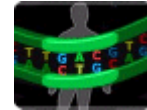




SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 12 - Novembre 2009

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

Sommario

- Identificato un gene responsabile di gravi disturbi psichici
- Variazioni comuni in ERCC2 (*Excision Repair Group 2*) sono associate alla risposta della chemioterapia a base di cisplatino e all'esito clinico nei pazienti affetti da osteosarcoma
- Polimorfismi MTHFR C677T e A1298C e cancro al colon-retto: associazione con suscettibilità alla patologia, caratteristiche genetiche ed epigenetiche dei tumori e risposta alla chemioterapia
- Polimorfismo MDR1 C3435T: relazione tra rischio di tumore al seno e risposta alla terapia
- Varianti genetiche con "perdita di funzione" a carico del gene *CYP2C9* migliorano la risposta al trattamento del Diabete di tipo II con Sulfaniluree: presentazione dello studio Go-DARTS
- Effetto di un polimorfismo del gene *CYP2D6* sull'efficacia di donepezil in pazienti con malattia di Alzheimer
- La variante genetica *SLCO1B1*5* e' associata agli effetti collaterali indotti dalle statine: lo studio STRENGTH (*statin response examined by genetic haplotype markers*)

IDENTIFICATO UN GENE RESPONSABILE DI GRAVI DISTURBI PSICHICI

A cura del Prof. Achille Caputi

I ricercatori dell'Università del Maryland, Baltimora (Stati Uniti) in un esperimento condotto sui topi di laboratorio hanno identificato un nuovo gene associato a depressione, schizofrenia e disturbi bipolari. Questo gene, se disattivato, può indurre comportamenti di tipo antidepressivo e ridurre l'ansia. La ricerca è stata pubblicata sulla rivista *Bmc Neuroscience*. Disattivando il gene *PKCI/HINT1*, questi comportamenti sono spariti, e i topi hanno ricominciato a comportarsi in maniera più normale.

I ricercatori non hanno tuttavia ancora capito come mai la disattivazione del gene ha alterato l'umore dei topi. La proteina codificata da *PKCI/HINT1* potrebbe diventare un bersaglio per sviluppare agenti terapeutici o diagnostici mirati per depressione, schizofrenia e disturbo bipolare. Inoltre, i topi con il gene disattivato potrebbero diventare nel futuro un utile modello animale adatto a studi del comportamento.

Riferimento bibliografico

[Barbier E](#) & Wang JB *BMC Neurosci* 2009, 10(1):132

VARIAZIONI COMUNI IN ERCC2 (*Excision Repair Group 2*) SONO ASSOCIATE ALLA RISPOSTA DELLA CHEMIOTERAPIA A BASE DI CISPLATINO E ALL'ESITO CLINICO NEI PAZIENTI AFFETTI DA OSTEOSARCOMA

A cura della Dott.ssa Maria Elisa Bersia

L'osteosarcoma è una delle neoplasie ossee più frequenti, soprattutto nei pazienti giovani. Il trattamento standard prevede una terapia neoadiuvante antecedente la resezione chirurgica ed una chemioterapia post-intervento. Nonostante la chemioterapia e l'asportazione del tumore primario, circa il 30% dei pazienti presentano ricadute o metastasi.

Il cisplatino rappresenta, con la doxorubicina ed il metotrexate, uno degli agenti chemioterapici più usati nell'osteosarcoma. Questo farmaco agisce creando legami crociati intra ed inter-catena, distorcendo i filamenti di DNA ed inibendone la replicazione.

Il sistema NER (*Nucleotide Excision Repair*) è uno dei *pathway* maggiormente coinvolti nella rimozione degli addotti formati dal cisplatino; per questo motivo alterazioni nell'espressione genica del NER, come per esempio la presenza di SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*), può correlare con fenomeni di resistenza al cisplatino. Gli SNPs dei geni ERCC1 ed ERCC2, codificanti per alcune proteine del sistema NER, sono stati associati alla risposta della terapia con cisplatino in diversi studi clinici (Gurubhagavatula S et al. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2594–2601; Ruzzo A et al. *Pharmacogenomics J* 2008; 8(4): 278–288).

Di qui il proposito degli Autori di indagare meglio la relazione tra 8 SNPs presenti in 6 geni codificanti per il NER e la risposta alla terapia con cisplatino in pazienti affetti da osteosarcoma.

I 6 geni di riparazione del DNA analizzati sono ERCC2 (*excision repair group 2*), XPC (*xeroderma pigmentosum group C*), XPA (*xeroderma pigmentosum group A*), ERCC1 (*excision repair group 1*), ERCC4 (*excision repair group 4*) ed ERCC5 (*excision repair group 5*).

Gli 8 polimorfismi presi in considerazione da questo studio sono: Lys751Gln (rs13181) e Asp312Asn (rs1799793) in ERCC2, Lys939Gln (rs2228001) in XPC, Lys 504Gln (rs3212986) e Asn118Asn (rs11615) in ERCC1, rs744154 in ERCC4-introne1, His46His (rs1047768) in ERCC5 e Rs1800975 in XPA 5'UTR.

Lo studio retrospettivo ha incluso 91 pazienti con osteosarcoma, seguiti presso la Clinica Universitaria di Navarra (Pamplona, Spagna) per un periodo compreso tra il 1986 ed il 2007.

I soggetti sono stati suddivisi per età (età media 15 anni), sesso (51 maschi) e per caratteristiche proprie della neoplasia; in particolare i dati sono stati raggruppati secondo il sottotipo (osteoblastico, condroblastico, altro) e la dislocazione dell'osteosarcoma (femore, tibia, braccio, centrale), tipo di necrosi, presenza/assenza di metastasi e/o recidive.

Le analisi finali sono state condotte nel mese di Marzo 2007, con un *follow-up* medio di 91 mesi.

Le terapie prechirurgiche hanno compreso tre alternative: adriamicina e.v., metotrexate e.v. oppure cisplatino intra arterioso; quelle post-resezione prevedevano una chemioterapia adiuvante a base di metotrexate e cicli e.v. di cisplatino/adriamicina (alternati) oppure di actinomicina D, ciclofosfamide e vincristina per un periodo di 48 settimane.

La risposta al trattamento è stata valutata attraverso un esame istologico, determinando la percentuale di necrosi indotta nel tumore in seguito a chemioterapia neoadiuvante: sono stati definiti come *poor responders*, pazienti con necrosi minore del 90% e come *good responders*, pazienti con necrosi maggiore o uguale al 90%.

Dei 91 pazienti inizialmente coinvolti, 16 sono stati esclusi in un secondo momento, poiché il loro regime neoadiuvante non aveva incluso terapie a base di cisplatino.

Gli *endpoints* dello studio sono stati risposta alla terapia ed *event-free survival*. E' stata inoltre valutata anche l'eventuale presenza di ototossicità trattamento-correlata.

La suddivisione dei pazienti ha previsto le alternative seguenti: *poor tumor response* e *event-free survival* (EFV).

Il 60% dei pazienti è stato classificato come *good responder*. Un'associazione significativa tra risposta alla terapia e SNP si è verificata con la presenza di almeno un allele polimorfico di Lys751Gln in ERCC2 e Lys939Gln in XPC. In particolare, l'allele polimorfico G del primo gene è stato associato ad un *poor response* (OR=4.89, CI=1.64-14.54, P-value=0.004); in pratica, tra i pazienti con almeno un allele G solo il 45% era *good responder* vs 80% degli omozigoti T.

Il polimorfismo del secondo gene è stato invece associato ad un *good response* (OR=0.34, CI=0.12-0.91, P-value=0.032); tra i pazienti con almeno un allele polimorfico C, il 71% era *good responder* vs 45% degli omozigoti A.

In seguito alla correzione per il *multiple testing* solo la prima associazione (ERCC2) ha mantenuto un valore in termini di significatività statistica (P-value post-correzione=0,047).

L'allele G di Lys751Gln in ERCC2 è stato significativamente associato con un minor EFV (*hazard ratio*=5.76, CI=1.30-25.55, P-value=0.021); l'EFS medio per i pazienti GG è stato di 141 mesi vs 240 mesi degli omozigoti T.

E' stata rilevata un'associazione significativa, seppur marginale (dati disponibili solo per 32 pazienti), dell'ototossicità con il polimorfismo rs2228001 di XPC (evento riscontrato nel 27% dei pazienti AA vs 80% CC). Tuttavia è da sottolineare il fatto che il 67% dei pazienti che hanno riscontrato ototossicità sono rientrati nei *good responders*.

L'identificazione di *markers* molecolari predittivi per la risposta al trattamento è essenziale per l'osteosarcoma, viste le poche alternative terapeutiche da utilizzarsi nelle recidive.

Gli Autori motivano l'impostazione di questo studio ribadendo il fatto che il cisplatino resti tra i chemioterapici più validi in questo tipo di neoplasia e che il sistema NER sia il maggior responsabile della rimozione degli addotti causati dal farmaco.

Nello studio, la presenza di almeno un allele G di Lys751Gln ha portato ad un rischio di *poor tumor response* 5 volte maggiore nei pazienti con osteosarcoma trattati con cisplatino; ciò coerentemente con i risultati di EFS, in cui è stato riscontrato un rischio quasi 5 volte maggiore di recidiva o morte per i soggetti del primo gruppo.

Gli Autori sottolineano il carattere innovativo dello studio farmacogenetico, focalizzato sul fatto che i geni di riparazione del DNA possano essere dei predittori di risposta al trattamento con cisplatino nell'osteosarcoma. Tuttavia ad oggi non esiste evidenza chiara di associazione tra NER e sensibilità ad altre terapie concomitanti al cisplatino.

In seguito a chemioterapia a base di cisplatino, il polimorfismo Lys751Gln situato nel gene ERCC2 del sistema NER è stato associato significativamente ad un *poor response* e ad un minore event-free survival per il trattamento dell'osteosarcoma.

Parole chiave: cisplatino, osteosarcoma, CRCC2

Riferimento bibliografico

[Caronia D](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2009, 9: 347–353

POLIMORFISMI MTHFR C677T E A1298C E CANCRO AL COLON-RETTO: ASSOCIAZIONE CON SUSCETTIBILITÀ ALLA PATOLOGIA, CARATTERISTICHE GENETICHE ED EPIGENETICHE DEI TUMORI E RISPOSTA ALLA CHEMIOTERAPIA

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

L'enzima MTHFR gioca un ruolo importante nel metabolismo dei folati, a loro volta implicati nella cancerogenesi dato il loro ruolo nella metilazione, riparazione, e sintesi del DNA. MTHFR in particolare è essenziale per la biodisponibilità dei donatori di gruppi metile, per cui può essere coinvolto nello squilibrio delle reazioni di metilazione, favorendo ipometilazione o ipermetilazione aberrante a livello del promotore di alcuni geni.

A tal scopo gli autori hanno analizzato la relazione tra gli SNPs MTHFR C677T (rs1801133) e A1298C (rs1801131) e le caratteristiche biologiche, clinicopatologiche, genetiche ed epigenetiche dei tumori e la risposta al trattamento chemioterapico con 5-fluorouracile (5-FU), allo scopo di determinare il contributo del genotipo MTHFR alla suscettibilità a cancro colon-rettale (CRC) e alla risposta al trattamento.

Nello studio sono stati arruolati 143 pazienti affetti da adenocarcinoma CRC sporadico e 103 controlli sani, che non sono mai stati affetti da cancro, appaiati per sesso ed età al gruppo dei casi. DNA genomico è stato

estratto da sangue intero, sia per il gruppo di controllo che per i casi. Per quest'ultimi è stato inoltre estratto DNA da tessuto, sia sano che tumorale, congelato a -80°C entro le due ore successive la resezione. L'analisi del genotipo è stata eseguita con una PCR-RFLP; lo stato di metilazione delle regioni a livello dei promotori dei geni MLH1, MSH2, p15, p16 e CDH1 (principali geni coinvolti nella cancerogenesi CRC) è stato valutato mediante trattamento con sodio bisolfito, che converte le Citosine non metilate in Uracile.

La distribuzione dei genotipi MTHFR C677T e A1298C risulta in equilibrio di Hardy-Weinberg, ma mentre la distribuzione di A1298C risulta simile tra casi e controlli, quella del genotipo C677T mostra una differenza significativa. I genotipi TT e CT sono infatti significativamente più frequenti nei controlli rispetto ai casi ($p < 0.001$). L'allele T è inoltre associato ad una diminuzione del rischio di CRC, indipendentemente dal genotipo A1298C (OR 0.45; 95% CI: 0.22-0.89 per la combinazione CT+TT/AA e OR 0.31; 95% CI: 0.14-0.37 per CT+TT/AC+CC). Per quanto riguarda lo stato di metilazione, il genotipo 677CC mostra un'associazione positiva con la metilazione del promotore di MSH2 (OR 3.13; 95% CI: 1.11-8.79), mentre il genotipo 1298AC è associato con lo stato di metilazione di MLH1 (OR 2.68%; 95% CI: 1.06-6.82). In aggiunta, si è osservato un trend di associazione tra i genotipi 677CC e CT e l'assenza di metilazione ai promotori di MLH1, p15, p16 e CDH1.

Per ciascuno dei due SNPs è stata definita la curva di sopravvivenza di Kaplan-Meier. Il genotipo C677T non è risultato associato all'età media di sopravvivenza (log rank = 0.01, $P = 0.92$), mentre per i portatori della variante allelica 1298C si osserva un tempo di sopravvivenza minore rispetto agli individui con genotipo 1298AA. Per quanto riguarda la risposta alla chemioterapia, i pazienti che presentano almeno un allele 677T (eterozigoti CT e omozigoti TT per la variante allelica), e sottoposti a trattamento con 5-FU mostrano un grado di sopravvivenza migliore rispetto a quelli con genotipo omozigote 677CC (log rank = 3.86, $P = 0.05$). Al contrario i portatori della variante allelica 1298C mostrano una sopravvivenza ridotta quando paragonati ai pazienti con genotipo omozigote per l'allele comune 1298 AA. I risultati sulla risposta al 5-FU, a prima vista sembrano paradossali. In realtà, lo SNP A1298C ha un minor impatto sulla funzionalità di MTHFR rispetto a quanto osservato per lo SNP C677T. Questo potrebbe portare ad una ridotta azione citotossica associata al 5-FU, con ripercussioni negative sul trattamento chemioterapico.

La variante allelica 677T ha un effetto protettivo nello sviluppo di CRC, che non si osserva per lo SNP A1298C. Entrambi i polimorfismi sono fattori rilevanti e indipendenti per la risposta al trattamento chemioterapico con 5-FU, per cui la genotipizzazione di MTHFR può essere utile nella scelta del regime terapeutico.

Naturalmente, come sottolineato dagli stessi Autori, i risultati riguardo l'influenza del genotipo MTHFR sulla risposta alla terapia con 5-FU richiede di essere confermata in ulteriori studi, su una popolazione più ampia.

Parole chiave: 5-Fluorouracile; cancro al colon retto, MTHFR

Riferimento bibliografico

[Fernández-Peralta AM](#) et al. *Int J Colorectal Dis* 2009 Aug 11 [Epub ahead of print]

POLIMORFISMO MDR1 C3435T: RELAZIONE TRA RISCHIO DI TUMORE AL SENO E RISPOSTA ALLA TERAPIA

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

A tutt'oggi il cancro al seno è uno dei tumori maggiormente diagnosticati tra le donne dei paesi industrializzati. Il numero di interventi terapeutici efficaci per la cura del tumore al seno è in ascesa, tuttavia, le variazioni interindividuali nel responso terapeutico e la tossicità osservata costituiscono un *issue* importante del suo trattamento. Alcuni studi recentemente hanno evidenziato che varianti genetiche a livello della superfamiglia dei trasportatori di membrana *ATP-binding cassette* (ABCs o MDR1) possono contribuire allo sviluppo di patologie tumorali e alla variabilità di risposta al trattamento chemioterapico osservata. Il prodotto del gene MDR1, la glicoproteina P (PgP), è una pompa di efflusso attiva per una grande varietà di tossine, cancerogeni, e farmaci. Attualmente si conoscono più di 100 varianti di MDR1;

una di queste è localizzata sull'esone 26 [C3435T; (rs623214 ndr)], ed è stata associata con un'alterata funzionalità di PgP.

Sulla base dei dati riportati in letteratura gli autori hanno voluto indagare la relazione tra il polimorfismo MDR1 C3435T e la suscettibilità a sviluppare tumore al seno nonché la risposta, intesa come efficacia e sicurezza, ai regimi chemioterapici con antracicline.

Lo studio in esame complessivamente ha coinvolto 334 donne, di cui 221 affette da tumore al seno e 113 controlli sani, tutti di origine Caucasica. Le pazienti sono state sottoposte a diversi regimi terapeutici (chemioterapia, radioterapia, terapia ormonale), ma gli autori hanno voluto indagare l'associazione tra il polimorfismo C3435T e la risposta al regime chemioterapico con antracicline [Epirubicina (E) e Doxorubiina (A)] che generalmente consiste nel trattamento con l'associazione 5-Fluorouracile (5-FU), l'antraciclina (E oppure A) e ciclofosfamide (C) (regimi 5-FUEC, 5-FUAC, AC), combinata con radioterapia (*n.* 111 pazienti totali di cui 38 pazienti in terapia neoadiuvante, 102 in terapia neoadiuvante e/o adiuvante e 9 in trattamento palliativo).

DNA genomico è stato estratto da sangue intero mediante tecniche convenzionali; lo SNP C3435T è stato analizzato tramite PCR-RFLP. Per quanto riguarda la valutazione della risposta alla terapia la popolazione è stata distinta in responsivi (pazienti che hanno dato risposta completa o parziale alla terapia) e non responsivi (malattia stabile o in progressione). L'OD e il corrispondente 95% CI sono stati usati per il calcolo delle relative associazioni. La curva di Kaplan-Meier è stata impiegata per valutare il tempo alla progressione (TTP), inteso come tempo che intercorre tra la diagnosi della malattia e la comparsa di metastasi; l'associazione tra TTP e lo SNP MDR1 C3435T è stata valutata tramite log-rank test.

I risultati ottenuti mostrano che il genotipo MDR1 3435TT è presente nel 30,3% dei pazienti e nel 21,2% dei controlli; la frequenza dell'allele T è del 54,8% per i pazienti e 45,1% nei controlli. Nel complesso i risultati evidenziano una differenza significativa sia nella frequenza allelica (C vs T $P = 0019$) che nel genotipo (CC vs TT $P = 0020$; CC vs CT+TT $P = 0040$) tra casi e controlli. Il genotipo TT, in particolare, sembra associato ad un rischio maggiore di sviluppare tumore al seno (OR= 2.12; 95% CI= 1.12-4.43).

Per quanto concerne la risposta alla terapia, è stata evidenziata un'associazione significativa tra lo SNP C3435T ed il successo del trattamento chemioterapico neoadiuvante con antracicline (*n.* 38 pazienti), indipendentemente dal sottotipo istologico del tumore. Il trattamento, in particolare ha maggior probabilità di successo nelle pazienti con l'allele C [C vs T $P = 0.042$ (OR = 2.60; 95% CI = 1.03-6.58); CC vs TT $P = 0.021$ (OR = 28.60; 95% CI = 1.12-732.10); CC vs CT+TT $P = 0.017$ (OR = 16.70; 95% CI = 0.85-327.60)]. L'associazione tra il TTP e lo SNP è stata valutata su 102 pazienti in regime terapeutico neoadiuvante e adiuvante con antracicline. Il TTP medio per le pazienti con genotipo CC è di 121.8 mesi (95% CI=48-195.6), mentre per quelle con genotipo CT + TT è di 43.25 mesi (95% CI=40.7-45.8); la differenza è risultata al margine della significatività statistica ($P = 0.049$). Le pazienti con genotipo CT + TT sono caratterizzate da un rischio di progressione della patologia di 2,28 volte rispetto a quelle con genotipo *wild-type* CC.

L'occorrenza di episodi di tossicità ematica dopo trattamento con regimi chemioterapici a base di antracicline è un problema rilevante nei pazienti con tumore al seno. Nel gruppo di pazienti in studio (*n.* 111) l'effetto avverso che si è manifestato più frequentemente è la neutropenia (33,3% delle pazienti); in alcune pazienti si sono manifestati effetti tossici diversi. Nessuno degli effetti tossici evidenziati è risultato associato con il genotipo o la frequenza allelica di MDR1 C3435T.

In conclusione questo studio evidenzia che il polimorfismo di MDR1 C3435T è coinvolto nel rischio di sviluppare tumore al seno, nonché nella variabilità interindividuale osservata nella risposta al trattamento chemioterapico a base di antracicline. Questi dati sono coerenti con l'ipotesi che la minore funzionalità della proteina PgP, generalmente associata con l'allele 3535T, comporta un minor protezione all'accumulo di sostanze cancerogene. Interessante il fatto che il genotipo MDR1 3435T, associato a maggiore suscettibilità a tumore al seno, è anche quello associato a peggiore risposta al trattamento chemioterapico.

Gli autori tuttavia sottolineano che i risultati osservati sono in contrasto con altri riportati in letteratura. L'associazione dello SNP C3435T con il rischio di sviluppare patologie cronico degenerative è stato valutato anche in altri tipi di cancro, ad esempio cancro renale, al colon, al polmone, glioma e leucemie acute, sia mieloide che linfoblastica, con risultati misti (positivi e negativi) o inconsistenti. Questo porta alla necessità

ulteriori studi, sia prospettici, su gruppi più ampi, che meta-analisi, nonché alla necessità di studi funzionali *in vitro* o *in vivo* volti a definire i *pathway* fisiologici e molecolari responsabili di quanto osservato.

Parole chiave: Antracicline; tumore al seno; MDR1

Riferimento bibliografico

[Cizmarikova M](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2009 Sep 15. [Epub ahead of print]

VARIANTI GENETICHE CON "PERDITA DI FUNZIONE" A CARICO DEL GENE *CYP2C9* MIGLIORANO LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO DEL DIABETE DI TIPO II CON SULFANILUREE: PRESENTAZIONE DELLO STUDIO GO-DARTS

A cura delle Dott.sse Cristina Tonello e Greta Milani

Il diabete è una malattia cronica caratterizzata dalla presenza di elevati livelli di glucosio nel sangue (iperglicemia), dovuta a un'alterata quantità o funzionalità dell'insulina, ormone prodotto dal pancreas che media l'ingresso del glucosio nelle cellule e il suo conseguente utilizzo come fonte energetica. Quando questo meccanismo è alterato, il glucosio si accumula nel circolo sanguigno. Il diabete di tipo II è la forma più comune di questa patologia e rappresenta circa il 90% dei casi. La causa è ancora ignota, anche se è certo che il pancreas è ancora in grado di produrre insulina, ma le cellule dell'organismo non riescono poi ad utilizzarla. In genere, la malattia si manifesta dopo i 30-40 anni e sono numerosi i fattori di rischio riconosciuti come associati alla sua insorgenza: familiarità, scarso esercizio fisico, sovrappeso e l'appartenenza ad alcune etnie.

Questa patologia viene trattata con diete ipolipidiche, antidiabetici orali e solo in rari casi si verifica la necessità di un trattamento insulinico. Gli antidiabetici orali sono farmaci ipoglicemizzanti e sono classificabili in due gruppi: i) la classe delle Biguanidi: farmaci che agiscono principalmente aumentando la penetrazione intracellulare del glucosio a livello periferico; ii) la classe delle sulfaniluree: farmaci che agiscono sia stimolando la liberazione di insulina residua del pancreas sia diminuendo la liberazione in circolo del glucosio immagazzinato nel fegato. Il meccanismo d'azione delle sulfaniluree porta alla chiusura dei canali del potassio delle cellule β -pancreatiche con conseguente incremento della secrezione di insulina.

La risposta a questa seconda classe di farmaci è molto variabile e non si conoscono ancora i fattori che influiscono sul trattamento. Sono note due varianti genetiche che determinano una peggior risposta alle sulfaniluree: i) Ser1369Ala a livello del gene *ABCC8*, che codifica per la sub unità SUR1 del canale del potassio; ii) rs12255372 sul gene *TCLF7L2*.

Le sulfaniluree sono metabolizzate principalmente a livello epatico, nei caucasici ad opera del citocromo P450 2C9 (*CYP2C9*), codificato dal gene *CYP2C9*. Studi farmacocinetici hanno mostrato che due varianti, relativamente comuni, di questo gene influiscono sul metabolismo del farmaco: i genotipi *2/*2 e *3/*3 hanno una *clearance* più bassa per il farmaco glibenclamide rispetto ad individui portatori degli alleli *wild type*, rispettivamente del 25% e 57%. Un altro studio ha evidenziato lo stesso trend per il farmaco tolbutamide.

Gli autori di questo studio hanno ipotizzato che gli individui portatori delle varianti alleliche *CYP2C9* *2 e *3, che determinano una perdita di funzionalità dell'enzima, manifestassero una maggiore risposta alle sulfaniluree in conseguenza di una maggiore esposizione al farmaco. Presso il *Diabetes Research Group* della University of Dundee, sono stati esaminati 1.073 pazienti diabetici, in trattamento con sulfaniluree (glicazide, glipizide, glibenclamide e glimepiride) da almeno 6 mesi, per un anno e mezzo. I soggetti sono stati divisi in due gruppi: 578 pazienti naive in monoterapia e 495 pazienti, che avendo assunto metformina prima dello studio, erano in terapia con sulfaniluree e metformina stessa.

L'emoglobina glicosilata (HbA_{1c}) rappresenta un *marker* di controllo glicemico, in quanto rappresenta l'andamento glicemico del paziente per le 4-6 settimane precedenti. Individui portatori del genotipo *2/*2 o *3/*3 (circa 6 su 10) hanno 3,4 volte più probabilità di raggiungere un livello ottimale di glucosio nel sangue rispetto alle persone portatrici degli alleli *wild type* (*1/*1). La presenza di queste varianti allo stato eterozigote comporta un valore migliore di HbA_{1c} , ma non in maniera statisticamente significativa.

Inoltre i portatori delle varianti *2 e *3 hanno una riduzione dello 0,5% delle concentrazioni di HbA_{1c} rispetto a pazienti portatori dell'allele *1; individui eterozigoti hanno mostrato riduzioni del parametro, ma le differenze con i soggetti *wild type* non sono statisticamente significative.

Attraverso un'analisi di regressione, gli autori hanno rivelato come la presenza di una delle varianti con perdita di funzione riduca il rischio di fallimento del trattamento nel gruppo di pazienti in monoterapia.

Sono stati inoltre osservati i trattamenti di 273 pazienti in monoterapia con sulfaniluree: è stato necessario un incremento del 5% della dose in individui *wild type* o eterozigoti; invece individui portatori delle varianti *2 e *3 in omozigosi non hanno avuto bisogno di cambiamenti nella somministrazione del farmaco.

Gli individui portatori in omozigosi delle varianti con perdita di funzione dell'enzima metabolizzano meno le sulfaniluree rispetto ai portatori in eterozigosi. Quindi, in questi individui la biodisponibilità delle sulfaniluree è maggiore.

Studi di farmacocinetica riguardo al metabolismo di tolbutamide e glibenclamide su una piccola casistica di pazienti hanno suggerito che individui *1/*1 e *1/*2 non hanno differenze; pazienti portatori dei genotipi *2/*2, *1/*3 e *2/*3 hanno effetti intermedi, mentre portatori di *3/*3 hanno compromissioni gravi nel metabolismo del farmaco. L'80% dei pazienti di questo studio è stato trattato con glicazide: purtroppo non esistono in letteratura studi sulla correlazione tra genotipi del gene *CYP2C9* e metabolismo del farmaco.

Questo studio riporta che i pazienti diabetici con precise varianti genetiche rispondono meglio alle cure con sulfaniluree rispetto ai pazienti senza quelle varianti. Le sulfaniluree sono infatti tre volte più efficaci nei pazienti portatori delle due varianti *2 e *3 del gene *CYP2C9*. Sei pazienti ogni 100 erano portatori di queste varianti e avevano 3,4 volte più probabilità di raggiungere un livello ottimale di glucosio nel sangue rispetto alle persone senza le varianti. Nelle persone con le variazioni genetiche, l'enzima è meno attivo e ciò potrebbe spiegare la maggior risposta a quei farmaci.

Gli autori dello studio ammettono i seguenti limiti: la dose somministrata, l'indice di incremento della dose, la frequenza di misurazione di HbA_{1c} e la decisione di aggiungere una terapia addizionale sono dipesi esclusivamente dal paziente e dai medici. Tuttavia lo studio è stato condotto in cieco e nessuno dei pazienti e dei clinici era a conoscenza del genotipo. Un'altra grossa limitazione del lavoro è il fatto che i tempi di somministrazione del farmaco non erano disponibili. Non è stato quindi possibile confrontare le concentrazioni di sulfaniluree. Infine, non tutti i pazienti erano in trattamento con lo stesso farmaco: comunque è stata fatta una valutazione della dose equivalente per valutare l'incremento/decremento rispetto alla dose di partenza.

Parole chiave: sulfaniluree, diabete tipo II, *CYP2C9*

Riferimento bibliografico

[Zhou K](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2009 Sep 30 [Epub ahead of print]

EFFETTO DI UN POLIMORFISMO DEL GENE *CYP2D6* SULL'EFFICACIA DI DONEPEZIL IN PAZIENTI CON MALATTIA DI ALZHEIMER

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Il donepezil è un inibitore specifico dell'acetil-colinesterasi utilizzato nel trattamento sintomatico della malattia di Alzheimer (AD) di grado lieve o moderato. Malgrado non sia efficace nel ridurre la progressione della malattia, la terapia con donepezil si è dimostrata efficace nel rallentare il deterioramento delle funzioni cognitive e comportamentali dei pazienti affetti da AD. Dopo somministrazione orale, più del 90% di donepezil viene inattivato ad opera principalmente degli enzimi epatici *CYP2D6* e *CYP3A4*. Studi recenti mostrano che il polimorfismo -1584C>G nel gene *Cyp2D6* è associato ad una maggiore attività enzimatica *in vivo* e permette di identificare i pazienti metabolizzatori ultrarapidi dell'enzima *CYP2D6*. In questo studio gli Autori hanno valutato l'influenza del polimorfismo -1584C>G del gene *Cyp2D6* sull'efficacia della terapia anticolinesterasica con donepezil in pazienti con AD di grado lieve o moderato.

In questo studio prospettico multicentrico sono stati arruolati 127 pazienti con AD (46 maschi/81 femmine, età media 74.09 ± 8.81 , range 65-94 anni). I criteri di inclusione sono stati i seguenti: razza bianca, età ≥ 65 anni, diagnosi di AD probabile di grado lieve o moderato secondo i criteri NINCDS-ADRDA. I pazienti arruolati sono stati sottoposti alla terapia con donepezil alla dose di 5mg/day per 1 mese. Successivamente, coloro che non avevano sviluppato effetti collaterali clinicamente rilevanti sono stati sottoposti alla terapia con donepezil alla dose di 10 mg/day per altri 5 mesi. Lo stato cognitivo dei pazienti è stato valutato mediante l'utilizzo delle scale ADAS-Cog (*Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Section*) e MMSE (*Mini-Mental State Examination*), mentre lo stato funzionale dei pazienti è stato valutato mediante gli indici ADL (*Activities of Daily Living*) e IADL (*Instrumental Activities of Daily Living*). In accordo con i criteri stabiliti dalla *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE), sono stati definiti *responders* i pazienti che al termine del trattamento con donepezil avevano un miglioramento dello stato funzionale e che presentavano un miglioramento dello stato cognitivo oppure l'assenza di un suo deterioramento.

Durante il *follow-up*, 12 pazienti (1 maschio e 11 femmine) hanno dovuto interrompere il trattamento con donepezil per la presenza di effetti avversi clinicamente rilevanti che comprendevano nausea e vomito (n=3), bradicardia (n=1), dolore addominale (n=2), vertigini (n=2), diarrea (n=3) ed ipotensione ortostatica (n=1). Dei restanti 115 pazienti, 69 (60%) sono stati classificati *responders* e 46 (40%) *nonresponders* al trattamento con donepezil. Come atteso, i pazienti *responders* differiscono dai *nonresponders* nei punteggi ottenuti alle scale ADAS-Cog ($p < 0.001$), MMSE ($p < 0.001$), ADL ($p < 0.001$) e IADL ($p < 0.001$), mentre tra i due gruppi di pazienti non si osservano differenze significative riguardo l'età, la distribuzione maschi/femmine, terapie e malattie concomitanti. I risultati della genotipizzazione mostrano che le frequenze genotipiche osservate per il polimorfismo -1584C>G del gene Cyp2D6 (CC, n=64; CG, n=41, GG, n=10) rispettano l'equilibrio di Hardy-Weinberg. La distribuzione del polimorfismo -1584C>G differisce in maniera significativa tra i pazienti *responders* e *nonresponders* al trattamento con donepezil ($p = 0.006$). In particolare, i pazienti portatori dell'allele G del polimorfismo -1584C>G si riscontrano più frequentemente tra i *nonresponders* piuttosto che non tra i *responders* (58.7% vs 34.8%, $p = 0.013$). L'analisi di regressione logistica aggiustata per i fattori età, sesso, punteggio iniziale alla scala MMSE e genotipo APOE mostra che i portatori dell'allele G hanno un rischio maggiore di non rispondere al trattamento con donepezil, rispetto ai pazienti con genotipo CC (OR: 3.431, 95% IC: 1.490-7.901). L'analisi multivariata mostra inoltre che, a differenza del polimorfismo -1584C>G del gene CYP2D6, il polimorfismo dell'APOE non risulta un fattore indipendente predittivo della risposta al trattamento con donepezil. Infatti, l'analisi di regressione logistica aggiustata per i fattori età, sesso, punteggio basale alla scala MMSE e CYP2D6 non mostra differenze significative tra *responders* e *nonresponders* per quanto riguarda la distribuzione dei genotipi APOE $\epsilon 3/\epsilon 4$ ($p = 0.111$) oppure APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ ($p = 0.305$).

Punti di forza dello studio: i) disegno prospettico dello studio ii) esclusione dei pazienti con potenziali fattori confondenti, quali l'utilizzo concomitante di altri farmaci metabolizzati da CYP2D6 (tra cui anticolinergici, anticonvulsivanti, antidepressivi, beta-bloccanti e farmaci antipsicotici), iii) utilizzo di criteri stringenti per la definizione dei pazienti *responders*; iv) adeguato potere statistico dello studio. L'analisi *post hoc* ha infatti evidenziato un potenza dello studio del 85%, con una dimensione dell'effetto o *effect size* di 0.57. Il maggior limite dello studio è quello di non aver valutato i livelli circolanti del farmaco, cosa che avrebbe permesso di valutare *in vivo* il ruolo funzionale del polimorfismo -1584C>G del gene Cyp2D6. Gli autori suggeriscono che l'analisi di tale polimorfismo potrebbe essere un valido approccio per l'identificazione dei pazienti con un maggior rischio di non rispondere alla terapia con donepezil. L'utilità clinica del test farmacogenetico è tuttavia limitata dal fatto che esistono ancora dubbi sulla effettiva efficacia di donepezil sul miglioramento della funzione cognitiva in pazienti con AD.

In conclusione, i risultati dello studio mostrano per la prima volta che il polimorfismo a singolo nucleotide -1584C>G nel gene CYP2D6 influenza l'efficacia clinica di donepezil in pazienti con AD di grado lieve o moderato. In particolare, i portatori della variante -1584G hanno un rischio maggiore di non rispondere al trattamento con donepezil, rispetto ai pazienti con genotipo -1584CC.

Ulteriori studi sono comunque necessari per determinare se questo sottogruppo di pazienti possa avere beneficio terapeutico da una dose maggiore di donepezil, in assenza di un aumento degli effetti avversi clinicamente rilevanti.

Parole chiavi: Donepezil, malattia di Alzheimer, risposta clinica, CYP2D6, -1584C>G

Riferimento bibliografico

[Pilotto A](#) et al. *Neurology* 2009;73(10):761-7

LA VARIANTE GENETICA *SLCO1B1**5 E' ASSOCIATA AGLI EFFETTI COLLATERALI INDOTTI DALLE STATINE: LO STUDIO STRENGTH (*Statin Response Examined by Genetic Haplotype Markers*)

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Le statine sono farmaci ampiamente prescritti per la prevenzione dell'infarto del miocardio e dello *stroke* e il loro uso riduce la mortalità cardiovascolare; nonostante la loro efficacia, nel 25-50% dei pazienti la *compliance* a un anno è bassa, prevalentemente per gli effetti collaterali lievi indotti, soprattutto a livello muscoloscheletrico, che nella pratica clinica si manifestano nel 5-10% dei pazienti. Lo sviluppo di tali effetti collaterali è stato associato a SNP che influenzano l'attività degli enzimi metabolici; in particolare l'allele *5 (Val174Ala, rs4149056) del trasportatore epatico *SLCO1B1* interferisce con la localizzazione del trasportatore a livello della membrana e determina una più alta concentrazione sistemica di questi farmaci. In uno studio *genome-wide* tale allele è stato identificato come causa dominante di miopia grave in pazienti in terapia con simvastatina 80mg (Link E et al. *N Engl J Med* 2008, 359: 78-99; [SIF-Farmacogenetica n° 0](#), ottobre 2008).

Obiettivo di questo studio è invece identificare comuni polimorfismi che determinano una ridotta funzionalità di enzimi metabolici e di trasportatori e che potrebbero essere associati a effetti collaterali lievi indotti da statine, in particolare quelli senza aumento di creatin chinasi (CK).

Lo studio *STRENGTH*, condotto tra il 2001 e il 2002, in aperto, della durata di 16 settimane, è uno studio di farmacogenetica su efficacia e sicurezza delle statine, in cui 509 pazienti non ospedalizzati con ipercolesterolemia sono stati randomizzati a ricevere per 8 settimane atorvastatina 10mg/die o simvastatina 20mg/die o pravastatina 10mg/die, seguite da atorvastatina 80mg/die o simvastatina 80mg/die o pravastatina 40mg/die rispettivamente. L'*outcome* primario è stato la comparsa di eventi avversi composti (CAE) in qualsiasi momento dello studio: interruzione prematura della somministrazione del farmaco per qualsiasi effetto collaterale, mialgia o crampi notturni, indipendentemente dai valori di CK, aumento di CK > 3 rispetto al limite superiore. Sono stati sequenziati o genotipizzati oltre 160 potenziali geni candidati e al fine di questa analisi, l'attenzione è stata focalizzata su 5 geni (*CYP2D6*, *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP3A* e *SLCO1B1*) coinvolti nella farmacocinetica delle statine, sulla base delle informazioni ottenute dal *database PharmGKB* (Klein TE et al. *Pharmacogenomics J* 2001, 1:167-70) e di recenti *review* sul *pathway* delle statine (Mangravite LM et al. *Pharmacogenomics J* 2006, 6:360-74).

In totale 452 soggetti (88% dei partecipanti allo studio) hanno ricevuto una terapia con statine ed erano disponibili per il *follow up*; 99 (22%) hanno manifestato almeno un evento di CAE: 54 hanno interrotto la terapia per qualsiasi evento avverso, 61 hanno sviluppato mialgia/crampi muscolari e 9 un innalzamento di CK > 3 volte il limite superiore. Le caratteristiche basali della coorte intera (56 10 anni, maschi 209 – 46%) e delle coorti che hanno manifestato o meno CAE (CAE: 58 10 anni, maschi 33 – 33%; no CAE 56 11 anni,

maschi 176 – 50%) erano simili, fatta eccezione per il sesso, con una maggiore percentuale di donne nel gruppo CAE (OR=2,0, 95% CI 1,2 – 3,1, $p=0,004$).

Un SNP in *SLCO1B1* (*SLCO1B1**5, rs4149056, V174A) influenza l'outcome primario nello studio *STRENGTH* (chi-square=4,2, $p=0,03$); nell'analisi multivariata aggiustata per razza, sesso e genotipo *SLCO1B1**5 sono indipendentemente associati a CAE (OR=2,2, 95% CI 1,4 – 3,6, $p=0,001$ e OR=1,7, 95% CI 1,04 – 2,8, $p=0,03$ rispettivamente). E' stato osservato un effetto dose-gene dipendente: la percentuale di individui con CAE cresce all'aumentare del numero di alleli *SLCO1B1**5 [per *noncarrier* – n=325, *carrier* di 1 allele – n=115 e *carrier* di 2 alleli – n=8 la proporzione di CAE era rispettivamente 0,19 (95% CI 0,15-0,24), 0,27 (95% CI 0,19 – 0,36), 0,50 (5% CI 0,16 – 0,84)]. Dei 99 pazienti che sono andati incontro a CAE, la maggior parte (n=61 – 62%) li ha sviluppati nelle prime 8 settimane, durante il trattamento a basse dosi; quando l'analisi è ristretta a tale popolazione, il sesso femminile e il genotipo *SLCO1B1**5 continuano a essere associati a CAE ($p=0,009$ e $p=0,003$ rispettivamente). L'incidenza di CAE è stata più elevata nei *carrier* di almeno un allele *SLCO1B1**5 in terapia con simvastatina, simile in quelli trattati con atorvastatina e pravastatina, anche se tale *trend* non è statisticamente significativo. La concentrazione del metabolita della simvastatina è positivamente correlata a *SLCO1B1**5 sia a basse (20mg) che alte (80mg) concentrazioni ($p=0,006$ e $p=0,03$ rispettivamente), mentre questa relazione non è evidente per la pravastatina. L'analisi è stata limitata ai 90 pazienti che non hanno manifestato innalzamento di CK > 3 volte il limite superiore, per verificare se *SLCO1B1**5 fosse correlato ad effetti collaterali lievi senza aumento di CK: l'associazione tra *SLCO1B1**5 e sesso con effetti collaterali lievi rimane ed è rafforzato.

Gli autori sottolineano alcuni punti deboli dello studio, come la mancanza di un gruppo trattato con placebo che possa permettere di identificare il contributo del genotipo *SLCO1B1**5 nello sviluppo di eventi avversi, visto che diversi *trial*, controllati con placebo, hanno evidenziato un'incidenza di effetti collaterali simile nei pazienti trattati con statine o con placebo. Inoltre nello studio è stato utilizzato un *end point* composto, anche se i risultati ottenuti sono stati confermati analizzando la sola popolazione senza significativo aumento di CK. Punti di forza dello studio sono invece il chiaro rationale biologico nella scelta dei geni candidati e degli SNP basati nella farmacogenetica nota delle statine e il fatto di aver testato l'ipotesi fatta nel contesto di un grande studio prospettico.

In conclusione, il genotipo *SLCO1B1**5 e il sesso femminile sono associati con l'insorgenza di effetti collaterali lievi in pazienti trattati con statine; questi risultati potrebbero avere una potenziale applicazione clinica visto che la maggior parte dei pazienti intolleranti alle statine manifestano sintomi lievi senza innalzamento di CK. In questi pazienti la statina di prima scelta dovrebbe essere la pravastatina invece della simvastatina.

Gli autori sottolineano la necessità di condurre ulteriori studi su questa variante genetica e sesso nella prognosi e nell'aderenza alla terapia con statine e per analizzare effetti statina-specifici.

L'editoriale ad opera di Rossi e McLeod sottolinea l'importanza della terapia con gli inibitori dell'HMG-CoA reduttasi, che ha permesso negli USA, a fronte di un aumento di fattori di rischio, come obesità, diabete e iperlipidemia, di ridurre la mortalità cardiovascolare. Gli editorialisti evidenziano la rilevanza di questi risultati, che dimostrano per la prima volta la forte suscettibilità genetica di miopatia e mialgia indotte da statine in assenza di innalzamento di CK serica e come test genetici possano fornire informazioni prognostiche fondamentali per una terapia con statine personalizzata. Ulteriori studi dovranno esaminare il ruolo dell'enzima OATP1B1 nel trasporto e nel metabolismo di rosuvastatina e atorvastatina, tra le molecole ad oggi più prescritte. L'eliminazione della mialgia potrebbe incrementare drammaticamente l'aderenza alla terapia con statine e quindi gli *outcome* clinici e i test genetici diventeranno un giorno un importante strumento clinico.

Parole chiave: *SLCO1B1*, statine, effetti collaterali lievi

Riferimenti bibliografici

[Voora D](#) et al. *J Am Coll Cardiol* 2009, 54 (17): 1609-16
Rossi JS & McLeod HL *J Am Coll Cardiol* 2009, 54 (17):1617-8.

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Prof. Achille Caputi (Università di Messina) Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott.ssa Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Cristina Tonello (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott.ssa Maria Elisa Bersia (ASL CN1, Ospedale di Savigliano - CN)
Supervisione	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.