se trattati con dosi standard di questi composti.

metabolizzatori intermedi (Intermediate Metabolizer - **IM**) sono pazienti portatori in eterozigosi di una mutazione non funzionale, cioè presentano un allele normale del gene **CYP2C19** ed uno non funzionale (es. *2 - *3) e possono richiedere, per conseguire un'azione terapeutica ottimale, un dosaggio farmacologico inferiore alla norma.

Metabolizzatori estesi (Extensive Metabolizer - **EMs**): sono persone dotate di un **normale** metabolismo farmacologico. Di solito presentano due alleli del gene funzionali (es. *1 - *1).

Metabolizzatori ultrarapidi (Rapid and Ultra-Rapid Metabolizer-**UM**): sono persone dotate di un metabolismo farmacologico aumentato. Presentano un allele *17 in omozigosi o in eterozigosi con *1.

Il kit permette di rivelare con tecnica Real-Time PCR i seguenti polimorfismi CYP2C19*2 681G>A - CYP2C19*3 CYP2C19*17 806C>T del gene CYP2C19.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Principio del metodo:) estrazione del DNA genomico B) amplificazione e rivelazione mediante Real-Time PCR

Applicabilità: Su DNA genomico estratto e purificato da campioni di Sangue Intero.

Numero di Test: 25.

CONTENUTO DEL KIT E SUA CONSERVAZIONE

AMPLIFICAZIONE E RIVELAZIONE	
PCR mix 5X	-20°C
Primers -Probe mix 20X Cyp2C19*2	-20°C
Primers -Probe mix 20X Cyp2C19*3	-20°C
Primers -Probe mix 20X Cyp2C19*17	-20°C
H ₂ O sterile	-20°C
Controllo eterozigote	-20°C

METABOLIZER PHENOTYPE	INTERPRETAZIONE	GENOTIPI
Extensive (Normal) Metabolizer (EM)	Nessuna mutazione è individuata	CYP2C19*1/ CYP2C19*1
Intermediate Metabolizer (IM)	Presenza di un allele non funzionale (*2,*3).	CYP2C19*1/ CYP2C19*2 CYP2C19*1/ CYP2C19*3
Poor Metabolizer (PM)	Due alleli mutati perdita di funzione	CYP2C19*2/ CYP2C19*2 CYP2C19*2/ CYP2C19*3 CYP2C19*3/ CYP2C19*3
Rapid and Ultra-Rapid Metabolizer (UM)	Presenza di almeno un allele CYP2C19*17	CYP2C19*1/ CYP2C19*17 CYP2C19*17/ CYP2C19*17

Riferimenti bibliografici

Favela-Mendoza AF et al. J Genet. 2015; 94,1:3-7.

Bauer T et al. BMJ 2011; 343

Mao L Arch Cardiovasc Dis. 2013 Oct;106(10):517-27

Stabilità: superiore a 12 mesi se correttamente conservato.