

**Newsletter Numero 56 – Novembre 2013**

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

Sommario

- Coinvolgimento dei tre più comuni polimorfismi non sinonimi di UGT1A6*2 (Thr181Ala, Arg184Ser e Ser7Ala) nella risposta a deferiprone in pazienti affetti da talassemia maggiore
- Associazione tra polimorfismi nei geni candidati farmacogenetici (OPRD1, GAL, ABCB1, OPRM1) e la dipendenza da oppiacei nella popolazione europea: uno studio caso-controllo
- La terapia anticoagulante con warfarin: un modello farmacogenetico per individuare la dose efficace in una popolazione dell'Italia meridionale
- *CYP2B6**6 rappresenta un fattore indipendente di risposta alla terapia con fludarabina e ciclofosfamide nella leucemia linfocitica cronica
- Studio di associazione tra polimorfismi in *KCNJ1* con l'incremento di glicemia a digiuno e diabete di nuova insorgenza durante il trattamento con HCTZ
- Varianti genetiche nel pathway FGF come potenziali markers del rischio di cancro ovarico, della risposta terapeutica e dell'outcome clinico
- Uno studio di associazione genome-wide rileva il ruolo dei recettori efrinici di classe A nell'insorgenza di neuropatia sensoriale periferica indotta da paclitaxel
- Le varianti genetiche di *SLCO1B1* e *SLC19A1* nella risposta rapida e la sopravvivenza indotta da Irinotecano: uno studio farmacogenetico prospettico e multicentrico sul cancro metastatico del colon-retto
- Mappatura genetica con livelli multipli di informazioni fenotipiche rivela determinanti di sensibilità ai glucocorticoidi nei linfociti
- Polimorfismi del gene *PDLIM5* e risposta antidepressiva a breve termine nei principali disturbi depressivi in pazienti cinesi

COINVOLGIMENTO DEI TRE PIÙ COMUNI POLIMORFISMI NON SINONIMI DI UGT1A6*2 (THR181ALA, ARG184SER E SER7ALA) NELLA RISPOSTA A DEFERIPRONE IN PAZIENTI AFFETTI DA TALASSEMIA MAGGIORE

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

La β -talassemia è una delle patologie monogeniche più diffuse in India, dove circa 10 000 bambini l'anno nascono ereditando disturbi a livello dell'emoglobina. L'unico trattamento in grado di far fronte a questo disturbo è la trasfusione, che inevitabilmente causa un sovraccarico di ferro nel sistema, che l'organismo non

può rimuovere, ed è quindi causa di morbidità e mortalità. La terapia di chelazione del ferro è necessaria per prevenire multiple disfunzioni agli organi e per diminuire la mortalità legata all'accumulo del ferro stesso. Tra i principali chelanti orali elenchiamo deferoxamina, deferiprone e deferasirox che sono stati introdotti nella comune pratica clinica. Sebbene questa terapia risulti essere efficace, sono state osservate molteplici differenze nella farmacocinetica di questi farmaci, così come svariati effetti avversi. Il profilo di sicurezza a lungo termine è stato ben definito per il deferiprone, sebbene i meccanismi legati ai suoi effetti avversi quali disturbi gastrointestinali, artralgia, neutropenia e agranulocitosi risultino ancora poco chiari. Il deferiprone ha mostrato una buona biodisponibilità, ma la sua *clearance* è accelerata da una rapida biotrasformazione, infatti circa l'85% del farmaco è metabolizzato in un coniugato 3-O-glucoronide non chelante dall'enzima UDP-glucuronosiltransferasi, in particolare dall'isoforma UGT1A6. Pertanto, variazioni genetiche di UGT potrebbero avere un impatto sulla risposta farmacologica e sulla capacità di indurre reazioni avverse al farmaco. Lo scopo del presente studio è quindi quello di analizzare l'influenza dei tre polimorfismi non sinonimi più comuni di UGT1A6*2 sulla risposta al trattamento e la comparsa di reazioni avverse in seguito a trattamento con deferiprone in una popolazione di pazienti indiani affetti da talassemia maggiore.

La popolazione in studio è rappresentata da 286 pazienti affetti da talassemia maggiore appartenenti al gruppo "Thalassemia and Sickle Cell Society", Hyderabad. Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale e i pazienti hanno firmato il consenso informato. La diagnosi di talassemia è stata ottenuta con metodi standard quali HPLC ed ibridizzazione RDB. In seguito a 15 trasfusioni tutti i pazienti sono stati sottoposti a terapia chelante del ferro usando deferiprone. Il dosaggio iniziale era di 50 mg/kg al giorno fino ad un massimo di 75 mg/kg, a seconda dei livelli di ferritina sierica nel paziente. Tutti i pazienti sottoposti a questa terapia sono stati monitorati ogni mese per sovraccarico di ferro e possibili reazioni avverse. I pazienti sono stati classificati in responsivi e non responsivi a seconda dei livelli di ferritina sierica (<2500mg/mL per i responsivi e >2500mg/mL per i non responsivi) e della frequenza di trasfusioni. I pazienti responsivi e non sono stati ulteriormente suddivisi in pazienti che presentavano o meno reazioni avverse alla terapia (ADR).

Tutti i 286 pazienti in studio provenivano dal sud dell'India. L'associazione tra genotipi e *outcome* terapeutico o manifestazione di ADR è stata analizzata grazie al *software* Open EPI. Si è osservata una differenza significativa nella percentuale dell'ematocrito, nei livelli di WBC (*white blood cell*), nella conta piastrinica e nei livelli di ferritina sierica tra pazienti responsivi e non responsivi alla terapia con deferiprone ($P < 0.05$). Una differenza significativa è stata riscontrata per età, peso, ematocrito e livelli di WBC in pazienti responsivi soggetti e non soggetti ad ADR ($P < 0.05$) e così pure nei soggetti non responsivi soggetti o meno ad ADR ($P < 0.05$). La distribuzione genetica e la frequenza allelica dei 3 polimorfismi non sinonimi più comuni di UGT1A6*2 (Thr181Ala, Arg184Ser e Ser7Ala) sono stati analizzati. Si è riscontrata una differenza significativa nella distribuzione genotipica e frequenza allelica del polimorfismo UGT1A6*2 Thr181Ala tra soggetti responsivi non responsivi alla terapia (AA vs TT: $\chi^2=9.5$, OR=4.6 (1.65-12.8), $P = 0.001$; AA vs TT + TA: $\chi^2=5.9$, OR=3.1 (1.2-8.3), $P = 0.01$; A vs T: $\chi^2=8.9$, OR=1.7(1.2-2.5), $P = 0.002$, modello recessivo). Non sono state osservate differenze significative nella distribuzione genotipica tra responsivi che presentassero o meno ADR. Non si è osservata nessuna differenza tra responsivi e non responsivi nella distribuzione genotipica per UGT1A6*2 Arg184Ser. Nemmeno per il polimorfismo UGT1A6*2 Ser7Ala si sono osservate differenze significative tra responsivi e non, ma una differenza significativa è stata osservata tra pazienti responsivi che presentavano ADR rispetto ai responsivi che non presentavano ADR (GG vs TT: $\chi^2=7.5$, OR=8.14.6 (1.5-41.9), $P = 0.006$; GG vs TT + TG: $\chi^2=2.0$, OR=2.0 (0.7-5.5), $P = 0.1$; g vs T: $\chi^2=8.4$, OR=2.7 (1.3-5.5), $P = 0.003$, modello recessivo). L'analisi dell'aplotipo è stata effettuata tramite il *software* SNPstat. Nessun aplotipo specifico dei tre polimorfismi non sinonimi è stato associato all'*outcome* terapeutico o alla manifestazione di ADR.

Nessun aplotipo specifico che coinvolgesse i tre polimorfismi non sinonimi di UGT1A6*2 è stato associato alla risposta alla terapia con deferiprone o alla manifestazione di ADR nella popolazione indiana di soggetti affetti da talassemia maggiore in studio.

Ciò che è stato valutato è la possibile associazione dei tre polimorfismi non sinonimi di UGT1A6*2 con i livelli sierici di ferritina in pazienti affetti da β -talassemia maggiore, ma ciò che non viene discusso sono gli effetti funzionali di queste varianti. Il limite dello studio sta nel non aver potuto determinare i livelli di deferiprone e dei suoi metaboliti nei campioni di urina di questi pazienti. Ciononostante, ulteriori informazioni sono state date sull'influenza delle variazioni geniche sull'efficacia del deferiprone.

Parole chiave: talassemia maggiore, deferiprone, polimorfismi non sinonimi UGT1A6*2

Riferimento bibliografico

[Dadheech S](#) et al *Gene* 2013, 531(2):301-5

ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI NEI GENI CANDIDATI FARMACOGENETICI (OPRD1, GAL, ABCB1, OPRM1) E LA DIPENDENZA DA OPIACEI NELLA POPOLAZIONE EUROPEA: UNO STUDIO CASO-CONTROLLO

A cura della Dott.ssa Cheli Stefania

L'eziologia della dipendenza da oppioidi è complessa, coinvolge fattori ambientali, psicologici ed effetti indotti dagli oppioidi stessi. Inoltre, i fattori genetici giocano un ruolo fondamentale nella patogenesi della dipendenza da oppioidi: si stima un'ereditabilità dell'abuso e/o della dipendenza dal 43 al 60%. Diversi geni candidati sono stati implicati nella dipendenza da oppioidi. Tra questi il gene più studiato codifica per il recettore mu degli oppioidi (OPRM1) di cui è noto un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) funzionale, rs1799971 (A118G), che in alcuni studi sembra influenzare la suscettibilità individuale alla dipendenza da oppiacei. Scopo principale del presente lavoro è stato quello di identificare i polimorfismi genetici che contribuiscono alla suscettibilità individuale della dipendenza da oppiacei e di replicare i risultati ottenuti. Pertanto, è stato eseguito uno studio di associazione caso-controllo di geni candidati in cui sono stati inclusi 14 geni e 24 SNPs. Quattro dei geni indagati potrebbero essere coinvolti nella farmacocinetica degli oppioidi (ABCB1, SLCO1B1, SLCO1A2, UGT2B7), altri otto potrebbero essere coinvolti sia direttamente che indirettamente nella risposta farmacodinamica (OPRM1, OPRD1, OPRK1, GAL, STAT6, ADRBK2, COMT, MC1R). Gli ultimi due geni invece sono stati scelti perché riportati associati alla dipendenza da oppioidi o all'esito del trattamento con oppioidi (DRD2, HTR1A), nonostante non siano direttamente coinvolti nella farmacodinamica e nella farmacocinetica degli stessi. L'analisi genotipica dei 24 loci polimorfici è stata effettuata utilizzando una *multiplex-PCR* seguita da cromatografia liquida ad elevate prestazioni accoppiata alla spettrometria di massa con ionizzazione *elettrospray* (ICEMS). Sono stati inclusi nello studio 142 pazienti (individui con dipendenza da oppioidi) e 142 controlli appaiati per etnia, sesso, età. Il gruppo dei pazienti era costituito da 80 soggetti sottoposti a trattamento di mantenimento con metadone (dose giornaliera compresa tra 10-150 mg) e 62 individui sottoposti a terapia di mantenimento con buprenorfina (dose compresa tra 0,4-32 mg). Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico locale dell'Università di Medicina di Innsbruck e realizzato in conformità con la Dichiarazione di Helsinki, come adottato e promulgato dal *National Institutes of Health* e dall'Unione europea. Tutti i partecipanti hanno firmato un consenso informato dopo aver ricevuto una completa descrizione dello studio. La dimensione del campione in studio è stata calcolata al fine di rilevare un *odds ratio* di circa 2, con una potenza statistica dell'80 % e un livello di significatività di $p < 0.05$. Le differenze nelle caratteristiche socio-demografiche e cliniche tra i due gruppi sono state valutate con il test Chi-quadrato di Pearson e il test di Fisher. Inoltre, questi due test sono stati applicati per valutare le deviazioni dall'equilibrio di Hardy-Weinberg^(*), per confrontare le frequenze alleliche e genotipiche tra casi e controlli e per stimare gli *odds ratio* con i loro corrispondenti intervalli di confidenza al 95%. Infine, i risultati sono stati aggiustati per i test multipli utilizzando la correzione di Bonferroni (p -value/numero di SNPs testati, con livello di significatività $p < 0.002$).

Genotipizzazione. Sono stati genotipizzati 6816 SNPs (24 SNPs in 14 geni candidati, 284 individui) mediante PCR-ICEMS. 399 SNPs sono stati poi confermati tramite sequenziamento di Sanger (concordanza del 99.8%). I genotipi e le frequenze alleliche osservate correlano bene con le frequenze riportate per le altre popolazioni europee (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Nel gruppo di controllo, la distribuzione dei genotipi del polimorfismo rs5761122 nel gene ADRBK2 mostrano una deviazione statisticamente significativa dall'equilibrio di Hardy-Weinberg ($p = 0,001$, $\chi^2 = 10.88$). Nel gruppo di pazienti, il test Chi-quadrato ha rivelato una deviazione statisticamente significativa dei genotipi di distribuzione osservati per due polimorfismi: GAL rs948854 ($p = 0.0002$, $\chi^2 = 14.34$) e ABCB1 rs1045642 ($p = 0.002$, $\chi^2 = 9.35$). Il SNP rs45502302 nel gene SCLO1A2 si è rivelato non polimorfico nei campioni analizzati ed è stato quindi escluso dall'analisi statistica. Dal confronto tra frequenze genotipiche e alleliche del gruppo di pazienti

rispetto al gruppo di controllo sono state osservate differenze significative nei SNPs dei geni OPRD1, GAL, ABCB1 e OPRM1. Non sono state trovate differenze significative sesso-specifiche.

OPRD1, rs2236861. nel caso del polimorfismo rs2236861 nel gene OPRD1 è stato osservato un numero significativamente più elevato di soggetti omozigoti per l'allele comune (genotipo CC) nel gruppo di pazienti ed omozigoti per l'allele minore (genotipo TT) nel gruppo di controllo ($p=0.004$, $\chi^2=11.09$, $df=2$). Di conseguenza, la frequenza dell'allele T è risultata significativamente più alta nei controlli ($p=0.001$, $\chi^2=10.92$, $df=1$), anche dopo correzione di Bonferroni per i test multipli.

GAL, rs948854. Anche per questo SNP sono state osservate differenze significative che sono rimaste tali dopo aggiustamento per i test multipli ($p=0.001$, $\chi^2=13.38$, $df=2$). Nel gruppo dei pazienti sono risultati significativamente più frequenti i portatori omozigoti dell'allele minore (genotipo GG, $p=0.002$, $\chi^2=9.65$, $df=1$) e meno frequenti gli individui eterozigoti (AG). Le frequenze alleliche complessive però non hanno evidenziato differenze significative tra i due gruppi.

ABCB1, rs1045642, rs2032582. Per la variante rs1045642 sono stati osservati più individui con genotipo CT e meno individui con genotipo CC nel gruppo di pazienti ($p=0.026$, $\chi^2=7.26$, $df=2$). I due SNPs rs2032582 e rs1045642 sono stati valutati come pattern di 2 genotipi poiché trovati in forte linkage disequilibrium. Nei pazienti è stata osservata una frequenza significativamente più bassa d'individui GG-CC rispetto ai controlli ($p=0.020$, $\chi^2=5.37$, $df=1$).

OPRM1, rs9479757. Riguardo allo SNP OPRM1 rs9479757 è stata trovata una frequenza significativamente più bassa del genotipo GA ($p=0.028$, $\chi^2=4.81$, $df=1$) ed una più alta del genotipo GG nei pazienti rispetto ai controlli.

In questo studio caso-controllo le differenze più significative con la dipendenza da oppioidi, dopo correzione di Bonferroni, sono state osservate per gli SNPs presenti nei geni OPRD1 (rs2236861) e GAL (rs948854). Differenze significative nella frequenza sono state osservate anche per il gene ABCB1, sia per il SNP rs1045642 che per il pattern rs2032582-rs1045642 e per il gene OPRM1 (rs9479757). Nel loro insieme, i marcatori genetici di suscettibilità qui identificati possono contribuire alla comprensione neurobiologica della dipendenza da oppioidi e contribuire allo sviluppo di nuove opzioni terapeutiche. Una limitazione di questo studio è la dimensione del campione, che è relativamente piccola. Tuttavia le associazioni genetiche più significative qui osservate (OPRD1, GAL) sono in accordo con precedenti studi effettuati con un numero maggiore di campioni. Un punto di forza di questo studio è che sono stati inclusi solo gli individui ben caratterizzati e prospetticamente reclutati in base a rigorosi criteri di esclusione. Il 96% di tutti gli individui è di ascendenza (si dice così? yes) austriaca ed i pazienti e controlli sono stati ben abbinati, in termini di età, sesso e ascendenza. Inoltre, è stato applicato un metodo accurato di genotipizzazione e tutti gli alleli indagati presentano una prevalenza di almeno il 4% (eccetto rs45502302). Di conseguenza, in questo studio non stati rilevati i frequenti problemi statistici relativi agli studi di associazione, come la stratificazione della popolazione o gli errori nella genotipizzazione.

Questo studio fornisce un ulteriore supporto al ruolo di varianti nei geni GAL e OPRD1 nella dipendenza da oppioidi. Inoltre, si evidenzia un contributo dei polimorfismi nei geni OPRM1 e ABCB1 nella suscettibilità alla dipendenza da oppioidi nella popolazione europea.

() Legge di Hardy-Weinberg: data la costanza delle frequenze geniche, frequenze genotipiche raggiungono in una generazione di unioni a caso, un equilibrio ai valori: p^2 per AA $2pq$ per Aa e q^2 per aa (dove A e a sono gli alleli e p e q le due rispettive frequenze). La popolazione viene detta in equilibrio perché tali frequenze rimangono costanti finché le assunzioni rimangono verificate costanti.*

Parole chiave: oppioidi, dipendenza, polimorfismi, OPRD1, GAL, ABCB1, OPRM1

Riferimento bibliografico

[Beer B](#) et al. *PLoS One* 2013, 8(9):e75359.

LA TERAPIA ANTICOAGULANTE CON WARFARIN: UN MODELLO FARMACOGENETICO PER INDIVIDUARE LA DOSE EFFICACE IN UNA POPOLAZIONE DELL'ITALIA MERIDIONALE

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Nonostante l'introduzione in commercio dei nuovi farmaci per la terapia anticoagulante orale (TAO) come il dabigatran, il rivaroxaban e l'apixaban, il warfarin (coumadin) rappresenta ancora la terapia di prima linea nei pazienti con protesi valvolare meccanica o con fibrillazione atriale non valvolare. Il warfarin inibisce il complesso enzimatico Vitamin K Epoxide Reductase Complex 1 (VKORC1) riducendo di conseguenza l'attività dei fattori della coagulazione (II, VII, IX e X) dipendenti dalla Vit K. L'enantiomero S-warfarin è la forma farmacologicamente più attiva ed è metabolizzato prevalentemente dall'isoforma enzimatica, CYP2C9. Anche se l'effetto anticoagulante è stato stabilito e largamente confermato, il trattamento con warfarin è limitato dalla sua scarsa maneggevolezza. L'effetto anticoagulante è misurato attraverso la stima del tempo di protrombina con l'INR (International Normalized Ratio), indice che deve ricadere nel range "terapeutico" di 2,0-3,0, oppure 2,5-3,5 secondo il tipo di paziente.

Livelli inappropriati di INR sono associati a rischio elevato di sanguinamento (valori superiori al range terapeutico) o di tromboembolismo (valori inferiori al range terapeutico) in particolare durante le prime settimane di trattamento (fase d'induzione). La maggior parte dei medici prescrive 3-10 mg/die per i primi 2-5 giorni per poi stabilire una dose "di mantenimento" sulla base del monitoraggio dell'INR.

Le reazioni avverse da warfarin rappresentano più del 10% di tutte quelle che comportano un ricovero ospedaliero. È stato stabilito che esiste una grande variabilità interindividuale nella risposta a questo anticoagulante che dipende da fattori clinici, demografici e ambientali, ma che in larga misura (40-60%) è dovuta a fattori genetici. I polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nel gene per il CYP2C9 e nel gene per VKORC1 sono stati i primi a essere descritti e sono i maggiori responsabili della variabilità interindividuale. Gli individui portatori di queste varianti genetiche richiedono dosi di farmaco più alte o più basse dei soggetti wild type per ottenere l'effetto anticoagulante. Recentemente è stato osservato che un altro SNP, nel gene CYP4F2, potrebbe essere associato all'esigenza di dosi leggermente più alte della norma. Nel 2007 la Food and Drug Administration (FDA) ha suggerito di tipizzare i pazienti per gli SNPs di CYP2C9 e VKORC1 prima di iniziare la TAO con warfarin. Da allora sono stati portati a termine numerosi trials clinici ed è stato sviluppato un algoritmo farmacogenetico che include fattori genetici e non genetici. Lo scopo di questo studio è stato valutare l'influenza degli SNPs nei geni CYP2C9, VKORC1 e CYP4F2 insieme a fattori di tipo clinico, demografico e ambientale in una popolazione dell'Italia meridionale.

Sono stati arruolati (presso quattro centri) 206 pazienti provenienti dal sud-Italia in terapia con warfarin. Tutti avevano raggiunto un valore di dose stabile (INR compreso tra 2 e 3) in un periodo di tre mesi dall'inizio della terapia. Il DNA genomico dei pazienti è stato estratto da prelievi di sangue periferico utilizzando kit commerciali. La genotipizzazione è stata eseguita per i seguenti SNPs: CYP2C9*2 (rs1799853), CYP2C9*3 (rs1057910); CYP4F2*3 (rs2108622) e VKORC1 -1639 G>A (rs9923231) mediante Real Time TaqMan assay e per gli SNPs, VKORC1 1173 C>T (rs9934438) e VKORC1 3730 G>A (rs7294) mediante DHPLC e direct sequencing.

Nella popolazione in studio, metà uomini e metà donne, la sostituzione di valvola e la fibrillazione atriale erano le indicazioni più frequenti per la TAO con warfarin (rispettivamente 43,9% e 38,1%). Il 43,2% dei pazienti non assumeva altri farmaci oltre al warfarin. Dall'analisi di associazione tra la dose settimanale di warfarin assunta dagli individui con gli alleli wild type (CYP2C9*1) e dai pazienti portatori delle varianti, è emerso che i portatori dei genotipi CYP2C9*1/*3, *2/*3 e *3/*3 richiedevano una dose di farmaco significativamente più bassa dei wild type (*1/*1). La dose settimanale richiesta di farmaco era significativamente più bassa anche per i portatori (sia omozigoti, che eterozigoti) della variante VKORC1 -1639 G>A. Inoltre la presenza contemporanea degli SNPs a carico di CYP2C9 e VKORC1 riduceva ulteriormente la dose efficace di anticoagulante. Lo SNP VKORC1 3730 G>A faceva alzare leggermente il valore della dose efficace rispetto ai wild type e nessuna differenza è stata trovata negli individui con le varianti VKORC1 1173 C>T o CYP4F2*3. La mancanza di linkage disequilibrium tra VKORC1 -1639 G>A e VKORC1 3730 G>A è un dato che contrasta quello di altri studi. In percentuale, il contributo delle varianti esaminate era pari al 29,7% per VKORC1 -1639 G>A; 11,8% per CYP2C9*3; 8,5% per l'età; 3,5% per CYP2C9*2; 2,0% per il genere e 1,7% per CYP4F2*3. I polimorfismi VKORC1 3730 G>A e VKORC1 1173 C>T esercitavano un'influenza marginale (<1%). In sintesi, nella popolazione analizzata i fattori genetici

descritti, erano responsabili del 58,4% della variabilità della dose richiesta per garantire l'efficacia del warfarin e del 57,2% dopo l'esclusione delle varianti VKORC1 3730 G>A e VKORC1 1173 C>T, correlate rispettivamente con dosi più basse e più alte di farmaco.

In questo studio, con riferimento alle varianti CP2C9*2, CP2C9*3, CYP4F2*3 e VKORC1 (-1639 G>A, 3730 G>A e 1173 C>T), sono state individuate frequenze simili a quelle ritrovate in altre popolazioni caucasiche, tranne che per una prevalenza leggermente superiore dello SNP VKORC1 -1639 A/A (25% vs 20,8%). La dose richiesta di warfarin era più bassa del 17% negli individui portatori della variante CP2C9*2 e del 32% nei portatori del polimorfismo CP2C9*3 in linea con le percentuali riportate in studi precedenti. Inoltre, una riduzione della dose è stata evidenziata anche nei pazienti con il VKORC1 -1639 G>A e anche questa percentuale è in linea con quanto riportato in altri studi. In contrasto con i dati sviluppati in altri pazienti italiani, in questo studio è stata trovata un'associazione molto debole tra lo SNP VKORC1 1173 C>T e la dose richiesta di anticoagulante (0,8% in questo studio vs 20% e 13,8% in altri gruppi). Inoltre, in questa popolazione del sud-Italia non è stato trovato un linkage disequilibrium tra le varianti VKORC1 -1639 G>A e 1173 C>T. Questi dati sottolineano l'esistenza di una grande variabilità nell'associazione tra tali polimorfismi e la dose richiesta di warfarin, tuttavia, dovrebbero essere confermati in una coorte più ampia d'individui. Un dosaggio più elevato di warfarin è invece richiesto nei soggetti omozigoti ed eterozigoti per VKORC1 3730 G>A e, per quanto riguarda lo SNP CYP4F2*3 è stato osservato un modesto effetto in accordo con alcuni studi, ma in disaccordo con altri. Per quanto riguarda i fattori non genetici, è stata evidenziata un'influenza sulla dose richiesta di farmaco da parte dell'età e del genere in linea con i dati riportati da altri autori. Il dosaggio efficace di warfarin determinabile con l'algoritmo farmacogenetico proposto in questo studio correla con quello derivabile dall'utilizzo degli algoritmi del Warfarindosing e Pharmgkb, che, tuttavia, utilizzano una quantità di variabili superiore.

Questo studio, in cui si utilizza un algoritmo molto semplice, conferma l'importanza della farmacogenetica applicata alla terapia con warfarin in una popolazione dell'Italia meridionale. L'uso dell'algoritmo farmacogenetico potrebbe migliorare notevolmente la gestione di un farmaco poco maneggevole come il warfarin consentendo di individuare il dosaggio più idoneo soprattutto nelle fasi iniziali della terapia evitando, in questo modo, temibili reazioni avverse.

Parole chiave: warfarin, terapia anticoagulante orale, CYP2C9, VKORC1, CYP4F2

Riferimento bibliografico

[Mazzaccara C](#) et al. *PLoS One* 2013, 8(8): e71505

CYP2B6*6 RAPPRESENTA UN FATTORE INDIPENDENTE DI RISPOSTA ALLA TERAPIA CON FLUDARABINA E CICLOFOSFAMIDE NELLA LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La leucemia linfocitica cronica (LLC) rappresenta la più comune forma di leucemia dell'adulto dei paesi occidentali. Sebbene la maggior parte dei pazienti risponda alla terapia iniziale, la patologia non è curabile ed ha un decorso caratterizzato da ricadute ripetute culminanti in una resistenza farmacologica. La velocità di crescita, la risposta alla terapia e la propensione per l'accelerazione e la trasformazione variano considerevolmente tra i pazienti, ed un gran numero di variabili biologiche (l'età avanzata, il sesso maschile, lo stadio avanzato, la configurazione *germline* del gene della catena pesante delle immunoglobuline (*IGHV*), la mutazione o delezione del *TP53* e la delezione del cromosoma 11q) sono state correlate con l'*outcome* negativo. I difetti del *TP53* sono risultati fortemente associati con la chemio-resistenza, ma riguardano solo una minoranza di pazienti precedentemente non trattati. La chemioterapia rimane la base della terapia di prima linea per la maggior parte dei pazienti e le due principali classi di farmaci utilizzate sono rappresentate da agenti alchilanti, come clorambucil e ciclofosfamide, ed analoghi purinici, come fludarabina. Studi clinici hanno dimostrato la superiorità della terapia di prima linea con fludarabina e ciclofosfamide (FC) rispetto alla monoterapia con fludarabina o clorambucil. Anche se l'associazione FC risulta essere attiva nella maggior parte dei pazienti precedentemente non trattati, il tasso di risposta completa (CR) è solo del 23-38%, con resistenza alla terapia in una significativa proporzione di pazienti. Mentre è chiaro che l'efficacia della

terapia è influenzata da fattori legati alla patologia, quali la mutazione/delezione del *TP53*, tali fattori non comprendono tutti i pazienti che non raggiungono una CR. È quindi importante prendere in considerazione altre variabili che potrebbero influenzare la farmacocinetica o la farmacodinamica dell'associazione FC. La ciclofosfamide (CPA) è un pro-farmaco che richiede l'attivazione nel metabolita attivo 4-idrossi ciclofosfamide (4-OH-CPA) per esercitare gli effetti citotossici. Tra gli enzimi che convertono il farmaco in 4-OH-CPA uno dei più importanti è l'isoforma CYP2B6 del citocromo P450, espressa soprattutto a livello epatico. Il gene *CYP2B6* è altamente polimorfico, con più di 100 SNP attualmente identificati. Alcuni di questi SNP sono stati associati con l'espressione ed il funzionamento dell'enzima, e potrebbero essere anche clinicamente importanti. Sono stati, infatti, implicati con l'*outcome* di pazienti in terapia con CPA per linfoma e tumore della mammella o come terapia di condizionamento prima del trapianto di cellule staminali ematopoietiche, anche se mancano evidenze definitive. La maggior parte degli alleli del *CYP2B6* sono rare, ma uno (*6) è particolarmente comune, con una frequenza che va da circa il 25% nei caucasici al 60% negli asiatici. Il *CYP2B6**6 è caratterizzato dalla presenza di 2 SNP, c.516G>T nell'esone 4 e c.785A>G nell'esone 5 ed i portatori di questo allele presentano una riduzione significativa dei livelli di mRNA e proteine del CYP2B6, rispetto ai portatori dell'allele *1 *wild-type* (WT). D'altra parte, diversi studi hanno mostrato che l'allele *6 è associato con un più alto tasso di idrossilazione in posizione 4 della CPA. L'effetto globale dell'espressione del *CYP2B6**6 sulla farmacocinetica e l'efficacia/tossicità della CPA è pertanto difficile da prevedere e potrebbe dipendere da quale sia l'effetto dominante, ovvero la ridotta espressione dell'enzima o l'aumento dell'attività enzimatica.

In questo studio è stato valutato l'effetto del *CYP2B6**6 sull'efficacia e la tossicità dell'associazione FC nella LLC. È stato determinato lo status del *CYP2B6* in campioni di pazienti arruolati in uno studio di fase III (*Leukaemia Resaerch Fund*, LRF CLL4 *trial*) sulla terapia con FC, la monoterapia con fludarabina o con clorambucil ed è stato confrontato l'*outcome* dei pazienti portatori del genotipo *1/*1 con quello dei portatori del genotipo *1/*6 o *6/*6.

Nello studio LRF CLL4 sono stati reclutati 777 pazienti tra il febbraio 1999 e l'ottobre 2004, randomizzati a ricevere clorambucil, fludarabina o FC in rapporto 2:1:1. I campioni per l'analisi del DNA erano disponibili per 489 pazienti e dati informativi sul *CYP2B6* sono stati ottenuti per 455 campioni (93%). Come previsto c'era un alto livello di *linkage disequilibrium* (LD) tra l'SNP c.516G>T e l'SNP c.785A>G ($r^2=0.96$). 265 campioni sono risultati omozigoti *1/*1 (WT), 134 eterozigoti *1/*6 e 29 omozigoti *6/*6. I rimanenti 27 avevano altri alleli del *CYP2B6*, e sono stati esclusi da ulteriori analisi. Pertanto, per le valutazioni successive è stata presa in considerazione solo la coorte di 428 pazienti con genotipi *1/*1, *1/*6 e *6/*6. Non è stata rilevata differenza in termini di età, sesso, stadio, status *TP53*, *IGHV*, 11q-, +12 o 13q- tra la coorte selezionata per lo studio di farmacogenetica ed i rimanenti pazienti della coorte iniziale. Inoltre, l'efficacia di clorambucil, fludarabina e FC nella coorte *CYP2B6* era molto simile a quella della coorte completa del *trial*. In particolare, l'FC è stata associata con una *Progression Free Survival* (PFS) superiore rispetto alla monoterapia con fludarabina o clorambucil, senza differenze in termini di *Overall Survival* (OS). Queste osservazioni indicano che la coorte *CYP2B6* era rappresentativa della coorte completa. Per lo scopo dello studio, i portatori dell'allele *6 in eterozigosi ed omozigosi sono stati considerati insieme. Le caratteristiche di base erano simili nei due gruppi, WT *1/*1 e portatori del *6, e non c'erano differenze nel numero di cicli somministrati in ogni braccio di trattamento.

In ogni braccio, è stata confrontata la risposta dei pazienti in base alla presenza o meno dell'allele *6: come aspettato, la presenza dell'allele non ha determinato variazioni nella risposta a clorambucil o fludarabina. Invece, i pazienti portatori di *6 trattati con FC avevano meno probabilità di raggiungere una CR in confronto ai WT (odds ratio 0.27; $p=0.004$). L'associazione tra l'allele mutato e la risposta peggiore all'FC è stata mantenuta anche quando la definizione di successo terapeutico è stata ampliata per comprendere anche la risposta nodulare parziale (nPR) (odds ratio 0.35; $p=0.017$). Inoltre, è stata riscontrata una tendenza verso una più breve PFS ($p=0.056$). I criteri per definire una CR includono il recupero della funzione emopoietica, pertanto, era possibile che il più basso tasso di CR osservato nei pazienti trattati con FC ed esprimenti il *CYP2B6**6 potesse riflettere un aumento della tossicità ematologica piuttosto che una minore cito-riduzione. Per valutare questa possibilità, sono stati confrontati gli indicatori di risposta individuale, ed il risultato è stato che i pazienti con *6 avevano una conta di linfociti post-trattamento più elevata ($p=0,002$), più linfoadenopatia residua ($p=0,036$) e più elevata conta piastrinica post-trattamento ($p=0,037$). Questi dati confermano che la CR più bassa associata con l'allele mutato era legata ad una minore cito-riduzione piuttosto che ad un recupero ritardato della funzione emopoietica a causa di tossicità. È stata poi effettuata

un'analisi multivariata per valutare l'importanza del *CYP2B6**6 come determinate della risposta alla FC in relazione ad altre variabili biologiche, quali l'età, il sesso, lo stadio, lo status mutazionale dell'*IGHV*, la delezione 11q e la delezione/mutazione del *TP53*. Le sole variabili indipendentemente associate con la CR erano la mutazione/delezione del *TP53* (odds ratio 0,11; $p=0,023$) e l'allele *CYP2B6* (odds ratio 0,37; $p=0,039$). Inoltre, i due gruppi sono stati confrontati per la frequenza di 9 specifici effetti avversi che riflettono il profilo di tossicità degli alchilanti e degli analoghi delle purine: neutropenia, trombocitopenia, anemia, giorni di ospedalizzazione, episodi febbrili, nausea e vomito, alopecia, mucosite e diarrea. Altre reazioni sono state raggruppate in una decima categoria. I pazienti con *6 hanno presentato meno effetti avversi in 9/10 categorie e l'analisi complessiva delle 10 categorie ha mostrato una elevata associazione tra la presenza del *CYP2B6**6 ed una ridotta tossicità ($p=0,002$). Nei pazienti trattati in monoterapia, non è stata trovata questa associazione.

Questo studio ha valutato le varianti genetiche del *CYP2B6* come possibili determinanti della risposta alla terapia con FC nella LLC. Mostrando una possibile associazione tra l'allele *6 ed una frequenza di CR significativamente minore, è il primo studio che dimostra l'impatto della farmacogenetica dell'ospite sull'*outcome* della terapia nella LLC. È stato studiato questo citocromo per l'alto tasso di polimorfismo ed il ruolo nell'attivazione del CPA, che fa parte della terapia di base della LLC, ed in particolare l'allele *6 per l'elevata frequenza e l'impatto sull'espressione e la funzione dell'enzima. I risultati dello studio suggeriscono che l'allele *CYP2B6* possieda un impatto negativo sulla conversione di CPA nella sua forma attiva, risultando in una ridotta efficacia e tossicità.

In conclusione, questo studio ha identificato il *CYP2B6**6 come un fattore indipendente di minore risposta alla terapia con FC nella LLC. Ulteriori studi sono necessari per valutare l'impatto di questo allele sui regimi contenenti CPA nella terapia di altre patologie.

Conflitto d'interesse: Non sono stati dichiarati conflitti di interesse

Parole chiave: LLC, fludarabina-ciclofosfamide, *CYP2B6**6

Riferimento bibliografico

[Johnson GG](#) et al. *Blood* 2013 Oct 15. [Epub ahead of print]

STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI IN *KCNJ1* CON L'INCREMENTO DI GLICEMIA A DIGIUNO E DIABETE DI NUOVA INSORGENZA DURANTE IL TRATTAMENTO CON HCTZ

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

I diuretici tiazidici sono considerati farmaci di prima linea per il trattamento dell'ipertensione, ma questi farmaci, come l'idroclorotiazide (HCTZ), possono incrementare i livelli di glicemia a digiuno (FG) attraverso una maggiore escrezione di potassio. Inoltre, la perdita di potassio indotta dai tiazidici può contribuire a scatenare un diabete di nuova insorgenza (NOD). E' quindi ovvio che sia importante identificare i segnali predittori di disglicemia indotta dai tiazidici, come sottolineato da un gruppo di lavoro del National Heart Lung and Blood Institute (*Carter BL et al. Hypertension* 2008; 52: 30-36), poiché potrebbe individuare i pazienti in cui il rischio/beneficio è più favorevole per un trattamento con tiazidici in prima linea. Inoltre, è importante notare che un paziente con diabete e ipertensione ha un aumentato rischio cardiovascolare (CV) con esito negativo rispetto ad un paziente con ipertensione soltanto (*Verdecchia P et al. Hypertension* 2004; 43: 963-969).

Il gene *KCNJ1* codifica per il canale renale del potassio midollare (ROMK1), responsabile dell'escrezione di potassio mediante assorbimento del sodio attraverso il canale epiteliale ENaC. Un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP, rs59172778) nel gene *KCNJ1* è stato associato a variazioni in FG (*Maitland-van der Zee AH et al. Am J Hypertens* 2005; 18: 1077-1083) e a diabete di nuova insorgenza (NOD) in pazienti in trattamento con HCTZ (*Elliott WJ et al. Lancet* 2007; 369: 201-207).

Nel presente lavoro, si sono utilizzate coorti derivanti da due grandi studi, il *Pharmacogenomic Evaluation of Antihypertensive Responses (PEAR)* e l'*International Verapamil SR Trandolapril Study (INVEST)* per confermare il ruolo dei polimorfismi nel gene *KCNJ1* e per estenderne i risultati.

Il *PEAR* è uno studio prospettico, randomizzato, a gruppi paralleli per valutare gli effetti farmacogenomici di HCTZ e atenololo, la loro influenza sulla pressione sanguigna (BP) e i loro effetti avversi metabolici. I pazienti del *PEAR* sono di età compresa tra i 17-65 anni, con ipertensione essenziale lieve-moderata, ma senza storia pregressa di disordini cardiaci o diabetici. Dopo 3-8 settimane di *washout*, i pazienti sono stati randomizzati per ricevere HCTZ 12,5 mg o atenololo 50 mg in monoterapia e tale dose poteva essere aumentata sino a 25 mg di idroclorotiazide o 100mg di atenololo al giorno per 6-9settimane. Dopo questa prima fase, ai pazienti poteva essere somministrata la combinazione dei suoi farmaci per ulteriori 6-9 settimane di trattamento. Sono stati determinati i valori di BP, FG, potassio sierico, potassio urinario e insulina plasmatica al basale, dopo monoterapia e dopo successiva terapia in associazione. E' stato studiato l'impatto di 25 SNPs in *KCNJ1* sulle variazioni di FG, combinando i dati della monoterapia con idroclorotiazide con la terapia aggiuntiva a idroclorotiazide.

Lo studio *INVEST* (studio di sicurezza e efficacia di due differenti strategie nel trattamento ipertensivo), invece, è uno studio caso-controllo per valutare l'incidenza degli esiti avversi CV e di NOD in due gruppi di pazienti: il primo gruppo ('calcio-antagonista') ha assunto il verapamil a lento rilascio, seguito dall'aggiunta di un ace-inibitore, il trandolapril, e da un diuretico, idroclorotiazide, se necessario mentre il secondo gruppo ('non-calcio-antagonista') ha assunto un beta-bloccante, l'atenololo, seguito dall'aggiunta di un diuretico a basso dosaggio e dal trandolapril, se necessario. Tutti i pazienti dell'*INVEST* hanno fornito ulteriore consenso informato scritto per gli studi genetici. Sono stati esclusi da questa analisi i pazienti che assumevano farmaci antidiabetici o con storia diabetica al basale.

In entrambe le coorti, la genotipizzazione per gli SNPs di *KCNJ1* è stata realizzata utilizzando il *Human CVD BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA)*. Sono stati valutati ventiquattro SNPs nel gene *KCNJ1*, presenti nel *BeadChip Human CVD*, selezionati per $r^2 > 0,5$ e per l'allele di minore frequenza (*MAF*) $> 0,05$. Nello studio *PEAR* è stata utilizzata l'analisi di regressione lineare per testare l'associazione tra SNPs in *KCNJ1* e aplotipi con modifiche di FG durante il trattamento con HCTZ. Nello studio *INVEST* è stata utilizzata l'analisi di regressione logistica per valutare l'associazione tra SNPs in *KCNJ1* con NOD nei pazienti trattati con HCTZ.

In entrambi gli studi, vi è stata una ulteriore stratificazione dei pazienti in base all'origine etnica: nel primo caso i pazienti sono stati suddivisi in pazienti con e senza origini afro-americane mentre nel secondo sono stati suddivisi in pazienti con origini afro-americane, ispaniche e caucasiche.

Nei pazienti di origine afro-americana dello studio *PEAR* (n=304), uno SNP (rs17137967, *MAF*=0.05) è stato associato con un aumento di FG durante trattamento con HCTZ, dopo correzione FDR ($\beta=8.47$, s.e. 2.45, $P=0.0008$, $P_{FDR}=0.009$), mentre nessuna associazione significativa è stata osservata nei gruppi in trattamento con atenololo. Questi risultati sono rimasti significativi dopo aggiustamento per potassio sierico e urinario e per insulina plasmatica, suggerendo che gli effetti delle varianti *KCNJ1* sono indipendenti dai livelli di potassio e di insulina.

Per quanto riguarda l'*INVEST*, nei pazienti caucasici tre SNPs (rs2238009, rs12795437 e rs11600347) sono stati associati significativamente con un aumentato rischio di NOD durante il trattamento con idroclorotiazide ($P=0,006$, $P_{FDR}=0.04$). Nei pazienti di origine ispanica sono risultati cinque gli SNPs (rs675388, rs1148058, rs658903, rs12795437 e rs3016774) associati a HCTZ-trattamento ($P=0,003$, $P_{FDR}=0,03$). Nei pazienti di origine afro-americana due SNPs sono risultati associati (rs675388 e rs1148059) a rischio NOD durante il trattamento con HCTZ ($P=0.003$, $P_{FDR}=0.02$). Lo SNP rs59172778, precedente menzionato, non è risultato associato a variazione di FG e con NOD. È importante sottolineare che nessuno SNP nel gene *KCNJ1* è stato associato con NOD in pazienti non trattati con HCTZ in nessuno dei tre gruppi. Ciò supporta, come causa di variazione di disglucemia, la significativa associazione tra gli SNPs in *KCNJ1* e trattamento con HCTZ.

Nonostante la potenziale utilità della medicina personalizzata per evitare gli effetti avversi metabolici dei tiazidici, pochi studi hanno indagato la farmacogenetica alla base della disglucemia indotta dai tiazidici (*Irvin MR et al. J Hypertens 2010; 28: 2076-2083*). Anche se i tiazidici aumentano i livelli del glucosio a digiuno

(FG), i meccanismi di disglucemia indotta dai tiazidici non sono pienamente compresi. Questi risultati suggeriscono che le varianti genetiche in *KCNJ1* influiscono sulle variazioni di FG, sia nel HCTZ-trattamento a breve che a lungo termine che sulla disglucemia indotta da HCTZ.

La suddivisione dei pazienti in base all'origine degli antenati indebolisce le conclusioni del lavoro fornendo una ulteriore stratificazione dei pazienti su una base al momento molto dibattuta tra i genetisti. Inoltre, è peculiare che gli Autori, avendo due casistiche a disposizione, non hanno sfruttato un classico disegno di "casistica esploratoria" seguita da "casistica confermativa" ma hanno svolto analisi simili in entrambe le casistiche. Questo ha indebolito le conclusioni del lavoro anche da un punto di vista statistico. Alla luce di queste limitazioni, il gene *KCNJ1* rimane ancora un gene candidato allo studio della disglucemia indotta dalla farmacogenetica dei tiazidici ma ulteriori studi sono necessari per meglio comprendere il ruolo di deplezione di potassio e il ruolo di *KCNJ1* nella NOD.

Vi è un'associazione tra gli SNPs in *KCNJ1* e aplotipi con disglucemia e NOD indotta da HCTZ.

Parole chiave: *KCNJ1*, *ROMK1*, ipertensione, diabete mellito, idroclorotiazide

Riferimento bibliografico

[Karnes JH](#) et al. *The Pharmacogenomics Journal* 2013, 13: 430-436.

VARIANTI GENETICHE NEL PATHWAY FGF COME POTENZIALI MARKERS DEL RISCHIO DI CANCRO OVARICO, DELLA RISPOSTA TERAPEUTICA E DELL' OUTCOME CLINICO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro ovarico è una delle principali cause di morte tra i tumori ginecologici, con una stima di 22.240 nuovi casi e 14.030 morti per il 2013.

Il tasso di sopravvivenza a 5 anni è del 46% e tale dato è rimasto invariato per molto decenni; la principale motivazione è rappresentata dalla mancanza di successo nell'identificazione del cancro ovarico nelle sue fasi iniziali. Ad oggi i risultati ottenuti mediante strategie di screening per ridurre la mortalità, con l'impiego dei biomarkers sierici come CA125 e HE4, non sono stati incoraggianti. Attualmente infatti i suddetti biomarkers sono usati prevalentemente per monitorare la risposta ai chemioterapici e determinare la ricaduta dopo terapia, ma non sono sufficienti per guidare la predizione, lo screening e la prognosi del cancro ovarico. In questo scenario si delinea come di profonda importanza l'identificazione dei markers genetici per l'identificazione del rischio, il monitoraggio della risposta terapeutica e la predizione dell'outcome.

Il cancro ovarico è una malattia multifattoriale e poligenica e quindi una variazione in un singolo gene non è sufficiente a fornire informazioni esaurienti sulla patologia.

Gli FGFs (Fibroblast growth factors) sono una ampia famiglia di fattori di crescita e differenziamento e giocano un ruolo importante nella regolazione cellulare, migrazione, angiogenesi e differenziazione. Diversi studi hanno dimostrato un'alterazione dei geni codificanti i recettori FGF nel cancro ovarico (Gynecol Oncol. 2010 Apr;117(1):125-9. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.12.002. Epub 2010Jan 27. FGFR2 mutations are rare across histologic subtypes of ovarian cancer. Byron SA, Gartside MG, Wellens CL, Goodfellow PJ, Birrer MJ, Campbell IG, Pollock PM.; nt J Cancer. 2012 Aug 15;131(4):E586-91. doi: 10.1002/ijc.27329. Epub 2012 Jan 31. Fibroblast growth factor receptor 4 gene (FGFR4) 388Arg allele predicts prolonged survival and platinum sensitivity in advanced ovarian cancer. Marmé F, Hielscher T, Hug S, Bondong S, Zeillinger R, Castillo-Tong DC, Sehoul J, Braicu I, Vergote I, Isabella C, Mahner S, Ferschke I, Rom J, Sohn C, Schneeweiss A, Altevogt P.); tuttavia gli studi che hanno riportato relazioni tra alterazioni germinali in geni dell'asse FGF-FGFR e cancro ovarico sono molto limitati.

In questo studio sono state analizzate varianti genetiche in 24 geni FGF e FGFR per qualsiasi associazione tra rischio, risposta terapeutica a chemioterapici ed overall survival (OS).

Nell'analisi sono stati coinvolti un totale di 417 casi e 417 controlli. Le età medie erano rispettivamente di 60.73 e 60.3 anni. Per minimizzare l'effetto del trattamento, l'analisi è stata focalizzata solo sui pazienti caucasici che avevano ricevuto operazione chirurgica e chemioterapia basata sul platino (n=319). Per questo gruppo, l'88% dei pazienti avevano un cancro ovarico in stadio avanzato (III-IV) e la sopravvivenza media

era di 48.26 mesi; circa la metà dei pazienti (46%) morirono prima della fine del periodo di follow-up con il 48% di pazienti che andarono in progressione e il 33% non rispondenti a trattamento.

Dei 183 SNPs analizzati in 24 geni, 22 (in 7 geni) hanno mostrato una significatività statistica ($P < 0.05$). Lo SNP con una più alta significatività è stato FGF1 rs7727832: gli individui con almeno una variante allelica esibivano un rischio aumentato di 2.27 fold di cancro ovarico (95% CI, 1.31-3.95, $P = 0.0035$).

Circa la metà delle associazioni significative erano collegate ad un aumentato rischio, mentre l'altra metà conferiva un effetto protettivo. Da questo punto di vista il polimorfismo più importante era FGFR1 rs2288696 (95%CI, 0.51-0.93, $P = 0.017$).

Quattro SNPs (FGF18 rs3806929 (OR, 0.64; 95%CI, 0.44- 0.94), FGF7 rs9920722 (OR, 0.65; 95%CI, 0.44- 0.98), FGF23 rs12812339 (OR, 0.65; 95%CI, 0.43- 0.98), FGF5 rs3733336 (OR, 0.044; 95%CI, 0.19- 0.98), sono risultati significativamente associati con la risposta a trattamento dopo chemioterapia basata dal platino. Interessantemente ognuno di questi loci era associato con risposta favorevole.

11 SNPs da 7 geni erano significativamente associati con OS; in particolare FGF23 rs7961824 era quello con più alta significatività: pazienti con almeno una allele polimorfico avevano il 45% di riduzione del rischio di morte durante il periodo di follow-up. Inoltre tale SNP era associato con una maggiore sopravvivenza se comparato con individui con il genotipo comune per questo locus (58.1 vs 38.0 mesi, $P = 0.005$).

In conclusione, questo è stato il primo studio ad identificare associazioni significative delle varianti genetiche nel pathway FGF-FGFR con rischio di cancro, risposta terapeutica e sopravvivenza. In particolare, l'associazione di SNPs multipli nel suddetto pathway può fornire un approccio molecolare per lo sviluppo di nuovi biomarkers per il cancro ovarico; inoltre queste importanti scoperte delineano l'asse FGF-FGFR come potenziale target terapeutico in questa tipologia di cancro.

Parole chiave: cancro ovarico, chemioterapia basata sul platino, pathway FGF-FGFR

Riferimento bibliografico

[Meng QH](#) et al. *Clin Chem* 2013 Oct 21. [Epub ahead of print]

UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE GENOME-WIDE RILEVA IL RUOLO DEI RECETTORI EFRINICI DI CLASSE A NELL'INSORGENZA DI NEUROPATIA SENSORIALE PERIFERICA INDOTTA DA PACLITAXEL

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Paclitaxel è un farmaco antineoplastico dotato di attività antimitotica, frequentemente utilizzato in terapia di prima linea nei pazienti affetti da tumore alla mammella, all'ovaio, al polmone o alla prostata. Nonostante paclitaxel risulti efficace nel trattamento di differenti tipologie di tumori, il suo profilo tossicologico impone forti limitazioni cliniche nel suo utilizzo. La tossicità dose-limitante del farmaco è rappresentata dall'insorgenza di neuropatia periferica di tipo sensitivo (generalmente assonale, distale, simmetrica e dolorosa), a cui consegue una riduzione della dose somministrata o, nei casi più gravi, la sospensione della terapia. Sono necessari mesi affinché la neuropatia periferica regredisca ed, in alcuni casi, il danno ai nervi periferici è tale da risultare irreversibile. Numerosi studi in letteratura riportano un'associazione tra varianti geniche (ad es. polimorfismi dei geni MDR1/ABCB1, ABCA1, TUBB2A) e la comparsa di neurotossicità indotta da paclitaxel. Il primo studio genome-wide condotto su pazienti affetti da tumore primario alla mammella ed in terapia con paclitaxel ha recentemente evidenziato il ruolo dei geni EPHA5, XKR4 e FGD4 nel modulare la severità e l'insorgenza della neuropatia sensoriale periferica iatrogena (Baldwin et al, 2012). Obiettivo di questo studio di associazione genome-wide è stato quello validare i risultati ottenuti nello studio genome-wide precedente (Baldwin et al, 2012) e di identificare nuove possibili varianti geniche associate alla comparsa di neurotossicità indotta da paclitaxel in una coorte di pazienti oncologici in trattamento con paclitaxel/carboplatino.

Questo studio multicentrico è stato condotto su una coorte di 144 pazienti di origine europea reclutati in tre centri, di cui uno spagnolo (Hospital Universitario Fundación Alcrocón) e due svedesi (Karolinska University Hospital e Linköping University Hospital). *Criteri di inclusione dei pazienti:* età superiore ai 18

anni; regime chemioterapico a base di paclitaxel (175mg/m²) e carboplatino ai fini di trattamento di neoplasia solida; aspettativa di vita ≥ 12 settimane; assenza di chemioterapia, terapia ormonale o radioterapia nelle 4 settimane antecedenti l'inizio del trattamento con paclitaxel/carboplatino; buone funzioni renali, epatiche e del midollo osseo; assenza di precedenti episodi di neuropatia. I dati clinici e demografici dei pazienti sono stati raccolti prospetticamente tramite revisione delle cartelle cliniche e sono stati inseriti in un database elettronico. Al fine di garantire omogeneità nella valutazione della neurotossicità indotta da paclitaxel, i tre centri partecipanti allo studio hanno stilato un questionario comune di valutazione clinica della tossicità sulla base dei "National Cancer Institute Common Toxicity Criteria" (NCI-CTC). Il DNA dei pazienti è stato estratto secondo protocolli standard da sangue periferico e da campioni di saliva. La genotipizzazione è avvenuta mediante tecnologia Infinium BeadChip Human 660WQuad assay. È stato inoltre utilizzato un metodo di imputazione per definire i genotipi di SNPs addizionali a livello dei geni EPHA4, EPHA6, EPHA5, EPHA8 e LIMK2 sulla base dei dati riportati in "1000 Genomes Project".

La dose media cumulativa di paclitaxel alla quale i pazienti hanno sviluppato neuropatia periferica di tipo sensoriale di grado ≥ 2 è di 2046 mg. La comparsa di neurotossicità ha indotto una modificazione del dosaggio del chemioterapico in circa il 25% dei pazienti trattati. Non si è evidenziata alcuna differenza statisticamente significativa nell'incidenza di neuropatia tra pazienti di origine spagnola e pazienti di origine svedese. Non è emersa un'associazione statistica tra l'insorgenza di neurotossicità indotta da paclitaxel ed il sesso dei pazienti, la tipologia e lo stage del tumore, la precedente assunzione di farmaci neurotossici o chemioterapici ($p \geq 0.29$). Nessuno degli SNPs genotipizzati tramite array ha raggiunto la significatività statistica genome-wide ($P < 5 \times 10^{-7}$) nell'analisi di correlazione con la comparsa di neurotossicità indotta da paclitaxel di grado ≥ 2 . La variante maggiormente correlata con l'insorgenza di neurotossicità iatrogena è il polimorfismo rs17348202, localizzato sul gene EPHA4 (HR=4.85, 95% CI: 2.57-9.13, $P=1.02 \times 10^{-6}$). Due SNPs (rs1159057, rs12507286) in completo linkage disequilibrium e localizzati in un blocco LD di circa 50kb comprendente il gene EPHA5, risultano appartenere all'elenco dei 50 SNPs maggiormente correlati con l'insorgenza di neurotossicità (HR=2.01, 95% CI: 1.43-2.84, $P=6.84 \times 10^{-5}$). Non raggiunge la significatività statistica genome-wide lo SNP EPHA5 rs7349683 (HR=1.83, 95% CI: 1.32-2.55, $P=3.33 \times 10^{-4}$), risultato essere il polimorfismo più significativamente associato alla comparsa di neurotossicità iatrogena nel precedente studio genome-wide (Baldwin et al, 2012). Due SNPs intronici (rs301927, rs2413045), rispettivamente localizzati sui geni EPHA6 e LIMK2, si collocano tra i 25 SNPs maggiormente correlati con il rischio di neurotossicità (HR=2.35, 95% CI: 1.57-3.53, $P=3.44 \times 10^{-5}$; HR=2.36, 95% CI: 1.57-3.56, $P=3.67 \times 10^{-5}$). A livello del gene EPHA8 si individuano 3 varianti (rs209709, rs3754005, rs606002) con buoni p values di associazione con la neurotossicità di grado ≥ 2 ($P=1.28 \times 10^{-3}$, $P=9.83 \times 10^{-4}$, $P=3.36 \times 10^{-3}$). Tre SNPs (rs3829306, rs4149023, rs4149013) a livello del gene SLCO1B1, codificante per il trasportatore epatico di paclitaxel (OATP1B1), appartengono all'elenco dei 25 SNPs maggiormente associati alla comparsa di neurotossicità indotta dal chemioterapico. Infine, noti i risultati di un recente studio genome-wide (Baldwin et al, 2012), è stata condotta una metanalisi sugli 8 polimorfismi risultati essere maggiormente correlati, nel precedente studio, con la comparsa di neurotossicità indotta da paclitaxel. Dalla metanalisi è emerso come gli SNPs rs7349683 nel gene EPHA5 ed rs4737264 nel gene XKR4 risultino essere associati alla comparsa di neuropatia sensoriale periferica con una significatività statistica genome-wide (rispettivamente: HR=1.68, 95% CI: 1.42-1.99, $P=1.4 \times 10^{-9}$; HR=1.71, 95% CI: 1.41-2.06, $P=3.11 \times 10^{-8}$).

Lo studio genome-wide conferma le varianti EPHA5 rs7349683 e XKR4 rs4737264 come markers genetici predittivi dell'insorgenza di neuropatia sensoriale periferica in pazienti oncologici in trattamento con paclitaxel/carboplatino.

È noto in letteratura come la via di signalling EphA/efrina-A sia cruciale nello sviluppo del sistema nervoso, nella rigenerazione tissutale e nella progressione tumorale. Lo studio genome-wide qui descritto ha replicato in maniera indipendente l'associazione tra varianti dei geni EPHA5 e XKR4 e l'insorgenza di neuropatia periferica indotta da paclitaxel, proponendo, inoltre, ulteriori loci di suscettibilità in altri geni EPHA e nel gene LIMK2. Considerati nel loro insieme, questi risultati suggeriscono come la variabilità a livello dei geni coinvolti nella funzionalità e nei processi di riparazione dei nervi periferici possa giocare un ruolo chiave nel conferire suscettibilità genetica alla neurotossicità indotta da paclitaxel.

Limiti dello studio: a) inaccuratezza nella valutazione della neuropatia in quanto basata esclusivamente sull'utilizzo dei criteri NCI-CTC; b) il numero limitato di pazienti arruolati nella coorte riduce il potere statistico dello studio; c) non si può escludere che i markers genetici risultati significativi nello studio siano associati esclusivamente alla tossicità indotta da paclitaxel e non a quella dettata dalla somministrazione di carboplatino o della combinazione dei due chemioterapici.

Parole chiave: paclitaxel, neuropatia sensoriale periferica, EPHA5, XKR4

Riferimento bibliografico

[Leandro-García LJ](#) et al. *J Med Genet* 2013, 50(9):599-605

LE VARIANTI GENETICHE DI SLC01B1 E SLC19A1 NELLA RISPOSTA RAPIDA E LA SOPRAVVIVENZA INDOTTA DA IRINOTECANO: UNO STUDIO FARMACOGENETICO PROSPETTICO E MULTICENTRICO SUL CANCRO METASTATICO DEL COLON-RETTO

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Fra le cause di morte per tumore, quella del colon-retto (CRC) risulta una delle principali negli Stati Uniti, in Cina ed in Europa. L'intervento chirurgico, con resezione completa di tutti i siti noti coinvolti, è in grado di migliorare significativamente la sopravvivenza dei pazienti con CRC metastatico (mCRC). La chemioterapia a base di irinotecano e fluropirimidine è uno dei regimi terapeutici chiave per il trattamento del mCRC, ed è in grado di convertire un paziente da uno stato non operabile ad operabile. Ciononostante, solo il 30-50% dei pazienti risponde alla prima linea a base di irinotecano e fluropirimidine. La risposta al trattamento, valutata nelle prime 12 settimane, migliora di molto le probabilità di resezione completa e di maggiore sopravvivenza per i pazienti con mCRC. È quindi di grande interesse identificare preventivamente i pazienti che risponderanno alla terapia nelle prime 12 settimane di trattamento e quelli che purtroppo non avranno una risposta soddisfacente e che dovranno prima possibile passare alla seconda linea di terapia. In letteratura è già stata descritta la correlazione tra alcuni polimorfismi degli enzimi responsabili del metabolismo del 5-fluorouracile (5-FU) e dell'irinotecano ed il rischio ed il grado di tossicità in pazienti con CRC. Non sono al momento noti in letteratura dati che supportano il ruolo di questi polimorfismi nella risposta del tessuto tumorale, rendendo scarse le possibilità di predire la risposta rapida nelle prime 12 settimane.

I trasportatori dei soluti sono coinvolti nella variabilità farmacocinetica dell'irinotecano e dei folati. Ad esempio, il membro 1B1 dei trasportatori di soluti anionici organici (SLC01B1), e nello specifico il polimorfismo rs4149056 (512T>C), è stato associato ad un rischio maggiore di neutropenia di grado 3 in pazienti trattati con irinotecano e cisplatino. L'SLC19A1 (membro 1 della famiglia 19 dei trasportatori di soluti) è in grado di mediare l'uptake intracellulare dei folati e dati in vitro su cellule tumorali di colon hanno dimostrato che l'uptake dei folati gioca un ruolo essenziale sull'efficacia del 5-FU. Non ci sono evidenze in letteratura sulla relazione di questi due trasportatori con la risposta tumorale al trattamento con irinotecano e 5-FU e la sopravvivenza in pazienti con mCRC. Nel lavoro presentato da Huang Liu et al. su Plos One viene descritto uno studio prospettico multicentrico in cui è stato studiato il ruolo dei polimorfismi dei trasportatori di soluti in associazione con la risposta tumorale al FOLFIRI/mCapeIRI (FOLFIRI: irinotecano, 5-FU, leucovorin; mCapeIRI: irinotecano, capecitabina) ed al miglioramento della sopravvivenza. Lo studio è stato condotto in sei centri oncologici nella provincia di Hubei, Cina. I criteri di eleggibilità prevedevano: conferma istologica di adenocarcinoma metastatico non operabile; età compresa tra 18 e 75 anni; malattia misurabile in accordo con i criteri RECIST 1.1; nessuna precedente esposizione ad irinotecano; performance status di Karnofsky maggiore o uguale a 60; nessuna insufficienza renale. L'obiettivo primario dello studio era di definire la correlazione tra varianti genetiche e tasso di risposta rapida (RRR), definita come almeno il 30% di diminuzione del diametro maggiore della lesione nelle prime 12 settimane di chemioterapia. Obiettivi secondari erano la relazione tra le varianti genetiche e il tempo libero da progressione (PFS) e la sopravvivenza globale (OS). I pazienti hanno ricevuto terapia con FOLFIRI o mCapeIRI nelle dosi e nei tempi raccomandati dalle linee guida del National Comprehensive Cancer Network. I polimorfismi dei geni SLC01B1 e SLC19A1 sono stati selezionati utilizzando i seguenti criteri: 1) che avessero una *minor allele frequency* maggiore di 0.15 (nella popolazione Asiatica), 2) che fossero polimorfismi *missense*. Il DNA è stato

estratto da sangue periferico e la genotipizzazione è avvenuta utilizzando la tecnologia Sequenom. I polimorfismi in analisi erano rs2006283 e rs4149056 di SLCO1B1 e rs1051266 di SLC19A1.

Su 120 pazienti considerati disponibili per la valutazione della risposta, 33 pazienti (27.5%) avevano raggiunto una risposta rapida, di questi, 13 pazienti (39.4%) avevano risposto nelle prime 6 settimane di terapia, e 20 pazienti (60.6%) nelle 12 settimane dall'inizio della chemioterapia. Il campione di sangue per la genotipizzazione era disponibile per 98 pazienti, e la risposta valutabile in 87 (88.8%). Non è stata evidenziata alcuna differenza in termini di RRR tra pazienti genotipati e non-genotipati (26.4% vs 30.3%, $p=0.672$). Non c'era alcuna differenza di RRR (27.6% vs 27.5%) e di tempo di sopravvivenza tra il gruppo in terapia con mCapeIRI e FOLFIRI, successivamente quindi non è stata effettuata alcuna analisi di sottogruppo dei differenti regimi terapeutici. La minor allele frequency dei polimorfismi studiati era comparabile con quella riportata nel database NCBI e tutte le varianti era all'equilibrio di Hardy-Weinberg ($p>0.05$).

Sia i polimorfismi rs2306283 (GA/AA) che rs1051266 (GG) erano associati in maniera significativa, dopo analisi univariata di regressione logistica, ad un alto RRR. La RRR era del 40% (14 di 35 pazienti) nel gruppo GA/AA (rs2306283) comparato con il 15.7% (8 di 51 pazienti) del gruppo GG. Invece nel gruppo GG del polimorfismo rs1051266, la RRR era del 45.8% (11 di 24 pazienti) comparata con il 19.4% del gruppo GA/AA (12 di 62 pazienti). Le differenze per i due polimorfismi rimanevano significative anche dopo correzione per false discovery rate e dopo aver aggiustato per le covariate cliniche (sesso, età, performance status e abitudine al fumo). Dopo analisi di Kaplan-Meier, i pazienti con rs2306283 (GA/AA) mostravano una PFS significativamente più lunga ($n=41$, mediana 124 vs 104 giorni, log-rank $p=0.014$) se comparati con quelli con genotipo GG. Anche in analisi multivariata di regressione Cox, rs2306283 (GA/AA) era un fattore prognostico indipendente per la PFS ($n=40$, HR=0.402, 95%CI = 0.17 – 0.95, $p=0.037$). Nessuna associazione è stata osservata tra i polimorfismi rs1051266 e rs4149056 con la PFS. Nessuno degli SNPs analizzati era un fattore predittivo significativo di OS. Non esiste, attualmente, alcun dato funzionale sull'effetto dei due polimorfismi in combinazione nella risposta a FOLFIRI/mCapeIRI.

I risultati del lavoro proposto da Huang *et al.* potrebbero ovviamente portare a risultati contrastanti e non confermati in altre popolazioni, a causa del differente background etnico e di differenti regimi o dosaggi terapeutici. Basti notare come nella popolazione europea la frequenza allelica del polimorfismo rs2306283 è di molto differente rispetto alla popolazione asiatica (A/A - 0.363 vs 0.044, A/G - 0.469 vs 0.314, G/G - 0.168 vs 0.642; rispettivamente europea vs asiatica). Questa differenza non è invece così evidente per il polimorfismo rs1051266 (T/T - 0.161 vs 0.248, C/T - 0.554 vs 0.467, C/C - 0.286 vs 0.285, rispettivamente europea vs asiatica). La differenza di RRR (70% vs 19.7%) risulta tuttavia molto interessante e, se validata, potrebbe fornire sicuramente informazioni utilissime per le decisioni cliniche terapeutiche, aiutando i medici a definire un sottogruppo di pazienti con mCRC candidati alla chemioterapia con FOLFIRI/mCapeIRI prima della chirurgia. A causa però del ridotto numero campionario questi dati non possono essere ancora utilizzati con confidenza, soprattutto quelli estrapolati dai modelli multivariati dove il numero delle covariate è molto alto rispetto al numero degli eventi, comportando intervalli di confidenza molto ampi e rendendo di conseguenza necessaria la ripetizione e la validazione in altre coorti più numerose.

I polimorfismi rs2306283 (SLCO1B1) e rs1051266 (SLC19A1) sono associati al tasso di risposta rapida in pazienti con mCRC in terapia con FOLFIRI/mCapeIRI. Il polimorfismo rs2306283 è inoltre associato alla PFS di questi pazienti.

Conflitto d'interesse: gli Autori non dichiarano alcun conflitto di interesse

Parole chiave: SLCO1B1, SLC19A1, cancro del colon-retto, FOLFIRI

Riferimento bibliografico

[Huang L](#) et al. *PLoS One* 2013, 8(10): e77223

MAPPATURA GENETICA CON LIVELLI MULTIPLI DI INFORMAZIONI FENOTIPICHE RIVELA DETERMINANTI DI SENSIBILITÀ AI GLUCOCORTICOIDI NEI LINFOCITI

A cura delle Dott.sse Marianna Lucafò e Sara De Iudicibus

I glucocorticoidi sono ormoni steroidei endogeni, ampiamente utilizzati come agenti terapeutici per trattare una gran varietà di malattie, quali asma, malattie infiammatorie croniche intestinali, e leucemie. Sebbene i glucocorticoidi siano tra i farmaci più utilizzati e di successo, la risposta clinica a questi agenti è altamente variabile, e di tutti i pazienti trattati solo circa il 30% mostra una buona risposta al trattamento. Il meccanismo di controllo dell'espressione genica da parte dei glucocorticoidi è permesso dal legame con un recettore citoplasmatico (GR), elemento chiave dell'azione dei glucocorticoidi.

Differenze nell'attività trascrizionale individuale potrebbero essere la causa delle variazioni interindividuali nella sensibilità ai glucocorticoidi osservate: è stato infatti dimostrato che i cambiamenti nell'espressione genica mediata dai glucocorticoidi sono correlati con la risposta a questi agenti sia in vitro che in clinica. Inoltre, anche se i fattori ambientali giocano senza dubbio un ruolo importante nel determinare la variabilità di sensibilità individuale al farmaco, è anche evidente un contributo genetico a questo fenomeno.

Per studiare il contributo genetico e di regolazione nella variabilità di risposta ai glucocorticoidi, è stata valutata la sensibilità in vitro a questi agenti in linfociti e l'analisi transcriptome wide in cellule mononucleate (PBMC) di 88 donatori sani afroamericani.

È noto che il test di incorporazione della H3-timidina nei PBMC stimolati con mitogeno è utile a predire la risposta ai glucocorticoidi in diverse patologie. Inoltre la variabilità osservata in vitro nei linfociti dei volontari sani è comparabile a quella di pazienti malati, suggerendo che la sensibilità ai glucocorticoidi è una caratteristica della popolazione in generale e si manifesta come resistenza in clinica quando gli individui sviluppano una malattia per la quale vengono somministrati i glucocorticoidi. Su queste basi, il presente studio ha utilizzato il test d'incorporazione della H3-timidina nei PBMC stimolati con mitogeno e trattati per 48 ore con desametasone, come saggio di risposta ai glucocorticoidi.

Per valutare il ruolo della risposta trascrizionale in correlazione alla sensibilità individuale ai glucocorticoidi, sono stati effettuati studi transcriptome wide per quantificare il pattern di espressione genica in linfociti degli stessi volontari sani analizzati nel test di sensibilità in vitro (85 su 88) trattati per 6 ore con desametasone. Per questi confronti, è stato utilizzato il \log_2 del fold change dell'espressione tra campioni trattati con desametasone e non trattati, come misura della risposta trascrizionale per ciascun gene in ogni donatore, da correlare all' I_{max} (inibizione della proliferazione linfocitaria osservata alla dose di desametasone più alta) e all' IC_{50} (concentrazione di desametasone alla quale si osserva l'inibizione del 50% della proliferazione linfocitaria) estrapolata dal test di sensibilità in vitro. Ventisette tra i geni studiati presentavano un \log_2 fold change significativamente associato all' I_{max} , e la maggior parte di questi geni può essere ricondotto al meccanismo di risposta immunitaria (ad esempio VPRESB3, un mediatore del differenziamento delle cellule B).

Questi risultati insieme alla sensibilità in vitro ai glucocorticoidi sono stati correlati ad analisi di varianti geniche mediante BeadChips (Illumina Omni): dopo aver adottato filtri per minor allele frequency, qualità, equilibrio di Hardy Weinberg e differenze tra le frequenze ottenute nelle varie piattaforme, sono state selezionate 3.952.978 varianti. Queste varianti sono state analizzate mediante studi di associazione genome wide con la sensibilità in vitro ai glucocorticoidi: è stato osservato che il polimorfismo rs11129354 è risultato essere associato all' I_{max} e non all' IC_{50} , ed inoltre sembra controllare la risposta trascrizionale di più geni, tra cui alcuni (14/27) risultati essere associati alla sensibilità in vitro ai glucocorticoidi. Questo polimorfismo è posizionato a 68 kb a valle del gene RBMS3, che codifica per una proteina legante l'RNA e che regola l'espressione di geni bersaglio a livello post-trascrizionale. RBMS3 è noto come oncosoppressore: è stato osservato infatti che, silenziando la sua espressione con l'utilizzo di siRNA, è aumentata la proliferazione dei PBMC in presenza o assenza di desametasone, confermando il ruolo di tale gene anche in queste cellule. L'ipotesi degli autori è che il polimorfismo rs11129354 influenzi la sensibilità in vitro ai glucocorticoidi e quindi la risposta trascrizionale, in quanto elemento cis-acting specifico per la regolazione dell'espressione di RBMS3.

In conclusione gli autori mostrano che la variabilità interindividuale di risposta ai glucocorticoidi può riflettere una variazione nel controllo della trascrizione, che può essere influenzata da un polimorfismo che

agisce in *cis* controllando l'espressione del gene RBMS3, il quale media gli effetti in *trans* interagendo con la risposta trascrizionale e influenzando in ultimo la proliferazione dei linfociti.

Parole chiave: sensibilità ai glucocorticoidi, linfociti, transcriptome wide, rs11129354, RBMS3

Riferimento bibliografico

[Maranville JC](#) et al. *The American Journal of Human Genetics* 2013, 93:1-9

POLIMORFISMI DEL GENE PDLIM5 E RISPOSTA ANTIDEPRESSIVA A BREVE TERMINE NEI PRINCIPALI DISTURBI DEPRESSIVI IN PAZIENTI CINESI

A cura della Dott.ssa Giusy Russomanno

Il disturbo depressivo maggiore (MDD) è uno dei disturbi psichiatrici più comuni e debilitanti. Inoltre, la risposta al trattamento antidepressivo varia notevolmente tra gli individui. Nonostante si attenda un miglioramento del quadro clinico nel 63% dei pazienti, solo il 36,8% di questi non presenta sintomi depressivi significativi dopo il trattamento con un unico antidepressivo, mentre nei restanti casi i pazienti hanno solo una risposta parziale al trattamento, o addirittura si rivelano refrattari o intolleranti al farmaco. Ad oggi non esistono predittori clinici o biomarker di risposta al trattamento antidepressivo e la scelta della terapia è legata a minimizzare gli effetti collaterali più probabili di uno specifico farmaco. È noto che variazioni genetiche sono responsabili, almeno in parte, delle risposte interindividuale ai farmaci, e questo è stato dimostrato anche per diversi farmaci antidepressivi (*Weizman S et al. Neuropsychopharmacol Hung 2012; 14: 87-101*). L'identificazione dei fattori genetici alla base della risposta alla terapia antidepressiva potrebbe rivelarsi un utilissimo strumento per la scelta della terapia ottimale e la riduzione dei casi di non risposta.

PDLIM5 è espresso in diverse regioni cerebrali, come ippocampo, talamo, ipotalamo, amigdala e corteccia. La sua localizzazione cellulare è identica a quella della sinapsina I, coinvolta nel rilascio di diversi neurotrasmettitori. Evidenze farmacologiche hanno suggerito che i sistemi neurotrasmettitoriali monoaminergici e dei secondi messaggeri intracellulari sono coinvolti nella risposta ai farmaci antidepressivi. PDLIM5 interagisce specificamente con la subunità alfa-1B del canale del calcio di tipo N e con la protein-chinasi C-ε, ed è responsabile di un rapido ed efficiente potenziamento dell'attivazione del canale del calcio di PKC nei neuroni (*Chen Y et al. Cell Signal 2006; 18: 215-224.6*).

Diversi studi hanno suggerito che il gene PDLIM5, localizzato sul cromosoma 4q22.3, potrebbe svolgere un ruolo chiave nella fisiopatologia del MDD e di altre malattie psichiatriche (*Zhao T et al. J Psychiatry Neurosci 2009; 34: 199-204*), indicandolo come potenziale target terapeutico per l'azione dei farmaci antidepressivi. Tuttavia, in diverse popolazioni, come quella giapponese (*Iga J et al. Neurosci Lett 2006; 400: 203-207*), non è stata dimostrata tale associazione. La variabilità geografica ed etnica, infatti, potrebbe essere in parte responsabile di tali risultati conflittuali.

Lo studio di *Liu Z et al.* ha avuto l'obiettivo di valutare l'associazione tra le variazioni nella sequenza di PDLIM5 e la risposta ai farmaci antidepressivi in pazienti con MDD. Sono stati selezionati 3 SNPs (rs10008257, rs2433320, 2452600) del gene PDLIM5 ed è stata eseguita un'analisi di associazione tra tali polimorfismi e l'efficacia del trattamento con fluoxetina, un inibitore selettivo della ricaptazione della serotonina (SSRI), in 185 cinesi Han affetti da MDD.

La popolazione in studio consisteva di 252 pazienti ambulatoriali o ricoverati presso il Dipartimento Psichiatrico del Renmin Hospital (Università di Wuhan) con MDD (maschi/femmine: 91/161, età media: 29,67±0,6295). La diagnosi è stata effettuata seguendo i criteri del "Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali", quarta edizione. La gravità del quadro depressivo è stata valutata utilizzando la Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D), che prevede un punteggio massimo di 21. Sono stati selezionati solo i soggetti con un punteggio minimo di 18 su 21, come è previsto per la valutazione risposta al trattamento antidepressivo a breve termine. Sono stati esclusi soggetti con altri disturbi psichiatrici (schizofrenia, disturbo bipolare, sindromi ansiose, disordini della personalità, pregresso tentativo di suicidio) o che facevano uso di sostanze stupefacenti, donne incinta o che erano già state trattate senza successo con fluoxetina. La dose iniziale di fluoxetina somministrata è stata di 20 mg/die, con la possibilità di incrementare la dose in base ai risultati clinici dopo 2 settimane di trattamento fino a 40 mg/die. Non è stata

ammessa la concomitante assunzione di altri farmaci psicotropi, ad eccezione di basse dosi di ipno-inducenti prima di andare a letto. L'efficacia del trattamento è stata valutata mediante lo score ottenuto secondo la HAMD prima e dopo il trattamento con fluoxetina per 6 settimane. Sono stati considerati "responder" i pazienti il cui score è diminuito del 50% dopo 6 settimane di trattamento con fluoxetina.

I 185 pazienti che hanno portato a termine i 6 mesi di terapia sono stati divisi in due gruppi a seconda della loro risposta al trattamento, "responder" e "non-responder". I due gruppi non differivano significativamente per età, sesso e HAMD-score iniziale. I tre SNPs di PDLIM5 valutati erano all'equilibrio di Hardy-Weinberg. La dose media di fluoxetina alla sesta settimana di trattamento per tutti i pazienti è stata 25.91 ± 7.29 mg/die. In 98 (53.0%) pazienti si è osservata una riduzione di almeno il 50% dello score dopo 6 settimane di trattamento.

Il polimorfismo rs2433320 a carico di PDLIM5 è risultato essere associato alla risposta terapeutica con fluoxetina in pazienti con MDD ($\chi^2 = 8.2960$, $df = 2$, $P = 0.0145$). Inoltre, il punteggio HAMD dei pazienti con genotipo GG era significativamente più basso di quello del gruppo genotipo AA e AG a 1, 2, 4 e 6 settimane di trattamento, suggerendo che genotipo GG del polimorfismo rs2433320 è correlato ad una migliore risposta a breve termine al trattamento con SSRI.

I risultati di questo studio supportano l'idea che il gene PDLIM5 sia coinvolto nella risposta antidepressiva nella MDD. Tuttavia questo studio ha diverse limitazioni. Oltre alla bassa numerosità del campione, i pazienti che hanno interrotto il trattamento prima delle sei settimane, i quali non hanno evidentemente tratto beneficio dalla terapia, sono stati esclusi dallo studio. Inoltre, anche se uno studio precedente aveva dimostrato che non vi erano relazioni significative tra i livelli ematici di fluoxetina e la risposta clinica nei pazienti depressi (*Burke WJ et al. Psychopharmacol Bull 1996; 32: 27-32*), la valutazione dei livelli plasmatici di fluoxetina non è stata effettuata.

Il genotipo GG del polimorfismo rs2433320 del gene PDLIM5 potrebbe essere un predittore dell'efficacia del trattamento con SSRI nel disturbo depressivo maggiore (MDD).

Conflitto d'interesse: Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse

Parole chiave: PDLIM5, antidepressivi, farmacogenetica, disturbo depressivo maggiore

Riferimento bibliografico

[Liu Z et al. Int J Clin Exp Med 2013, 6\(8\):677-82.](#)



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 Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB) Dott. ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott. ssa Sara De Iudicibus (Università di Trieste) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Virginia Paribello (Università di Salerno) Dott.ssa Giusy Russomanno (Università di Salerno) Dott.ssa Stefania Cheli (Azienda Ospedaliera Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) |
| 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.