



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

Sommario

- Una meta-analisi su oltre 3000 pazienti non conferma l'associazione tra il polimorfismo C3435T del gene MDR1/ABCB1 e la resistenza ai farmaci antiepilettici
- Studio *tagging gene-wide* sull'associazione di polimorfismi del gene ABCB1 e resistenza ai farmaci impiegati nel trattamento dell'epilessia
- Effetto di varianti alleliche del gene che codifica per apolipoproteina A5 sull'efficacia del trattamento con statine
- Il polimorfismo Pro32Thr del gene per la inosina trifosfato pirofosfatasi predice l'efficacia di basse dosi di Azatioprina in pazienti con Lupus Eritematoso Sistemico
- Polimorfismi in geni codificanti PER citochine in bambini sottoposti a trapianto di fegato, a cui è stata eliminata con successo la terapia immunosoppressiva

UNA META-ANALISI SU OLTRE 3000 PAZIENTI NON CONFERMA L'ASSOCIAZIONE TRA IL POLIMORFISMO C3435T DEL GENE MDR1/ABCB1 E LA RESISTENZA AI FARMACI ANTIEPILETTICI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Il gene ABCB1 noto anche come MDR1 codifica per la glicoproteina-P (PgP), un trasportatore di membrana espresso a livello della barriera ematoencefalica, in grado di estrarre farmaci ed altri composti xenobiotici lipofili, riducendone in tal modo l'accumulo a livello del SNC. Diversi studi suggeriscono che la glicoproteina-P possa giocare un ruolo importante nello sviluppo della resistenza ai farmaci antiepilettici substrati della glicoproteina-P, quali carbamazepina, fenitoina e fenobarbital. Tra le numerose varianti del gene finora identificate, è stato ipotizzato che il polimorfismo sinonimo C3435T sia associato ad una diminuzione dell'espressione della glicoproteina-P. E' dunque possibile che un'alta espressione del gene ABCB1, come quella riscontrata nei pazienti con genotipo 3435CC, possa contribuire allo sviluppo di resistenza al trattamento con farmaci antiepilettici. In questo studio gli Autori hanno effettuato una revisione sistematica con meta-analisi degli studi disponibili fino al settembre 2007 allo scopo di caratterizzare il ruolo del polimorfismo C3435T ABCB1 nella risposta di pazienti epilettici al trattamento con farmaci anticonvulsivanti.

Gli Autori identificano 11 studi caso-controllo comprendenti 3371 pazienti epilettici (1646 pazienti con epilessia farmaco-resistente e 1725 pazienti con epilessia responsiva al trattamento anticonvulsivante). Di questi, tre studi sono stati condotti in Europa, due in Corea, uno negli Stati Uniti, uno in Australia, due in Cina, uno in Giappone ed uno a Taiwan. I risultati della meta-analisi, effettuata sugli 11 studi identificati, non confermano l'associazione del polimorfismo C3435T del gene MDR1 con la risposta di pazienti epilettici al trattamento anticonvulsivante (OR= 1.15; 95% intervallo di confidenza (IC) 0.78-1.70; p=0.48). Una seconda analisi effettuata dopo stratificazione dei pazienti in base all'origine etnica ha prodotto risultati simili (coorte europea: OR= 1.31; 95% IC 0.89-1.94, p=0.18; coorte asiatica: OR= 0.99; 95% CI 0.51-1.89, p=0.96). Mediante l'utilizzo di un modello statistico ad effetti casuali è stata inoltre effettuata una meta-

analisi cumulativa. In questo tipo di analisi i risultati dei singoli studi sono stati combinati sequenzialmente in base alla data di pubblicazione al fine di evidenziare un eventuale trend. I risultati della meta-analisi cumulativa mostrano che già a partire dal secondo studio, pubblicato nel 2004, l'associazione tra polimorfismo C3435T del gene ABCB1 e resistenza al trattamento anticonvulsivante non risulta statisticamente significativa.

Siddiqui e collaboratori (*N Engl J Med* 2003;348:1442-8) avevano pubblicato nel 2003 uno studio in cui si mostrava una maggiore prevalenza del genotipo ABCB1 3435CC in pazienti con epilessia farmaco-resistente. Questi risultati iniziali sono stati replicati solamente in 2 dei 10 studi che sono stati condotti successivamente. Diverse possono essere le ipotesi che potrebbero spiegare questi risultati contrastanti. In primo luogo, i criteri utilizzati per definire i pazienti con "epilessia farmaco-resistente" sono differenti tra i vari studi. Tuttavia, poiché sono stati utilizzati criteri simili per definire i "pazienti responders", è poco probabile che vi sia un bias di classificazione dei pazienti, eccezione fatta per i pazienti farmaco-resistenti "borderline", per altro esclusi da alcuni autori. In secondo luogo, è possibile che l'iniziale osservazione di Siddiqui sia dovuta unicamente al caso e quindi, come evidenziato dalla meta-analisi cumulativa, non poteva essere confermata dagli studi successivi. Alcuni autori hanno inoltre ipotizzato che specifici aplotipi del gene ABCB1 e non i singoli polimorfismi potrebbero essere associati alla risposta di pazienti epilettici al trattamento anticonvulsivante, tuttavia i tentativi finalizzati a valutare questa ipotesi non hanno avuto finora successo.

In conclusione, la meta-analisi effettuata sugli studi attualmente disponibili non ha confermato l'associazione inizialmente riscontrata tra polimorfismo C3435T del gene ABCB1 e risposta di pazienti epilettici al trattamento anticonvulsivante.

Questo lavoro affronta l'importante problema del ruolo delle proteine MDR nella farmaco-resistenza agli antiepilettici. È importante notare che l'espressione delle proteine MDR riduce la quantità di antiepilettico nel Sistema Nervoso e interferisce nella relazione tra valori ematici ed effetto terapeutico. Tuttavia, le proteine MDR sono svariate, e la loro espressione e funzionalità è regolata da numerosi fattori e farmaci. Diventa quindi difficile stabilire una diretta correlazione tra un singolo polimorfismo e la risposta terapeutica. Il limite maggiore di questo studio (o degli studi che lo costituiscono) è quindi di non considerare co-morbidità e trattamenti concomitanti, e di non considerare la durata del trattamento, la dose e il tipo di farmaco (o cocktail di farmaci) assunti. Inoltre, c'è da ricordare che molti degli antiepilettici citati nel manoscritto sono induttori del metabolismo. In questa fase, quindi, è difficile immaginare che possano emergere polimorfismi correlati al trattamento antiepilettico "in generale". Malgrado ciò, l'importanza della problematica impone di affrontare il problema da un punto di vista farmacogenetico, magari focalizzando le risorse su studi con pazienti più omogenei.

Parole chiave: MDR1, polimorfismo C3435T, epilessia, farmaco-resistenza, meta-analisi

Riferimento bibliografico:

[Bourmissen FG et al. *Epilepsia* 2009, 50\(4\):898-903.](#)

STUDIO TAGGING GENE-WIDE SULL'ASSOCIAZIONE DI POLIMORFISMI DEL GENE ABCB1 E RESISTENZA AI FARMACI IMPIEGATI NEL TRATTAMENTO DELL'EPILESSIA

A cura delle Dott.sse Sabrina Angelini e Gloria Ravegnini

Nonostante i trattamenti farmacologici, il 30% dei pazienti che soffrono di epilessia continuano a manifestare attacchi. La *overexpression* del trasportatore glicoproteina-P (PgP; codificato da ABCB1) a livello della barriera emato-encefalica può contribuire all'insorgenza di resistenza a causa di un ridotto accumulo dei farmaci impiegati.

Ad oggi il numero di studi che abbia genotipizzato un ampio gruppo di tagging SNP (tSNP) sul gene ABCB1 è limitato. Nello studio di Leschziner *et al.*, sono stati analizzati 22 SNPs; Shahwan *et al.*, hanno invece indagato un numero inferiore di SNPs (solo 8), su una popolazione più ampia. In entrambi i casi non sono state identificate associazioni significative con la risposta al trattamento. Probabilmente, il primo studio è

limitato dalla scarsa potenza statistica, il secondo dalla scelta casuale degli SNPs da analizzare ed una definizione di responsività, come riduzione del 50% degli attacchi (rilevante nei *trials* clinici per scopi più propriamente regolatori), anziché assenza totale di attacchi (rilevante dal punto di vista clinico) che rende difficile qualsiasi confronto con altri studi.

Queste considerazioni hanno spinto gli autori a genotipizzare un ampio set di tSNPs identificati dall'HapMap project su un gruppo 464 pazienti epilettici, di cui 194 resistenti al trattamento. Inoltre, per evidenziare un eventuale effetto sulla espressione, i genotipi significativi sono stati associati con i livelli di mRNA di ABCB1 nel tessuto di cervello epilettico. Infine, hanno voluto indagare se l'eventuale associazione con SNPs sia influenzata da caratteristiche del paziente come sesso e la sindrome alla base della epilessia.

Per il raggiungimento di questo obiettivo sono stati arruolati pazienti di età superiore a 15 anni in trattamento con uno o più antiepilettici da almeno 1 anno. Per questi pazienti la sindrome epilettica è stata classificata in accordo alle linee guida internazionali. Per il trattamento, invece, sono stati definiti responsivi tutti i pazienti che hanno ricevuto una dose standard di antiepilettico e che non hanno manifestato attacchi epilettici per almeno 1 anno dall'inizio della terapia. Sono invece stati definiti non responsivi tutti i pazienti che nel corso dell'anno di trattamento hanno manifestato uno o più attacchi al mese, pur essendo trattati con due o più antiepilettici alla massima dose tollerabile.

Per quanto riguarda il genotipo, è stato scaricato il "Chinese Beijing SNP genotype data from HapMap Data Rel#20/Phase II Jan06" ed i tSNPs sono stati selezionati tramite la funzione *tagger* dell'*haploview* program. Nell'analisi del genotipo sono anche stati inclusi gli SNPs rs1128503 (236 C>T) e rs2032582 (2677 G>T/A), perché cambiano la sequenza amminoacidica e sono già stati implicati in fenomeni di farmaco resistenza, e l'rs3789243 perché associato a colite ulcerativa, per cui potrebbe avere un ruolo funzionale. Il programma ha incluso 11 tSNPs (12 in origine, ma uno è stato escluso perché la frequenza della variante era inferiore al 5%) che riescono a comprendere un totale di 75 varianti alleliche su 111. I livelli di mRNA sono stati invece determinati tramite Real-time da RNA estratto da 10 mg di tessuto cerebrale da resezione chirurgica di 20 pazienti resistenti ai trattamenti.

L'analisi ha evidenziato una più bassa proporzione di pazienti maschi nel gruppo dei pazienti non responsivi rispetto a quello dei responsivi (45,4% vs 54,8%). Nel gruppo dei non responsivi si osserva anche una più alta percentuale di pazienti con sindrome epilettica sintomatica (55,7%) mentre bassa è la percentuale di pazienti con epilessia idiopatica (5,7%).

L'analisi del genotipo ha evidenziato che gli SNPs rs 3789243 e 2677T/A/G sono significativamente associati alla farmaco resistenza. Dopo applicazione della correzione di Bonferroni per comparazioni multiple tra i genotipi, lo SNP rs 379243 e 2677T/A/G rimane significativamente associato alla farmaco resistenza ($P = 0.020$). L'analisi di regressione logica multipla, che ha incluso parametri come sesso, età al momento dell'arruolamento, età di insorgenza dell'epilessia, sindrome epilettica e gli SNPs rs 3789243 e 2677T/A/G evidenzia un ruolo significativo (negativo) dello SNP 2677T/A/G nella farmaco resistenza (OR: 0,70; 95% CI 0,52-0,95; $P = 0,020$). L'analisi degli alleli, anziché del genotipo, dopo applicazione della correzione di Bonferroni restituisce il P value più basso per lo SNP rs3789243 ($P = 0,12$). L'analisi di permutazione di tutti gli SNPs insieme ancora una volta restituisce il P value più basso per lo SNP rs3789243 ($P = 0.078$). quest'ultimo SNP è anche risultato essere associato a farmacoresistenza nel sottogruppo dei maschi (non nelle donne), e nel gruppo dei pazienti con sindrome epilettica localizzata, e non in quello con epilessia idiopatica.

L'analisi degli aplotipi derivanti dalla combinazione degli SNPs rs3789243T>C, 1236C>T, 2677T/A/G e 3435C>T ha evidenziato che la combinazione T-C-G-C è significativamente associata alla responsività al trattamento (7,5% resistenti vs 12,2% responsivi; $P = 0.022$). Inoltre, considerando 2677T>A/G dei 12 polimorfismi analizzati si evidenzia un aplotipo significativamente associato alla responsività al trattamento presente infatti nel 9,0% dei responsivi, contro il 4,9% dei non responsivi (OR: 0,53; 95% CI: 0,29-0,94; $P = 0,020$). Riguardo i livelli di mRNA, non si sono evidenziate differenze significative tra pazienti di genotipo diverso.

I risultati di questo studio suggeriscono, per la prima volta, un ruolo rilevante dei polimorfismi rs3789243 e 2677T/A/G e gli aplotipi che li contemplano, nella resistenza al trattamento in un gruppo di pazienti di etnia Cinese, senza che si abbiano effetti sui livelli di mRNA di ABCB1.

Lo SNP rs3789243 è localizzato sull'introne tre del gene, per cui si rendono necessari ulteriori studi per confermare il risultato e mettere in luce l'eventuale ruolo funzionale di questo SNP, ad oggi non noto.

Conflitto d'interesse: Gli Autori dichiarano di essere stati sponsorizzati dal Research Grants Council dell'Hong Kong *Special Administrative Region China*. Non hanno ricevuto altri finanziamenti.

Parole chiave: Farmaci antiepilettici, Epilessia, ABCB1

Riferimento bibliografico:

[Kwan P](#) et al. *Pharmacogenomics* 2009, 10: 723-32.

EFFETTO DI VARIANTI ALLELICHE DEL GENE CHE CODIFICA PER APOLIPOPROTEINA A5 SULL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO CON STATINE

A cura del Dott. Dario Cattaneo

Diversi *trials* multicentrici, con migliaia di pazienti seguiti per più anni, hanno consistentemente dimostrato l'efficacia delle statine nel ridurre i livelli di colesterolo totale e di lipoproteine pro-aterogene in soggetti dislipidemici. L'effetto ipolipemizzante delle statine si è inoltre associato ad una diminuzione significativa nel numero di eventi cardiovascolari, sia in termini di prevenzione primaria che secondaria. Nel corso di questi studi si è, tuttavia, osservata una notevole variabilità inter-individuale nella risposta al trattamento con statine: a parità di farmaco e dose somministrata è stata infatti documentata una variabilità al trattamento pari al 10-50%. Questo può rappresentare un problema importante dal punto di vista clinico, in quanto attualmente non esistono test affidabili capaci di identificare precocemente i soggetti che presenteranno una risposta non ottimale alla terapia con statine e che saranno quindi, a maggior rischio di sviluppare eventi cardiovascolari. Considerato che la risposta individuale al trattamento con questi farmaci è relativamente stabile e costante nel tempo, è stato ipotizzato che tale variabilità non dipendesse da fattori ambientali ma fosse piuttosto su base genetica.

Negli ultimi anni diversi studi hanno valutato il possibile impatto di polimorfismi (di geni coinvolti nel metabolismo o nel target farmacologico) sull'effetto ipolipemizzante delle statine. Fino ad oggi, oltre 30 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) potenzialmente implicati nella risposta al trattamento con statine sono stati identificati e studiati. Tuttavia i risultati di questi studi hanno spesso fornito risultati contrastanti e non conclusivi. Le varianti alleliche del gene che codifica per l'apolipoproteina A5 (apoA5) sono sicuramente tra i polimorfismi potenzialmente più interessanti. L'ApoA5 è un'apolipoproteina che svolge un ruolo fondamentale nel metabolismo dei trigliceridi e nel regolare i livelli di HDL e colesterolo totale. Più recentemente sono state identificate diverse varianti alleliche di apoA5 significativamente correlate con i livelli di lipidi circolanti e con il rischio di infarto del miocardio.

Scopo del presente studio è stato quello di valutare se tali varianti alleliche potessero giocare un ruolo nel regolare la risposta al trattamento con statine.

Nello studio sono stati coinvolti 187 pazienti con dislipidemia primaria che presentavano una chiara indicazione clinica al trattamento con statine: l'8% di questi pazienti erano diabetici e il 32% erano ipertesi. Tutti i soggetti erano stati istruiti a mantenere una dieta a basso contenuto calorico ed avevano iniziato la terapia con statine a basso dosaggio: il 46% era in trattamento con simvastatina (20 mg/die), il 41% con atorvastatina (10 mg/die) ed il rimanente 13 con lovastatina (10 mg/die). Pazienti che assumevano due o più ipolipemizzanti e soggetti con diagnosi di ipercolesterolemia familiare sono stati esclusi dallo studio. Per valutare la diversa distribuzione delle varianti alleliche di apoA5 è stata inclusa anche una popolazione di controllo rappresentata da 470 soggetti normolipidemici. Le varianti alleliche di apoA5 considerate sono state: -1131T>C, 56C>G, 475G>A, rs662799, rs3135506 e rs3135505. I dati sono stati analizzati utilizzando i test del chi-quadro, ANCOVA e Mann-Whitney. Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale e il modulo di consenso informato per analisi genetiche è stato raccolto per tutti i soggetti inclusi nello studio.

Le prime analisi descrittive volte a confrontare la frequenza delle diverse varianti alleliche di apoA5 tra i pazienti e il gruppo controllo hanno evidenziato una frequenza maggiore dello SNP in posizione 56C>G nei soggetti in trattamento con statina (19.7% vs 11.5, $p<0.005$), mentre non sono state osservate differenze significative nella distribuzione degli altri polimorfismi. Successivamente gli autori hanno analizzato la

possibile influenza di tutti gli SNPs studiati sulla risposta al trattamento con statine, in termini di riduzione dei livelli di colesterolo totale, LDL, HDL e trigliceridi. Con queste analisi è stato documentato che l'entità della riduzione delle concentrazioni di LDL dipendeva in modo altamente significativo dalla presenza della variante allelica in posizione C-1131. In particolare, i soggetti portatori di tale variante allelica rispondevano meno efficacemente al trattamento con statine rispetto ai soggetti wild-type (Δ -LDL: $-29.9 \pm 12.5\%$ vs $-36.3 \pm 15.1\%$, $p < 0.005$). Questi risultati sono stati confermati anche dopo aggiustamento per BMI, età, sesso e tipo di statina utilizzata.

Questo studio ha dimostrato, per la prima volta, un ruolo significativo di varianti alleliche di apoA5 nel predire l'efficacia dell'effetto ipolipemizzante delle statine. A 3 mesi dall'inizio della terapia con statine, i soggetti portatori del genotipo T-1131T presentavano infatti una maggiore riduzione dei livelli di LDL rispetto ai carriers della variante allelica "C". Questo effetto potrebbe essere spiegato considerando che apoA5 nel plasma si trova associata a chilomicroni e VLDL, due lipoproteine che, una volta catabolizzate, generano LDL. Si potrebbe quindi speculare che la variazione nella struttura di apoA5 – presente nei soggetti portatori delle varianti alleliche del gene apoA5 – potrebbe contribuire a cambiamenti conformazionali nelle lipoproteine ricche di trigliceridi (chilomicroni, VLDL), influenzandone il catabolismo e/o il legame ai propri recettori. Tuttavia, tali ipotesi richiedono necessariamente una conferma sperimentale. Va infine sottolineato che i risultati di questo studio si applicano solamente alla popolazione di soggetti dislipidemicici Caucasicci Europei. Non si può infatti escludere che la frequenza e l'impatto clinico dei polimorfismi studiati cambi anche drasticamente considerando etnie diverse.

I soggetti portatori del genotipo APOA5 TT-1131 hanno evidenziato una maggiore risposta al trattamento con statine in termini di riduzione dei livelli di LDL rispetto a quanto osservato nei carriers della variante allelica C-1131. Questi risultati suggeriscono che le varianti genetiche del gene APOA5 possono giocare un ruolo rilevante nella risposta al trattamento ipolipemizzante con statine.

Note:

La prescrizione a carico del SSN delle statine è regolata dalla nota 13 dell'AIFA.

Parole chiave: statine, apolipoproteina A5, eventi cardiovascolari, polimorfismi a singolo nucleotide

Riferimento bibliografico:

[Hubacek JA](#) et al. *Pharmacogenomics* 2009; 10: 945-950.

IL POLIMORFISMO PRO32THR DEL GENE PER LA INOSINA TRIFOSFATO PIROFOSFATASI PREDICE L'EFFICACIA DI BASSE DOSI DI AZATIOPRINA IN PAZIENTI CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

A cura della dott.ssa Cristina Tonello

Il lupus eritematoso sistemico (LES) è una malattia cronica autoimmune che può colpire diversi organi del corpo, in particolare la cute, le articolazioni, il sangue ed i reni. Il nome lupus eritematoso sistemico risale all'inizio del XX secolo. È una malattia rara che colpisce 5 bambini ogni milione in un anno. L'esordio della malattia è raro prima del quinto anno d'età ed insolito prima dell'adolescenza. Si riscontra più frequentemente nella popolazione femminile che ha raggiunto lo sviluppo (da 15 a 45 anni) e in questo gruppo d'età la proporzione delle donne colpite è nove volte quella degli uomini. Nei bambini che non hanno raggiunto la pubertà, i casi sono più frequenti nei maschi. Il LES è diffuso in tutto il mondo, anche se sembra più comune nelle popolazioni d'origine afro-americana, ispanica, asiatica e indigena del nord America.

L'infiammazione rende le parti del corpo colpite rosse, calde, gonfie e doloranti. Se gli effetti dell'infiammazione durano a lungo, come può succedere con il LES, è possibile che la normale funzionalità dei tessuti venga danneggiata. È per questo motivo che la terapia è mirata principalmente a ridurre il processo d'infiammazione. Vi sono quattro gruppi di farmaci usati: antinfiammatori non steroidei (FANS), antimalarici (come l'idrossiclorochina) efficaci per le lesioni cutanee sensibili all'esposizione solare e altre manifestazioni cutanee del LES, glucocorticosteroidi (come il prednisone e il prednisolone) che riducono

l'infiammazione e sopprimono l'attività del sistema immunitario e gli immunosoppressori (come l'Azatioprina, AZA), che riducono l'infiammazione e la capacità immunitaria dell'organismo. Questi farmaci sono usati quando i corticosteroidi da soli non riescono a tenere sotto controllo il LES o se gli effetti collaterali dei corticosteroidi sono troppo seri, o se si reputa che una combinazione dei due tipi farmaci sia più efficace dei corticosteroidi da soli. L'AZA è trasformata attraverso una via non enzimatica in mercaptopurina e funziona come un analogo strutturale o "antimetabolita". Sembra ridurre, principalmente, le risposte immuni umorali, anticorpali, mediate dai linfociti B. L'effetto tossico principale esplicito dall'azatioprina è rappresentato da una mielosoppressione (tossicità per gli elementi del midollo osseo); in seguito a dosi elevate sono anche possibili eruzioni cutanee, febbre, nausea e vomito, diarrea con sintomatologia gastrointestinale. Sembra esservi inoltre una aumentata possibilità di sviluppo di neoplasie. L'enzima pirofosfatasi dell'inosina trifosfato (ITPA) trasforma in 6-tioinosina monofosfato la 6-tioinosina trifosfato (6-TITP) prevenendone l'accumulo. La sintetasi della guanosina monofosfato converte 6-TITP in nucleotidi tioguanidici, che sono i metaboliti effettivamente attivi da un punto di vista clinico, ma anche responsabili della tossicità.

Il polimorfismo 94C>A (Pro32Thr) a livello del gene *ITPA* è particolarmente importante in quanto gli omozigoti AA e gli eterozigoti presentano rispettivamente una attività enzimatica pari allo 0% e 22,5% in confronto ai controlli wild-type. Esiste una forte associazione tra questo SNP e ADR quali rash e pancreatiti, probabilmente dovute all'accumulo di 6-TITP. La frequenza del polimorfismo 94C>A (Pro32Thr) è dell'11-19% negli asiatici e del 1-7% negli altri gruppi etnici.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di capire il contributo di questo SNP nel determinare l'efficacia di basse dosi di AZA in pazienti con LES.

Sono stati studiati 51 pazienti con LES (3 uomini e 48 donne) con età media di 35 anni, 6,2 anni di LES, uno score dell'indice di attività della malattia (SLEDAI) di 5,2 e con un dosaggio di AZA pari a 0,97 mg/kg/day. Le frequenze di *ITPA* 94A, *GSTM1* null, *GSTT1* null e *TPMT**3C erano 22.5, 49.0, 43.1, and 2.0%, rispettivamente. Nessun paziente è risultato portatore degli alleli *ITPA* IVS2+21C, *TPMT**2, *3A, o *3B.

Dopo un anno di trattamento con dosi basse di AZA una significativa riduzione dello score SLEDAI è stata osservata in individui portatori dei genotipi *ITPA* 94CA or 94AA, ma non nei soggetti con genotipo *ITPA* 94CC (-2.8 ± 3.0 in CA/AA vs. 0.4 ± 3.4 in CC, $P = 0.002$). Per valutare il contributo relativo dei vari fattori che contribuiscono all'efficacia di AZA gli autori hanno eseguito una analisi di regressione multipla tra polimorfismi genetici (*ITPA*, *GSTM1*, *GSTT1*, and *TPMT*), età dei pazienti, durata di LES, score SLEDAI all'inizio della terapia e il dosaggio di AZA. Il polimorfismo *ITPA* 94C>A è il più fortemente correlato al cambiamento di punteggio dello SLEDAI ($r = 0.354$, $P = 0.006$) seguito dall'età del paziente ($r = 0.332$, $P = 0.006$). Non sono state trovate correlazioni significative per tutti gli altri fattori.

In conclusione questo è il primo lavoro che dimostra una correlazione tra l'esito positivo di una terapia a basso dosaggio di Azatioprina e un marker genetico nel trattamento del Lupus Eritematoso Sistemico.

Parole chiave: Lupus Eritematoso Sistemico, Azatioprina, inosina trifosfato pirofosfatasi

Riferimento bibliografico:

[Okada Y](#) et al. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2009, 85: 527-30.

POLIMORFISMI IN GENI CODIFICANTI PER CITOCHINE IN BAMBINI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI FEGATO, A CUI È STATA ELIMINATA CON SUCCESSO LA TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA

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

L'attuale gestione della terapia immunosoppressiva successiva ai trapianti è finalizzata a minimizzare il rigetto cellulare acuto e a prevenire il rigetto cronico. La morbilità associata ai trapianti è spesso connessa agli effetti avversi della terapia stessa. Nonostante sia stata documentata in alcuni lavori la possibilità di ridurre o addirittura sopprimere la terapia immunosoppressiva, non sono stati ancora chiaramente definiti i criteri predittivi che possano guidare con successo la riduzione o soppressione della terapia immunosoppressiva.

A questo proposito, la genotipizzazione del profilo di espressione delle citochine coinvolte nel rigetto dei trapianti potrebbe consentire la caratterizzazione di quei pazienti potenzialmente tolleranti nei quali possa essere avviato un processo di riduzione dell'immunosoppressione, associata ad una normale funzione a lungo termine dell'organo allogenico.

Gli autori del lavoro qui descritto hanno genotipizzato il fattore di necrosi tumorale (TNF), l'interleuchina 6 (IL-6), dell'IL-10, l'interferone (IFN) gamma e il fattore di crescita trasformante (TGF) beta 1 in una coorte di bambini sottoposti a trapianto di fegato, in cui la terapia immunosoppressiva era stata ridotta o eliminata con successo. Gli autori ipotizzavano che genotipi caratterizzati da geni a bassa produzione di citochine pro-infiammatorie e ad alta produzione di citochine anti-infiammatorie, potessero predisporre a tolleranza clinica.

Per dimostrare queste ipotesi gli autori hanno studiato retrospettivamente una popolazione costituita da soggetti in età pediatrica ricevuti un trapianto di fegato, a cui sono stati eliminati i farmaci immunosoppressivi (n = 12; gruppo A) o a cui la terapia immunosoppressiva era stata ridotta (n = 7; gruppo B). I soggetti in studio sono stati genotipizzati per l'individuazione di polimorfismi in geni codificanti per le citochine sopra elencate. Un gruppo di pazienti sottoposti a trapianto di fegato e trattati con una normale terapia immunosoppressiva di mantenimento è stato arruolato come coorte di controllo (n = 37; gruppo C). Il protocollo utilizzato dagli autori per la soppressione della terapia immunosoppressiva è stato il seguente:

- dose di prednisone diminuita del 50% mensilmente;
- dose di inibitori della calcineurina (ciclosporina in primo luogo e, quando applicabile, tacrolimus) diminuita a intervalli di 1-2 mesi del 10-25% rispetto alla dose basale;
- azatioprina soppressa sin dall'inizio del trattamento quando prescritta in combinazione con altri farmaci.

Va specificato che l'immunoterapia è stata immediatamente interrotta in tutti i pazienti di età pediatrica presentanti complicazioni acute dipendenti dai farmaci immunosoppressivi, come ad esempio infezione da virus Epstein-Barr (EBV) o malattia linfoproliferativa post-trapianto (PTLD). I farmaci sono stati somministrati successivamente alla risoluzione delle infezioni presenti o in caso di rigetto documentato mediante biopsia. Tutti i pazienti in studio sono rimasti in assenza di terapia immunosoppressiva per almeno 2 anni, ed hanno presentato una normale funzionalità epatica.

I polimorfismi analizzati nel presente lavoro di ricerca sono stati:

- un polimorfismo localizzato nella regione del promotore alla posizione -308 rispetto al sito di inizio della trascrizione (G/A) nel gene TNF-alfa. Il genotipo omozigote -308 G/G è associato ad una bassa produzione di TNF-alfa mentre i genotipi A/A e G/A sono associati ad un'alta produzione di TNF-alfa;
- due polimorfismi a carico del gene codificante per il TGF beta1, localizzati nella sequenza segnale in posizione +869 (C/T: leucina (T) o prolina (C) al codone 10 nella sequenza segnale) e in posizione +915 (G/C: arginina (G) o leucina (C) al codone 25). Alcune di queste combinazioni (T/T e G/G, T/C e G/G) sono state associate a un fenotipo "alto produttore";
- un polimorfismo localizzato alla posizione -174 del gene IL-6, con genotipo G/G o G/C associato ad alta produzione e genotipo C/C associato a bassa produzione;
- un polimorfismo IFN gamma in posizione +874, con genotipo A/A associato a bassa, T/A ad intermedia e T/T alta produzione;
- tre polimorfismi localizzati alle posizioni -1082 G/A, -819 C/T, -592 A/C del gene IL-10, con aplotipi GCC/GCC, GCC/ACC e GCC/ATT associati ad alta o intermedia produzione di citochina.

L'analisi dei polimorfismi nella popolazione sopra indicata hanno mostrato che tutti i 12 bambini appartenenti al gruppo A e 6 su 7 bambini appartenenti al gruppo B mostravano profili genotipici associati a bassa produzione di TNF alfa ($p < 0.008$) e alta/intermedia produzione di IL-10 ($p < 0.052$). Il gruppo C non mostrava distribuzioni così nette dei genotipi osservati. Non sono state trovate differenze significative a carico dei genotipi IL-6, TGF beta e IFN gamma.

Le citochine proinfiammatorie TNF alfa e IL6 esercitano differenti funzioni tra cui la promozione dell'attivazione delle cellule endoteliali, l'up-regolazione delle molecole di adesione cellulare e l'espressione del complesso maggiore di istocompatibilità. Alcuni lavori hanno dimostrato che, nei pazienti con rigetto acuto cellulare (ACR), vi è un'incrementata produzione di TNF alfa nel siero di tali soggetti e un'incrementata produzione di RNA messaggero all'interno dell'organo trapiantato. L'IL-10 possiede invece proprietà antinfiammatorie quali l'inibizione della proliferazione delle cellule T, la soppressione della

produzione di IL-2 e della sintesi di citochine proinfiammatorie (TNF alfa, IL6 e IL1 beta). La stessa IL10 inoltre down-regola la produzione di IL-2 e l'espressione di molecole costimolatorie di superficie e di classe MHCII.

L'individuazione di genotipi a "bassa produzione" di TNF alfa in bambini clinicamente tolleranti e a cui era stata soppressa l'immunoterapia è in linea con le proprietà proinfiammatorie di tale citochina e con precedenti lavori pubblicati, che mostravano che, in pazienti adulti e pediatrici trapiantati, un incrementato rigetto è associato a genotipi con alta produzione di TNF alfa.

I bambini in cui l'immunoterapia è stata soppressa con successo appaiono associati ad un genotipo che presenta alta/intermedia produzione di IL10. Le proprietà antinfiammatorie di tale citochina suggeriscono che il genotipo con alta/intermedia produzione di IL10 (da solo o in combinazione con il genotipo a bassa produzione di TNF alfa) può modulare il rigetto cellulare acuto nei trapiantati.

Va notato che il gruppo di pazienti in cui la sospensione della terapia è avvenuta con successo include sia bambini ai quali tale sospensione è avvenuta lentamente, sia bambini in cui l'interruzione della terapia è stata improvvisa o rapida a causa di processi infettivi o PTLD.

Sebbene questo studio sia solo studio preliminare e caratterizzato da una ridotta dimensione campionaria, i dati ottenuti suggeriscono che genotipi associati a bassa produzione di TNF alfa e ad alta/intermedia produzione di IL-10 possono essere utili indicatori per la modulazione dell'immunosoppressione in pazienti pediatrici soggetti a trapianto di fegato.

Attualmente, una riduzione dell'immunoterapia può essere attuata in un numero significativo di pazienti che non hanno avuto crisi di rigetto a lungo termine per il trapianto di fegato. Nonostante la completa soppressione dei farmaci sia possibile solo in un numero controllato e limitato di soggetti, la sua estensione consentirebbe di migliorare le aspettative di vita, di risolvere più efficientemente malattie infettive, endocrine, neurologiche, e di prevenire gravi effetti avversi derivanti dall'immunoterapia quali la nefrotossicità in una più ampia popolazione di pazienti trapiantati.

Parole chiave: immunosoppressione, polimorfismi, trapianto

Riferimento Bibliografico:

[Mazariegos GV](#) et al. *Transplantation*. 2002, 73(8): 1342-5.

*La newsletter di SIF-Farmacogenetica va in ferie.
Auguri di buone vacanze a tutti i nostri lettori.
Arrivederci a settembre.*

La Redazione

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

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

Direttore	Prof. Carlo Riccardi (Presidente eletto SIF, Università di Perugia)
Coordinatori	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott. Dario Cattaneo (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Emanuela Marras (Università dell’Insubria) Dott. Gianpaolo Perletti (Università dell’Insubria) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Cristina Tonello (Università di Milano)
Supervisione	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano) Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: sif@unito.it

DISCLAIMER – Leggere attentamente

Gli autori e redattori del Gruppo di Lavoro sulla Farmacogenetica sono Farmacologi, Medici, Farmacisti e Biologi, e quanto riportato deriva da affidabili ed autorevoli fonti e studi scientifici, accompagnato dai relativi estratti o riferimenti bibliografici alle pubblicazioni. In ogni caso, le informazioni fornite, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d’uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php, sulle relative newsletter, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un’opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate.

Il servizio è totalmente gratuito e non esistono conflitti di interesse o finalità di lucro.

Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione della newsletter “SIF – Farmacogenetica” senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall’articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all’indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.

Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell’IRPEF 2009. È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro Finanziamento della ricerca scientifica e della Università, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: 02-29520311
sif.farmacologia@segr.it; sif.informazione@segr.it; sifcese@comm2000.it.