

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 2 – Dicembre 2008**

Attenzione: le informazioni riportate hanno solo un fine illustrativo e non sono riferibili né a prescrizioni né a consigli medici

Sommario

- APERTA LA STRADA PER UNA TERAPIA GENICA CONTRO LA SORDITA' EREDITARIA
- IL GENE SOX18 E' IL REGOLATORE CHIAVE DEL SISTEMA LINFATICO
- PERPLESSITA' SULL'EFFICACIA DEGLI ANTIOSSIDANTI SULL' INVECCHIAMENTO
- DETERMINANTI FARMACOCINETICI E FARMACOGENETICI DEL PROFILO FARMACOLOGICO E TOSSICOLOGICO DI IRINOTECAN IN PAZIENTI CON TUMORE DEL COLON-RETTO METASTATIZZATO
- I DETERMINANTI GENETICI DEL METABOLISMO DEI FARMACI HANNO UNO SCARSO IMPATTO NELL'UTILIZZO CLINICO DEI PRINCIPALI ANTIPSIKOTICI: LO STUDIO *CLINICAL ANTIPSYCHOTIC TRIAL OF INTERVENTION EFFECTIVENESS (CATIE)*
- LA FARMACOGENOMICA MITOCONDRIALE DELL'APLOGRUPPO T: ASSOCIAZIONE TRA IL POLIMORFISMO MTND2*LHON4917G E NEUROPATIA PERIFERICA IN SOGGETTI SOTTOPOSTI A TERAPIA ANTIRETROVIRALE
- POLIMORFISMI A LIVELLO DEL GENE PER IL TRASPORTATORE DEI CATIONI ORGANICI OCT2 INFLUENZANO LA BIODISPONIBILITÀ DI METFORMINA
- UNA VARIANTE PAUCIMORFICA DEL GENE CODIFICANTE L'ENZIMA HMG-COA REDUTTASI È ASSOCIATA CON LA RISPOSTA IPOLIPIDEMIZZANTE AL TRATTAMENTO CON STATINE NEL DIABETE: UNO STUDIO DERIVATO DALLO STUDIO GoDARTS
- IL GENOTIPO *CEPT* PREDICE L'INCREMENTO DI MORTALITA' IN UOMINI TRATTATI CON STATINE CON MALATTIA CARDIOVASCOLARE COMPROVATA: UN'INTERAZIONE FARMACOGENETICA AVVERSA

APERTA LA STRADA PER UNA TERAPIA GENICA CONTRO LA SORDITA' EREDITARIA

A cura del Prof. Achille Caputi

Positivi i primi test sull'apparato uditivo dei topi. Due proteine che funzionano come "graffette molecolari" promettono di diventare un'arma contro la sordità ereditaria che colpisce un neonato su 2.000. A scoprire il nuovo bersaglio è la ricerca italiana pubblicata sulla rivista dell'Accademia delle Scienze degli Stati Uniti, *PNAS*, e condotta nell'Istituto Veneto di Medicina Molecolare di Padova con il cofinanziamento di Telethon. Le proteine, studiate dal gruppo di Fabio Mammano in collaborazione con gli statunitensi *National Institutes of Health (NIH)*, si chiamano connesine 26 e 30.

Presenti in numerosi tessuti dell'organismo, le due proteine regolano lo scambio di sostanze tra cellule adiacenti e quindi la comunicazione tra una cellula e l'altra. Alterazioni delle connesine sono associate anche a malattie cardiovascolari, neuropatie periferiche, malattie della pelle e cataratta. Mammano ha studiato la funzione delle due proteine nella sordità ereditaria utilizzando un virus di origine bovina reso

inoffensivo (Baav) e trasformato in navetta per trasportare i geni sani: le connessine regolano i messaggi a base di calcio che le cellule si scambiano nell'orecchio interno e dai quali dipendono la maturazione corretta delle cellule che percepiscono i suoni o la risposta ai rumori eccessivi. I primi esperimenti sono stati condotti su cellule dell'orecchio interno di topi sordi coltivate in laboratorio.

La prospettiva futura, ancora molto lontana nel tempo, è riuscire a utilizzare un virus inoffensivo per trasportare nelle cellule i geni che controllano la produzione delle due connessine.

Parole chiave: connessine 26 e 30, sordità ereditaria, topi

Riferimento bibliografico

[Ortolano S](#) et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Dec 1. [Epub ahead of print]

IL GENE SOX18 E' IL REGOLATORE CHIAVE DEL SISTEMA LINFATICO

A cura del Prof. Achille Caputi

La sua inattivazione porterebbe all'ipotricosi-linfedema-teleangiectasia.

Un team internazionale di ricercatori dell'IFOM (Fondazione Istituto FIRC di Oncologia Molecolare) di Milano e dell'australiano *Institute for Molecular Bioscience* dell'Università di Queensland ha individuato in Sox18 un gene essenziale per il "benessere" del sistema linfatico. I dati emersi dallo studio supportano fortemente l'idea che Sox18 sia un gene critico nella formazione, nella corretta organizzazione e nel mantenimento del sistema vascolare linfatico. In particolare, l'inattivazione del gene Sox18 porterebbe manifestazioni di una rara patologia di matrice linfatica chiamata Ipotricosi-linfedema-teleangiectasia. "Il lavoro pubblicato su *Nature* costituisce un significativo avanzamento delle conoscenze per la comprensione dei meccanismi molecolari che regolano la formazione e il funzionamento del sistema linfatico - commenta Elisabetta Dejana, coordinatrice italiana dello studio, Responsabile del Programma di Angiogenesi di IFOM e Professore Ordinario di Patologia Generale presso il Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie presso la Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali dell'Università degli Studi di Milano - e in prospettiva potrà suggerire nuovi approcci diagnostici e terapeutici per patologie di matrice linfatica. Inoltre, poiché gran parte dei tumori sceglie la via del sistema linfatico per disseminare le proprie cellule e formare metastasi nei diversi organi, l'identificazione di Sox18 quale fattore chiave per indurre la formazione di vasi linfatici all'interno dei tumori potrà aiutare a formulare nuove terapie per inibire il processo metastatico". I fattori trascrizionali Sox (ovvero SRY - *Sex Determining Region Y* - attraverso HMG Box) sono una famiglia di geni che legano il DNA attraverso il dominio proteico HMG (*High Mobility Group*) e svolgono un ruolo chiave per lo sviluppo embrionale degli organismi eucarioti e per la regolazione dell'espressione genica richiesta per il differenziamento cellulare. Il fattore trascrizionale Sox18 è riconosciuto come interruttore specifico nell'indurre il differenziamento delle cellule endoteliali del sistema vascolare sanguigno ma sta emergendo sempre più chiaramente l'associazione di diverse patologie linfatiche a mutazioni di questo gene. Lo studio condotto dal team internazionale di ricercatori dell'IFOM di Milano e dell'*Institute for Molecular Bioscience* dell'Università di Queensland conferma il ruolo critico di Sox 18 nello sviluppo linfatico aprendo la strada a nuovi percorsi di ricerca per le linfopatie umane. I test molecolari, cellulari e genetici effettuati in *vitro* e in *vivo* su organismi modello hanno evidenziato che Sox18 induce le cellule endoteliali del sistema vascolare sanguigno a esprimere Prox1 (*Prospero-related Homeobox 1*), un gene cruciale per la formazione dei vasi linfatici a partire dalle vene cardinali. "Prox 1 - precisa Dejana - è il gene che detta alle cellule la loro caratteristica linfatica e gli esperimenti che abbiamo condotto dimostrano che se Sox18 è inattivo o mutato nello sviluppo embrionale, si verifica un blocco anche nella funzionalità di Prox1, che non riesce più a formare dalla vena cardinale la fitta rete di vene linfatiche". Difetti nel fattore trascrizionale Sox18 causano una disfunzione linfatica che si manifesta nell'Ipotricosi-linfedema-teleangiectasia, una malattia ereditaria rara che comporta sintomi invalidanti come edemi (se non elefantiasi) agli arti inferiori associati a semicalvizie precoce (a partire da 1-2 anni di vita). Le prospettive che apre lo studio pubblicato su *Nature* sono particolarmente promettenti: per le patologie linfatiche l'identificazione del ruolo di Sox18 potrebbe rivelarsi presto preziosa per un'applicazione a livello diagnostico. Inoltre questo fattore trascrizionale potrebbe costituire un giorno un bersaglio localizzato per terapie geniche mirate a ridurre lo sviluppo delle metastasi tumorali. La ricerca è stata sostenuta da finanziamenti dell'AIRC

(Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro), dell'Australiana *National Health and Medical Research Council*, della Commissione Europea, della *Heart Foundation of Australia* e da altri Istituti.

Parole chiave: SOX18, sviluppo linfatico, Ipotricosi-linfedema-teleangiectasia

Riferimento bibliografico

[François M](#) et al. *Nature* 2008 Oct 19. [Epub ahead of print]

PERPLESSITA' SULL'EFFICACIA DEGLI ANTIOSSIDANTI SULL'INVECCHIAMENTO

A cura del Prof. Achille Caputi

Un team di studiosi britannici che ha condotto un significativo esperimento su vermi Nematodi, ha scoperto che anche quelli cui venivano dati potenti antiossidanti per combattere il danno ai tessuti generato dai cosiddetti "radicali liberi" non vivevano più a lungo. Sulla rivista "*Genes and Development*" i ricercatori della *University College London* hanno affermato che non è emersa "alcuna prova evidente" che gli antiossidanti possano rallentare l'invecchiamento. Gli antiossidanti sono molto usati nell'industria della bellezza e della salute da quando nel 1956 venne suggerito che l'invecchiamento fosse causato da un accumulo di danno molecolare causato da forme reattive dell'ossigeno, chiamate superossidi o radicali liberi, che circolano nel corpo. La teoria ipotizzava che gli antiossidanti riuscissero a spazzare via in parte i radicali liberi, limitandone i danni.

Il nuovo studio spiega invece come mai finora non siano state trovate vere prove scientifiche a sostegno di tale teoria. I ricercatori inglesi, coordinati da David Gems, hanno manipolato geneticamente i nematodi in modo che i loro organismi fossero in grado di spazzare via i radicali liberi in eccesso. Ciò doveva in teoria permettere loro di ottenere vantaggi in termini di minore invecchiamento e maggiore durata della vita. Invece i vermi modificati geneticamente sono invecchiati e vissuti a lungo come gli altri, suggerendo che lo stress ossidativo non è poi un fattore così cruciale nell'invecchiamento delle cellule e nella loro morte. Secondo lo scienziato è dunque auspicabile seguire una dieta sana ma risulta inutile assumere pillole di antiossidanti o creme che contengono tali sostanze.

Parole chiave: antiossidanti, invecchiamento, vermi nematodi

Riferimento bibliografico

[Doonan R](#) et al. *Genes Dev.* 2008 22:3236-41.

DETERMINANTI FARMACOCINETICI E FARMACOGENETICI DEL PROFILO FARMACOLOGICO E TOSSICOLOGICO DI IRINOTECAN IN PAZIENTI CON TUMORE DEL COLON-RETTO METASTATIZZATO

A cura del Dott. Dario Cattaneo

I protocolli correnti per il trattamento del tumore del colon-retto prevedono solitamente una combinazione di 5-fluorouracile ed acido folinico associati ad irinotecan o oxaliplatino ed eventualmente ad inibitori di VEGF (*vascular endothelial growth factor receptor*, in caso di positività del tumore per la presenza di questi recettori). Attualmente, non esistono test predittivi che orientino la scelta verso irinotecan od oxaliplatino. Tuttavia, l'identificazione di markers in grado di predire precocemente la comparsa di tossicità di uno di questi due farmaci potrebbe facilitare la scelta tra le due opzioni terapeutiche.

L'obiettivo del presente studio è stato di identificare determinanti genetici/non genetici associati con il profilo farmacocinetico e la risposta (sia in termini terapeutici che di tossicità) di irinotecan in 49 pazienti con tumore del colon-retto in fase metastatica trattati anche con 5-fluorouracile e acido folinico (regime FOLFIRI). I pazienti sono stati sottoposti a: 1) valutazioni del profilo farmacocinetico (calcolo dell'area sottesa sotto la curva concentrazione-tempo, AUC) di irinotecan, del metabolita attivo SN-38 (la conversione è catalizzata dall'enzima CES2) e dei metaboliti inattivi (il glucuronide di SN-38 prodotto ad opera dell'enzima UGT1A1, APC e NPC prodotti entrambi per azione del citocromo 3A4, CYP3A4); 2) caratterizzazione dei geni *UGT1A1* e *CES2* per la ricerca di varianti alleliche nei siti promotori associate a

ridotta attività enzimatica; 3) determinazione dell'attività di CYP3A4 mediante infusione di cortisolo e valutazione del grado di conversione a 6beta-idrocortisolo (espressa come rapporto urinario 6beta-cortisolo/cortisolo).

Analizzando i dati farmacocinetici gli autori hanno evidenziato una debole correlazione tra la dose e l'AUC sia di irinotecan che di SN-38, mentre associazioni più significative sono state trovate tra l'AUC di irinotecan o SN-38 e l'AUC dei rispettivi metaboliti. Inaspettatamente, è stata osservata una correlazione inversa importante tra il grado di glucuronazione di SN-38 (espresso come rapporto AUC_{SN-38G}/AUC_{SN-38}) e la quota di attivazione di irinotecan (espressa come rapporto $AUC_{SN-38}/AUC_{irinotecan}$). Per contro, non è stata evidenziata nessuna correlazione tra i parametri farmacocinetici e la risposta al trattamento o la tollerabilità, mentre è stata trovata una correlazione significativa tra i livelli plasmatici del glucuronide di SN-38 e la funzione renale, espressa come clearance della creatinina.

Molto più predittivi sono risultati invece i dati genetici: è stato infatti osservato che la presenza di varianti alleliche di *UGT1A1* si associava a livelli più elevati di bilirubina (2.5 volte maggiori), ad un significativo aumento delle transaminasi (63 vs 24 UI/L) e ad una maggior frequenza di episodi di neutropenia (43% vs 13%) rispetto a quanto evidenziato nei soggetti *wild-type*. Per contro la presenza di polimorfismi su *CES2* non correlava con nessun outcome clinico. Le analisi relative all'attività enzimatica di CYP3A4 hanno evidenziato una chiara e significativa associazione tra il rapporto urinario di 6beta-cortisolo/cortisolo (usato come indice di elevata attività enzimatica) e la comparsa di effetti collaterali ascrivibili alla terapia con irinotecan (nello specifico neutropenia e diarrea). Gli Autori hanno proposto un valore cutoff per questo rapporto pari a 0.52, al di sotto del quale gli episodi di tossicità si riducevano significativamente.

I risultati di questo studio da un lato forniscono conferme importanti in merito ad osservazioni precedenti e dall'altro offrono nuovi spunti per future ricerche. Si conferma infatti il ruolo predittivo dei polimorfismi nel sito promotore di *UGT1A1* sulla comparsa di tossicità secondaria a trattamento con irinotecan. In particolare, i soggetti portatori di almeno una variante allelica per questo gene – associata a una ridotta capacità di trascrizione di *UGT1A1* e una conseguente diminuita quantità di enzima disponibile per il metabolismo di SN-38 – presentano un rischio significativamente maggiore di sviluppare neutropenia dopo trattamento con irinotecan.

Le analisi farmacocinetiche sono altrettanto rilevanti in quanto dimostrano lo scarso valore predittivo della dose di irinotecan sull'esposizione giornaliera al farmaco e al metabolita attivo. Inoltre, l'osservazione, per la prima volta, che esiste una correlazione inversa tra l'entità di attivazione di irinotecan e l'inattivazione di SN-38, porta ad ipotizzare che la formazione del glucuronide di SN-38 sia indipendente dalla quantità di metabolita attivo presente; tale conversione potrebbe quindi avvenire attraverso un processo saturabile. Questo scenario può essere ulteriormente complicato dall'osservazione che nei pazienti con insufficienza renale ci sia un rischio di accumulo del glucuronide di SN-38, che a sua volta potrebbe favorire lo “spiazzamento” (*displacing*) di SN-38 dalle proteine plasmatiche, con conseguente aumento della quota di farmaco libera in grado di interagire con il proprio target farmacologico.

Lo studio ha infine dimostrato in modo indiretto che anche l'attività di CYP3A4 può influenzare considerevolmente la tollerabilità ad irinotecan (in particolare a livello gastrointestinale), con un meccanismo che, per il momento, rimane tuttavia ancora oscuro. Gli Autori hanno ipotizzato che nei soggetti con elevata attività enzimatica si potrebbero generare metaboliti con attività tossica, oppure che, più semplicemente, queste osservazioni potrebbero essere state influenzate da differenze importanti nella funzionalità epatica (e quindi nella capacità di convertire il cortisolo al metabolita idrossilato) eventualmente presenti tra i pazienti inclusi nello studio.

Questo studio – utilizzando approcci combinati di farmacocinetica e farmacogenetica – ha fornito nuove interessanti informazioni utilizzabili per predire la tossicità di irinotecan in pazienti con tumore del colon-retto. In particolare, oltre ad aver confermato il ruolo predittivo di polimorfismi nel sito promotore del gene *UGT1A1*, è stata dimostrata un'associazione tra l'attività del CYP3A4 e la tollerabilità del farmaco a livello gastrointestinale. Infine, lo studio ha evidenziato una correlazione inversa significativa tra funzione renale ed i livelli plasmatici del glucuronide di SN-38.

È ipotizzabile che queste informazioni possano contribuire ad ottimizzare l'impiego di irinotecan nella pratica clinica.

Conflitto di interesse: lo studio è stato supportato da grants di Aventis e Pfizer.

Note

Indicazioni AIFA per l'uso di irinotecan: Carcinoma del colon-retto metastatico in combinazione con fluorouracile e acido folinico o dopo fallimento di regimi contenenti fluorouracile.

Parole chiave: Irinotecan, tumore colon-retto, UGT1A1, farmacocinetica, metabolismo

Riferimento bibliografico

[Rouits E](#) et al. *Br J Cancer* 2008, 99: 1239-1245.

I DETERMINANTI GENETICI DEL METABOLISMO DEI FARMACI HANNO UNO SCARSO IMPATTO NELL'UTILIZZO CLINICO DEI PRINCIPALI ANTIPSICOTICI: LO STUDIO CLINICAL ANTIPSYCHOTIC TRIAL OF INTERVENTION EFFECTIVENESS (CATIE)

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Le evidenze raccolte negli ultimi decenni suggeriscono che i polimorfismi degli enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci (DMEs, *drug metabolizing enzymes*) possono avere un grande impatto sulle proprietà farmacocinetiche dei farmaci. Questo è il motivo per cui un numero crescente di aziende offre test farmacogenetici che permettono di identificare se un paziente è portatore di varianti con alterata capacità di metabolizzare un determinato farmaco. Tra quelli attualmente disponibili in commercio, il test AmpliChip della Roche è stato approvato dall'FDA. Questo test permette l'analisi contemporanea di 29 varianti funzionali nei geni CYP2D6 e CYP2C19 che sono implicati nel metabolismo di numerosi farmaci da prescrizione di uso comune tra cui antipsicotici e antidepressivi. Tuttavia, la rilevanza delle varianti DMEs nella gestione clinica del paziente affetto da schizofrenia o da depressione maggiore è tuttora da accertare.

Negli Stati Uniti, è stato completato un ampio studio randomizzato in doppio cieco (circa 1500 pazienti) denominato *Clinical Antipsychotic Trial of Intervention Effectiveness (CATIE)* per valutare l'efficacia clinica degli antipsicotici di seconda generazione (Lieberman *et al*, *N Engl J Med*. 2005; 353(12):1209-23). Malgrado quest'obiettivo primario, lo studio ha sfruttato la casistica anche per valutare altri importanti aspetti, quali ad esempio gli aspetti economici e sociali (vi sono oltre 50 lavori che sfruttano la casistica CATIE). E' stato adesso pubblicato lo studio farmacogenetico che ha valutato in maniera sistematica l'influenza di 25 varianti funzionali nei geni CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, CYP2C8, CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5, FMO3, UGT1A4, ABCB1 sulla dose ottimale, l'efficacia e la tollerabilità di cinque antipsicotici - perfenazina, olanzapina, quetiapina, risperidone, ziprasidone- in 750 pazienti affetti da schizofrenia cronica. I pazienti sono stati randomizzati al trattamento con un antipsicotico per volta e seguiti per 18 mesi o fino all'interruzione del trattamento per un qualsiasi motivo. Nella Fase 1, se il trattamento con perfenazina veniva interrotto, i pazienti entravano nella Fase 1B e randomizzati al trattamento con olanzapina, quetiapina o risperidone. Se anche il trattamento nella Fase 1B veniva interrotto, i pazienti entravano nella Fase 2 in cui erano randomizzati al trattamento *open-label* con clozapina oppure al trattamento in doppio cieco con olanzapina, quetiapina o ziprasidone. I pazienti sono stati istruiti ad assumere da 1 fino a 4 capsule al giorno del farmaco assegnato dal clinico. Ciascuna capsula conteneva 8 mg di perfenazina, 7.5 mg di olanzapina, 1.5 mg di risperidone, 200 mg di quetiapina, 40 mg di ziprasidone. Sono state considerate quelle varianti funzionali che presentano sia nella popolazione americana bianca che in quella di origine africana una frequenza dell'allele minore di almeno il 2% .

Risultati principali: a) nessuna delle varianti polimorfiche considerate risulta associata in maniera significativa alla dose ottimale di farmaco. b) La variante a bassa attività del gene FMO3 è correlata ad una maggiore incidenza di effetti avversi al trattamento con olanzapina, ma unicamente nei pazienti afro-americani. c) La variante a bassa attività del gene CYP3A5 è marginalmente associata ad una maggiore efficacia della quetiapina ($P<0.02$) e del risperidone ($P<0.04$). Entrambe le associazioni non rimangono però significative dopo correzione statistica per test multipli. d) L'insorgenza di discinesia tardiva non risulta associata alle varianti a bassa attività dei geni CYP2D6 e CYP1A2.

Conclusioni: Sebbene non si possano escludere modesti effetti o potenziali interazioni gene-gene o gene-ambiente, i risultati dello studio CATIE mostrano che l'analisi farmacogenetica per le principali varianti DMEs non è in grado di predire la risposta clinica agli antipsicotici. Punti di forza dello studio sono la robustezza del disegno clinico sperimentale e dell'analisi statistica utilizzata. Una limitazione dello studio è invece rappresentata dal fatto che alcune varianti potenzialmente rilevanti nel metabolismo degli antipsicotici non sono state valutate (es. CYP2C19*17). Per valutare appieno la potenzialità della farmacogenetica degli antipsicotici sarà necessario valutare, oltre ai geni mancanti del metabolismo, le varianti funzionali di geni responsabili delle proprietà farmacodinamiche.

In conclusione, i risultati dello studio CATIE suggeriscono che le 25 varianti DMEs studiate rappresentano uno scarso predittore della risposta al trattamento con antipsicotici di uso comune. Una certa cautela è dunque necessaria riguardo l'utilizzo nella pratica clinica di test farmacogenetici in assenza di una dimostrata associazione con risposte cliniche rilevanti.

Conflitti d'interesse: Gli autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da diverse ditte farmaceutiche.

Parole chiave: enzimi farmaco-metabolizzanti, CYP 450, antipsicotici.

Riferimenti bibliografici

[Grossman I](#) et al. *Genet Med.* 2008, 10(10):720-9.

LA FARMACOGENOMICA MITOCONDRIALE DELL'APLOGRUPPO T: ASSOCIAZIONE TRA IL POLIMORFISMO MTND2*LHON4917G E NEUROPATIA PERIFERICA IN SOGGETTI SOTTOPOSTI A TERAPIA ANTIRETROVIRALE

A cura della Dott.ssa Emanuela Marras e del Dott. Gianpaolo Perletti

La Neuropatia periferica (PN) mitocondriale complica il quadro clinico dei pazienti HIV trattati con analoghi nucleosidici inibitori della trascrittasi inversa (NRTIs). In tali soggetti la presenza di specifici polimorfismi nel DNA mitocondriale può aumentare la suscettibilità agli effetti avversi causati da questi farmaci.

Una prolungata esposizione a NRTIs è associata a miopatie scheletriche "con fibre rosse sfilacciate" (segni distintivi di disfunzione mitocondriale), lipoatrofia, statosi epatica, acidosi metabolica e neuropatia periferica (Gertner E. et al *Lab Invest* 2001, 81:777-790; Lewis W. et al *Nat Rev Drug Discov* 2003, 2:812-822; Genschenson M. et al *J Hum Virol* 2001, 4:335-342). Quest'ultima si presenta più frequentemente in seguito a somministrazione di didanosina (ddI) e stavudina (d4T) e si manifesta con anestesia simmetrica distale e/o parestesia dolorosa (Keswani S.C. et al *AIDS* 2002, 16:2105-2117), associata ad anomalie strutturali mitocondriali con deplezione del DNA. In base alle caratteristiche cliniche di tale neuropatia, riconducibili ad alcune malattie ereditarie mitocondriali, sono stati condotti studi atti ad individuare una possibile correlazione tra specifici polimorfismi mitocondriali e suscettibilità a sviluppare PN in soggetti trattati con NRTIs.

Il DNA mitocondriale presenta numerose variazioni genetiche, distinte in aplogruppi, ed è sottoposto ad una variabilità evolutiva 10-17 volte più elevata di quella stimata per il DNA genomico. In un trial randomizzato è stata dimostrata un'associazione tra aplogruppo T e suscettibilità a PN in pazienti HIV trattati con NRTIs (Hulgan T. et al *AIDS* 2005, 19:1341-1349). Il marker per l'aplogruppo T non induce, tuttavia, un cambio funzionale a livello mitocondriale ed è pertanto improbabile attribuire a tale SNP un ruolo nella tossicità da NRTIs. Torroni et al nel 1997 e Orth e Schapira nel 2002 hanno analizzato i polimorfismi MTND1*LHON4216C e MTND2*LHON4917G. Il primo, nel gene ND1 nell'aplogruppo T e nell'aplogruppo J, sostituisce un'istidina ad una tirosina nella subunità 1 del complesso I della catena di trasporto degli elettroni, ed è stato dimostrato essere associato a LHON (Leber's Hereditary Optic Neuropathy) (Torroni A. et al *Am J Hum Genet* 1997, 60:1107-1121; Orth M. and Schapira AH. *Neurochem Int* 2002, 40:533-541). Lo SNP 4917G, tipico dell'aplogruppo T, induce la sostituzione di un'asparagina con un aspartato nel gene ND2, ed è anch'esso associato a LHON. L'obiettivo dello studio qui presentato era indagare l'associazione tra i due SNP (4216C e 4917G) e PN in pazienti HIV trattati con NRTIs.

Lo studio è stato condotto su 980 volontari americani e italiani in trattamento da meno di 7 giorni con antiretrovirali. I partecipanti sono stati randomizzati per zidovudina (ZDV) più lamivudina (3TC) o ddI più d4T in combinazione con efavirenz, nelfinavir, o entrambi. Per l'analisi di associazione tra 4216C, 4917G e sviluppo di PN, le analisi sono state effettuate su una sottopopolazione di 250 volontari appartenenti all'aplogruppo T (popolazioni bianche non ispaniche). 137 soggetti sono stati randomizzati per ricevere ddI più dT4, mentre 113 per ricevere ZDV più 3TC. PN \geq al grado 1, si è sviluppata in 70 soggetti (28%) nel periodo di follow-up (2.3 anni) e più frequentemente nei randomizzati per ddI più d4T (69 vs 31%, $P < 0.01$). I casi di PN avevano un'età mediana superiore rispetto ai controlli (38 vs 35 anni, $P = 0.01$). La conta dei linfociti CD4 e i livelli di RNA virale nei casi non erano significativamente diversi dai controlli.

Dallo studio è emerso che polimorfismo 4216C era presente nel 30% dei casi rispetto al 18% dei controlli con odds ratio (OR)=1,98 (95% CI 1.05-3,75; $P = 0,04$). Il 50% dei soggetti caucasici non-ispanici con 4917G ha sviluppato PN durante lo studio rispetto al 25% dei partecipanti senza questo allele [OR=2,93 (95% CI 1.25-6.89) $P = 0,01$]. L'associazione era più forte nei partecipanti inizialmente randomizzati per ddI e d4T, con OR=2.5 per 4216C (95% CI 1.1-5.6 $P = 0,03$) e OR=5,5 per 4917G (95% CI: 1.6-18.7, $P < 0.01$). Aggiustando per età, sesso, braccio di randomizzazione del farmaco, conta CD4, e concentrazione plasmatica di RNA virale sia 4216C che 4917G restavano associati indipendentemente a PN, rispettivamente con OR=2.0 (95% CI 1.1-4.0, $P = 0,04$) e OR=3.0 (95% CI 1.2-7.4, $P = 0,02$). Tra il sottogruppo dei 53 non-ispanici bianchi con variante 4216C, 12 dei 23 individui con allele 4917G hanno sviluppato PN rispetto a 9 (30%) dei 30 senza questo allele ($P = 0,10$). Quando i soggetti con l'allele 4917G erano esclusi dall'analisi multivariata sopra descritta, non si osservava più associazione indipendente dell'allele 4216C con PN (OR=1.4, 95% CI 0.6-3.4, $P = 0,44$). Pertanto, sembra che il polimorfismo 4917G possa aumentare la suscettibilità allo sviluppo di PN nei soggetti trattati con NRTIs.

Lo studio qui presentato permette di affermare che il polimorfismo mitocondriale 4917G, alterando la sequenza amminoacidica della subunità 2 del complesso I della NADH deidrogenasi, è associato ad un aumento del rischio di sviluppare PN in soggetti trattati con NRTIs. Tale polimorfismo ha quindi un importante valore predittivo di PN.

Dati di letteratura associano numerose mutazioni mitocondriali allo sviluppo di patologie collaterali a trattamenti farmacologici. Per esempio, un'aumentata suscettibilità all'ototossicità è stata associata a mutazioni dell'RNA ribosomiale mitocondriale in seguito a trattamento con aminoglicosidi (Fischel-Ghodsian N. *Pharmacogenomics* 2005, 6:27-36). In soggetti appartenenti all'aplogruppo J, è inoltre descritto un aumento del rischio di sviluppare ototossicità in seguito a trattamento con cisplatino (Peters U. et al *Anticancer Res* 2003, 23:1249-1255). Il presente lavoro si associa ai suddetti nel descrivere una relazione tra un polimorfismo mitocondriale e lo sviluppo di ADR, benché i meccanismi alla base degli effetti osservati non siano stati ancora chiariti. Come è noto alterazioni funzionali delle proteine mitocondriali nella catena di trasporto di elettroni possono tradursi in una perdita di elettroni e in un aumento della formazione di specie reattive dell'ossigeno. Nel nostro caso, modificazioni funzionali della NADH deidrogenasi potrebbero compromettere l'attività mitocondriale, manifestandosi poi come disfunzione neuronale (Smeitink J. and van den Heuvel L. *Am J Hum Genet* 1999, 4:1505-1510; Robinson B.H. *Biochim Biophys Acta* 1998, 1364:271-286; De Benedictis G. et al *FASEB J* 1999, 13:1532). Come nel caso di altri polimorfismi legati a patologie neurodegenerative, l'allele 4917G è associato ad un esordio tardivo della patologia neuronale e la sua frequenza relativamente alta suggerisce una scarsa pressione selettiva nei confronti di tale SNP. Ulteriori studi dovranno essere condotti per quantificare gli effetti biochimici dell'allele 4917G e confermare l'associazione in altre popolazioni. L'allele, infatti, oltre a indurre un cambiamento aminoacidico in una subunità-chiave del complesso I della catena di trasporto degli elettroni potrebbe essere in *linkage disequilibrium* con uno dei polimorfismi causanti neurodegenerazione.

È noto che le mutazioni mitocondriali che si possono accumulare all'interno del patrimonio genetico di un individuo possono tradursi in una situazione di eteroplasmia. Le varianti polimorfiche valutate nel presente lavoro erano omoplasmiche ed erano già state associate in precedenti lavori a LHON e a processi neurodegenerativi. In questo lavoro, nella suscettibilità a sviluppare PN associata a NRTIs sono chiaramente determinanti fattori non genetici quali l'età e lo specifico regime terapeutico di NRTIs (ddI + d4T). Una

misurazione esatta del contributo di ciascuno di questi fattori, così come quello delle specifiche variazioni genetiche mitocondriali, si potrebbe ottenere con modelli prospettici in una coorte validata.

Parole chiave: NRTIs, neuropatia periferica, DNA mitocondriale.

Riferimento Bibliografico

Canter JA et al. *Pharmacogenomics J.* 2008, 8(1):71-7.

POLIMORFISMI A LIVELLO DEL GENE PER IL TRASPORTATORE DEI CATIONI ORGANICI OCT2 INFLUENZANO LA BIODISPONIBILITÀ DI METFORMINA

A cura della Dott.ssa Cristina Tonello

La metformina è considerata il farmaco di scelta per il trattamento del diabete di tipo II (non insulino-dipendente). Presenta dei vantaggi interessanti specie in persone obese in quanto non induce aumento di peso e la comparsa di ipoglicemia risulta essere un fenomeno poco comune. La metformina viene assunta per bocca e viene assorbita a livello intestinale e, nel plasma, circola in forma libera. Il farmaco non viene metabolizzato ed è eliminato come tale attraverso le urine. La sua emivita è di circa 1,5-3 ore. È un substrato per i trasportatori dei cationi organici 1 e 2 (OCT1 e OCT2), che giocano un ruolo fondamentale nel determinarne l'efficacia, la tossicità e la biodisponibilità. Viene eliminata principalmente a livello renale tramite secrezione tubulare mediata da OCT2. Alcune pubblicazioni precedenti avevano suggerito un contributo genetico nella variabilità interindividuale osservata nella *clearance* renale di metformina, in particolare nella popolazione caucasica e cinese. In particolare, uno studio aveva indicato che due polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) a livello del gene SLC22A2 (M165I e R400C), che codifica per OCT2, sono associati con una significativa diminuzione dell'attività di trasporto rispetto alla proteina *wild-type* (WT). Gli autori del presente lavoro avevano precedentemente riportato l'identificazione di tre SNPs nel gene SLC22A2 (C596T, C602T e G808T; T199I, T201M e A270S) nella popolazione coreana. In realtà la variante A270S ha una frequenza allelica alta in tutti i gruppi etnici esaminati, mentre T199I e T201M sono presenti solo nella popolazione asiatica. Cellule MDCK (*Madin-Darby canine kidney epithelial cells*) che over-esprimono tali varianti di OCT2 manifestano una significativa diminuzione dell'*uptake* di [³H]MPP⁺ e di [¹⁴C]TEA rispetto alle cellule transfettate con il trasportatore *wild-type*.

In questo lavoro gli autori valutano gli effetti di questi tre SNPs da una parte sull'attività di trasporto di metformina *in vitro*, dall'altra sulla farmacocinetica del farmaco in soggetti volontari sani.

1) Effetti delle varianti di OCT2 sul trasporto di metformina *in vitro*

Gli autori misurano l'*uptake* di metformina in cellule HEK293 transfettate transientemente con la proteina OCT2 *wild-type* (*GenBank accession* n° NM_003058) oppure con le proteine varianti. Attraverso esperimenti di RT/PCR e di Western-blot gli autori mostrano che i livelli di espressione della proteina *wild-type* e delle sue varianti sono sovrapponibili. L'*uptake* di metformina mediato dalla proteina di riferimento è maggiore rispetto a quello mediato dalle proteine risultanti dei tre polimorfismi (V_{max} rispettivamente di 25, 3,6, 3,7 e 14,9 nmol/min/mgprot per OCT2 wt, T199I, T201M e A270S). La *clearance* intrinseca era diminuita del 68, 60 e 40% nelle cellule esprimenti le varianti di OCT2 (T199I, T201M e A270S rispettivamente) in paragone con le cellule transfettate con OCT2 di riferimento. Essendo dimostrato che il sito di legame di OCT2 con il substrato coinvolge il quarto, il decimo e l'undicesimo dominio transmembrana, mentre gli SNPs considerati sono localizzati nel terzo *loop* extracellulare (T199I e T201M) e nel sesto dominio transmembrana (A270S) gli autori escludono che il cambiamento di attività sia dovuto a una modificazione funzionale del legame OCT2-metformina.

2) Effetti delle varianti di OCT2 sulla biodisponibilità di metformina in soggetti sani

Gli autori hanno somministrato 500 mg di metformina a 26 volontari sani in un'unica dose orale a digiuno.

I soggetti erano portatori di cinque diversi genotipi di SLC22A2: WT, 808GT, 808TT, 596CT e 602CT. Tra questi cinque gruppi non sono state rilevate differenze significative per quanto riguarda età, altezza, peso, *clearance* di creatinina e BMI. Mediante HPLC gli autori hanno determinato la concentrazione di metformina nel sangue e nelle urine raccolte per 12 ore. Le concentrazioni plasmatiche di metformina di tutti

i portatori di varianti alleliche sono maggiori rispetto al gruppo portatore della proteina WT. Gli autori prendono in considerazione molti altri parametri farmacocinetici, ma gli effetti più significativi determinati dalle varianti alleliche di SLC22A2 sono quelli riguardanti la *clearance* renale. Gli autori affermano che poiché non hanno rilevato una differenza nella *clearance* di creatinina, la significativa diminuzione della *clearance* renale è causata principalmente dal deficit di secrezione attiva di metformina.

Il lavoro presenta due limitazioni riconosciute dagli stessi autori: la bassa numerosità del campione e il fatto che lo studio è condotto su soggetti sani.

In conclusione questo lavoro suggerisce che tre polimorfismi del gene SLC22A2 contribuiscono alla variazioni osservate nella farmacocinetica della metformina. In particolare gli autori dimostrano che le varianti C596T, C602T e G808T di tale gene sono significativamente correlate con un deficit funzionale di OCT2, che risulta in una ridotta *clearance* renale di metformina e di conseguenza in un aumento della sua concentrazione plasmatica.

Conflitto di interesse: gli autori non dichiarano conflitti di interesse

Parole chiave: metformina, trasportatore dei cationi organici, diabete di tipo 2

Riferimento bibliografico

[IS Song](#) et al. *Clin Pharmacol Ther.* 2008, 84(5): 559-62.

UNA VARIANTE PAUCIMORFICA DEL GENE CODIFICANTE L'ENZIMA HMG-COA REDUTTASI È ASSOCIATA CON LA RISPOSTA IPOLIPIDEMIZZANTE AL TRATTAMENTO CON STATINE NEL DIABETE: UNO STUDIO DERIVATO DALLO STUDIO GoDARTS

A cura del Prof. Diego Fornasari

Varianti genetiche in geni-candidato per il metabolismo lipidico sono state associate a differenti livelli plasmatici di lipidi da individuo ad individuo. Molte di queste varianti sono anche state studiate in rapporto alla risposta terapeutica alle statine. L'enzima HMG-CoA reduttasi (HMGCR) catalizza la reazione limitante nella biosintesi del colesterolo e costituisce il target primario dell'azione delle statine. Il ruolo delle varianti del gene *HMGCR* nel determinare differenze individuali nella risposta terapeutica alle statine è stato valutato nello studio PRINCE (*Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation*) che ha compreso 1536 soggetti e ha messo in luce il contributo di 2 SNPs (SNP12 e SNP29) significativamente associati ad una ridotta efficacia della pravastatina in termini di abbassamento della concentrazione plasmatica di colesterolo.

I diabetici sono soggetti ad alto rischio di sviluppare malattia coronarica ed altre forme di lesioni aterosclerotiche macrovascolari ed è noto che l'uso di statine rivesta un ruolo fondamentale nella prevenzione primaria e secondaria della cardiopatia ischemica in questo tipo di pazienti.

Lo studio qui discusso si è prefissato di stabilire se il polimorfismo SNP29 dello studio PRINCE correlasse con una diminuzione dei lipidi plasmatici in risposta ad una qualsiasi statina in una popolazione di diabetici di II tipo studiata per un periodo di 13 anni.

Si tratta di uno studio longitudinale osservazionale che ha utilizzato i dati ottenuti dallo studio *Genetics of Diabetes Audit and Research in Tayside Scotland* (GoDARTS – vedi [SIF- Farmaci in evidenza n 12](#)), il quale è a sua volta un derivato dello studio DARTS e include i pazienti che hanno fornito il loro DNA ed hanno acconsentito a che le informazioni genetiche fossero incrociate con le informazioni cliniche ottenute nello studio DARTS. I dati sono stati mantenuti in maniera anonima presso l' *Health Informatics Centre* (HIC) dell'Università di Dundee. Il database DARTS è dinamico e continuamente aggiornato attraverso una piattaforma informatica avanzata che consente di registrare esami e ricoveri a carico di tutti pazienti diabetici del Tayside. L'HIC gestisce anche il database contenente tutti i farmaci prescritti ed effettivamente dispensati in farmacia per tutta la popolazione del Tayside. Incrociando questo database con il GoDARTS è stato possibile correlare la distribuzione in farmacia di qualsiasi tipo di statina con la risposta terapeutica, alla luce del genotipo del gene *HMGCR*. Per riassumere, la popolazione studiata era pertanto costituita da

diabetici adulti della coorte dello studio GoDARTS che erano residenti nel Tayside durante il periodo dello studio (1 gennaio 1993- 31 dicembre 2006) genotipizzati per il gene *HMGCR* e ai quali era stata dispensata in farmacia una qualsiasi statina. Tutti pazienti erano Caucasici.

L'end point era valutare se il polimorfismo SNP29 influenzasse la risposta farmacologica alle statine, intesa come percentuale della variazione dei lipidi plasmatici (colesterolo totale, LDL-colesterolo, HDL-colesterolo, trigliceridi) prima e dopo il trattamento, utilizzando il valore minore (maggiore per HDL-c) ottenuto durante il periodo di studio. Per il colesterolo totale è stato utilizzato anche un approccio “*treat to target*”, definendo “fallimento terapeutico” il mancato raggiungimento di un livello plasmatico di colesterolo totale inferiore a 4 mmol/l.

Un totale di 2594 pazienti affetti da diabete di tipo II venivano genotipizzati per la presenza di SNP29 (allele a minore frequenza G: 0.03). A 1665 (64 %) di questi venivano prescritte statine, ma 64 pazienti venivano esclusi dallo studio poiché avevano ricevuto un'unica prescrizione. Nello studio venivano pertanto considerati 1601 pazienti, dei quali 1548 (96.7 %) erano omozigoti per l'allele più frequente (TT) e il 3,3% eterozigoti (TG). Non si sono identificati soggetti omozigoti per la variante più rara (GG). Non veniva osservata alcuna associazione tra genotipo e livelli basali (pre-trattamento) di lipidi plasmatici. Viceversa, dopo trattamento e considerando il colesterolo totale, il 51% degli eterozigoti TG fallivano a raggiungere la concentrazione plasmatica di 4 mmol/l, mentre soltanto il 28% degli omozigoti TT non raggiungevano il target. Questi dati sono consistenti con una odds ratio (95% intervallo di confidenza di 2.93 (1.61-5.34) per il fallimento terapeutico. Inoltre gli eterozigoti mostravano rispetto agli omozigoti una ridotta diminuzione del colesterolo totale e dei trigliceridi.

L'ipotesi prevalente per spiegare le basi genetiche delle malattie più comuni è che vi sia un'azione combinatoriale di comuni alleli polimorfici, ciascuno con un effetto modesto sul fenotipo (*common disease/common variants: CD/CV hypothesis*). Viceversa, esistono rare mutazioni (talvolta “private” cioè caratteristiche di una sola famiglia) che hanno, da sole, un grande effetto sul fenotipo (*rare disease/ rare variant: RD/RV hypothesis*). Esiste infine una situazione intermedia, recentemente apprezzata (Day IN et al. *Current Genomics* 2004, 5: 431-438), in cui una variazione di sequenza è presente ad una frequenza intermedia tra un polimorfismo ed una mutazione e può produrre un effetto moderato, ma apprezzabile sul fenotipo. Tale tipo di variante prende il nome di variante paucimorfica e, arbitrariamente si è stabilito che, per essere definita tale, essa debba essere presente in una popolazione tra lo 0.05% e il 5%. E' questo il caso della variante G di SNP29 che ha una frequenza allelica di 1,66% e che, da sola, correla con una ridotta risposta alle statine.

Questo è il primo studio che valuta gli effetti del genotipo del gene *HMGCR* sulla risposta farmacologica alle statine in condizioni di “vita reale”, cioè con un approccio basato su una popolazione alla quale vengono somministrati tutti i diversi tipi di statine, e non una specifica statina, consentendo pertanto di delineare un profilo farmacogenetico “di classe”.

Il lavoro conferma studi precedenti, come il PRINCE, dimostrando che il polimorfismo SNP29 della *HMGCR* influenza la risposta alle statine, ma sottolineando che l'associazione è principalmente in termini di riduzione del colesterolo totale e non del colesterolo LDL.

In conclusione, individui eterozigoti per l'allele G della variante SNP29 del gene *HMGCR* potrebbero rispondere meno efficacemente al trattamento con statine in termini di riduzione del colesterolo totale e dei trigliceridi.

Parole chiave: statine, HMG-CoA reduttasi, varianti paucimorfiche, diabete

Riferimento bibliografico

[Donnelly LA](#) *Pharmacogenet Genomics* 2008, 18: 1021-1026.

IL GENOTIPO *CEPT* PREDICE L'INCREMENTO DI MORTALITA' IN UOMINI TRATTATI CON STATINE CON MALATTIA CARDIOVASCOLARE COMPROVATA: UN'INTERAZIONE FARMACOGENETICA AVVERSA

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

La proteina *CEPT* (*cholesteryl ester transfer protein*), che trasferisce gli esteri del colesterolo dalle HDL alle particelle contenenti apolipoproteine B in cambio di trigliceridi, riducendo così i livelli di HDL-C, è considerata un *target* promettente per ridurre il rischio cardiovascolare.

La sicurezza dell'inibizione farmacologica di *CEPT* in associazione alla terapia con statine è oggetto di dibattito, visto i risultati dello studio *Investigation of Lipid Level Management to Understand its impact in Atherosclerotic Events* (ILLUMINATE): questo *trial*, condotto su 15067 pazienti con patologie coronariche sintomatiche (CAD) in terapia con statine, randomizzati a ricevere l'inibitore di *CEPT* torcetrapib o placebo, è stato precocemente interrotto, poiché nel gruppo torcetrapib è stato osservato un aumento della mortalità del 58% (Barter PJ et al. *N Engl J Med* 2007, 357: 2109-22).

Lo studio *Regression Growth Evaluation Statin Study* (REGRESS), studio angiografico in doppio cieco, controllato verso placebo che studiava gli effetti del trattamento per 2 anni con pravastatina 40mg sull'evoluzione di lesioni aterosclerotiche in pazienti maschi con CAD comprovata, aveva evidenziato un'interazione farmacogenetica tra terapia con statine e genotipo *CEPT*: l'allele comune *TaqIB-B1* (livelli di *CEPT* più alti e di HDL-C più bassi) era associato ad una migliore risposta alle statine rispetto all'allele *TaqIB-B2*, più raro (Jukema JW et al. *Circulation* 2005, 91: 2528-40). In pazienti con livelli di *CEPT* bassi, l'ulteriore riduzione, fino al 30%, causata dalle statine, può causare eventi avversi.

I risultati inaspettati dello studio ILLUMINATE hanno spinto gli autori a investigare i genotipi *CEPT* e la mortalità nei pazienti dello studio REGRESS, che hanno utilizzato statine per 8 anni dopo la fase iniziale dello studio di 2 anni.

I partecipanti allo studio derivano dalla coorte del *trial* REGRESS, che aveva arruolato 884 pazienti maschi con CAD sintomatica tra il 1989 e il 1993. Obiettivo primario di questo studio angiografico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, era valutare gli effetti della terapia per 24 mesi con 40 mg di pravastatina sull'evoluzione delle lesioni aterosclerotiche. Gli *outcome* clinici valutati erano infarto del miocardio (MI) fatale o non, morte per patologia cardiaca ischemica (IHD), rivascolarizzazione coronarica ripetuta, *stroke* e morte per cause non coronariche. Lo studio aveva evidenziato un effetto positivo del trattamento con pravastatina sia sui rischi di eventi cardiaci avversi sia sulla progressione angiografica della CAD; al termine dello studio i partecipanti sono stati quindi invitati a continuare o a iniziare (gruppo placebo) la terapia con la statina. Un'indagine a 5 anni dalla fine dello studio ha rivelato che il 91% dei pazienti utilizzavano statine, in accordo con le linee guida nazionali e internazionali.

Per ottenere i risultati del *follow-up* a 10 anni dei partecipanti allo studio REGRESS, sono state ricavate le mortalità causa-specifiche e l'ospedalizzazione fino al gennaio 2001 da registri nazionali, in cui le diagnosi sono codificate secondo l' *International Classification of Disease*, IX e X revisione (ICD9 e ICD10) per la mortalità e l'ICD9 *Clinical Modification* (ICD9-CM) per la morbilità. Attraverso il collegamento del *database* dello studio con il registro nazionale degli abitanti, non è stato possibile rintracciare univocamente 23 pazienti (3%), che sono così stati eliminati dall'analisi di mortalità. Le informazioni sulla frequenza di MI sono state ottenute attraverso il collegamento con il registro delle diagnosi ospedaliere; 144 pazienti (16%) non sono stati rintracciati univocamente e quindi eliminati dall'analisi della morbilità.

L'*endpoint* composito “morte per IHD” comprendeva tutte le cause primarie di mortalità comprese nei codici ICD9 410-414 e ICD10 120-125; “MI non fatale e morte per IHD” comprendeva anche i codici ICD9CM 4100-4109. L'*endpoint* composito “morte per patologia aterosclerotica” consisteva

di tutte le cause primarie di mortalità comprese nei codici ICD9 410-414, 430-438, 440-448 e ICD-10 120-125, 160-169, 170-179 e F01.

Il DNA genomico è stato estratto da campioni di sangue raccolti al *baseline* e sono state analizzate le varianti *TaqIB* e i polimorfismi G-2708A (rs12149545), C-629A (rs1800775) e CCC+784A.

Per quanto concerne la distribuzione delle varianti alleliche *TaqIB*, i dati sono stati ottenuti da 812 partecipanti allo studio REGRESS: 292 (36%, 55,4 anni) soggetti erano B1B1, 392 (48%, 56,6 anni) B1B2 e 128 (16%, 56,1 anni) B2B2; le frequenze sono simili a quelle osservate nella popolazione caucasica. I portatori di *TaqIB*-B2 presentavano concentrazioni plasmatiche basali di CEPT più alte e di HDL-C più basse ($p < 0,001$): la concentrazione di CEPT era del 17% più bassa e quella di HDL-C del 15% più alta in omozigoti B2B2 rispetto agli omozigoti B1B1. Non sono state osservate differenze significative tra i genotipi per quanto riguarda i fattori di rischio per CAD, compreso il profilo lipoproteico, i parametri angiografici e lo stile di vita.

Degli 812 pazienti inclusi nell'analisi sulla sopravvivenza, 127 pazienti sono morti durante il *follow-up*: 60 per patologie aterosclerotiche e 40 per IHD; l'*endpoint* composito “MI non fatale e morte per IHD” si è verificato in 94 soggetti.

Dopo 10 anni di *follow up*, i portatori dell'allele B2 hanno un rischio considerevolmente più elevato di tutti gli *endpoint*: il rischio assoluto a 10 anni di morte aterosclerotica è stata del 5% (SE 1%) in pazienti B1B1 vs 8% (SE 1%) nei B1B2 vs 15% (SE 4%) nei B2B2. L'allele B2 conferisce quindi un rischio più alto di mortalità per tutte le cause.

L'analisi degli effetti degli aplotipi ha evidenziato un aplotipo di rischio (A-C-B2-A), che, rispetto all'allele *TaqIB*-B2 da solo, ha un effetto più marcato su tutti gli *endpoint* clinici ($p=0,003$ per morte per IHD, $p=0,003$ per morte per aterosclerosi, $p=0,004$ per mortalità per tutte le cause).

Gli autori sottolineano alcune possibili limitazioni dello studio, tra cui il fatto che la coorte sia costituita esclusivamente da maschi, richiedendo quindi la conferma di questi risultati anche nella popolazione femminile.

I risultati di questo *follow-up* di 10 anni di una coorte di pazienti maschili con CAD sintomatica hanno fornito nuove e chiare evidenze di un'interazione farmacogenetica tra i genotipi *CEPT*, la terapia con statine e *outcome* clinici. I risultati hanno evidenziato come il genotipo *CEPT* (allele *TaqIB*-B2 e un distinto aplotipo) associato con più bassi livelli di CEPT e più alti livelli di HDL-C influenzi negativamente gli *outcome* clinici in pazienti trattati con statine. La riduzione dell'attività di CEPT da parte delle statine in pazienti con livelli endogeni di enzima già bassi potrebbe causare effetti avversi.

Parole chiave: CEPT, statine, rischio cardiovascolare

Riferimento bibliografico:

[Regieli JJ](#) et al. *Eur Heart J.* 2008, 29(22): 2792-9.

Gruppo di Lavoro SIF sulla Farmacogenetica

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

Newsletter n°2 – Dicembre 2008

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen_newsletters.php