



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 52 – Giugno 2013

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

Sommario

- Variazioni genetiche *germline* in geni candidati per il metotressato sono associate con la farmacocinetica, la tossicità e l'*outcome* nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica
- Le mutazioni oncogeniche del *CSF3R* nella leucemia neutrofilica cronica e nella leucemia mieloide cronica atipica
- Valutazione dell'impatto di un polimorfismo dell'UGT sulla farmacocinetica e farmacodinamica di un nuovo agonista PPAR, l'antidiabetico sipoglitazar
- Significato clinico di ht-snps di *abcg2* in pazienti con tumore polmonare inoperabile non a piccole cellule trattati in prima linea con platino
- Varianti genetiche di *COMT* ma non di *OPRM1* e *UGT2B7* modulano la risposta analgesica alla morfina nei pazienti affetti da dolore acuto postoperatorio
- *CYP2C8*3* incrementa il rischio di neuropatia nelle pazienti con cancro della mammella in terapia con paclitaxel
- Influenza delle varianti genetiche di *ABCB1* nella risposta terapeutica del tumore al seno

VARIAZIONI GENETICHE GERMLINE IN GENI CANDIDATI PER IL METOTRESSATO SONO ASSOCIATE CON LA FARMACOCINETICA, LA TOSSICITÀ E L'OUTCOME NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA

A cura del Dott. Gabriele Stocco

L'esito delle neoplasie pediatriche è migliorato drammaticamente negli ultimi 60 anni con una frequenza di sopravvivenza a 5 anni del 75% in confronto al 20% degli anni 50. In maniera simile, la frequenza di cura della leucemia linfoblastica acuta (LLA), il cancro più comune nell'infanzia, è attualmente superiore all'80% grazie a protocolli chemioterapici ottimizzati. La maggior parte dei protocolli per la cura della LLA utilizzano il metotressato come agente chemioterapico chiave con elevata efficacia terapeutica. Tuttavia, il metotressato causa gravi effetti avversi e tossicità d'organo che ne impongono limitazioni al dosaggio. Questo studio eseguito dal gruppo per la sorveglianza degli effetti tardivi (*Late Effects Surveillance System, LESS*) ha avuto l'obiettivo di identificare polimorfismi genetici in geni candidati appartenenti alla *pathway* del metotressato associati con la sua farmacocinetica, tossicità ed esito della terapia. Il metotressato entra nella cellula attraverso il trasportatore dei folati ridotti (*SLC19A1*) oppure il trasportatore di soluti organici anionici *SLCO1B1*. Nel citoplasma il metotressato viene poligluttammato ad opera dell'enzima folilpoligluttammato sintasi, reazione che aumenta la ritenzione del farmaco all'interno delle cellule. Sia il metotressato che i suoi metaboliti poligluttammato inibiscono la diidrofolato reductasi, enzima che catalizza la conversione di diidrofolato in tetraidrofolato, che è la forma attiva di acido folico. Il tetraidrofolato

costituisce la forma attiva dell'acido folico ed è coinvolto in molte reazioni di trasferimento di singoli atomi di carbonio, comprese anche quelle di sintesi dei nucleotidi del DNA e dell'RNA. L'inibizione della diidrossimetiltransferasi causa deplezione del tetraidrofolato intracellulare, con effetti citotossici, soprattutto su cellule in rapida divisione. I metaboliti poligluttammati del metotressato inibiscono inoltre anche l'enzima timidilato sintasi (TYMS) e possono interferire anche con metilene-tetraidrofolato-reduttasi (MTHFR) ed entrambi questi effetti contribuiscono alla citotossicità del farmaco. Il metotressato viene eliminato dalle cellule attraverso trasportatori attivi di efflusso, come *ATP-binding cassette* ABCC2, conosciuto anche come *multidrug resistance-associated protein 2*. Diversi polimorfismi di singolo nucleotide (SNP) in questi geni candidati coinvolti nella *pathway* dei folati sono stati implicati nella cinetica e negli effetti del metotressato in studi precedenti. Nonostante tali studi precedenti costituiscano un passaggio importante nel chiarire la farmacogenetica del metotressato, la scarsa potenza statistica dovuta alle dimensioni ridotte delle coorti di studio, l'eterogeneità delle popolazioni e dei protocolli di trattamento e il fallimento di tentativi di replicazione limita la significatività clinica di questi risultati.

Lo scopo del presente studio è stato quindi di confermare il ruolo di determinanti farmacocinetici rilevanti per il metotressato in una popolazione di pazienti con LLA grande e trattata in modo omogeneo nell'ambito del trial multicentrico ALL-Berlin-Frankfurt-Munster (BFM) 2000. L'obiettivo primario è consistito nella valutazione dell'effetto di varianti in geni candidati sulla farmacocinetica del metotressato. Siccome alterazioni nella farmacocinetica possono influenzare gli effetti avversi del farmaco e l'efficacia del trattamento, la tossicità totale, l'incidenza di stomatite (un effetto avverso frequente specifico del metotressato ad alte dosi) e la sopravvivenza priva di eventi (tempo intercorso fra diagnosi e la ricaduta, la comparsa di neoplasia secondaria o la morte per ogni causa) sono stati inclusi come obiettivi secondari in un'analisi esplorativa. Sulla base della forza dell'evidenza degli studi di associazione pubblicati precedentemente, le seguenti varianti genetiche sono state selezionate nella presente analisi: rs1419056, rs2306283 ed rs11045879 in SLC01B1, rs717620 in ABCC2, rs1051266 in SLC19A1, rs1801131 in MTHFR ed rs34743033 in TYMS.

Nel protocollo ALL-BFM2000 tutti i pazienti della coorte sono stati trattati in maniera simile con il metotressato indipendentemente dalla classificazione di rischio della malattia, per cui si può escludere un'interazione fra differenze nei protocolli terapeutici e la farmacocinetica o la risposta al metotressato.

La popolazione considerata nel presente studio è stata arruolata fra il 1 agosto 1999 ed il 30 novembre 2005. In totale 2300 pazienti con LLA, tutti di età maggiore di 1 anno e minore di 18 anni, sono stati arruolati nello studio ALL-BFM 2000 in Germania (identificativo dello studio su ClinicalTrials.gov: NCT00430118). Pazienti classificati con malattia di rischio standard o intermedio secondo i criteri del protocollo clinico e che hanno ricevuto 4 infusioni di metotressato ad alte dosi (protocollo M) sono stati inclusi; il DNA è stato estratto da un campione diagnostico di aspirato midollare raccolto durante la fase di remissione-induzione della terapia al giorno 52 di trattamento. Un totale di 499 pazienti è risultato eleggibile allo studio secondo questi criteri; in particolare 354 pazienti sono stati esclusi in quanto trattati con un protocollo ad alto rischio e 1447 in quanto non è risultato disponibile un campione di DNA. L'età media è risultata pari a 6,4 anni, 204 pazienti erano femmine, 212 sono stati trattati con il protocollo per il rischio standard e 287 con quelli per il rischio intermedio. L'etnicità dei pazienti non è stata registrata ed è quindi sconosciuta; tuttavia, estrapolando sulla base dei gruppi etnici presenti in Germania, ci si può attendere che gran parte (>95%) dei partecipanti allo studio fosse di etnia caucasica. I pazienti sono stati trattati con il protocollo M che costituisce il consolidamento della remissione secondo il protocollo ALL-BFM 2000: i pazienti hanno ricevuto 4 somministrazioni di metotressato ad alte dosi, una ogni due settimane e ciascuna alla dose di 5 g/m². Il metotressato è stato somministrato mediante una infusione di carico di 500 mg/m² in mezz'ora, seguita da un'infusione endovenosa di 4500 mg/m² per altre 23 ore e mezza. Oltre alla somministrazione del farmaco, secondo il protocollo ALL-BFM 2000 i pazienti sono stati sottoposti in condizioni standard a trattamento con leucovorina, idratazione endovenosa, alcalinizzazione delle urine e monitoraggio delle concentrazioni di farmaco per prevenire gli effetti avversi del metotressato. La dose di farmaco è stata ridotta in 5 pazienti con sindrome di Down, a causa della loro ridotta tolleranza verso i farmaci antineoplastici e in 19 pazienti che hanno presentato tossicità grave da metotressato durante una delle infusioni. La tossicità durante ciascuna infusione di metotressato è stata classificata sulla base della scala a 5 livelli (0 = nessuna tossicità, 4 = tossicità più grave) sulla base dei criteri di tossicità del National Cancer Institute statunitense.

Il genotipo degli SNPs di interesse è stato valutato mediante metodica TaqMan per tutti tranne che per il polimorfismo di TYMS, che è stato caratterizzato mediante un saggio PCR.

L'area sotto la curva delle concentrazioni di metotressato (AUC_{0-48h}), il picco della concentrazione di farmaco alla fine dell'infusione (C_{24h}) e la clearance del metotressato sono stati stimati sulla base di almeno 4 misurazioni della concentrazione plasmatica per infusione per paziente, fino a 48 ore dopo l'inizio della stessa. I dati farmacocinetici individuali sono stati analizzati utilizzando il software WinNonlin/NLME (versione 6.2.1). Un modello bicompartimentale con eliminazione di primo ordine è stato costruito sulla base dei dati di concentrazione plasmatica. Le stime iniziali dei parametri farmacocinetici sono state ottenute da studi precedenti e corrispondevano a volume di distribuzione = 10 litri, $K_e = 0,5 \text{ h}^{-1}$, $K_{12} = 0,07 \text{ h}^{-1}$, $K_{21} = 0,12 \text{ h}^{-1}$. Gli autori hanno anche impiegato un metodo per stimare l'ereditabilità dei parametri farmacocinetici, sfruttando il fatto che una stessa dose di farmaco è stata somministrata ad un gruppo di pazienti in più di un'occasione. Questo metodo infatti calcola l'ereditabilità come percentuale della differenza fra varianza interindividuale (influenzata da fattori ambientali, genetici e dall'errore sperimentale) e varianza intraindividuale (influenzata da fattori ambientali e genetici ma non dall'errore sperimentale), in rapporto con la varianza interindividuale.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che la variabilità interindividuale nella farmacocinetica del MTX presenta una sostanziale componente genetica (fra il 68 ed il 75%). La variante di SLCO1B1 rs4149056 è risultata significativamente associata con la farmacocinetica del metotressato: infatti, in un modello multiplo di regressione logistica, l' AUC_{0-48h} del metotressato è risultata aumentata del 26% ($p = 6,8 \times 10^{-8}$). L' AUC_{0-48h} del metotressato è risultato associato in maniera significativa agli effetti avversi totali durante le somministrazioni con il farmaco ($R^2 = 0,043$, $p = 2,9 \times 10^{-5}$); il polimorfismo TYMS rs34743033 è risultato predittivo di stomatite ($R^2 = 0,018$, $p = 0,009$), un effetto avverso frequente del metotressato ad alte dosi. L'analisi di regressione multipla secondo i modelli di Cox ha rivelato un'associazione fra la malattia residua minima (hazard ratio 7,3; $p = 3,2 \times 10^{-4}$) ed il genotipo MTHFR rs18001131 (hazard ratio 3,1; $p = 0,015$) con la sopravvivenza priva di eventi.

Questi risultati potrebbero essere utili a guidare ed ottimizzare la terapia con metotressato a livello individuale sulla base di biomarcatori genetici. Tuttavia, soprattutto per quanto riguarda l'*outcome* clinico di efficacia (remissione, ricadute, incidenza di leucemia secondaria) è noto che esso è influenzato fortemente dal protocollo applicato nello studio, per cui soprattutto l'associazione fra MTHFR rs1801131 e l'*outcome* della terapia potrebbe essere specifico per il protocollo ALL-BFM 2000 e non essere valida in altri protocolli per il trattamento della LLA pediatrica; le associazioni fra farmacocinetica e tossicità durante la somministrazione di metotressato ad alte dosi dovrebbero essere invece più riproducibili, in quanto questa fase del protocollo della terapia LLA è molto simile anche in protocolli clinici diversi.

Questo studio indica che variazioni genetiche influenzano in maniera sostanziale la farmacocinetica e la risposta del metotressato ad alte dosi utilizzato per la terapia della LLA.

Parole chiave: leucemia linfoblastica acuta, metotressato ad alte dosi, farmacocinetica, farmacogenetica

Riferimento bibliografico

[Radtke S et al. Blood 2013 May 7 \[Epub ahead of print\].](#)

LE MUTAZIONI ONCOGENICHE DEL *CSF3R* NELLA LEUCEMIA NEUTROFILICA CRONICA E NELLA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA ATIPICA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La terapia con inibitori delle protein chinasi ha migliorato l'*outcome* di pazienti con alcune forme neoplastiche dipendenti da vie mediate dalle chinasi per la presenza di anomalie genetiche definite. Nonostante il miglioramento nella comprensione delle basi molecolari di alcune neoplasie ematologiche, molte di queste sono ancora diagnosticate sulla base del tipo cellulare e di criteri di esclusione aggiuntivi. La leucemia neutrofilica cronica (LNC) e la leucemia mieloide cronica atipica (LMC) rappresentano rare neoplasie ematologiche caratterizzate da leucocitosi ed ipercellularità midollare con predominanza di granulociti, assenza di cromosoma Philadelphia e di riarrangiamenti nei geni codificanti i recettori e del fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGFRA/B) e del recettore 1 del fattore di crescita dei fibroblasti (FGFR1). La LNC viene diagnosticata sulla base dell'espansione dei neutrofili nel midollo e nel sangue

periferico (>80% dei leucociti), mentre La LMC atipica è caratterizzata da displasia granulocitica ed aumento del numero dei precursori neutrofilici nel midollo e nel sangue periferico (>10% dei leucociti). Alcuni pazienti con LNC e molti con LMC atipica presentano anomalie genetiche non-specifiche o (raramente) la mutazione *V617F* della proteina JAK2. Le basi genetiche di entrambe le patologie rimangono sconosciute.

Il CSF3R è il recettore per il fattore stimolante le colonie 3 e si pensa possa giocare un ruolo importante nella crescita e differenziazione dei granulociti. La mutazione del gene *CSF3R* è stata descritta in pazienti con neutropenia congenita severa, patologia che può evolvere in leucemia mieloide acuta (LMA). Le mutazioni *non-sense* o *frameshift* trovate portano alla sintesi di un recettore con la coda citoplasmatica troncata, ad alterazioni dell'internalizzazione e dell'interazione con alcune proteine come SHP-1/2 ed i membri della famiglia SOCS. Queste alterazioni strutturali e funzionali si pensa possano disturbare la capacità del CSF3R di regolare la differenziazione granulocitaria ed aumentare la capacità proliferativa. La via di segnalazione del CSF3R comprende JAK-STAT, la chinasi SYK e la chinasi LYN della famiglia SRC. Con l'eccezione di casi isolati, le mutazioni del gene *CSF3R* non sono state riportate in pazienti con leucemia de novo.

È stato ipotizzato che i pazienti con LNC e LMC atipica possiedano oncogeni che potrebbero rendere queste patologie sensibili all'azione di inibitori delle protein chinasi.

Alla luce di questa ipotesi, sono state valutate, con un approccio genomico-funzionale, cellule primarie provenienti da 27 pazienti con LNC o LMC atipica e campioni provenienti da pazienti con altre neoplasie ematologiche. I campioni sono stati ottenuti dopo l'acquisizione di un consenso informato orale e scritto. Lo studio è stato approvato presso le seguenti università: *University of Texas Southwestern Medical Center*, *University of Colorado*, *Stanford University*, *Washington University in St. Louis*, *Oregon Health and Science University* (OHSU). È stato eseguito un sequenziamento con copertura delle regioni codificanti di 1.862 geni, comprendenti tutte le chinasi, le fosfatasi, i recettori non chinasi per i fattori di crescita e le citochine e geni adattatori selezionati. Ove possibile, è stato effettuato uno *screening* di pannelli di *small interfering RNA* (siRNA) specifici per tirosin-chinasi.

Sono state trovate mutazioni del *CSF3R* in 16 dei 27 pazienti (59%) con LNC o LMC atipica. Le varianti identificate includevano mutazioni vicine alla membrana (T615A e T618I) ed un certo numero di mutazioni *frameshift* o *non-sense* troncanti la coda citoplasmatica del recettore (D771fs, S783fs, Y752X e W791X). Mutazioni simili sono state descritte in pazienti con neutropenia congenita progredita in LMA dopo trattamento a lungo termine con G-CSF. 5 pazienti avevano entrambi i tipi di mutazioni. La mutazione del *CSF3R* è stata identificata in 1 paziente su 92 con LMA, e nel *Cancer Genome Atlas AML data set 2* su 200 pazienti con LMA avevano una mutazione del gene, indicando una bassa incidenza di tali mutazioni nella LMA (1%). È stata identificata una mutazione prossimale alla membrana del *CSF3R* (T618I) in 1 di 3 pazienti con leucemia linfoblastica acuta a cellule T con precursori precoci (EPT-T-LLA). Non sono state trovate mutazioni aggiuntive del *CSF3R* in 8 pazienti con T-LLA nè in 41 pazienti con B-LLA. Nel loro insieme, questi dati suggeriscono che le mutazioni del *CSF3R* rappresentano anomalie molecolari definite della LNC e della LMC atipica, e test per queste mutazioni potrebbero aiutare nella diagnosi di queste patologie.

È stata, inoltre, valutata la sensibilità in vitro dei campioni con mutazione del *CSF3R* a inibitori delle proteine chinasi o a siRNA diretti contro le chinasi disregolate a valle del CSF3R mutato. Le analisi sulle cellule di un paziente con la mutazione S783fs hanno rivelato una elevata sensibilità all'inibitore multi-chinasi dasatinib ma nessuna sensibilità agli inibitori delle chinasi della famiglia JAK. Lo studio dei pannelli di siRNA ha rivelato una sensibilità al silenziamento del recettore non tirosin-chinasi 2 (TNK2) e di una chinasi della famiglia SRC (FGR), entrambe potentemente inibiti dal dasatinib. È stata valutato anche il profilo di sensibilità farmacologica in campioni di 2 pazienti con la mutazione T618I. In contrasto al pattern di sensibilità dei pazienti con mutazione troncante il recettore, entrambi i campioni hanno mostrato sensibilità agli inibitori delle chinasi della famiglia JAK (incluso il ruxolitinib) ma resistenza al dasatinib. Inoltre, il paziente con LNC e mutazione T618I è stato trattato con ruxolitinib per os, con eccellente risposta clinica. Infine, sono stati condotti studi in vitro su linee cellulari Ba/F3 interleuchina 3-dipendenti per valutare la capacità trasformante delle mutazioni del *CSF3R* e la sensibilità agli inibitori delle chinasi della famiglia SRC-TNK2 e JAK. I dati ottenuti indicano un differente potenziale trasformante delle due classi di mutazioni del *CSF3R* e differenti conseguenze nel segnale a valle, e confermano la sensibilità agli inibitori

delle chinasi della famiglia SRC-TNK2 delle cellule con mutazioni troncanti ed agli inibitori della chinasi JAK delle cellule con mutazioni prossimali alla membrana.

Con l'integrazione delle analisi genomiche e funzionali dei campioni di leucemia primaria, sono state identificate le mutazioni del *CSF3R* come stimolo alla proliferazione leucemica e sono stati anche identificati inibitori delle tirosin chinasi che inibiscono in maniera efficace le vie di segnalazione a valle del recettore *CSF3R* mutato. Sono state trovate mutazioni del *CSF3R* nel 59% dei pazienti con LNC o LMC atipica-neoplasie mieloidi, per le quali fino ad oggi non sono stati individuati *marker* genetici specifici. L'alta frequenza di mutazioni attivanti il *CSF3R* in queste leucemie è in accordo con la funzione del recettore nel promuovere la proliferazione ed il differenziamento dei neutrofili. Le mutazioni del *CSF3R* rappresentano una caratteristica unificante le due leucemie e definiscono un nuovo sottogruppo molecolare di neoplasie ematologiche. L'aggiunta della valutazione di queste mutazioni all'interno dei criteri diagnostici attuali per LNC e LMC atipica potrebbe aiutare ad affinare la classificazione molecolare delle patologie mieloproliferative. Sebbene attualmente l'OMS individua la LNC e la LMC atipica come patologie separate, la distinzione tra le due può essere a volte difficile per i clinici ed i patologi. La loro caratterizzazione tiene conto in parte di limiti arbitrari, come per la conta totale di globuli bianchi ($25.000/\text{mm}^3$ per la LNC e $13.000/\text{mm}^3$ per la LMC atipica), la percentuale di granulociti immaturi ($<10\%$ per la LNC e 10% per la LMC atipica) e la presenza o assenza di disgranulopoiesi (assente nella LNC e caratteristica della LMC atipica). Il fenotipo delle neoplasie *CSF3R*-positive potrebbe essere modificato da anomalie aggiuntive sconosciute o fattori genetici dell'ospite, come mutazioni del gene codificante la *SET-binding protein 1* (*SETBP1*). I dati di genomica funzionale ottenuti dai campioni dei tre pazienti suggeriscono che esistono due diverse classi di mutazioni del *CSF3R*: mutazioni con troncamento del recettore, che risultano in disregolazione delle chinasi della famiglia SRC-TNK2, e mutazioni vicine alla membrana che risultano in una disregolazione delle chinasi della famiglia JAK. I dati suggeriscono, inoltre, che le mutazioni con troncamento conferiscono sensibilità al dasatinib ma non agli inibitori della chinasi JAK, mentre è vero il contrario per le cellule con mutazioni vicine alla membrana. Anche se rappresenta solo un caso isolato, l'ottima risposta di un paziente con LNC e mutazione prossimale alla membrana al trattamento con riluxotinib rappresenta uno stimolo per ulteriori studi con inibitori delle tirosin chinasi in questa patologia.

In conclusione, in questo studio, la presenza delle mutazioni *CSF3R* ha individuato un sottogruppo diagnostico costituito da più del 50% dei pazienti con LNC o LMC atipica. Le mutazioni oncogeniche del *CSF3R* rappresentano *marker* molecolari di sensibilità agli inibitori delle chinasi della famiglia SRC-TNK2 e JAK e potrebbero aprire una nuova strada per la terapia di queste neoplasie.

Parole chiave: LNC, LMC atipica, inibitori delle proteine chinasi, *CSF3R*

Riferimento bibliografico

[Maxon JE](#) et al. *N Engl J Med* 2013, 368:1781-90.

VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DI UN POLIMORFISMO DELL'UGT SULLA FARMACOCINETICA E FARMACODINAMICA DI UN NUOVO AGONISTA PPAR, L'ANTIDIABETICO SIPOGLITAZAR

A cura delle Dott.sse Valeria Conti e Giusy Russomanno

Nonostante il farmaco oggetto di questa revisione, a oggi, non sia stato approvato dalle agenzie di controllo, americana (FDA) ed europea (EMA), presentiamo qui una sintesi di 3 articoli che mettono in evidenza un'importante correlazione tra i polimorfismi a carico del gene Uridina-glucuronosil-transferasi (UGT) e la variabilità interindividuale riscontrata nel metabolismo di questo nuovo farmaco antidiabetico, il sipoglitazar. I tre articoli di seguito riassunti sono:

- 1) *EFFETTI DEI POLIMORFISMI GENETICI A CARICO DI UGT2B15 SUL PROFILO FARMACOCINETICO DI SIPOGLITAZAR, UN NUOVO AGENTE ANTIDIABETICO* (Stringer F et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2013, 69(3):423-30).

- 2) VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DI UN POLIMORFISMO DELL'UGT SULLA FARMACOCINETICA E FARMACODINAMICA DI UN NUOVO AGONISTA PPAR, L'ANTIDIABETICO SIPOGLITAZAR (Stringer F et al. *J ClinPharmacol* 2013, 53(3):256-63).
- 3) L'ISOFORMA ENZIMATICA UDP-GLICURONOSILTRANSFERASI (UGT2B15) È LA MAGGIOR RESPONSABILE DELLA GLUCURONAZIONE DEL SIPOGLITAZAR NELL'UOMO: STUDIO IN VITRO, RETROSPETTIVO PER L'IDENTIFICAZIONE DELL'ISOFORMA UGT E DELL'EFFETTO DELLA VARIANTE UGT2B15*2 (Nishihara M et al. *Mutation Drug Metab Pharmacokinet* 2013 May7 [Epubahead of print]).

Il primo e il secondo lavoro descrivono un'indagine clinica sull'influenza dei polimorfismi a carico dell'UGT sulla farmacocinetica e farmacodinamica del sipoglitazar. Il terzo articolo è un'analisi *in vitro* per l'identificazione dell'isoforma UGT e per studiare l'effetto della variante UGT2B15*2.

Il sipoglitazar è un nuovo farmaco antidiabetico orale, con attività selettiva per i *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors* (PPAR) PPAR α , PPAR β e PPAR γ . Tale molecola migliora la sensibilità periferica all'insulina, normalizza il quadro lipidico e riduce il peso corporeo in pazienti con sindrome metabolica e diabete di tipo 2. Tuttavia esiste una notevole variabilità inter-individuale nelle concentrazioni plasmatiche di questo farmaco. Il sipoglitazar, infatti, come diversi altri farmaci, subisce reazioni di biotrasformazione di fase II per coniugazione catalizzata dall'uridina 5'-difosfato glucuronosiltransferasi (UGT), mediante le quali il composto principale e i suoi metaboliti vengono coniugati e successivamente escreti dall'organismo come composti idrosolubili. In generale, le reazioni di coniugazione sono mediate prevalentemente dalle UGT, dalle acetiltransferasi, dalle glutatione-S-transferasi e dalle solfo transferasi. Tra queste famiglie di enzimi, le UGT sono quelle che sembrano influire maggiormente sull'eliminazione dei farmaci (Guillemette C. et al. *Pharmacogenomics J* 2003, 3(3):136-58). Sono stati identificati diversi polimorfismi a carico dell'UGT, in particolare nelle isoforme UGT1A1, UGT1A7, UGT1A9, UGT2B7 e UGT2B15, ma la loro rilevanza clinica è stata dimostrata solo per alcuni farmaci, soprattutto per quelli che subiscono reazioni di biotrasformazione da parte dell'isoforma UGT1A1. In particolare, per l'irinotecano, farmaco antitumorale, la *Food and Drug Administration* raccomanda la riduzione della dose iniziale negli omozigoti UGT1A1*28/*28, e per nilotinib è stato riportato un aumento del rischio di iperbilirubinemia nei soggetti con genotipo UGT1A1*28. Inoltre, l'UGT è coinvolta nel metabolismo del lorazepam, dell'oxazepam, dell'acido micofenolico, del rofecoxib e del paracetamolo.

I risultati degli studi preclinici sul metabolismo del sipoglitazar, condotti *in vitro* su microsomi di fegato umano e di animale (descritti di seguito nella revisione dell'articolo n°3), suggeriscono che la glucuronidazione enzimatica sia la tappa centrale della biotrasformazione del sipoglitazar. Il principale metabolita del sipoglitazar è il derivato dealcolato M-I, la cui potenza, rispetto alla molecola di partenza, è del 33% su PPAR α , del 37% su PPAR β e del 17% su PPAR γ . Il metabolita è generato *in vitro* prevalentemente per azione del citocromo P450 (CYP) 2C8 sugli intermedi coniugati con acido glucuronide. Pertanto, è stato ipotizzato che il Sipoglitazar sia inizialmente metabolizzato a coniugato con l'acido glucuronide, sipoglitazar-Glu, dalla UDP glucuroniltransferasi e che sipoglitazar-Glu venga poi metabolizzato a M-I mediante dealcolazione ad opera del CYP2C8 e successiva deconiugazione. Vista la formazione di un unico metabolita, M-I può essere considerato un indicatore del livello dell'attività metabolica dell'UGT. Per tali ragioni, nei primi studi sul sipoglitazar condotti nell'uomo, sono state incluse indagini farmacogenetiche sui polimorfismi dell'UGT.

Lo studio (identificato qui come n°1) si proponeva di valutare l'influenza del polimorfismo genetico a carico dell'UGT sulla farmacocinetica del sipoglitazar. Utilizzando i dati di tre studi clinici di fase I su soggetti sani (uomini e donne) è stata valutata la farmacocinetica del farmaco dopo singola o dopo ripetute somministrazioni orali.

In totale, sono stati genotipizzati 82 soggetti per l'UGT. La variabilità nell'area sotto la curva (AUC₀₋) predetta dall'UGT2B15 era del 66,7% ($p < 0,0001$), l'aggiunta di altri fattori genetici o demografici non era statisticamente significativa. Non è stata trovata alcuna correlazione tra le altre varianti a carico dell'UGT e l'AUC₀₋. Soggetti omozigoti per UGT2B15 D85Y (UGT2B15*2/*2) erano esposti a concentrazioni plasmatiche di sipoglitazar maggiori rispetto agli omozigoti, *wild-type*, UGT2B15*1/*1 (concentrazione, 3,26 volte superiore) o agli eterozigoti UGT2B15*1/*2 (concentrazione, 2,16- volte superiore).

L'emivita del sipoglitazar e quella del suo metabolita M-I erano comparabili tra i tre genotipi, tuttavia, la concentrazione di farmaco a 24 ore dalla somministrazione (C₂₄) era superiore nei soggetti UGT2B15*2/*2

di circa 52 volte rispetto ai soggetti UGT2B15*1/*2 e di circa 21 volte rispetto ai soggetti UGT2B15*1/*1. La C24 di M-I nei soggetti UGT2B15*2/*2 era circa pari al doppio di quella nei soggetti UGT2B15*1/*2 o UGT2B15*1/*1.

I risultati di questo studio dimostrano che esiste una forte correlazione tra la farmacocinetica del sipoglitazar e i polimorfismi di UGT2B15, che sono in grado di giustificare da soli circa i due terzi della variabilità inter-individuale nella concentrazione plasmatica del farmaco. La variante UGT2B15 D85Y potrebbe avere un impatto importante sulla capacità di metabolizzare i farmaci e altre sostanze chimiche a causa della sua elevata frequenza nella popolazione (circa il 50% di tutti gli alleli), per la quale circa il 22% della popolazione caucasica risulta omozigote (UGT2B15*2/*2). In questi individui la *clearance* del sipoglitazar è sostanzialmente modificata dalle varianti enzimatiche a carico di UGT2B15 e il polimorfismo UGT2B15*2/*2 è legato a una maggiore concentrazione plasmatica del sipoglitazar.

Conflitto d'interesse: alcuni autori dichiarano di collaborare con ditte farmaceutiche.

Parole chiave: Farmacocinetica, polimorfismo, farmacogenetica, genotipo, Sipoglitazar.

Riferimento bibliografico

[Stringer F](#) et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2013, 69(3):423-30.

Lo studio (identificato qui come n° 2 e che dà il titolo alla presente revisione) ha utilizzato i dati provenienti da uno studio di fase I su 524 soggetti sani e da uno studio di fase II su 627 pazienti con diabete di tipo 2.

Lo *screening* genetico è stato eseguito utilizzando la Real time-PCR e ha prodotto le seguenti frequenze alleliche: 22% (*1/*1); 51% (*1/*2) e 27% (*2/*2). L'analisi di fase II è stata eseguita nei pazienti diabetici dopo 12 settimane di trattamento con sipoglitazar. Come *outcome* primario è stato preso in considerazione il calo percentuale di emoglobina glicosilata (HbA1c) osservato nel tempo (dal tempo zero all'ultimo giorno di somministrazione) e i risultati sono stati messi in relazione con il genotipo dei pazienti.

È stato sviluppato un modello farmacocinetico per descrivere le proprietà del sipoglitazar, che ha evidenziato una cinetica lineare del farmaco. Il valore medio iniziale di *clearance* nella popolazione totale è stato fissato a 2,8 l/h. Per studiare l'influenza del polimorfismo UGT2B15, i valori medi di *clearance* sono stati messi direttamente in relazione con il genotipo del paziente e nei gruppi UGT2B15 *1/*1 e *1/*2 erano più bassi, rispettivamente, del 66% e del 53% rispetto a quelli misurati nel gruppo *2/*2.

La riduzione della concentrazione di HbA1c incrementava con la dose giornaliera di farmaco ed era più consistente nei soggetti omozigoti *2/*2 che negli eterozigoti *1/*2 e negli omozigoti, *wild type*, *1/*1.

Il polimorfismo UGT2B15*2/*2 è strettamente correlato da un punto di vista farmacocinetico alla *clearance* del sipoglitazar e, da un punto di vista farmacodinamico, ai cambi della quota di emoglobina glicosilata. In particolare il dato di efficacia, stimato misurando il calo della concentrazione della HbA1c, ha rivelato che gli individui UGT2B15*2/*2 rispondono più efficacemente al farmaco. Tuttavia, in una piccola frazione di soggetti i valori di *clearance* non possono essere spiegati attraverso l'analisi farmacogenetica.

In conclusione, l'isoforma enzimatica UGT2B15 (com'era stato ipotizzato in studi precedenti) gioca un ruolo chiave nel metabolismo del sipoglitazar condizionandone fortemente l'efficacia clinica.

Conflitto di interessi: alcuni Autori sono membri di ditte farmaceutiche.

Parole chiave: Glucuronosiltransferasi, genetica, metabolismo, farmacocinetica.

Riferimento bibliografico

[Stringer F](#) et al. *J Clin Pharmacol* 2013, 53(3):256-63.

Nello studio (identificato qui come n° 3), Nishihara et al. hanno condotto un'analisi in vitro per identificare le isoforme di UDP-glicuronosiltransferasi (UGT) e gli effetti della variante UGT2B15*2 sul metabolismo del sipoglitazar.

Utilizzando supersomi sovra-esprimenti UGT, le isoforme enzimatiche UGT1A1, 1A3, 1A6, 2B4 e 2B15 sono state riconosciute come quelle maggiormente responsabili del metabolismo di glucuronazione. Le

analisi sulla cinetica delle varie isoforme e sull'espressione degli mRNA relativi, nonché lo studio di correlazione tra il tasso di glucuronazione del sipoglitazar e quello dell'S-oxazepam, un substrato specifico dell'UGT2B15, hanno indicato tale isoforma come la più rappresentativa del metabolismo, mediato dalla reazione di glucuronazione del sipoglitazar. Inoltre, un'analisi effettuata su microsomi di fegato umani contenenti isoforme ricombinanti UGT1A1, 1A3, 1A6 e UGT2B15 ha permesso di identificare quest'ultima come la principale responsabile della reazione metabolica di glucuronazione. Un dato interessante è che l'UGT2B15 è coinvolta nel processo di glucuronazione nell'uomo e nella scimmia, ma non nel ratto e questo rafforza l'idea che UGT2B15 sia l'isoforma maggiormente coinvolta.

Dati precedenti questo studio, avevano messo in luce una variabilità inter-individuale nei profili di concentrazione plasmatica del sipoglitazar e avevano messo in luce che i due terzi della variabilità potessero essere spiegati dalla presenza di polimorfismi a carico dell'isoforma enzimatica UGT2B15.

Gli esperimenti eseguiti da Nishihara et al. su frazioni di membrana microsomiale ricombinante, esperimenti le due varianti UGT2B15*1 e UGT2B15*2 e l'analisi comparativa delle proprietà di glucuronazione dell'S-oxazepam e del sipoglitazar hanno rivelato che le proteine ricombinanti esibivano proprietà differenti dall'UGT wild type e che, in particolare, la variante UGT2B15*2 aumentava significativamente il valore di K_m del sipoglitazar.

In conclusione, lo studio (*in vitro*) di Nishihara dimostra che l'isoforma enzimatica UGT2B15 è la maggior responsabile della glucuronazione del sipoglitazar e che la variante UGT2B15*2 possa essere correlata alla variabilità interindividuale nel metabolismo di tale farmaco. Tali risultati supportano quelli di altri studi (clinici) che avevano indicato il polimorfismo genetico come fattore influenzante la variabilità fenotipica dal punto di vista della farmacocinetica del sipoglitazar, mostrando un'importante variabilità nelle concentrazioni plasmatiche del nuovo antidiabetico correlabile per i 2/3 alla presenza di varianti polimorfiche a carico dell'isoforma UGT2B15.

Comunque, è doveroso precisare che, trattandosi di studi *in vitro* su supersomi e microsomi ricombinanti, i risultati di questo studio non possono essere considerati conclusivi.

Parole chiave: glucuronazione, sipoglitazar, PPARs, UGT2B15, polimorfismo

Riferimento bibliografico

[Nishihara M](#) et al. *Drug Metab Pharmacokinet* 2013 May 7 [Epub ahead of print].

Gli studi (*in vitro* e *in vivo*) presentati in questa revisione mettono in evidenza che l'isoforma enzimatica UGT2B15 è la principale responsabile del metabolismo del sipoglitazar. Il polimorfismo UGT2B15*2*2 è strettamente correlato sia alla farmacocinetica, sia alla farmacodinamica di questo nuovo farmaco antidiabetico e ne condiziona l'efficacia clinica.

SIGNIFICATO CLINICO DI HT-SNPS DI ABCG2 IN PAZIENTI CON TUMORE POLMONARE INOPERABILE NON A PICCOLE CELLULE TRATTATI IN PRIMA LINEA CON PLATINO

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

La terapia di prima linea per il tumore polmonare inoperabile non a piccole cellule (*non-small cell lung cancer*, NSCLC) è rappresentata dalla chemioterapia combinata a base di platino in associazione ad altri agenti citotossici come paclitaxel, docetaxel e gemcitabina. Il problema della resistenza ai farmaci e la mancanza di una terapia efficace hanno come risultato una prognosi infausta per pazienti affetti da NSCLC inoperabile, nonostante l'iniziale risposta promettente alla terapia a base di platino. Il complesso fenomeno della *multidrug resistance* è spesso mediato, in cellule tumorali umane, da proteine di trasportatori della superfamiglia *ATP-binding cassette* (ABC). Il trasportatore ABCG2, anche conosciuto come *breast cancer resistance protein*, è un membro della famiglia ABC e forma un omodimero funzionale che agisce come pompa di efflusso per molti farmaci antitumorali. Il ruolo funzionale dei polimorfismi in geni dei trasportatori della famiglia ABC è stato ampiamente studiato, in quanto tali polimorfismi sembrano

influenzare la sensibilità e la resistenza al farmaco attraverso svariati meccanismi tra cui il livello di espressione genica, la stabilità del farmaco e la sua degradazione, la specificità del substrato e l'attività del trasportatore. L'associazione tra ABCG2 e l'efficacia del trattamento basato sul platino è argomento di dibattito, sebbene l'associazione tra SNPs di ABCG2 e farmaco-resistenza sia stata riportata per un varietà di tumori solidi, inclusi NSCLC e tumore polmonare a piccole cellule. Scopo del presente lavoro è stato quello di indagare se l'aplotipo-tagging SNPs (ht-SNPs) sia correlato all'esito clinico per pazienti con NSCLC non operabile trattati in prima linea con platino.

I pazienti arruolati nel presente studio sono stati 129 affetti da NSCLC e che assumevano platino come chemioterapia di prima linea. Sono stati arruolati da due centri ospedalieri coreani tra il gennaio 2007 ed il settembre 2009. Tutti erano di etnia coreana ed hanno firmato il consenso informato approvato dal comitato etico dei due centri coinvolti. Il regime terapeutico comprende una volta a settimana (cisplatino da 20 a 25 mg/m² o carboplatino), oppure ogni due settimane (cisplatino 40 mg/m² al giorno 1 e 15), o ogni 3 settimane (cisplatino da 60 a 75 mg/m² o carboplatino), in aggiunta gemcitabina (1000mg/m³ nei giorni 1 e 8) oppure un tassano (docetaxel da 20 a 25mg/m² nei giorni 1 e 8), oppure ogni due settimane (docetaxel 40mg/m² nei giorni 1 e 15) o ogni 3 (docetaxel da 60 a 75mg/m² al giorno 1). I pazienti allo stadio IIIA o IIIB della malattia trattati con radioterapia ricevevano settimanalmente paclitaxel (60mg/m² nei giorni 1,8 e 15 per 4 settimane) oppure ogni 3 settimane (175mg/m²). I cicli di trattamento venivano ripetuti ogni 3 o 4 settimane. Per selezionare gli SNPs da analizzare si è proceduto secondo due criteri. Il primo prevedeva la scelta sulla base di evidenze precedentemente riportate per resistenza alla terapia e rischio di cancro al polmone. Il secondo criterio prevedeva la scelta di ht-SNPs allo scopo di assicurare una buona copertura di *marker* per ricostruire l'aplotipo ed aumentare l'efficienza analitica. La scelta degli SNP è stata fatta sulla base del *database* del progetto internazionale HapMap fase II. Sono stati scelti 4 ht-SNPs nel gene ABCG2 che risultavano tutti conformi all'equilibrio di Hardy-Weinberg per la popolazione Han cinese e giapponese. Le associazioni tra polimorfismi e variabili cliniche sono state analizzate attraverso il test Pearson². L'*overall survival* (OS) è stata calcolata come il tempo dalla data della diagnosi fino alla morte per qualsiasi motivo o all'ultima visita clinica. *Hazard ratios* (HR) per la sopravvivenza insieme all'intervallo di confidenza 95% (CI) sono stati calcolati usando la regressione di Cox per aplotipo, sottogruppo istologico, performance status e stadio della malattia. Differenze nella sopravvivenza in accordo all'aplotipo e gruppo prognostico addizionale sono stati calcolati con il metodo della Kaplan-Meier e i test log-rank.

Il 74.4% dei pazienti era di sesso maschile e l'età media dell'intera popolazione in studio era 63 anni. Il 45.7% dei pazienti avevano una diagnosi istologica per tumore a cellule squamose. Il 62.8% dei pazienti era allo stadio IV della patologia al momento della diagnosi. Il 65.1% dei pazienti erano fumatori o ex-fumatori. Il 63.1% avevano ricevuto una chemioterapia a base di tassani e il 52.7% erlotinib o gefitinib per la progressione della malattia, dopo la chemioterapia di prima o seconda linea a base di platino. Il polimorfismo rs2725264 è risultato significativamente correlato a OS ($P = 0.018$, long-rank test). La durata della sopravvivenza media, espressa in mesi, per pazienti con rs2725264 omozigote T/T è stata di 35.75 [95%CI 24.25-47.25], eterozigote T/C 34.25 [HR 1.27(0.68-2.35);95%CI 27.16-41.34], mentre per omozigoti C/C 14.89 mesi [HR 3.22(1.22-8.24;95%CI 27.16-41.34)]. Inoltre rs2725264 è stato identificato come un fattore indipendente dal modello di analisi di rischio proporzionale Cox ($P = 0.028$). Nella popolazione dei pazienti con terapia di tassani, OS è stata associata a rs2725264 ($P = 0.041$), mentre nei pazienti che ricevevano gemcitabina, OS è stata associata al polimorfismo rs4148149 ($P = 0.014$).

Il presente studio dimostra che i polimorfismi di ABCG2 ht-SNP rs2725264 (nella popolazione totale e nel gruppo che riceve la terapia combinata platino-tassani) e rs4148149 (nel gruppo di pazienti che riceveva platino-gemcitabina) sono associati in modo significativo a OS in pazienti affetti da NSCLC non operabile che ricevano una terapia platino-basata come chemioterapia di prima linea. Inoltre ht-SNP rs2725264 può essere associato in modo indipendente a OS in questa categoria di pazienti.

I principali limiti dello studio sono in primo luogo l'esiguo numero di pazienti, che tra l'altro sono trattati con diversi regimi terapeutici; in secondo luogo il fatto che OS sia più lungo che negli studi precedentemente riportati su NSCLC, dato dovuto all'inclusione nello studio di 22 pazienti caratterizzati da sopravvivenza a lungo termine. In terzo luogo la chemioterapia di seconda e terza linea potrebbero essere fattori confondenti dello studio. Di conseguenza ulteriori studi sono richiesti per confermare i dati del presente lavoro.

Parole chiave: tumore polmonare non a piccole cellule, platino, ABCG2, farmaco-resistenza, sopravvivenza

Riferimento bibliografico

[Kim SH](#) et al. *Am J Clin Oncol* 2013 May 17 [Epub ahead of print]

VARIANTI GENETICHE DI COMT MA NON DI OPRM1 E UGT2B7 MODULANO LA RISPOSTA ANALGESICA ALLA MORFINA NEI PAZIENTI AFFETTI DA DOLORE ACUTO POSTOPERATORIO

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il dolore acuto post-operatorio risulta scarsamente controllato in oltre il 70% dei pazienti sottoposti a procedura chirurgica. È pertanto auspicabile lo sviluppo di un approccio terapeutico analgesico personalizzato e multimodale in grado di ridurre il rischio di inefficacia del trattamento antalgico e di comparsa di effetti avversi. Il gene COMT (catecol-O-metiltransferasi) è attualmente uno dei geni più studiati in relazione alla sensibilità al dolore. L'importanza di polimorfismi del gene COMT nella modulazione dello stimolo doloroso è stata dimostrata in modelli sperimentali di dolore e, più recentemente, nel dolore acuto post-operatorio. In particolare, i soggetti con genotipo Met/Met per la variante Val158Met del gene COMT (rs4680) ed i portatori dell'aplotipo A_T_C_A, relativo ai polimorfismi rs6269, rs4633, rs4818 e rs4680, mostrano un considerevole miglioramento della disabilità funzionale successiva a procedura chirurgica. D'altro canto è noto che il polimorfismo rs4680 ha un effetto additivo con la variante OPRM1 A118G (rs1799971), come evidenziato in pazienti oncologici con genotipo COMT Met/Met e OPRM1 118AA, che richiederebbero la più bassa dose di morfina necessaria per il sollievo dal dolore. Inoltre, varianti del gene metabolizzante la morfina, UDP-glucuronosiltransferasi-2B7 (UGT2B7), contribuirebbero alla variabilità individuale nella risposta analgesica; tuttavia, nell'ambito del dolore postoperatorio esistono pochi dati a riguardo. L'obiettivo di questo lavoro è determinare il contributo della variabilità nota nei geni COMT (rs6269, rs4633, rs4818 e rs4680), OPRM1 (rs1799971, 118A>G) e UGT2B7 (rs4455491, rs11940220, rs11940316, rs7438135, rs7668258, rs73823859, rs7668282) sul consumo individuale di morfina e sulla variazione nei rapporti plasmatici tra morfina ed i suoi metaboliti M3G e M6G, in una coorte di pazienti affetti da dolore acuto postoperatorio.

Lo studio è stato condotto su 109 pazienti reclutati nel Nord Italia (età 18-75 anni, di cui 58 di sesso maschile) affetti da dolore acuto postoperatorio successivo a chirurgia addominale/urologica. In previsione di severo dolore addominale nocicettivo, è stata loro somministrata un'infusione di morfina circa 45 minuti prima del termine della procedura chirurgica. Dopo emersione dall'anestesia, i pazienti sono stati trattati con una seconda dose di morfina cloridrato, somministrata tramite elastomero (n=11) o analgesia controllata dal paziente (n=98). *Criteri di esclusione:* allergia agli oppiacei; deficit cognitivo; severa insufficienza epatica o renale; dolore antecedente l'operazione chirurgica e dolore neuropatico pre e post operatorio; consumo abituale di oppiacei. Il consumo di oppiacei è stato rilevato nelle 24 ore successive all'intervento chirurgico e l'associazione tra la risposta al trattamento analgesico e le varianti genetiche di COMT e OPRM1 è stata valutata unicamente nei pazienti a cui la morfina è stata somministrata tramite analgesia controllata dal paziente. I livelli sierici di morfina e dei suoi metaboliti (M3G e M6G) sono stati analizzati 45 minuti dopo la somministrazione del primo bolo di morfina mediante HPLC accoppiata a spettrometria di massa (HPLC-MS/MS). Il DNA è stato estratto da sangue periferico tramite kit commerciale ed i polimorfismi selezionati per lo studio sono stati determinati mediante sequenziamento diretto.

Le 4 varianti di COMT analizzate (rs6269, rs4633, rs4818 e rs4680) risultano in stretto linkage disequilibrium e, come atteso, danno origine ai 3 principali aplotipi: aplotipo G_C_G_G, che in uno studio precedente era stato associato al fenotipo con sensibilità al dolore bassa (LPS, *low pain sensitivity*); aplotipo A_T_C_A, associato al fenotipo con sensibilità al dolore intermedia (APS, *average pain sensitivity*); aplotipo A_C_C_G associato al fenotipo con sensibilità al dolore alta (HPS, *high pain sensitivity*). Nella coorte analizzata, tutti i pazienti risultano portatori dei tre aplotipi più frequenti, con solo due eccezioni. Per ciascuno dei pazienti è stato quindi definito il relativo diplotipo (4 diplotipi più frequenti: APS/LPS,

APS/APS, LPS/LPS, LPS/HPS) ed è stata calcolata la dose totale di morfina consumata nelle 24h successive alla procedura chirurgica (range 0-70 mg; consumo medio \pm deviazione standard (SD): 19.73 \pm 15.3 mg). L'analisi statistica non ha rilevato un'associazione significativa tra i singoli diplotipi e le dosi medie somministrate di morfina. Tuttavia, i soggetti con diplotipo APS/APS risultano necessitare di un dosaggio di morfina significativamente inferiore (dosaggio medio \pm SD: 15.0 \pm 14.6 mg) rispetto a quello richiesto da tutti gli altri pazienti (consumo medio \pm SD: 22.3 \pm 15.6 mg, P=0.011). Essendo l'aplotipo APS l'unico a comprendere la variante 158Met relativa al polimorfismo rs4680, sono state comparate le dosi di morfina consumate dai pazienti con genotipo rs4680AA (Met/Met) rispetto a quelle rilevate nei pazienti con genotipo rs4680GA (Val/Met) e rs4680GG (Val/Val). L'analisi statistica ha rivelato non solo che i pazienti con genotipo rs4680AA necessitano di una dose media di morfina inferiore rispetto ai portatori della variante rs4680G (Val) (P=0.014) ma anche che la dose richiesta è significativamente differente tra i 3 genotipi (A/A: 15.0 \pm 14.6 mg; G/A: 20.1 \pm 12.5 mg; G/G:24.8 \pm 19.3 mg; P=0.047). Infine, non risulta significativa l'influenza dei polimorfismi dei geni OPRM1 (rs1799971) e UGT2B7 (rs4455491, rs11940220, rs11940316, rs7438135, rs7668258, rs73823859, rs7668282) rispettivamente sulla dose di morfina e sui rapporti plasmatici tra morfina ed i suoi metaboliti M3G e M6G.

In questo studio è stata valutata l'influenza di 12 polimorfismi nei geni COMT, OPRM1 e UGT2B7 sulla risposta al trattamento analgesico con morfina in pazienti con dolore acuto post-operatorio. I risultati hanno evidenziato che i pazienti portatori del diplotipo COMT APS/APS, precedentemente associato al fenotipo con sensibilità al dolore intermedia, richiedono una più bassa dose di morfina *per il sollievo dal dolore*. Tuttavia, essendo l'aplotipo APS l'unico a comprendere la variante Met per lo SNP COMT rs4680, gli Autori concludono che, in un contesto clinico di routine, la genotipizzazione per il singolo polimorfismo COMT rs4680 potrebbe essere sufficiente per determinare il dosaggio di morfina richiesta nei pazienti con dolore post-operatorio. Principale punto di forza dello studio è rappresentato dal fatto che la risposta analgesica è stata valutata mediante misurazione del consumo di morfina e non attraverso l'utilizzo, per esempio, di una scala visuale analogica (VAS), intrinsecamente limitata da una valutazione soggettiva del dolore. L'assenza di correzione per test multipli tuttavia rappresenta la principale limitazione. A fronte di un possibile ruolo delle varianti nel gene COMT come fattori predittivi della risposta al trattamento con morfina, sono necessari ampi studi prospettici per confermare la validità e l'utilità clinica della determinazione del polimorfismo COMT rs4680 nei pazienti con dolore acuto post-operatorio.

In conclusione, le varianti genetiche di COMT e non quelle dei geni OPRM1 e UGT2B7 sono fattori predittivi del consumo di morfina nei pazienti affetti da dolore acuto post-operatorio.

Parole chiave: morfina, dolore acuto postoperatorio, COMT, OPRM1, UGT2B7.

Riferimento bibliografico

[De Gregori M](#) et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2013 May 19 [Epub ahead of print].

CYP2C8*3 INCREMENTA IL RISCHIO DI NEUROPATIA NELLE PAZIENTI CON CANCRO DELLA MAMMELLA IN TERAPIA CON PACLITAXEL

A cura del Dott. Vittorio Simeon e della Dott.ssa Virginia Paribello

Il paclitaxel è uno degli agenti chemioterapici maggiormente efficaci nel trattamento del cancro della mammella, in grado di migliorare il tempo libero da malattia quando somministrato in terapia adiuvante in seguito all'antraciclina. Molte pazienti, purtroppo, non sono in grado di tollerare l'intero ciclo della terapia con paclitaxel a causa della comparsa di neurotossicità sensoriale. Dati provenienti da trials clinici mostrano come il tasso di neuropatia sensoriale di grado 2 o superiore (grado 2+) e grado 3 o superiore (grado 3+) sia rispettivamente del 15-20% e 5-10%. La neuropatia sensoriale si manifesta solitamente con una iniziale sensazione di bruciore agli arti e alle estremità e progredisce fino alla perdita di funzione, che può diventare irreversibile se il trattamento non viene interrotto. Di conseguenza, dopo la comparsa del primo evento di neurotossicità, la terapia con paclitaxel è spesso discontinua. La natura progressiva della neuropatia indotta da paclitaxel suggerisce che lo sviluppo della tossicità possa essere attribuita ad una esposizione cumulativa

al farmaco. Quindi, sia un incremento della dose cumulativa che un tempo di somministrazione più lungo della dose soglia sono associati ad un aumento del rischio di neuropatia. Il paclitaxel è metabolizzato maggiormente dal CYP2C8, con un minor contributo del CYP3A4, mentre l'esposizione al paclitaxel in pazienti con cancro è direttamente correlata all'attività del CYP2C8. Ogni fattore in grado di modulare l'attività del CYP2C8 è anche in grado di influenzare l'esposizione al paclitaxel.

Polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nel gene di CYP2C8, come la variante *3 (rs11572080 R139K e rs10509681 K399R), sono in grado di diminuire l'attività metabolica del paclitaxel, comportando un aumento dell'esposizione al farmaco. Sulla base dei dati forniti dal Progetto Internazionale HapMap, la variante *3 è molto comune negli individui caucasici e di origine europea rispetto agli afro-americani. Grøen e colleghi (*Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009) sono stati i primi a suggerire un incremento del rischio di neuropatia in pazienti portatori della variante CYP2C8*3.

Nel recente studio pubblicato su *Annals of Oncology* da Hertz e colleghi, sono presentati i dati di un ampio studio farmacogenetico il cui scopo era di dimostrare l'interazione della variante CYP2C8*3 con il rischio di neuropatia nelle pazienti con cancro della mammella in terapia con paclitaxel.

La variante CYP2C8*3 K399R è stata genotipizzata in una coorte di pazienti del Centro Oncologico dell'Università della North Carolina trattati tra il 2005 e il 2011. Le pazienti eleggibili avevano ricevuto terapia neoadiuvante e/o adiuvante con paclitaxel ed erano state arruolate in precedenti trial clinici durante i quali i campioni biologici erano stati conservati. Nella maggior parte dei casi le pazienti avevano ricevuto paclitaxel in regime terapeutico standard neoadiuvante o adiuvante, con una dose ed una somministrazione predefinita. Alcune pazienti invece avevano ricevuto trattamento biologico addizionale con terapia anti HER2. La comparsa di neuropatia è stata documentata nei registri clinici su giudizio dei medici impegnati nel trial, in seguito ai sintomi riportati dai pazienti. L'utilizzo di trattamenti farmacologici (gabapentina o amitriptilina) e di supplementi per la prevenzione della neuropatia (glutammina o vitamina B6) erano a discrezione del medico responsabile del trattamento.

Le prime analisi sono state condotte sulla coorte dei pazienti caucasici Europei e Americani. I pazienti Afro-Americani sono stati analizzati separatamente come coorte di replicazione. Entrambe le coorti sono state unite in seguito, formando una mixed-coorte, per validare ulteriormente i risultati. L'*endpoint* primario di tossicità è stato definito come la dose cumulativa di paclitaxel con cui si manifestava la neuropatia di grado 2+. Gli autori hanno eseguito in prima analisi un log-rank test per definire se c'era differenza tra il rischio di neuropatia nelle popolazioni Europeo-Americana classificate in base al genotipo CYP2C8*3. Successivamente, utilizzando un modello di Cox sono state aggiunte all'analisi le altre covariate (età, storia clinica di diabete, trattamento con tassani, profilassi della neuropatia), ponendo il polimorfismo in analisi come un modello additivo. Lo studio di replicazione è stato effettuato nella popolazione Afro-Americana e la variabile di differenza della razza è stata valutata nell'ultimo modello della popolazione mista.

Nell'analisi della coorte Europeo-Americana, il log-rank test ha evidenziato una differenza del rischio di neuropatia di grado 2+ attraverso i gruppi di genotipo. Come atteso, il rischio di neuropatia era maggiore per le portatrici omozigoti della variante *3 ed era più basso per le pazienti *wild-type* (log-rank $P = 0.006$). Assumendo un effetto genetico additivo, ogni variante allelica aggiunta raddoppiava approssimativamente il rischio di neuropatia [HR (per allele) = 1.93, 95% CI: 1.05 – 3.55, $P = 0.032$]. Tra le covariate cliniche inserite nel modello soltanto la storia clinica di diabete era significativamente associata al rischio di neuropatia. Allo stesso modo dell'analisi univariata, anche nel modello finale l'associazione tra la variante CYP2C8*3 e la neuropatia era significativa [HR (per allele) = 1.95, 95% CI: 1.06 – 3.58, $P = 0.031$] dimostrando in questo modo la robustezza del risultato. Nello studio di replicazione, condotto nella coorte Afro-Americana, le portatrici della variante CYP2C8*3 avevano un rischio maggiore di sviluppare neuropatia se paragonati alle *wild-type* (HR = 3.30, 95% CI: 1.04 – 10.45, $P = 0.043$). È stata infine condotta un'analisi sull'intera coorte in studio, utilizzando sia i dati delle pazienti Europeo-Americane che delle Afro-Americane. Anche in questo modello la variante di CYP2C8 era significativamente associata al rischio di sviluppare neuropatia [HR (per allele) = 1.98, 95% CI: 1.25 – 3.13, $P = 0.004$]. Inoltre il rischio di neuropatia era più alto nelle pazienti non europee (HR = 1.76, 95% CI: 1.06 – 2.93, $P = 0.03$) e risultava non significativo, invece, per le altre covariate incluse nello studio.

Lo studio pubblicato da Hertz e colleghi, in cui è stato analizzato un singolo SNP candidato in una larga coorte di pazienti, ha un adeguato potere statistico per determinare l'effetto di CYP2C8*3 e di altre potenziali covariate cliniche sul rischio di neuropatia. Il dato è stato anche replicato con successo sia nella

popolazione Europeo-Americana sia nella popolazione Afro-Americana. Anche dopo aver incluso le covariate cliniche, il rischio di neuropatia in seguito al trattamento con paclitaxel era raddoppiato per ogni variante allelica *3 presente nelle pazienti portatrici. Da sottolineare, tuttavia, che proprio il disegno dello studio rappresenta la limitazione maggiore, in quanto basato su osservazioni retrospettive e ricavate dai registri clinici. Quest'aspetto si manifesta infatti in numerosi casi, come la differenza nel trattamento con paclitaxel (dose e tempi di somministrazione), l'utilizzo di profilassi per la neuropatia e la potenziale non uniformità nella raccolta delle informazioni sulla tossicità al trattamento. Gli autori affermano tuttavia di aver valutato queste differenze eseguendo una meta-analisi di queste informazioni e che nessuna di queste variabili ha influenzato significativamente il risultato finale dello studio.

Questo studio sull'analisi dell'influenza di CYP2C8*3 sul rischio di neuropatia in una coorte ampia di pazienti trattati con paclitaxel consente una valutazione definitiva di questa associazione, che rimane significativa anche dopo aver aggiustato per le covariate cliniche fattore di rischio di neuropatia.

Le pazienti classificate come portatrici di CYP2C8*3, e in particolare quelle omozigoti, dovrebbero essere valutate come ad alto rischio di neuropatia periferica durante il trattamento con paclitaxel. Ulteriori studi sono comunque necessari per traslare questi risultati nella pratica clinica, come ad esempio studi di dosaggio guidati da genotipo. Inoltre, uno studio prospettico potrebbe dimostrare l'utilità clinica della terapia individualizzata del paclitaxel, permettendo in questo modo di ottimizzare il profilo rischio/beneficio di questo essenziale agente chemioterapico.

Il polimorfismo CYP2C8*3 è un fattore di rischio per la comparsa di neuropatia in pazienti con cancro della mammella trattati con paclitaxel.

Parole chiave: CYP2C8, neuropatia, cancro della mammella, paclitaxel

Riferimento bibliografico:

[Hertz DL](#) et al. *Ann Oncol* 2013, 24(6):1472-8.

INFLUENZA DELLE VARIANTI GENETICHE DI ABCB1 NELLA RISPOSTA TERAPEUTICA DEL TUMORE AL SENO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

In base allo stadio tumorale del paziente, il tumore al seno viene trattato in modo diverso, così che pazienti in stadio avanzato vengono trattati con chemioterapia neo-adiuvante (NACT) mentre quelli in stadio iniziale sono sottoposti a operazione chirurgica, seguita da chemioterapia neo-adiuvante (ACT).

Le opzioni terapeutiche includono chemioterapia-antracicline, inibitori dell'aromatasi, anti-estrogeni.

Una grande eterogeneità è stata osservata sia nella risposta che nella tossicità a tali agenti terapeutici ed in parte tale variabilità potrebbe essere attribuita alle differenze genetiche nei trasportatori del farmaco, così come nei *pathway* del metabolismo.

Il gene ABCB1 (*multidrug resistance gene*) è responsabile dell'efflusso dei farmaci dalla cellula e quindi delle concentrazioni intracellulari di essi; è ormai assodato che la resistenza a molti chemioterapici, tra cui antracicline e taxani, è associata con variazioni genetiche che influiscono sia sull'espressione della proteina, sia sulla sua funzione (Gottesman MM et al. *Nat Rev Cancer* 2002, 2(1):48-58).

Sono state riportate più di 20 variazioni genetiche nel gene ABCB1 (Kim RB et al. *Clin Pharmacol Ther* 2001, 70(2):189-99) tra cui le più importanti sono sicuramente 1236C>T (rs1128503), 2677G>T/A (rs2032582), e 3435C>T (rs1045642). Alcuni studi riportano che tali polimorfismi giocano un ruolo importante nella risposta chemioterapica (Rodrigues FF et al. *Genet Mol Res* 2008, 19;7(1):177-83), tuttavia altri non hanno confermato il ruolo degli SNPs nella risposta farmacologica (Zhang BL et al. *Chin Med J (Engl)*. 2011, 124(2):199-204).

Analogamente, anche dal punto di vista della tossicità gli studi svolti fino ad oggi si contraddicono (Tsai SM et al. *Clin Chim Acta*. 2009, 404(2):160-5).

Sulla base delle suddette premesse, lo scopo del lavoro è stato quello di identificare il ruolo dei polimorfismi precedentemente descritti (rs1128503, rs2032582, rs1045642) nel predire l'*outcome* clinico in termini di risposta alla chemioterapia e tossicità di grado 2-4.

Lo studio ha incluso un totale di 207 pazienti; tutti i pazienti sono stati raggruppati in base al loro stadio tumorale e sono stati trattati secondo un protocollo standard che includeva operazione chirurgica, radioterapia, e terapia ormonale. Dei 207 pazienti, 100 hanno ricevuto NACT e 107 ACT. La risposta tumorale è stata valutata nei pazienti ricevuti NACT, 3 settimane dopo l'ultimo ciclo di chemioterapia; pazienti con responso completo o parziale sono stati considerati responsivi mentre quelli stabili o in progressione, come non responsivi. L'operazione chirurgica è stata effettuata dopo 3 settimane dall'ultimo ciclo di chemioterapia.

Il grado di tossicità è stato assegnato in 207 pazienti, in termini di anemia, leucopenia, trombocitopenia; inoltre sono stati considerati anche pazienti che in seguito a neutropenia febbrile, sono andati incontro a riduzione o ritardo della dose.

Su 100 pazienti valutati per la risposta, 61 (61%) erano responsivi, mentre 39 (39%) erano non responsivi. Per il polimorfismo 1236C>T, il genotipo CT era significativamente associato con risposta avversa alla chemioterapia [OR=5.17(1.3-20.02), P=0.018]; inoltre, considerando il modello dominante la significatività statistica rimaneva inalterata [OR=4.63 (1.25-17.0), P=0.21]. Nessuna altra associazione significativa è stata riscontrata per 2677G>T/A e 3435C>T.

Considerando anemia, leucopenia, e trombocitopenia, il grado di tossicità tra 2 e 4 è stato valutato in 207 pazienti. Di questi, 107 (51,7%) hanno riscontrato tossicità mentre 100 (48,3%) non hanno sperimentato alcun evento avverso.

Lo SNP 1236C>T, in un modello recessivo (TT vs CC+CT), è risultato significativamente associato con la tossicità [OR=1,88 (1.05-3.39), P=0.033]; a livello allelico l'allele T era significativamente associato con il grado 2-4 di tossicità [OR=1,48 (1.00-2,20), P=0.033]. Ancora una volta, nessuna altra associazione è stata riscontrata per 2677G>T/A e 3435C>T.

Inoltre, su 207 pazienti, 30 (14,05%) sono andati incontro a riduzione/ritardo del dosaggio; dal punto di vista genotipico, è stata riscontrata un'ulteriore associazione tra il ritardo della dose e lo SNP 1236C>T.

In conclusione, lo studio ha mostrato che il polimorfismo genetico di ABCB1, 1236C>T, è associato con uno scarso *outcome* terapeutico a chemioterapia basata su antracicline; ciò potrebbe essere dovuto ad una riduzione della dose, risultante dalla tossicità causata da un accumulo di elevate concentrazioni di farmaco nelle cellule.

Parole chiave: cancro al seno, chemioterapia, ABCB

Riferimento bibliografico

[Chaturvedi P](#) et al. *Cancer Epidemiol* 2013 May 22 [Epub ahead of print].



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

ISSN 2282-4758

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 Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) 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

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.