



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

Sommario

- Determinanti di tossicità da mercaptopurine nella terapia di mantenimento nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica
- Implicazioni cliniche del test farmacogenetico per UGT1A1*28 in pazienti con carcinoma del colon-retto
- Farmacogenetica del tacrolimus dopo il trapianto renale: analisi di polimorfismi in geni che codificano per enzimi responsabili del metabolismo del farmaco
- Variabilità del gene NFG β codificante il fattore di crescita neuronale ed efficacia della terapia di mantenimento con metadone
- Polimorfismi a singolo nucleotide nei geni HLA- e non-HLA associati con lo sviluppo di anticorpi nella terapia con β -interferone in pazienti affetti da sclerosi multipla
- HLA-A*3101 ed ipersensibilità indotta da carbamazepina in pazienti di ceppo europeo

DETERMINANTI DI TOSSICITÀ DA MERCAPTOPURINE NELLA TERAPIA DI MANTENIMENTO NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

La leucemia linfoblastica acuta (ALL) è la più comune forma tumorale dell'infanzia (circa il 30%) e rappresenta l'80% di tutte le leucemie pediatriche. Ad oggi la prognosi di sopravvivenza è di 5 anni nel 90% dei casi. Un ulteriore incremento può dipendere da una riduzione della tossicità farmaco-correlata con un minor numero di ricadute, e di interruzione della chemioterapia. Il successo del trattamento è da attribuirsi in parte ai 18-24 mesi di adeguata terapia di mantenimento necessaria per prolungare la remissione ottenuta durante la fase iniziale di trattamento. Mercaptopurine (6-MP) e metotrexate (MTX) rappresentano una pietra miliare fra le terapie di mantenimento nella cura dell'ALL. Entrambi esplicano la loro azione inibendo la sintesi ex novo di purine; a basse dosi la combinazione di MTX e 6-MP risulta in un'azione sinergica antileucemica. MTX inibisce la diidrofolato reduttasi che è essenziale per la sintesi di purine (DNPS); 6-MP è un profarmaco metabolizzato tramite molteplici steps enzimatici che coinvolgono in particolare la inosina trifosfato pirofosfatasi (ITPA) in grado di revertire l'incorporazione di 6-tioguanin nucleotidi (6-TGN) (intermedi metabolici) negli acidi nucleici o con il fosfato nella 6-tionosina trifosfato, e la tiopurina S-metiltransferasi (TPMT) che metabolizza le 6-MP a 6-metilmercaptopurine (6-MMPN) che inibiscono DNPS.

L'equilibrio tra 6-TGN e 6-MMPN è altamente variabile e primariamente influenzato da polimorfismi genetici di TPMT. In pazienti che ricevono 6-MP, la variabilità interindividuale nella concentrazione nelle cellule rosse del sangue (RBC) di 6-MMPN e 6-TGN influisce sia sull'efficacia che sugli effetti collaterali.

In questo studio sono state misurate le concentrazioni RBC di 6-MMPN e 6-TGN in pazienti affetti da ALL, riceventi 6-MP durante la terapia di mantenimento allo scopo, di investigare la variabilità metabolica delle 6-MP.

Sono stati arruolati nello studio 66 bambini affetti da ALL. Secondo il protocollo EORTC, i soggetti sono stati suddivisi in due gruppi di rischio in base a fattori preterapeutici e di risposta alla terapia di induzione: a basso rischio, denominati *average risk 1* (AR1), oppure ad alto rischio, *average risk 2* (AR2).

La terapia di mantenimento è consistita nella somministrazione di 50 mg/m² giornalmente e di 20 mg/m² di MTX settimanalmente per 74 settimane. Le dosi di 6-MP sono state aggiustate in modo da mantenere il numero delle cellule bianche del sangue tra 2.0 e 3.0 x 10⁹/l; il ventiduesimo giorno è stata somministrata chemioterapia intratecale (MTX, antracicline, ed idrocortisone), ripetutamente per sei volte ogni 10 settimane con una dose di MTX più alta per i pazienti del gruppo AR2.

L'interruzione della chemioterapia e la tossicità sono state riportate per ogni ciclo di trattamento; la scala usata per la valutazione degli eventi avversi (AE) è stata assegnata impiegando i criteri comuni del National Cancer Institute (*National Cancer Institute Common Terminology Criteria*, NCI CTC): grado 1 = AE medio, grado 2 = AE moderato, grado 3 = AE severo, grado 4 = AE disabilitante o mortale, grado 5 = AE correlato a morte.

I 66 pazienti sono stati genotipizzati per TPMT e ITPA; in particolare sono stati presi in considerazione i polimorfismi rs41320251 ed rs7270101 per ITPA e rs1800462, *2, rs1800460, *3B e rs 1142345, *3C per TPMT. In questo studio, inoltre, sono state analizzate 6 covarianti individuali: gruppo di rischio (AR1 vs AR2), sesso (maschi vs femmine), età (< o = 6anni vs > di 6 anni), genotipo per TPMT (*wild-type* vs portatori di una delle tre varianti TPMT *2, *3B, *3C), genotipo per ITPA (*wild-type* vs eterozigoti).

L'età media dei 66 pazienti era di 6.8 ± 3.9 anni, la maggior parte facente parte del braccio AR1.

La genotipizzazione per TPMT e ITPA è stata effettuata per tutti i soggetti eccetto per uno, del quale non si aveva sufficiente DNA.

Per TPMT non è stato riscontrato alcun polimorfismo in omozigosi, mentre 6 pazienti erano eterozigoti: quattro per TPMT*1/*2, uno per TPMT*1/*3A ed uno per TPMT*1/*3C; per quanto riguarda ITPA, la frequenza degli alleli mutati è risultata essere di 0.07 e 0.13 per rs41320251 ed rs7270101 rispettivamente. 34/65 (52%) pazienti erano omozigoti *wild-type* sia per TPMT che per ITPA, un paziente aveva una variante allelica per entrambi i geni.

Solo 7 pazienti (11%) hanno completato il trattamento senza l'interruzione di 6-MP e MTX, mentre 16 pazienti (25%) non hanno avuto interruzione di 6-MP e 11 (17%) di MTX. La durata media dell'interruzione per ciclo è stata di 1.6±1.0 (0.4-6) settimane per le 6-MP e 1.6±0.9 (1-7) settimane per il MTX, mentre la durata totale di 3.5±2.9 (0.7-1.4) per le 6-MP e di 4.5±3.1 (1-16) per il MTX. L'impatto delle covarianti è stato valutato sulla durata totale dell'interruzione del trattamento con 6-MP ed è emersa una differenza tra i gruppi per TPMT: i soggetti eterozigoti hanno, infatti avuto un numero maggiore di interruzioni di trattamento rispetto a quelli *wild-type* (durata totale media 4.0 vs 1.5 settimane, r = 0.29, P = 0.024).

La tossicità legata al trattamento è stata documentata ad ogni ciclo; solo un paziente (1/66; 1.5%) non ha riportato alcun AEs, 19 hanno avuto AEs di grado 1-2, mentre i restanti 46 hanno avuto eventi avversi di grado 3 o 4. L'occorrenza degli AEs è stata correlata con l'interruzione del trattamento (come variabile binaria) per i primi tre cicli di trattamento (r = 0.31, 0.28, 0.26, rispettivamente, P < 0.05).

Durante i sei cicli di terapia di mantenimento è stata misurata la concentrazione dei metaboliti delle 6-MP nelle RBC; sono state effettuate 327 misurazioni, almeno 3 determinazioni per paziente con un massimo di 6 per 30 soggetti (45%). Dai dati raccolti è emerso che le concentrazioni di 6-MMPN e 6-TGN hanno raggiunto uno stato stazionario alla settimana 4±1 con nessuna differenza tra i diversi momenti di campionamento; sesso, gruppo di rischio, ed il polimorfismo rs7270101 per ITPA non hanno alcuna influenza sulla concentrazione metabolica delle 6-mercaptipurine. È stato invece osservato come l'età e il genotipo di TPMT abbiano un ruolo sulla concentrazione di 6-TGN. Pazienti eterozigoti per TPMT, infatti, hanno mostrato una concentrazione 2.25 volte più alta dei soggetti *wild-type*; inoltre i bambini con età inferiore o uguale a sei anni avevano una concentrazione più bassa rispetto a quelli più grandi. Per quanto riguarda 6-MMPN, si ha un'influenza da parte del genotipo di entrambi i geni presi in esame; pazienti *wild-type* per TPMT mostrano una concentrazione di 2.25 volte più alta rispetto ai soggetti con una variante allelica. È stato inoltre, valutato l'effetto combinato dei polimorfismi di TPMT e ITPA (rs41320251): sono state osservate concentrazioni minori in pazienti eterozigoti per TPMT e *wild-type* per ITPA confrontati con pazienti *wild-type* per entrambi i geni con concentrazioni 4.5 volte più alte.

In conclusione, la determinazione del genotipo di TPMT prima del trattamento permette l'identificazione di pazienti non omozigoti con un rischio maggiore di incorrere in eventi di tossicità severa o mortale. Inoltre è stato osservato come la concentrazione di metaboliti cellulari delle 6-MP possa diventare un utile strumento per il monitoraggio delle 6-mercaptipurine durante la terapia di mantenimento nella cura dell'ALL. L'individuazione di *markers* demografici e farmacogenetici, unitamente a quelli farmacocinetici, permetterà la somministrazione del corretto dosaggio del farmaco al fine di migliorare l'*outcome* di pazienti pediatrici affetti da ALL.

Parole chiave: ALL, 6-MP, polimorfismi di ITPA e TPMT

Riferimento bibliografico

[Adam de Beaumais](#) T et al. *Br J Clin Pharmacol* 2011, 71(4): 575–584.

IMPLICAZIONI CLINICHE DEL TEST FARMACOGENETICO PER UGT1A1*28 IN PAZIENTI CON CARCINOMA DEL COLON-RETTO

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e del Dott. Alberto Argentiero

L'irinotecano (CPT-11) è un farmaco che agisce inibendo la topoisomerasi-I ed è utilizzato nel trattamento del tumore metastatico del colon-retto. Il metabolita attivo dell'irinotecano, SN-38, viene trasformato a livello epatico a composto inattivo attraverso la glucuronazione ad opera dell'enzima uridina glucuroniltransferasi, isoforma 1A1 (UGT1A1). Frequentemente si manifestano reazioni di tossicità legate al trattamento con irinotecano, tra cui neutropenia e diarrea, che, se gravi, portano ad una sospensione del trattamento. I pazienti portatori dell'allele UGT1A1*28, che presenta 7 ripetizioni TA all'interno della sequenza TATA-box e che è associato a riduzione dell'attività trascrizionale del gene in confronto al genotipo ancestrale con 6 ripetizioni (UGT1A1*1), mostrano un'incremento dell'incidenza e della gravità della tossicità ematologica o gastrointestinale e per questo motivo la US FDA ha raccomandato il test genetico per questa variante in caso di trattamento con irinotecano. Non è ancora stato chiarito però se i pazienti portatori delle differenti varianti abbiano anche diversa prognosi; per questo motivo nel lavoro di Shulman et al. (Cancer 2011) è stata valutata retrospettivamente l'associazione tra presenza del polimorfismo UGT1A1*28, comparsa di tossicità grave al trattamento e sopravvivenza totale.

Lo studio ha esaminato 329 pazienti con tumore del colon-retto in trattamento con regimi di chemioterapia che includevano irinotecano in associazione ad una fluoropirimidina, tra cui 5-fluorouracile, capecitabina e tegafur. Lo scopo dello studio era quello di stabilire la presenza di una correlazione tra genotipo di UGT1A1 e comparsa di tossicità ematologica e gastrointestinale di grado 3-4, ospedalizzazione causata dalle reazioni di tossicità e sopravvivenza totale (OS). UGT1A1*28 è stato analizzato su DNA estratto da sangue periferico con sequenziamento automatico ed analisi di frammenti.

Il genotipo UGT1A1*1/*1 (omozigote *wild-type* per 6/6 ripetizioni) era presente nel 41,6% dei pazienti, l'eterozigote UGT1A1*1/*28 (6/7 ripetizioni) aveva una frequenza del 46,5% ed il restante 11,9% dei pazienti mostrava il genotipo omozigote mutato UGT1A1*28/*28 (7/7 ripetizioni). Il 46,9% dei pazienti hanno manifestato casi di tossicità di grado 3-4 tra cui le più frequenti erano: diarrea (22,4%), leucopenia (9,3%), neutropenia (8,9%) e neutropenia febbrile (3,7%). Il tempo tra l'inizio del trattamento e la comparsa del primo evento di tossicità di grado 3-4 era di 5,9 settimane per il genotipo *1/*1, 3,1 per *1/*28 e 2,1 per *28/*28. Le tossicità ematologiche erano significativamente più frequenti nei pazienti portatori del genotipo *28/*28 con una percentuale del 48% rispetto al 10,2% di *1/*28 e 7,7% di *1/*1 e l'ospedalizzazione dei pazienti dovuta a tossicità era significativamente più alta nei portatori del genotipo *28/*28. I valori di OS per i tre genotipi erano di 2,4, 2 e 1,6 anni per *1/*1, *1/*28 e *28/*28, rispettivamente. I decessi aumentavano proporzionalmente al numero di alleli *28 (2,9%, 5,2% e 12,8% per i genotipi *1/*1, *1/*28 e *28/*28, rispettivamente).

La comparsa di tossicità ematologica di grado 3-4, il rischio di ospedalizzazione per tossicità e una peggiore OS risultavano significativamente più frequenti nei portatori del genotipo omozigote per 7 ripetizioni (UGT1A1*28).

Una possibile spiegazione dello svantaggio di sopravvivenza nei portatori del genotipo *28/*28 potrebbe essere quella dell'utilizzo di un trattamento chemioterapico con irinotecano non ottimale, con riduzione di dosi e rinvio/interruzioni, dovuto alla gravità delle reazioni di tossicità. Questi dati giustificano le raccomandazioni della FDA e costituiscono un'ulteriore motivazione alla necessità di personalizzare il trattamento con irinotecano per mezzo screening di UGT1A1*28 in pazienti con tumore del colon-retto.

Parole chiave: irinotecano, UGT1A1*28, tossicità, sopravvivenza totale

Riferimento bibliografico

[Shulman](#) K et al. *Cancer* 2011 Feb 1. doi: 10.1002/cncr.25735 [Epub ahead of print].

FARMACOGENETICA DEL TACROLIMUS DOPO IL TRAPIANTO RENALE: ANALISI DI POLIMORFISMI IN GENI CHE CODIFICANO PER ENZIMI RESPONSABILI DEL METABOLISMO DEL FARMACO

A cura della Dott.ssa Greta Milani

Tacrolimus (Tac) è un immunosoppressore che previene la risposta infiammatoria, riducendo la sintesi dell'interleuchina 2 (IL-2) da parte dei linfociti T. Gli effetti collaterali più comuni del farmaco sono la nefrotossicità, il diabete, l'ipertensione e altre complicanze che possono variare in base al tempo di esposizione.

È importante monitorare le concentrazioni plasmatiche di Tac per evitare sottoesposizione al farmaco, con conseguente rigetto del trapianto, o tossicità da sovradosaggio. Dal momento che il valore di C_0 per Tac è ben correlabile con l'area sottesa alla curva concentrazione-tempo, e visto che è difficile stabilire la concentrazione plasmatica del farmaco solo basandosi su parametri clinici, si ritiene opportuno effettuare analisi farmacocinetiche per stabilire la miglior dose di Tac da somministrare ad ogni paziente.

Tacrolimus viene metabolizzato dagli enzimi del Citocromo P450, in particolare dalle due isoforme CYP3A4 e CYP3A5: polimorfismi a livello di questi geni possono essere associati a modifiche nel metabolismo della molecola.

Gli autori del presente lavoro hanno, perciò, analizzato gli effetti dei polimorfismi su 16 geni, rilevanti per la farmacogenetica, sulla dose del Tac in una popolazione di pazienti con trapianto di rene allo scopo di selezionare dei marcatori utili per predire la dose di farmaco da somministrare.

La coorte è composta da 400 pazienti, sottoposti a trapianto d'organo cadaverico in 6 centri spagnoli, che hanno ricevuto Tac come farmaco immunosoppressore, due volte al giorno per almeno un anno, prednisone e mofetil micofenolato (MMF); sono stati, invece, esclusi i soggetti in terapia concomitante con antibiotici, antimicotici, antiepilettici...

L'85% dei pazienti (340) non soffriva di diabete di tipo 2 (DM2) al momento del trapianto, ma il 24% di questa popolazione ha sviluppato la patologia entro un anno: tale dato è correlato all'età dei soggetti e non alla dose di farmaco somministrata.

I dosaggi farmacocinetiche sono stati effettuati utilizzando un saggio immuno-chemiluminescente automatizzato (CMIA) e Arquitect Tacrolimus (Abbott Laboratories); il DNA dei pazienti per le analisi farmacogenetiche è stato estratto da leucociti isolati da sangue periferico.

Per valutare 96 polimorfismi (SNP) a livello dei citocromi e di enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci più comuni gli autori hanno inizialmente utilizzato una metodica basata su *array* (Pharmachip, Progenika BioPharma); successivamente sono stati valutati gli altri 200 pazienti per gli SNP risultati significativi alla prima analisi: CYP3A4 -392A/G e CYP3A5 6986A/G oltre che per il polimorfismo su ABCB1 3435C/T, citato da altri studi in letteratura, ma non confermato dal presente lavoro.

Il primo polimorfismo è stato valutato mediante digestione con enzimi di restrizione, gli altri SNP attraverso Real Time PCR con sonde TaqMan; per alcuni soggetti le analisi sono state condotte anche con metodica di sequenziamento, che hanno confermato i risultati ottenuti in precedenza.

Gli effetti dei polimorfismi sono stati valutati a 1 settimana, a 6 mesi e 1 anno dopo il trapianto: i soggetti portatori in omozigosi della variante allelica *CYP3A4*1B* ricevono una dose maggiore di farmaco e valori normalizzati più bassi rispetto a individui *CYP3A4*1*.

Per quanto riguarda, invece, lo SNP del *CYP3A5* non ci sono differenze dopo una settimana; ma in tempi più lunghi è possibile documentare un aumento della dose di farmaco ricevuta e valori di normalizzazione più bassi in soggetti *CYP3A5*1* rispetto a soggetti non portatori delle varianti alleliche.

Il test di Kolmogorov-Smirnov è stato utilizzato per verificare che le variabili continue seguissero una distribuzione normale; l'analisi di regressione lineare è stata usata per valutare gli effetti del genotipo sulla dose di Tac, dopo aver regolato le altre variabili.

Età, indice di massa corporea (BMI) e dose di prednisone hanno una distribuzione normale, mentre il dosaggio di Tac, i valori plasmatici del farmaco e i valori di Tac normalizzati sono lontani dalla distribuzione a gaussiana. La regressione multipla lineare ha dimostrato che i valori di Tac normalizzati diminuiscono con l'età, anche se la differenza non è significativa. Il sesso non è influente su queste analisi e non sono state rilevate differenze tra i diversi centri di studio.

Gli autori hanno, poi, calcolato il *Linkage Disequilibrium* (LD) tra i polimorfismi risultati significativi sul *CYP3A4* e *CYP3A5*, stimando anche le frequenze alplotipiche.

Il genotipo dei polimorfismi a carico di *CYP3A5* è predittivo per la dose di Tac a 6 mesi e un anno dopo il trapianto; nella prima settimana dall'intervento, inoltre, i soggetti *CYP3A5*3* mostrano livelli plasmatici di farmaco più elevati.

Le varianti alleliche a carico del *CYP3A4*, invece, sono sempre predittive del dosaggio della terapia.

È stato dimostrato un forte *Linkage Disequilibrium* tra questi due loci: individui portatori delle varianti *CYP3A4*1B* e *CYP3A5*1* richiedono concentrazioni più alte di farmaco, mentre soggetti *CYP3A4*1* e *CYP3A5*3* hanno il dosaggio più basso.

Come ammesso dagli autori, il presente lavoro è limitato dalle frequenze alleliche (individui omozigoti per *CYP3A4*1B* e *CYP3A5*1* sono inferiori all'1% nella popolazione spagnola) e dalla metodica utilizzata per i dosaggi farmacocinetici. Sarebbe opportuno, pertanto, verificare il ruolo di questi polimorfismi in una popolazione che comprenda, ad esempio, soggetti di razza Afro-Americana, poiché portatori delle varianti del *CYP3A5* con una frequenza maggiore. Inoltre, l'utilizzo di metodiche più sensibili per i profili farmacocinetici potrebbe migliorare la qualità dei dati presentati.

Parole chiave: tacrolimus, farmacogenetica, farmacocinetica, SNP, citocromo P450, trapianto renale

Riferimento bibliografico

[Tavira](#) B et al. *Clin Chem Lab Med* 2011, 49(5):825-33.

VARIABILITÀ DEL GENE *NFGB* CODIFICANTE IL FATTORE DI CRESCITA NEURONALE ED EFFICACIA DELLA TERAPIA DI MANTENIMENTO CON METADONE

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Il metadone, agonista completo del recettore μ per gli oppioidi ed antagonista non-competitivo dei recettori NMDA dell'acido glutammico, è il farmaco più utilizzato nel trattamento della tossicodipendenza da oppiacei. A dosaggi adeguati è in grado di soddisfare la richiesta compulsiva della sostanza di abuso interrompendo così l'uso di oppiacei. L'individuazione del dosaggio ottimale di metadone rappresenta, pertanto, uno dei fattori chiave per l'efficacia del trattamento di mantenimento. Il metadone viene principalmente metabolizzato dagli enzimi epatici del *CYP3A4*, *CYP2B6* e *CYP2D6* e funge da substrato per la glicoproteina-P (PgP), un trasportatore di membrana con funzione di pompa da efflusso codificata dal gene *ABCB1/MDR1*. Gli studi finora condotti suggeriscono che parte della grande variabilità che si osserva

nel dosaggio richiesto dai pazienti in terapia di mantenimento con metadone potrebbe essere spiegata dagli effetti di specifici polimorfismi nei geni CYP2B6, ABCB1, OPRM1, DRD2, e BDNF.

Al fine di individuare nuovi determinanti genetici, gli Autori di questo studio hanno valutato l'associazione tra polimorfismi del gene codificante per il fattore di crescita neuronale (NFGF) e la dose giornaliera richiesta da pazienti in trattamento di mantenimento con metadone. Inoltre, è stato condotto uno studio caso-controllo al fine di valutare il ruolo degli stessi polimorfismi quali possibili fattori di suscettibilità per l'abuso da oppiacei.

L'associazione tra varianti del gene NFGF e la dose ottimale di metadone è stata valutata in una coorte di pazienti che comprendeva 72 soggetti (33 donne) in trattamento da almeno 6 mesi, di età compresa tra 18-65 anni (media 38) e di origine prevalentemente ebraica. Lo studio di associazione caso-controllo è stato condotto in due gruppi di pazienti di differente etnia: un primo gruppo di pazienti di origine caucasica che comprendeva 350 abusatori in terapia di mantenimento con metadone e 184 controlli, ed un secondo gruppo di pazienti di origine afro-americana comprendenti 207 casi e 167 controlli. In totale, sono stati selezionati 15 polimorfismi del gene NFGF, 3 polimorfismi non-sinonimi ed 12 varianti localizzate a livello intronico oppure all'estremità 5' del gene. La determinazione dei polimorfismi selezionati è stata effettuata mediante l'utilizzo di una piattaforma tecnologica Illumina per l'analisi di SNPs. L'associazione dei singoli polimorfismi con la dose giornaliera di metadone è stata valutata mediante analisi della varianza e della covarianza.

La dose media giornaliera di metadone richiesta è stata di 140 ± 52 mg (range: 12,5-260 mg). Dei 15 polimorfismi analizzati, 4 sono stati esclusi dall'analisi in quanto sono risultati avere una frequenza allelica inferiore al 1%. Dei restanti 11 polimorfismi, la variante rs223922 del gene NFGF è risultata l'unica ad essere associata all'efficacia del trattamento di mantenimento con metadone ($P=0.0002$, nel modello genetico recessivo). In particolare, i pazienti omozigoti per la variante minore richiedevano una dose giornaliera di metadone (81.7 mg) inferiore rispetto sia ai portatori eterozigoti (153 mg) che agli omozigoti della variante wild-type (140 mg). Quando l'analisi è stata ripetuta includendo l'etnia, età, e farmaci concomitanti come variabili covariate, l'associazione della variante rs223922 con la dose stabilizzante di metadone rimaneva significativa ($P=0.004$). Il polimorfismo rs223922 non risultava invece associato ai livelli plasmatici di valle di metadone. I risultati dello studio caso-controllo hanno mostrato nei soggetti di origine caucasica un'associazione nominale della variante rs4332358 con il rischio di abuso da eroina. In particolare, l'omozigosi per la variante minore GG è stato osservata più frequentemente tra i pazienti abusatori di eroina rispetto ai controlli (OR: 1.73, 95% CI: 1.18-2.53, $P=0.003$ nel modello genetico recessivo). Nei pazienti di origine afro-americana, nessuno dei polimorfismi analizzati è risultato invece associato al rischio di abuso di eroina.

I risultati di questo studio evidenziano un'associazione della variante rs2239622 del gene NFGF con la dose richiesta da pazienti in terapia di mantenimento con metadone. Inoltre, il polimorfismo rs4332358 del gene NFGF potrebbe rappresentare un fattore di rischio per l'abuso da eroina, almeno nei soggetti di origine caucasica.

L'NGF è il principale membro di una famiglia di proteine denominate neurotrofine che comprende anche il fattore di crescita neurotrofico di derivazione cerebrale (BDNF) e le neurotrofine 3-7. Tali fattori hanno molteplici funzioni biologiche tra cui sopravvivenza neuronale, plasticità sinaptica, crescita assonale e dendritica. Alcuni autori hanno ipotizzato che modificazioni della plasticità neuronale dovuta ad alterazione dell'espressione genica per le neurotrofine potrebbero contribuire allo sviluppo dell'abuso da oppiacei. I risultati di questo studio mostrano per la prima volta un ruolo dei polimorfismi nel gene NFGF come possibili fattori di rischio per l'abuso da oppiacei. Inoltre evidenziano, in un limitato gruppo di pazienti, un loro impatto sull'efficacia della terapia di mantenimento con metadone. Esistono tuttavia alcuni aspetti che limitano lo studio. In primo luogo,

L'analisi della covarianza non ha tenuto conto di fattori che possono influenzare la dose richiesta di metadone, quali la durata della storia di abuso dei pazienti ed il numero di dosi di eroina assunti prima dell'inizio del trattamento di mantenimento con metadone. Inoltre, il ridotto numero di pazienti considerato rende necessaria la conferma dell'associazione del polimorfismo rs2239622 in un ampio studio prospettico. L'osservazione che il polimorfismo rs4332358 sarebbe associato al rischio di abuso di eroina nella

popolazione caucasica e non in quella afro-americana, impedisce di estendere il dato ad altre popolazioni. Infine, non essendo noto il ruolo funzionale dei polimorfismi identificati, studi *in vitro* dovrebbero essere condotti al fine di valutare l'effetto dei polimorfismi rs2239622 e rs4332358 sui livelli di espressione di NGF.

Parole chiave: metadone, abuso da oppiacei, fattore di crescita neuronale, gene NGFB

Riferimento bibliografico

[Levran](#) O et al. *Pharmacogenomics J* 2011 Mar 1 [Epub ahead of print].

POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE NEI GENI HLA- E NON-HLA ASSOCIATI CON LO SVILUPPO DI ANTICORPI NELLA TERAPIA CON β -INTERFERONE IN PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI MULTIPLA

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Gli interferoni- β (IFN- β) sono i farmaci immunomodulatori più prescritti nel trattamento della Sclerosi Multipla (SM). Tuttavia, una percentuale significativa di pazienti sviluppa anticorpi neutralizzanti (NABs) anti-IFN- β . La presenza di NAB anti-IFN- β riduce significativamente l'efficacia della terapia, ed è stato dimostrato che correlano con un tasso di ricaduta più alto e una maggiore possibilità di progressione della malattia. L'immunogenicità delle proteine terapeutiche è al momento non compresa completamente, ma è sicuramente influenzata dalla via di somministrazione, dalla durata del trattamento, dalla formulazione, e dalla natura della proteina terapeutica. Inoltre, vi è sicuramente una forte predisposizione individuale, ma ad oggi è stata poco studiata l'incidenza della predisposizione genetica.

Recentemente è stato dimostrato che la formazione di anticorpi anti-IFN- β è significativamente associata con gli alleli dell'antigene leucocitario umano (HLA)-DRB1*0401 e HLA-DRB1*0408 (S.Hoffmann et al. *Am J Hum Genet* 2008; 83: 219–227).

Gli autori del lavoro in esame hanno condotto uno studio di associazione sull'intero genoma di pazienti con SM per identificare una predisposizione genetica nella produzione di NABs. Per questo studio sono stati reclutati pazienti, prevalentemente del Nord Europa, con sclerosi multipla (secondo i criteri di McDonald o Poser) trattati con IFN- β per almeno 5 mesi (durata media del trattamento di 50 mesi).

E' stata condotta un'analisi *genome-wide* e sono stati individuati due SNPs (HLA-rs9272105, non-HLA-rs4961252) differentemente presenti tra i 178 pazienti NAB positivi e i 184 pazienti che non mostravano anticorpi neutralizzanti. Per rilevare gli anticorpi anti-IFN- β , è stato effettuato un test standardizzato di binding immunoenzimatico come descritto da AR Pachner (*Neurology* 2003, 61: 1444–1446).

Gli SNPs candidati sono stati poi validati in un campione indipendente di 350 pazienti con anticorpi positivi e 468 pazienti con anticorpi negativi portando la popolazione in esame ad un totale di 528 pazienti anticorpo-negativi e 652 anticorpo-positivi.

I risultati dello studio hanno evidenziato un'associazione tra gli SNPs rs9272105 (HLA; P-value: 3.56×10^{-10}) e rs4961252 (non-HLA nella regione intergenica sul cromosoma 8q24.3; P-value: $2,92 \times 10^{-8}$) con la risposta anticorpale anti-IFN- β .

Questa associazione è stata confermata sia dai risultati iniziali che dopo convalida del campione, indipendentemente dalla formulazione di IFN- β usato. E' stata anche valutata la presenza degli alleli HLA-DRB1*0401 o *0408, precedentemente descritti come correlati alla risposta anticorpale e i dati hanno confermato le osservazioni precedenti. L'odds ratio calcolato combinando i due alleli è risultato di 5.32.

In conclusione, i pazienti non portatori degli alleli HLA-DRB1*0401 o *0408, e portatori degli SNPs rs4961252-AA e rs9272105-AA, hanno un basso rischio di sviluppare anticorpi durante la terapia con IFN- β rispetto a quelli con la variante rs4961252-GG e rs9272105-GG o con gli alleli HLA-DRB1*0401 o *0408.

L'identificazione dei due SNPs associati con lo sviluppo di anticorpi anti-IFN- β uniti all'influenza degli alleli HLA-DRB1*401 e *0408 permette di calcolare il rischio individuale dei pazienti di sviluppare anticorpi prima dell'inizio della terapia. Il rischio individuale calcolato sulla base di questi SNPs e degli alleli HLA varia da 0,19 a 0,77.

L'introduzione di tests per questi SNPs e gli alleli nella pratica clinica permetterebbe di prevedere il rischio individuale dei pazienti di sviluppare anticorpi anti-IFN- β e potrebbe essere un elemento aggiuntivo per i medici nella decisione del trattamento soprattutto quando è necessario utilizzare più alte dosi e a intervalli più ravvicinati.

C'è associazione tra i due SNPs HLA-rs9272105 e non-HLA-rs4961252 con la risposta anticorpale anti-IFN- β nei pazienti con SM.

Conflitto d'interesse: gli autori dichiarano di aver ricevuto compensi da diverse aziende farmaceutiche. Inoltre, alcuni degli Autori hanno depositato un brevetto per lo sfruttamento dei risultati descritti in questo lavoro

Parole chiave: sclerosi multipla, SNPs, anticorpi neutralizzanti, β -interferone

Riferimento bibliografico

[Weber F](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2011 Apr 19. [Epub ahead of print].

HLA-A*3101 ED IPERSENSIBILITÀ INDOTTA DA CARBAMAZEPINA IN PAZIENTI DI CEPPO EUROPEO

A cura del Dott. Vittorio Simeon

La Carbamazepina è uno dei farmaci maggiormente prescritti per il trattamento dell'epilessia, della nevralgia del trigemino e dei disturbi bipolari. Un piccolo numero di pazienti trattati con questo farmaco possono manifestare reazioni di ipersensibilità variabili per prevalenza e severità. L'esantema maculopapulare, forma comune di reazione di media gravità, può manifestarsi nel 5-10% delle persone di ceppo ancestrale europeo e in genere si risolve spontaneamente dopo la sospensione del farmaco. Reazioni più gravi, come la sindrome di ipersensibilità, sono associate ad una mortalità maggiore del 10% e possono includere sintomi come rash cutanei, febbre, eosinofilia, epatiti, e nefriti. La sindrome di Steven-Johnson (SJS) e la necrolisi tossica epidermica (TEN), si manifestano più raramente in questo tipo di pazienti. La TEN è la forma più rara di questi fenotipi ed è associata ad una mortalità superiore al 30%. Il foglietto illustrativo della carbamazepina indica un'incidenza di SJS-TEN di 1-6 casi su 10000 pazienti di ceppo ancestrale europeo esposti al farmaco. Gli approcci *genome-wide* sono stati ultimamente ampiamente utilizzati per identificare i fattori di predisposizione genetica alle reazioni di ipersensibilità e danno epatico indotti da farmaco. Ad esempio l'allele HLA-B*1502 è stato identificato nella popolazione Cinese come di importanza clinica nel predire la SJS e la TEN in pazienti sottoposti al trattamento con carbamazepina. Queste scoperte hanno spinto la FDA a richiedere una correzione del foglietto illustrativo della carbamazepina per indicare la necessità della genotipizzazione di HLA-B*1502 prima dell'inizio del trattamento. La presenza dell'allele HLA-B*1502 è però molto rara nella popolazione Europea (con una prevalenza inferiore al 2%), ed inoltre la SJS-TEN indotta da carbamazepina si manifesta con un'incidenza inferiore rispetto alla popolazione asiatica/cinese. Utilizzando un approccio *candidate-gene* in studi precedenti è stata dimostrata una moderata o addirittura debole associazione tra l'esantema maculopapulare o la DRESS (*drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms*) e la presenza di polimorfismi a singolo nucleotide nella regione del complesso maggiore di istocompatibilità, inoltre queste associazioni non sono state sufficientemente convalidate. Nel recente lavoro pubblicato da *McCormack M et al* su *The New England Journal of Medicine* sono stati presentati i dati di due studi indipendenti che suggeriscono la rilevanza di una nuova variante di HLA per le reazioni di ipersensibilità indotte dalla carbamazepina, incluse l'esantema maculopapulare, la sindrome di ipersensibilità e la SJS-TEN.

Sono stati reclutati pazienti con diverse reazioni avverse al trattamento con carbamazepina presso l'Università di Liverpool ed il centro neurologico Walton (definiti gruppi di Liverpool), e presso il consorzio EPIGEN (*epilepsy genetic*). Tutti i soggetti erano di ceppo ancestrale europeo.

Il gruppo che aveva manifestato sindrome di ipersensibilità era composto da 26 soggetti: 23 reclutati dai gruppi di Liverpool e 3 dal consorzio EPIGEN. La sindrome da ipersensibilità era definita come la presenza di rash cutanei o il coinvolgimento epatico nei tre mesi dall'inizio della terapia con carbamazepina,

accompagnati inoltre da un minimo di due delle seguenti reazioni: febbre; coinvolgimento di altri organi interni (fegato, reni, polmoni, sistema nervoso centrale, cuore, muscoli, tiroide o sistema linfatico); presenza di anormalità ematologiche. La DRESS è stata considerata allo stesso modo della sindrome di ipersensibilità. Il gruppo con esantema maculopapulare era composto da 106 soggetti: 57 reclutati dai gruppi di Liverpool e 49 dal consorzio EPIGEN. L'esantema maculopapulare era definito come un rash con sintomatologia sistemica che richiedeva la sospensione della carbamazepina nei 3 mesi dall'inizio della terapia.

Il gruppo con SJS-TEN era composto da 12 soggetti: 8 reclutati dai gruppi di Liverpool e 4 dal consorzio EPIGEN. Per l'individuazione di questa sindrome sono stati utilizzati i criteri diagnostici del progetto RegiSCAR (*research network for severe cutaneous adverse drug reactions*).

Come gruppo di controllo sono stati usati i dati genetici forniti dal Wellcome Trust Case Consortium.

L'analisi condotta dai gruppi di Liverpool su 22 soggetti con sindrome di ipersensibilità da carbamazepina e su 2691 controlli sani ha evidenziato un forte segnale nella regione MHC del cromosoma 6. Lo SNP con il valore più significativo è stato l' rs1061235, già precedentemente evidenziato come proxy per l'allele HLA-A*3101. ($p=3.5 \times 10^{-8}$). Questa variante è stata evidenziata nel 40% dei casi ed in solo il 4.9% dei controlli. Gli investigatori del consorzio EPIGEN hanno effettuato un'analisi *genome wide* in 43 pazienti con esantema maculopapulare e 1296 controlli sani evidenziando l'associazione del polimorfismo legato all'HLA-A*3101 ($p=1.11 \times 10^{-6}$) osservato nel 27% dei casi e nel 4% dei soggetti controllo, sebbene tale effetto non sia significativo per l'analisi *genome-wide*. Sono stati successivamente aggiunti altri 63 soggetti con esantema maculopapulare e l'analisi combinata di 106 soggetti contro 257 controlli clinici ha mostrato ancora una volta un'associazione allelica significativa per HLA-A*3101 ($p=8.0 \times 10^{-7}$), generando un odds ratio di 8.33 (95% CI, 3.59 to 19.36). Sulla base dell'ipotesi che HLA-A*3101 sia in associazione con SJS-TEN indotta da carbamazepina è stata effettuata un'analisi di HLA-A*3101 nei 12 soggetti con SJS e TEN, con 5 (42%) su 12 portatori dell'allele rispetto ai 10 (4%) su 257 nei controlli clinici (odds ratio, 25.93; 95% CI, 4.93 to 116.18; $P=8.0 \times 10^{-5}$). Una *pooled* analisi di tutti i 145 soggetti con ipersensibilità indotta da carbamazepina e di 257 soggetti di controllo ha dimostrato una forte associazione tra l'ipersensibilità e l'allele HLA-A*3101 (odds ratio, 9.12; 95% CI, 4.03 to 20.65; $P=1.0 \times 10^{-7}$).

I dati di questo studio danno ulteriore forza all'ipotesi che differenti alleli di HLA possano predisporre a reazioni avverse immuno-mediate, come l'ipersensibilità indotta da farmaco e danno epatico. In questo studio, in particolar modo, i dati suggeriscono che l'HLA-A*3101 possa essere un predittore della ipersensibilità da carbamazepina in pazienti di ceppo europeo. Infatti nonostante il piccolo numero di soggetti inclusi nell'analisi il segnale ha una significatività *genome-wide* ($p=10^{-8}$). In secondo luogo, il segnale è stato osservato in gruppi indipendenti di casi con differenti fenotipi di ipersensibilità alla carbamazepina e con l'utilizzo di diversi set di gruppi di controllo. In terzo e ultimo luogo, HLA-A*3101 era già stato precedentemente associato a diversi fenotipi di ipersensibilità alla carbamazepina, inclusa la SJS-Ten in soggetti Giapponesi e con esantema maculopapulare indotta da carbamazepina in soggetti con gruppo ancestrale Han Cinese.

L'allele HLA-A*3101 è stato proposto come marker clinicamente rilevante nella predizione delle reazioni di ipersensibilità. Sull'assunto che la prevalenza di ipersensibilità indotta da carbamazepina sia del 5%, la presenza dell'allele incrementa il rischio di reazione avversa al 26% mentre la sua assenza riduce il rischio al 3.8%. Considerando una prevalenza della reazione di ipersensibilità maggiore, e cioè pari al 10% (come determinato dal trial clinico SANAD – *Standard and New Antiepileptic Drugs*) il numero di persone da screenare per prevenire una reazione avversa è di 39. In conclusione, vista l'importanza dei dati presentati, gli autori suggeriscono di prendere in considerazione l'idea di aggiungere l'associazione di HLA-A-3101 al foglietto illustrativo della carbamazepina.

La variante HLA-A*3101 è un importante predittore dell'ampio spettro di reazioni di ipersensibilità indotte dalla carbamazepina in pazienti con ceppo ancestrale europeo.

Parole chiave: carbamazepina, ipersensibilità, HLA, MHC

Riferimento bibliografico

[Mc Cormack M](#) et al. *N Engl J Med*. 2011, 364(12):1134-43.

**GRUPPO DI LAVORO SULLA FARMACOGENETICA
della SOCIETA' 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:	Dott. Alberto Argentiero (Università di Pisa) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Greta Milani (Az. Ospedaliera – Polo Univ. Luigi Sacco – Milano) Dott.ssa Virginia Paribello (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (Seconda Università di Napoli) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso.

Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, 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>, sulle relative newsletters, 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. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "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.

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, 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: tel. 02-29520311.
sif.farmacologia@segr.it; sif.informazione@segr.it; sifcese@comm2000.it.