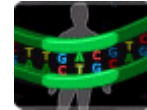




## SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 10 - Settembre 2009

---

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

---

### Sommario

- Studio *Genome-Wide* su pazienti che rispondono o meno alla terapia per Sclerosi Multipla con interferone beta
- Associazione dei polimorfismi MRP2 C-24T e GSTP1 Ile105val con la risposta chemioterapica nel carcinoma polmonare avanzato non a piccole cellule
- Medicina personalizzata e inibizione della via di segnale di EGFR nel tumore del polmone
- Associazione del genotipo del citocromo P450 2C19 con l'effetto antiplastrinico e l'efficacia clinica della terapia con Clopidogrel
- Analisi farmacocinetica di popolazione farmacogenetica-correlata dell'efavirenz in individui con HIV-1

---

### STUDIO *GENOME-WIDE* SU PAZIENTI CHE RISPONDONO O MENO ALLA TERAPIA PER SCLEROSI MULTIPLA CON INTERFERONE BETA

A cura della Dott.ssa Greta Milani

La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria, cronica, auto-immune e progressivamente invalidante che colpisce il sistema nervoso centrale. Questa patologia causa danni alla mielina, il rivestimento protettivo che circonda le fibre nervose, interferendo con lo scambio di messaggi fra il cervello e le altre parti del corpo. Ci sono quattro tipi di SM: I) SM benigna: le persone con una SM benigna solitamente subiscono due o più attacchi, anche dopo anni, con remissioni, seguiti da un completo recupero. Questa forma, che si manifesta nel 25% dei casi, non è disabilitante, anche se i pazienti possono col tempo entrare in una fase progressiva. II) SM recidivante-remittente (RRSM): è la forma di SM più frequente nelle persone sotto i 40 anni e rappresenta il 45-50 % di tutti i casi. Le persone subiscono degli attacchi, seguiti da periodi di remissione con un recupero completo o quasi. La disabilità globale aumenta gradualmente nel tempo, anche se il decorso è imprevedibile e la remissione può durare per anni. III) SM secondaria progressiva. Nel corso degli anni, dopo una diagnosi di SM recidivante-remittente, esiste la probabilità che le persone entrino in una seconda fase, conosciuta come SM secondaria progressiva. Il recupero diventa incompleto e causa nel tempo un progressivo deterioramento della condizione fisica. Un'ulteriore progressione si verifica indipendentemente dagli attacchi. IV) SM primaria progressiva. Le persone, la cui condizione deteriora continuamente senza attacchi, remissione o recupero, hanno una SM primaria progressiva. Questa forma è più frequente nelle persone che manifestano i loro primi sintomi dopo i 40 anni (circa il 25 % delle persone con SM).

In passato, il trattamento principale della SM era rappresentato da farmaci antinfiammatori steroidei quali l'adrenocorticotropina, il prednisone, il metilprednisolone, il prednisolone, il betametasona ed il dexametasone. Il trattamento degli attacchi è cortisonico, mentre per contrastare il decorso della malattia si ricorre a farmaci come l'interferone beta che attenuano la reazione del sistema immunitario. Poiché gli effetti collaterali dell'interferone risultano intollerabili per un 10% dei malati, si stanno introducendo altri farmaci con azione simile, ma minori effetti collaterali. L'interferone beta-1b è un farmaco usato per trattare la forma recidivante-remittente e la secondaria- progressiva della SM, che si somministra per iniezione sottocutanea,

rallentando l'avanzare della malattia e la frequenza di attacchi. Si pensa che i farmaci basati sull'interferone-beta ripongano i loro effetti benefici impedendo il progresso della sclerosi multipla grazie alle loro proprietà anti-infiammatorie. Studi hanno anche evidenziato che l'interferone-beta migliora l'integrità della barriera ematoencefalica (BBB), che generalmente si indebolisce nei pazienti affetti da SM, consentendo l'aumento del numero di sostanze indesiderate nel cervello. Questo rinforzamento della BBB potrebbe essere un fattore contribuente agli effetti benefici dell'interferone beta. L'interferone beta ricombinante è impiegato con successo nella maggior parte dei pazienti affetti da SM per rallentare la progressione della patologia. In alcuni pazienti, invece, si manifestano recidive e i sintomi peggiorano malgrado l'assunzione del farmaco. È possibile individuare i pazienti resistenti al trattamento con interferone beta mediante parametri clinici e radiologici solo dopo 1-2 anni di visite di controllo. Sarebbe opportuno, quindi, individuare dei *markers* che identifichino chiaramente i pazienti che rispondono alla terapia e, idealmente, predicano il tipo di risposta.

In questo studio sono stati valutati 106 pazienti (53 *responders* e 53 *non responders*, resistenti alla terapia) affetti da RRSM, trattati con interferone beta da 2 anni. Il DNA dei soggetti è stato valutato dal punto di vista qualitativo (gel d'agarosio) e quantitativo (misura della concentrazione), escludendo i DNA degradati e uniformando la concentrazione a 50ng/μL. I due gruppi di pazienti sono stati sottoposti ad un'analisi di screening *genome-wide* in grado di tipizzare contemporaneamente oltre 500,000 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) mediante l'utilizzo di *microarrays* (Affymetrix *early access 500K*). Gli autori dello studio hanno poi selezionato 383 SNP, che correlavano meglio alla risposta al farmaco, per una validazione in una coorte indipendente di altri 94 pazienti (45 resistenti e 49 sensibili alla terapia con interferone), valutati secondo gli stessi criteri utilizzati per la coorte dell'analisi *genome-wide*.

Mediante un altro saggio (*Golden Gate*, Illumina) è stato possibile analizzare ogni SNP selezionato dalla piattaforma Affymetrix. Lo studio ha individuato un'associazione statisticamente significativa tra il gene X-linked GRIA3 e la resistenza al trattamento con interferone beta; la resistenza alla terapia è associata anche a polimorfismi nei geni legati al metabolismo dell'interferone di tipo 1. In particolare, lo SNP rs12557782 si trova nell'introne 2 del gene GRIA3 (chr X), che codifica per un recettore del glutammato di tipo AMPA. A livello genotipico questo gene presenta differenze tra i sessi: c'è una buona risposta al trattamento con interferone nelle donne, ma non negli uomini; comunque occorre tener presente che gli uomini arruolati per lo studio erano in numero inferiore e nei soggetti maschi il cromosoma X è presente in un'unica copia. Inoltre, lo SNP rs7308076, localizzato nel gene CIT, che codifica per una proteina dipendente dal ciclo cellulare, ha mostrato avere una forte associazione con la risposta alla terapia. Due SNP, associati con buon esito del trattamento, si trovano in geni che sono strettamente legati al *pathway* dell'interferone di tipo 1: i) rs2229857, a livello del gene ADAR che codifica per una proteina interferone-inducibile con funzione antivirali. Si tratta di un SNP non sinonimo che porta ad un cambio amminoacidico nell'esone 2 del gene. ii) rs2248202, SNP intronico posizionato nel gene IFNAR2, che codifica per una delle subunità del recettore eterodimero dell'interferone. Altri tre SNP sono stati correlati alla risposta al trattamento: rs733254 e rs11787532 si trovano a livello di geni che codificano per proteine Zinc finger (rispettivamente ZFAT e ZFH4); rs9527281 si trova sul gene STARD13 che codifica per una proteina della famiglia Rho.

Correlando le frequenze alleliche di pazienti *responder* e *non responder* sono stati individuati anche degli SNP intergenici associati con la risposta al trattamento.

I risultati di questo lavoro riflettono la complessità e la natura poligenica della risposta all'interferone beta nella SM e sottolineano l'importanza del sistema glutamatergico nella risposta al trattamento.

Il limite dello studio, come dichiarato dagli stessi autori, è quello di non avere un gruppo di pazienti trattati con placebo: in questo modo non è possibile determinare se i risultati ottenuti siano associati al trattamento con interferone beta o riflettano il decorso naturale della malattia.

**Conflitto di interesse:** gli autori non dichiarano conflitti di interesse

**Parole chiave:** Sclerosi Multipla, interferone, SNP

#### Riferimento bibliografico

[Comabella M](#) et al. *Arch Neurol.* 2009 Aug;66(8):972-8.

## ASSOCIAZIONE DEI POLIMORFISMI MRP2 C-24T E GSTP1 ILE105VAL CON LA RISPOSTA CHEMIOTERAPICA NEL CARCINOMA POLMONARE AVANZATO NON A PICCOLE CELLULE

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

I derivati del platino sono una classe di farmaci antitumorali la cui azione citotossica deriva dalla loro capacità di formare addotti covalenti con il DNA, con conseguente arresto del ciclo cellulare e morte apoptotica della cellula. Gli schemi di trattamento comprendenti i derivati del platino, i cui membri principali sono il cisplatino, il carboplatino e l'oxaliplatino, sono divenuti il *gold standard* nella cura del carcinoma del polmone non a piccole cellule (NSCLC) in stato avanzato. Le evidenze attualmente disponibili evidenziano che l'attività citotossica di questo gruppo di composti può essere influenzata da polimorfismi genici funzionali che alterano l'attività o il grado d'espressione delle proteine coinvolte principalmente in tre processi: i) nel trasporto transmembrana del farmaco mediato dalla proteina MRP2 (*multidrug resistance-associated protein 2*), ii) nel processo di inattivazione del farmaco tramite coniugazione con glutatione ridotto in una reazione catalizzata dall'enzima glutatione-S-transferasi (GST) e iii) nei meccanismi di riconoscimento e di riparo degli addotti platino-DNA in cui sono coinvolti il sistema BER (*base excision repair*), NER (*nucleotide excision repair*) e MMR (*mismatch repair*).

Scopo di questo lavoro è stato quello di indagare il ruolo di alcune varianti polimorfiche nei geni MRP2 e GSTP1 come fattori predittivi della risposta tumorale alla chemioterapia con cisplatino, in pazienti con NSCLC avanzato.

Lo studio, di tipo retrospettivo, è stato condotto tra Marzo 2006 e Settembre 2007 su 113 pazienti cinesi di etnia Han, con diagnosi di NSCLC avanzato accertata istologicamente, che avevano ricevuto come trattamento di prima linea un regime chemioterapico di associazione comprendente il cisplatino. La risposta tumorale è stata valutata dopo quattro cicli di chemioterapia utilizzando i criteri WHO, che classifica la risposta tumorale in quattro categorie: risposta completa (CR, ossia scomparsa di tutte le lesioni misurabili), risposta parziale (PR, riduzione di almeno il 50% delle lesioni), stabilizzazione della malattia (SD, riduzione inferiore al 50% o un aumento non maggiore del 25% delle lesioni), e progressione della malattia (PD; aumento maggiore del 25% delle lesioni misurabili oppure comparsa di nuove lesioni). In base alla risposta tumorale, i pazienti sono stati classificati in *responders* (CR e PR) e *non responders* (SD e PD). A partire da sangue periferico, è stata eseguita la genotipizzazione dei polimorfismi MRP2 C-24T, MRP2 G1249A, MRP2 C3972T e GSTP1 Ile105val, mediante l'utilizzo una piattaforma *microarray*. L'associazione dei polimorfismi con la risposta tumorale è stata valutata in un modello di regressione logistica che includeva come variabili indipendenti il sesso, età alla diagnosi, istologia tumorale, stadio della malattia e regime chemioterapico utilizzato.

Dei 113 pazienti inclusi nello studio, 30 (26,5%) sono stati classificati *responders* (CR+PR) e 83 (73,5%) *non responders*. Tutti i polimorfismi analizzati sono stati trovati in equilibrio di *Hardy-Weinberg*. Le distribuzioni genotipiche dei polimorfismi C-24T del gene MRP2 e Ile105 val del gene GSTP1 differiscono in maniera significativa tra i pazienti *responder* e *non responder*. In particolare, i portatori della variante -24T del gene MRP2 (OR=4.493, 95% IC: 1.73-11.7, P<0.002) e della variante 105 val del gene GSTP1 (OR: 2.88, 95% IC: 1.167-7.113, P=0.022) hanno una maggiore probabilità di rispondere al trattamento chemioterapico, rispetto ai rispettivi pazienti omozigoti per la variante maggiore. I polimorfismi MRP2 G1249A e MRP2 C3972T non risultano predittivi della risposta tumorale al trattamento chemioterapico con cisplatino.

Stoehlmacher nel 2002 aveva inizialmente mostrato che il polimorfismo funzionale Ile105val del gene GSTP1 è un fattore predittivo della sopravvivenza in pazienti con stadio avanzato di carcinoma colon-rettale, dopo trattamento chemioterapico con 5-FU/oxaliplatino (*J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 936-42). Numerosi studi sono stati condotti successivamente al fine di valutare il ruolo dei polimorfismi delle glutatione trasferasi (GSTs) come determinanti genetici dell'*outcome* clinico in pazienti oncologici trattati con derivati del platino. Sulla base delle evidenze attualmente disponibili, l'ipotesi oggi più comunemente accettata è che i portatori della variante 105val del gene GSTP1 possano beneficiare maggiormente dalla terapia con derivati del platino, rispetto ai soggetti omozigoti per la variante 105Ile, poiché hanno una ridotta attività enzimatica di rimozione e detossificazione da tali composti, che si traduce in un prolungato effetto citotossico. Tuttavia

non sono disponibili dati riguardanti il ruolo del polimorfismo GSTP1 Ile105val come fattore predittivo dell'outcome clinico in pazienti con NSCLC avanzato.

I risultati di questo studio mostrano per la prima volta che i polimorfismi GSTP1 Ile105val e MRP2 C-24T sono in grado di predire la risposta tumorale di pazienti con NSCLC avanzato sottoposti ad un regime chemioterapico di combinazione con cisplatino.

Limite principale di questo studio è la mancanza di dati riguardanti l'associazione dei polimorfismi con la sopravvivenza dei pazienti, sia globale che in assenza di progressione della malattia. Inoltre, nonostante sia stata utilizzata una piattaforma *microarray* che avrebbe permesso l'analisi di numerosi polimorfismi contemporaneamente, non sono state considerate le varianti funzionali di geni coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA (per esempio ERCC1, XPD, XRCC1), che possono avere un ruolo nei meccanismi di resistenza ai derivati del platino. Nonostante questi limiti, il presente studio ha evidenziato i polimorfismi GSTP1 Ile105val e MRP2 C-24T come possibili *markers* genetici predittivi della risposta tumorale alla chemioterapia con cisplatino, in pazienti con NSCLC avanzato. Se confermati in studi prospettici più ampi, questi risultati potranno fornire agli oncologi medici un importante e valido strumento per ottimizzare la terapia di pazienti oncologici trattati con questa classe di farmaci.

**Parole chiave:** Carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC), risposta tumorale, MRP2, GSTP1

#### Riferimento bibliografico

[Sun N](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 Jul 1 [Epub ahead of print].

---

## MEDICINA PERSONALIZZATA E INIBIZIONE DELLA VIA DI SEGNALE DI EGFR NEL TUMORE DEL POLMONE

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

I due protooncogeni più comunemente mutati nell'adenocarcinoma polmonare sono *k-ras* e *EGFR*: circa il 90% delle mutazioni di *EGFR* comprendono una sostituzione di leucina con arginina in posizione 858 (L858R) e una delezione nell'esone 19, che influenza la sequenza conservata LREA (delE746-A750). Queste mutazioni causano un'attivazione costitutiva della porzione tirosinchinasica di EGFR, destabilizzando la sua conformazione autoinibente, normalmente mantenuta in assenza di ligando; queste mutazioni attivanti conferiscono ipersensibilità agli inibitori tirosinchinasici gefitinib e erlotinib. Diversi studi retrospettivi hanno evidenziato come le mutazioni di *EGFR* siano un fattore predittivo indipendente di risposta, *overall survival* (OS) e *progression-free survival* (PFS) in pazienti con tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC) trattati con gefitinib, la maggior parte dei quali sottoposti a precedente chemioterapia; le mutazioni di *EGFR* sono più frequenti nelle donne, nei pazienti con adenocarcinoma, in quelli che non hanno mai fumato e in pazienti di origine asiatica, ossia i gruppi che meglio rispondono alla terapia con questo farmaco.

Vengono qui di seguito riportati due studi recentemente pubblicati sul *New England Journal of Medicine* sull'uso degli inibitori tirosinchinasici come trattamento iniziale di sottogruppi di pazienti con tumore del polmone non a piccole cellule.

### GEFITINIB O CARBOPLATINO-PACLITAXEL NELL'ADENOCARCINOMA POLMONARE: STUDIO IPASS (*Iressa Pan-Asia Study*)

Obiettivo di questo studio, condotto nell'Est asiatico (Hong Kong, Cina, Indonesia, Giappone, Malesia, Filippine, Singapore, Taiwan e Thailandia), è stato confrontare efficacia, sicurezza e profilo degli eventi avversi del gefitinib rispetto a una chemioterapia con carboplatino-paclitaxel, quando questi farmaci sono usati come terapia di prima linea in non fumatori o precedenti fumatori leggeri con adenocarcinoma polmonare, valutando inoltre il ruolo delle mutazioni di *EGFR* come predittore di efficacia della terapia.

Si tratta di uno studio di fase III, multicentrico, randomizzato, in aperto, a gruppi paralleli; l'*end-point* primario è stato il PFS, mentre *end-point* secondari erano l'OS, la risposta obiettiva, la qualità della vita, la riduzione dei sintomi, la sicurezza e il profilo degli eventi avversi. I principali criteri di inclusione sono stati:

età  $\geq 18$  anni, NSCLC di grado IIIB o IV, confermato istologicamente o citologicamente, con caratteristiche istologiche di adenocarcinoma, non fumatori ( $<100$  sigarette/vita) o precedenti fumatori leggeri (cessazione del fumo da almeno 15 anni e  $\leq 10$  pacchetti/anno), non aver ricevuto precedente chemioterapia o terapia biologica o immunologica.

I pazienti sono stati randomizzati in rapporto 1:1 a ricevere gefitinib (250mg/die os) o paclitaxel (200mg/m<sup>2</sup>, ev per 3 h nel primo giorno del ciclo), seguito da carboplatino (dose calcolata per produrre un AUC di 5 o 6 mg/ml/min, ev per 15-60 min) per un massimo di 6 cicli, uno ogni 3 settimane. Il trattamento proseguiva fino a progressione della malattia, sviluppo di effetti tossici non tollerati, richiesta, del medico o del paziente, di interrompere la terapia, mancata *compliance* con il protocollo, fine dei sei cicli.

Tra marzo 2006 e ottobre 2007, sono stati randomizzati 1217 pazienti, 609 assegnati al gruppo gefitinib (57 anni, 79,5% donne) e 608 al gruppo carboplatino-paclitaxel (57 anni, 79,1% donne); i due gruppi avevano caratteristiche demografiche e basali sovrapponibili. La durata media del trattamento è stata di 6,4 mesi nel gruppo gefitinib e 3,4 mesi nel gruppo carboplatino-paclitaxel; al termine della raccolta dati (14 aprile 2008) il 24,5% dei pazienti trattati con gefitinib continuava la terapia, mentre tutti i pazienti trattati con carboplatino-paclitaxel l'avevano interrotta.

La frequenza di PFS a 12 mesi è stata di 24,9% con il gefitinib e di 6,7% con carboplatino-paclitaxel, dimostrando quindi non solo la non-inferiorità, ma anche la superiorità, del gefitinib in termini di PFS (HR per progressione o morte 0,74, 95% CI 0,65-0,85,  $p<0,001$ ). Il PFS è stato maggiore in tutti i sottogruppi trattati con gefitinib: l'unico fattore che ha influenzato il PFS è stata l'età ( $< 65$  anni: HR 0,81, 95% CI 0,70-0,95,  $p=0,007$ ;  $\geq 65$  anni: HR 0,58, 95% CI 0,46-0,76,  $p<0,001$ ).

L'analisi mutazionale di *EGFR* è stata condotta su 437 campioni, 261 (59,7%) dei quali sono stati positivi: complessivamente si sono registrate 140 (53,6%) delezioni dell'esone 19, 111 (42,5%) mutazioni dell'esone 21 (L858R), 11 (4,2%) mutazioni dell'esone 20 (T790M), 10 (3,8%) altre mutazioni e 11 pazienti con mutazioni multiple. Nel sottogruppo positivo per le mutazioni di *EGFR*, sia il PFS che la frequenza di risposta obiettiva (71,2%) sono state significativamente maggiori nei pazienti trattati con gefitinib (HR per progressione o morte 0,48, 95% CI 0,36-0,64,  $p<0,001$ ); nel sottogruppo senza mutazioni, la frequenza di risposta obiettiva è stata di 1,1% con l'inibitore tirosinchinasico e il PFS è stato maggiore nei pazienti trattati con chemioterapici (HR con gefitinib 2,85, 95% CI 2,05-3,98,  $p<0,001$ ). La risposta al gefitinib nei pazienti senza mutazione era inferiore rispetto a quanto osservato in altri studi: possibili spiegazioni potrebbero essere l'utilizzo di una tecnica maggiormente sensibile per la determinazione delle mutazioni di *EGFR* o il reclutamento di pazienti non precedentemente trattati.

Le reazioni avverse più frequenti sono state rash o acne (66,2%) e diarrea (46,6%) nel gruppo trattato con gefitinib e neurotossicità (69,9%), neutropenia (67,1) e alopecia (58,4%) nel gruppo carboplatino-paclitaxel.

In conclusione, lo studio ha dimostrato come il gefitinib prolunghi il PFS, aumenti la frequenza di risposta e migliori la qualità della vita rispetto alla terapia con carboplatino-paclitaxel in una popolazione selezionata di pazienti con tumore del polmone non a piccole cellule. La presenza di mutazioni di *EGFR* migliora il PFS e la risposta al gefitinib, indicando come i pazienti con tali mutazioni possano meglio beneficiare del trattamento di prima linea con questi farmaci.

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

#### Riferimento bibliografico

[Mok TS](#) et al. *N Engl J Med* 2009, 361: 947-57

### SCREENING PER MUTAZIONI DEL RECETTORE DELL'EPIDERMAL GROWTH FACTOR NEL TUMORE DEL POLMONE

Obiettivo di questo studio prospettico, condotto dal *Spanish Lung Cancer Group*, è stato fare uno *screening* delle mutazioni di *EGFR* in pazienti con tumore avanzato del polmone non a piccole cellule; i pazienti con mutazioni di *EGFR* sono stati presi in considerazione per il trattamento personalizzato con erlotinib ed è stata valutata l'associazione tra mutazioni di *EGFR* e *outcome*.

Tra aprile 2005 e novembre 2008 sono stati prospetticamente sottoposti a *screening* per mutazioni di *EGFR* 2105 pazienti con NSCLC, reclutati in 129 centri spagnoli. I pazienti con mutazioni a carico di tale gene sono stati sottoposti a trattamento con erlotinib 150mg/die fino a progressione della patologia e eventi



avversi non tollerabili. Sono stati inclusi pazienti con diagnosi di NSCLC di stadio IIIB con interessamento pleurico o di stadio IV; l'abitudine al fumo è stata riportata al basale e i pazienti sono stati classificati come non fumatori (<100 sigarette/vita), precedenti fumatori ( $\geq 1$  anno dalla cessazione) o fumatori correnti (ancora fumatori o < 1 anno dalla cessazione). Sono stati ottenuti 2105 campioni tissutali, di cui 2060 paraffinati e 45 freschi, e 164 campioni di sangue al basale.

Le mutazioni del gene *EGFR*, osservate in 350 pazienti (16,6%), sono più frequenti nelle donne (69,7%), nei pazienti che non hanno mai fumato (66,6%) e in quelli con adenocarcinoma (80,9%,  $p < 0,001$  per tutti i confronti). 296 pazienti portatori di mutazioni a carico di *EGFR* sono stati valutati per il trattamento con erlotinib, ma solo 217 hanno iniziato la terapia; di questi la maggior parte erano donne bianche (72,8%, età media 67 anni), che non avevano mai fumato (68,2%) e con adenocarcinoma (81,1%). 113 pazienti hanno ricevuto erlotinib come terapia di prima linea e 104 come seconda o terza.

La risposta alla terapia è stata valutata in 197 pazienti: 24 hanno avuto una risposta completa, 115 parziale, 38 una malattia stabile e in 20 si è invece osservata una progressione; una migliore risposta è stata associata a delezione dell'esone 19 rispetto alla mutazione L858R (OR 3,08, 95% CI 1,63-5,81,  $p = 0,001$ ) e età tra 61 e 70 anni (OR 2,55, 95% CI 1,32-4,96,  $p = 0,006$ ).

Il PFS e l'OS sono stati di 14 e 27 mesi rispettivamente, simili nei pazienti che ricevevano il farmaco come terapia di prima o di seconda linea ( $p = 0,62$  per PFS e 0,67 per OS); in pazienti che non hanno queste mutazioni, la chemioterapia normalmente ha portato a una risposta del 30%, un PFS di 5 mesi e una sopravvivenza media di 12 mesi. Il PFS è stato di 16 mesi nelle donne e di 9 negli uomini ( $p = 0,003$ ), l'OS rispettivamente di 29 e 18 ( $p = 0,05$ ); non si sono osservate differenze significative di PFS in accordo a *performance status*, età, terapia di prima linea vs seconda o terza, abitudine al fumo, tipo di mutazione, in accordo anche ai risultati di un piccolo studio di fase 2 sul gefitinib. Dall'analisi multivariata è emerso come ci sia un'associazione tra scarso PFS e sesso maschile (HR 2,94, 95% CI 1,72-5,03,  $p < 0,001$ ) e la presenza della mutazione L858R (HR 1,92, 95% CI 1,19-3,10,  $p = 0,02$ ).

Gli eventi avversi più frequenti sono stati *rash* lievi e diarrea; tossicità cutanea e diarrea di grado 3 sono stati osservati in 16 (7,4%) e 8 (3,7%) pazienti; nessun paziente è stato ritirato dallo studio a causa degli eventi avversi.

In conclusione, lo *screening* per le mutazioni di *EGFR* è giustificato nelle donne con tumore del polmone, in quelli che non hanno mai fumato e in quelli con tumore non squamoso. Lo *screening* su larga scala dei pazienti con mutazioni di *EGFR* e la conseguente terapia personalizzata con erlotinib è fattibile e migliora l'*outcome*.

#### Riferimento bibliografico:

[Rosell R](#) et al. *N Engl J Med* 2009, 361: 958-67.

L'editoriale che accompagna questi due studi sottolinea come le mutazioni a carico di *EGFR* rappresentino un *marker* prognostico favorevole di sopravvivenza e siano predittive della riduzione della massa tumorale, ma anche che le evidenze che possano predire un differente effetto degli inibitori delle tirosinchinasi sulla sopravvivenza siano incomplete. È necessario rispondere ad alcune domande prima di poter estrapolare i risultati ottenuti dallo studio randomizzato condotto su pazienti asiatici alla popolazione europea, come: l'erlotinib è un sostituto idoneo del gefitinib? Visto il non incremento di OS nel *trial* randomizzato, è necessario effettuare l'analisi mutazionale in sottogruppi selezionati o questi possono essere trattati empiricamente? Inoltre l'assenza di differenze di OS suggerisce come non sia importante l'ordine di somministrazione dei farmaci.

Il *pathway* di *EGFR*, deregolato nella maggior parte dei tumori del polmone, rappresenta un bersaglio ottimale per la *targeted therapy*; nel giro di pochi anni, il clinico potrebbe avere a disposizione, a basso costo, analisi molecolari di *EGFR* e di altri *pathway* delle cellule tumorali del paziente, che gli permetteranno di individualizzare la terapia integrando il profilo genomico o proteomico con i dati clinici e demografici. L'editorialista sottolinea come la varietà di target presenti nelle cellule tumorali e di farmaci attualmente in *trial* clinici o in fase di sviluppo promettono un futuro luminoso per la terapia antitumorale.

**Parole chiave:** NSCLC, *EGFR*, erlotinib, gefitinib

#### Riferimento bibliografico

Gazdar AF. *N Engl J Med* 2009, 361: 1018-20.

## ASSOCIAZIONE DEL GENOTIPO DEL CITOCROMO P450 2C19 CON L'EFFETTO ANTIPIASTRINICO E L'EFFICACIA CLINICA DELLA TERAPIA CON CLOPIDOGREL

A cura del Prof. Diego Fornasari

Il Clopidogrel è un anti-aggregante il cui meccanismo d'azione risiede nella capacità di bloccare i recettori dell'adenosina P2Y<sub>12</sub> localizzati sulle piastrine. In combinazione con l'aspirina previene eventi ischemici in soggetti a rischio e migliora la prognosi dell'angioplastica coronarica, impedendo l'occlusione dello *stent*. Una grande variabilità nella risposta terapeutica al Clopidogrel è ben nota nella pratica clinica e soggetti trattati con questo farmaco che, nonostante il trattamento, continuano a manifestare elevata reattività piastrinica *in vitro* sono ad alto rischio di eventi ischemici. Le cause di questa variabilità nella risposta sono state recentemente ricondotte a polimorfismi genetici nel gene codificante il citocromo P450 CYP2C19. Infatti il Clopidogrel è in realtà un profarmaco che necessita di essere attivato da questo enzima. Varianti alleliche inattive o parzialmente inattive dell'enzima, come la variante CYP2C19\*2, non sono in grado di convertire il Clopidogrel. Si è potuto così dimostrare che pazienti portatori di queste varianti non beneficiavano della terapia con Clopidogrel e rimanevano ad alto rischio di eventi ischemici quando comparati a soggetti con varianti attive del CYP2C19 (Mega et al. *NEJM* 2009, 360: 354-362; [SIF-Farmacogenetica n°3](#), gennaio 2009 e [n°4](#), febbraio 2009).

Lo studio qui descritto si è prefissato di identificare le varianti genetiche che influenzano la risposta al Clopidogrel.

Gli autori hanno prima condotto uno studio di associazione *genome-wide* con l'intento di identificare i geni responsabili della risposta al Clopidogrel.

A tale scopo essi hanno impiegato una popolazione geneticamente omogenea, gli Amish, per minimizzare l'effetto di eventuali fattori confondenti.

Lo studio, denominato *Amish Pharmacogenomics of Antiplatelet Intervention Study* (PAPI) ha previsto l'arruolamento di 429 individui sani tra l'agosto 2006 e l'ottobre 2008. Gli individui selezionati presentavano gradi diversi di parentela tra loro al fine di evidenziare la possibile ereditabilità del tratto. I soggetti venivano trattati per 7 giorni con Clopidogrel e l'attività piastrinica veniva misurata *ex vivo* mediante aggregometria ottica, utilizzando plasma arricchito in piastrine, successivamente stimulate con acido arachidonico o ADP. La genotipizzazione era condotta utilizzando il *Gene Chip Human 500 K* di Affimetrix.

L'intenzione degli Autori era di replicare i risultati ottenuti studiando i geni e le relative varianti alleliche responsabili della risposta al Clopidogrel in una popolazione di pazienti. Per tale motivo è stato condotto il *Sinai Hospital of Baltimore Study*, nel quale venivano studiati 227 pazienti che dovevano essere sottoposti ad angioplastica non in emergenza. Lo studio dell'aggregazione era condotto come descritto mentre la genotipizzazione per il gene CYP2C19 veniva condotta mediante *allelic discrimination assay* di Applied Biosystems.

Nel primo studio l'interesse era di identificare tutti i fattori genetici responsabili della risposta al Clopidogrel; nel secondo studio l'interesse era di verificare l'impatto di questi fattori sulla risposta clinica al Clopidogrel, in termini di rischio di eventi cardiovascolari.

Lo studio PAPI ha dimostrato che l'attività piastrinica in risposta al trattamento con Clopidogrel è altamente ereditabile. Lo studio *genome-wide* ha rilevato la presenza di un *cluster* di 13 SNPs che interessava una regione di 1.5 megabasi sul cromosoma 10q24; gli SNPs sono in forte *linkage disequilibrium* l'uno con l'altro. Prendendo come riferimento il polimorfismo rs 12777823, i 9 partecipanti che erano omozigoti per l'allele meno frequente presentavano la risposta più scarsa al Clopidogrel, mentre i 300 soggetti omozigoti per la variante più frequente presentavano la risposta migliore. I 117 soggetti eterozigoti presentavano invece una risposta intermedia tra i due gruppi omozigoti. Non vi era alcuna associazione tra SNPs e aggregazione piastrinica basale, cioè in assenza di Clopidogrel, chiaramente indicando che il *locus* era un reale determinante della risposta al farmaco. Il *cluster* di SNPs identificato mappava all'interno o nelle immediate vicinanze del *cluster* dei citocromi CYP2C18-CYP2C19-CYP2C9-CYP2C8.

Pertanto lo studio condotto sull'intero genoma riproponeva il ruolo delle varianti del CYP2C19 come responsabili della risposta al farmaco. Tra queste, la variante allelica CYP2C19\*2 è caratterizzata dalla presenza di un sito di *splicing* aberrante che causa la produzione di una proteina tronca inattiva. La sua frequenza è 0.17 tra gli Amish dello studio PAPI, come in altre popolazioni bianche. La riduzione di

aggregazione piastrinica in risposta al Clopidogrel era rispettivamente al 40,7%, 47,1% e 65,4% rispetto al basale in relazione alla presenza di 0, 1 o 2 alleli CYP2C19\*2.

Nello studio *Sinai Hospital of Baltimore* gli autori correlano la presenza dell'allele CYP2C19\*2 non solo con l'attività piastrinica *ex vivo*, dati che confermano lo studio PAPI, ma anche con la comparsa di eventi cardiovascolari a distanza di 1 anno dall'intervento di angioplastica. I portatori dell'allele CYP2C19\*2 presentano un aumentato rischio di eventi cardiovascolari (20,9% vs 10%), con un *hazard ratio* (HR) di 2,42.

Questo è il primo studio *genome-wide* per identificare determinanti genetici nella risposta al Clopidogrel. Lo studio di fatto identifica il CYP2C19 e la sua variante CYP2C19\*2 come principali responsabili della ridotta risposta, sia *ex vivo* che in termini di aumentato rischio di eventi cardiovascolari. Sebbene lo studio chiaramente dimostri l'ereditabilità della risposta al Clopidogrel, la variante CYP2C19\*2 rende conto soltanto del 12% della variabilità interindividuale. L'età, l'indice di massa corporea e il livello plasmatico di trigliceridi sono responsabili di un ulteriore 10%. Pertanto le cause del 78% della variabilità sono ancora ignote. Non sono stati identificati altri loci che potrebbero partecipare alla determinazione del fenotipo. Tuttavia non è possibile escludere che altri tipi di variazione (per es. *copy number variation*) o polimorfismi molto rari ma con un importante effetto non siano stati evidenziati in questo tipo di genotipizzazione.

La presenza della variante allelica CYP2C19\*2 è stata associata con una diminuita risposta antiaggregante al Clopidogrel e aumentato rischio di eventi cardiovascolari. La presenza dell'allele spiega però soltanto il 12% della variabilità individuale nella risposta al Clopidogrel. Altri fattori, probabilmente genetici vista la elevata ereditabilità del tratto, devono essere pertanto implicati.

**Conflitto d'interesse:** gli Autori dichiarano diversi tipi di rapporti professionali con aziende farmaceutiche.

**Parole chiave:** CYP2C19, Clopidogrel, piastrine

#### Riferimento bibliografico

[Shuldiner AR](#) et al. *JAMA* 2009, 302(8):849-57.

[Bhatt DL](#) *JAMA* 2009, 302(8):896-7.

---

## ANALISI FARMACOCINETICA DI POPOLAZIONE FARMACOGENETICA-CORRELATA DELL'EFVIRENZ IN INDIVIDUI CON HIV-1

A cura della Dott.ssa Maria Elisa Bersia

L'efavirenz (EFV) è un inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa per os, commercializzato in Italia come Sustiva® e presente nei dosaggi da 50mg e 100mg. E' autorizzato per il trattamento di prima linea delle infezioni da HIV di tipo 1, in associazione ad altri farmaci antiretrovirali.

La posologia raccomandata è di 600mg/die, tuttavia concentrazioni plasmatiche elevate del farmaco, dovute soprattutto a fattori di variabilità individuale, sono associate a tossicità sul sistema nervoso centrale.

Il metabolismo dell'EFV riguarda primariamente i sistemi microsomiali del CYP2B6, in misura minore quelli del CYP2A6, CYP3A4/3A5 e l'uridin-glucuroniltransferasi.

Numerosi studi hanno evidenziato l'alto carattere polimorfico del CYP2B6 e lo correlano alle variazioni di concentrazione plasmatica del farmaco in oggetto.

Alla luce delle varianti alleliche che influenzano l'eliminazione dell'efavirenz, questo studio si è proposto di condurre un'analisi farmacocinetica di popolazione in pazienti affetti da HIV-1 allo scopo di evidenziare:

- il contributo di singoli alleli coinvolti nell'eliminazione del farmaco,
- l'associazione delle varianti alleliche ad altri fattori predisponenti, di natura demografica o ambientale,
- il tipo di correlazione esistente tra una variante allelica ed il metabolismo del farmaco,
- un modello di interazione gene-gene, per poter comprendere meglio l'influenza multipla di più enzimi sul metabolismo dell'antivirale.



Sono stati analizzati 393 campioni ematici, provenienti da 169 pazienti affetti da HIV-1 e caratterizzati da una diversità allelica dei CYP 2B6, 2A6, 3A4 e 3A5. Il modello farmacocinetico di popolazione utilizzato è stato il NONMEM (*non-linear mixed effect modeling*). La *clearance* media (CL) era 11.3 l/h con un'interindividualità del 65% ed il volume di distribuzione (V) pari a 388 l. I fattori influenzanti la CL presi in esame sono stati il peso corporeo, l'etnia, il genere, l'età e, in minor misura, l'altezza.

L'influenza degli alleli funzionali di CYP2B6, 2A6, 3A4 e 3A5 sulla CL dell'EFV è stata testata in prima battuta mediante un'analisi sul singolo gene, successivamente attraverso analisi di interazioni multiple di più varianti alleliche concomitanti, per finire con un modello caratterizzato dalla influenza cumulativa di tutte le varianti genetiche prese in considerazione.

#### Analisi demografica

Il peso corporeo, se sommato ad altezza, età e genere, può influenzare per il 3% la variabilità di CL dell'efavirenz. Altro fattore predisponente, che preso singolarmente influenza di altri 3 punti percentuali la *clearance* è l'etnia, in particolare la razza nera. Le terapie concomitanti non sono state responsabili di modificazioni significative sulla farmacocinetica del farmaco.

#### Analisi del genotipo (*single-gene analyses*)

##### **CYP2B6**

Le varianti alleliche considerate per questo sistema microsomiale sono Hom-LOF, Het-LOF, Hom-Ref, Het-GOF. Questo enzima è quello che incide maggiormente sulla *clearance* dell'EFV, infatti esso motiverebbe il 31% della intervariabilità individuale, il cui totale calcolato risulta essere il 65%. In particolare, la *clearance* media per Hom-LOF è di 2.8 L/h e 10.8, 13.3, 18.8 l/h rispettivamente per gli alleli Het-LOF, Hom-Ref, Het-GOF.

##### **CYP2A6**

La *clearance* media calcolata per gli individui Hom-LOF, Het-LOF e Hom-REF è 7.0, 10.8 e 12.1 l/h.

##### **CYP3A4**

Per questo citocromo sono stati presi in considerazione due alleli: CYP3A4\*1B e CYP3A4\_rs4646437.

Dopo l'inclusione di questi due alleli nel modello studiato, la variabilità interindividuale della *clearance* è scesa dal 65% al 62% e 59%, rispettivamente.

##### **CYP3A5**

L'influenza degli alleli di questo enzima è esigua ma significativa, con una variabilità interindividuale residua del 64%.

##### **ETNIA**

L'effetto della etnia nera sulla CL rimane un fattore importante; infatti, se associato con le varianti degli alleli funzionali prima esaminate, porta ad una diminuzione ulteriore del 20-40% di *clearance* del farmaco.

#### Analisi di interazione gene-gene

L'influenza degli alleli, non più presi singolarmente, bensì in un ambito di interazione e coesistenza, è stata testata dapprima analizzando la relazione di un citocromo con tutti gli altri alleli dei citocromi considerati, secondo un'analisi eseguita a due a due. Per esempio il contributo degli alleli funzionali di CYP2A6 è stato più evidente con Hom-LOF di CYP2B6. In ultima battuta si è preso in considerazione un modello cumulativo per tutte le varianti alleliche che influenzano la *clearance* dell'EFV.

Questo studio ha avuto lo scopo di quantificare gli effetti coniugati di molteplici *pathways* metabolici e delle loro rispettive varianti genetiche sulla farmacocinetica dell'efavirenz in pazienti affetti da HIV-1.

Tra i fattori di natura non genetica è stato osservato un impatto sulla CL da parte del peso corporeo; nessuna differenza riscontrata nei dati maschili e femminili, seppur in contrasto con precedenti studi presenti in letteratura; confermata l'influenza dell'etnia nera, associata ad eterogeneità dei CYP 2B6 e 3A4.

Tra le varianti genetiche, il ruolo predominante è rappresentato dal CYP2A6. L'influenza cumulativa di CYP2B6, 2A6 e 3A4\_rs4646437 implica una riduzione del 90% dell'eliminazione dell'efavirenz nel gruppo Hom-LOF.

E' necessario un aggiustamento posologico a seconda del tipo di polimorfismo di CYP2B6, CYP2A6 o CYP3A4 presente, allo scopo di mantenere le concentrazioni di efavirenz all'interno del proprio indice terapeutico. Gli alleli funzionali del CYP2B6 rappresentano l'influenza più significativa della variabilità interindividuale per la *clearance* dell'efavirenz. In individui con funzione limitata del CYP2B6 il dosaggio dell'EFV dovrebbe essere ridotto a 200mg/die, per assicurare i *range* terapeutici del farmaco.

**Parole chiave:** efavirenz, HIV-1, CYP2B6.

**Riferimento bibliografico**

[Arab-Alameddine M](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2009, 85(5):485-494.

---

**GRUPPO DI LAVORO SULLA FARMACOGENETICA  
della SOCIETA' ITALIANA DI FARMACOLOGIA**

[http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen.php](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 Maria Elisa Bersia (ASL CN1, Ospedale di Savigliano - CN) Dott.ssa Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino) Prof. Diego Fornasari (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](mailto: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](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](mailto: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. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: 02-29520311; [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it); [sif.informazione@segr.it](mailto:sif.informazione@segr.it); [sifcese@comm2000.it](mailto:sifcese@comm2000.it).