- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.222.205.211 Tue, 16 Apr 2024, 17:42:57

L'evoluzione della ricerca medica: dai trial alla terapia personalizzata

Evasio Pasini[1], Salvatore Pirelli[2], Andrea Di Lenarda[1], Francesco S. Dioguardi[3], Attilio Maseri[4]

[1]Comitato Scientifico ANMCO, [2]Presidente ANMCO, [3]Clinica Medica, Università degli Studi, Milano, [4]Presidente Heart Care Foundation, Firenze

Key words:
Clinical trials; Personalized therapy; Pharmacogenomics; Pharmacoproteomics.

Medical research and consequently therapy are undergoing dramatic transformation. New science on genomics and proteomics has given us important information on the pathophysiology of many cardiac diseases and personalized responses to specific patient-oriented therapies. The application of cellular genetic and proteome tests is a promising field of research and their clinical use can allow us to both: 1) understand the causes and evolution of heart diseases such as ischemia and heart failure better, 2) lead to personalized medicine.

This article focuses on the basic intracellular-related evidence and the unsolved problems and complexity of intracellular signaling that still need to be studied to understand personalized therapies better.

In addition, we provide preliminary clinical data that support the potentiality of this new but fundamental approach of curing patients according to their genetic expression and/or protein activation that influence personalized development and the management of cardiovascular diseases.

(G Ital Cardiol 2010; 11 (10): 761-766)

© 2010 AIM Publishing Srl

Ricevuto il 25 gennaio 2010; nuova stesura il 15 marzo 2010; accettato il 17 marzo 2010.

Per la corrispondenza:

Dr. Evasio Pasini

Fondazione S. Maugeri, IRCCS
Centro Medico di Lumezzane
Via Mazzini, 129
25066 Lumezzane (BS)
E-mail: evpasini@libero.it

Introduzione

I risultati ottenuti dalla ricerca medica negli ultimi 50 anni hanno reso possibile un miglioramento dello stato di salute della popolazione dei paesi industrializzati.

Sino alla prima metà del secolo scorso le terapie mediche erano empiriche e si basavano sull'esperienza del singolo medico. Negli ultimi 35 anni si è evoluta la medicina basata sull'evidenza che utilizza come metodi di analisi i trial randomizzati nei quali pazienti affetti da una particolare patologia, sovrapponibili per alcune variabili ritenute fondamentali per l'evoluzione della patologia stessa, venivano trattati con placebo o terapia attiva in modo che essi stessi e il medico sperimentatore non sapessero quale trattamento venisse somministrato. Al termine di un periodo di tempo prestabilito si analizzava in modo statistico quale era stata l'influenza della terapia attiva su specifici endpoint, quali mortalità o peggioramento della malattia di base, e si valutava il beneficio ottenuto dalla terapia somministrata.

Tale approccio scientifico-statistico forniva informazioni oggettive sugli effetti di una terapia basata su fenotipi ritenuti comuni di patologie quali lo scompenso cardiaco che oggi invece si sa avere basi molecolari endocellulari diverse da individuo a individuo. Di fatto, di recente la scienza medica si è accorta che nei grandi trial non tutti i pazienti rispondono in modo ottimale ai farmaci somministrati. In alcuni casi solamente il 50% circa dei pazienti risponde alla terapia.

Infatti le grandi sindromi cliniche, quali cardiopatia coronarica, scompenso, morte improvvisa, oggetto dei trial randomizzati, sono causate ognuna da una miriade di meccanismi patogenetici diversi, come accade per l'anemia. Non essendo in grado di curare e prevenire i singoli meccanismi perché non sono ancora noti e diagnosticabili, la prevenzione può essere solo statistica. La risposta clinica alla terapia dipende quindi dalla prevalenza delle cause sensibili al trattamento, da fattori ambientali e dalla costituzione genetica del singolo paziente. Di fatto, la variazione di un singolo nucleotide può portare alla formazione di una proteina diversa nella sua struttura o, qualora si tratti di un enzima, con attività enzimatiche diverse dalla proteina originaria indipendentemente dal processo cellulare o *pathway* metabolico in cui essa sia inserita.

È indubbio che, quando saranno scoperti gli specifici meccanismi delle malattie, nuove metodiche molecolari diagnostico-terapeutiche si presenteranno all'orizzonte. Tra di queste sono da ricordare la genomica, la proteomica e la metabolomica.

Tale nuovo approccio consentirà di sviluppare la medicina personalizzata. Essa valuta lo stato globale del paziente che include il fenotipo (quello che clinicamente si può valutare come altezza, peso, razza, pressione arteriosa, frequenza cardiaca, ecc.) con i suoi specifici meccanismi di malattia e il genotipo che

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.222.205.211 Tue, 16 Apr 2024, 17:42:57

Chiave di Lettura

Ragionevoli certezze. È oramai chiaro che i pazienti non rispondono "tutto o nulla" ed in modo omogeneo alla terapia farmacologica e al divenire delle malattie. Di fatto, esiste una risposta personalizzata che dipende dalle caratteristiche genotipiche del paziente. In questo contesto i trial clinici tradizionali mostrano i lori limiti, in quanto la medicina moderna non può più essere solamente basata sulla statistica ma dovrà essere personalizzata per evitare sprechi di risorse ed identificare trattamenti ottimizzati per il singolo paziente.

Questioni aperte. L'approccio delle cure personalizzate dovrà prevedere un *continuum* tra ricerca molecolare di base e attività clinica. Questo approccio rappresenta una nuova sfida per il cardiologo e richiede nuove aperture culturali alla professione che prevedono conoscenze specifiche e lavoro di gruppo tra professionisti con competenze diverse.

Le ipotesi. La futura sfida clinica sarà identificare le molecole ed i momenti endocellulari che regolano la risposta biologica ai farmaci ripristinando una condizione di omeostasi cellulare e/o rallentando o annullando il divenire delle malattie. A tal proposito sarà cruciale identificare le molecole endocellulari coinvolte in tali processi e poterle valutare nei singoli pazienti nel divenire della malattia o durante il trattamento farmacologico.

prevede l'analisi delle caratteristiche geniche e proteomiche in gruppi di pazienti fenotipicamente omogenei all'interno delle varie sindromi. Le differenze fondamentali tra medicina basata sull'evidenza e medicina personalizzata sono riassunte nella Tabella 1.

Di fatto, il cardiologo del domani, ed in alcuni casi già di oggi, dovrà conoscere i nuovi messaggi ed utilizzare gli strumenti che verranno forniti dalla ricerca di base per identificare sia i momenti fisiopatologici specifici del divenire delle malattie sia le molecole in grado di influenzare l'azione dei farmaci usati in sottogruppi di pazienti fenotipicamente omogenei.

Tabella 1. Medicina basata sull'evidenza e medicina personalizzata.

Medicina basata sull'evidenza
Analisi statistica dei risultati
Si basa su studi clinici in gruppi di pazienti ritenuti omogenei per caratteristiche fenotipiche di malattia che vengono trattati con strategie diverse
Riscontro di pazienti che non rispondono alla terapia
Necessità di trattare molti pazienti per ottenere un risultato positivo in alcuni
Incremento del rapporto costi/benefici
Incremento del rapporto rischio/beneficio
Medicina personalizzata
Si basa su caratteristiche molecolari individuali che influenzano la risposta ad una strategia terapeutica
La strategia terapeutica viene eseguita solo nei pazienti che verosimilmente si gioveranno della strategia stessa
Riduzione del rapporto costi/benefici (costi più elevati per l'identificazione del paziente ma minori costi per terapie *quoad vitam* o procedure costose)
Riduzione del rapporto rischio/beneficio

Alcune precisazioni teoriche

Per ogni determinato meccanismo patogenetico la risposta ad un farmaco dipende: (a) dalla sua metabolizzazione che regola la sua biodisponibilità nei vari tessuti; (b) dalla sua azione molecolare che deriva dalla capacità di entrare dentro la cellula o di attivare uno specifico recettore. In base a queste caratteristiche il farmaco modifica il metabolismo delle varie cellule interferendo con uno specifico *signaling* endocellulare. Entrambe queste attività sono mediate da specifiche proteine/enzimi, la cui sequenza aminoacidica può presentare alcune varianti differenti da paziente a paziente.

In tale contesto riteniamo importante di seguito precisare alcune definizioni:

- la farmacogenetica è la scienza che studia in particolare le variazioni geniche e degli enzimi che metabolizzano i farmaci;
- la farmacogenomica spesso è utilizzata come sinonimo di farmacogenetica ma in realtà essa studia gli effetti di tutti i geni che influenzano le azioni dei farmaci, inclusi quelli che regolano la sintesi di proteine delle cellule bersaglio del farmaco stesso;
- la proteomica studia invece le proteine cellulari espresse dai geni in condizioni normali e patologiche. Tale disciplina studia non solo la tipologia delle proteine espresse dai vari geni (analisi qualitativa) ma anche la loro funzione (analisi quantitativa)[1].

Riguardo all'azione delle proteine cellulari va inoltre ricordato che esse sono in una condizione dinamica e non statica. Di fatto, l'attivazione o la disattivazione di una specifica proteina citoplasmatica coinvolta ad esempio nella propagazione endocellulare di un segnale originato da molecole ormonali, infiammatorie o farmacologiche circolanti nel sangue è una condizione dinamica che varia nel tempo. Essa infatti può essere influenzata non solo dalla struttura proteica gene-dipendente ma anche da altre variabili quali alcuni nutrienti, il metabolismo generale o l'attività fisica.

Se ne deduce che il meccanismo di fine regolazione della risposta cellulare ai farmaci è molto complesso. Una delle sfide della ricerca di base futura sarà indubbiamente quella di identificare le modificazioni che influenzano in modo significativo l'azione del farmaco e il divenire della patologia che si intende curare.

La Figura 1 illustra un esempio di traffico endocellulare mediato dalle proteine citoplasmatiche dipendente da molteplici molecole circolanti. La figura illustrata documenta il ruolo della proteinchinasi Akt che regola un sistema di segnali citoplasmatici fondamentali per la vita della cellula. Tra questi si ricordano i segnali anabolici, catabolici, energetico-metabolici, duplicatori, pro-antiapoptotici[2]. Tale figura evidenzia la complessità dei fenomeni da identificare e studiare.

Di fatto, verosimilmente, il risultato finale del nostro intervento terapeutico o del divenire della malattia dipenderà non solo dai farmaci usati o dalle molecole circolanti ma principalmente dall'espressione genica/funzione di Akt e delle proteine coinvolte nella propagazione del segnale delle varie vie metaboliche che esse governano a valle di Akt[2-16].

Le evidenze cliniche

Di seguito riportiamo alcuni esempi pratici dell'impatto clinico di quanto detto in precedenza.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.222.205.211 Tue, 16 Apr 2024, 17:42:57

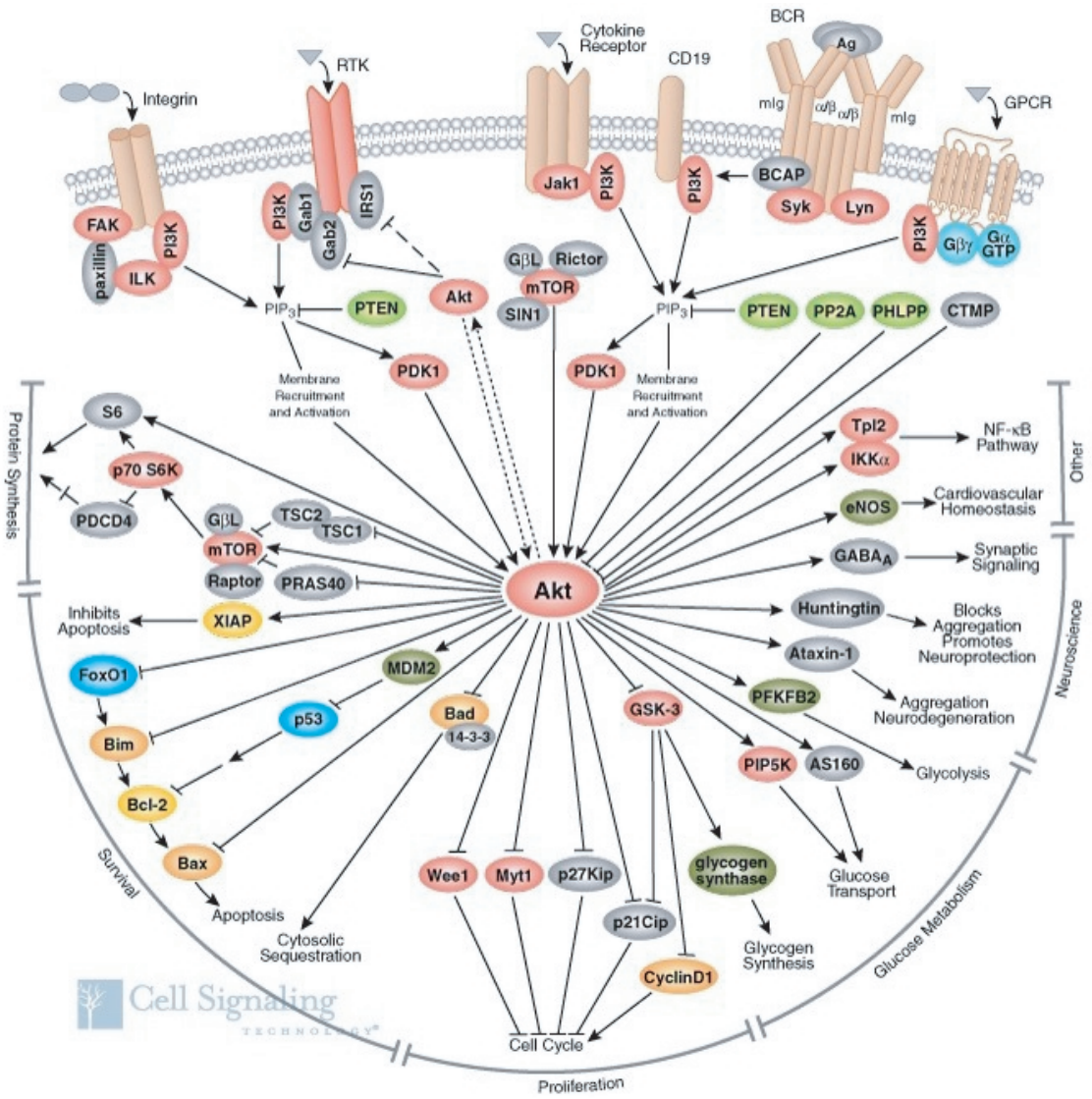

Figura 1. *Akt è una proteinchinasi che fosforila residui di serina/treonina. Essa è coinvolta nel signaling endocellulare di molteplici risposte biologiche cellulari alle molecole circolanti e ai farmaci. La regolazione del signaling, che coinvolge numerose vie metaboliche essenziali per la vita cellulare, è mediata dalla fosforilazione di particolari residui aminoacidici situati in diverse posizioni delle varie proteine situate a valle di Akt. Tra i signaling citoplasmatici regolati da Akt si ricorda: la prolificazione e l'adesione cellulare; la produzione di mediatori circolanti; l'inibizione dell'apoptosi; la regolazione del metabolismo energetico diretto mediante l'uso di molecole energetiche quali il glucosio; la regolazione del metabolismo energetico mediante la regolazione della mitocondriogenesi e della funzione mitocondriale; la regolazione dei segnali anabolici/catabolici endocellulari; la regolazione dell'espressione genica; la regolazione del sistema immunitario; la sintesi proteica.*
Da Manning e Cantley[2], modificata.

Molteplici evidenze cliniche suggeriscono che la terapia con betabloccante è fondamentale nei pazienti affetti da scompenso cardiaco cronico. Di fatto, le linee guida internazionali indicano come fondamentale l'utilizzo di tali farmaci nei pazienti con scompenso cardiaco cronico. Tuttavia bisogna ricordare che la maggior parte dei betabloccanti sono metabolizzati dell'enzima CYP2D6 del quale sono state identificate sino ad oggi 63 varianti geniche che in base alle loro caratteristiche aboliscono, diminuiscono, rendono normale o incrementano il metabolismo dei vari betabloccanti influenzando di conseguenza la loro biodisponibilità ed azione[2]. Ad esempio, la deficienza allelica della forma CYP2D6*4 o la delezione genica della forma CYP2D6*5 così come la presenza delle forme CYP2D6*10, CYP2D6*17 e CYP2D6*41 causano una incapacità o significativa riduzione del metabolismo dei betabloccanti[1]. Da notare che questi genotipi sono presenti in circa il 15-25% della popolazione caucasica, nel 15% della razza nera e solo nel 5-10% degli asiatici[1]. Da quanto detto si deduce la variabilità del dosaggio somministrato richiesto per ottenere gli effetti desiderati del farmaco sui vari pazienti e spiega da un punto di vista molecolare il perché nella pratica clinica empirica il dosaggio dei betabloccanti vada ottimizzato paziente per paziente.

In aggiunta è importante ricordare che esistono anche alterazioni geniche dei recettori $beta_1$ e $beta_2$. Di regola il cuore umano esprime tali recettori nel rapporto 70:30.

Dati sperimentali indicano che in pazienti con scompenso cardiaco cronico il recettore $beta_1$ è *down-regolato* e tale alterazione correla con la severità della patologia

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.222.205.211 Tue, 16 Apr 2024, 17:42:57

mentre il recettore beta$_2$ non risulta modificato quantitativamente. Bisogna ricordare tuttavia che il recettore beta$_1$ ha circa 26 polimorfismi ed il recettore beta$_2$ circa 20. Tuttavia si ricorda che solo 2 e 3 varianti rispettivamente del recettore beta$_1$ e beta$_2$ sono comuni e sono state studiate nelle patologie cardiovascolari.

Di fatto, studi clinici hanno dimostrato che i polimorfismi più comuni del recettore beta$_1$ che si attuano rispettivamente come p.Ser49Gly e p.Arg389Gly (il numero corrisponde alla posizione nella proteina del residuo di aminoacido mutato) hanno risposta diversa alla terapia betabloccante.

L'allele con genotipo Gly49 ha rischio di morte molto basso mentre l'omozigote Ser49 ha rischio aumentato. Inoltre, altri studi hanno dimostrato che i pazienti con cardiomiopatia dilatativa ischemica e frazione di eiezione <35% omozigoti per la forma con Arg389 hanno migliore risposta clinica al carvedilolo se paragonati ai pazienti omozigoti per la forma con Gly389.

Si sottolinea che tali alterazioni sono tutt'altro che rare. Infatti studi epidemiologici hanno dimostrato che la percentuale di presenza di tali forme nelle diverse razze umane varia dal 12% al 46%[1].

Sono stati studiati ed identificati anche polimorfismi del recettore beta$_2$, alfa$_{2c}$ e del sistema di chinasi delle proteine post-recettoriali G. Ad esempio i pazienti con Leu41 sul recettore alfa$_2$ sono protetti dalla morte improvvisa e mostrano un deterioramento molto lento della funzione cardiaca rispetto alle forme normali. Questo accade indipendentemente dalla terapia betabloccante impostata. Al contrario la forma omozigote Gln41 risponde molto bene alla terapia betabloccante con netta riduzione delle morti improvvise o del peggioramento clinico[1].

Studi dedicati sono in divenire anche per identificare le variabili geniche/proteiche e l'influenza clinica dei sistemi deputati alla ricaptazione di noradrenalina sinaptica, del sistema ACE e del *signaling* citoplasmatico delle proteine G. Di particolare interesse sembrano essere ad esempio le evidenze preliminari che dimostrano come variazioni di alcuni recettori appartenenti alla famiglia dei fattori di crescita influenzino il sistema della Akt e mTOR (Figure 1 e 2, Tabella 2) con alterazioni dell'architettura e del metabolismo cellulare, inclusi cardiomiocita ed endotelio[2,17].

Informazioni metodologiche

È fondamentale ricordare che le analisi di farmacogenomica e proteomica si basano su sofisticate tecniche di biologia molecolare. Esse vengono eseguite normalmente su tessuti che richiedono un prelievo bioptico cruento. Se questo è agevole negli animali da esperimento è indubbiamente difficile nei pazienti[18].

Di recente è stato dimostrato che i linfomonociti hanno il *signaling* endocellualre simile alle altre cellule umane[19]. È stato quindi messo a punto un metodo che consente lo studio del *signaling* proteico endocellulare delle chi-

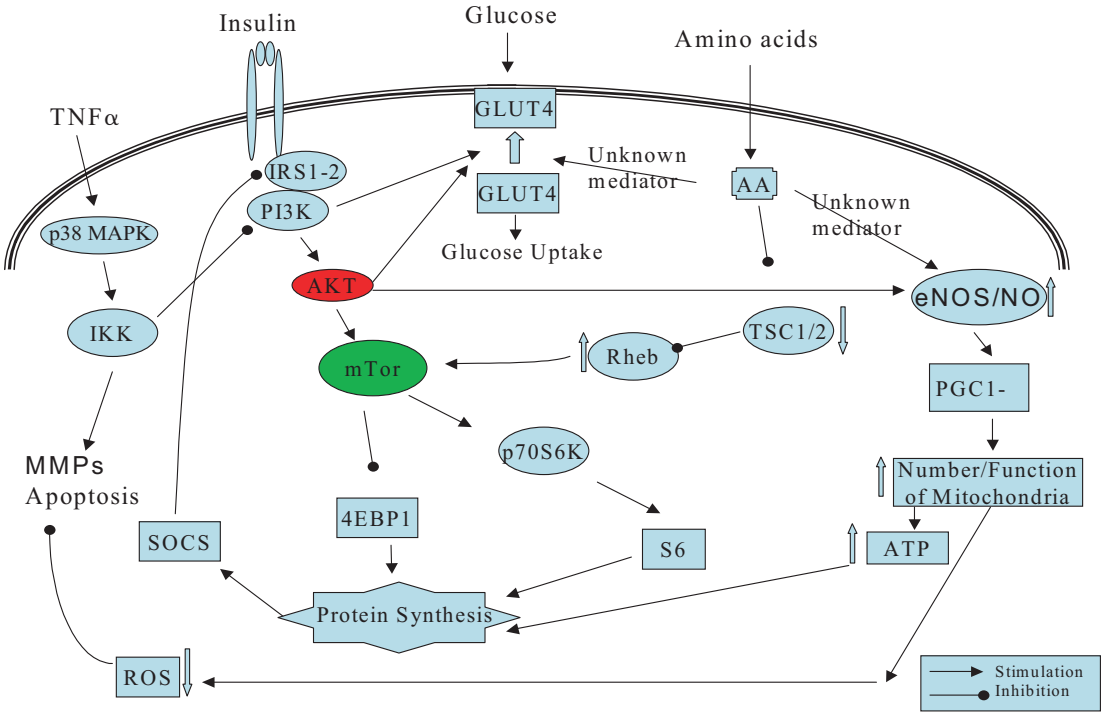

Figura 2. *mTOR (mammalian target of rapamycin) è una chinasi attivata nella forma fosforilata da Akt. Essa è molto ben conservata dal punto di vista filogenetico ed è presente sia nei lieviti sia nelle cellule umane. Tale proteina è posta a valle di Akt e contribuisce a propagare il segnale molecolare con alcune funzioni illustrate nella Tabella 2 in base alle proteine che a sua volta attiva. mTOR è il crocevia molecolare di segnali ormonali anabolici, catabolici e metabolici quali quello dell'insulina che attiva la sintesi proteica e il trasporto/l'attivazione del glucosio all'interno della cellula e la sintesi proteica citoplasmatica. mTOR è inoltre attivato da alcuni nutrienti quali specifici aminoacidi attraverso una via metabolica primordiale alternativa e indipendente dall'insulina.*
Da Flati et al.[17], modificata.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.222.205.211 Tue, 16 Apr 2024, 17:42:57

Tabella 2. Effetti di mTOR.

Attiva
Trascrizione mRNA
Traduzione mRNA
Sintesi e attivazione dei ribosomi
Sintesi proteica
Duplicazione cellulare
Metabolismo cellulare ed utilizzo di macromolecole energetiche
Interazione tra nutrienti
Regola le vie anaboliche e cataboliche endocellulari
Vie antiapoptosi
Riduce
Autofagia cellulare
Vie proapoptotiche cellulari

nasi Akt ed mTOR basato su un prelievo ematico (di fatto ripetibile e incruento) di circa 15 ml. Tale metodo prevede di isolare i linfomonociti con centrifugazioni a gradiente, di congelarli e di svolgere su di essi le analisi proteomiche fondamentali per identificare i vari momenti fisiopatologici e l'evoluzione delle malattie e prevedere le risposte ai farmaci in modo personalizzato[20].

Metodologie di ricerca

I pochi lavori cardiologici che hanno affrontato per il momento la valutazione della risposta personalizzata del paziente alla terapia o al divenire della malattia basandosi su caratteristiche molecolari che riguardano la genomica e la proteomica hanno utilizzato la metodica di analisi detta "ex post" *(a posteriori)*.

Di fatto, come detto in precedenza, pazienti che hanno le stesse caratteristiche cliniche sino ad ora identificate per dare un grado allo stato di malattia, come ad esempio nello scompenso cardiaco la frazione di eiezione, hanno comportamenti diversi in termini di prognosi e risposta alla terapia nel tempo. Tali comportamenti sono imprevedibili con le conoscenze attuali ed i criteri ad oggi usati. Infatti, come detto, i comportamenti clinici delle malattie (come lo scompenso cardiaco) dipendono ad esempio, naturalmente a parità di condizione di altre variabili quali la terapia ottimizzata e la sua assunzione, dal fatto che un recettore alfa ha o non ha un residuo di arginina.

Si deduce che in questa fase l'analisi "ex ante" *(a priori)* è improponibile perché non è ben noto: (a) che cosa analizzare, (b) che impatto quanto analizzato *a priori* potrebbe avere sull'evoluzione della malattia e (c) perché dovremmo analizzare tutti i pazienti previsti nello studio e seguirli nel tempo mettendo insieme dopo anni di follow-up la risposta clinica con le caratteristiche molecolari cellulari identificate in partenza.

Di fatto, la prima fase di questa ricerca innovativa dovrebbe prevedere di raggruppare i pazienti in base ai criteri tradizionali di omogeneità (ad es. età, sesso, frazione di eiezione, consumo di ossigeno, ecc.). In seguito i vari gruppi di pazienti verranno seguiti per un certo periodo di tempo. A parità di trattamento e stato di malattia iniziale è tuttavia prevedibile osservare delle risposte diverse in alcuni individui studiati.

In base alla metodologia di studio *a posteriori* dovranno essere studiate la genomica e la proteomica solo di quei pazienti che hanno risposte diverse da quelle attese o da quelle ottenute dalla maggioranza dei pazienti. In questo modo si potrebbero evidenziare le differenze molecolari cellulari di *signaling* che esistono fra il gruppo che ha avuto una particolare evoluzione della malattia e quei pazienti che hanno avuto evoluzioni diverse.

Se ne deduce che solo in questo modo si otterranno delle informazioni molecolari che consentiranno *a priori*, cioè "ex ante", di identificare i pazienti che avranno una storia clinica diversa da quella della maggioranza dei pazienti ed indipendente dalle variabili cliniche utilizzate sino ad oggi.

Riflessioni conclusive

In una recente intervista al *New York Times* il dr. Motulsky, padre della farmacogenomica e sostenitore della terapia personalizzata, ha affermato "certamente dovremo svolgere molta ricerca prima che la farmacogenomica diventi una realtà nella pratica clinica [...] prima che si realizzi il miracolo che tale ricerca promette" (www.nytimes.com).

Siamo sicuramente all'alba di una nuova era dove la ricerca di base creerà un *continuum* con la ricerca clinica fornendo mezzi per impostare e sviluppare terapie personalizzate al fine di evitare effetti collaterali dei farmaci e massima risposta terapeutica in base ai vari momenti fisiopatologici molecolari che caratterizzano il divenire della malattia e la risposta ai farmaci nel singolo individuo.

Di fatto, la moderna ricerca in alcune discipline avanzate quale l'oncologia propone già la nuova figura del medico in grado di avere un'ottima preparazione clinica per curare il paziente ma anche in grado di gestire, organizzare e capire informazioni di biologia molecolare su campioni biologici del paziente che consentiranno al medico stesso di impostare una terapia personalizzata ricavata da informazioni molecolari endocellulari che regolano la risposta biologica della cellula e che dipendono dalle molecole circolanti, inclusi i farmaci. Tali valutazioni potranno essere fatte sul singolo paziente al fine di ottenere la massima risposta terapeutica in quel paziente in base alle sue caratteristiche cliniche e alla risposta biologica analizzata mediante valutazioni personalizzate molecolari. Tale possibilità avrà inoltre importanti ricadute sulle valutazioni costo-efficacia, in quanto verrà impostata una terapia al paziente che veramente si potrà giovare di tale terapia e verranno evitate somministrazioni o procedure costose a pazienti che invece non si potranno giovare di tali interventi.

L'importanza della terapia personalizzata su base genetica e proteomica è stata recentemente enfatizzata dal *New England Journal of Medicine* che in un editoriale dedicato ha affermato che "siamo testimoni di un nuovo approccio della medicina"[21].

Come cardiologi ci aspetta una nuova ma eccitante sfida che corre molto veloce e alla quale crediamo sia difficile sottrarsi, anche se essa ci impone di rivedere la nostra preparazione e alcune nostre attuali certezze. Questo è però il bello della ricerca e come tale dobbiamo trovarci preparati quando essa diventerà realtà clinica sicuramente prima di quanto noi pensiamo.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.222.205.211 Tue, 16 Apr 2024, 17:42:57

Per una ricerca personalizzata il cardiologo gioca un ruolo determinante nell'identificazione di fenotipi di pazienti omogenei, nei quali la malattia è causata da uno stesso, specifico meccanismo patogenetico. Infatti, a meno che non agisca su un meccanismo finale comune responsabile della sindrome, ogni trattamento sarà efficace solo nei pazienti in cui è in grado di correggere il loro personale meccanismo patogenetico, ma non sarà efficace in altri nei quali il meccanismo causale è diverso e non sensibile a quel trattamento: una trasfusione corregge un'anemia, per prevenirla bisogna conoscerne le cause specifiche! Tuttavia una terapia patogenetica è efficace in tutti i casi trattati e non necessita di verifiche statistiche: un'anemia causata da un deficiente apporto di ferro o di vitamina B12 è curata e prevenuta dalla loro adeguata somministrazione in tutti i pazienti!

Riassunto

La ricerca medica sta vivendo un significativo cambiamento. È in atto il processo di cambiamento dalla medicina basata su calcoli statistici originati dagli studi clinici classici alla medicina personalizzata che tiene conto delle caratteristiche soggettive del paziente. In questo contesto grande impulso viene dalla genomica e proteomica che ci consentono di identificare il divenire della malattia e le possibili risposte terapeutiche ottimizzate per singolo paziente e non per patologia.

Questa strada è indubbiamente all'inizio ed è difficile ma, come indicano la letteratura internazionale e il buon senso, è la strada da percorrere per curare al meglio i nostri pazienti.

Questo lavoro illustra esempi molecolari e clinici pratici di come le mutazioni geniche ed i comportamenti proteici endocellulari influenzino la nostra attività clinica quotidiana.

Parole chiave: Farmacogenomica; Farmacoproteomica; Terapia personalizzata; Trial clinici.

Bibliografia

1. Azuma J, Nonen S. Chronic heart failure: beta-blockers and pharmacogenetics. Eur J Clin Pharmacol 2009; 65: 3-17.
2. **Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigation downstream. Cell 2007; 129: 1261-74.**
   Riporta il traffico citoplasmatico del *signaling* cellulare responsabile della vita e della morte cellulare. È interessante notare che il *signaling* risponde a diversi segnali di molecole circolanti e che molte molecole attivate all'interno della cellula si attivano o disattivano le une con le altre, rendendo il traffico molecolare ancora più complicato. In condizione di omeostasi cellulare il traffico con le sue varie influenze funziona al meglio. Nel caso di perdita di omeostasi si instaura una condizione patologica di malattia con il suo divenire ed i suoi sintomi.
3. Wang Q, Liu L, Pei L, et al. Control of synaptic strength, a novel function of Akt. Neuron 2003; 38: 915-28.
4. Pommery N, Henichart JP. Involvement of PI3K/Akt pathway in prostate cancer - potential strategies for developing targeted therapies. Mini Rev Med Chem 2005; 5: 1125-32.
5. Basso AD, Solit DB, Chiosis G, Giri B, Tsichlis P, Rosen N. Akt forms an intracellular complex with heat shock protein 90 (Hsp90) and Cdc37 and is destabilized by inhibitors of Hsp90 function. J Biol Chem 2002; 277: 39858-66.
6. Fornaro M, Plescia J, Chheang S, et al. Fibronectin protects prostate cancer cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis via the AKT/survivin pathway. J Biol Chem 2003; 278: 50402-11.
7. Georgakis GV, Younes A. From Rapa Nui to rapamycin: targeting PI3K/Akt/mTOR for cancer therapy. Expert Rev Anticancer Ther 2006; 6: 131-40.
8. Jin ZH, Kurosu T, Yamaguchi M, Arai A, Miura O. Hematopoietic cytokines enhance Chk1-dependent G2/M checkpoint activation by etoposide through the Akt/GSK3 pathway to inhibit apoptosis. Oncogene 2005; 24: 1973-81.
9. Fu M, Rao M, Wu K, et al. The androgen receptor acetylation site regulates cAMP and AKT but not ERK-induced activity. J Biol Chem 2004; 279: 29436-49.
10. Min YH, Cheong JW, Kim JY, et al. Cytoplasmic mislocalization of p27Kip1 protein is associated with constitutive phosphorylation of Akt or protein kinase B and poor prognosis in acute myelogenous leukemia. Cancer Res 2004; 64: 5225-31.
11. Li Y, Dowbenko D, Lasky LA. AKT/PKB phosphorylation of p21Cip/WAF1 enhances protein stability of p21Cip/WAF1 and promotes cell survival. J Biol Chem 2002; 277: 11352-61.
12. Basu S, Totty NF, Irwin MS, Sudol M, Downward J. Akt phosphorylates the Yes-associated protein, YAP, to induce interaction with 14-3-3 and attenuation of p73-mediated apoptosis. Mol Cell 2003; 11: 11-23.
13. Dan HC, Sun M, Kaneko S, et al. Akt phosphorylation and stabilization of X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP). J Biol Chem 2004; 279: 5405-12.
14. Jiang ZY, Zhou QL, Holik J, et al. Identification of WNK1 as a substrate of Akt/protein kinase B and a negative regulator of insulin-stimulated mitogenesis in 3T3-L1 cells. J Biol Chem 2005; 280: 21622-8.
15. Kovacina KS, Park GY, Bae SS, et al. Identification of a proline-rich Akt substrate as a 14-3-3 binding partner. J Biol Chem 2003; 278: 10189-94.
16. Chen Q, Powell DW, Rane MJ, et al. Akt phosphorylates p47phox and mediates respiratory burst activity in human neutrophils. J Immunol 2003; 170: 5302-8.
17. Flati V, Pasini E, D'Antona G, Speca S, Toniato E, Martinotti S. Intracellular mechanisms of metabolism regulation: the role of signaling via the mammalian target of rapamycin pathway and other routes. Am J Cardiol 2008; 101: 16E-21E.
18. Balestrieri ML, Giovane A, Mancini FP, Napoli C. Proteomics and cardiovascular disease: an update. Curr Med Chem 2008; 15: 555-72.
19. Hennige AM, Stefan N, Kapp K, et al. Leptin down-regulates insulin action through phosphorylation of serine-318 in insulin receptor substrate 1. FASEB J 2006; 20: 1206-8.
20. **Porteri E, Pasini E, Flati V, et al. Impaired insulin signalling in lympho/monocytes of patients with metabolic syndrome [abstract]. J Hypertens 2008; 26 (Suppl 11): S353.**
    Riporta il riconoscimento scientifico sulla possibilità di studiare il *signaling* endocellulare in linfomonociti isolati nel sangue del paziente.
21. **Lee C, Morton CC. Structural genomic variation and personalized medicine. N Engl J Med 2008; 358: 740-1.**
    Riporta in un'autorevole rivista il nostro pensiero confermandolo.