

**Newsletter Numero 4 - Febbraio 2009**

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

Sommario

- L'assorbimento di montelukast è mediato da proteine trasportatrici: una variante comune nel trasportatore OATP2B1 è associata a ridotte concentrazioni plasmatiche e ridotta efficacia nel trattamento dell'asma.
- Studio *genome-wide* delle varianti alleliche predittive di risposta al trattamento farmacologico nella leucemia linfoblastica acuta del bambino.
- Associazione di una variante del recettore dopaminergico DRD3 con una maggiore remissione dei sintomi positivi dopo trattamento con olanzapina in pazienti prevalentemente caucasici affetti da schizofrenia cronica o da disturbo schizoaffettivo.
- Associazione tra il polimorfismo Y402H del fattore H del complemento e risposta a ranibizumab nel trattamento della degenerazione maculare legata all'età.
- Determinanti genetici della risposta al clopidogrel e eventi cardiovascolari: studio condotto dal *French registry of Acute ST-elevation or non-st-elevation Myocardial Infarction* (FAST-MI).
- Il polimorfismo del citocromo P450 2C19 in pazienti giovani trattati con clopidogrel dopo infarto del miocardio: studio di coorte dal registro multicentrico *Appraisal of risk Factor in young Ischemic patients Justifying aggressive Intervention* (AFIJI).

L'ASSORBIMENTO DI MONTELUKAST È MEDIATO DA PROTEINE TRASPORTATRICI: UNA VARIANTE COMUNE NEL TRASPORTATORE OATP2B1 È ASSOCIATA A RIDOTTE CONCENTRAZIONI PLASMATICHE E RIDOTTA EFFICACIA NEL TRATTAMENTO DELL'ASMA

A cura della Dott.ssa Sabrina Angelini

Montelukast è un antagonista del recettore per i leucotrieni, utilizzato nel controllo dei sintomi associati all'asma nei bambini e negli adulti. L'efficacia e sicurezza del montelukast è stata provata in innumerevoli trials clinici, tuttavia la notevole variabilità inter-individuale di risposta al trattamento ne limita l'efficacia.

Molteplici sono stati gli obiettivi del presente studio: (i) determinare se il trasporto di montelukast sia per diffusione o mediato da trasportatori; (ii) classificare le proteine, possibili trasportatori di montelukast e, successivamente, (iii) definirne i trasportatori specifici; infine, (iv) valutare l'influenza di varianti alleliche sui processi farmacocinetici e farmacodinamici.

In primo luogo gli Autori hanno studiato *in vitro*, su cellule Caco2, il trasporto di montelukast triziato, stabilendo che il trasporto non avviene per diffusione, ma è mediato da proteine trasportatrici. Infatti, l'apparente energia di attivazione è di 13.7 ± 0.7 kcal/mol, mentre la permeabilità per diffusione normalmente

non raggiunge le 4 kcal/mol. Inoltre, il coefficiente di permeabilità devia dalla linearità, indice di un processo mediato da trasportatori.

Il passo successivo è stato quello di identificare i possibili trasportatori sfruttando il principio secondo cui il trasporto di un composto può essere inibito da sostanze che sono esse stesse substrato del trasportatore o suoi inibitori. Tra le 21 sostanze testate, si osserva una significativa ($P<0.05$) riduzione della permeabilità di Montelukast in presenza di solfobromoftaleina, estrone-3-solfato, pravastatina e gli acidi taurocolico e colico. Tutti questi composti sono noti inibitori della classe di trasportatori OATP, espressa nel fegato ed intestino.

I due principali trasportatori intestinali appartenenti alla classe degli OATP sono OATB1A2 e OATP2B1, inibiti da componenti del succo di agrumi. In virtù di queste considerazioni, gli Autori hanno voluto verificare gli effetti sulla permeabilità di montelukast, del succo di arancia e di pompelmo, osservando una riduzione significativa ($P<0.05$) della permeabilità di montelukast in presenza di entrambi i succhi. Gli autori hanno inoltre osservato una riduzione significativa ($P<0.05$) della permeabilità di montelukast in presenza di progesterone, noto inibitore del trasportatore OATP2B1. Il ruolo di questo trasportatore è stato confermato dagli stessi Autori sulla linea cellulare MDCKII, che esprime OATP2B1 e nella quale si osserva un aumento significativo della permeabilità di montelukast ($P<0.05$). Rimane, invece, incerto il ruolo del trasportatore OATB1A2, anch'esso espresso dalle cellule Caco2, ma che non è stato indagato dagli Autori.

Attribuito a OATP2B1 un ruolo significativo nel trasporto di montelukast, gli Autori hanno indagato la possibilità che SNPs nel gene possano influenzare la farmacocinetica e, in ultimo, il responso al trattamento. Allo scopo sono stati analizzati 489 adulti affetti da asma, precedentemente arruolati nel trial clinico ALA-ACRC (*American Lung Association-Asthma Clinical Research Centers*) in cui veniva paragonata l'efficacia di teofillina a basse dosi, placebo e montelukast, assunta prima di coricarsi, per 6 mesi. Due gli SNPs analizzati: rs12422149, c935G>A e rs2306168, c1457C>T (LightTyper, Roche Applied Science Indianapolis, Indiana, USA). In particolare, gli Autori hanno studiato la possibile associazione tra SNPs e lo score dei sintomi secondo l'*Asthma Symptom Utility Index* (ASUI) e SNPs e concentrazioni plasmatiche dopo 1 e 6 mesi di trattamento, determinate tramite HPLC a fase inversa, la mattina successiva all'assunzione del composto.

L'analisi ha evidenziato che nei pazienti con genotipo c935GG in trattamento con montelukast lo score medio ASUI (arc-sine trasformato) migliora significativamente ($P<0.0001$) ad 1 mese di trattamento (0.79 ± 0.02) e dopo 6 mesi (0.80 ± 0.02) rispetto al momento della randomizzazione nei tre gruppi (0.69 ± 0.02). I pazienti con genotipo c935G/A non hanno mostrato significativi segni di miglioramento ad alcun intervallo di tempo. Successivamente gli Autori hanno evidenziato che pazienti con genotipo c935GG hanno concentrazioni plasmatiche di montelukast significativamente più alte rispetto agli individui c935G/A, ad entrambi gli intervalli di tempo (ad 1 mese, 2.2 ± 0.8 vs 6.0 ± 0.7 , $P<0.019$; a 6 mesi 3.0 ± 0.1 vs 7.0 ± 0.9 , $P<0.025$). Nessuna associazione è stata osservata tra il genotipo c1457 e lo score medio ASUI o le concentrazioni plasmatiche di montelukast.

Un punto di forza dello studio è stato, innanzitutto identificare OATP2B1 e OATB1A2, quali carrier, responsabili del trasporto di montelukast. Entrambi i trasportatori sono espressi nelle cellule Caco2, ma gli Autori non hanno eseguito uno studio sistematico che permettesse loro di discriminare quale fosse il contributo relativo di ciascuno dei due nel trasporto di montelukast.

Montelukast ha proprietà chimico-fisiche molto simili a farmaci che sono substrato della famiglia di trasportatori SLCO, di cui OATP2B1 è un membro. Questo conferma il ruolo plausibile di questo carrier nel trasporto di montelukast, ma il vero goal, che avrà sicuramente ripercussioni a lungo termine, è stato quello di identificare varianti genetiche nel gene che codificano per il trasportatore (SLCO2B1). Queste varianti, infatti possono contribuire ad interpretare la variabilità inter-individuale osservata nella risposta al trattamento con montelukast. In particolare, gli Autori hanno riportato una associazione significativa tra lo SNPs c935G>A e le concentrazioni plasmatiche di montelukast sia dopo 1 mese che dopo 6 di terapia. In entrambi i casi, le concentrazioni plasmatiche sono risultate significativamente più alte nei soggetti omozigoti per lo SNPs, rispetto ai soggetti eterozigoti. Analogamente, lo score ASUI è risultato significativamente migliore nei soggetti omozigoti rispetto agli eterozigoti, già dopo 1 mese di trattamento con montelukast e si è confermato tale dopo 6 mesi.

Lo studio ha messo in evidenza importanti aspetti relativi al trasporto di montelukast e la variabilità di risposta osservata al trattamento. Tuttavia, come dichiarato dagli stessi Autori, non mancano le limitazioni.

Innanzitutto altri trasportatori, della classe OATP, non indagati in questo studio come OATP1B1 e OATP1B3, possono avere un ruolo nel trasporto di montelukast. Altro aspetto da tenere in considerazione è l'ampiezza della popolazione, relativamente piccola, che potrebbe aver portato ad un falso positivo. In realtà, non è chiaro quanti dei 489 soggetti partecipanti al trial siano stati assegnati al gruppo di trattamento con montelukast e, cosa più importante, quanti dei soggetti siano stati realmente genotipizzati (ndr). Un altro problema evidenziato dagli Autori è l'impossibilità di controllare il paziente, cioè di verificare se il paziente effettivamente si attiene al trattamento prescritto. In pratica, è possibile che alcuni pazienti siano caratterizzati da basse concentrazioni plasmatiche o dal mancato responso al trattamento con montelukast, non per il ridotto trasporto e/o per un genotipo sfavorevole, ma per la mancata assunzione del farmaco stesso.

In questo studio gli autori hanno mostrato che l'assorbimento di *montelukast* è mediato dai trasportatori OATP2B1 e probabilmente OATB1A2, codificati rispettivamente dai geni SLCO2B1 e SLCO2A1. Inoltre hanno dimostrato che la variante allelica c935G>A (Arg312Gln, rs 12422149) influenza significativamente lo score ASUI e le concentrazioni plasmatiche di montelukast, in pazienti affetti da asma. I risultati presentati sono del tutto originali e necessitano di essere confermati in ulteriori studi.

Parole chiave: Montelukast, asma, SLCO2B1

Riferimento bibliografico:

[Mougey EB](#) et al. *Pharmacogenet Genomics*. 2009, 19:129-138.

STUDIO *GENOME-WIDE* DELLE VARIANTI ALLELICHE PREDITTIVE DI RISPOSTA AL TRATTAMENTO FARMACOLOGICO NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA DEL BAMBINO

A cura del Dott. Dario Cattaneo

La percentuale di guarigione dalla leucemia linfoblastica nel bambino è aumentata enormemente negli ultimi anni, passando da meno del 10% negli anni '60 fino a superare l'80% nei giorni nostri. Tale sviluppo è stato reso possibile da una migliore caratterizzazione della malattia e da un utilizzo più razionale delle terapie disponibili. In tal senso una importante novità nei protocolli oggi in uso per la leucemia linfoblastica acuta è lo studio della cosiddetta "malattia residua minima" (*minimal residual disease, MRD*). Questo parametro, che viene valutato in base a tecniche di biologia molecolare, quantifica in modo estremamente sensibile l'eventuale presenza di cellule leucemiche nel midollo. In presenza di un valore di MRD elevato, si potrà dire che la "malattia residua minima" è presente, e che quindi quel bambino non è effettivamente in remissione ed ha bisogno di eseguire un trattamento più aggressivo. Normalmente la risposta al trattamento farmacologico è notevolmente variabile, vi sono infatti alcuni soggetti che passano da valori di MRD del 100% a < 0.01 dopo solo 2-3 settimane di terapia, mentre altri presentano una risposta insufficiente anche dopo 6 settimane di trattamento. Le cause di tale variabilità sono, tuttavia, poco note.

Obiettivo del presente studio è stato quello di identificare possibili fattori genetici in grado di influenzare la risposta al trattamento farmacologico in bambini con leucemia linfoblastica acuta. La popolazione dello studio era rappresentata da due coorti indipendenti di pazienti pediatriche in trattamento con prednisone, vincristina, daunorubicina e methotrexate intratecale. Entrambi i gruppi sono stati sottoposti a valutazioni periodiche dell'MRD e ad analisi genetiche *genome-wide* eseguite mediante *GeneChip Human Mapping* con set a 100K e 500K. Le analisi finali hanno incluso quasi 480,000 SNPs, che sono stati successivamente messi in correlazione con i valori di MRD utilizzando approcci di validazione bidirezionale (gli SNP risultati predittivi nella prima coorte sono stati verificati nella seconda coorte e viceversa). Inoltre, come analisi supplementare, gli Autori hanno esplorato le possibili associazioni tra le varianti alleliche identificate come potenzialmente predittive di MRD e: 1) l'incidenza cumulativa di recidive ematologiche della malattia; 2) la farmacocinetica di alcuni degli antitumorali testati.

Le due coorti di pazienti comprendevano, rispettivamente, 371 e 227 bambini con caratteristiche cliniche ed anamnestiche comparabili. Le analisi *genome-wide* hanno identificato 102 SNPs che sono risultati correlare

significativamente con gli score MRD misurati al termine del trattamento nei due gruppi di pazienti. Di questi polimorfismi, i più predittivi sono risultati essere quelli sul cromosoma 4 sul locus del gene codificante per interleuchina-15 (IL-15). E' importante sottolineare che tutti i 102 SNPs hanno confermato l'associazione con i valori di MRD anche dopo aver corretto per noti fattori confondenti come sesso, razza, età, e conta leucocitaria al momento della diagnosi della malattia. Le analisi esplorative hanno inoltre dimostrato che circa il 60% dei 102 SNP erano significativamente associati con gli episodi di recidiva della malattia o con la farmacocinetica dei farmaci antitumorali (soprattutto con quella di methotrexate ed etoposide).

L'eradicazione di MRD dipende non solo dalle caratteristiche genetiche delle cellule tumorali ma anche dalle caratteristiche dell'organismo ospite, come l'età di insorgenza della malattia. Tuttavia il possibile ruolo predittivo del patrimonio genetico dell'ospite non era mai stato investigato in dettaglio. Questo studio, mediante approcci di tipo *genome-wide*, ha identificato 102 varianti alleliche associate con il grado di leucemia residua in due coorti indipendenti di bambini con diagnosi di leucemia linfoblastica acuta, dimostrando inoltre che la presenza di 63 di questi 102 polimorfismi era in grado di influenzare significativamente anche la risposta iniziale al trattamento farmacologico, il rischio di recidiva della malattia, e la biodisponibilità di alcuni dei farmaci antitumorali somministrati. Curiosamente, uno dei segnali più forti ottenuti con la scansione *genome-wide* proveniva da 5 SNPs situati sul locus del gene che codifica per IL-15, una citochina che funge solitamente da stimolo per la proliferazione e che, *in vitro* è in grado di proteggere le cellule tumorali dai processi di apoptosi indotti dai glucocorticoidi. Ricerche precedenti *in vivo* avevano dimostrato che l'elevata espressione di IL-15 nelle cellule leucemiche aumentava il rischio di recidiva della malattia. Questi risultati sono stati confermati dal presente studio, in cui è stato inoltre dimostrato che la presenza contemporanea di un'iper-espressione di IL-15 e di alcuni polimorfismi si associava ad un rischio aumentato di ottenere valori elevati di MRD al termine del trattamento antitumorale.

Questo studio ha evidenziato varianti alleliche – presenti sia nelle cellule tumorali che nell'ospite – che giocano un ruolo rilevante nella risposta al trattamento farmacologico della leucemia linfoblastica acuta nel bambino. Tali varianti dovrebbero quindi essere tenute in debita considerazione nel pianificare lo schema terapeutico per il trattamento di questa patologia.

Parole chiave: Leucemia linfoblastica acuta, genotipi, citometria a flusso, polimorfismi, farmacocinetica, farmacodinamica.

Riferimento bibliografico:

[Yang JJ](#) et al. *JAMA* 2009, 301:393-403.

ASSOCIAZIONE DI UNA VARIANTE DEL RECETTORE DOPAMINERGICO DRD3 CON UNA MAGGIORE REMISSIONE DEI SINTOMI POSITIVI DOPO TRATTAMENTO CON OLANZAPINA IN PAZIENTI PREVALENTEMENTE CAUCASICI AFFETTI DA SCHIZOFRENIA CRONICA O DA DISTURBO SCHIZOAFFETTIVO

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

L'antipsicotipo olanzapina mostra una moderata affinità per il recettore DRD3 ($K_i = 43.7 \pm 8.95$ nM) ed approssimativamente un'affinità 4 volte inferiore per il recettore DRD2. I recettori DRD3 possono giocare un ruolo importante nel determinare la risposta al trattamento con olanzapina. Studi precedenti avevano mostrato un'associazione di alcuni polimorfismi del gene DRD3 con l'efficacia dei farmaci antipsicotici. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'associazione del polimorfismo Ser9Gly del gene DRD3 e di altri polimorfismi dello stesso gene, con il miglioramento dei sintomi positivi di pazienti schizofrenici o con disturbo schizoaffettivo dopo trattamento con olanzapina. Inoltre, al fine di verificare un potenziale utilità di tale polimorfismo nella pratica clinica, gli Autori hanno valutato l'associazione del polimorfismo Ser9Gly del gene DRD3 con la remissione completa dei sintomi positivi.

In questo trial clinico randomizzato in doppio cieco, pazienti affetti da schizofrenia o disturbo schizoaffettivo sono stati assegnati in maniera random (2:1) al trattamento per sei settimane con olanzapina o aloperidolo.

Per entrambi i farmaci, la dose somministrata all'inizio del trattamento è stata di 5 mg/die e modificata a seconda dei casi con incrementi di 5 mg/settimana, fino a raggiungere dopo sei settimane di trattamento una dose finale compresa tra 5-20 mg/die. Lo studio farmacogenetico è stato condotto unicamente nei pazienti che avevano acconsentito a donare un proprio campione di DNA. Per il ridotto numero di pazienti trattati con aloperidolo (n=40) e conseguente insufficiente potenza statistica, l'analisi genetica è stata limitata ai soli pazienti trattati con olanzapina. L'efficacia del trattamento è stata valutata mediante l'utilizzo della scala *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) totale, delle sottoscale dei sintomi positivi e negativi, e dei singoli item della sottoscala dei sintomi positivi. La risposta al trattamento è stata definita come differenza del punteggio ottenuto nella scala PANSS totale e nelle sottoscale dei sintomi positivi e negativi, all'inizio del trattamento e dopo 6 settimane. La remissione completa dei sintomi positivi è stata definita come riduzione di almeno 3 punti in tutti i 7 gli items della scala LOCF (*last observation carried forward*) dopo sei settimane di trattamento.

Il polimorfismo Ser9Gly nel gene DRD3 è stato caratterizzato in 88 pazienti trattati con olanzapina. Questi pazienti avevano ricevuto nella maggior parte dei casi una diagnosi di schizofrenia, erano prevalentemente di razza Caucasica (74.5%) ed erano stati trattati con una dose media di 13.9 mg/giorno di olanzapina. La distribuzione genotipica di questo polimorfismo differiva in maniera significativa nelle diverse etnie (p=0.0009). Il genotipo Gly/Gly era infatti presente nel 68.8% dei pazienti di origine Africana, rispetto al 16.1% dei pazienti Caucasici e al 20% dei pazienti di origine Ispanica. Il polimorfismo Ser9Gly del gene DRD3 risultava associato al miglioramento del punteggio nella scala PANSS totale ottenuto dopo 6 settimane di trattamento (p=0.021). Questo risultato era dovuto all'associazione del polimorfismo Ser9Gly con il miglioramento dei sintomi positivi (p=0.002, correzione secondo Bonferroni). Il polimorfismo Ser9Gly non era invece associato al miglioramento dei sintomi negativi (p=0.112). Se si prendevano in considerazione i singoli items della sottoscala per i sintomi positivi, il polimorfismo Ser9Gly nel gene DRD3 correlava con il miglioramento delle allucinazioni (p=0.045). Infine, il polimorfismo Ser9Gly risultava associato alla remissione completa dei sintomi positivi (p=0.013): i pazienti con genotipo Gly/Gly mostravano una percentuale maggiore (39%) di remissione completa dei sintomi positivi, rispetto ai portatori della variante Ser9 (14%).

Dei 24 polimorfismi del gene DRD3 analizzati, 21 sono stati genotipizzati con successo, 15 dei quali presentavano una frequenza dell'allele minore di almeno il 20%. In accordo con i criteri definiti dall'International HapMap Project, gli Autori hanno identificato 2 blocchi principali di linkage. Solamente i polimorfismi che appartenevano al blocco di linkage che comprendeva il polimorfismo Ser9Gly risultavano associati al miglioramento dei sintomi positivi. Tuttavia l'analisi aplo-tipica dei polimorfismi appartenenti a questo blocco non migliorava le predizioni di efficacia del trattamento.

Il ruolo biologico del gene DRD3 e delle sue varianti nella risposta ai farmaci antipsicotici non è stato finora sufficientemente investigato. Dei 24 polimorfismi del gene DRD3 che sono stati esaminati in questo studio, il polimorfismo Ser9Gly è l'unico a determinare una variazione aminoacidica. Dal punto di vista funzionale, la variante Gly9 sembra avere una maggiore affinità per la dopamina ed un effetto sull'attivazione intracellulare della cascata dei secondi messaggeri, con il risultato di uno shift della trasduzione del segnale dal cAMP a quello mediato dal PGE2. Una limitazione dello studio è rappresentata dal possibile bias di selezione dei pazienti. Infatti il sottogruppo dei partecipanti allo studio farmacogenetico, rispetto al totale dei pazienti arruolati nello studio clinico, era composto più frequentemente da maschi (75% vs 65%) e con punteggio di PANSS totale più basso (82.2 vs 90.1). Inoltre, i risultati ottenuti non possono essere generalizzati alla popolazioni di origine non Caucasica. Infatti, a causa del limitato numero di pazienti di origine africana (n=16) ed ispanica (n=10) non è stato possibile valutare in maniera adeguata l'associazione del polimorfismo Ser9Gly con l'efficacia del trattamento nelle diverse popolazioni. Infine, ampi studi clinici sono necessari per comprendere meglio l'entità dell'effetto del polimorfismo Ser9Gly del gene DRD3 nella risposta al trattamento con olanzapina o con altri farmaci antipsicotici ed la sua potenziale rilevanza nella pratica clinica.

Lo studio conferma l'associazione significativa del polimorfismo Ser9Gly del gene DRD3 con la risposta al trattamento con olanzapina. In particolare, i pazienti schizofrenici o con disturbo schizoaffettivo portatori del genotipo Gly/Gly hanno un miglioramento dei sintomi positivi maggiore rispetto ai portatori della variante Ser9 e, risultato ancor più rilevante dal punto di vista clinico, una maggiore percentuale di remissione completa dei sintomi positivi.

Conflitti di interesse: questo studio è stato supportato dall'azienda Eli Lilly and Company. Gli autori Breier A e Houston JP sono dipendenti ed azionisti dell'azienda Eli Lilly and Company.

Parole chiave: olanzapina, schizofrenia, sintomi positivi, polimorfismi del recettore DRD3.

Riferimento bibliografico:

[Adams DH](#) et al. *Hum Psychopharmacol.* 2008; 23(4):267-74.

ASSOCIAZIONE TRA IL POLIMORFISMO Y402H DEL FATTORE H DEL COMPLEMENTO E RISPOSTA A RANIBIZUMAB NEL TRATTAMENTO DELLA DEGENERAZIONE MACULARE LEGATA ALL'ETÀ

A cura della Dott.ssa Cristina Tonello

La Degenerazione Maculare legata all'età (DMLE) è un'affezione degenerativa che coinvolge la regione maculare in persone di età superiore ai 55 anni. La gravità e la frequenza ne fanno la causa principale di grave riduzione dell'acuità visiva, definita "cecità legale", nelle persone oltre i 60 anni nel mondo occidentale. La DMLE può essere divisa clinicamente in una forma asciutta (dry), la più frequente e meno grave, ed in una essudativa (wet). Quest'ultima rappresenta il 20% circa della DMLE, ma è la causa di circa il 90% dei gravi casi di riduzione irreversibile dell'acuità visiva, sempre legati a questa patologia. Tale malattia comporta una progressiva perdita della porzione centrale del campo visivo, con risparmio di quella periferica. La degenerazione maculare senile è una malattia complessa da studiare a causa del potenziale coinvolgimento di vari fattori tra cui quello demografico, ambientale, i rischi legati all'età, sesso, razza, esposizione alla luce, dieta, fumo e malattie cardiovascolari. Recentemente si è scoperto che polimorfismi di singoli nucleotidi (snip) e variazioni di sequenza del DNA, riscontrati all'interno del gene del fattore H del complemento (*CFH*), sono fortemente associati con lo sviluppo di DMLE nei caucasici. Gli stessi autori hanno riscontrato l'implicazione di altri geni nella DMLE, tra i quali il gene VEGF e due geni coinvolti nel metabolismo lipidico. Il polimorfismo di un singolo nucleotide di *CFH*, Tyr402His, è stato associato con circa il 50% dei casi di DMLE.

Tale patologia è trattata con farmaci cortisonici (Triamcinolone Acetonide) e farmaci ad azione antiangiogenetica e/o angiostatica come gli anti-VEGF AVASTIN, MACUGEN e LUCENTIS, somministrati tutti intravitrealmente.

Hageman et al. sostengono che una variazione nel gene per il fattore H (*HF1/CFH*) accresce drammaticamente la probabilità di sviluppare la DMLE, così come la glomerulo nefrite membranoproliferativa di tipo II (MPGN II). *CFH* codifica per una proteina coinvolta nella prima linea di difesa immunologica dell'organismo (il sistema innato) rivolta contro le infezioni batteriche e altri microbi. Di questo gene esisterebbero sia varianti protettive che a rischio. Nella prima linea di difesa contro i microrganismi e altre particelle estranee si trova il sistema del complemento, deputato a riconoscere, attaccare e uccidere i microrganismi invasivi creando dei fori nelle loro membrane. In alcuni casi, tuttavia, l'attivazione sostenuta del complemento può condurre all'infiammazione cronica, aggravare il danno tissutale locale e contribuire in modo significativo alla progressione della patologia, come succede nel morbo di Alzheimer e nell'aterosclerosi. Per prevenire tale danno alcune proteine, tra cui il fattore H, il principale inibitore solubile della via alternativa di attivazione del complemento, tengono il sistema sotto stretto controllo. Poiché la maggior parte delle variazioni identificate occupano importanti siti funzionali della proteina HF1, i ricercatori hanno suggerito la possibilità che queste varianti a rischio possano alterare il comportamento della proteina HF1 e ostacolare il suo ruolo nel regolare la via del complemento nella risposta immune.

Lo scopo del lavoro è stato quello di determinare se i genotipi di *CFH* hanno un qualche effetto farmacogenetico sul trattamento con ranibizumab. Klein et al hanno recentemente dimostrato che il polimorfismo *CFH* Y402H è predittivo della risposta al trattamento con zinco, mentre altri studi hanno mostrato il ruolo dello stesso snip nel determinare l'efficacia della terapia fotodinamica. Gli autori di questo lavoro hanno precedentemente riportato che i pazienti con genotipo CC (due alleli mutati di *CFH* Y402H)

ottengono minor risultati in seguito a trattamento con bevacizumab (farmaco anti-VEGF) rispetto ai portatori di genotipo TC o TT.

E' stato condotto uno studio retrospettivo su 156 pazienti affetti da DMLE essudativa trattati esclusivamente con ranibizumab somministrato intravitrealmente. Ciascun paziente ha ricevuto un'iniezione intravitreale di 0,5 mg di ranibizumab al tempo zero e in seguito altre iniezioni a discrezione del medico che ne ha valutata la necessità in base ad una visita approfondita e ad esami strumentali. Al momento dell'arruolamento il medico ha raccolto informazioni circa l'abitudine al fumo e la presenza di diabete e/o ipertensione. Ogni paziente è stato seguito per nove mesi dal momento dell'inclusione nello studio.

La genotipizzazione dello snip nel gene CFH (Y402H, T/C) è stata condotta con tecnologia *Sequenom MassARRAY*. 37 pazienti sono risultati TT (24%), 71 TC (45%) e 48 CC (31%). Per analizzare l'effetto del genotipo sul'esito del trattamento hanno considerato il numero necessario di iniezioni di ranibizumab. Dopo nove mesi i portatori del genotipo TT necessitano di un numero significativamente ($P=0,09$) minore di iniezioni. Inoltre i pazienti con genotipo TC e CC tendono ad avere un rischio rispettivamente del 25% e 37% maggiore di necessitare di un altro ciclo di terapia rispetto a quelli con genotipo TT.

In realtà, poiché lo studio non presenta un gruppo di controllo di placebo, gli effetti osservati potrebbero potenzialmente essere basati sulla patofisiologia della malattia piuttosto che essere dei veri effetti farmaco genetici.

In conclusione gli autori descrivono per la prima volta una associazione tra la presenza dello snip Y402H nel gene per il fattore H del complemento e la risposta a ranibizumab nel trattamento della Degenerazione Maculare legata all'età. Gli autori raccomandano un monitoraggio maggiore del paziente portatore del genotipo TC o CC, che probabilmente richiede cicli di terapia più ravvicinati.

Conflitto di interesse: Un autore dichiara di aver ricevuto finanziamenti da Allergan e Pfizer

Parole chiave: fattore H del complemento, Degenerazione Maculare legata all'età, ranibizumab.

Riferimento bibliografico:

[Lee AY](#) et al. *Br J Ophthalmol*. 2008 Dec 17.

LA FARMACOGENETICA DEL CLOPIDOGREL

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Il trattamento, sia acuto che cronico, con clopidogrel in associazione ad acido acetilsalicilico può prevenire eventi ischemici ricorrenti dopo una sindrome coronarica acuta o un intervento coronarico percutaneo (PCI); nonostante ciò, molti pazienti vanno incontro a eventi trombotici. Ci sono evidenze crescenti che la risposta al clopidogrel possa essere influenzata da variabili farmacocinetiche, come l'assorbimento intestinale e l'attivazione metabolica epatica, entrambi influenzati dal polimorfismo genetico.

Qui di seguito vengono riportati due lavori recentemente pubblicati sul *New England Journal of Medicine* e su *Lancet*.

DETERMINANTI GENETICI DELLA RISPOSTA AL CLOPIDOGREL E EVENTI CARDIOVASCOLARI: STUDIO CONDOTTO DAL FRENCH REGISTRY OF ACUTE ST-ELEVATION OR NON-ST-ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION (FAST-MI).

Scopo di questo studio è stato valutare se i polimorfismi dei geni che modulano l'assorbimento (*ABCB1*), l'attivazione metabolica (*CYP3A5* e *CYP2C19*) e l'attività biologica (*P2RY12* e *ITGB3*) fossero associati con morte e eventi ischemici durante il periodo di *follow-up* di 1 anno in pazienti inseriti nel FAST-MI, trattati con clopidogrel dopo infarto acuto del miocardio.

I pazienti, reclutati in un periodo di 31 giorni tra il 1 Ottobre e il 24 Dicembre 2005 in 223 ospedali francesi, sono stati inclusi nel registro se di età superiore ai 18 anni, con marker serici di necrosi del miocardio (creatinchinasi, creatinchinasi MB, troponina I e troponina T) più di 2 volte superiori al range normale e altri

sintomi coerenti con infarto del miocardio acuto. L'intervallo di tempo tra comparsa dei sintomi e ammissione in un'unità di terapia intensiva (ICU) doveva essere minore di 48 ore. I pazienti hanno ricevuto cure secondo la normale pratica clinica e il trattamento non era influenzato dalla partecipazione al registro. L'*outcome* primario era composto da morte per ogni causa, infarto del miocardio non fatale o *stroke* durante un anno di *follow-up*.

Dei 3670 pazienti arruolati in FAST-MI, era disponibile un campione di sangue da 2430 pazienti (66%), dei quali 2208 hanno ricevuto il farmaco; la dose di carico media del clopidogrel è stata di 300mg/die e la dose media di mantenimento di 75mg/die.

Complessivamente sono morti 225 pazienti, 94 hanno avuto un infarto non fatale o un episodio di *stroke*; rispetto ai pazienti che non hanno avuto eventi (1914), questi pazienti (294, 13%) sono più vecchi ($75,4 \pm 10,8$ vs $64,8 \pm 13,5$ anni), hanno più frequentemente una storia di ipertensione (72 vs 56%), diabete (41 vs 30%), infarto del miocardio (25 vs 16%), PCI (18 vs 10%), *stroke* (8 vs 4%) o insufficienza cardiaca (12 vs 3%) e meno frequentemente sono stati sottoposti a terapia di riperfusione, consistente in PCI o fibrinolisi (rispettivamente 47 vs 73% e 9 vs 17%). I due gruppi non sono differenti per quanto riguarda l'assunzione di calcio-bloccanti, aspirina e inibitori della pompa protonica, mentre i pazienti andati incontro a un evento hanno ricevuto meno frequentemente statine, beta-bloccanti, ACE-inibitori, inibitori della glicoproteina IIb/IIIa ed eparina.

La distribuzione genotipica osservata è sovrapponibile a quella riportata per la razza bianca. Nessuno dei polimorfismi di singolo nucleotide (SNP) selezionati per i geni *CYP3A5*, *P2RY12* e *ITGB3* è significativamente associato al rischio di morte, infarto del miocardio non fatale e *stroke*. Nei pazienti con entrambi gli alleli di *ABCB1* mutati (TT al nucleotide 3435) è stata osservata una più alta frequenza di eventi cardiovascolari ad 1 anno rispetto al genotipo *wild-type* (CC al nucleotide 3435) (15,5% vs 10,7%, HR 1,72, 95% CI 1,20-2,47). Il rischio di eventi cardiovascolari è più elevato nei pazienti portatori di due varianti alleliche di *CYP2C19* a funzione ridotta (*2, *3, *4, *5) rispetto ai pazienti con nessuna variante (21,5% vs 13,3%, HR 1,98, 95% CI 1,10-3,58). Non è stata osservata alcuna interazione significativa tra le varianti di *ABCB1* e le varianti di *CYP2C19* a funzione ridotta. Tra i 1535 pazienti sottoposti a PCI durante l'ospedalizzazione, la frequenza di eventi cardiovascolari tra i pazienti con due alleli *CYP2C19* a funzione ridotta è 3,58 volte superiore rispetto ai pazienti con nessuna variante (95% CI 1,71-7,51).

L'attività antiplastrinica del clopidogrel non è influenzata dalla contemporanea somministrazione dell'omeprazolo, un inibitore di *CYP2C19*; questo è un'osservazione clinica importante, visto l'alta frequenza di co-prescrizione di inibitori della pompa protonica e della duplice terapia antiplastrinica.

Tra i pazienti per i quali è indicata la terapia con clopidogrel, la genotipizzazione più che il monitoraggio della funzionalità piastrinica potrebbe essere una strategia accessibile e adatta per identificare pazienti ad alto rischio di eventi antitrombotici.

La natura osservazionale dello studio non permette di indagare sulla relazione causa-effetto e gli autori non possono escludere che la contemporanea somministrazione di altri farmaci, comunemente prescritti nell'infarto miocardico acuto, possa modificare l'influenza dei fattori genetici sulla risposta al farmaco. Gli autori ritengono comunque che i risultati di questo studio osservazionale nazionale riflettano ciò che si può attendere dalla pratica clinica.

In conclusione, le varianti genetiche di *CYP2C19* a funzione ridotta sono associate con un aumento del rischio di morte, infarto del miocardio o *stroke*, soprattutto tra i pazienti sottoposti a PCI.

Questo lavoro è accompagnato da un editoriale, a cura di Freedman and Hylek, che commenta anche il *Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel-trombolysis in Myocardial Infarction* (TRITON-TIMI), che, in una sottoanalisi, ha studiato l'associazione tra varianti genetiche di CYP e *outcome* cardiovascolari in circa 1500 pazienti con sindrome coronaria acuta, pubblicato sullo stesso numero della rivista e trattato nello scorso numero della newsletter ([Mega JL N Engl J Med](#). 2009, 360: 354-62; [SIF-Farmacogenetica](#) n°3, gennaio 2009). Entrambi gli studi hanno osservato che, nonostante le differenze tra le popolazioni, gli alleli *CYP2C19* a funzione ridotta sono associati ad un aumento rischio di eventi cardiovascolari, in particolare in pazienti sottoposti a PCI. Gli editorialisti

sostengono che tale osservazione non sia insignificante, ma sottolineano come rimangano da chiarire alcuni aspetti fondamentali:

- 1) un aumento della dose del farmaco (quelle utilizzate nei due studi sono simili) può compensare la riduzione dell'effetto in pazienti con varianti di *CYP2C19* a funzione ridotta?
- 2) L'uso di antiaggregante piastrinico alternativo, che non richiede attivazione metabolica, potrebbe migliorare l'*outcome* clinico in questo gruppo di pazienti?
- 3) L'efficacia terapeutica potrebbe migliorare con i test genetici, l'aggiustamento della dose o il tipo di terapia?

Conflitto di interesse: gli autori dichiarano che lo sponsor non ha avuto alcun ruolo nel disegno e nella conduzione dello studio, nell'analisi dei risultati e nella decisione di pubblicare il lavoro.

Parole chiave: clopidogrel, *CYP2C19* e *ABCB1*, rischio cardiovascolare

Riferimento bibliografico:

[Simon T](#) et al. *N Engl J Med.* 2009, 360: 363-75.

[Freedman JE and Hylek EM.](#) *N Engl J Med.* 2009, 360: 411-413.

IL POLIMORFISMO DEL CITOCROMO P450 2C19 IN PAZIENTI GIOVANI TRATTATI CON CLOPIDOGREL DOPO INFARTO DEL MIOCARDIO: STUDIO DI COORTE DAL REGISTRO MULTICENTRICO APPRAISAL OF RISK FACTOR IN YOUNG ISCHEMIC PATIENTS JUSTIFYING AGGRESSIVE INTERVENTION (AFIJI)

Scopo dello studio è stato valutare l'effetto sulla prognosi a lungo termine del polimorfismo di *CYP2C19**2 a funzione ridotta in una coorte di giovani pazienti (< 45 anni), sopravvissuti a un primo infarto del miocardio e trattati cronicamente con clopidogrel.

Tra il 1 Aprile 1996 e il 1 Aprile 2008, 378 pazienti con età inferiore a 45 anni e sopravvissuti a infarto del miocardio sono stati arruolati nel registro multicentrico francese AFIJI, nato con l'obiettivo di identificare i fattori di rischio classici e insoliti, migliorare l'educazione e ottimizzare il trattamento per prevenire nuovi eventi coronarici.

Criteri di inclusione di questo studio sono stati: età compresa tra 18 e 45 anni, patologia coronarica stabile definita come episodio di infarto del miocardio, assunzione di clopidogrel (75mg/die) per almeno 1 mese e genotipizzazione per *CYP2C19**2. Sono quindi stati esclusi dall'analisi 119 pazienti inseriti nel registro prima del 1999, anno di immissione in commercio del farmaco in Francia.

I pazienti sono stati inseriti nel registro 3 mesi dopo l'evento coronarico acuto e sono state registrate la storia medica e i fattori di rischio, come ipertensione (definita come pressione media superiore a 140/90mmHg), diabete (se precedentemente in terapia con ipoglicemizzanti o con glicemia a digiuno >1,26g/l), abitudine al fumo, storia familiare di patologia coronarica (qualsiasi evento coronarico in parenti di primo grado prima dei 60 anni per gli uomini e dei 65 per le donne).

Le visite di *follow-up* sono state programmate ogni 6 mesi, con un rapporto dettagliato del trattamento farmacologico.

L'*endpoint* primario era composto da morte per causa cardiovascolare, infarto del miocardio non fatale e rivascolarizzazione urgente; l'*endpoint* secondario era la trombosi da stent, valutata mediante angiografia.

I 259 pazienti trattati con il farmaco sono in prevalenza uomini bianchi, con una familiarità di patologie coronariche, circa metà ancora fumatori 3 mesi dopo l'evento cardiovascolare. Il clopidogrel è stato usato come farmaco di prima linea per sindromi coronariche acute in 216 pazienti (84%), mentre negli altri 43 la somministrazione è iniziata dopo l'evento con un ritardo medio di 8,4 anni per un nuovo PCI o per una decisione medica non dovuta ad un evento acuto.

All'ultima visita di *follow-up*, 213 pazienti assumevano ancora il farmaco (75mg/die), 208 dei quali (98%) in associazione a una bassa dose di aspirina. Il farmaco è invece stato sospeso dopo una media di 321 giorni negli altri 46 pazienti. L'esposizione media al farmaco è stata di 1,07 anni.

Per quanto riguarda la distribuzione della variante allelica *2 di *CYP2C19*, 186 pazienti (72%) sono omozigoti *wild-type* (*1/*1), 64 (25%) eterozigoti (*1/*2) e 9 (3%) omozigoti (*2/*2); le caratteristiche

demografiche, cliniche e la terapia non differiscono significativamente tra i pazienti omozigoti *wild-type* e i portatori della variante *CYP2C19*2*.

Durante il trattamento con il farmaco, si sono verificati 32 eventi avversi cardiaci maggiori in 26 pazienti; 6 pazienti hanno avuto più di un evento cardiovascolare durante il *follow-up*. 12 pazienti hanno avuto trombosi da stent. La variante *CYP2C19*2* è significativamente associata a un aumento della frequenza di eventi cardiovascolari: sia l'*endpoint* primario che quello secondario si sono verificati più frequentemente nei *carrier* rispetto ai *non-carrier* (*endpoint* primario: 15 vs 11 eventi, HR 3,69, 95% CI 1,69-8,05, $p=0,0005$; *endpoint* secondario: 8 vs 4 eventi, HR 6,02, 95% CI 1,81-20,04, $p=0,0009$). L'effetto dannoso della variante *CYP2C19*2* permane da 6 mesi dall'inizio della terapia fino alla fine del *follow-up* (HR 3,00, 95% CI 1,27-7,10, $p=0,009$). Dopo l'analisi multivariata, la variante *CYP2C19*2* è l'unico predittore indipendente di eventi cardiovascolari (HR 4,04, 95% CI 1,81-9,02, $p=0,0006$).

In conclusione, questo studio ha evidenziato una forte associazione tra la presenza della variante allelica *CYP2C19*2* e eventi coronarici trombotici ricorrenti in pazienti trattati con clopidogrel, prevalentemente di ascendenza europea e sopravvissuti a un infarto del miocardio prima dei 45 anni. Sono però necessari ulteriori studi per stabilire se questa informazione possa essere utilizzata nel guidare la gestione di questi pazienti e per estrapolarla a pazienti anziani e di ascendenza non europea.

L'editoriale di accompagnamento, a cura di Storey, evidenzia come la genotipizzazione di pazienti con sindrome coronarica acuta non sia, ad oggi, una soluzione appropriata nell'identificare giovani pazienti trattati con clopidogrel, sopravvissuti a infarto del miocardio, a rischio di eventi trombotici ricorrenti.

Le motivazioni sono due:

- 1) i risultati di questa analisi sono difficilmente disponibili nel momento in cui si deve iniziare la terapia con clopidogrel e durante la fase iniziale, ad alto rischio, della sindrome coronarica acuta. Un approccio più rapido potrebbe essere un test farmacodinamico per stimare la funzionalità piastrinica mediata da P2Y₁₂, con il vantaggio di identificare quei pazienti omozigoti *wild-type* per *CYP2C19*1* che hanno comunque una scarsa risposta al farmaco, per altri fattori come età, diabete, insufficienza renale o cardiaca;
- 2) ci sono attualmente nelle ultime fasi di sperimentazione nuovi farmaci, come il prasugrel, il ticagrelor e il cangrelor, che inibiscono efficacemente il recettore P2Y₁₂ e potrebbero rappresentare una soluzione dal problema della variabilità di risposta al clopidogrel: il primo, più resistente all'inattivazione e più efficientemente convertito nel metabolita attivo, non sembra risentire del genotipo di *CYP2C19*, gli altri due non richiedono attivazione metabolica.

Conflitto di interesse: gli autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da diverse ditte farmaceutiche

Parole chiave: clopidogrel, pazienti giovani, *CYP2C19*, prognosi a lungo termine

Riferimento bibliografico:

Collet JP et al. *Lancet* 2009, 373: 309-17.

Storey RF *Lancet* 2009, 373: 276-278.

**GRUPPO DI LAVORO SULLA FARMACOGENETICA
della SOCIETÀ ITALIANA DI FARMACOLOGIA**

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

Newsletter n°4 – Febbraio 2009

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