



---

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

---

## Sommario

- Nuove associazioni genetiche con la tossicità midollare indotta da tiopurine in pazienti affetti da malattie infiammatorie intestinali
- Variazioni genetiche nei siti di legame di TP53 predicono l'*outcome* clinico in pazienti affetti da cancro alla prostata
- Approccio farmacocinetico di valutazione dell'effetto dei genotipi *CYP2D6*, *CYP3A*, *ABCB1*, *POR* e *NR1I2* sulla *clearance* del donepezil
- Rapporto di coproporfirina I/(I+III) nelle urine come *marker* surrogato dell'attività di MRP2 o dell'attività di altri trasportatori coinvolti nella *clearance* del metotressato
- Significato del polimorfismo c3435t del gene *Multi-Drug Resistance 1 (MDR1)* nel predire la risposta farmacologica nell'epilessia
- Studio di associazione tra fattori genetici, livelli plasmatici e frequenza di sanguinamento in pazienti trattati con dabigatran
- Linee guida del consorzio per l'attuazione della farmacogenetica clinica (CPIC) per la terapia con codeina e il genotipo del citocromo P450 d6 (*CYP2D6*): aggiornamento 2014
- L'influenza di *FMO1* e di 3 polimorfismi sulla concentrazione sierica di olanzapina e del suo N-ossido metabolita in pazienti psichiatrici

## ⇒ *La metanalisi del mese*

- Genotipo del citocromo *CYP2D6* e Tamoxifen adiuvante: meta-analisi su studi di popolazioni eterogenee

---

## **NUOVE ASSOCIAZIONI GENETICHE CON LA TOSSICITÀ MIDOLLARE INDOTTA DA TIOPURINE IN PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIE INFIAMMATORIE INTESTINALI**

*A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin*

Le tiopurine, come la mercaptopurina e l'azatioprina, sono farmaci efficaci nel trattamento delle malattie infiammatorie intestinali (IBDs), di cui il morbo di Chron e la colite ulcerosa rappresentano le affezioni più comuni. Durante il trattamento farmacologico con tiopurine oltre il 30% dei pazienti affetti da IBDs manifesta effetti avversi, tra cui mielosoppressione, epatotossicità, pancreatiti e reazioni allergiche. La leucopenia è la forma più frequente di mielosoppressione e comporta la sospensione del trattamento con tiopurine in circa il 10% dei pazienti. La variabilità interindividuale nel manifestarsi della mielosoppressione

farmaco-indotta è, in parte, influenzata da polimorfismi dei geni codificanti per enzimi implicati nel metabolismo delle tiopurine. Nello specifico, un deficit dell'attività dell'enzima tiopurina S-metiltransferasi (TPMT) è associato ad un aumento del rischio di mielotossicità in pazienti in trattamento con azatioprina o mercaptopurina. In particolare, le varianti TPMT\*2, TPMT\*3A, TPMT\*3B e TPMT\*3C determinano una ridotta od intermedia attività dell'enzima TPMT. Tuttavia, solo il 30% dei casi di mielosoppressione correlata al trattamento con tiopurine è attribuibile alla presenza delle suddette varianti genetiche. Inoltre, dalla letteratura emerge un possibile ruolo di altri geni (ITPA, AO, XDH, XO, GST, MDR, HPRT) quali determinanti del rischio di tossicità midollare indotta da tiopurine.

Obiettivo dello studio è stato quello di a) identificare nuove varianti genetiche correlate all'insorgenza di mielotossicità in pazienti affetti da malattie infiammatorie intestinali ed in trattamento con tiopurine; b) validare l'impatto delle varianti TPMT\*2, TPMT\*3A, TPMT\*3B e TPMT\*3C sulla suscettibilità alla tossicità midollare indotta da tiopurine.

In questo studio multicentrico sono stati arruolati in maniera prospettica due coorti di pazienti provenienti dalla Spagna (una *esploratoria* ed una di *validazione*). La *coorte esploratoria* comprende 173 pazienti affetti da malattie infiammatorie intestinali (morbo di Crohn: N=107; colite ulcerosa: N=66) ed in trattamento con azatioprina ad una dose iniziale di 2-2.5 mg/kg. *Criteri di esclusione*: concomitante assunzione di farmaci immunosoppressivi (metotrexato, anti-TNF $\alpha$ ) o di altri farmaci con potenziali effetti mielosoppressori (interferone, ciclosporina, tacrolimus o metamizolo). I pazienti appartenenti alla *coorte esploratoria* sono stati genotipizzati per 20000 cSNPs a livello delle regioni codificanti di circa 10000 geni, tramite GeneChip Human 20K cSNP kit (Affimetrix, CA, USA). Dall'analisi sono stati esclusi gli SNPs con una MAF <1% o con una deviazione significativa dall'equilibrio di Hardy-Weinberg ( $P < 1 \times 10^{-3}$ ). Sono stati inoltre valutati i polimorfismi rs1800462, rs1800460 e rs1142345 per il gene TPMT che definiscono gli alleli a bassa attività enzimatica TPMT\*2, \*3A, \*3B e \*3C. I cSNPs selezionati per la replicazione sono stati determinati, mediante spettrometria di massa (Sequenom, CA, USA), nella *coorte di validazione* che comprende 87 pazienti affetti da IBDs (morbo di Crohn: N=60; colite ulcerosa: N=27) ed in trattamento con azatioprina [dose iniziale (range): 2,68 (1.0-3.5) mg/kg/die]. Gli SNP selezionati per la replicazione sono stati valutati inizialmente nella sola *coorte di validazione* e, successivamente, nell'insieme delle due coorti mediante il test Cochran-Mantel-Haenszel, ponendo come soglia per la significatività statistica un valore di  $p < 2.5 \times 10^{-2}$ .

*Coorte esploratoria*. Dei 173 pazienti arruolati nella *coorte esploratoria*, 15 (8,67%) hanno manifestato tossicità midollare indotta da tiopurine. Dopo controllo di qualità, 11710 cSNPs sono stati inclusi nell'analisi di correlazione con l'insorgenza di tossicità midollare indotta da tiopurine. Nessuno degli SNPs analizzati ha raggiunto la significatività statistica richiesta dalla correzione per test multipli secondo la procedura di Bonferroni ( $p < 4.2 \times 10^{-6}$ ). Tra i 20 top SNPs ( $p < 10^{-3}$ ) quelli con *p-value* più basso sono i seguenti: a) la variante rs138593, localizzata sul cromosoma 22 nel locus LOC388910 ( $p = 2.78 \times 10^{-4}$ ); b) tre SNPs nel gene ADH4 (rs1042364:  $P = 3.25 \times 10^{-4}$ ; rs1126673:  $P = 5.69 \times 10^{-4}$ ; rs1126671:  $p = 9.92 \times 10^{-4}$ ); c) le varianti rs3729961 e rs1154400, rispettivamente a livello dei geni IL6ST ed ADH5 ( $p = 5.51 \times 10^{-4}$ ;  $p = 8.53 \times 10^{-4}$ ). Il test per l'associazione allelica e genotipica ha evidenziato per il gene TPMT un modesto grado di correlazione ( $p = 0.048$  e  $p = 0.033$ , rispettivamente).

*Coorte di validazione*. Degli 87 pazienti che costituiscono la *coorte di validazione*, 29 (33.3%) presentano mielosoppressione indotta dal trattamento con tiopurine. Nessuno tra i 20 top SNPs ( $p < 10^{-3}$ ) ed i 3 SNPs del gene TPMT raggiunge nella *coorte di replicazione* la significatività statistica richiesta dalla correzione di Bonferroni ( $p < 2.5 \times 10^{-2}$ ). Tuttavia, l'analisi combinata delle due coorti rivela un'associazione significativa, dopo correzione per test multipli, dei polimorfismi IL6ST rs3729961 ( $p = 2.36 \times 10^{-4}$ ), FSTL5 rs3749598 ( $p = 4.89 \times 10^{-4}$ ) e LOC388910 rs138593 ( $p = 7.91 \times 10^{-4}$ ) con l'insorgenza di tossicità midollare farmaco-indotta.

I risultati ottenuti da questo studio di associazione su larga scala evidenziano come i geni IL6ST e FSTL5 sembrino influenzare la suscettibilità all'insorgenza di mielotossicità nei pazienti in trattamento con tiopurine. E' noto in letteratura come il gene IL6ST, codificante per un segnale di trasduzione delle citochine (gp130), sia implicato nella regolazione di numerosi processi fisiologici e patologici, come apoptosi, malattie croniche autoimmuni (tra cui le IBDs) e cancro. Inoltre, il gene FSTL5, codificante per una proteina in grado di interagire con le metalloproteasi, risulta essere correlato strutturalmente con geni implicati nel catabolismo della matrice cellulare e nella modulazione dell'emopoiesi, come gli MMPs (MMP1, MMP2). I principali

limiti dello studio sono rappresentati da una ridotta numerosità delle due coorti e da possibili differenze tra coorte esplorativa e coorte di validazione relativamente alle caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati, tra cui una superiore incidenza di mielotossicità nella coorte di validazione (33,3% di casi di tossicità) rispetto a quella riscontrata nella coorte esplorativa (8,67% dei casi di tossicità). Inoltre, i polimorfismi o gli alplotipi rari, quali quelli del gene TPMT, che possono avere un effetto clinicamente rilevante, non possono essere valutati adeguatamente in studi di associazione con scarsa potenza statistica.

Questo studio identifica per la prima volta una correlazione tra alcune varianti nei geni IL6ST e FSTL5 e l'insorgenza di mielotossicità indotta da tiopurine in pazienti affetti da malattie infiammatorie intestinali.

**Parole chiave:** tiopurine, malattie infiammatorie intestinali, IL6ST, FSTL5

#### Riferimento bibliografico

[Zabala W](#) et al. *Pharmacogenomics*. 2013 Apr;14(6):631-40.

## VARIAZIONI GENETICHE NEI SITI DI LEGAME DI TP53 PREDICONO L'OUTCOME CLINICO IN PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO ALLA PROSTATA

*A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini*

Il cancro alla prostata (CP) è il terzo per incidenza ed il sesto per mortalità tra gli uomini. Nonostante il miglioramento delle tecniche diagnostiche, come il test per la PSA (*prostate-specific antigen*), appare efficace, la caratterizzazione e il trattamento del cancro prostatico risultano ancora controversi. Il successo terapeutico dipende fortemente dall'identificazione del cancro nello stadio iniziale o della progressione dopo operazione chirurgica, mediante *biomarker* clinici. Ad oggi, quelli meglio conosciuti difficilmente permettono di distinguere tra i pazienti da trattare per interrompere la progressione della malattia e quelli con forme indolenti per cui è preferibile evitare il trattamento farmacologico. Di conseguenza, l'esigenza di avere a disposizione nuovi *biomarker*, atti a fornire informazioni cliniche e patologiche dettagliate, è sempre più forte. La proteina tumorale p53 (TP53) agisce come fattore di trascrizione e regola finemente un ampio spettro di geni in risposta a vari stress cellulari carcinogenesi-relati. L'attivazione di TP53, per esempio, può indurre numerose risposte cellulari mediante l'interazione con altri geni, tra cui riparazione del DNA, arresto del ciclo cellulare, senescenza e apoptosi. Variazioni di sequenza, come polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs), a livello dei siti di legame di TP53 hanno potenzialmente la capacità di colpire l'interazione TP53-DNA, e quindi di alterare l'espressione del gene target.

Date le suddette premesse, in questo studio, sono stati sistematicamente valutati 41 polimorfismi situati a livello dei siti di legame di p53 per l'associazione con le caratteristiche del cancro pancreatico e con l'*outcome* clinico dopo intervento chirurgico.

Nell'analisi sono stati inclusi un totale di 1024 pazienti; tra questi, 321 soggetti, con CP localizzato, e operati mediante prostatectomia radicale (RP) e 605, con CP avanzato in trattamento con deprivazione androgenica (ADT), sono stati seguiti in maniera prospettica. La coorte di pazienti è stata genotipizzata con successo per 34 SNPs.

*Associazione tra SNPs e caratteristiche cliniche del cancro alla prostata.* L'analisi, che ha preso in considerazione età, score di Gleason e stadio clinico alla diagnosi, ha evidenziato che 2 SNPs (ARAP2 rs14444377 e TRPS1 rs722740) erano associati con lo stadio tumorale. In particolare, i pazienti sono stati raggruppati in aventi cancro localizzato (T1/T2) o metastatico/extraprostatico (T3/T4/N1/M1); l'allele minore C di ARAP2 rs14444377, in un modello additivo, è risultato associato con un aumentato rischio di sviluppare cancro extraprostatico o metastatico (OR 1.30, 95% CI 1.06-1.58,  $P = 0.010$ ). Inoltre il genotipo TC/CC di TRPS1 rs722740, nel modello dominante, era associato con lo sviluppo di cancro extraprostatico e metastatico (OR 1.53, 95% CI 1.17-1.99,  $P = 0.002$ ). Non sono stati osservati risultati convincenti per quanto riguarda le associazioni con età o score di Gleason.

*Associazione tra SNPs e PSA recidiva dopo prostatectomia radicale per CP localizzato.* L'analisi univariata dei 34 SNPs, mediante log-rank test, ha mostrato che 3 SNPs (LTBP1 rs1869542, NAALADL2 rs10804858

e CHST11 rs1650136) erano associati con PSA recidiva (definita come due misure consecutive di PSA > 0.2ng/mL ad intervalli di tempo > di 3 mesi); dopo aggiustamento mediante *q value* (per eliminare i falsi positivi), NAALADL2 rs10804858 è rimasto significativo ( $P=0.003$ ), tuttavia dopo analisi multivariata di Cox l'effetto del suddetto SNP è apparso attenuato.

*Associazione tra SNPs e outcome dopo ADT per CP avanzato.* Dall'analisi è emerso che PLEKHA6 rs1980051, POU3F2 rs4601136, FRK rs171866 e GRID1 rs2351361 erano associati con progressione della malattia durante ADT; dopo aggiustamento mediante *q value*, FRK rs171866 ha mantenuto la sua significatività ( $P<0.001$ ); la PFS media era significativamente più bassa nei portatori dell'allele minore A in omozigosi (15 vs 23 mesi). È stata quindi eseguita l'analisi multivariata, con aggiustamento per età, valore di PSA al momento dell'inizio di ADT, *score* di Gleason, stadio clinico; il genotipo FRK rs171866 AA ha mantenuto l'associazione con un rischio di progressione della malattia significativamente più alto se comparato con i genotipi GA e GG (HR 1.52, 95% CI 1.08-2.13,  $P=0.015$ ). PLEKH6 rs1980051, DAB2 rs268091, POU3F2 rs4601136, FRK rs171866 e EXOC4 rs114558 hanno mostrato associazione con la mortalità cancro prostatico-relata (PCSM, *prostate cancer-specific mortality*) ( $P<0.049$ ); dopo aggiustamento per i parametri clinici, DAB2 rs268091 e EXOC4 rs114558 sono rimasti significativi ( $P<0.031$ ). Inoltre analizzando questi due polimorfismi in combinazione, è stato osservato un effetto genotipo-combinato sulla PCSM: ad un maggiore numero di genotipi protettivi corrispondeva un abbassamento del rischio di mortalità ( $P=0.002$ ); il tasso di sopravvivenza a 5 anni aveva infatti una differenza del 24% tra i pazienti con 0 genotipi protettivi ai 2 loci di interesse, rispetto a quelli con 2.

Lo studio nasce da una fusione tra i due comuni approcci di *candidate gene* e *genome wide* per identificare le varianti genetiche nei siti di legame di TP53 come marker prognostici per il cancro alla prostata. Questo è il primo lavoro a delineare un'associazione positiva tra aggressività tumorale, progressione della malattia, sopravvivenza e polimorfismi nel *binding site* di p53. ARAP2, TRPS1, FRK, DAB2 e EXOC4 appartengono a famiglie di proteine implicate in svariate funzioni, tra cui le più importanti sono la regolazione del differenziamento e della trasformazione cellulare, l'apoptosi, la motilità cellulare e l'invasività. Le varianti genetiche, risultate significative dal punto di vista statistico, probabilmente influiscono sull'interazione diretta tra p53 e il promotore del gene target, variando quindi il livello di espressione di quest'ultimo. È dunque possibile che l'effetto di questi polimorfismi sull'*outcome* clinico possa essere il risultato della loro influenza sull'espressione genica di ARAP2, TRPS1, FRK, DAB2 e EXOC4, alterando la sopravvivenza, la migrazione e l'invasività delle cellule prostatiche cancerogene. Tali premesse suggeriscono l'importanza del gene TP53 e dei polimorfismi dei siti di legame nel cancro alla prostata, aprendo le frontiere all'idea che questi possano essere impiegati come *biomarker* per la predizione dell'*outcome* clinico.

In conclusione, questo studio ha evidenziato che 5 SNPs (PLEKH6 rs1980051, DAB2 rs268091, POU3F2 rs4601136, FRK rs171866 e EXOC4 rs114558) localizzati a livello dei siti di legame di TP53, sono associati con aggressività tumorale, progressione della malattia, e sopravvivenza, in pazienti con cancro alla prostata sotto deprivazione androgenica.

**Parole chiave:** cancro alla prostata, prostatectomia e deprivazione androgenica, TP53-*binding sites*

#### Riferimento bibliografico

[Lin VC](#) et al. *Arch Toxicol.* 2014 Jan 22 [Epub ahead of print].

## APPROCCIO FARMACOCINETICO DI VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DEI GENOTIPI CYP2D6, CYP3A, ABCB1, POR E NR1I2 SULLA CLEARANCE DEL DONEPEZIL

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il donepezil è un inibitore dell'acetilcolinesterasi ampiamente utilizzato per la terapia sintomatica della malattia di Alzheimer. Diversi studi riportano un'ampia variabilità nella risposta farmacologica al donepezil, che potrebbe essere in parte dovuta a variazioni genetiche degli enzimi del metabolismo e dei trasportatori. Il donepezil viene escreto in parte immodificato nelle urine (< 20%), subisce reazioni di ossidazioni nel fegato tramite il CYP2D6 ed il 3A e viene coniugato con acido glucuronico. Possono essere distinti 4 tipi di

metabolizzatori CYP2D6: *poor* (PM), *intermediate* (IM), *extensive* (EM) e *ultrarapid* (UM). Alcuni studi hanno valutato gli effetti delle varianti genetiche del CYP2D6 sulla risposta alla terapia, suggerendo che i pazienti con nessuna o bassa attività enzimatica possano avere un *outcome* migliore. Uno studio clinico su un piccolo gruppo di pazienti (n=42) tuttavia non ha riportato un'influenza significativa del genotipo CYP2D6 sui livelli plasmatici di donepezil, ma non era presente nessun PM.

L'informazione predittiva delle varianti genetiche CYP3A sull'attività enzimatica è più limitata. Uno studio clinico ha valutato l'associazione tra diversi polimorfismi del CYP3A4/5 sui livelli plasmatici e la risposta al donepezil, non trovando alcun impatto sul metabolismo. Variazioni in altri geni possono modificare l'attività del CYP3A, come il gene della citocromo P450 ossido-reduttasi (POR), la cui variante POR\*28 in omozigosi è stata associata ad un aumento dell'attività enzimatica in vivo. Il donepezil è anche un substrato della glicoproteina-P (P-gp), trasportatore coinvolto nell'assorbimento, distribuzione ed escrezione di alcuni farmaci. Diversi polimorfismi nel gene ABCB1, che codifica per la P-gp, hanno mostrato un'influenza sull'attività del trasportatore, ma non sono stati osservati effetti sulla concentrazione del farmaco. Infine, il recettore X del pregnano (PXR) è un recettore nucleare codificato dal gene NR1I2, e regola l'espressione di alcuni enzimi e trasportatori, tra cui il CYP3A4 e la P-gp. Il gene NR1I2 può essere attivato da una varietà di xenobiotici e ligandi endogeni, e studi in vitro hanno rivelato che varianti genetiche nelle regioni regolatorie possono indurre l'espressione del CYP3A4.

In questo studio sono stati quantificati gli effetti delle varianti dei geni CYP2D6, CYP3A4/5/7, POR, NR1I2 e ABCB1 sui livelli plasmatici di donepezil. In aggiunta sono state effettuate delle simulazioni per confrontare le concentrazioni plasmatiche medie previste (*average plasma concentrations*,  $C_{av}$ ) per un dosaggio giornaliero di 10 mg in pazienti con genotipi rilevanti. Infine, è stata analizzata la relazione tra concentrazione di donepezil e tossicità e tra genotipo e tossicità.

Sono stati arruolati pazienti in terapia da almeno un mese con donepezil e seguiti presso 4 strutture ospedaliere svizzere. Sono stati prelevati campioni ematici per misurare le concentrazioni plasmatiche del farmaco, le funzioni epatica e renale, la concentrazione di proteine plasmatiche e per effettuare le analisi genetiche. In aggiunta, è stata registrata la presenza di altre malattie, di terapie concomitanti, il consumo di succo di pompelmo, alcol e fumo e l'insorgenza di effetti avversi.

Sono stati arruolati 129 pazienti in terapia con donepezil 5 mg (n=45) o 10 mg (n=82) una volta/die o 5 mg due volte/die (n=2). I campioni ematici sono stati raccolti in media 14 ore dopo l'assunzione del farmaco. La durata media del trattamento era di 1.9 anni (1 mese-8 anni). Le concentrazioni plasmatiche allo *steady-state* di donepezil andavano da 8 a 129 ng/ml.

È stata effettuata dapprima un'analisi univariata prendendo in considerazione variabili non genetiche. L'analisi ha rivelato una influenza significativa del sesso sulla *clearance* del donepezil, con una riduzione del 17% nel sesso femminile (p=0.0018). Le rimanenti caratteristiche demografiche, ambientali e fisiologiche non sono state associate a variazioni farmacocinetiche (p>0.09). Il 5% dei pazienti (n=6) assumeva farmaci potenti inibitori del CYP2D6 ed il 50% (n=65) riceveva moderati inibitori dello stesso enzima. Con l'eccezione di un PM, tutti questi pazienti erano EM. Inoltre, il 2% (n=2) riceveva potenti inibitori del CYP3A4 ed il 29% (n=37) inibitori moderati. Infine, induttori del CYP3A erano somministrati a 4 pazienti (3%). L'analisi ha rivelato che la co-somministrazione di inibitori potenti e moderati del CYP3A4 e di induttori riduce e incrementa la *clearance* del donepezil rispettivamente del 13% e del 45%, mentre gli inibitori del CYP2D6 non sono stati associati a variazioni della cinetica del farmaco. Un paziente con livelli plasmatici molto elevati di donepezil assumeva due inibitori moderati del CYP3A4 (quetiapina e fluoxetina) ed un potente inibitore del CYP2D6 (fluoxetina), mentre un paziente con livelli molto bassi di donepezil assumeva un induttore del CYP3A4 (prednisone). Per escludere che l'effetto del CYP3A4 fosse legato a questi valori anomali, sono state eseguite analisi di sensibilità senza questi pazienti, e poiché l'effetto sulla *clearance* del donepezil non è rimasto significativo queste variabili non sono state mantenute nel modello finale. Il significato clinico delle possibili interazioni con induttori ed inibitori enzimatici pertanto ha bisogno di ulteriori studi per essere definito.

Sono state poi eseguite analisi univariate per valutare l'effetto dei polimorfismi dei geni CYP2D6, CYP3A4/5/7, POR, NR1I2 e ABCB1 sulla *clearance* del donepezil: tra questi, solo i fenotipi del CYP2D6 (PM n=6; eterozigoti EM n=55; omozigoti EM n=65; UM n=2) hanno influenzato significativamente la *clearance* del farmaco (p<0.001). È stata stimata una *clearance* di 5.8, 8.6 e 14.3 l/h rispettivamente per PM,

EM e UM per il CYP2D6, con riduzione del 32% nei PM ed un incremento del 67% degli UM rispetto agli EM.

È stata infine effettuata una simulazione per valutare l'impatto dei polimorfismi sulla  $C_{av}$  del donepezil per un regime di 10 mg/die e sono state confrontate queste concentrazioni con il *range* terapeutico di 30-75 ng/ml suggerito da recenti linee guida. Le  $C_{av}$  stimate erano di 51 ng/ml negli EM, 73 ng/ml nei PM e 30 ng/ml negli UM, con un aumento del 43% ed una riduzione del 41% rispetto agli EM. Considerando la variabilità interindividuale, non ci si aspetta che gli UM possano raggiungere concentrazioni al di sopra del limite superiore di 75 ng/ml, mentre il 43% ed il 6% rispettivamente dei PM e degli EM potrebbero presentare concentrazioni medie oltre questo limite. In contrasto, si stima che il 54% degli UM ed il 3% degli EM possano avere concentrazioni di donepezil al di sotto del limite inferiore di 30 ng/ml, mentre il rischio per i PM risulta essere minimo.

Il 57% dei pazienti non ha riportato eventi avversi, mentre il 43% ne ha presentato almeno uno. Nessuna associazione è stata trovata tra la  $C_{av}$  del donepezil e la presenza di eventi avversi. Anche se non statisticamente significativa, è stata trovata una più alta incidenza di eventi avversi nei PM per il CYP2D6 rispetto al resto della coorte, correlabile alle più alte concentrazioni plasmatiche ( $p=0.13$ ).

Esiste una ampia variabilità nella risposta clinica agli inibitori dell'acetilcolinesterasi e che potrebbe essere legata a polimorfismi dei geni del metabolismo o del trasporto dei farmaci. Pertanto, un adattamento della dose prendendo in considerazione le caratteristiche cliniche e genetiche del paziente, potrebbe aumentare l'efficacia e la tollerabilità. Questo studio è stato il primo a valutare in maniera estesa la farmacogenetica del donepezil. In accordo con i dati presenti in scheda tecnica, l'età, la funzione renale ed il fumo non hanno influenzato la *clearance* del farmaco. Al contrario, è stata individuata una influenza significativa del sesso sulla farmacocinetica, con una riduzione della *clearance* nelle donne. Questa differenza potrebbe essere spiegata da una differenza di peso corporeo, che però non è stata misurata in questo studio.

Nell'analisi dei polimorfismi degli enzimi del metabolismo, solo il *CYP2D6* si è rivelato un determinante maggiore della farmacocinetica del donepezil. Ulteriori studi sono necessari per valutare l'associazione tra questi polimorfismi e l'insorgenza di effetti avversi.

In conclusione, questo studio ha mostrato un'influenza significativa degli alleli del *CYP2D6* sulla farmacocinetica del donepezil, con una eliminazione più lenta nei PM e più rapida negli UM rispetto a quella degli EM. Inoltre, è stata trovata un'influenza del sesso sulla *clearance*. Questi dati contribuiscono ad una migliore conoscenza della variabilità interindividuale della farmacocinetica del donepezil e potrebbero essere utili per migliorare l'efficacia e la sicurezza della terapia.

Un limite dello studio è stato quello di non poter valutare l'impatto delle concentrazioni plasmatiche sull'efficacia del farmaco, data l'inclusione di pazienti con diversi stadi di demenza, e sono necessari ulteriori studi sulla relazione concentrazione-effetto per stabilire un *range* terapeutico basato sull'evidenza.

**Conflitti di interesse:** C.B. Eap ha ricevuto contributi per conferenze ed insegnamenti da AstraZeneca, Essex Chemie, Lundbeck, MSD, Sandoz e Vifor-Pharma nei 3 anni precedenti. Tutti gli autori non hanno ricevuto compensi nei precedenti 3 anni da organizzazioni con possibile interesse nello studio presentato.

**Parole chiave:** malattia di Alzheimer, donepezil, *CYP2D6*, *CYP3A*, *ABCB1*, *POR* e *NR1I2*

#### Riferimento bibliografico

[Noetzli M](#) et al. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 Jan 17 [Epub ahead of print]

---

## RAPPORTO DI COPROPORFIRINA I/(I+III) NELLE URINE COME MARKER SURROGATO DELL'ATTIVITÀ DI MRP2 O DELL'ATTIVITÀ DI ALTRI TRASPORTATORI COINVOLTI NELLA CLEARANCE DEL METOTRESSATO

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini



La variabilità inter- ed intra-individuale nella farmacocinetica del metotressato (MTX) è un problema clinicamente rilevante che si presenta nella gestione del paziente oncologico. L'eliminazione del MTX avviene principalmente per escrezione renale ed è mediata da diversi trasportatori. Ciò giustifica come svariati farmaci che condividono i medesimi trasportatori siano controindicati in associazione a MTX. Il contributo delle variazioni genetiche sulla *clearance* del MTX è stato approfondito in recenti studi che indicano un ruolo sostanziale dei polimorfismi in OATP1B1/SLCO1B1, RCF/SLC19A2 e MRP2/ABCC2. Gli autori del presente lavoro avevano precedentemente dimostrato che il rapporto tra coproporfirina I/(I+III) nelle urine (UCP I/(I+III)), un *marker* comunemente utilizzato per diagnosticare pazienti con la sindrome di Dubin-Johnson, dipende dai polimorfismi di MRP2 e può essere un utile biomarcatore dell'attività del trasportatore nell'uomo. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la variazione inter- ed intra-individuale del rapporto UCP I/(I+III) e comprendere se il suo valore basale potesse essere un determinante della *clearance* del MTX. L'esistenza di questa associazione potrebbe fornire utili informazioni sul ruolo di MRP2 nell'eliminazione del MTX nell'uomo e il rapporto UCP I/(I+III) potrebbe rappresentare uno strumento interessante per predire la capacità dell'individuo di eliminare substrati di MRP2.

Lo studio prospettico COMETH è stato condotto in pazienti ospedalizzati presso l'Ospedale Universitario di Tours e i Dipartimenti di Neurologia ed Ematologia dell'Ospedale Universitario Pitié-Salpêtrière di Parigi. Tutti erano sottoposti a chemioterapia ad alte dosi di MTX per una malattia linfoide. I criteri di esclusione dallo studio prevedevano severo danno renale, severa insufficienza epatica, elevata attività enzimatica epatica, insufficienza respiratoria cronica, gravidanza, allattamento, co-somministrazione di fenitoina, probenecid, trimetoprim, fenilmetazone, salicilati o vaccinazione per la febbre gialla. Pazienti che avevano ricevuto MTX nei 3 mesi precedenti l'arruolamento non sono stati inclusi. I pazienti sono stati monitorati durante l'infusione di MTX ad alte dosi nell'arco di 3 o 24 ore a seconda del regime terapeutico prescritto. È stata effettuata pre-idratazione ed alcalinizzazione delle urine con sodio bicarbonato per mantenere il pH delle urine  $> 7$ . I campioni di plasma per determinare i livelli di MTX sono stati collezionati alle 24, 48 e 72 h ed in seguito ogni 24 ore finché la concentrazione non fosse scesa sotto il livello tossico ( $0.2 \mu\text{mol/L}$ ). Tre differenti campioni di urina sono stati collezionati per determinare il rapporto UCP I/(I+III). Il primo (P1) è stato raccolto prima della somministrazione di MTX e della pre-idratazione alcalina. Per determinare se i livelli mostrassero un legame con i polimorfismi di MRP2 i pazienti sono stati genotipizzati per i principali SNPs con effetto sulla farmacocinetica dei substrati di MRP2 (rs717620, rs227397, rs3740066). Nella valutazione del rapporto UCP I/(I+III) è stata considerata anche l'importanza della co-somministrazione con altri farmaci, che è stata pertanto opportunamente registrata, ed è stato assegnato un punteggio di interazione (*drug interaction score*, DIS). Ai farmaci la cui interazione con MTX fosse nota è stato attribuito il DIS=2, per farmaci che interagissero con i trasportatori del MTX, come MRP2, il DIS=1e per farmaci con nessuna interazione DIS=0. Il secondo campione di urina (P2) è stato raccolto al termine dell'infusione di MTX, ed il terzo (P3) quando il paziente lasciava l'ospedale, per determinare se il rapporto UCP I/(I+III) fosse tornato ai livelli base dopo completa eliminazione di MTX. Le concentrazioni di coproporfirina sono state determinate via HPLC, e i livelli di MTX nel plasma sono stati determinati per due differenti vie di analisi, la cui validazione era già presente in letteratura.

I pazienti analizzati sono stati 81, di questi 40 avevano DIS=2 (39 di questi assumevano benzimidazolo), 39 DIS=1 e solo 9 pazienti DIS=0. I risultati relativi ai polimorfismi di MRP2 erano disponibili per 77 pazienti. Tutti gli SNPs sono risultati in equilibrio di Hardy-Weinberg. I valori basali per P1 di UCP I/(I+III) erano in media  $22.5 \pm 7.9\%$ . Questo valore non dipendeva da polimorfismi di MRP2 e non variava a seconda di altri farmaci co-somministrati ( $P = 0.08$ ). Per quel che riguarda P2 i valori di UCP I/(I+III) erano significativamente maggiori e i valori di P3 significativamente inferiori rispetto ai valori basali P1 (P2:  $33.1 \pm 13.6\%$ ; P2:  $14 \pm 7.9\%$ ) ( $P < 0.001$  vs P1). Pazienti che ricevevano MTX a 3 h dall'infusione presentavano il rapporto UCP I/(I+III) a P2 più alto di coloro che ricevevano MTX per 24 h ( $33.1 \pm 13.5\%$  vs  $22.3 \pm 12.9\%$ ,  $P = 0.02$ ). Le concentrazioni di MTX alla fine dell'infusione erano  $355.5 \pm 195.2 \mu\text{mol/L}$  e  $31.6 \pm 22.1 \mu\text{mol/L}$  per le 3 e le 24 h, rispettivamente. Una correlazione significativa è stata trovata tra P2/P1 e la concentrazione di MTX alla fine dell'infusione ( $r^2=11.3\%$ ,  $P = 0.003$ ). Dalle analisi farmacocinetiche emerge come la *clearance* del MTX dipenda dalla *clearance* della creatinina ( $P < 0.001$ ), dalla differenza del rapporto UCP I/(I+III) tra P2 e P3 ( $P < 0.001$ ) e dalla presenza o assenza di almeno un farmaco con DIS2, in particolare del benzimidazolo ( $P < 0.001$ ). La *clearance* non è correlata al valore basale del rapporto UCP I/(I+III). I risultati clinici confermano che i pazienti con ritardo nell'eliminazione di MTX corrono il maggior rischio di

manifestare almeno una tossicità ( $P = 0.02$ ) e una tossicità severa ( $P = 0.04$ ) da MTX. La manifestazione di tossicità non è risultata dipendere dal valore basale di UCP I/(I+III).

Il rapporto basale UCP I/(I+III) non è associato a polimorfismi di MRP2/ABCC2 e non differisce secondo lo *score* dell'interazione tra farmaci. Cambiamenti significativi in questo rapporto sono stati osservati nel tempo con un incremento a P2 ed un decremento a P3 rispetto a P1 ( $P < 0.001$ ). Il modello indica che la *clearance* di MTX dipende dai cambiamenti di UCP I/(I+III) tra P1 e P3, dall'interazione tra farmaci e dalla *clearance* della creatinina. Il rapporto basale UCP I/(I+III) di per sé non è risultato predittivo della *clearance* di MTX. Tuttavia, UCP I/(I+III) è sensibile alla presenza di MTX e può rappresentare uno strumento per investigare la farmacocinetica del MTX e di altri substrati del trasportatore MRP2.

La popolazione di pazienti con patologie ematiche potrebbe non essere la più appropriata per verificare l'obiettivo del lavoro, in quanto tali pazienti presentano aumentati livelli di porfirine e, in particolare, coproporfirine nelle urine rispetto a soggetti sani. Sebbene il rapporto basale di UCP I/(I+III) non possa essere usato come *marker* per esprimere la *clearance* del MTX, l'infusione ad alte dosi di MTX causa cambiamenti di questo rapporto nel tempo, che quindi può essere considerato un *marker* utile per lo studio della farmacocinetica del MTX e altri substrati dei trasportatori. I risultati dello studio suggeriscono quindi che i trasportatori dei farmaci possono essere modulati dai loro stessi substrati.

**Parole chiave:** MTX, MRP2 (ABCC2), benzimidazolo, interazioni tra farmaci, farmacocinetica

#### Riferimento bibliografico

[Benz-de Bretagne I](#) et al. *Br J Clin Pharmacol* 2014 Jan 17 [Epub ahead of print].

## SIGNIFICATO DEL POLIMORFISMO C3435T DEL GENE *MULTI-DRUG RESISTANCE 1 (MDR1)* NEL PREDIRE LA RISPOSTA FARMACOLOGICA NELL'EPILESSIA

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta e della Prof.ssa Patrizia Romualdi

L'epilessia è la patologia cronica neurologica più frequente; colpisce circa 50 milioni di persone nel mondo. Circa un terzo dei pazienti epilettici non riescono ad avere un controllo adeguato delle crisi anche assumendo un'appropriata terapia antiepilettica. La farmacoresistenza è dovuta a diversi fattori, quali l'età, il genere, l'eziologia ed il tipo di epilessia, fattori ambientali, condizioni di comorbidità, lesioni cerebrali. Lo studio di polimorfismi/mutazioni genetiche forniscono utili informazioni di farmacogenetica nell'ambito della resistenza al trattamento farmacologico.

La glicoproteina-P (PgP) funziona, in maniera energia-dipendente, come un trasportatore di sostanze dall'interno all'esterno della cellula. Questa proteina è un prodotto del gene *ATP-Binding Cassette Subfamily B Member 1 (ABCB1)*, anche noto come gene *multi-drug resistance 1 (MDR1)*. È stato suggerito che la *overexpression* di questi trasportatori riduca l'accumulo dei farmaci antiepilettici nelle regioni attive del focus epilettico e che questo rappresenti un meccanismo nello sviluppo della farmacoresistenza nell'epilessia. L'aumento di espressione cerebrale della PgP sembra sia il risultato di varianti genetiche o di polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) a livello del gene *MDR1*. Precedenti studi hanno dimostrato che lo SNP C3435T nell'esone 26 del gene *MDR1* è associato ad una ridotta concentrazione plasmatica dei substrati della PgP, compresi i farmaci antiepilettici. Poiché è noto che la frequenza di determinati SNPs varia in base alle diverse etnie, lo scopo del presente studio è valutare l'associazione tra SNP C3435T (rs1045642) e la resistenza ai farmaci antiepilettici in una popolazione di pazienti del Sud dell'India.

Nel presente studio sono stati reclutati 220 pazienti epilettici (144 maschi e 76 femmine) con diagnosi di epilessia confermata tramite esame clinico, elettroencefalogramma, tomografia computerizzata e risonanza magnetica. L'età media dei pazienti era  $8.1 \pm 2.4$  (per il gruppo  $< 15$  anni) e  $38.3 \pm 12.2$  per il gruppo di pazienti con più di 15 anni. 44 pazienti avevano un'epilessia generalizzata e 176 avevano un'epilessia parziale complessa. I pazienti con importanti patologie internistiche, neoplasie o altre malattie neurologiche sono stati esclusi dallo studio. 67 pazienti erano in monoterapia con fenitoina o carbamazepina e 153 assumevano una politerapia di 3 o 4 farmaci (clobazam, levetiracetam, carbamazepina, valproato di sodio,



oxcarbazepina). I controlli (n=220) erano volontari, senza evidenze cliniche di malattie cerebrovascolari o epilessia, reclutati dalla stessa area demografica. Il follow-up è stato condotto tramite interviste telefoniche a 1, 3, 6 e 12 mesi. La resistenza ai farmaci antiepilettici è stata definita come la presenza di crisi ricorrenti nei pazienti epilettici, nonostante la corretta assunzione della terapia farmacologica.

I pazienti sono stati genotipizzati per lo SNP C3435T del gene *MDR1* utilizzando la tecnica PCR-RFLP. I risultati dello studio hanno evidenziato una differenza significativa nella distribuzione genotipica tra i pazienti *responders* e i *non-responders*. I *responders* avevano una maggiore frequenza del genotipo CC rispetto ai *non-responders*: il rischio di farmacoresistenza era significativamente maggiore nei pazienti con genotipo TT rispetto ai CC (TT vs CC,  $\chi^2 = 12.52$ ; p = 0.001, Odds ratio = 2.34; 95% CI: 1.94-11.32). Il rischio di farmacoresistenza era significativamente più alto nei *non-responders* con genotipo TT rispetto ai pazienti con il genotipo CC sia per i pazienti affetti da epilessia generalizzata (TT vs CC,  $\chi^2 = 5.19$ ; p = 0.02, Odds ratio = 10; 95% CI: 1.28-78.1) che per i pazienti con epilessia parziale (TT vs CC,  $\chi^2 = 11.79$ ; p < 0.001, Odds ratio = 5.62; 95% CI: 2.01-15.7).

La farmacoresistenza agli antiepilettici è un problema clinico di rilevante entità in quanto coinvolge circa un terzo dei pazienti. La prevalenza di questo fenomeno varia anche in base al gruppo etnico di appartenenza. La glicoproteina transmembrana MDR1/ABCB1 è quella principalmente coinvolta nel trasporto dei farmaci antiepilettici; è stato ipotizzato che la *overexpression* del gene *MDR1* vicino ai foci epilettogeni possa impedire ai farmaci antiepilettici di esercitare gli effetti terapeutici desiderati. Diversi studi hanno investigato l'associazione del polimorfismo C3435T del gene *MDR1* con la risposta farmacologica in diversi gruppi etnici, ma i risultati non sono di univoca interpretazione essendo stato riscontrato un maggior rischio di farmacoresistenza in pazienti portatori dell'allele C in alcuni studi e un maggiore frequenza del genotipo TT nei pazienti resistenti al trattamento in altri studi.

Nel presente studio è stata osservata una significativa associazione del genotipo TT con la farmacoresistenza in pazienti epilettici. Precedenti studi indicano che la presenza dell'allele T possa portare ad un'*overexpression* della proteina MDR1 nelle cellule endoteliali a livello della barriera emato-encefalica. Pertanto la variante genetica C3435T potrebbe influenzare la distribuzione ed il trasporto dei farmaci antiepilettici dalle cellule endoteliali al torrente circolatorio, causando ridotti livelli di farmaco nell'encefalo. Questo fenomeno porterebbe ad una ricorrenza delle crisi e ad una epilessia refrattaria al trattamento farmacologico.

In conclusione, i risultati di questo studio indicano, nella popolazione del Sud dell'India, una significativa associazione tra il polimorfismo C3435T del gene *MDR1* e l'epilessia farmacoresistente.

**Parole chiave:** *MDR1*, epilessia, farmaci antiepilettici, farmacogenetica

**Riferimento bibliografico:**

[Shaheen U](#) et al. *Epilepsy Res* 2014, 108: 251-256.

---

## STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA FATTORI GENETICI, LIVELLI PLASMATICI E FREQUENZA DI SANGUINAMENTO IN PAZIENTI TRATTATI CON DABIGATRAN

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Il trial "Valutazione randomizzata della terapia anticoagulante a lungo termine, RE-LY" ha suggerito che il dabigatran etexilato, somministrato alla dose giornaliera di 110, o 150 mg sia un trattamento superiore alla terapia con warfarin per la prevenzione dell'ictus in pazienti con fibrillazione atriale non valvolare. Il dabigatran è stato associato a un rischio inferiore di sanguinamenti (minori e maggiori), incluso l'emorragia intracranica. Inoltre, al contrario del warfarin, questo nuovo anticoagulante può essere somministrato a dosi fisse senza bisogno di monitorare costantemente il paziente e questo è considerato come un grande vantaggio sia per i pazienti, sia per i medici. Ciononostante, esiste una grande variabilità nelle concentrazioni ematiche dei metaboliti attivi del dabigatran e, per questa ragione, si è sviluppato un interesse rivolto al chiarimento dei meccanismi responsabili. Il dabigatran etexilato è un pro-farmaco rapidamente convertito dalle esterasi,

in particolare dalla esterasi epatica CES1, in farmaco attivo (dabigatran) che agisce come inibitore reversibile della trombina. Esso ha una biodisponibilità media del 6,5%, che è indipendente dalla dose e non è influenzata dalla contemporanea assunzione di cibo. Questo composto è un substrato della glicoproteina-P (ABCB1) e inibitori di tale trasportatore proteico aumentano la biodisponibilità del dabigatran dal 12% al 23%. Per rilevare i suoi intermedi nel plasma, la conversione da dabigatran etexilato a dabigatran deve essere completa. Il picco di concentrazione plasmatica di dabigatran si raggiunge dopo circa 1-3 ore dopo somministrazione orale, l'escrezione renale è di circa l'80% e non esiste un coinvolgimento degli enzimi P450 o di altre ossido-reduttasi nel metabolismo di questo farmaco.

Gli autori di questo studio hanno ipotizzato che fattori genetici possano essere in parte responsabili della variabilità interindividuale delle concentrazioni ematiche dei metaboliti attivi del dabigatran e che tali fattori siano correlati al suo profilo di sicurezza ed efficacia.

In una prima fase di questo studio è stata quindi condotta un'analisi di *genome wide search* su 1490 pazienti di origine europea che avevano partecipato al trial RE-LY. In un secondo momento, gli autori hanno testato i nuovi potenziali marcatori genetici identificati nella prima fase per ricercare un'associazione tra tali fattori e gli out-come di efficacia e sicurezza in 1694 pazienti trattati con dabigatran etexilato. Infine, in 807 pazienti in terapia con warfarin è stato confermato che le associazioni genetiche messe in evidenza fossero specifiche per il dabigatran.

Lo studio RE-LY era stato disegnato come un trial randomizzato con lo scopo di comparare gli effetti di due dosi (110 o 150 mg) di dabigatran, ciascuna somministrata due volte al giorno nell'ambito di una modalità di studio "in cieco", in confronto con la terapia con warfarin in pazienti con fibrillazione atriale.

I criteri d'inclusione nel RE-LY erano: fibrillazione atriale documentata con ECG al momento dello screening, oppure all'interno di sei mesi prima dell'occorrenza di fattori di rischio addizionali quali precedente ictus, o TIA (*Transition Ischemic Attack*), una frazione di eiezione <40%, l'appartenenza alla classe II della classificazione New York Heart Association per lo scompenso cardiaco, o la presenza di sintomi severi di scompenso all'interno dei sei mesi precedenti lo screening, un'età di 75 anni, oppure di 65 anni in presenza di diabete, ipertensione, o malattia coronarica. Un campione di 18113 pazienti è stato arruolato considerando un follow-up di due anni.

Questo, presentato qui, è un sotto studio del RE-LY in cui il primo *outcome* di sicurezza è rappresentato dall'evenienza di emorragia (minore e/o maggiore). L'emorragia maggiore è stata definita come una riduzione dei livelli di emoglobina di almeno 20 g/L, la trasfusione di almeno 2 unità di sangue, oppure sanguinamento sintomatico in un'area critica o organo. Tutte le altre emorragie sono state considerate minori. La genotipizzazione è stata eseguita mediante un chip dell'ILLUMINA Inc. (Illumina Human610-quad DNA analysis bead chip) analizzando 620901 marcatori genetici in 3076 pazienti bianchi di origine europea che avevano partecipato al RE-LY.

Per l'analisi comparativa sui trattamenti sono stati inclusi nello studio 1694 pazienti trattati con dabigatran etexilato (1490 con i dati delle concentrazioni plasmatiche di dabigatran) e 807 pazienti in terapia con warfarin. Per lo studio di associazione con le concentrazioni plasmatiche di dabigatran sono stati testati 551203 SNPs, che hanno superato il controllo qualità della genotipizzazione, e il dosaggio del farmaco è stato eseguito a 1, 3, 6 e 12 mesi dopo la procedura di randomizzazione. Un totale di 1490 pazienti trattati con dabigatran per i quali erano disponibili non solo i dati genetici ma anche quelli farmacocinetici, ottenuti con una tecnica combinata HPLC-spettrometria di massa, sono stati inseriti nell'analisi di associazione. Le concentrazioni plasmatiche di dabigatran sono state aggiustate per variabili come la dose di farmaco, età, sesso, BMI, creatinemia, utilizzo d'inibitori di pompa protonica e inibitori della glicoproteina P (amiodarone, verapamil, diltiazem e chinidina).

I due gruppi di pazienti erano omogenei per le caratteristiche basali considerate tranne che per i valori di pressione diastolica che, nei pazienti trattati con 150 mg di dabigatran, erano più elevati di quelli rilevati nei pazienti in cura con 110 mg di farmaco (78,7 versus 77,4 mm Hg;  $P=0,02$ ) anche se le differenze erano modeste. Come atteso, le concentrazioni plasmatiche (di picco e di valle) di dabigatran erano più elevate nel gruppo trattato alla dose di 150 mg che in quello con 110 mg.

Lo SNP CES1 (rs8192935) è stato associato a una diminuzione pari al 12%, mentre lo SNP ABCB1 (rs4148738) a un incremento del 12% delle concentrazioni plasmatiche di picco. Due polimorfismi nel locus CES1 sono stati correlati con le concentrazioni plasmatiche di valle. Lo SNP avente l'effetto più forte, l'rs2244613, è stato associato con una diminuzione del 15% delle concentrazioni plasmatiche di valle.

In considerazione di questi risultati, gli autori hanno suggerito che si possa prevedere che, per quanto riguarda lo SNP rs2244613, il 29,4% dei pazienti, portatori di almeno un allele minore, avranno valori delle concentrazioni plasmatiche di valle più bassi del 15% e che il 3,4%, portatori di due alleli minori, avranno valori più bassi del 28%. I due polimorfismi CES1 (rs8192935 e rs2244613) sono in *linkage disequilibrium*, ma non è stata trovata un'associazione più significativa tra gli aplotipi e le concentrazioni plasmatiche di dabigatran. Le associazioni genetiche erano valide per entrambe le dosi di farmaco testate.

Una correlazione è stata dimostrata anche tra i tre SNPs identificati e parametri farmacocinetici, quali la biodisponibilità, il volume di distribuzione e la clearance del dabigatran.

Per quanto attiene agli outcome clinici, l'analisi di associazione è stata condotta in 1694 pazienti trattati con il farmaco. Lo SNP CES1 (rs2244613) è stato correlato all'evenienza di emorragia (n=587) con un odds ratio di 0,67 per allele minore considerando entrambe le dosi di farmaco somministrate.

Dopo un'analisi multivariata lo SNP CES1 (rs2244613) rimaneva associato con l'evenienza di emorragia, assieme alle variabili età e co-somministrazione d'inibitori di pompa protonica. Studi precedenti avevano messo in luce un incremento della frequenza di emorragie a livello gastrointestinale associato alla terapia con dabigatran e rivaroxaban in comparazione con il trattamento con il warfarin. Le analisi svolte in questo studio hanno confermato questo dato, anche se il numero di emorragie minori gastrointestinali (n=36) e di sanguinamenti maggiori extragastrointestinali (n=38) era limitato. Infine, non è stata rilevata nessuna associazione con eventi ischemici. Dallo studio di comparazione tra dabigatran e warfarin è emerso che i pazienti, caratterizzati per gli alleli varianti degli SNPs identificati e trattati con il dabigatran subivano meno sanguinamenti di quelli trattati con il warfarin, tuttavia, nessuna differenza è stata osservata tra i due gruppi di trattamento nei pazienti non portatori di tali varianti genetiche.

In questo studio è stata svolta un'analisi farmacogenetica per stabilire le eventuali associazioni esistenti tra fattori genetici e la risposta alla terapia con il nuovo anticoagulante orale, dabigatran in 1694 pazienti che avevano partecipato al trial RE-LY.

Il polimorfismo intronico rs2244613 nel gene CES1 è stato correlato con una diminuzione delle concentrazioni plasmatiche (di valle) e con un rischio più basso di sanguinamento. Gli SNPs rs8192935 del gene CES1 e il polimorfismo rs4148738 del gene ABCB1 sono stati associati con le concentrazioni plasmatiche di picco di dabigatran, ma non con gli *outcome* clinici. Questi risultati mettono in luce l'influenza delle esterasi e della glicoproteina P nella determinazione delle concentrazioni di dabigatran e suggeriscono un ruolo dello SNP rs2244613 del gene CES1 come un fattore genetico importante per prevedere gli esiti clinici della terapia anticoagulante con il dabigatran.

Il gene CES1 codifica per la carbossiesterasi 1, responsabile della biotrasformazione del dabigatran etexilato in dabigatran (il metabolita attivo). Il CES1 fa parte di un cluster di geni codificanti per le esterasi (CES4, CES7, CES5A) e non è possibile escludere che polimorfismi in altri geni appartenenti a questa famiglia di enzimi possano avere un effetto simile. Il dabigatran etexilato, ma non il dabigatran è un substrato dell'ABCB1 e gli inibitori ABCB1 inducono un aumento della biodisponibilità dal 10% al 20% di dabigatran. Il polimorfismo rs4148738 è stato correlato alle concentrazioni di picco ed è in *linkage disequilibrium* con lo SNP C3435T (rs1045642), che è già stato riportato essere correlato al metabolismo di altri farmaci. La relazione tra il polimorfismo rs2244613 con il sanguinamento è coerente con il suo effetto sulle concentrazioni plasmatiche di valle del dabigatran (a entrambe le dosi testate). Inoltre, la correlazione tra le concentrazioni di dabigatran e l'evenienza di eventi ischemici sembrerebbe più debole di quella dimostrata per il rischio di sanguinamento, tuttavia, ulteriori studi statisticamente più potenti sarebbero necessari per confermare l'assenza di quest'associazione.

Questo studio dimostra che i loci genici CES1 e ABCB1 sono associati con la farmacocinetica del dabigatran. Lo SNP rs2244613, presente in forma variante nel 32,8% dei pazienti, sembra avere l'effetto più forte sulle concentrazioni plasmatiche di questo nuovo anticoagulante orale ed è correlato all'incidenza di sanguinamenti sia minori, che maggiori. L'introduzione della genotipizzazione nella pratica clinica potrebbe aiutare i medici nella scelta della dose ottimale di dabigatran garantendo il miglior equilibrio tra rischio e beneficio. Dallo studio di comparazione tra la terapia con dabigatran e warfarin, è emerso che i pazienti portatori di alleli varianti per gli SNPs identificati di CES1 e ABCB1 e trattati con il dabigatran subivano meno sanguinamenti dei pazienti trattati con il warfarin.

E' doveroso rilevare l'assenza in questo studio di un'analisi comparativa con pazienti trattati con warfarin e genotipizzati per i polimorfismi del CYP2C9 e VKORC1 ai quali è stato già accordato un effetto farmacogenetico molto importante.

**Parole chiave:** dabigatran, dabigatran etexilato, warfarin, sanguinamento, esterasi, farmacocinetica

#### Riferimento bibliografico

[Paré G](#) et al. *Circulation* 2013, 127(13): 1404-12

## LINEE GUIDA DEL CONSORZIO PER L'ATTUAZIONE DELLA FARMACOGENETICA CLINICA (CPIC) PER LA TERAPIA CON CODEINA E IL GENOTIPO DEL CITOCROMO P450 D6 (CYP2D6): AGGIORNAMENTO 2014

*A cura della Dott.ssa Cheli Stefania*

La codeina è un oppioide analgesico indicato per il sollievo del dolore da lieve a moderatamente grave. Le proprietà analgesiche della codeina derivano dalla sua conversione in morfina e in morfina-6-glucuronide, dato che la codeina ha un'affinità 200 volte più debole per i recettori  $\mu$ -oppioidi rispetto alla morfina. Sia la codeina che la morfina hanno anche proprietà sedative della tosse. L'O-demetilazione della codeina in morfina da parte dell'enzima CYP2D6, che è essenziale per l'attività oppioide nei metabolizzatori estensivi, è responsabile solo del 5-10% della *clearance* della codeina. La percentuale di codeina convertita in morfina può essere molto più elevata nei metabolizzatori ultrarapidi e può essere influenzata da interazioni con altri farmaci. Le reazioni avverse più comuni alla codeina comprendono: nausea, vomito, sonnolenza, stordimento, vertigini, sedazione, mancanza di respiro, costipazione e prurito. Le reazioni avverse gravi comprendono: depressione respiratoria, raramente depressione circolatoria, arresto respiratorio, shock e arresto cardiaco. L'associazione del fenotipo metabolizzatore dell'enzima CYP2D6 con la formazione di morfina a partire da codeina è stata ben caratterizzata. Studi di farmacocinetica e farmacodinamica mostrano una diminuzione dei livelli di morfina, con conseguente diminuzione dell'attività analgesica, nei metabolizzatori lenti trattati con codeina rispetto ai metabolizzatori estensivi. Inoltre, nei metabolizzatori lenti rispetto agli estensivi, è stata riportata una ridotta incidenza di effetti collaterali gastrointestinali (ad esempio, costipazione) mentre non si sono osservate differenze per quanto riguarda gli effetti collaterali centrali (ad esempio, sedazione, nausea e bocca secca). Al contrario, studi di farmacocinetica dimostrano un aumento della conversione di codeina in morfina nei metabolizzatori ultrarapidi del CYP2D6 rispetto agli estensivi, che può portare a concentrazioni sistemiche tossiche di morfina anche a basse dosi di codeina. Tuttavia, una grande variabilità individuale è stata osservata anche all'interno dei pazienti genotipizzati come metabolizzatori estensivi, ed è possibile che alcuni di questi soggetti possano sviluppare sintomi simili a quelli dei pazienti con genotipo ultrarapido. I meccanismi genomici o ambientali che causano notevoli variazioni tra individui con lo stesso diplotipo sono ancora sconosciuti. Diversi *case reports* riportano l'insorgenza di gravi o fatali effetti collaterali dopo somministrazione di dosi standard di codeina nei metabolizzatori ultrarapidi. L'attività del gene CYP2D6 controlla, pertanto, sia l'efficacia che la sicurezza dell'utilizzo di codeina. Poiché i polimorfismi genetici sono una delle principali cause di variabilità dell'attività del CYP2D6, gli autori forniscono delle raccomandazioni terapeutiche per l'utilizzo di codeina basato sul genotipo del CYP2D6. Questo documento è un aggiornamento delle linee guida del consorzio per l'attuazione della farmacogenetica clinica (CPIC) del 2012 per la terapia con codeina sulla base del genotipo del CYP2D6. **Raccomandazioni terapeutiche.** La dose iniziale standard di codeina, come raccomandato nell'etichetta del prodotto, è raccomandata nei pazienti con fenotipo metabolizzatore estensivo (individui con due alleli funzionali o a ridotta funzione o un allele funzionale con uno a ridotta funzione o non funzionale; *score* di attività dell'enzima CYP2D6 di 1,0-2,0). Analogamente, una dose standard di codeina è consigliata nei pazienti con un fenotipo metabolizzatore intermedio (individui con un allele a ridotta funzione e un allele non funzionale; *score* di attività dell'enzima di 0,5); questi pazienti devono però essere strettamente monitorati per la risposta e qualora questa non sia ottimale si dovrebbe considerare un analgesico alternativo. Nei metabolizzatori lenti (individui privi di alleli funzionali; *score* di attività dell'enzima pari a 0), le attuali evidenze supportano l'uso di un analgesico alternativo al posto della codeina, a causa della possibile mancanza di effetto. Nei metabolizzatori lenti è raccomandato l'uso di farmaci diversi da tramadolo,

idrocodone, o ossicodone, essendo a loro volta substrati del CYP2D6. In letteratura, non ci sono evidenze sufficienti per raccomandare una dose maggiore di codeina nei metabolizzatori lenti, soprattutto considerando che gli effetti avversi non differiscono tra metabolizzatori lenti ed estensivi. Nei metabolizzatori ultrarapidi (individui con più di due copie di alleli funzionali; "esempio score" di attività del CYP2D6 >2.0), la scelta di un analgesico alternativo dovrebbe essere fatta per evitare il rischio di gravi tossicità da dosi normali di codeina. Oppioidi che non sono metabolizzati dal CYP2D6, tra cui morfina, ossimorfone, buprenorfina, fentanyl, metadone ed idromorfone insieme ad analgesici non oppiacei, possono essere utilizzati come alternativa nei metabolizzatori lenti ed ultrarapidi in base al tipo, alla gravità e alla cronicità del dolore da trattare. **Pediatria.** L'attività funzionale del CYP2D6 non è espressa in modo apprezzabile nel fegato fetale ma aumenta rapidamente dopo la nascita. Nel periodo neonatale, sia l'ontogenesi che le variazioni genetiche contribuiscono alla variabilità interindividuale nella disposizione dei substrati del CYP2D6 e questi sono coerenti con l'attività funzionale dell'enzima acquisita in concomitanza con la maturazione degli altri sistemi, come la funzione renale. Complessivamente, i dati disponibili sostengono che, oltre il primo mese di vita postnatale, la variabilità dell'attività del CYP2D6 sia determinata prevalentemente dalla variabilità genetica che dall'ontogenesi. Pertanto, nei bambini come negli adulti, il genotipo del CYP2D6 dovrebbe essere altrettanto affidabile per poter dedurre il fenotipo. La codeina non è raccomandata nei bambini di meno di 2 anni di età, ma potrebbe avere conseguenze pericolose nei neonati e nei giovani bambini che sono metabolizzatori ultrarapidi. **Neonati allattati al seno.** La codeina ed i suoi metaboliti, tra cui la morfina, sono secreti nel latte materno, ma la quantità è in genere bassa e dose-dipendente. Tuttavia, le donne che allattano al seno e che presentano un fenotipo metabolizzatore ultrarapido possono raggiungere concentrazioni sieriche elevate di morfina a dosi standard di codeina. Questo può portare ad alti livelli di morfina nel latte materno e ad un'esposizione pericolosamente alta di morfina nei loro neonati allattati al seno. In particolare, è stato descritto un avvelenamento fatale da oppioidi in un neonato allattato al seno da una madre, metabolizzatore ultrarapido, che riceveva codeina. Casi come questo hanno spinto la FDA e le agenzie di regolamentazione degli Stati Uniti e del Canada a modificare l'etichetta della codeina riportando l'aumento del rischio di *overdose* di morfina nei neonati allattati al seno da madri, metabolizzatori ultrarapidi, che assumono codeina. Un recente studio ha dimostrato che l'uso delle linee guida di sicurezza *post-partum* può migliorare la sicurezza di esposizione alla codeina in neonati allattati al seno, a prescindere dal loro genotipo CYP2D6. Tuttavia, nelle donne che allattano al seno, cautela nella prescrizione di codeina uno deve essere usata se si tratta di metabolizzatori ultrarapidi. **Uso di codeina dopo tonsillectomia con o senza adenoidectomia.** Nell'agosto del 2012, la FDA ha emanato un annuncio di sicurezza che avvisava circa l'utilizzo della codeina nei bambini, in particolare dopo tonsillectomia con o senza adenoidectomia per apnea ostruttiva del sonno. Nel febbraio del 2013, la FDA ha rafforzato l'annuncio di sicurezza inserendo un nuovo allarme contro l'uso di codeina per gestire il dolore post-operatorio nei bambini dopo tonsillectomia con o senza adenoidectomia. Tale allarme è stato inserito dalla FDA come risposta ad un'ulteriore revisione sui decessi e le gravi reazioni avverse relative all'utilizzo di codeina. L'avviso della FDA è applicabile a tutti i bambini sottoposti a tonsillectomia con o senza adenoidectomia, a prescindere dal loro stato di apnea del sonno o di genotipo/fenotipo del CYP2D6. Nel luglio 2013 l'AIFA ha disposto il ritiro di medicinali contenenti codeina ad uso esclusivo nei bambini al di sotto dei 12 anni. **Benefici potenziali e rischi per il paziente.** La valutazione del genotipo CYP2D6 può portare all'identificazione dei pazienti a rischio d'inefficace analgesia o di eventi avversi; per tali pazienti un analgesico alternativo può essere indicato.

Questo documento riporta raccomandazioni terapeutiche all'uso della codeina, in funzione del genotipo del CYP2D6: la dose iniziale standard di codeina è raccomandata nei pazienti con fenotipo metabolizzatore estensivo o intermedio. Nei metabolizzatori lenti le attuali evidenze supportano l'uso di un analgesico alternativo, non substrato del CYP2D6 al posto della codeina, a causa della possibile mancanza di effetto.

**Parole chiave:** codeina, morfina, CYP2D6, metabolizzatore

#### Riferimento bibliografico

[Crews KR](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2014 Jan 23 [Epub ahead of print]



## L'INFLUENZA DI FMO1 E DI 3 POLIMORFISMI SULLA CONCENTRAZIONE SIERICA DI OLANZAPINA E DEL SUO N-OSSIDO METABOLITA IN PAZIENTI PSICHIATRICI

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

L'olanzapina (OLA) è l'antipsicotico maggiormente prescritto nel trattamento della schizofrenia e dei disturbi bipolari. Tuttavia l'olanzapina mostra ampia variabilità interindividuale nella concentrazione sierica in monitoraggio terapeutico (TDM) di routine (Skogh E et al. *Ther Drug Monit* 2002, 24:518-526 ; Gex-Fabry M et al. *Ther Drug Monit* 2003, 25:46-53).

Sebbene il ruolo degli enzimi CYP1A2, CYP2D6 e UGT1A4 sia stato ampiamente esplorato, poco si sa circa il ruolo *in vivo* della flavina monoossigenasi (FMO) che *in vitro* catalizza la N-ossidazione di OLA. Ad oggi, due polimorfismi funzionali metabolici, UGT1A4-L48V e CYP1A2\*1F, sono stati associati a ridotte concentrazioni sieriche di OLA (Laika B et al. *Pharmacogenomics J* 2010, 10:20-29 ; Mao M et al. *J Clin Psychopharmacol* 2012, 32:287-289), mentre non è stato riportato nessun effetto significativo del CYP2D6 sulla cinetica di OLA. La FM03 è stata indicata *in vitro* come uno dei principali enzimi coinvolti nel metabolismo di OLA (N-ossidazione), ma i dati sul ruolo degli FMOs sulla biodisponibilità di OLA *in vivo* ad oggi sono scarsi. Due polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs, rs10912765 e rs7877) nella regione 3' non codificante del gene FMO1 sono stati associati a dipendenza da nicotina e questo risultato è coerente essendo l'S-nicotina un substrato di FMO1 (Hinrichs AL et al. *Pharmacogenet Genomics* 2011, 21:397-402). Precedentemente gli autori di questo studio hanno osservato un'associazione tra le concentrazioni di OLA nel liquido cerebrospinale e FMO1\*6/FM03rs3754491 (FM03 g.-2177G>C) in pazienti trattati con OLA come unico farmaco antipsicotico (Mao M et al. *J Clin Psychopharmacol* 2012, 32:287-289).

Lo scopo, quindi, del lavoro di MM Soderberg et al. è stato quello di verificare ulteriormente i risultati ottenuti precedentemente e valutare l'influenza degli SNPs in FMO1 e in FMO3 sulle concentrazioni sieriche allo stato stazionario di OLA e del suo N-ossido metabolita in 379 pazienti. I polimorfismi rs12720462, rs10912765 e rs7877 di FMO1 sono stati identificati basandosi sui dati in letteratura.

Tutti i pazienti inclusi nello studio erano di origine caucasica. I sieri di OLA sono stati ottenuti dal TDM di routine di pazienti in trattamento con OLA presso il Centro di Psicofarmacologia, Diakonhjemmet Hospital, Oslo, Norvegia, nel periodo di luglio 2007-dicembre 2010. Lo studio è stato approvato dalle autorità norvegesi. Per l'attuale normativa delle biobanche, i campioni di DNA per la genotipizzazione possono essere conservati per 10 anni, mentre i campioni di siero per la determinazione della concentrazione dei farmaci possono essere conservati solo per 3 mesi. Quindi l'analisi per la determinazione dell'OLA-N-ossido metabolita è stato possibile solo per un sottogruppo di 123 pazienti. Il DNA è stato ottenuto dai leucociti di sangue periferico, utilizzando E.Z.N.A. Blood DNA Mini Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA). I criteri di inclusione sono stati: (a) il tempo tra l'ultima assunzione del farmaco e il campionamento del siero (10-30h), (b) le concentrazioni sieriche OLA sopra il limite inferiore di quantificazione e (c) nessun uso concomitante di farmaci capaci di interagire con la farmacocinetica di OLA (ad es. carbamazepina e fluvoxamina) ad eccezione del valproato. Per il TDM di OLA sono state richieste informazioni sulle date di inizio trattamento e/o per l'ultimo adeguamento di dose, l'orario dell'ultima assunzione del farmaco prima del campionamento e i tempi del campionamento. Queste informazioni sono state utilizzate per valutare quali campioni rispettavano i criteri per lo stato stazionario (entro >3 emivite di OLA, cioè, minimo 4-5 giorni) e per il valore di valle. Le concentrazioni sieriche di OLA e Ola-N-ossido sono state adeguate alle dosi giornaliere (C/D). Per il sottogruppo dei 123 pazienti è stata valutata la deviazione dalla popolazione complessiva in studio per età, sesso, abitudine al fumo, co-somministrazione di valproato, MAFs e C/D di OLA, utilizzando il test di Mann-Whitney (per le variabili continue) oppure il test di Fisher (per le variabili categoriche).

I risultati confermano che il polimorfismo FMO1\*6 è associato ad incremento nelle concentrazioni sieriche di OLA (C/Ds, P=0,008), con un effetto ulteriormente rafforzato dalla presenza dell'allele FMO1 rs7877C>T nei fumatori. La comedicazione con valproato e l'età non sono stati identificati come fattori significativi. Nessuno dei polimorfismi FMO1 ha mostrato associazione significativa con C/D di OLA-N-ossido. L'influenza dei polimorfismi in FMO3 è stata limitata alla variabilità in OLA-N-ossido. I portatori omozigoti FMO3rs2266780A>G (p.E308G) mostrano una diminuzione di circa il 50 % in C/D Ola-N-ossido rispetto ai pazienti omo/eterozigoti per la A-variante (P<0,003).



Ci sono alcune limitazioni metodologiche associate all'uso dei dati di TDM negli studi farmacocinetici. Queste limitazioni comprendono la potenziale deviazione da condizioni stazionarie, i potenziali problemi di conformità e di altri fattori concomitanti come la non dichiarata comedicazione dei pazienti con farmaci o sostanze a base di erbe, che potrebbero influenzare i livelli di C/D OLA e i rapporti del farmaco immodificato con i suoi metaboliti. Tuttavia, gli studi TDM possono consentire l'inclusione di campioni di dati più ampi, che spesso superano queste limitazioni.

I due comuni polimorfismi di FMO1, rs12720462C>A (FMO1\*6) rs7877C>T, sono stati associati ad incremento sierico allo stato stazionario nell'esposizione di Ola tra i fumatori, mentre nessuna influenza significativa è stata riconosciuta agli SNPs di FMO3. Il meccanismo dell'influenza di FMO1 associata alla clearance metabolica di Ola ha bisogno di essere ulteriormente chiarito ma potrebbe essere spiegato da un ridotto metabolismo di primo passaggio FMO1-catalizzato della OLA nell'intestino. I livelli di OLA-N-ossido sono risultati nella maggior parte dei pazienti <10% rispetto a OLA. La notevole influenza di FMO3 rs2266780A>G (p.E308G) su C/D di OLA-N-ossido supporta l'influenza di questa variante sull'attività enzimatica di FMO3 e il ruolo dell'enzima FMO3 nella OLA-N-ossidazione in vivo. I polimorfismi valutati nel presente studio contribuiscono solo in misura limitata a determinare la variabilità complessiva che si verifica nel metabolismo di Ola nella popolazione in trattamento. Si rendono quindi necessari ulteriori studi che possano confrontare e verificare i risultati ottenuti, incrociandoli con i dati già presenti in letteratura per poter determinare maggiori influenze.

La variante funzionale \*6 di FMO1 influenza l'OLA-biodisponibilità e l'enzima FMO3 conferma il suo ruolo nella N-ossidazione di OLA.

**Parole chiave:** FM01, FM03, olanzapina, l'olanzapina N-ossido

**Riferimento bibliografico**

[Söderberg MM](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2013, 13: 544-50.

## LA METANALISI DEL MESE

### GENOTIPO DEL CITOCROMO CYP2D6 E TAMOXIFEN ADIUVANTE: META-ANALISI SU STUDI DI POPOLAZIONI ETEROGENEE

*A cura del Dott. Vittorio Simeon*

Il tamoxifen è ampiamente utilizzato, e con successo, per la terapia adiuvante a lungo termine nel trattamento del cancro del seno. In numerosi *trial* clinici è emersa l'evidenza che le pazienti positive per i recettori degli estrogeni (ER) possono avere un vantaggio in termini di sopravvivenza rispetto alle pazienti che non esprimono questo recettore. Nell'era della medicina personalizzata, ogni possibilità di migliorare il tasso di risposta ad un trattamento farmacologico, come quello con tamoxifen, dovrebbe essere sempre rigorosamente approfondita. Il tamoxifen è un pro-farmaco metabolizzato dal citocromo epatico P450 2D6 (CYP2D6) nei suoi metaboliti, tra cui l'endoxifen che mostra una maggiore affinità per i recettori degli estrogeni e una maggiore soppressione della proliferazione cellulare stimolata da estradiolo. Il metabolismo mediato dal CYP2D6 è considerato lo *step* enzimatico limitante per la formazione dell'endoxifen. Negli studi pubblicati finora l'inconsistenza dei risultati ottenuti ha alimentato una grande discussione sull'associazione tra polimorfismo genetico di CYP2D6 ed efficacia del tamoxifen che non ha fatto altro che aumentare l'incertezza anziché chiarire i dubbi. Recentemente è stato costituito il Consorzio Internazionale di Farmacogenomica del Tamoxifen (ITPC) e tutti i ricercatori sono stati invitati a sottoporre i loro dati per permettere lo svolgimento di una meta-analisi allo scopo di chiarire l'associazione tra CYP2D6 e *outcome* clinico. Sono stati raccolti *dataset* pubblicati e non che riguardavano le varianti genetiche di CYP2D6 e l'*outcome* clinico in donne trattate con tamoxifen in *setting* adiuvante per la cura del cancro del seno.

La meta-analisi pubblicata su *Clinical Pharmacology & Therapeutics* dal consorzio di ricerca ITPC è stata svolta su dodici progetti per un totale di 4973 pazienti con cancro del seno trattate con tamoxifen. Sono state raccolte informazioni su fattori clinici associati alla terapia del cancro della mammella e alla sua prognosi, come storia familiare, ricorrenza della malattia, utilizzo di altre terapie o di farmaci in grado di interferire con il citocromo CYP2D6, lo stato recettoriale (ER status), e classici fattori prognostici come grandezza del tumore e numero di linfonodi coinvolti. Sono state inoltre raccolte informazioni sulle varianti genetiche del CYP2D6 (\*2, \*3, \*4, \*5, \*10, \*17 e \*41, registrando la fonte da cui il DNA è stato estratto) e le pazienti sono state classificate come PM (metabolizzatori lenti), IM (metabolizzatori intermedi) e EM (metabolizzatori rapidi). Gli *outcome* clinici presi in considerazione in questo studio erano l'intervallo libero da malattia invasiva (*invasive disease-free interval*, IDFS) e l'intervallo libero da malattia in situ (*breast-cancer free interval*, BCFI). Prima di ultimare le analisi, le pazienti sono state raggruppate secondo tre criteri di classificazione. In breve, il criterio 1 includeva donne in post-menopausa con resezione chirurgica di tumore ER-positivo invasivo non metastatico trattate con monoterapia adiuvante a base di tamoxifen (20 mg/die) per una durata di 5 anni e seguite annualmente per le recidive (viene considerato il criterio di classificazione più restrittivo). Il criterio 2 comprendeva le caratteristiche del criterio 1 ma includeva pazienti in fase sia pre che post menopausa che avevano ricevuto trattamento con tamoxifen (senza restrizioni sulla durata del trattamento) e per cui non vi erano informazioni sul follow-up annuale. Nel criterio 3 erano incluse tutte le pazienti non escluse per altre cause come dati mancanti od inconsistenti.

Utilizzando i criteri di eleggibilità più stringenti, le pazienti con uno stato enzimatico PM del CYP2D6 erano associate a una minore sopravvivenza libera da malattia invasiva (IDFS: hazard ratio = 1.25; 95% CI: 1.06 – 1.47; p=0.009). Lo stato del genotipo di CYP2D6 non era invece statisticamente associato quando la durata del trattamento con tamoxifen, lo stato della menopausa e il follow-up annuale non erano specificati (criterio 2, p=0.25) o quando nessuna esclusione veniva applicata (criterio 3, p=0.38). I fattori che dividono il criterio 1 dai criteri 2 e 3 sono indubbiamente fonte di eterogeneità nella popolazione ed è da sottolineare come questi criteri impongano un bias non indifferente all'intero studio, in quanto la maggioranza degli studi negativi sottomessi all'ITPC possono essere raggruppati secondo i criteri 2 e 3. Sono stati osservati risultati eterogenei, con un trend sovrapponibile tra i tre criteri, anche per la valutazione dell'intervallo libero da malattia in situ. La meta-analisi ha evidenziato un rischio simile rispetto a IDFS per il criterio 1 ma con un valore statisticamente meno significativo (BCFI: criterio 1 - hazard ratio = 1.27, 95% CI: 1.01 – 1.61, p=0.041; criterio 2, p=0.25; criterio 3, p=0.38). Altra fonte di eterogeneità è sicuramente la genotipizzazione, poiché il gene CYP2D6 è uno dei geni più complessi da analizzare a causa del numero elevato di polimorfismi e di pseudogeni adiacenti. Basti pensare che alcune piattaforme non sono in grado di rilevare la presenza della delezione \*5 in DNA derivato tessuti paraffinati. Un'ulteriore fonte di bias potrebbe essere la mancanza di uniformità per quanto riguarda la fonte di estrazione del DNA (sangue periferico, tessuto paraffinato, tessuto fresco). Inoltre, per molti degli studi inclusi in questa meta-analisi è stato impossibile raccogliere o controllare tutti i fattori noti in grado di alterare l'esposizione all'endoxifen, come dose e durata della somministrazione e aderenza al trattamento dei pazienti. Infatti nonostante l'aderenza al trattamento con tamoxifen sia stata riconosciuta come fattore critico di efficacia del farmaco, in molti studi partecipanti questa variabile non è stata valutata.

Di conseguenza i risultati della meta-analisi dipendono fortemente da quale sottogruppo di pazienti venga preso in considerazione. Questi dati suggeriscono come il ruolo del genotipo di CYP2D6 possa essere mascherato e confuso quando le pazienti sono sottoposte a terapia con tamoxifen per un breve periodo o a terapia concomitante con altri farmaci in grado di alterare il rischio di ricaduta di malattia. Da qui si può però sicuramente concludere, in attesa di studi prospettici di conferma, che è fortemente consigliato per le pazienti appartenenti al criterio 1 prendere in considerazione il ruolo del CYP2D6 sull'impatto terapeutico ed evitare il trattamento con potenti inibitori del citocromo in questione.

Questo studio ha inoltre fatto emergere le difficoltà e la complessità di uno studio retrospettivo su biomarcatori genetici in una patologia così complessa e la necessità di uno studio prospettico al fine di chiarire le differenze che esistono in letteratura su CYP2D6 e tamoxifen.

Le pazienti con uno stato enzimatico PM del CYP2D6 hanno presentato una minore sopravvivenza libera da malattia invasiva (IDFS: hazard ratio = 1.25; 95% CI: 1.06 – 1.47; p=0.009). Le pazienti in analisi erano donne in post-menopausa con resezione chirurgica di tumore ER-positivo invasivo non metastatico trattate

con monoterapia adiuvante a base di tamoxifen (20 mg/die) per una durata di 5 anni e seguite annualmente per le recidive.

**Parole chiave:** Tamoxifen, endoxifen, CYP2D6

**Riferimento bibliografico**

[Province MA](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2014, 95(2): 216-27



**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.informazione@sigr.it](mailto:sif.informazione@sigr.it); [sif.farmacologia@sigr.it](mailto:sif.farmacologia@sigr.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](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php)

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (Azienda Ospedaliera Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) 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) Prof.ssa Patrizia Romualdi (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
Supervisione	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](mailto:webmaster@sifweb.org)

### **DISCLAIMER – Leggere attentamente**

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet [www.sifweb.org](http://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](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.