

Analisi farmacogenetica e farmacocinetica per la caratterizzazione del genotipo e del fenotipo CYP2A6 nei fumatori

S. Fogli¹, A. Saba², M. Del Re³, L. Carrozzi⁴, F. Pistelli⁴, A. Palla⁴, R. Zucchi², S. Brunelli¹, M.C. Breschi¹, R. Danesi³

¹Dip. di Farmacia, Università di Pisa

²Dip. di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'area Critica, Università di Pisa

³Dip. di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa

⁴Dip. Cardio-Toracico Vascolare, Università di Pisa

La variabilità interindividuale nella clearance della nicotina rappresenta un fattore critico per la bioattivazione dei pro-cancerogeni contenuti nel fumo di tabacco, per lo sviluppo della dipendenza e per la risposta ai farmaci usati nella disassuefazione tabagica (Benowitz. *N Engl J Med* 2010; 362, 2295). L'identificazione di biomarcatori predittivi della capacità individuale di metabolizzare la nicotina rappresenta un interessante prospettiva per lo sviluppo di strategie finalizzate a ridurre il carico di malattie fumo-correlate. Lo scopo dello studio era di mettere a punto una piattaforma per la caratterizzazione del genotipo e del fenotipo CYP2A6, enzima coinvolto nel metabolismo della nicotina. I campioni ematici (circa 5 ml) sono stati ottenuti da 57, tra fumatori attivi ed ex-fumatori seguiti nel Centro per lo Studio e il Trattamento del Tabagismo dell'AOU Pisana. Per la misurazione dei livelli plasmatici dei principali metaboliti della nicotina, cotinina (COT) e *trans*-3-idrossicotinina (3HC), è stato messo a punto un metodo LC-MS-MS impiegando uno spettrometro di massa AB/Sciex API4000 triplo quadrupolo equipaggiato con una sorgente ESI accoppiato ad un sistema HPLC PerkinElmer 200. L'analisi farmacogenetica sul DNA estratto dalla componente corpuscolata è stata effettuata mediante tecnica PCR su due dei polimorfismi più comuni (CYP2A6*2 e *9) associati a deficit funzionale dell'enzima. I risultati hanno evidenziato che i fumatori considerati metabolizzatori lenti, cioè quelli con un rapporto 3HC/COT nel plasma ≤ 0.26 (Gold e Lerman. *Hum Genet* 2012; 131:857), erano il 28,9% del campione analizzato. I risultati dello studio farmacogenetico hanno evidenziato che l'1,8 % e il 10,5% dei soggetti analizzati erano eterozigoti rispettivamente per le mutazioni CYP2A6*2 e CYP2A6*9. Gli individui mutati avevano un valore medio del rapporto 3HC/COT di $0,21 \pm 0,01$. L'unica discrepanza è stata riscontrata in un soggetto che assumeva tapendadolo, un farmaco capace di interferire con il metabolismo della nicotina. Il metodo di analisi in spettrometria di massa si è rivelato sensibile e specifico. I livelli medi di esposizione alla nicotina nei fumatori attivi, in termini di concentrazione media (\pm s.e.m.) di COT e 3HC erano $238,7 \pm 27,1$ ng/ml e $91,2 \pm 11,2$ ng/ml, con valori di monossido di carbonio (CO) nell'aria espirata > 11 ppm. I coefficienti di variazione per i valori di COT e 3HC erano rispettivamente 0.84 e 0.89, indicando una notevole variabilità interindividuale nell'esposizione alla nicotina. Negli ex-fumatori, non esposti a fumo passivo e non in trattamento con terapia sostitutiva (n=5), le concentrazioni dei due metaboliti erano rispettivamente di $2,27 \pm 0,16$ ng/ml e $1,60 \pm 0,20$ ng/ml, con valori di CO di 1-2 ppm. I livelli di CO correlavano con le concentrazioni plasmatiche di COT ($r^2: 0,498$; $p < 0.0001$) e di 3HC ($r^2: 0,411$; $p < 0.0001$). Questi risultati dimostrano che il rapporto 3HC/COT e i polimorfismi CYP2A6*2 e *9 sono biomarcatori affidabili per discriminare tra individui metabolizzatori lenti o normali/rapidi. La conoscenza della capacità individuale di metabolizzare la nicotina potrà essere utile nel valutare il grado di dipendenza nicotinic e la prognosi del tabagista, sia in termini di probabilità di ricadute, sia in termini di maggiore o minore suscettibilità agli effetti cancerogeni correlati al fumo di tabacco. I risultati dello studio potranno inoltre essere tradotti in un algoritmo decisionale per l'ottimizzazione della terapia farmacologica nei programmi di disassuefazione tabagica.