



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

Sommario

⇒ Oncologia

- Individuazione della dose e studio farmacocinetico per ottimizzare il dosaggio di irinotecan sulla base del genotipo UGT1A1 di pazienti con tumore
- Polimorfismi nei geni della polimerasi translesione influenzano l'*outcome* al trattamento nel mesotelioma maligno
- Importanza clinica delle varianti del gene della diidropirimidina deidrogenasi per predire la tossicità precoce delle fluoropirimidine

⇒ Infettivologia

- Accumulo intracellulare di atazanavir/ritonavir in base alle concentrazioni plasmatiche e ai polimorfismi genetici OATP1B1, ABCB1 e PXR

⇒ Neurologia

- Studio farmacogenetico su polimorfismi del gene *chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2)* ed efficacia del risperidone in pazienti schizofrenici cinesi di etnia Han
- Uno studio di associazione *genome-wide* identifica TAOK3 come un nuovo locus genetico associato alla dose richiesta di morfina ed al dolore postoperatorio in pazienti pediatrici trattati chirurgicamente in regime di Day Surgery

⇒ Cardiovascolare

- Effetto delle varianti nei geni VKORC1, CYP2C9 E CYP4F2 sugli esiti clinici della terapia con acenocumarolo

⇒ Immunomodulazione

- Risposta a metotressato in pazienti con artrite reumatoide e polimorfismi MTHFR rs1801133 e ATIC rs4673993

⇒ La metanalisi del mese

- Ruolo dei polimorfismi del gene XRCC1 sull'esito clinico dei pazienti con carcinoma gastrico trattati con chemioterapia a base di platino: revisione sistematica e meta-analisi

ONCOLOGIA

INDIVIDUAZIONE DELLA DOSE E STUDIO FARMACOCINETICO PER OTTIMIZZARE IL DOSAGGIO DI IRINOTECAN SULLA BASE DEL GENOTIPO UGT1A1 DI PAZIENTI CON TUMORE

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

L'irinotecan è un agente attivo nel trattamento di diversi tumori solidi. L'irinotecan è un profarmaco che viene attivato nel potente metabolita SN-38 responsabile sia dell'attività antitumorale che della tossicità, in particolare neutropenia. I pazienti trattati con irinotecan rivelano una variabilità nella tossicità anche a dosi standard. L'allele UGT1A1*28 è un biomarcatore di neutropenia menzionato nel foglietto illustrativo dell'irinotecan. Questa variante genetica germinale risulta in una ridotta espressione del UGT1A1, il principale enzima che inattiva SN-38 attraverso glucuronidazione a SN-38 glucuronide (SN-38G). In diversi studi, la variabilità dell'esposizione sistemica al SN-38 è stata associata con il rischio di neutropenia. Pertanto, la presenza di UGT1A1*28 potrebbe essere un indicatore del rischio di mielosoppressione di un paziente. Secondo il foglietto illustrativo, bisogna considerare di ridurre la prima dose di irinotecan nei pazienti omozigoti per questo allele (*28/*28), ma l'entità della riduzione non è indicata. Resta ancora da stabilire se la dose standard è appropriata per i pazienti che non mostrano genotipo *28/*28. Nonostante sia nota la variabilità nella disposizione all'irinotecan, il farmaco è ancora dosato in base alla superficie corporea (BSA), una strategia senza razionale farmacologico. Poiché UGT1A1*28 è associato al rischio di mielosoppressione irinotecan-correlato, è stato progettato uno studio di fase I del singolo agente irinotecan in pazienti con tumore refrattario per trovare le dosi di sicurezza sulla base del genotipo UGT1A1*28.

Sono stati arruolati nello studio i pazienti con tumori solidi istologicamente confermati o con linfoma refrattario alla terapia standard. I criteri di ammissibilità comprendono: genotipi UGT1A1*1/*1, *1/*28 e *28/*28 (i pazienti portatori degli alleli rari UGT1A1*36 e UGT1A1*37 non sono stati inclusi); 'Performance Status' dell'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) pari a 0 o 1; malattia valutabile o misurabile; aspettativa di vita superiore a 3 mesi, età maggiore di 18 anni; conta leucocitaria superiore a 3,000/ul; conta assoluta dei neutrofili (ANC) almeno di 1,500/ul; conta piastrinica di almeno 100,000/ul; bilirubina totale entro i limiti di normalità; livelli di ALT e AST di 2,5 volte il limite superiore della norma; ed un livello di creatinina sierica entro i limiti di normalità o una velocità di filtrazione glomerulare superiore a 50 mL/min/1.73 m² per i pazienti con livelli di creatinina superiore a quella istituzionale, come calcolato dalla formula di "Modifica della dieta nelle malattie renali" raccomandata dal Programma Nazionale statunitense di Formazione sulle Malattie del Rene. L'obiettivo primario era di descrivere la dose massima tollerata (MTD) e la tossicità dose-limitante (DLT) di irinotecan nei pazienti con genotipo *1/*1 e *1/*28 con tumori solidi avanzati. Negli obiettivi secondari sono stati inclusi la valutazione della dose sicura di irinotecan in pazienti *28/*28, la valutazione della farmacocinetica di irinotecan e dei suoi metaboliti e la descrizione della risposta antitumorale per dosi aggiustate in base al genotipo. Il Comitato Etico dell'Università degli Studi di Chicago e il NorthShore University Health System hanno approvato lo studio, ed ogni paziente ha firmato il modulo del consenso informato scritto prima di entrare nello studio. L'irinotecan è stato somministrato ogni 3 settimane mediante infusione endovenosa della durata di 90 minuti. Nei pazienti con genotipi *1/*1 e *1/*28, la dose di partenza era di 700mg (*flat dose* equivalente a 390mg/m², superficie corporea di 1,8 m²). Nei pazienti con genotipo *28/*28, la dose iniziale era di 500 mg (ovvero 280 mg/m²). La superficie corporea non è risultata un fattore predittivo della variabilità farmacocinetica dell'irinotecan. L'incremento della dose pianificata nei pazienti con genotipi *1/*1 e *1/*28 è stata di 150 mg. La DLT al ciclo 1 è stata definita come neutropenia di grado 4 della durata ≥ 4 giorni, neutropenia di grado 3 o superiore nel giorno di cure programmato, neutropenia febbrile di grado 3 o superiore, anemia o trombocitopenia di grado 4, diarrea di grado 3 o superiore nonostante somministrazione della terapia con loperamide, tossicità non ematologica di grado 3 o superiore, nausea o nausea/vomito di grado 4 classificati secondo il National Cancer Institute Common Toxicity Criteria versione 3.0. Un ciclo di trattamento è stato di 21 giorni e, prima di iniziare l'irinotecan, i pazienti sono stati pretrattati con 16 mg di ondansetron. La farmacocinetica di irinotecan e dei suoi metaboliti, SN-38 e SN-38 glucuronide (SN-38G), è stata determinata durante il ciclo 1 mediante analisi non compartimentale (PK Solutions Software, versione 2.0, Summit Research Services, Montrose, CO). I parametri stimati includono l'area sotto la curva concentrazione-tempo da 0 a infinito (AUC 0-∞), la *clearance* (calcolato come dose ÷ AUC) e il rapporto di glucuronidazione (calcolato come AUC_{SN-38G} ÷ AUC_{SN-38}). L'esame clinico ed i test di funzionalità epatica e renale sono stati eseguiti al basale e nelle 48 ore prima di ogni somministrazione di irinotecan. Le scansioni di tomografia computerizzata delle lesioni misurabili sono state valutate al basale e ogni due cicli. La risposta obiettiva del tumore è stata valutata ogni due cicli secondo i criteri RECIST e i pazienti che hanno avuto una progressione prima di due cicli non sono stati considerati. La conta ematica è stata misurata al basale, settimanalmente durante il ciclo 1, e nei cicli successivi 48 ore prima della somministrazione del

trattamento. Se un paziente mostrava neutropenia di grado 4, la conta ematica veniva ripetuta ogni giorno fino alla risoluzione verificata per determinare se la neutropenia di grado 4 è stata una DLT. Ogni paziente che ha avuto una tossicità di grado 3 o maggiore, dovuta alla terapia, ha avuto un trattamento di mantenimento fino a quando la tossicità è stata valutata di grado 1 o inferiore. I pazienti che hanno manifestato DLT sono stati trattati con dose successiva più bassa in base al loro genotipo (nel ciclo 2) finché non vi era alcuna evidenza di progressione della malattia. L'irinotecan è stato interrotto in caso di progressione della malattia, rifiuto del paziente, o raccomandazione del medico. Sugli obiettivi secondari dello studio sono state condotte analisi esplorative e il $p > 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. Il test non parametrico di Kruskal e l'analisi della varianza di Wallis sono stati utilizzati per il confronto di gruppo.

Sono stati valutati sessantotto pazienti per la DLT, la maggior parte costituita da maschi bianchi. I tipi di tumore erano prevalentemente gastrointestinali e al polmone. La distribuzione dei genotipi UGT1A1 è risultata di 31 $*1/*1$, 28 $*1/*28$, e nove per $*28/*28$ ($p > 0,05$ per l'equilibrio di Hardy Weinberg). Le frequenze dei genotipi erano in accordo con la distribuzione della variante UGT1A1*28 nella popolazione di origine europea. I livelli della dose di irinotecan somministrato ai pazienti erano compresi tra 400 e 1,000 mg. Nei tre pazienti con genotipo $*28/*28$, trattati alla dose iniziale di 500 mg, sono state osservate tre DLT; nessun altro paziente è stato arruolato a questo livello di dose. Il protocollo successivo è stato modificato per trattare i pazienti con genotipo $*28/*28$ a 400 mg ed è stata osservata una sola DLT su sei pazienti. Nei pazienti con genotipo $*28/*28$ la MTD determinata è stata di 400 mg. Nei pazienti con genotipo $*1/*28$ sono state osservate due DLT in sei pazienti trattati con 850 mg. Poiché sono state osservate cinque DLT in 22 pazienti trattati a 700 mg, la MTD in pazienti con genotipo $*1/*28$ è stata determinata a 700 mg. Nei pazienti con genotipo $*1/*1$ è stata osservata una sola DLT in nove pazienti trattati con 700 mg. Due DLT sono state osservate in sei uomini trattati a 1.000 mg. A 850 mg, solo due su 11 uomini hanno avuto una DLT, mentre due su cinque donne hanno manifestato una DLT. Il protocollo, quindi, è stato modificato per aumentare la dose di irinotecan a 1.000 mg solo negli uomini; due di questi sei hanno presentato una DLT. Dato che in quattro su 16 pazienti trattati con 850 mg è stata osservata una DLT, nei pazienti con genotipo $*1/*1$, la MTD è stata determinata a 850 mg. Le DLT predominanti sono state la mielosoppressione, con DLT neutropeniche pari al 75% (16 di 20) e diarrea grave per il 25% delle DLT (cinque su 20). Un paziente (un uomo con cancro polmonare, genotipo $*1/*28$ e con trattamento di 850 mg) è morto a causa di complicazioni da polmonite (considerato probabilmente correlato al trattamento) in presenza di neutropenia di grado 4. Per la farmacocinetica erano valutabili sessantasette pazienti. Nell'intervallo tra 400 e 1,000 mg, la *clearance* dell'irinotecan ha seguito una cinetica lineare. Anche l'AUC del SN-38 ha mostrato lo stesso comportamento lineare. Come previsto, la dose di irinotecan aggiustata in base alla AUC era indipendente dal genotipo del UGT1A1*28 ($p=0,62$), mentre la dose di SN-38 aggiustata per AUC era aumentata nei pazienti che avevano genotipo $*1/*28$ o $*28/*28$ rispetto a quelli con genotipo $*1/*1$ ($p=0,01$). La MTD era di 850 mg in pazienti con genotipo $*1/*1$, 700 mg in quelli $*1/*28$, e 400 mg in quelli $*28/*28$. La determinazione della dose in base al genotipo è risultata simile anche per le AUC medie di SN-38 in tutte le MTD ($r^2=0,0003$; $p=0,97$). L'AUC dell'irinotecan aumentava significativamente con la dose ($r^2=0,39$; $p=0,001$). Quarantotto pazienti sono stati valutati per la risposta antitumorale. Sono state osservate quattro risposte parziali nei pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule (700 mg e $*1/*28$), tumore gastrico (850 mg e $*1/*1$), cancro al piccolo intestino (850 mg e $*1/*28$), e carcinoma polmonare a piccole cellule (850 mg e $*1/*1$).

Il genotipo UGT1A1*28 può essere utilizzato per individuare il dosaggio di irinotecan tollerato. Ulteriori studi dovrebbero valutare l'effetto della somministrazione genotipo-guidata sull'efficacia nei pazienti trattati con irinotecan.

Conflitto di interesse: alcuni autori hanno dichiarato un interesse finanziario

Parole chiave: UGT1A1, irinotecan, mielosoppressione, DLT, MTD

Riferimento bibliografico

[Innocenti F](#) et al. *J Clin Oncol* 2014 Jun 23 [Epub ahead of print].

POLIMORFISMI NEI GENI DELLA POLIMERASI TRANSLESIONE INFLUENZANO L'OUTCOME AL TRATTAMENTO NEL MESOTELIOMA MALIGNO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il mesotelioma maligno (MM) è un tumore raro della superficie mesoteliale della pleura, associato con esposizione ad asbesto. Nella maggior parte dei casi la malattia viene diagnosticata solo quando sono in stadio avanzato e ciò implica che la prognosi sia sfavorevole, con un tempo di sopravvivenza medio inferiore ai due anni; ciò nonostante, i trattamenti con chemioterapia sistemica, spesso rappresentata da un composto del platino in combinazione con pemetrexed o gemcitabina, migliorano la sopravvivenza dei pazienti.

Il cisplatino è un agente antitumorale che si lega covalentemente al DNA formando addotti, e *crosslinks* intra ed inter filamento (*inter-strand crosslinks*, ICLs). Nonostante siano più frequenti i *crosslinks* intrafilamento, gli ICLs sono quelli più citotossici, poiché prevengono completamente la trascrizione e la replicazione del DNA; la riparazione del DNA è fondamentale dunque, per la stabilità del genoma e la sopravvivenza cellulare e questa avviene tramite due meccanismi fondamentali: la ricombinazione omologa e il NER (*nucleotide excision repair*). Nello step iniziale entrambi i processi richiedono le polimerasi translesione (TLS); esistono molte TLS che sono in grado di bypassare diversi tipi di lesione ma tra le più importanti vi sono Pol ξ e REV1. Diversi studi hanno dimostrato che la distruzione o la soppressione dell'espressione di REV3L, che codifica per una subunità di Pol ξ , o REV1 modificano la sensibilità al cisplatino (Lin X et al. *Mol Pharmacol* 2006, 69(5):1748-54; Doles J et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010, 107(48):20786-91). Diversi polimorfismi sono presenti sui geni codificanti per REV1 e REV3L ma non vi sono studi che descrivono la possibile influenza degli SNPs nei geni delle TLS sulla risposta al cisplatino.

Sulla base di queste premesse, lo scopo dello studio è stato quello di valutare l'influenza degli SNPs nei geni delle polimerasi translesione REV1 e REV3L sulla risposta al trattamento in pazienti sloveni affetti da MM.

Lo studio ha coinvolto un totale di 139 individui trattati con chemioterapia basata sul platino, di cui 104 (74.8%) in combinazione con gemcitabina, 33 (23.7%) con pemetrexed e 2 (1.4%) con altri composti. La risposta tumorale è stata valutata mediante i criteri RECIST ed il tasso di risposta è stato definito come pazienti che raggiungevano una risposta completa o parziale. La PFS (*progression free survival*) è stata definita come il tempo tra il primo giorno di chemioterapia e il giorno di documentata progressione della malattia, mentre l'OS (*overall survival*), come il tempo tra il primo giorno di chemioterapia e la morte. I pazienti sono stati genotipizzati per tre tag SNPs di REV1 – rs3087399 (Asn373Ser), rs3087386 (Phe257Ser) e rs3087403 (Val138Met) – e per quattro tag SNPs di REV3L – rs455732 (Val430Val), rs462779 (Thr1224Ile), rs3204953 (Val3064Ile) e rs465646 (3'-UTR). Tutti gli SNPs sono risultati in equilibrio di Hardy-Weinberg con la sola eccezione di rs3087399 ($p=0.044$).

Tra i 139 soggetti, 6 (4.3%) sono risultati *responders* completi e 50 (36%) parziali, con un tasso di OS del 40.3%.

Tutti i pazienti coinvolti hanno sperimentato tossicità da chemioterapia basata sul platino; la tossicità ematologica di grado ≥ 2 è risultata essere la più comune: in particolare si è registrata leucopenia in 35 casi (25.2%), neutropenia in 48 (34.5%), anemia in 65 (46.8%) e trombocitopenia in soli 3 (2.2%); in 75 individui (54%) è stata riscontrata tossicità gastrointestinale e 67 (48.2%) hanno sperimentato nausea e vomito; infine circa la metà (62, 44.6%) ha sofferto di tossicità renale.

Per quanto riguarda l'analisi genotipica, REV1 rs3087403 è risultato associato con un aumentato rischio di leucopenia e neutropenia ($p=0.013$, OR: 2.74, 95%CI: 1.24-6.06; $p=0.048$, OR: 2.07, 95%CI: 1.01-4.24, rispettivamente), mentre pazienti con almeno un allele polimorfico per REV1 rs3087386 sperimentavano meno frequentemente neutropenia dei pazienti con due alleli ($p=0.029$, OR: 0.44, 95% CI: 0.21-0.92); dopo aggiustamento per il numero di cicli di chemioterapia, REV1 rs3087403 era ancora significativamente associato con un aumentato rischio per leucopenia ($p=0.018$, OR: 2.7, 95% CI:1.19-6.12); analogamente, nell'analisi multivariata, anche i portatori dell'allele polimorfico REV1 rs3087386 erano meno inclini a sviluppare neutropenia ($p=0.017$, OR: 0.38, 95% CI:0.17-0.84).

I pazienti con almeno un allele polimorfico in REV3L rs455732, più frequentemente soffrivano di nausea o vomito e di tossicità GI ($p=0.042$, OR: 2.39, 95% CI:0.103-5.56; $p=0.019$, OR: 2.71, 95% CI: 1.18-6.21, rispettivamente); nell'analisi multivariata con aggiustamento per numero di cicli di chemioterapia, REV3L rs455732 rimaneva significativamente associato sia con nausea o vomito sia con tossicità del tratto

gastrointestinale ($p=0.039$, OR: 2.64, 95% CI: 1.05-6.63; $p=0.02$, OR: 3.01, 95% CI: 1.19-7.62, rispettivamente).

Per quanto riguarda la sopravvivenza, rs465646 e rs462779 erano correlati con una più lunga OS dopo aggiustamento con le variabili cliniche ($p=0.07$, HR: 0.50, 95% CI: 0.30-0.83; $p=0.022$, HR: 0.58, 95% CI: 0.36-0.92, rispettivamente). Pazienti con livelli minori di proteina C reattiva, con assenza di dolore alla diagnosi, che avevano ricevuto un numero maggiore di cicli di chemioterapia e che avevano almeno un allele polimorfico per rs465646 o rs462779 avevano sopravvivenza (OS) prolungata.

Per valutare l'effetto combinato dei polimorfismi sulla risposta al cisplatino è stata condotta un'analisi dell'aplotipo. Per REV1, 4 aplotipi (CAT, TGT, CGC e CGT) coprivano tutte le varianti osservate per questo gene; leucopenia e neutropenia erano significativamente più comuni in pazienti con l'aplotipo TGT rispetto a quello meno frequente CAT ($p=0.047$, OR: 1.94, 95%CI: 1.01-3.73; $p=0.024$, OR: 2.05, 95%CI: 1.10-3.81, rispettivamente); nessuno degli aplotipi era associato con tasso di risposta, PFS o OS.

Per REV3L, 4 aplotipi (TTGA, TCAA, CCGG, TCGA), ciascuno con frequenza superiore al 5%, rappresentano il 97% della variabilità di questo gene. TTGA è risultato essere associato con un aumentato rischio di tossicità GI, mentre CCGG – che include entrambi gli alleli polimorfici per rs465646 e rs462779 – influenzava significativamente l'OS ($p=0.013$, OR: 0.55, 95%CI:0.34-0.88).

I risultati mostrano quindi che SNPs di REV1 e REV3L possono influenzare la riparazione del danno al DNA indotto da cisplatino. REV1 rs3087403 e rs3087386 sono variazioni non sinonime, indicando che la sostituzione aminoacidica potrebbe alterare la funzione della proteina REV1. Analogamente, anche REV3L rs462779 codifica per una sostituzione e si suppone quindi che ciò porti ad un'alterazione della funzione di REV3L. REV3L rs465646 altera invece un sito di legame dei miRNA situato nella 3'UTR e si ipotizza che questo abbia conseguenze sull'espressione proteica.

In conclusione, lo studio suggerisce per la prima volta che i polimorfismi di REV1 e REV3L possono essere dei potenziali markers predittivi per l'*outcome* della chemioterapia basata sul platino in pazienti affetti da mesotelioma maligno. In particolare l'analisi riporta l'associazione tra le varianti di REV1 e REV3L con la tossicità associata al cisplatino e con la sopravvivenza.

Parole chiave: Mesotelioma maligno, chemioterapia basata sul platino, REV1 e REV3L

Riferimento bibliografico

[Goričar K](#) et al. *Pharmacogenomics* 2014, 15(7): 941-50.

IMPORTANZA CLINICA DELLE VARIANTI DEL GENE DELLA DIIDROPIRIMIDINA DEIDROGENASI PER PREDIRE LA TOSSICITÀ PRECOCE DELLE FLUOROPIRIMIDINE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'analogo delle pirimidine 5-fluorouracile (5-FU) è tra i più comuni agenti chemio-terapici prescritti per il trattamento dei carcinomi. Il farmaco presenta un ristretto indice terapeutico e il 10-25% dei pazienti sviluppa tossicità grave precoce. Sia il 5FU che la capecitabina vanno incontro ad attivazione enzimatica in metaboliti tossici per l'1-3%, mentre circa l'80% del 5FU viene rapidamente metabolizzato dall'enzima diidropirimidina deidrogenasi (DPD) ed il resto viene direttamente escreto immutato. Un aumento dell'esposizione al farmaco o a suoi metaboliti a causa di una ridotta attività degli enzimi del metabolismo può portare a tossicità grave o mortale. L'attività enzimatica della DPD è altamente variabile nella popolazione, con il 3-5% degli individui che presentano una bassa o scarsa attività. Il gene *DPYD* è altamente polimorfico con circa 16.000 varianti, incluse 326 codificanti. L'analisi dei polimorfismi del gene permette di individuare i pazienti a rischio di tossicità grave prima della terapia e di aggiustare la dose iniziale di fluoropirimidine (FP). Tre delle varianti note del *DPYD* con effetti funzionali sono state associate ad una ridotta attività enzimatica e tossicità da FP: c.1679T>G (*DPYD**13, rs55886062), c.190511G>A (IVS1411G>A, *DPYD**2A, rs3918290) e c.2846A>T (rs67376798). In una recente linea guida sul dosaggio di FP guidato dal genotipo del *DPYD* viene raccomandata una riduzione della dose negli eterozigoti per le tre varianti a rischio. Recenti studi hanno rivelato che varianti del *DPYD* che possono predire la tossicità da FP possono essere localizzate in regioni non codificanti: in particolare, l'aplotipo hapB3 legato ad una variante

nell'introne 10 (c.1129-5923C>G, rs75017182) che altera lo *splicing* e porta ad una proteina alterata è risultato over-espresso in pazienti con tossicità grave. La variante c.1236G>A dell'hapB3 è stata fortemente associata con diarrea grave in pazienti tedeschi con carcinoma coloretale avanzato in terapia con capecitabina. Le varianti c.1129-5923C>G e c.1236G>A dell'hapB3 sono più frequenti nei pazienti caucasici rispetto alle varianti rare identificate precedentemente. Comunque, l'associazione tra queste varianti e la tossicità da FP necessita di ulteriori valutazioni. Mentre la maggior parte degli studi si sono focalizzati sulla variabilità genetica che spiega la ridotta attività della DPD, pochi studi hanno valutato le varianti del *DPYD* che conferiscono un aumento dell'attività enzimatica, con possibile effetto protettivo.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare il legame tra hapB3 del *DPYD* e la variante intronica c.1129-5923C>G e confermare l'associazione con la tossicità da FP e l'aggiustamento delle dosi in relazione a varianti di rischio note del *DPYD* in due coorti prospettiche indipendenti. Inoltre, è stata effettuata un'analisi di ulteriori varianti e aplotipi di rischio e protettive.

Tra il gennaio 2006 ed il gennaio 2013, sono stati arruolati 500 pazienti trattati con 5FU o capecitabina. Sono stati raccolti i campioni ematici e gli eventi avversi sono stati registrati in 13 categorie (ematologici, gastrointestinali, dermatologici e infezioni) durante i primi due cicli e valutati secondo *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) v3.0. I pazienti sono stati divisi in due coorti, la coorte 1 di 111 pazienti riportati in precedenza, e la coorte 2 di 389 pazienti. Per 470 pazienti è stato registrato l'aggiustamento della terapia in base all'insorgenza di tossicità (riduzione della dose, ritardo della somministrazione o sospensione) dopo il primo e il secondo ciclo. Per i rimanenti 30 pazienti non erano disponibili informazioni sul dosaggio, erano previsti solo due cicli di trattamento, il 5FU era stato sostituito con la capecitabina o la terapia era stata interrotta per stato di salute generale, spasmo delle coronarie o neuropatia. Sono stati valutati inoltre i campioni di 15 pazienti esterni inviati da medici per la valutazione del *DPYD* considerata la sospensione della terapia dopo il ciclo 1 o 2.

Una terapia a base di 5-FU endovena è stata somministrata in 397 pazienti, mentre i rimanenti 103 hanno ricevuto capecitabina per os. I regimi più utilizzati erano FOLFOX e 5FU in monoterapia e la maggior parte dei pazienti (84%) era affetto da carcinoma del colon-retto e altri tumori gastrointestinali. Durante i primi due cicli, il 14% dei pazienti ha sviluppato tossicità severa (grado 3-5), il 19% nella coorte 1 ed il 13% nella coorte 2. Tossicità severa è stata osservata in 12 delle 13 categorie di eventi avversi valutati, e le tossicità più frequentemente riscontrate in entrambe le coorti sono state quella ematologica e gastrointestinale. Il tasso di tossicità variava significativamente tra i regimi a base di FP. In particolare la co-somministrazione di cisplatino o carboplatino (CPL) è stata associata all'insorgenza di tossicità grave in particolare ematologica e mucosite. Le donne hanno mostrato una maggiore incidenza globale di effetti avversi rispetto agli uomini (19% vs. 11%, FT $p = 0.02$, RR 51.70, 95% CI = 1.10-2.60) e in particolare nausea. Le analisi successive sono state aggiustate per la co-somministrazione di (CPL) e per il sesso. L'età e la co-somministrazione di altri chemioterapici oltre CPL non sono state associate con tossicità globale. Allo stesso modo, nessuna differenza significativa in termini di tossicità è stata osservata tra la somministrazione di 5FU e capecitabina ad eccezione della sindrome mano-piede, associata con l'uso di capecitabina. I pazienti erano per il 99% di origine caucasica, ed i rimanenti asiatici e africani.

In totale sono stati individuati 52 SNP ed una inserzione T. L'associazione dell'hapB3 precedentemente riportata nella coorte 1 è stata replicata nella coorte 2 indipendente. In particolare, la mutazione del sito intronico di *splicing* c.1129-5923C>G è stata associata con la tossicità da FP in entrambe le coorti. Combinando le due coorti, questa variante presentava una frequenza del 4,6% ed i portatori mostravano un aumento del rischio di tossicità severa di 3.7 volte. In particolare, questa variante è stata associata a tossicità ematologica e disidratazione, indipendentemente dalla somministrazione di CPL. Le varianti c.190511G>A, c.1679T>G, e c.2846A>T sono state osservate con bassa frequenza e non sono state associate con insorgenza di tossicità precoce. Solamente un paziente con queste varianti di rischio rare ha presentato tossicità di grado severo, mentre 6 su 9 hanno presentato tossicità di grado 2. Il 6,2% dei pazienti era portatore di una variante di rischio. Tra i 10 pazienti con tossicità di grado 4-5 (pericolo di vita o letale), 2 erano portatori di varianti di rischio: il paziente deceduto per la reazione era omozigote c.1129-5923G mentre il paziente in pericolo di vita era eterozigote composto per le varianti c.1129-5923C>G e c.1679T>G. Più della metà dei pazienti con varianti rare e portatori del c.1129-5923G sono andati incontro ad una riduzione della dose, ritardo o interruzione della terapia per l'insorgenza di tossicità nei primi due cicli. Inoltre, il ritardo della terapia era

anche più frequente nei portatori delle varianti di rischio tra i 139 pazienti con tossicità di grado 2: per la metà dei portatori delle varianti di rischio è stato necessario posticipare la terapia mentre questo è stato necessario solo per il 14% dei non portatori (18 di 125, valore P del test di Fisher = 0.004, RR = 3.47, 95% CI = 1.77–6.83). Una revisione successiva ha rilevato che i portatori della variante con ritardo della terapia con tossicità di grado 2 hanno presentato tossicità nei cicli successivi e un'interruzione prematura della terapia. Nell'analisi di varianti ed aplotipi aggiuntivi del *DPYD*, una nuova variante rara (c.1905117A>G) è stata associata con tossicità quando aggiustato per le altre varianti di rischio. Inoltre, è stata individuata un'associazione negativa tra la tossicità dell'FP e l'aplotipo hapB4.

Tutti i pazienti esterni tranne uno hanno presentato tossicità di grado 3-5, di cui 5 sono stati in pericolo di vita o la reazione è risultata letale. Nell'unico paziente con tossicità di grado 2 la terapia è stata interrotta per la presenza di diverse tossicità ematologiche e gastrointestinali. In generale, 7 dei 15 pazienti erano portatori di varianti di rischio (c.1129–5923C>G, c.1679T>G e c.190511G>A).

Le mutazioni puntiformi rare del *DPYD* c.190511G>A, c.1679T>G e c.2846A>T, che portano a deficienza parziale o completa dell'attività enzimatica, sono state associate con tossicità severa da FP, e sono oggetto di raccomandazioni sulla riduzione della dose in recenti linee guida. In questo studio, la mutazione del sito intronico di *splicing* c.1129–5923C>G ha aggiunto un rischio significativo di tossicità in due coorti prospettiche di 500 pazienti in terapia con FP. La sensibilità nell'individuare il rischio di tossicità precoce era più elevata per questa nuova variante rispetto alle altre varianti di rischio rare, a causa della più alta frequenza nella popolazione in studio. Nonostante i dati disponibili suggeriscano che il c.1129–5923C>G sia la variante dell'aplotipo hapB3 che causa uno *splicing* aberrante e la formazione di una proteina non funzionale, questi dati provengono da studi osservazionali su un relativamente piccolo numero di pazienti, per cui non può essere esclusa la presenza di mutazioni alternative non note. Ulteriori studi sull'aplotipo hapB3 e sugli effetti del c.1129–5923C>G potrebbero fornire chiarimenti per l'interpretazione dei risultati contraddittori dei diversi studi.

In conclusione, questo studio conferma l'importanza della variante relativamente comune c.1129–5923C>G del *DPYD* come marker predittivo di tossicità precoce da FP nella pratica clinica. Il 20-30% dei casi di tossicità che mette in pericolo di vita o letale risulta prevenibile con screening farmacogenetici nella popolazione caucasica. Una dose iniziale del 50% rispetto a quella standard è generalmente ben tollerata negli eterozigoti di varianti rare di rischio del *DPYD*. Comunque, considerato che alcuni eterozigoti possono tollerare dosi più elevate, si potrebbe effettuare un aumento di dosaggio nei cicli successivi o un monitoraggio terapeutico delle FP per assicurare un trattamento sicuro senza comprometterne l'efficacia.

Parole chiave: fluoropirimidine, *DPYD*

Riferimenti bibliografici

[Froehlich TK](#) et al. *Int J Cancer*. 2014 Jun 13 [Epub ahead of print].

INFETTIVOLOGIA

ACCUMULO INTRACELLULARE DI ATAZANAVIR/RITONAVIR IN BASE ALLE CONCENTRAZIONI PLASMATICHE E AI POLIMORFISMI GENETICI OATP1B1, ABCB1 E PXR

A cura della Dott.ssa Concetta Rafaniello

L'introduzione degli inibitori delle proteasi (IP) nella terapia dell'infezione da HIV ha reso possibile l'uso della triplice terapia o terapia antiretrovirale altamente attiva (HAART) attraverso cui oggi è possibile ottenere una soppressione virale duratura. Un ulteriore progresso è avvenuto con l'avvento della terapia boosterata, che consiste in un regime terapeutico con basse dosi di ritonavir in combinazione con un altro IP.

Tale strategia terapeutica determina l'aumento delle concentrazioni plasmatiche (CP) del IP e, di conseguenza, anche della potenza della terapia. Infatti, il ritonavir è un potente inibitore del citocromo CYP3A4 pertanto, somministrato con un IP, suscettibile all'attività metabolica di tale isoforma, determina il ridotto metabolismo dell'IP ed un relativo aumento delle concentrazioni intracellulari (CI). È noto che gli antiretrovirali agiscono a livello delle cellule infettate e, pertanto, potrebbe esserci una correlazione tra le CI dell'IP e l'attività terapeutica. Studi hanno evidenziato una notevole variabilità inter-individuale rispetto alle CI degli IP, inoltre, sono state utilizzate diverse metodiche per la determinazione dei livelli intracellulari degli antiretrovirali portando a risultati contrastanti. Uno studio precedentemente pubblicato dagli stessi autori ha dimostrato che atazanavir è il farmaco con il più elevato tasso di accumulo intracellulare, mentre, in pazienti sottoposti alla terapia atazanavir/ritonavir, quest'ultimo è risultato associato al tasso più basso. La penetrazione intracellulare degli IP è correlata alle caratteristiche fisico/chimiche della molecola associate all'influsso ed efflusso cellulare. Scopo di tale studio è stato valutare l'impatto dei polimorfismi dei geni OATP, ABCB1, CYP3A4 e PXR sulle CI e CP di atazanavir e ritonavir in pazienti con HIV ed, inoltre, verificare se i livelli plasmatici possano fungere da fattore predittivo delle concentrazioni degli stessi a livello delle cellule mononucleate periferiche (PBMC).

Presso l'Ospedale Universitario Amedeo di Savoia di Torino sono stati selezionati pazienti di sesso maschile HIV-positivi in regime HAART contenente atazanavir (300 mg/die)/ritonavir (100 mg/die). I campioni di sangue sono stati raccolti a 24+2 ore dalla somministrazione, così da ottenere la minima concentrazione plasmatica, e conservati in provette di eparina di litio (7mL). Il plasma è stato ottenuto mediante centrifugazione a 1400g per 10 minuti a 4 °C e conservato a -20 °C fino all'analisi. Sono state isolate le cellule mononucleate dal sangue periferico e il numero e il volume delle stesse è stato calcolato usando il contatore Coulter counter. Le CP di atazanavir e ritonavir e quelle associate alle PBMC sono state misurate mediante le tecniche validate di cromatografia liquida ad alta prestazione con rilevatore a spettrometro di massa (HPLC-MS) e con rilevatore a serie di diodi (HPLC-PDA). La genotipizzazione è stata condotta mediante real-time PCR. Per l'analisi statistica descrittiva le variabili continue sono state descritte come mediane (25° - 75° percentile) e quelle categoriche come frequenze (espresse in percentuale). Per ogni polimorfismo è stato testato l'equilibrio di Hardy-Weinberg ed è stato applicato il test statistico del χ^2 al fine di verificare se le differenze osservate nelle frequenze genotipiche differissero significativamente da quelle teoriche. Per la verifica della normalità è stato utilizzato il test Shapiro-Wilk; i test Kruskal-Wallis e Mann-Whitney sono stati, invece, utilizzati per il confronto dei dati. La correlazione tra le variabili continue è stata verificata mediante il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman. Al fine di verificare potenziali effetti di diversi fattori (genetici e demografici) sulle CI dei farmaci è stato impiegato un modello di regressione lineare.

Nell'analisi sono stati inclusi 35 pazienti di età mediana di 45 anni (range interquartile -IQR 36-50 anni) di cui 23 (65,7%) di sesso maschile, 30 (85,7%) caucasici e 5 (14,3%) di razza africana. Il peso mediano era di 72 kg (IQR 58-78 kg) con un indice di massa corporea (BMI) mediano di 24,6 kg/m² (IQR 21,4-27,0 kg/m²). Le CI di atazanavir e ritonavir erano rispettivamente di 1844 ng/mL (IQR 973-3334 ng/mL) e 716 ng/mL (IQR 502-1028 ng/mL), mentre le CP sono risultate di 645 ng/mL (IQR 469-991 ng/mL) e 75 ng/mL (IQR 46-164 ng/mL). La mediana del rapporto CI/CP è risultata di 2,4 (IQR 1,5-5,0) per atazanavir e di 9,2 (IQR 6,0-12,3) per ritonavir. Sia per atazanavir che per ritonavir l'età, il BMI, il sesso e l'etnia non sono risultati fattori correlati alle CI e CP. Per entrambi i farmaci è stata osservata una correlazione diretta statisticamente significativa tra le CI e le CP ($p=0,004$ per atazanavir e $p=1,07 \times 10^{-7}$ per ritonavir). Tutti i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) sono risultati in equilibrio di Hardy-Weinberg e le frequenze alleliche per tutti i polimorfismi osservati nella popolazione in studio sono risultati confrontabili con quelle della popolazione caucasica. I soggetti portatori della variante 521C ($n=8$) del gene OATP1B1 sono risultati associati ad una più elevata CI di ritonavir rispetto a quelli con genotipo 521TT ($n=27$) [rispettivamente 1439 ng/mL (808 - 1701 ng/mL) vs 860 ng/mL (431 - 1007 ng/mL), $p=0,010$]. Lo stesso trend, anche se non statisticamente significativo, è stato osservato per le CP di ritonavir. Il rapporto CI/CP di atazanavir è risultato più elevato nei soggetti con genotipo GG ($n=17$) in posizione 2677 del gene ABCB1 rispetto ai genotipi GT ($n=13$) e TT ($n=5$) [rispettivamente 4,10 (1,99-5,18), 2,43 (1,65-5,40) and 0,75 (0,47-1,99), $P=0,025$]. Una differenza significativa è emersa dal confronto GG/GT ($n=30$) rispetto al genotipo TT ($N=5$) [rispettivamente 3,26 (1,82-5,22) e 0,75 (0,47-1,99), $P=0,007$]. Inoltre le CP di atazanavir sono risultate significativamente diverse nei pazienti con SNPs in posizione 2677 del gene ABCB1; i genotipi GG/GT

hanno mostrato valori più bassi rispetto al genotipo TT [rispettivamente 577 ng/mL (418–818 ng/mL) vs 1081 ng/mL (714–6426 ng/mL), $P=0.043$]. Il rapporto CI/CP per atazanavir è, inoltre, risultato associato, anche se al limite, ai SNP ABCB1 1236 C>T ($p=0.066$ e $p=0.073$ rispettivamente) e ABCB1 3435 C>T ($p=0.182$ e $p=0.05$ rispettivamente) con livelli più elevati per i portatori del polimorfismo. Le CI di atazanavir in soggetti con genotipo AG o GG ($n=29$) per PXR 44477 rs1523130 sono risultate più elevate rispetto al genotipo AA ($n=6$) [rispettivamente 1081 ng/mL (572–1153 ng/mL) vs 567 ng/mL (321–738 ng/mL), $P=0.020$]. È stato, inoltre, osservato un maggiore rapporto CI/CP di ritonavir in soggetti con genotipo GA o AA per PXR 7635 rs6785049 ($n=26$) rispetto al genotipo GG ($n=9$) ($p=0.042$).

Tale lavoro è stato condotto con l'obiettivo di comprendere la relazione tra diversi SNP potenzialmente coinvolti nel trasporto e metabolismo dei farmaci e le CI e CP di atazanavir e ritonavir. Sono stati, dunque, valutati SNPs in geni codificanti il polipeptide trasportatore di anioni organici (OATP), la glicoproteina P (ABCB1), il citocromo p-450 (CYP3A4) e il recettore X del pregnano (PXR). Gli autori dimostrano, per la prima volta, l'associazione del polimorfismo OATP1B1 521 T>C

È noto che la variante **OATP1B1 521C>T** è associata ad una ridotta funzione di trasporto degli IP, sia in vivo che in vitro. In questo studio, gli Autori hanno osservato nei PBMC una più elevata CI di ritonavir nel gruppo con genotipo 521 TC/CC e lo stesso trend è emerso per le CP. Lo studio ha, inoltre, messo in evidenza una correlazione significativa tra le CI e le CP di ritonavir, suggerendo, quindi, un ruolo sia per le CP di ritonavir che per il polimorfismo di OATP1B1. Una spiegazione plausibile potrebbe essere il linkage disequilibrium tra lo SNP di OATP1B1 con un altro polimorfismo che influenza l'influsso e/o l'efflusso di atazanavir. ABCB1 codifica la P-glicoproteina che agisce esportando i farmaci, come gli IP, dalle cellule. Sono stati identificati diversi polimorfismi di ABCB1 e mutazioni in posizione 2677 e 3435 sono state associate a variabilità della P-glicoproteina. Diversi studi hanno riportato una relazione tra il polimorfismo 3435 C>T per ABCB1 e l'attività di IP. Gli autori hanno osservato lo stesso trend per la CP di atazanavir ed il relativo rapporto di accumulo per ogni polimorfismo di ABCB1, confermando il linkage disequilibrium dei tre polimorfismi; tuttavia, nella popolazione in studio solo i polimorfismi 3435 C>T e 2677 G>T hanno mostrato una differenza significativa. In particolare, nei soggetti con il genotipo ABCB1 2677 TT sono state riscontrate CP più elevate. La regressione lineare sembra dimostrare che la CP rappresenti il fattore con l'effetto più significativo sulle CI di entrambi i farmaci in studio, anche se tale risultato potrebbe essere stato influenzato dalla scarsa numerosità della popolazione e dall'uso di fattori genetici dicotomici.

I risultati dello studio hanno dimostrato nei PBMC un'influenza significativa degli SNP OATP1B1 521 T>C e PXR 44477 A>G sulla concentrazione intracellulare di ritonavir e di ABCB1 2677 G>T su quella di atazanavir.

Queste osservazioni potrebbero avere un impatto sulla gestione dei pazienti candidati a tale terapia ed essere utili in vista sia degli esiti che della tossicità. Ulteriori studi sull'impatto clinico dell'accumulo intracellulare di atazanavir e ritonavir in base ai diversi genotipi sono comunque necessari al fine di personalizzare la terapia antiretrovirale ed ottenere l'eradicazione del virus HIV-1.

Parole chiave: concentrazioni intracellulari, farmacogenetica, terapia antivirale HIV, inibitori delle proteasi, farmacocinetica, monitoraggio terapeutico dei farmaci.

Riferimento bibliografico

[D'Avolio A](#) et al. *J Antimicrob Chemother* 2014 Jul 4 [Epub ahead of print]

NEUROLOGIA

STUDIO FARMACOGENETICO SU POLIMORFISMI DEL GENE *CHEMOKINE (C-C MOTIF) LIGAND 2 (CCL2)* ED EFFICACIA DEL RISPERIDONE IN PAZIENTI SCHIZOFRENICI CINESI DI ETNIA HAN

A cura della Dr.ssa Donatella Carretta

Il risperidone è ampiamente utilizzato come farmaco di prima scelta nella terapia della schizofrenia e dei disturbi psicotici correlati. Sono state riportate marcate differenze interindividuali per quanto riguarda sia gli effetti terapeutici che gli effetti collaterali in risposta al risperidone. Le differenze nella risposta ai farmaci antipsicotici sono state correlate a fattori genetici; tale dato è supportato da studi su polimorfismi coinvolti nella farmacocinetica e farmacodinamica. Numerosi studi hanno mostrato come nella fisiopatologia della schizofrenia siano coinvolti fattori genetici, disturbi dello sviluppo del sistema nervoso ed un'alterazione dei sistemi di risposta infiammatoria. Nel sangue periferico e nel liquido cerebrospinale dei pazienti schizofrenici sono stati rilevati anomali livelli di citochine pro- e anti-infiammatorie, quali IL-2, IL-6, IL-10 e TNF- α . Mentre le interleuchine e le sue varianti genetiche sono state molto studiate nella schizofrenia, solo pochi studi hanno investigato il ruolo delle chemochine. La chemochina CCL2 (*chemokine (C-C motif) ligand 2*) è una piccola citochina proinfiammatoria che appartiene alla famiglia delle chemochine CC; queste giocano un ruolo chiave nel reclutamento dei monociti nei foci infiammatori. Alcuni studi suggeriscono che CCL2 potrebbe alterare la produzione di alcune citochine quali l'IL-2, l'interferon- γ e l'IL-12 che risultano alterate nei pazienti affetti da schizofrenia.

Nel presente studio sono stati valutati alcuni polimorfismi genici di CCL2 nei pazienti schizofrenici in monoterapia con risperidone.

E' stata effettuata la genotipizzazione e l'analisi di due popolazioni indipendenti di etnia Cinese Han, una proveniente da Shanghai (113 pazienti, 35 maschi e 78 femmine, età 36.5 ± 11.3) e una da Henan (95 pazienti, 34 maschi e 61 femmine, età 30.9 ± 9.9).

Tutti i pazienti rispettavano i seguenti criteri: 1) soddisfacevano i criteri del DSM-IV per la schizofrenia; 2) non avevano patologie internistiche di rilievo o altre malattie psichiatriche; 3) non avevano una storia di resistenza alla terapia con antipsicotici; 4) non avevano ricevuto nessun farmaco per un periodo di 4 settimane; 5) non avevano ricevuto in precedenza antipsicotici di seconda generazione.

I pazienti di Shanghai sono stati sottoposti ad un periodo di *washout* di 4 settimane prima della monoterapia con risperidone. Il dosaggio di risperidone, inizialmente di 2 mg/die, è stato aumentato gradualmente fino a 4 mg/die nella prima settimana e mantenuto a questo livello fino alla fine della seconda settimana. Dopo tale periodo, il dosaggio è stato regolato in base alla tolleranza individuale.

Anche i pazienti di Henan sono stati sottoposti ad un periodo di *washout* di 4 settimane prima della monoterapia con risperidone. Il dosaggio di risperidone era inizialmente di 1 mg/die ed è stato aumentato gradualmente fino a 6 mg/die nella prima settimana. Il dosaggio è stato quindi aggiustato tra 1 mg/die-6 mg/die fino alla fine della settimana 4 sulla base della tolleranza individuale. L'effetto clinico del risperidone è stato valutato tramite la *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) il giorno dell'ammissione allo studio, alla fine della settimana 4 e della settimana 8 di trattamento. L'efficacia del farmaco è stata valutata in termini di riduzione del punteggio PANSS. Sono stati studiati quattro SNPs, rs4795893, rs1024611, rs4586 e rs2857657, genotipizzati attraverso un sequenziamento diretto del DNA, utilizzando un *ABI Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems, CA, USA) su *ABI PRISM 3730xl DNA Analyzer*. Poiché i due polimorfismi rs1024611 and rs4586 erano completamente *linked*, per le analisi successive è stato usato rs4586 come rappresentante di questi due loci.

I dati hanno mostrato un'associazione significativa dello SNP rs2857657 con la riduzione dei punteggi positivi del PANSS dopo 4 settimane di trattamento nella popolazione di Shanghai ($F = 5.733$, $p = 0.004$) ed un'associazione significativa degli SNPs rs4795893 ($F = 9.624$, $p = 1.66E-04$) e rs4586 ($F = 7.341$, $p = 0.001$) nella popolazione di Henan. Analizzando i dati dei pazienti suddivisi nei sottogruppi *responder* e *non-responder* è emerso che rs2857657 aveva un effetto significativo sulla riduzione del punteggio positivo al PANSS sia a 4 che a 8 settimane di trattamento nella popolazione di Shanghai (settimana 4: OR = 0.212, 95% CI = 0.057-0.783, $p = 0.011$; settimana 8: OR = 0.188, 95% CI = 0.039-0.908, $p = 0.022$).

Poiché nella popolazione di Henan non era disponibile il punteggio PANSS a 8 settimane è stato possibile registrare i dati solo a 4 settimane: è stato osservato un effetto significativo sulla riduzione del punteggio positivo del PANSS per rs4795893 (allele: OR = 2.867, 95% CI = 1.507-5.452, $p = 0.001$; genotipo: $\chi^2 = 9.893$, $p = 0.007$) e rs4586 (allele: OR = 2.266, 95% CI = 1.216-4.221, $p = 0.009$; genotipo: $\chi^2 = 6.248$, $p = 0.044$).

Nella patogenesi della schizofrenia giocano un ruolo critico fattori genetici, immunitari e dello sviluppo. Pertanto, i geni delle citochine sono stati chiamati in causa nella patogenesi della schizofrenia, sulla base del loro ruolo nel modulare le risposte immunitarie e nel regolare diverse funzioni neuronali. Nel presente studio sono stati genotipizzati ed investigati 4 polimorfismi del gene *CCL2* alla ricerca di eventuali associazioni con l'effetto della terapia con risperidone. Due SNPs, rs4795893 e rs4586, hanno mostrato correlarsi in misura significativa con l'efficacia del farmaco, in accordo con lo studio CATIE. I risultati del presente studio mostrano che le varianti genetiche del *CCL2* sono associate alla risposta al risperidone; tuttavia, il meccanismo di come *CCL2* è coinvolto nella risposta al risperidone è ancora da definire. Nel presente studio sono state reclutate due popolazioni indipendenti provenienti da due aree geografiche della Cina. Uno SNP ha mostrato una correlazione significativa nella popolazione di Shanghai, mentre altri due erano associati all'efficacia del farmaco nella popolazione di Henan. Non è emerso alcuno SNP che avesse un effetto significativo in entrambe le popolazioni; questo non esclude tuttavia il potenziale ruolo del *CCL2* nella terapia con risperidone. La popolazione Han è il più grande gruppo etnico della Cina ed ha una lunga e complessa storia demografica che nel tempo ha integrato numerosi gruppi etnici. La risultante stratificazione della popolazione ha pertanto inciso sul pattern dei polimorfismi, fenomeno che può avere influito sui risultati del presente studio.

Questa ricerca mostra come polimorfismi del gene *CCL2* possano avere effetti significativi sull'efficacia terapeutica del risperidone e possano rappresentare potenziali *markers* genetici nel predire l'effetto terapeutico del risperidone.

In conclusione, il presente studio mostra che i polimorfismi rs4795893, rs4586 e rs2857657 del gene *CCL2* sono associati in misura significativa all'efficacia della terapia con risperidone in pazienti schizofrenici Cinesi di etnia Han.

Parole chiave: *CCL2*, Cinese Han, farmacogenetica, risperidone, schizofrenia

Riferimento bibliografico

[Xiong Y et al. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2014, 51: 153-158.](#)

UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE GENOME-WIDE IDENTIFICA TAOK3 COME UN NUOVO LOCUS GENETICO ASSOCIATO ALLA DOSE RICHIESTA DI MORFINA ED AL DOLORE POSTOPERATORIO IN PAZIENTI PEDIATRICI TRATTATI CHIRURGICAMENTE IN REGIME DI DAY SURGERY

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il solfato di morfina è un oppiaceo largamente impiegato nella terapia del dolore post-operatorio in pazienti di età pediatrica ed adulta. Nonostante sia storicamente nota la sua efficacia analgesica, nella pratica clinica si osserva un'ampia variabilità individuale nella risposta. Secondo l'ipotesi corrente, i fattori genetici ed ambientali possono avere un impatto sia sui meccanismi di elaborazione e percezione dello stimolo algico che sulla farmacocinetica e farmacodinamica degli oppiacei. Numerosi studi hanno indagato la potenziale correlazione tra la risposta al trattamento con morfina ed alcuni polimorfismi a singolo nucleotide, localizzati in geni codificanti per proteine coinvolte nella farmacocinetica/farmacodinamica degli oppiacei (ad esempio OPRM1) e nei *pathways* implicati nella percezione algica. Tuttavia, nessuno dei geni candidati analizzati e delle combinazioni di varianti genetiche selezionate ha esaurientemente spiegato tale variabilità inter-individuale nella risposta al trattamento con oppiacei. A tale scopo, è stato ivi condotto il primo studio di associazione *genome-wide*, finalizzato ad identificare nuove potenziali varianti genetiche correlate alla dose richiesta di solfato di morfina e all'intensità del dolore post-operatorio sperimentato in un'ampia popolazione di pazienti pediatrici sottoposti a tonsillectomia ed adenoidectomia.

Lo studio di associazione *genome-wide* è stato condotto retrospettivamente su due corti di pazienti, una *esploratoria* (N=518, di cui 277 caucasici e 241 afro-americani) ed una di *replicazione* (N=145, di cui 75 caucasici e 70 afro-americani), costituite da soggetti sottoposti a terapia del dolore post-operatorio a base di solfato di morfina. *Criteri di inclusione:* 1) avvenuta procedura chirurgica di tonsillectomia ed

adenoidectomia in regime di Day Surgery; 2) pazienti di età compresa tra i 4 ed i 18 anni, di qualsiasi razza ed etnia; 3) documentata somministrazione intraoperatoria di morfina per via endovenosa. *Criteri di esclusione*: 1) pazienti affetti da apnea ostruttiva del sonno di intensità moderata o severa; 2) presenza di ulteriori procedure chirurgiche dolorose; 3) somministrazione intraoperatoria di altri oppiacei (fentanil, idromorfone, remifentanil), ketamina, flumanezil, naloxone o infiltrazione di anestetici locali nel sito chirurgico. Nessuno dei soggetti arruolati manifestava dolore e/o assumeva oppiacei al momento del ricovero. Per ogni paziente sono stati registrati i seguenti dati: numero di cartella clinica, data di nascita, data dell'intervento chirurgico, *day surgery status*, sesso, età, dose intraoperatoria di morfina (mg), dose postoperatoria di morfina (mg), dose totale di morfina (intraoperatoria + postoperatoria) espressa in ug/kg, indice di massa corporea (BMI) ed intensità del dolore post-operatorio, misurato tramite una scala di punteggio da 0 a 10. Il DNA di ogni paziente arruolato è stato estratto da sangue intero o da saliva. La genotipizzazione è stata effettuata tramite tecnologia Illumina Human-Hap550 SNP array e Illumina Human610-Quad version 1 SNP array. I top SNPs emersi dallo studio di associazione *genome-wide* sono stati poi genotipizzati nella *coorte di replicazione* tramite tecnologia TaqMan-PCR.

L'analisi di associazione è stata condotta separatamente su soggetti di origine europea-caucasica e su quelli di etnia afro-americana. Sono stati inclusi nell'analisi di associazione 509904 SNPs. Nessuna di tali varianti genetiche ha però raggiunto la significatività statistica *genome-wide* ($P < 5 \times 10^{-8}$). Nello specifico, dall'analisi condotta su 277 pazienti caucasici appartenenti alla coorte esploratoria, sono emersi due top SNPs (rs795484 ed rs1277441) localizzati nel gene TAOK3, che risultano essere le varianti più significativamente associate alla dose totale di morfina assunta dai pazienti pediatrici (rispettivamente, $\beta=17.6$, 95% CI 10.7-24.4, $P=1.01 \times 10^{-6}$; $\beta=17.0$, 95% CI 10.0-23.9, $P=2.77 \times 10^{-6}$). Tale associazione si riconferma, inoltre, nei soggetti caucasici ($N=75$) appartenenti alla coorte di replicazione (rispettivamente, $\beta=12.0$, 95% CI -0.87-24.8, $P=0.036$; $\beta=11.7$, 95% CI -1.6-24.9, $P=0.044$). Combinando i pazienti caucasici appartenenti alle due coorti in oggetto ($N=352$), la significatività statistica di tali associazioni aumenta ($N=352$; rs795484: $\beta=16.1$, 95% CI 10.0-21.1, $P=2.96 \times 10^{-7}$; rs1277441: $\beta=15.6$, 95% CI 9.5-21.7, $P=7.99 \times 10^{-7}$). Inoltre, tra gli SNPs più significativi emerge la variante rs428073 ($P=9.13 \times 10^{-5}$), localizzata nella regione codificante del gene TAOK3 e che determina la sostituzione amminoacidica Ser47Asn. Tuttavia, nessuno dei top SNPs del gene TAOK3 risulta essere statisticamente associato alla dose complessiva di morfina somministrata ai pazienti di etnia afro-americana. Dall'analisi di associazione GWAS condotta esclusivamente sui pazienti di origine afro-americana non emerge, inoltre, nessun gene e/o set di polimorfismi in *linkage disequilibrium* tra loro, specificamente coinvolti nel modulare la dose richiesta di morfina. Relativamente all'analisi di associazione tra varianti genetiche ed intensità del dolore post-operatorio, si riconfermano potenzialmente correlati gli SNPs TAOK3 rs795484 e TAOK3 rs1277441, sia nel sottogruppo dei pazienti europei (soglia dell'intensità del dolore: $\geq 7/10$; rispettivamente: OR 2.35 95%CI 1.56-3.52, $P=4.10 \times 10^{-5}$; OR 2.24 95% CI 1.49-3.36, $P=1.03 \times 10^{-4}$) che in quello dei pazienti afro-americani appartenenti alla coorte esploratoria (soglia dell'intensità del dolore: $\geq 7/10$; rispettivamente: OR 1.76 95%CI 1.14-2.71, $P=9.69 \times 10^{-3}$; OR 1.71 95% CI 1.12-2.61, $P=1.21 \times 10^{-2}$).

Il gene TAOK3 codifica per TAO3, una proteina serina/treonina chinasi altamente espressa nel timo, nella milza e nei leucociti del sangue periferico. È plausibile che tale proteina svolga un ruolo analogo a quello esplicato da proteine serina/treonina chinasi fortemente coinvolte nei processi di modulazione del dolore, quali sono le protein chinasi C e quelle implicate nella cascata MAPK. Si ipotizza inoltre che varianti del gene TAOK3 possano alterare i *patterns* di fosforilazione dei recettori per gli oppioidi μ (MOR), noti per svolgere un ruolo centrale nell'analgesia indotta da morfina, e che tali alterazioni possano risultare in una desensibilizzazione di tali recettori e in una resistenza all'azione analgesica della morfina. Nonostante la metodologia GWAS non assicuri un nesso di causalità tra le varianti identificate e l'esito in studio, la plausibile interazione tra la proteina TAO3 ed i recettori MOR supporta l'ipotesi che il gene TAOK3 possa rappresentare un possibile nuovo gene candidato nella modulazione della risposta alla terapia con morfina e dell'intensità del dolore post-operatorio sperimentato dopo procedura chirurgica.

Questo studio di associazione *genome-wide* evidenzia, per la prima volta in letteratura, la potenziale associazione tra alcune varianti del gene TAOK3 (rs795484 ed rs1277441) e la dose complessiva di morfina assunta da pazienti pediatrici di etnia europea-caucasica sottoposti a procedura chirurgica di tonsillectomia

ed adenoidectomia. Si identifica inoltre una possibile correlazione tra le medesime varianti e l'intensità del dolore post-operatorio in pazienti sia di etnia europea-caucasica che di origine afro-americana.

Parole chiave: solfato di morfina, dolore, TAOK3

Riferimento bibliografico

[Cook-Sather SD](#) et al. *Pain*. 2014 Jun 5 [Epub ahead of print]

CARDIOVASCOLARE

EFFETTO DELLE VARIANTI NEI GENI VKORC1, CYP2C9 E CYP4F2 SUGLI ESITI CLINICI DELLA TERAPIA CON ACENOCUMAROLO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

L'acenocumarolo, insieme al warfarin, è l'anticoagulante più prescritto per la profilassi e il trattamento dei disturbi tromboembolici. È ormai stato dimostrato che polimorfismi nei geni coinvolti nella farmacodinamica (VKORC1) e farmacocinetica (CYP2C9) di tali molecole influenzano la grande variabilità interindividuale nella risposta alla terapia riscontrata nei pazienti, soprattutto nelle fasi iniziali. Oltre ai ben noti VKORC1 e CYP2C9, molti altri geni sono stati presi in considerazione ma solo in uno di questi, il CYP4F2, è stata evidenziata una variante, la V433M che ha fornito un contributo ulteriore alla spiegazione della variabilità di risposta al trattamento farmacologico. Oggi sono disponibili algoritmi matematici che integrano le informazioni cliniche con quelle genetiche per determinare la dose iniziale appropriata degli anticoagulanti coumarinici, warfarin e acenocumarolo. Finora è stato condotto un solo trial randomizzato che ha incluso 504 pazienti trattati mediante un approccio di tipo farmacogenetico e 1911 controlli in terapia con dosi standard di warfarin, mentre altri studi randomizzati e controllati sono ancora in corso. Attualmente, non esistono dati che dimostrino l'influenza della variante nel gene CYP4F2 sulla risposta all'acenocumarolo. Lo scopo di questo studio è stato quello di studiare il ruolo dei polimorfismi nei geni VKORC1, CYP2C9 e CYP4F2, separatamente e in combinazione tra loro, nel raggiungimento della dose stabile e del tempo di over-anticoagulazione durante i primi 3 mesi di terapia con acenocumarolo.

I pazienti che avevano iniziato il trattamento anticoagulante tra il 1995 e il 2009 sono stati arruolati presso l'Unità di terapia anticoagulante del *Morales Meseguer Hospital* in Spagna. La dose di carico di acenocumarolo era stata prescritta indipendentemente dal genotipo dei pazienti attraverso un Fixed dose approach di tipo clinico sulla base dei valori di INR (International Normalized Ratio) misurati. Tutti i pazienti arruolati hanno fornito un consenso informato e le informazioni relative alla terapia sono state collezionate mediante intervista dei pazienti e revisione delle cartelle cliniche. Campioni di DNA sono stati ottenuti da prelievi di sangue venoso da ciascun paziente. I valori di INR, i dati relativi all'aggiustamento della dose di farmaco e agli eventi avversi sono stati registrati per 3 mesi dopo l'inizio della terapia. L'analisi di genotipizzazione degli SNP di VKORC1, rs9923231 (-1639G>A) è stata eseguita tramite *Taqman SNP Genotyping Assay* (Applied Biosystems) e degli SNP del CYP2C9 (CYP2C9*2-rs1799853- e -*3-rs1057910) mediante *Taqman Drug Metabolism Assay* (Applied Biosystems). Anche per il polimorfismo CYP4F2 V433M (rs2108622) è stato utilizzato un *Taqman Drug Metabolism Genotyping Assay* (Applied Biosystems). La presenza delle varianti è stata confermata tramite il sequenziamento diretto del DNA dei pazienti selezionati in modo casuale. La dose stabile di acenocumarolo è stata definita come la media delle dosi assunte dal paziente entro un periodo di almeno 3 mesi in cui fosse stato possibile registrare tre o più valori consecutivi di INR all'interno di un intervallo "terapeutico" con cambi inferiori al 10% della dose di acenocumarolo rispetto alla dose di carico. Come outcome primario è stato considerato il tempo per il raggiungimento della dose stabile e il tempo del primo eventuale evento di over-anticoagulazione (INR>4); l'outcome secondario è stato il valore di INR misurato dopo 72 h dall'inizio della terapia. Infine, l'influenza

dei polimorfismi considerati separatamente o in combinazione tra loro è stata valutata rispetto agli outcome descritti.

In questo studio sono stati analizzati 941 pazienti. Come atteso, gli individui con genotipo *VKORC1*-1639GG richiedevano una dose più alta di acenocumarolo, mentre gli eterozigoti avevano bisogno di una dose intermedia e gli individui -AA di una dose di farmaco più bassa rispetto alla dose standard. Anche i risultati relativi ai polimorfismi del *CYP2C9* non hanno fatto registrare novità rispetto ai dati presenti in letteratura con i pazienti *CYP2C9* *1/*1, *1/*2 o *2/*2 che necessitavano di una dose di acenocumarolo intermedia, mentre i portatori di almeno un allele *CYP2C9* *3 richiedevano una dose di farmaco più bassa degli individui *1/*3 e *2/*3. Infine, anche il genotipo *CYP4F2* contribuiva in maniera significativa a spiegare la variabilità della dose stabile di anticoagulante.

Per quanto riguarda il tempo necessario per raggiungere la dose stabile nella popolazione in studio è risultato pari a un valore medio di 70 giorni e, da un'analisi di multivariata, il genotipo *VKORC1* era significativamente correlato con questo parametro. I pazienti con genotipo -AA raggiungevano la dose stabile in minor tempo (60 giorni in media) rispetto ai pazienti -GG, che raggiungevano la stabilità dopo circa 80 giorni.

Secondo le linee guida attuali, la terapia con acenocumarolo, viene iniziata con una dose di 12-15 mg nei primi 2-3 giorni e, successivamente, vengono apportate delle modifiche in base ai valori misurati di INR con lo scopo di raggiungere un valore di INR terapeutico in 4-6 giorni di trattamento. Come per la terapia anticoagulante con warfarin, anche nel caso dell'acenocumarolo molti pazienti hanno valori di INR costantemente al di sotto o al di sopra dei range terapeutici. In questo studio è stato osservato che molti pazienti che raggiungevano un valore stabile di INR entro 3 mesi dall'inizio della terapia con acenocumarolo avevano il genotipo combinato *VKORC1* AA e *CYP2C9* *3. Inoltre, gli autori hanno evidenziato come anche il genotipo *CYP4F2* abbia un ruolo importante nella determinazione della dose stabile di acenocumarolo. In particolare, l'allele *CYP4F2* T esercitava una protezione dall'evenienza di over-anticoagulazione (definita da un valore di INR>4) nei primi 3 mesi di trattamento.

È interessante il dato secondo il quale la presenza dell'allele *CYP4F2* T diminuiva l'incidenza di eccessiva anticoagulazione in tutti i pazienti tranne nei portatori delle varianti *VKORC1* AA e *CYP2C9* *3.

Un altro fattore importante che influenzava il fenomeno di over-anticoagulazione era la prima dose di acenocumarolo somministrata. In questo studio è stato osservato che la prima dose di farmaco stabiliva esclusivamente sulla base di parametri demografici e clinici determinava valori di INR>2,5 nelle 72 h dall'inizio della terapia in più del 19% dei pazienti arruolati, che, per questo motivo, erano esposti a un rischio di sanguinamento.

In conclusione, questo studio suggerisce che estendere l'analisi genotipica al polimorfismo *CYP4F2* V433M potrebbe contribuire a ridurre il rischio di sovra-anticoagulazione nelle fasi iniziali della terapia con acenocumarolo.

L'influenza di fattori nuovi nella determinazione della dose più appropriata di coumarinico è senza dubbio minore a quella esercitata dai polimorfismi di *VKORC1* e *CYP2C9*. Ciononostante, la conoscenza del loro ruolo non potrà che contribuire ad aumentare la capacità degli algoritmi farmacogenetici di predire la dose di anticoagulante più sicura ed efficace per ogni paziente.

Parole chiave: Acenocumarolo, *VKORC1*, *CYP2C9*, *CYP4F2*, dose stabile, over-anticoagulazione

Riferimento bibliografico

[Cerezo-Manchado JJ](#) et al. *Pharmacogenomics* 2014;15(7): 987-96.

IMMUNOMODULAZIONE

RISPOSTA A METOTRESSATO IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE E POLIMORFISMI MTHFR RS1801133 E ATIC RS4673993

A cura della dott.ssa Eleonora Turrini

Il metotressato (MTX) è il principale farmaco utilizzato per il trattamento dell'artrite reumatoide (AR), patologia cronica caratterizzata dall'infiammazione su base autoimmune delle articolazioni sinoviali. I fattori che influenzano la risposta terapeutica possono essere classificati in variabili clinico-patologiche, intendendo le caratteristiche del paziente, della patologia e le variabili legate al trattamento, e fattori genetici, come i polimorfismi in geni chiave del *pathway* del MTX. Il MTX è un farmaco antagonista della sintesi dell'acido folico, con effetti antiinfiammatori e antiproliferativi, che inibisce, inoltre, la sintesi di purine e pirimidine. Il MTX non inibisce direttamente l'enzima metilentetraidrofolato-reduttasi (MTHFR), coinvolto nel *pathway* dei folati, ma l'espressione di questo enzima influenza l'efficacia del MTX modificando lo *status* dei folati. Inoltre, è noto come l'enzima trasformilasi aminoimidazolo carbossamide adenosina ribonucleotide (ATIC), coinvolto nella sintesi *de novo* di purine, sia direttamente inibito dalla forma poliglutamata del MTX (MTXPG). Svariati studi mostrano come variazioni nella risposta a MTX siano influenzate da polimorfismi sia in MTHFR che in ATIC. Il polimorfismo più studiato del gene MTHFR è rs1801133, che esita in una forma termolabile dell'enzima con ridotta attività ed è, infatti, stato correlato alla mancata risposta al MTX. Per quel che riguarda ATIC, alcuni autori associano la sua isoforma polimorfa rs4673993 ad uno stato clinico più favorevole e di conseguenza ad una risposta farmacologica positiva. Scopo del presente studio è stato quello di approfondire il ruolo dei due polimorfismi sopra riportati in una popolazione di pazienti portoghesi affetti da AR.

La popolazione coinvolta nello studio è stata arruolata tra il gennaio 2009 ed il dicembre 2012 presso l'ospedale San Paolo di Porto, Portogallo. In seguito alla diagnosi, i pazienti sono stati classificati in accordo ai criteri della Lega Europea contro il Reumatismo (EULAR). Tutti i pazienti sono stati inizialmente trattati con 10 mg alla settimana di MTX in monoterapia. La dose era incrementata di 5 mg ogni 3 settimane se il paziente non rispettava criteri soddisfacenti di risposta EULAR. In caso di manifestazione di effetti avversi o alla mancata risposta al MTX, anche in seguito ad incremento della dose, si è proceduto alla sostituzione del MTX con altri farmaci. Sono stati esclusi dallo studio pazienti non trattati con MTX per almeno 6 mesi o che avevano avuto una recente storia di abuso di droghe, una recente gravidanza o una gravidanza in programma. Per i pazienti arruolati sono stati registrati e monitorati vari parametri clinico-patologici. Parametri relativi al paziente come età, sesso, menopausa, indice di massa corporea, fumo, comorbidità; parametri relativi alla patologia quali età alla diagnosi, durata, positività per fattore reumatoide (RF), per anti-peptide citrullinato ciclico (anti-CCP), per anticorpi nucleari (ANAs), DAS28, strumento per misurare l'attività dell'AR, questionario relativo alla valutazione della salute (HAQ) ed infine sono stati valutati i parametri relativi alla terapia farmacologica quali trattamenti sintomatici con corticosteroidi e farmaci antiinfiammatori non steroidei (NSAIDs), supplemento di acido folico, caratteristiche relative alla somministrazione del MTX stesso.

I 233 pazienti arruolati (196 donne e 37 uomini) avevano età media di 52 ± 11.9 anni ed una durata media della patologia di 8.0 anni (*range*: 0.5-53.0). Il trattamento medio con MTX è risultato pari a 28.0 mesi (*range*: 6.0-230.0) con una dose media di 15.0 mg/settimana (*range*: 2.5-25.0). L'86.3% dei pazienti avevano ricevuto MTX per via orale, mentre il 13.7% per via sottocutanea. I non responsivi al trattamento con MTX sono risultati il 54.9% ed il loro valore medio della progressione della patologia, misurato sulla scala DAS28, è risultato 4.2 ± 1.3 (si considerano responsivi pazienti con $DAS28 \leq 3.2$).

La risposta al MTX è influenzata da parametri clinico-patologici dei pazienti quali diagnosi precoce della patologia ($P < 0.001$) e fumo, pazienti non fumatori ($OR = 0.32$; $P = 0.004$). Anche anti-CCP e ANAs sono stati associati alla mancata risposta a MTX ($OR = 2.28$; $P = 0.007$ e $OR = 1.98$; $P = 0.024$, rispettivamente). Inoltre, elevato HAQ score ($P = 0.006$) e trattamento con NSAID ($OR = 3.09$; $P < 0.001$) sono stati associati a mancata risposta al MTX. Somministrazione di alte dosi di MTX è stata associata a mancata risposta al trattamento ($P < 0.001$), mentre la via di somministrazione sottocutanea è stata associata in modo positivo alla risposta alla terapia ($OR = 0.32$; $P = 0.004$).

Entrambi i polimorfismi MTHFR rs1801133 e ATIC rs4673993 correlano con la risposta alla terapia con MTX ($P = 0.049$ e $P = 0.025$, rispettivamente). Nella popolazione in studio, per il polimorfismo MTHFR C677T l'allele minore è risultato T, ed i pazienti omozigoti 677TT sono stati associati ad un rischio 3 volte

maggiore di mancata risposta alla terapia se confrontati con soggetti 677CC (OR=3.08; $P=0.015$). Per il polimorfismo ATIC T675C l'allele minore è risultato C e pazienti portatori di 675CC sono stati associati in modo positivo alla risposta a MTX, rispetto ai soggetti 675TT (OR=0.32; $P=0.016$) o eterozigoti (OR=0.30; $P=0.007$).

Per valutare quali variabili genetiche e/o clinico-patologiche possano influenzare la risposta a MTX, eliminando i fattori confondenti, è stata utilizzata l'analisi multivariata con regressione lineare logistica binaria. Pazienti portatori di MTHFR 677TT hanno presentato un aumento del rischio di non risposta di 4 volte rispetto a soggetti portatori di almeno un allele C (OR=4.63; $P=0.013$). Inoltre, pazienti portatori dell'allele ATIC 675T hanno mostrato un rischio 5 volte maggiore di non risposta al MTX se confrontati con soggetti portatori di ATIC 675CC. Tra le varianti clinico-patologiche, la mancata risposta a MTX è stata associata in modo significativo al fumo, in particolare per i pazienti non fumatori (OR=7.98; $P=0.001$), a pazienti positivi ad anti-CCP (OR=3.53; $P=0.004$) e ANAs (OR=2.28; $P=0.045$), con elevato HAQ (OR=2.42; $P=0.007$) e sottoposti a trattamento con NSAIDs (OR=2.77; $P=0.018$). Inoltre, la somministrazione sottocutanea è stata associata in modo positivo alla risposta al MTX (OR=0.11; $P<0.001$).

La mancata risposta al trattamento con MTX in pazienti affetti da AR è stata associata in modo significativo alla presenza di omozigosi per l'allele T per il polimorfismo MTHFR C677T e alla presenza di almeno un allele T per il polimorfismo ATIC T675C. Inoltre, la mancata risposta è stata associata ai seguenti parametri clinico-patologici: non fumatori, positivi ad anti-CCP e ANAs, elevato HAQ, somministrazione di NSAIDs e somministrazione del farmaco per via orale.

Tali risultati, utili all'ottimizzazione della terapia nei soggetti affetti da AR, ed in particolare il ruolo assunto dalle varianti genetiche, necessitano di ulteriori conferme in studi multicentrici, al fine di poter essere utilizzate come biomarcatori predittivi di risposta nella pratica clinica.

Parole chiave: artrite reumatoide, metotressato, MTHFR, ATIC, parametri clinico-patologici.

Riferimento bibliografico

[Lima A](#) et al. *Biomed Res Int.* 2014, 2014: 368681.

LA METANALISI DEL MESE

RUOLO DEI POLIMORFISMI DEL GENE XRCC1 SULL'ESITO CLINICO DEI PAZIENTI CON CARCINOMA GASTRICO TRATTATI CON CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO: REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il carcinoma gastrico è il quarto tumore per frequenza e rimane una delle principali cause di morte per cancro. L'introduzione della chirurgia radicale in combinazione con la chemioterapia adiuvante a base di platino ha migliorato significativamente la sopravvivenza dei pazienti, tuttavia si osserva un'ampia variabilità a livello individuale negli esiti clinici. Il sistema di riparazione del DNA ha un ruolo fondamentale nel processo di tumorigenesi e di resistenza al trattamento. La proteina XRCC1 svolge un ruolo chiave nella riparazione delle lesioni indotte da cisplatino mediante un processo di escissione delle basi. È quindi ipotizzabile che differenze interindividuali del gene XRCC1 possano contribuire alla variabilità nella capacità di riparo del danno indotto dal platino, influenzando l'efficacia della chemioterapia e l'esito clinico dei pazienti. I polimorfismi (SNP – *single nucleotide polymorphism*) più comuni del gene XRCC1 sono le varianti Arg399Gln (rs25487, G>A) e Arg194Trp (rs1799782, C>T). In letteratura esistono dati contrastanti riguardo l'associazione tra gli SNP di XRCC1 e l'esito clinico nel carcinoma gastrico. In questo studio, gli Autori hanno condotto una meta-analisi al fine di chiarire il ruolo dei polimorfismi del

gene XRCC1 relativamente all'efficacia della chemioterapia a base di platino in pazienti con carcinoma gastrico.

Gli studi eleggibili sono stati selezionati dalla letteratura tramite i database elettronici PubMed, SinoMed, e CNKI, utilizzando i seguenti termini di ricerca: "XRCC1 or X-ray repair cross complementing protein 1", "stomach cancer or gastric cancer", and "polymorphism or variant". I criteri di inclusione erano: a) pazienti con carcinoma gastrico avanzato, recidivato o metastatico; b) carcinoma confermato da esame istopatologico; c) trattamento con ogni tipo di chemioterapico a base di platino; d) studi di coorte prospettici dei polimorfismi Arg399Gln o Arg194Trp; e) studi con una numerosità campionaria maggiore di 45 pazienti. Nel caso in cui un gruppo di ricerca aveva pubblicato più articoli sulla stessa coorte di pazienti, sono stati selezionati i lavori contenenti la popolazione in studio più numerosa e sono stati utilizzati i dati sui polimorfismi più aggiornati. I dati estratti da ogni studio includevano: cognome del primo autore, anno di pubblicazione, nazione di origine, etnia, numerosità campionaria, metodo di genotipizzazione ed esito clinico. La variabile etnia è stata categorizzata come Asiatica o Caucasica.

Gli autori hanno utilizzato i criteri WHO (*World Health Organization*) o RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) per stimare l'odds ratio (OR) e il corrispondente intervallo di confidenza (95%CI) di risposta oggettiva dopo chemioterapia a base di platino [risposte complete + parziali vs progressione di malattia + malattia stabile]. È stato calcolato un hazards ratio (HR) combinato, utilizzando il modello di Cox, per il tempo libero da progressione (PFS) e la sopravvivenza complessiva (OS). L'analisi iniziale è stata effettuata utilizzando un modello ad effetti-fissi, e laddove c'era eterogeneità tra gli studi, è stato applicato un modello ad effetti-casuali. L'eterogeneità tra gli studi è stata valutata mediante test di Q.

Sono stati identificati inizialmente 80 articoli, di cui 18 rispettavano i criteri di inclusione. Dopo esclusione di ulteriori 7 studi (dati incompleti, bassa numerosità campionaria, regime terapeutico senza platino), nella meta-analisi sono stati inclusi 11 studi. Tra questi, 2 studi avevano valutato l'associazione tra polimorfismi di XRCC1 ed esito clinico in una popolazione caucasica, mentre i pazienti delle restanti coorti erano tutti di provenienza asiatica. In totale, 1274 pazienti con carcinoma gastrico, trattati con chemioterapia a base di platino, sono stati inclusi nell'analisi finale.

Il valore predittivo del polimorfismo Arg399Gln è stato valutato in 809 individui, appartenenti a 7 diversi studi. L'analisi di associazione tra il polimorfismo e la risposta al trattamento non ha mostrato alcuna associazione significativa (G/A+A/A vs G/G: OR = 0.97; 95%CI = 0.49-1.26), anche dopo stratificazione per etnia (Asiatica: OR = 0.84; 95%CI = 0.42-1.70; Caucasica: OR = 0.75; 95%CI = 0.38-1.48). L'associazione del polimorfismo Arg194Gln è stata invece valutata in 3 studi che comprendevano 466 pazienti. Non è stata evidenziata alcuna associazione tra polimorfismo Arg194Gln e risposta al trattamento (C/T+T/T vs C/C: OR = 0.92; 95%CI = 0.60-1.41) anche dopo analisi stratificata per etnia (Asiatica: OR = 0.94; 95%CI = 0.59-1.52; Caucasica: OR = 0.84; 95%CI = 0.33-2.12).

L'associazione con la PFS e la OS è stata valutata unicamente per il polimorfismo Arg399Gln. Sono stati considerati rispettivamente 5 studi con 528 pazienti per l'analisi della PFS e 7 studi con 881 pazienti per l'analisi della OS. Utilizzando un modello ad effetti-casuali, i portatori dell'allele A non differivano per PFS rispetto ai pazienti portatori dell'allele G (G/A+A/A vs G/G: HR = 1.32; 95%CI = 0.84-2.07). Relativamente all'endpoint OS, solo 1 studio aveva incluso pazienti di origine Caucasica. Nel modello ad effetti-casuali, i pazienti portatori dell'allele A risultavano avere una sopravvivenza inferiore e statisticamente significativa rispetto ai pazienti portatori dell'allele G (G/A+A/A vs G/G: HR = 1.40; 95%CI = 1.04-1.90).

In questa meta-analisi è stato valutato l'impatto dei polimorfismi di XRCC1 sull'esito clinico, inteso come risposta oggettiva, tempo libero da progressione e sopravvivenza generale, dei pazienti con carcinoma gastrico e trattati con chemioterapia a base di platino. Da questa analisi emerge che i pazienti portatori dell'allele XRCC1 399Arg hanno una ridotta OS. Questo dato è in concordanza con 4 degli studi inclusi (Goekkurt E et al. *J Clin Oncol* 2009, 27(17):2863-73; Huang ZH et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009, 64(5): 1001-7; Liang et al. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2010, 32(7):515-9; Shim et al. *Cancer Sci* 2010, 101(5):1247-54). Solo 1 dei 7 studi inclusi nell'analisi per la OS era stato condotto su popolazione caucasica e di conseguenza, per trarre delle conclusioni definitive, saranno necessari ulteriori studi su popolazione più ampia e con differente estrazione etnica. Inoltre, lo studio presenta alcune limitazioni che devono essere tenute in considerazione, tra cui l'assenza di un'analisi stratificata per i differenti regimi chemioterapici con platino.

In conclusione, questa meta-analisi suggerisce il polimorfismo Arg399Gln di XRCC1 come possibile biomarcatore prognostico di OS per il trattamento a base di platino del carcinoma gastrico. Ciononostante, al fine di confermare questi dati e di renderli utilizzabili nella pratica clinica sono necessari ulteriori studi con un buon disegno sperimentale, con una numerosità campionaria più ampia e con differenti background genetici.

Il polimorfismo Arg399Gln (rs25487, G>A) di XRCC1 è un possibile biomarcatore prognostico di OS per il trattamento a base di platino del carcinoma gastrico. I pazienti portatori dell'allele A mostrano una sopravvivenza inferiore e statisticamente significativa rispetto ai pazienti portatori dell'allele G.

Parole chiave: XRCC1, carcinoma gastrico, platino

Riferimento bibliografico

[Xu J](#) et al. *Genet Mol Res* 2014, 13(1):1438-46.

*La newsletter di SIF-Farmacogenetica va in ferie.
Auguri di buone vacanze a tutti i nostri lettori.
Arrivederci a settembre.*

La redazione



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@segr.it; sif.farmacologia@segr.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)
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 Cargini (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (A.O. Polo Universitario "Sacco" di Milano) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Concetta Rafaniello (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Gloria Ravagnini (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

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.
