

**Newsletter Numero 47 – Gennaio 2013**

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

Sommario

- L'idarubicina è superiore alla daunorubicina nell'induzione della remissione in pazienti con leucemia mieloide acuta de novo con alta espressione del gene MDR1
- Aplotipo SLC22A1-ABCB1 come predittore della farmacocinetica di imatinib in pazienti asiatici affetti da leucemia mieloide cronica
- Discordanza tra genotipo e fenotipo per la tiopurina-S-metil-transferasi, e formazione dei metaboliti attivi delle tiopurine, nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica
- Il rapporto dei polimorfismi in ABCC2 e SLCO1B3 con la farmacocinetica del docetaxel e la neutropenia: risultati dello studio CALGB 60805
- Interazione tra i livelli sierici di vitamina D e il polimorfismo FokI del recettore per la vitamina D nella funzione renale in pazienti con diabete di tipo II
- L'età del donatore ed il polimorfismo genetico ABCB1 1199G>A sono fattori indipendenti che influenzano la funzione renale a lungo termine nei pazienti sottoposti a trapianto di rene
- L'allele A/G del polimorfismo rs3740556 del gene eIF3a predice la resistenza a chemioterapia basata sul platino
- L'impatto del polimorfismo CYP2C8*3 sull'interazione farmaco-farmaco tra gemfibrozil e pioglitazone

L'IDARUBICINA È SUPERIORE ALLA DAUNORUBICINA NELL'INDUZIONE DELLA REMISSIONE IN PAZIENTI CON LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA DE NOVO CON ALTA ESPRESSIONE DEL GENE MDR1

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La combinazione di antracicline e citarabina (ara-C), con o senza altri farmaci, rappresenta la terapia di induzione standard nella leucemia mieloide acuta (LMA), e l'associazione tra daunorubicina ed ara-C è stata ampiamente accettata come terapia di induzione standard per le LMA di nuova diagnosi. L'idarubicina (4-demetossidaunorubicina) è un analogo sintetico della daunorubicina che in studi precedenti ha dimostrato possedere un vantaggio rispetto al composto d'origine in associazione all'ara-C nel trattamento della LMA, anche se il meccanismo molecolare alla base rimane sconosciuto. Una delle limitazioni al successo della chemioterapia nella LMA è rappresentata dall'insorgenza di resistenza delle cellule leucemiche ai farmaci convenzionali, fenomeno noto come *multidrug resistance* (MDR). Il gene *MDR1* e la glicoproteina-P da questo codificata sono strettamente legati, nei pazienti con LMA, alla risposta alla chemioterapia, alla resistenza ai farmaci ed alle ricadute. L'idarubicina è risultata più citotossica della daunorubicina in cellule

leucemiche con over-espressione del gene *MDR1* *in vitro*, ed ha mostrato una sostanziale attività inibitoria sulla crescita cellulare *in vitro* superando la MDR mediata dalla glicoproteina-P. Pertanto, è inevitabile supporre che la superiorità dell'idarubicina nell'induzione della remissione potrebbe essere dovuta ad una migliore efficacia in paziente con LMA con alti livelli di espressione dell'*MDR1*.

In questo studio, sono stati analizzati retrospettivamente i dati clinico-patologici e l'espressione del gene *MDR1* in pazienti con LMA *de novo* trattati con idarubicina o daunorubicina in combinazione con ara-C come terapia di induzione. Inoltre, per la prima volta, lo stato di espressione dell'*MDR1* è stato correlato con l'*outcome* della terapia con daunorubicina ed idarubicina.

Sono stati raccolti campioni di midollo osseo di pazienti con diagnosi *de novo* di LMA trattati presso il Dipartimento di Ematologia dell'Ospedale Nanfang, Guangzhou, in Cina, tra il gennaio 2006 ed il dicembre 2010. Le diagnosi sono state effettuate sulla base della classificazione *French-American-British* (FAB). I gruppi citogenetici sono stati classificati secondo l'*European LeukemiaNet classification for AML*. I pazienti di età compresa tra 12 e 80 anni, con diagnosi confermata all'esame anatomopatologico e con almeno il 20% di mieloblasti nel midollo, risultavano eleggibili per lo studio. I pazienti hanno ricevuto una terapia di induzione con 100-200 mg/m²/die di ara-C in infusione continua per 7 giorni (dal giorno 1 al 7) e 35-45 mg/m²/die di daunorubicina dal giorno 1 al 3 o 6-8 mg/m²/die di idarubicina dal giorno 1 al 3. Tutti i pazienti hanno ricevuto due cicli di trattamento con antracicline: il primo rappresentava il primo ciclo di induzione; il secondo poteva essere il secondo ciclo di induzione in alcuni pazienti o il primo ciclo post-remissione in altri. Se necessario, sono state somministrate terapie di supporto, quali antibiotici e trasfusioni. Inoltre, i pazienti con infezioni gravi a causa della neutropenia, hanno ricevuto fattori di stimolazione dei granulociti. Le risposte sono state valutate secondo l'*International Working Group*. La remissione completa (CR) è stata definita dalla presenza delle seguenti caratteristiche: meno del 5% di blasti nel midollo osseo, assenza di blasti nel sangue periferico, ripristino della conta di neutrofili ($>1.0 \times 10^9/l$) e di piastrine ($>100 \times 10^9/l$) e nessuna evidenza di patologia extramidollare. L'*end point* primario dello studio era rappresentato dal tasso di CR dei pazienti con LMA stratificato secondo l'espressione dell'*MDR1* e secondo il trattamento ricevuto.

Sono stati raccolti campioni di midollo osseo da un totale di 125 pazienti con LMA (78 maschi e 47 femmine), con età media di 35 anni (*range* di 12-80 anni). L'analisi citogenetica ha rivelato che 26 pazienti (20.8%) rientravano nel gruppo a basso rischio, 78 (62.4%) nel gruppo a rischio intermedio e 21 (16.8%) nel gruppo ad alto rischio. Nel braccio in terapia con idarubicina sono stati inclusi 57 pazienti e 68 nel braccio con daunorubicina. Non sono state riscontrate differenze tra i due gruppi nelle caratteristiche pre-trattamento, quali età, conta iniziale delle cellule ematiche, blasti nel midollo, classificazione FAB e prognosi citogenetica. 86 pazienti (68.8%) hanno raggiunto la CR dopo due cicli di induzione, di cui 47 su 57 in terapia con idarubicina (82.5%) e 39 su 68 in terapia con daunorubicina (57.4%), con una differenza statisticamente significativa tra i due bracci ($p=0.003$). In base ai livelli di espressione del gene *MDR1*, 63 pazienti sono stati classificati a bassa espressione e 62 ad alta espressione. Il 77.8% dei pazienti con bassa espressione ed il 59.7% dei pazienti con alta espressione dell'*MDR1* hanno ottenuto una CR, con differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p=0.029$). Per valutare l'impatto del trattamento e dell'espressione dell'*MDR1* sull'induzione della remissione, i gruppi ad alta e bassa espressione sono stati stratificati secondo il trattamento ricevuto. Tra i pazienti con alta espressione dell'*MDR1*, il gruppo in terapia con idarubicina ha ottenuto un più alto tasso di CR rispetto a quello con daunorubicina (82.1% vs 41.2%; $p=0.001$), ma non è stata osservata differenza significativa tra i due trattamenti nel gruppo con bassa espressione (82.8% vs 73.5%; $p=0.380$). Il più alto tasso di CR nel gruppo di pazienti ad alta espressione ha contribuito alla superiorità del trattamento con idarubicina rispetto alla daunorubicina nell'induzione della remissione. Il braccio con idarubicina ha ottenuto, rispetto al braccio con daunorubicina, un più alto tasso di CR nei pazienti con rischio citogenetico favorevole (100% vs 66.7%; $p=0.033$) ed intermedio (86.5% vs 61%; $p=0.011$), ma non sono state riscontrate differenze significative nei pazienti ad alto rischio. Non sono state riscontrate differenze significative di espressione media dell'*MDR1* tra i gruppi citogenetici. Quindi, i pazienti in differenti gruppi di rischio citogenetici sono stati stratificati in base all'espressione dell'*MDR1* in 6 sottogruppi: favorevole/alta espressione *MDR1*, favorevole/bassa espressione *MDR1*, intermedio/alta espressione *MDR1*, intermedio/bassa espressione *MDR1*, sfavorevole/alta espressione *MDR1*, sfavorevole/bassa espressione *MDR1*. Il trattamento con idarubicina è stato associato ad un numero più elevato di CR rispetto alla daunorubicina nei sottogruppi a rischio favorevole/alta espressione *MDR1* (100%

vs 50%; $p=0.04$) e rischio intermedio/alta espressione *MDR1* (86.7% vs 43.5%; $p=0.008$), ma non sono state riscontrate differenze tra i due trattamenti nei sottogruppi a rischio favorevole/bassa espressione *MDR1* e intermedio-sfavorevole/bassa espressione *MDR1*. Infine, non sono state riscontrate differenze significative nell'incidenza di sepsi e tossicità acuta cardiaca tra i due bracci di trattamento.

Studi precedenti hanno dimostrato la superiorità dell'idarubicina rispetto alla daunorubicina in combinazione con l'ara-C. Ohtake et al. recentemente hanno riportato che un dosaggio superiore di daunorubicina (50 mg/m² per 5 giorni) risulta essere efficace quanto la dose standard di idarubicina, in combinazione con ara-C, nell'induzione della remissione. Numerosi studi hanno dimostrato l'importanza clinica della resistenza mediata dall'*MDR1*, individuando il gene in questione come fattore prognostico predittivo di *outcome* negativo in pazienti con LMA. Questo studio ha confermato come l'alta espressione dell'*MDR1* possa essere associata ad un tasso di CR minore ($p=0.09$). Lo sviluppo di chemioterapici che possano superare la resistenza mediata dall'*MDR1* è di fondamentale importanza per migliorare la risposta dei pazienti con LMA. L'idarubicina è un derivato della daunorubicina più lipofilo, con un più veloce *uptake* da parte delle cellule, un più lungo tempo di permanenza intracellulare e più bassa suscettibilità *in vitro* alla resistenza *MDR1*-dipendente. In questo studio, viene supportata l'ipotesi che la superiorità dell'idarubicina nei pazienti con LMA possa derivare da una migliore risposta nei pazienti con alta espressione dell'*MDR1*. Infatti, quando i pazienti con alta espressione dell'*MDR1* sono stati stratificati in base al trattamento, è stata riscontrata una risposta migliore con l'idarubicina rispetto alla daunorubicina (tasso di CR 82.1% vs 41.2%; $p=0.001$); invece, non sono state riscontrate differenze significative tra i due trattamenti nei pazienti con bassa espressione.

In conclusione, questo studio dimostra per la prima volta che l'idarubicina è superiore alla daunorubicina nei pazienti con LMA *de novo* con alta espressione di *MDR1*, in particolare nei pazienti a rischio intermedio-alto. Stratificare i pazienti secondo il rischio citogenetico e l'espressione dell'*MDR1* potrebbe portare ad una terapia più mirata della LMA con l'idarubicina. Sono necessari studi clinici più ampi per confermare questi dati.

Parole chiave: idarubicina, daunorubicina, LMA, *MDR1*

Riferimento bibliografico

[Shi P](#) et al. *Pharmacogenomics* 2013, 14(1): 17–23

APLOTIPO SLC22A1-ABCB1 COME PREDITTORE DELLA FARMACOCINETICA DI IMATINIB IN PAZIENTI ASIATICI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

La leucemia mieloide cronica (CML) è caratterizzata dalla presenza del cromosoma Philadelphia (Ph +) che genera dalla traslocazione reciproca tra i cromosomi 9 e 22. La traslocazione si traduce in un gene *BCR-ABL* che codifica per una proteina ad attività tirosin-chinasica critica nello sviluppo della patologia. Imatinib mesilato (IM) è un inibitore selettivo della tirosin-chinasi *BCR-ABL* ed è stato definito come il trattamento di prima linea della CML sin dal successo ottenuto nel trial IRIS (*Internal Randomized Study of Interferon vs STI571*), dove IM ha mostrato una netta superiorità nei confronti di interferone e citarabina; in seguito a 18 mesi di trattamento i pazienti trattati con IM raggiungevano il 76% di risposta citogenetica completa (CCyR) rispetto al 15% dei pazienti trattati con interferone e citarabina. Nonostante l'enorme successo, circa il 30-40% dei pazienti ancora non raggiunge la risposta molecolare maggiore (MMR) a 18 mesi dal trattamento. Una risposta subottimale ed a volte un fallimento terapeutico sono imputati alla presenza di mutazioni in *BCR-ABL* così come a bassi livelli terapeutici di farmaco, dovuti a scarsa aderenza, interazioni tra farmaci, variabilità dell'attività degli enzimi responsabili del metabolismo così come dei trasportatori responsabili dell'influsso ed efflusso del farmaco. Obiettivo di questo studio è stato quello di identificare il ruolo di 89 polimorfismi presenti nell'intera sequenza di SLC22A1 e di 11 polimorfismi di ABCB1, ABCG2, CYP3A5 e PXR sulla farmacocinetica di IM in una coorte di pazienti sani di origine asiatica (Cinesi, Malesi ed Indiani) così come in una popolazione di pazienti Ph + affetti da CML in fase cronica.

Lo studio ha coinvolto 210 pazienti sani (Cinesi, Malesi, ed Indiani, ciascuna etnia rappresentata da 70 soggetti) e 38 pazienti Ph + affetti da CML in fase cronica (32 Cinesi, 4 Malesi e 2 Indiani). I soggetti hanno ricevuto IM dall'Ospedale Generale di Singapore tra il Gennaio 2001 ed il Settembre 2007 ed hanno firmato il consenso informato approvato dal Comitato Etico del Centro Nazionale Cancro di Singapore. La risposta citogenetica al trattamento è stata valutata tramite biopsia del midollo osseo ogni 6 mesi dopo trattamento con IM e valutata come la percentuale di cellule Ph + definendo la risposta completa (CCyR 0%), parziale (PCyR, 1-34%) e minore (35-90%). Si è inoltre valutata la risposta molecolare definita dal rapporto tra *BCR-ABL/ABL* totale ed è stata valutata ogni 3 mesi in seguito al trattamento con IM. La MMR è definita per un rapporto $\leq 0.1\%$. Il fallimento terapeutico è stato definito come incapacità di raggiungere CCyR dopo 6 mesi, oppure con meno di PCyR a 12 mesi o meno di CCyR a 18 mesi, recidive o passaggio dalla fase cronica a quella accelerata o alla crisi blastica. In caso di fallimento terapeutico si è proceduto con l'analisi delle mutazioni di *BCR-ABL*. L'analisi farmacocinetica è stata effettuata dopo 24 h dalla somministrazione di IM ed è stata valutata la concentrazione minima allo stato stazionario (C_{0h}) mediante HPLC oltre che la *clearance* (CL), entrambe normalizzate sulla dose di IM somministrata (300-600mg). Il metodo *Haplowalk* è stato applicato per la scelta degli aplotipi significativi e consiste nell'identificare la regione sub-aplotipica che meglio possa spiegare la variabilità nei parametri farmacocinetici in seguito a trattamento con IM. Il modello lineare generalizzato (GLM) è stato utilizzato per stimare gli effetti degli aplotipi sulla farmacocinetica di IM. L'associazione dei *copy numbers* con la farmacocinetica di IM è stata definita tramite *Mann-Whitney U test*.

L'età media dei pazienti alla diagnosi era di 42 anni (16-69) e l'indice di massa corporea 24.4 kgm^{-2} (17.9-49.5). Tutti i pazienti hanno ricevuto IM per almeno 18 mesi, partendo dalla dose giornaliera di 400mg. In seguito sono stati effettuati aggiustamenti di dose per 6 pazienti, 4 sono stati portati a 600mg perché non raggiungevano MMR e 2 sono stati portati a 300mg causa problemi di tossicità. A 18 mesi dal trattamento tutti i pazienti avevano raggiunto CCyR ad eccezione di 3 per i quali si è verificato il fallimento terapeutico. Dei 28 pazienti per cui è stato possibile ottenere i dati di risposta molecolare a 18 mesi, 14 pazienti non raggiungevano MMR ed un paziente ha manifestato recidiva a 56.5 mesi ed un altro è progredito in crisi blastica a 90.7 mesi. Questi ultimi due pazienti presentavano mutazioni in *BCR-ABL*. Per quel che riguarda la popolazione sana, differenze tra le etnie significative si sono manifestate per il 34% dei polimorfismi analizzati, cioè per 30 polimorfismi ($P < 0.016$). Lo score statistico degli aplotipi ha rivelato nella popolazione dei pazienti una regione sub-aplotipica di SLC22A1 che comprende 3 polimorfismi (rs398168, rs628031 e IVS7+850C>T) che sono stati associati in modo significativo alla CL di IM ($P = 0.0013$). Il GLM aplotipo-specifico ha stimato che gli aplotipi AGT e CGC fossero entrambi associati ad una diminuzione del 22% della CL rispetto a CAC [CL ($\cdot 10^{-2}$ L/hr/mg): CAC vs AGT: 4.03 vs 3.16, $P = 0.017$; CAC vs CGC: 4.03 vs 3.15, $P = 0.017$]. Pazienti portatori di 2 copie degli aplotipi AGT o CGC (S_{high}) hanno una CL più bassa del 33.4% e un C_{0h} maggiore del 50%, rispetto a pazienti portatori di nessuna o 1 copia di questi aplotipi (S_{low}) ($P = 0.026$ e 0.013 , rispettivamente). Non è stata trovata nessuna correlazione diretta tra ABCB1 e CL o C_{0h} , ma si è osservato un dato interessante ovvero che i portatori di S_{high} tendono ad avere nessuna o 1 copia dell'aplotipo di ABCB1 (1236C>T; 267G>T/A; 3435C>T) TGT o TTT (A_{low}), piuttosto che 2 copie (A_{high}) ($P = 0.030$). Ulteriori sottogruppi di analisi rivelano che la combinazione dell'aplotipo di SLC22A1 S_{low} e ABCB1 A_{low} è significativamente associata sia alla CL, che aumenta fino al 73.2% che a C_{0h} , che diminuisce del 41.2% rispetto a pazienti portatori degli altri aplotipi ($P = 0.002$ e 0.009 , rispettivamente). Il medesimo profilo di aplotipi combinato di SLC22A1 e ABCB1 non è associato in modo significativo alla risposta al trattamento.

Questo studio esplorativo evidenzia che gli aplotipi di SLC22A1 S_{low} e ABCB1 A_{low} influenzano la farmacocinetica di IM in pazienti asiatici affetti da CML.

Questo studio evidenzia per la prima volta che specifici aplotipi in SLC22A1 e ABCB1 possono contribuire alla variazione interindividuale e interetnica nella farmacocinetica di IM in pazienti asiatici affetti da CML. Prospettive future sono l'ampliamento della popolazione in studio per confermare i dati ottenuti e l'approfondimento in altri gruppi etnici.

Parole chiave: Leucemia mieloide cronica, imatinib, SLC22A1, ABCB1, aplotipi, farmacocinetica

Riferimento bibliografico

[Singh O](#) et al. *PLoS One* 2012, 7(12): e51771.

DISCORDANZA TRA GENOTIPO E FENOTIPO PER LA TIOPURINA-S-METIL-TRANSFERASI, E FORMAZIONE DEI METABOLITI ATTIVI DELLE TIOPURINE, NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA

A cura della Dott.ssa Raffaella Franca e del Dott. Gabriele Stocco

La mercaptopurina costituisce il farmaco principale per la chemioterapia di mantenimento della leucemia linfoblastica acuta (LLA) mentre la tioguanina è impiegata soprattutto per la terapia di leucemie mieloidi. Il trial nazionale anglosassone ALL97 ha confrontato efficacia e tossicità di mercaptopurina e tioguanina durante la fase di mantenimento della terapia. Entrambi i farmaci sono inattivati direttamente dall'enzima polimorfico tiopurina-S-metil transferasi (TPMT) e sono efficaci mediante la formazione di nucleotidi tioguaninici (TGN), che determinano sia l'azione terapeutica che la tossicità del trattamento. La mercaptopurina forma dei metaboliti intermedi, precursori alla formazione dei TGN; questi intermedi possono essere anch'essi substrati di TPMT ed i metaboliti metil mercaptopurinici risultanti (MeMPN) sono formati a scapito dei TGN. L'incorporazione dei metaboliti TGN nel DNA costituisce uno dei meccanismi molecolari principali per l'azione citotossica dei farmaci tiopurinici. Inoltre i TGN possono promuovere la citotossicità mediante l'inibizione della metilazione del DNA e inducendo la morte cellulare attraverso l'inibizione di *pathways* intracellulari. Tossicità midollare grave, potenzialmente fatale, si verifica nei pazienti privi di attività TPMT, che costituiscono circa il 0,3% della popolazione. Una mielosoppressione meno severa si verifica in circa il 10% dei pazienti che assumono dosi standard di mercaptopurina. Molti protocolli di trattamento prevedono la caratterizzazione di TPMT all'inizio della terapia mediante fenotipizzazione o genotipizzazione. Il fenotipo concorda con il genotipo in più del 98% degli adulti sani. L'individuazione degli alleli varianti TPMT*3 (che costituiscono più del 92% delle varianti ad attività ridotta) e dell'allele TPMT*2 permette di identificare più del 95% degli alleli che determinano una riduzione nell'attività di TPMT. I risultati clinici ottenuti dal confronto fra mercaptopurina e tioguanina, effettuato mediante randomizzazione nel protocollo ALL97, non hanno dimostrato differenze nell'efficacia fra le due tiopurine (Vora et al. *Lancet* 2006; 368:1339-48); è stata invece riscontrata una riduzione nella frequenza di ricadute a livello del sistema nervoso centrale in pazienti trattati con tioguanina, controbilanciata tuttavia da un aumento dei decessi durante la remissione e dall'insorgenza di un effetto avverso grave a livello epatico (tossicità associata all'eterozigosità per gli alleli inattivi di TPMT).

Nel presente articolo, gli autori descrivono gli studi sul metabolismo delle tiopurine effettuati nel protocollo ALL97. In particolare, lo scopo del presente studio è stato quello di investigare la concordanza tra il fenotipo ed il genotipo TPMT in pazienti pediatriche con LLA e l'effetto del polimorfismo di TPMT nella variabilità inter- ed intra- individuale per il metabolismo delle tiopurine. Le analisi sull'associazione fra il metabolismo delle tiopurine e la loro efficacia clinica nel protocollo ALL97 sono tutt'ora in corso e verranno riportate in uno studio successivo. Sono state misurate l'attività di TPMT alla diagnosi in 1150 pazienti e la stessa attività, assieme alla concentrazione dei metaboliti TGN e MeMPN, in 1131 pazienti durante la chemioterapia di mantenimento in bambini trattati con mercaptopurina o tioguanina secondo la randomizzazione del protocollo ALL97. La terapia di mantenimento in questo protocollo ha previsto somministrazioni giornaliere di tiopurina orale, secondo la randomizzazione, combinate a somministrazioni settimanali di metotressato; inoltre i pazienti sono stati trattati con un'iniezione endovenosa di vincristina, effettuata mensilmente e seguita da 5 giorni di trattamento con glucocorticoidi. La dose della tiopurina è stata adeguata sulla base della tossicità sviluppata da ciascun paziente, partendo da una dose standard pari a 40 mg/m² di tioguanina o 75 mg/m² di mercaptopurina. Il fenotipo e genotipo di TPMT sono stati misurati alla diagnosi. Inoltre, durante la terapia di mantenimento, l'attività di TPMT e la concentrazione dei metaboliti attivi sono stati misurati in campioni di sangue raccolti immediatamente prima dell'iniezione della vincristina; questi campioni sono stati raccolti dopo almeno 7 giorni consecutivi di trattamento con tiopurina alla dose prevista del protocollo o alla massima dose tollerata. Per ciascun paziente, durante la terapia di mantenimento, il primo campione è stato raccolto appena si verificavano le condizioni di trattamento appena

descritte. Un secondo campione è stato raccolto all'inizio del secondo anno di trattamento ed un terzo campione alla fine del secondo anno. L'attività di TPMT e la concentrazione dei metaboliti attivi è stata misurata mediante saggi HPLC. La genotipizzazione di TPMT è stata effettuata caratterizzando gli alleli più rilevanti TPMT*3A, TPMT*3B e TPMT*3C mediante PCR-RFLP; la genotipizzazione dell'allele TPMT*2 e' stata effettuata mediante sequenziamento dell'esone 5. Inoltre, per identificare nuove varianti di TPMT, sono stati sequenziati gli esoni dal 3 al 10, utilizzando la tecnologia del "dye-primer".

I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'attività di TPMT alla diagnosi è significativamente più bassa rispetto a quella valutata durante la chemioterapia (rispettivamente 8.5 vs 13.8 unità per ml di globuli rossi impaccati, $p < 0.0001$). Alla diagnosi, fenotipo e genotipo di TPMT sono risultati discordanti. Considerando l'intera coorte, la concordanza è risultata pari al 92%, tuttavia questa si è riduce al 55% considerando il gruppo di pazienti con attività intermedia (in altre parole, il 45% di questi pazienti ha presentato un gene TPMT normale). Per quanto riguarda le concentrazioni dei metaboliti TGN, per entrambe le tiopurine sono risultate associate al genotipo TPMT: in particolare per la mercaptopurina, la concentrazione mediana di TGN è risultata circa il doppio in pazienti con genotipo TPMT eterozigote, rispetto a quelli *wild-type* (754 vs 360 pmol/8x10⁸ per ml di globuli rossi impaccati); la concentrazione dei metaboliti metilati è risultata invece ridotta di un terzo nei soggetti eterozigoti rispetto a quelli *wild-type* (3868 vs 10650 pmol/8x10⁸ per ml di globuli rossi impaccati). In pazienti con attività TPMT intermedia e genotipo TPMT *wild-type*, la concentrazione dei metaboliti è risultata simile a quella di soggetti con attività TPMT normale.

Nella discussione, gli autori riportano che la riduzione di attività di TPMT alla diagnosi è nota in letteratura ed è stata attribuita al processo patologico della LLA, in particolare all'anemia risultante, che determina la presenza di eritrociti circolanti con TPMT meno funzionale: è noto infatti che, nelle emazie, l'attività di TPMT è inversamente proporzionale alla età cellulare dell'eritrocita (Lennard et al. *Br J Clin Pharmacol* 2001, 52:539-46). Durante la chemioterapia della LLA, invece, l'attività eritrocitaria di TPMT si innalza a livelli superiori alla media di una popolazione pediatrica sana, effetto non presente in altre patologie che prevedono il trattamento cronico con tiopurine. Questo fenomeno è da attribuire alle frequenti soppressioni midollari indotte dalla chemioterapia ed alla conseguente induzione dell'emopoiesi: eritrociti più giovani hanno infatti un'attività di TPMT più elevata rispetto a globuli rossi con un'età cellulare più alta.

Nei pazienti pediatrici con LLA, l'attività di TPMT non dovrebbe essere utilizzata per individuare soggetti con un metabolismo ridotto delle tiopurine, soprattutto se il campione per la misurazione dell'attività viene raccolto alla diagnosi. In pazienti con LLA il genotipo TPMT è infatti un miglior predittore dell'attività costitutiva di TPMT e conseguentemente dell'accumulo di metaboliti attivi TGN.

Parole chiave: tiopurina metil-transferasi, discordanza genotipo-fenotipo, nucleotidi tioguaninici, leucemia pediatrica, mercaptopurina, tioguanina.

Riferimento bibliografico

[Lennard L](#) et al. *Br J Clin Pharmacol* 2012 Dec 18 [Epub ahead of print].

IL RAPPORTO DEI POLIMORFISMI IN ABCC2 E SLCO1B3 CON LA FARMACOCINETICA DEL DOCETAXEL E LA NEUTROPENIA: RISULTATI DELLO STUDIO CALGB 60805

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il docetaxel, tassano semisintetico, è un agente citotossico ampiamente utilizzato nel trattamento del cancro della mammella, della prostata e del polmone non a piccole cellule. Precedenti studi farmacocinetici hanno valutato l'associazione del test respiratorio dell'eritromicina con le variazioni genetiche degli enzimi metabolizzatori e trasportatori, al fine di studiare il loro ruolo come determinanti della variabilità nella del docetaxel. Purtroppo non sono stati ancora ben definiti i maggiori determinanti di questa *clearance* variabilità. Differente espressione e funzione dei polimorfismi degli enzimi metabolizzatori e/o trasportatori presenti sul sito di eliminazione del farmaco possono giocare un ruolo molto importante in questa variabilità. CYP3A4 e CYP3A5 sono gli enzimi maggiormente coinvolti nell'ossidazione epatica del docetaxel nel suo

metabolita maggiore, il c-13-idrodacetaxel. L'*uptake* epatocellulare dei tassani è regolato, almeno in parte, dal trasportatore solubile OATP1B3 (SLCO1B3), mentre l'ATP binding cassette o glicoproteina-P (ABCB1) e ABCC2 sono coinvolte nella secrezione dei tassani dal fegato alla bile. La neutropenia è l'effetto tossico dose-limitante del docetaxel. Al fine di identificare i fattori genetici che possono determinare il rischio di neutropenia indotta da docetaxel, Kiyotani et al. (Cancer Sci. 2008, 99(5):967-72) hanno condotto uno studio caso-controllo retrospettivo su 140 pazienti giapponesi in cura con docetaxel in monoterapia, con 84 casi con neutropenia di grado 3/4 e 56 controlli (no neutropenia). I ricercatori di questo studio hanno identificato una forte associazione dei polimorfismi rs12762549 in ABCC2 e rs11045585 in SLCO1B3 con la neutropenia di grado 3/4. La presenza di questi polimorfismi in entrambi i geni comportava un incremento di sette del rischio di sviluppare neutropenia (95% CI 2,95-16,59).

Data l'associazione nota tra lo sviluppo della neutropenia e l'esposizione al docetaxel (AUC), Lewis e colleghi nello studio pubblicato su *Pharmacogenetics and Genomics* hanno studiato la relazione tra i polimorfismi di ABCC2 e SLCO1B3 con la riduzione di *clearance* del docetaxel e lo sviluppo della neutropenia.

Questa ipotesi è stata testata retrospettivamente in un sottogruppo dello studio CALGB 9871, con una popolazione finale di 64 soggetti. I dettagli sul disegno dello studio, sui criteri di eleggibilità dei pazienti, sul regime terapeutico, sul monitoraggio della neutropenia e sulla misurazione della concentrazione del docetaxel erano già stati pubblicati nel lavoro che si riferisce allo studio CALGB 9871 (Lewis LD et al. *Clin Cancer Res* 2007, 13(11): 3302-11). Tutti i pazienti avevano ricevuto una dose per via intravenosa di 75mg/m² di docetaxel. Nello studio originale non era stata trovata alcuna differenza nella *clearance* tra gruppi etnici, di conseguenza questa popolazione è stata considerata come un singolo sottogruppo.

La genotipizzazione è stata eseguita utilizzando la tecnologia TaqMan SNP dell'Applied Biosystems. Oltre ad rs12762549 e rs11045585 sono stati genotipati altri tre polimorfismi: rs11190298 per ABCC2, rs16923270 e rs4149155 per SLCO1B3.

L'equilibrio di Hardy-Weinberg è stato testato per tutti gli SNP utilizzando un test del chi quadrato.

L'associazione di ridotta *clearance* dovuta al genotipo dei pazienti è stata testata utilizzando il test di Wilcoxon per la somma dei ranghi, con un livello di significatività ad una coda di 0.025. Tutte le altre analisi, secondarie ed esplorative, sono state effettuate utilizzando un livello di significatività a due code di 0.05 e non aggiustate per il test multiplo. I pazienti portatori del polimorfismo rs12762549 mostravano una riduzione della *clearance* del docetaxel ($p=0.048$), ma non significativa (livello $p<0.025$). Non c'era alcuna correlazione invece tra rs11045585 e la *clearance* del docetaxel ($p=0.799$). In più, non è stata evidenziata alcuna associazione tra i genotipi di questi trasportatori e l'incidenza di neutropenia di grado 3/4. I risultati contrastanti rispetto allo studio di Kiyotani et al. mettono in luce la necessità di approfondire queste associazioni in studi di replicazione più ampi. Anche Baker et al. (*Clin Pharmacol Ther* 2009, 85(2):155-63) nello studio che ha visto coinvolti 92 pazienti americani ed europei in terapia con docetaxel (sia in monoterapia che in combinazione) non hanno evidenziato alcuna associazione tra la *clearance* del farmaco e i polimorfismi dei geni ABCC2, SLCO1B3 e ABCB1.

Numerose possibili spiegazioni possono aver influenzato i risultati di questo studio senza permettere la replicazione dei dati di Kiyotani et al. Il bias di selezione non può assolutamente essere escluso in uno studio retrospettivo con una coorte piccola e in più la dose di docetaxel somministrata ai pazienti giapponesi non era definita e descritta nello studio. Differenze ambientali tra le popolazioni in studio, variazioni nel regime terapeutico e concomitanti trattamenti possono aver influenzato il fenotipo studiato e di conseguenza ogni associazione genetica con l'esposizione al farmaco. Non è possibile purtroppo identificare quali di questi fattori (da soli o in combinazione) possono aver interferito con i risultati finali dello studio.

Sarà sicuramente necessario migliorare la qualità di questi studi aumentando la popolazione in analisi e la qualità del disegno sperimentale, ipotizzando anche uno studio di associazione *genome-wide* che potrebbe smascherare eventuali nuovi determinanti di variabilità nella tossicità di questo agente citotossico.

I polimorfismi rs12762549 di ABCC2 e rs11045585 di SLCO1B3 non mostrano una chiara associazione con la *clearance* del docetaxel e con la neutropenia indotta da trattamento.

Parole chiave: ABCC2, SLCO1B3, docetaxel, *clearance*, neutropenia

Riferimento bibliografico

[Lewis LD](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2013, 23(1):29-33.

INTERAZIONE TRAI I LIVELLI SIERICI DI VITAMINA D E IL POLIMORFISMO FOKI DEL RECETTORE PER LA VITAMINA D NELLA FUNZIONE RENALE IN PAZIENTI CON DIABETE DI TIPO II

A cura delle Dott.sse Valeria Conti e Giusy Russomanno

La nefropatia è una delle maggiori complicanze del diabete di tipo II e spesso richiede interventi come la dialisi e il trapianto. Per tale motivo è importante contrastare l'evoluzione di tale condizione.

La 25-idrossivitamina D (25OHD) è la forma circolante di vitamina D che, principalmente nel rene, è convertita dall'1 α -idrossilasi (1 α OHasi) in 1,25-idrossivitamina D (1,25OHD) i cui livelli possono diminuire nei pazienti con disfunzione renale. Una bassa quantità di 1,25OHD induce l'aumento della produzione di renina e l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone. Una delle conseguenze è la repressione dell'attività dell'1 α OHasi, che comporta a sua volta la progressione del danno renale.

E' stato dimostrato che la somministrazione per via endovenosa di 1,25OHD migliora significativamente il tasso di sopravvivenza nei pazienti sottoposti a emodialisi e che il paracalcitolo, una forma di 1,25OHD, migliora l'albuminuria nei diabetici in pre-dialisi in terapia con ace-inibitori e sartani.

Il genotipo relativo al polimorfismo "FokI" nel gene del recettore per la vitamina D (VDR) differisce significativamente tra i pazienti con nefropatia diabetica e gli individui sani. In particolare, nelle cellule Hela è stato osservato che, rispetto al profilo allelico FokI/TT, FokI/CC corrisponde a una funzionalità di vitamina D maggiorata di 1,7 volte. Inoltre, la Dose Efficace 50 (DE50) di 1,25(OH)2D3 nei portatori FokI C/C è significativamente più bassa di quella misurata nei FokI C/T. Prese insieme, tali evidenze suggeriscono che le forme 25OHD, 1,25OHD di vitamina D e il VDR possano essere responsabili, almeno in parte, dell'esacerbazione della nefropatia diabetica.

Gli autori hanno condotto uno studio trasversale con il principale obiettivo di definire il peso dell'interazione tra la ratio 25OHD/1,25OHD e la variante FokI del gene VDR nella determinazione dello stadio di nefropatia diabetica.

Per questo studio trasversale sono stati arruolati 410 pazienti diabetici nei quali lo stadio della nefropatia è stato assegnato misurando il tasso di filtrazione glomerulare (GFR).

I pazienti sono stati caratterizzati per la determinazione del genotipo FokI considerando che la presenza della forma allelica FokI/C corrisponde a una proteina VDR più corta di tre amminoacidi e con una funzionalità maggiore.

Lo stadio della disfunzione renale è stato associato con i livelli di 25OHD, 1,25OHD e con la presenza del polimorfismo FokI del VDR (rs10735810) attraverso un modello di regressione logistica aggiustato per numerosi fattori di confondimento, come la terapia con ACE-inibitori, sartani o statine, la durata della malattia e le sue oscillazioni mensili e i livelli sierici di calcio, fosfato e paratormone.

I risultati ottenuti hanno mostrato che i livelli di 1,25OHD ma non quelli di 25OHD erano negativamente associati con lo stadio della complicanza nefropatica ed è stata trovata un'interazione significativa tra i livelli di 1,25OHD e il genotipo FokI/TT. Inoltre, nei pazienti con FokI/CC e CT rispetto ai portatori FokI/TT, è stata riscontrata una forte associazione positiva con l'efficienza della filtrazione glomerulare.

Attraverso lo *switching* del codone ATG (FokI/T) ad ACC (FokI/) viene prodotta una proteina VDR più funzionale. Alcuni studi hanno dimostrato un'interazione tra i polimorfismi del VDR e la forma 25OHD della vitamina D in patologie come l'adenoma colon-rettale e la tubercolosi, ma questo è il primo studio in cui si evidenzia l'importanza del polimorfismo FokI nel gene VDR in pazienti diabetici con nefropatia.

Questo studio ha varie limitazioni, in primis il fatto che, essendo trasversale, non permette di determinare se la diminuzione dei livelli di 25OHD e 1,25OHD sia un fattore che aggrava la nefropatia oppure una conseguenza dell'esacerbazione della disfunzione renale nei pazienti diabetici.

Alti livelli di 1,25OHD potrebbero essere associati con lo stadio più basso di nefropatia in pazienti con diabete di tipo II e tale associazione può essere influenzata dal polimorfismo FokI nel gene del recettore della vitamina D.

Parole chiave: vitamina D, polimorfismi VDR, FokI, nefropatia diabetica

Riferimento bibliografico

[Yokoyama K](#) et al. *PLoS ONE* 2012, 7(12):e 51171.

L'ETÀ DEL DONATORE ED IL POLIMORFISMO GENETICO ABCB1 1199G>A SONO FATTORI INDIPENDENTI CHE INFLUENZANO LA FUNZIONE RENALE A LUNGO TERMINE NEI PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI RENE

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Nella pratica clinica dei trapianti l'introduzione degli inibitori della calcineurina, ciclosporina A e tacrolimus, ha ridotto in maniera significativa l'incidenza del rigetto acuto ed ha migliorato nettamente la sopravvivenza del rene a 1 anno, attualmente dell'ordine dell'85-90%. Tuttavia, la nefropatia cronica da trapianto, una sindrome clinica caratterizzata da una progressiva e irreversibile perdita della funzione renale, rappresenta ancora una delle cause più frequenti di insuccesso del trapianto a lungo termine, e si osserva in circa il 30% dei casi. Diversi fattori clinici come età e sesso del donatore, compatibilità HLA, comparsa di infezioni virali, rigetti acuti e durata della dialisi possono determinare la comparsa di nefropatia cronica da allotrapianto. Recenti evidenze suggeriscono che anche i fattori genetici che controllano il metabolismo e trasporto degli inibitori della calcineurina possono contribuire nel determinare il rischio di nefrotossicità a lungo termine. La concentrazione tissutale degli inibitori della calcineurina e dei loro metaboliti a livello delle cellule epiteliali del tubulo renale è infatti determinata dal metabolismo locale, mediato dal citocromo P450 (CYP)3A, e dall'attività dei trasportatori *ATP-binding cassette* (ABC), tra cui la glicoproteina-P. Inoltre, l'espressione di molti citocromi e trasportatori è regolata dal recettore X del pregnano (PXR), codificato dal gene NR1I2. Obiettivo dello studio è stato quello di valutare l'impatto di polimorfismi del donatore d'organo nei geni CYP3A, ABCB1 ABCC2 e NR1I2, sulla funzione renale a lungo termine del ricevente, in una popolazione di pazienti sottoposti a trapianto di rene ed in terapia con inibitori della calcineurina.

Lo studio è stato condotto retrospettivamente su una coorte di 97 pazienti Caucasic (età media 41.1±12.6 anni, di cui 58 di sesso maschile), sottoposti a trapianto di rene tra il 1995 ed il 2000. I criteri d'inclusione sono stati i seguenti: assenza di necrosi tubulare acuta o di ritardata ripresa della funzionalità renale post-trapianto, assenza di rigetto acuto durante il primo anno di follow-up, organi trapiantati da donatori a cuore battente, donatori con età compresa tra i 15 ed i 60 anni e trattamento continuativo con inibitori della calcineurina per almeno 3 anni dal trapianto dell'organo. La terapia di immunosoppressione comprendeva ciclosporina A (57 pazienti) o tacrolimus (40 pazienti), in associazione ad azatioprina o micofenolato mofetile e steroidi. La funzionalità renale è stata valutata mediante misurazione dei livelli sierici di creatinina e della velocità di filtrazione glomerulare (VFG) calcolata con la formula di Cockcroft-Gault, sia ad un anno dal trapianto dell'organo che al follow-up a lungo termine. Il DNA del donatore è stato estratto da biopsie renali effettuate precedentemente al trapianto dell'organo. L'analisi dei polimorfismi a carico dei geni CYP3A5 (6986G>A), CYP3A7 (promoter), ABCB1 (1199G>A, 1236C>T, 2677G>T/A, 3435C>T), ABCC2 (-24C>T, 4544G>A) e NR1I2 (11156A>C) è stata eseguita con la metodica di PCR-RFLP.

Nessuno dei polimorfismi analizzati correla con i livelli di creatinina sierica ad un anno dal trapianto di rene. Tuttavia, al follow-up a lungo termine, i livelli di creatinina sierica risultano significativamente ridotti nei pazienti trapiantati con un rene portatore dell'allele ABCB1 1199A [mediana (*range*): 1.1 mg/dL (0.8-1.5)], rispetto a coloro che avevano ricevuto un organo con genotipo *wild-type* ABCB1 1199GG [mediana (*range*): 1.5 mg/dL (0.7-3.7), $P < 0.01$]. Inoltre, al follow-up a lungo termine, livelli più elevati di creatinina sierica vengono riscontrati nei riceventi un organo portatore dell'allele CYP3A5*1 [mediana (*range*): 1.8 mg/dL (0.8-3.0)], rispetto ai pazienti riceventi un rene con genotipo CYP3A5*3/*3 [1.4 mg/dL (0.8-3.7)]. La differenza nei due gruppi di pazienti, tuttavia, non raggiunge una significatività statistica ($P=0.052$). La VFG ad un anno dal trapianto risulta più elevata nei pazienti riceventi un organo portatore della variante

ABCB1 1199A [mediana (*range*): 92.1 mL/min (56.3-107.0)], rispetto ai riceventi di un rene con genotipo ABCB1 1199GG [67.3 mL/min (31.7-129.9), $P < 0.05$]. Analogamente, la VFG risulta maggiore nei riceventi un rene portatore della variante ABCB1 1199A anche al momento del follow-up a lungo termine ($P < 0.01$). Dall'analisi statistica multivariata emerge che, al follow-up a lungo termine, l'età, l'allele ABCB1 1199A e la variante CYP3A5 6986G>A del donatore determinano circa il 24% della variabilità osservata nei livelli sierici di creatinina dei riceventi al follow-up a lungo termine, mentre l'età e l'allele ABCB1 1199A del donatore spiegano il 29% della variabilità osservata nella VFG.

Questo studio evidenzia, per la prima volta, il ruolo protettivo svolto dal genotipo del donatore per la variante genetica ABCB1 1199G>A sulla funzionalità renale a lungo termine nel ricevente. Principali limiti dello studio sono costituiti dal ridotto numero di pazienti arruolati, dalla mancanza di dati riguardanti il genotipo dei riceventi e l'assenza di valutazione istologica della biopsia renale. Rimane inoltre da chiarire il meccanismo alla base di tale effetto protettivo data l'esistenza di dati conflittuali riguardo l'effetto di ABCB1 1199G>A sull'accumulo intracellulare degli inibitori della calcineurina in cellule mononucleate del sangue periferico. Infatti, il polimorfismo ABCB1 1199G>A sembrerebbe essere associato ad una riduzione delle concentrazioni intracellulari di ciclosporina A, mentre determinerebbe un aumento delle concentrazioni intracellulari di tacrolimus. A fronte di tali limitazioni, questo studio apre nuove prospettive per l'identificazione dei pazienti a rischio di nefrotossicità che necessitano una minimizzazione della dose di inibitori della calcineurina.

In conclusione, il polimorfismo ABCB1 1199G>A e l'età del donatore sono fattori indipendenti che influiscono sulla funzionalità renale a lungo termine di pazienti sottoposti a trapianto di rene.

Parole chiave: trapianto di rene, nefrotossicità, inibitori della calcineurina, ABCB1.

Riferimento bibliografico:

[De Meyer M](#) et al. *J Surg Res* 2012, 178(2):988-95.

L'ALLELE A/G DEL POLIMORFISMO RS3740556 DEL GENE EIF3A PREDICE LA RESISTENZA A CHEMIOTERAPIA BASATA SUL PLATINO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al polmone è la principale causa nel mondo di mortalità tra le morti cancro-relate, con un sopravvivenza di 5 anni in solo 15% dei casi. Negli ultimi vent'anni, i trattamenti clinici per cancro polmonare sono stati notevolmente migliorati; i farmaci basati sul platino sono tra i chemioterapici più ampiamente impiegati per il trattamento di molti tipi di carcinoma nonché considerati come trattamento di prima linea nel tumore al polmone sia a piccole cellule (SCLC) che non a piccole cellule (NSCLC).

Nonostante l'ampio uso, si riscontra spesso una vasta resistenza al platino, con significative variazioni nel tasso di risposta e quindi nell'efficacia; ciò può essere spiegato in parte a livello genetico, includendo tra le possibili cause i polimorfismi a singolo nucleotide, e variazioni nel numero di copie (*copy numbers variants*, CNV). I fattori di iniziazione eucariotica (eIFs) giocano un ruolo essenziale nella regolazione e nell'iniziazione della translazione; eIF3a è la subunità maggiore del complesso eIF3. Recenti ricerche hanno riportato che l'over-espressione di questo fattore in molti tipo di cancro, potrebbe significativamente influire sull'inizio della translazione, sulla regolazione del ciclo cellulare e sul mantenimento del fenotipo maligno (Dong Z et al. *Oncogene* 2004, 23(21):3790–801; Dellas A et al. *Cancer* 1998, 83(7):1376–83; Haybaeck J et al. *Anticancer Res* 2010, 30(4):1047–55). Studi precedenti hanno già mostrato come eIF3a sia strettamente correlato all'efficacia della chemioterapia platino-basata; inoltre sembra che esso possa regolare l'espressione di alcune proteine facenti parte del pathway NER (*nucleotide excision repair*) (Jie SHEN et al. *J Int Pathol Clin Med* 2006, 26(5):369–71). Alcuni polimorfismi sono stati descritti come fattori importanti che contribuiscono all'attività del pathway NER, il quale a sua volta influirebbe sulla sensibilità ai chemioterapici basati sul platino nei casi di cancro al polmone (Rosell R et al. *Cancer Control* 2003, 10(4):297–305; Rosell R et al. *Cancer Control* 2003, 10(4):297–305).

Lo scopo di questo studio è stato quello valutare la possibile correlazione tra i polimorfismi di eIF3a e la risposta a chemioterapici basati sul platino e l'*outcome* clinico in pazienti con cancro al polmone.

Un totale di 771 pazienti, provenienti da diverse regioni della Cina, sono stati coinvolti nello studio; in particolare 328 sono stati arruolati per lo studio I, lo studio-scoperta, e 443 per lo studio II, lo studio replica. Tutti i pazienti avevano un tumore inoperabile nello stadio IIIa - IV; criteri di esclusione comprendevano precedenti tipi di cancro, accettazione di operazioni chirurgiche per il trattamento del cancro al polmone, accettazione di chemioterapia oltre ai farmaci basati sul platino, accettazione per trattamento con radiazioni, altri malattie concomitanti, come diabete o ipertensione incontrollata.

Tutti i pazienti sono stati trattati con chemioterapia di prima linea basata sul platino (cisplatino e carboplatino). I principali regimi terapeutici includevano cisplatino/carboplatino + gemcitabina (GP), cis/carb + etoposide (EP), cis + docetaxel (DP). Per tutti i regimi, 21 giorni (3 settimane) sono stati considerati come un ciclo. Il protocollo chemioterapeutico prevedeva cisplatino (75mg/m² il giorno 1) + GB (1000mg/m² i giorni 1 e 8); cisplatino (75mg/m² il giorno 1) + EP (95mg/m² i giorni 1-3); cisplatino (75mg/m² il giorno 1) + DP (75mg/m² il giorno 1); carboplatino (AUC 5 il giorno 1) + GB (1000mg/m² i giorni 1 e 8); carboplatino (AUC 5 il giorno 1) + E.P (95mg/m² i giorni 1-3). I trattamenti sono stati terminati in caso di progressione o tossicità inaccettabile; per tutti i pazienti i trattamenti sono durati dai 2 ai 6 cicli. Alla fine del secondo ciclo sono stati prelevati 5 ml di sangue venoso da cui è stato isolato il DNA. La risposta alla chemioterapia è stata definita dopo i primi 2 cicli secondo le linee-guida RECIST; pazienti con risposta completa (CR) o parziale (PR) sono stati considerati responsivi o sensibili al platino, mentre i pazienti con tumore stabile o in progressione come non responsivi o resistenti al platino (alla fine della chemioterapia questi pazienti sono stati seguiti per analizzare la sopravvivenza con un tempo di follow-up medio di 25 mesi).

Per lo studio genotipo sono stati individuati e sequenziati 8 *tagger* SNPs nel gene codificante per eIF3A, selezionati mediante il database HapMap della popolazione cinese (rs3808952, rs3824830, rs11198759, rs3740556, rs7908387, rs3740555, rs2271363, rs3740553); nello studio replica il sequenziamento di rs3740556, significativo nello studio I, è stato replicato con lo stessa metodologia.

Sul totale dei 771 pazienti, 278 (36.06%) avevano carcinoma a cellule squamose, 270 (35.02%) adenocarcinoma, 177 (22.96%) cancro a piccole cellule e 46 (6.00%) altri tipi di carcinoma.

La maggior parte dei soggetti (n = 635, 82.23%) avevano un buono stato di performance (performance status 0-1). Tra questi, 271 (35.15%) pazienti hanno ricevuto cis + GP, 168 (21.79%) cis + EP, 197 (25.55%) cis+ DP, 56 (7.26%) carb + GP, 27 (3.5%) carb +EP, 52 (6.74%) altri regimi.

3 nuovi polimorfismi a singolo nucleotide sono stati scoperti durante questo studio: una mutazione situata nell' introne 6 11279G>A, lo SNP 1458C>T nell'esone 9 (Arg438Lys), lo SNP 29671G>A nell'introne 15.

328 pazienti sono stati valutabili per la loro risposta alla chemioterapia e considerati platino-responsivi con un tasso di *overall response* pari a 42.54%; al contrario 443 pazienti sono stati considerati non responsivi, pari al 57.46%. La frequenza allelica per questi due gruppi è risultata significativamente diversa (p = 0.01); anche dopo aggiustamento dell'analisi per età, sesso, stadio, pacchetti di sigarette fumate in un anno, tipo istologico di cancro al polmone, tale polimorfismo ha mantenuto la significatività statistica (p_{ajust} = 0.01); il test di trend di Cochran-Armitage ha continuato a mostrare la significatività con un p_{trend} = 0.01.

Per quanto riguarda l'analisi della sopravvivenza, i pazienti sono stati divisi in due gruppi, secondo il loro tipo istologico, carcinoma a piccole cellule e non a piccole cellule. Le curve di Kaplan-Meier hanno mostrato come l'*overall survival* (OS) per i pazienti portatori dell'allele A rispetto a quelli omozigoti GG in pazienti con NSCLC e SCLC era significativamente aumentata; il tempo medio di sopravvivenza (median survival time, MST) nei pazienti con allele A era più alto (18.8 mesi) se comparato con gli omozigoti GG (13.09 mesi) in paziente con NSCLC, mentre in quelli con SCLC, MST era di 17.23 mesi (per i portatori dell'allele A) e 14.07 (in pazienti omozigoti GG). Utilizzando la regressione multivariata di Cox, nel gruppo NSCLC è stato riscontrata un aumentata OS nei pazienti con allele A quando comparati con quelli con genotipo GG (p = 0.02, HR = 1.35, 95% CI 1.07-1.94); la significatività statistica non è stata invece raggiunta nel gruppo SCLC (p = 0.16, HR = 1.56, 95% CI 0.84-2.86).

In conclusione, questo studio ha messo in luce come, pazienti affetti da cancro al polmone, portatori dell'allele A per il polimorfismo rs3740556, tendono ad avere una migliore risposta al trattamento con chemioterapici basati sul platino e a vivere più a lungo. Tali risultati suggeriscono che lo SNP rs3740556 del

gene eIF3a potrebbe essere considerato come un importante locus per predire la sensibilità a chemioterapia platino-basata e *outcome* clinico.

Parole chiave: cancro al polmone, chemioterapia basata sul platino, eIF3a.

Riferimento bibliografico

[Xu X](#) et al. *Lung Cancer* 2013, 79(1):65-72.

L'IMPATTO DEL POLIMORFISMO CYP2C8*3 SULL'INTERAZIONE FARMACO-FARMACO TRA GEMFIBROZIL E PIOGLITAZONE

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

La gestione delle malattie cardiometaboliche può essere complicata da interazioni tra farmaci. La maggior parte delle interazioni farmacocinetiche attualmente conosciute, su base genetica, sono influenzate dalla variabilità interindividuale nell'attività di enzimi responsabili del metabolismo dei farmaci, in particolare quelli che coinvolgono gli enzimi del citocromo P450 (CYP450). Studi precedenti hanno dimostrato che polimorfismi nei geni del CYP possono influenzare l'ampiezza delle interazioni CYP-mediate, di tipo inibitorio, tra farmaci (Lee LS et al. *Clin Pharmacol Ther* 2005, 78:1–6). Una riduzione nella velocità dei processi metabolici geneticamente determinata può provocare accumulo del farmaco nell'organismo, con un aumentato rischio di effetti collaterali, mentre un incremento di tale velocità può condurre ad un fallimento terapeutico, per mancato raggiungimento di livelli plasmatici efficaci. Un esempio di interazione tra farmaci presente nella farmacoterapia cardiometabolica è l'inibizione del CYP2C8 gemfibrozil-mediata e conseguente inibizione del metabolismo del pioglitazone. In particolare, il pioglitazone è un farmaco indicato per il trattamento del diabete di tipo2, metabolizzato a livello epatico dal CYP2C8 e in misura minore dal CYP3A4, CYP1A2, CYP2C9 e CYP2D6. Il gemfibrozil, appartenente alla classe dei fibrati, utilizzato nel trattamento dell'ipertrigliceridemia, inibisce potentemente il CYP2C8 (come pure CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, UGTA1 e UGTA3) in vitro e in vivo. Il CYP2C8*3 è il polimorfismo funzionale più comunemente studiato in CYP2C8 e comprende due polimorfismi non-sinonimi, Arg139Lys e Lys399Arg, rispettivamente negli esoni 3 e 8. L'allele CYP2C8*3 è maggiormente presente nella razza caucasica (10%-23%) ed è raro nelle popolazioni africane e asiatiche. In vivo, le conseguenze del polimorfismo CYP2C8*3 sembrano essere substrato-dipendente, con aumento nel metabolismo di farmaci quali pioglitazone, rosiglitazone e repaglinide e ridotto metabolismo di R-ibuprofene. Due studi clinici hanno dimostrato che il gemfibrozil aumenta la concentrazione plasmatica del pioglitazone di circa tre volte, per inibizione del CYP2C8, con conseguente rischio d'ipoglicemia (Jaakkola T et al. *Clin Pharmacol Ther* 2005, 77:404–14; Deng LJ et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2005, 61:831–6). In questa interazione esiste una grande variabilità interindividuale, con aumenti nell'esposizione plasmatica del pioglitazone che vanno da 2,3 a 6,5 volte. Attualmente in vitro ci sono dati contrastanti per quanto riguarda l'effetto del CYP2C8*3 sull'attività metabolica dei farmaci, con segnalazioni di aumento, inibizione oppure nessuna variazione nel loro metabolismo. Tornio A et al. (*Drug Metab Dispos* 2008; 36: 73–80) hanno dimostrato in uno studio clinico su volontari sani che i pazienti trattati con pioglitazone portatori dell'allele CYP2C8*3 avevano una minore concentrazione plasmatica del farmaco e un più alto tasso di formazione del metabolita principale rispetto ai pazienti portatori del genotipo CYP2C8*1/*1. Tenendo conto dell'influenza del noto polimorfismo CYP2C8*3 sulla farmacocinetica del pioglitazone e dei dati *in vivo* ancora da chiarire, l'obiettivo degli autori di questo studio è stato quello di determinare la misura in cui l'allele CYP2C8*3 influenza la variabilità interindividuale nell'interazione farmacocinetica farmaco-farmaco tra gemfibrozil (inibitore del CYP2C8) e pioglitazone (substrato del CYP2C8) in volontari sani.

In questo studio aperto, randomizzato, crossover in due fasi, 30 pazienti sani, caucasici dai 20 ai 60 anni, di entrambi i sessi, sono stati arruolati sulla base del genotipo di CYP2C8. Lo studio è stato approvato dal Colorado Multiple Institutional Review Board e tutti i partecipanti hanno fornito consenso informato. I partecipanti sono stati sottoposti a screening prospettico e stratificati secondo il genotipo di CYP2C8 come segue: Gruppo1=CYP2C8*1/*1- n=15 (genotipo di riferimento) e per il Gruppo2 pazienti portatori di almeno una copia dell'allele CYP2C8*3 -n=15 (ossia n=14 per *1/*3 e n=1 *3/*3). In una fase tutti i pazienti

hanno ricevuto al mattino una singola dose da 15 mg di pioglitazone per via orale. Nell'altra fase, i pazienti hanno ricevuto 600 mg di gemfibrozil per via orale, ogni 12 ore per 4 giorni e una singola dose di pioglitazone da 15 mg somministrato per via orale al mattino del terzo giorno. Le due fasi sono state separate da un periodo di wash out di 14 giorni. In entrambe le fasi, i pazienti hanno ricevuto una prima colazione standardizzata (600 calorie: 55% carboidrati, 15% proteine e il 30% di grassi) due ore dopo l'assunzione del pioglitazone. I pazienti hanno ricevuto pasti anche a 6, 10 e 24 h dopo la dose di pioglitazone. Ai pazienti è stato chiesto di astenersi dalla caffeina e dal fumo durante il periodo in studio. I campioni di sangue (5 ml in etilene-EDTA) sono stati raccolti prima del trattamento e 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 18, 24 e 48 ore dalla somministrazione del pioglitazone in entrambe le fasi e conservati a -80°C fino all'elaborazione analitica.

I criteri di esclusione dello studio sono stati: indice di massa corporea $<18\text{ kgm}^{-2}$ e $\geq 35\text{ kgm}^{-2}$, rischio presente o passato cardiovascolare, epatico renale, endocrino, gastrointestinale, ematologico, immunologico o di malattie neurologiche, storia di rabdomiolisi, tumore maligno attivo, HIV-positività, abuso di droga, alcool, gravidanza o allattamento. I criteri di esclusione per i dati di laboratorio includevano: glicemia a digiuno $\geq 126\text{ mg dl}^{-1}$, potassio sierico $>5\text{ mEq l}^{-1}$ o $<3,3\text{ mEq l}^{-1}$, creatinina sierica $>1,2\text{ mg dl}^{-1}$, test funzionalità epatica \geq due volte il limite superiore alla norma, ematocrito $<36\%$ negli uomini e $<34\%$ nelle donne, piastrine $<150 \times 10^9\text{ l}^{-1}$, globuli bianchi $<4,0 \times 10^9\text{ l}^{-1}$ o $>11,1 \times 10^9\text{ l}^{-1}$ e qualsiasi valore anomalo di laboratorio classificato come di grado 2 e superiore ai criteri di classificazione pubblicati su <http://www.niaid.nih.gov/labsandresources/resources/daiidsclinrsrch/documents/daiidsaegradingtable.pdf>.

I partecipanti sono stati inoltre esclusi per l'uso concomitante dei seguenti farmaci: antidiabetici, statine, fibrati, glucocorticoidi sistemici e/o qualsiasi altro agente noto a inibire o indurre gli enzimi CYP2C8 e/o CYP3A4 (es. trimetoprim, fluvoxamina, rifampicina, succo di frutta al pompelmo).

Il gemfibrozil ha aumentato in modo significativo la concentrazione media di pioglitazone con un aumento dell'area sotto la curva, $AUC_{(0,\infty)}$, di 4,3 volte ($P < 0,001$) e con grande variabilità interindividuale (range da 1,8 a 12,1 volte). Gemfibrozil ha inoltre ridotto significativamente la clearance orale apparente adattata al peso del pioglitazone di circa 70% ($P < 0,001$) e allungato la $t_{1/2}$ media di pioglitazone di 3 volte ($P < 0,001$). La C_{max} media di pioglitazone non ha subito modifiche sostanziali in seguito alla somministrazione del gemfibrozil. Quando il pioglitazone è stato somministrato da solo, la $AUC_{(0,\infty)}$ media è stata inferiore del 29,7% ($P=0,01$) e la clearance orale apparente, adattata al peso, è stata più alta del 64,7% ($P=0,002$) nei pazienti portatori dell'allele CYP2C8*3 rispetto ai pazienti omozigoti CYP2C8*1. La concentrazione plasmatica di pioglitazone, quindi, dopo somministrazione con gemfibrozil è stata significativamente influenzata dal genotipo CYP2C8. In particolare, i pazienti portatori dell'allele CYP2C8*3 hanno avuto un aumento medio di 5,2 volte nella $AUC_{(0,\infty)}$ del pioglitazone rispetto l'aumento di 3,3 volte nei pazienti CYP2C8*1 omozigoti ($P=0,02$). Il paziente con il più grande aumento in $AUC_{(0,\infty)}$ di pioglitazone (12,1 volte) era portatore dell'allele CYP2C8*1/*3. Dei 10 pazienti con il più grande aumento di $AUC_{(0,\infty)}$ di pioglitazone, otto presentavano il genotipo CYP2C8*3. I parametri farmacocinetici di Gemfibrozil e gemfibrozil-1-Ob-glucuronide non hanno mostrato differenze significative nei due gruppi.

Questi risultati dimostrano che in parte la variabilità interindividuale nell'interazione farmaco-farmaco tra gemfibrozil e pioglitazone può essere spiegata con la presenza dell'allele CYP2C8*3. Kaspera R et al. (*Biochem Pharmacol* 2011, 82:681–91) hanno evidenziato che l'allele CYP2C8*3 mostra una maggiore attività complessiva rispetto al CYP2C8*1 in presenza di citocromo b5, partner redox. L'ipotesi è che ciò sia dovuto ad una maggiore affinità del CYP2C8*3 per il citocromo b5 reductasi e citocromo P450. Gemfibrozil è uno dei più potenti inibitori del CYP2C8 in vivo, soprattutto per l'azione inibitoria del gemfibrozil-1-Ob-glucuronide, suo metabolita. Per questo motivo la Food and Drug Administration lo ha definito un forte inibitore del CYP2C8 in vivo, con un aumento medio di 5 volte nell'esposizione plasmatica dei suoi substrati. E' ragionevole ipotizzare, quindi, che i pazienti CYP2C8*3 trattati con gemfibrozil possono essere più suscettibili all'inibizione del CYP2C8 a causa dell'inibizione del suo metabolita. Questa ipotesi è coerente con i dati di Tornio et al. (*Clin Pharmacol Ther* 2008, 84:403–11) che hanno dimostrato che l'interazione tra gemfibrozil e repaglinide (substrato del CYP2C8), era più forte nei pazienti portatori dell'allele CYP2C8*3 rispetto ai non portatori. Una limitazione di questo studio è stata che un solo paziente era presente per il genotipo CYP2C8*3/*3 e questo paziente ha presentato un'esposizione plasmatica di 7,0 volte maggiore di pioglitazone, risultando la terza variazione relativa più alta tra tutti i partecipanti allo studio. Studi futuri dovrebbero valutare gli effetti di altri alleli polimorfici (come CYP2C8*4, CYP2C8 - 271C>A) e l'influenza dei polimorfismi in UGT2B7, enzima che media la conversione di gemfibrozil in 1-

Ob-metabolita-glucuronide, nella variabilità interindividuale farmacocinetica delle interazioni farmaco-farmaco gemfibrozil-mediate. E' possibile che gli alleli polimorfici UGT2B7 possano essere un ulteriore fonte di variabilità nella interazione pioglitazone-gemfibrozil. Tuttavia, è improbabile che i polimorfismi di UGT2B7 abbiano confuso i risultati di questo studio dato che le concentrazioni plasmatiche del gemfibrozil e del gemfibrozil-1-Ob-glucuronide non differivano in modo significativo tra i gruppi dei genotipi di CYP2C8 in studio.

L'allele *CYP2C8*3* è associato ad una diminuzione della concentrazione plasmatica di pioglitazone *in vivo* e influenza in modo significativo l'interazione farmacocinetica farmaco-farmaco gemfibrozil-pioglitazone.

Parole chiave: *CYP2C8*, gemfibrozil, pioglitazone

Riferimento bibliografico

[Aquilante CL](#) et al. *Br J Clin Pharmacol* 2013, 75(1):217-26.



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.

SIF – FARMACOGENETICA

Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia

Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010

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.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Virginia Paribello (Università di Salerno) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giusy Russomanno (Università di Salerno) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB) Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
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

DISCLAMER – 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.
