

**Newsletter Numero 67 – Novembre 2014**

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

Sommario**⇒ Oncologia**

- o La sovraespressione del MicroRNA-200c predice un *outcome* sfavorevole in pazienti con cancro al seno PR-negativo
- o Varianti genetiche delle chinasi inibitrici di Ras (KSR1) nella sopravvivenza di pazienti con carcinoma della mammella avanzato ER α positivo
- o DNA tumorale circolante come alternativa alla biopsia per l'analisi delle mutazioni nel tumore della mammella

⇒ Neurologia

- o Uno studio di associazione *genome-wide* identifica alcune varianti genetiche associate alle reazioni avverse cutanee severe indotte dall'uso di fenitoina
- o HLA-B*1502 è associato alla sindrome di Stevens-Johnson indotta da carbamazepina nella popolazione dell'India del Nord
- o Depressione respiratoria indotta da oppioidi: farmacogenetica del trasportatore ABCB1
- o Effetto del polimorfismo -900G>A (-842G>A; rs7438135) di UGT2B7 nella glucuronidazione della morfina in neonati pretermine: risultati di uno studio pilota

⇒ Immunomodulazione

- o L'influenza delle varianti genetiche del CYP3A, PPARA, POR sulla farmacocinetica di tacrolimus e ciclosporina in pazienti sottoposti a trapianto renale

⇒ Cardiovascolare

- o La farmacogenetica etnia-correlata: il caso warfarin negli afro-americani

ONCOLOGIA**LA SOVRAESPRESSIONE DEL MICRORNA-200C PREDICE UN *OUTCOME* SFAVOREVOLE IN PAZIENTI CON CANCRO AL SENO PR-NEGATIVO**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al seno è una malattia eterogenea con diversi sottotipi caratterizzati da peculiarità cliniche e biologiche a sé stanti. Ad oggi, tra i markers impiegati nelle analisi di routine vi sono il recettore estrogenico (ER), il recettore progestinico (PR), il recettore per il fattore di crescita epidermico 2 (Her2) e Ki-67. Sebbene tali markers facilitino la diagnosi e la scelta della terapia appropriata, sono necessari nuovi metodi

diagnostici per la predizione del rischio allo scopo di ampliare la conoscenza del tumore al seno e sviluppare metodologie terapeutiche innovative. Le funzioni ormonali sia nel cancro al seno e che nel corrispondente tessuto normale sono state ampiamente studiate e le evidenze supportano l'ipotesi che gli ormoni steroidei progestinici ed estrogenici abbiano un ruolo nell'iniziazione e nella successiva crescita di questo tipo di tumore; le azioni di tali ormoni sono mediate dai rispettivi recettori PR e ER. Studi recenti hanno suggerito nei tumori l'esistenza di un collegamento tra microRNAs deregolati e ormoni steroidei (Klinge CM, *CurrGenomics* 2009,10:169-83; Lowery AJ et al, *BreastCancer Res* 2009,11:R27). Negli ultimi anni, infatti, molti lavori hanno riportato un collegamento tra espressione deregolata di miRNA e cancro; i microRNA coinvolti possono agire sia come oncosoppressori che come oncogeni, a seconda del target. La famiglia miR-200 include miR-200a, miR-200b miRNA-200c, miR-141 e miR-429; questi miRs mantengono il fenotipo epiteliale nel cancro al seno, inibiscono la migrazione cellulare e l'invasione. Lo scopo del presente studio è stato quello di esaminare l'associazione tra espressione di miR-200c e l'*outcome* in pazienti affetti da cancro al seno invasivo.

Nell'analisi sono stati coinvolti una totale di 172 pazienti (facenti parte del progetto "KuopioBreastcancer", KBCP, condotto tra il 1990 e 1995). Le pazienti avevano subito trattamento chirurgico seguito da chemioterapia adiuvante e/o ormono- e radio-terapia; l'età alla diagnosi era di 60.4 anni ed il follow-up medio era stato di 9.7 anni (range 0.10-19.8 anni). 60 pazienti erano decedute a causa del tumore durante il periodo di follow-up, 59 per ragioni non correlate e 53 erano ancora vive al momento della raccolta dei dati. L'RNA estratto è stato retrotrascritto a cDNA, sono stati analizzati i livelli di espressione di miR-200c e del controllo endogeno RNU48 e quindi calcolata l'espressione relativa secondo il metodo del $\Delta\Delta Ct$. La coorte è stata quindi suddivisa in due gruppi sulla base dei livelli di espressione osservati: un primo gruppo con espressione moderata/alta comprendente campioni con espressione superiore alla media; un secondo gruppo con espressione bassa, comprendente campioni con espressione inferiore alla media.

Un'alta espressione di miR-200c risultava associata a tumore di grado 3 ($P=0.002$). Dall'analisi dei soli casi PR-positivi (PR+) ($n=94$) nell'analisi di Kaplan-Meier si evidenziava che una bassa espressione di miR-200c prediceva una scarsa sopravvivenza (PS, *poorsurvival*) cancro specifica ($P=0.003$). Nell'analisi multivariata l'espressione di miR-200c risultava un fattore indipendente per la predizione della PS, in aggiunta allo stato nodale e ad Her2 ($P=0.004$, OR =4.176). Analogamente, sono stati analizzati i tumori PR-negativi (PR-) ($n=72$): dall'analisi di Kaplan-Meier si evidenziava che un'alta espressione di miR-200c era associata a bassa sopravvivenza cancro al seno-specifica ($P=0.002$); tale associazione rimaneva significativa anche nell'analisi multivariata ($P=0.002$, OR=3.433). Dei 72 casi PR-, 45 erano anche ER-negativi. Per comprendere se lo stato di ER potesse influenzare i risultati, è stata effettuata l'analisi di Kaplan-Meier ai soli casi negativi sia per PR che per ER ed il risultato è stato nuovamente confermato ($P=0.025$). Tuttavia l'analisi di Cox non ha confermato l'associazione espressione-sopravvivenza nel gruppo PR/ER negativo, in contrasto con i risultati dell'analisi per l'intero gruppo ($n=72$).

Successivamente è stato valutato se l'espressione di miR-200c fosse associata alla sopravvivenza libera da recidiva (*relapse-free survival*, RFS). Nella coorte PR-, i pazienti con alta espressione di miR-200c mostravano un tempo di RFS ridotto se comparati con i soggetti aventi un livello di espressione più basso ($P=0.001$); lo stesso risultato è stato confermato anche nell'analisi di Cox ($P=0.001$, OR=3.613). Gli autori hanno infine analizzato l'associazione dell'espressione di miR-200c con la ricorrenza del tumore distante/locale tra i casi PR-; i pazienti con recidiva avevano livelli di espressione di miR-200c più elevati rispetto a quelli senza recidiva ($P=0.006$, OR=3.965).

Questo è il primo studio a mettere in relazione la sopravvivenza di pazienti affetti da cancro al seno con i livelli di espressione del microRNA 200c e lo stato del recettore progestinico. Un'alta espressione di questo microRNA risulta essere un fattore prognostico di scarsa sopravvivenza nel gruppo di pazienti PR-. Al contrario, nei pazienti PR+, sarebbe una bassa espressione di miR-200c ad essere associata a scarsa sopravvivenza. È plausibile che bassi livelli di miR-200c, che favoriscono la migrazione e l'invasione, possano determinare una scarsa sopravvivenza. Tale ipotesi sarebbe in accordo con i risultati ottenuti sul gruppo dei pazienti PR+ ma risulta in contrasto con quelli ottenuti per il gruppo PR-. Ulteriori studi sono quindi necessari per chiarire il ruolo di miR-200c come marker di progressione del tumore al seno.

In conclusione, questo lavoro suggerisce che un'alta espressione di miR-200c possa essere un fattore predittivo della sopravvivenza nei pazienti cancro al seno invasivo. Tuttavia la direzione dell'associazione dipende dalla presenza dei recettori estrogenici o progestinici. Nei tumori PR-negativi, la presenza di alti livelli di miR-200c è associata ad un rischio maggiore di recidiva e scarsa sopravvivenza.

Parole chiave: tumore al seno, miR-200c

Riferimenti bibliografici

[Tuomarila M](#) et al. *PLoS One* 2014, 9(10):e109508.

VARIANTI GENETICHE DELLE CHINASI INIBITRICI DI RAS (KSR1) NELLA SOPRAVVIVENZA DI PAZIENTI CON CARCINOMA DELLA MAMMELLA AVANZATO ER α POSITIVO

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'insorgenza e la progressione del carcinoma della mammella rappresentano un processo molecolare complesso non completamente noto. Il 75% dei sottotipi è caratterizzato da un'aumentata espressione dei recettori per gli estrogeni (ER α) rispetto al tessuto normale, e gli ormoni sono direttamente coinvolti nella progressione tumorale attivando la trascrizione di geni coinvolti nella proliferazione (Jiang J et al. *Clin Cancer Res* 2007, 13:5769–76). Sono disponibili diversi farmaci anti-estrogeni, tra cui inibitori dell'aromatasi, fulvestrant e tamoxifene, e tra i meccanismi di resistenza a quest'ultimo ricordiamo l'attivazione estrogeno-indipendente dell'ER α tramite l'EGFR, la *down-regulation* o la perdita di espressione dell'ER α (Moerkens M et al. *BMC Cancer* 2014, 14:283; Osborne CK, Schiff R *Annu Rev Med* 2011, 62:233–47). In studi precedenti è stato effettuato uno *screening* dell'intero chinoma umano (l'insieme delle proteine chinasi) ed è stata trovata un'associazione tra l'assenza di tre chinasi (TYRO3, LMTK3, and KSR1) e la ridotta espressione di geni target dell'ER α (*trefoil factor 1*, TTF1, recettore del progesterone, PGR e *growth regulation by estrogens in breast cancer*, GREB1) (Giamas G et al. *Nat Med* 2011, 17:715–19). In questo studio è stata presa in considerazione la chinasi KSR1, che fa parte della via Ras/Raf/ERK (Goettel *J Exp Cell Res* 2011, 317:452–63) e risulta coinvolta nel processo oncogenetico del carcinoma della mammella, come anche in altri tumori (linfoma, carcinoma pancreatico, endometriale, a cellule squamose).

In questo studio è stata valutata l'associazione tra la presenza delle varianti del gene *KSR1* e l'*outcome* di pazienti con carcinoma della mammella trattati con terapia endocrina.

Sono state arruolate pazienti con carcinoma della mammella invasivo ER+ in stadio II e III sottoposte ad intervento chirurgico tra il 1981 ed il 2003 e trattate con tamoxifene per 5 anni o fino a ricaduta. Nessuna delle pazienti aveva ricevuto chemioterapia neo-adiuvante o adiuvante. Per la genotipizzazione del *KSR1* erano disponibili campioni di tessuto in formalina di 222 pazienti.

Sono state incluse nello studio 222 pazienti con carcinoma mammario ER+ di stadio II e III. Non è stata riscontrata alcuna associazione tra i polimorfismi e le caratteristiche demografiche, cliniche o patologiche di base. Variabili come l'età, le dimensioni del tumore (<2, 2-5, >5 cm), il coinvolgimento linfonodale, lo stadio e lo status HER2 sono state associate significativamente con la *disease free survival* (DFS) e l'*overall survival* (OS). L'età media alla diagnosi era 56 anni. La durata media del follow-up era 6,4 anni, la DFS media 6,3 anni e la OS media di 8,4 anni. La genotipizzazione del *KSR1* rs2241906 è stata eseguita con successo in 216 campioni. La presenza del genotipo TT è stata associata con una DFS più breve rispetto ai genotipi CT e CC (media di 2,1 anni vs 6,3 e 7,1 anni rispettivamente, P = 0,005) e lo stesso è stato riscontrato per la OS (media di 2,6 anni per il genotipo TT vs 8,5 anni per i genotipi CT/CC, P = 0,002). La genotipizzazione del *KSR1* rs1075952 è stata eseguita con successo in 214 campioni ed è stato confermato essere in *linkage disequilibrium* con l'rs2241906. Pertanto, i risultati dell'associazione con più brevi DFS e OS per la presenza del genotipo AA erano analoghi a quelli ottenuti con l'allele TT dell'rs2241906. La genotipizzazione del *KSR1* rs2293180 è stata eseguita con successo in 164 campioni e non è stato trovato in *linkage disequilibrium* con gli altri polimorfismi e neppure un'associazione con DFS o OS. Anche con l'aggiustamento per diverse variabili, quali dimensioni del tumore, status linfonodale, grado, status HER,

L'associazione tra il genotipo TT dell'rs2241906 e DFS e OS più brevi è rimasta significativa.

Studi in vivo ed in vitro hanno messo in evidenza come la chinasi *KSR1* possa essere coinvolta nell'oncogenesi di cellule mammarie. In modelli animali privi del gene *KSR1* è stata riscontrata una ridotta crescita di tumori mammari e di tumori cutanei ras-mediati (Conneely KN, Boehnke M *Am J Hum Genet* 2007, 81:1158–68). In vitro, la trasformazione mediata dall'oncogene *RAS* viene condizionata dall'espressione del *KSR1*, fino all'inibizione completa della crescita dipendente da ancoraggio (Fisher KW et al. *Mol Cell Biol* 2011, 31:2453–61). I risultati di questo studio su pazienti sono limitati dalla mancanza di informazioni sull'attività funzionale delle varianti *KSR1* e non è stata trovata correlazione tra le varianti e l'espressione della proteina (Stebbing J et al. *Oncogene* advance online publication, 9 June 2014). L'espressione del *KSR1* è stata associata con la sensibilità a vari chemioterapici ma non sono sufficienti le analisi del livello di attivazione di altri membri della via ras/raf/Erk per comprenderne il ruolo. L'attivazione di questa via è in parte subordinata al controllo dei recettori della famiglia HER ma in questo studio l'impatto delle varianti *KSR1* era indipendente dallo status HER2, anche se questa informazione era disponibile solo nel 32% delle pazienti. Un limite importante dello studio era rappresentato dal cambiamento nella gestione terapeutica del carcinoma della mammella nel corso degli ultimi 40 anni. Il ruolo del *KSR1* dovrebbe essere valutato separatamente nelle donne in pre e post-menopausa, ma in questo studio il campione era troppo piccolo per distinguere queste popolazioni. Inoltre, non è nota l'influenza della varianti in pazienti trattate con inibitori dell'aromatasi. Il ruolo del *KSR1* nella progressione del carcinoma della mammella dovrebbe essere ulteriormente esplorato per confermarne il valore e specificarne l'utilità come *marker* predittivo di risposta al tamoxifene o come *marker* prognostico.

In conclusione, i dati di questo studio suggeriscono l'impatto clinico delle varianti *KSR1* in pazienti con carcinoma della mammella ER+ trattate con tamoxifene, avendo trovato un'associazione significativa tra la presenza del genotipo TT del *KSR1* rs2241906 e DFS e OS più brevi.

Parole chiave: carcinoma della mammella, anti-estrogeni, *KSR1*

Riferimento bibliografico

[Benhaim L](#) et al. *Pharmacogenomics J.* 2014 Oct 7 [Epub ahead of print].

DNA TUMORALE CIRCOLANTE COME ALTERNATIVA ALLA BIOPSIA PER L'ANALISI DELLE MUTAZIONI NEL TUMORE DELLA MAMMELLA

A cura delle Dott.sse Valentina Citi e Marzia Del Re

Il tumore alla mammella è il cancro più frequentemente diagnosticato nelle donne in Europa e, se metastatico, è considerato nella maggior parte dei casi incurabile. Importanti progressi nel trattamento del tumore alla mammella riguardano farmaci target-specifici, come il tamoxifene nel tumore che esprime il recettore per estrogeni (ER +), ed il trastuzumab per i tumori in cui è espresso il recettore per il fattore di crescita epidermico (HER2 +). Negli ultimi anni l'analisi del DNA tumorale ottenuto direttamente dal tessuto tumorale metastatico ed analizzato tramite *Next-Generation Sequencing*, ha fornito importanti informazioni per quanto riguarda nuovi potenziali target che permettano lo sviluppo di farmaci specifici per una medicina personalizzata. Molti pazienti però non possono beneficiare di questo nuovo approccio a causa della non-accessibilità delle lesioni metastatiche, oltre al fatto che la metodica è eccessivamente invasiva e con fattori di rischio elevati per la salute stessa del paziente. I recenti progressi nella caratterizzazione del DNA tumorale circolante pongono le basi per poter considerare il plasma stesso come "biopsia liquida", non invasiva, per caratterizzare a livello genetico il tumore e per monitorare l'eventuale insorgenza di mutazioni che causano resistenza al trattamento. Per determinare se il plasma possa essere utilizzato come alternativa alla biopsia, è stato condotto uno studio usando il *Next Generation Sequencing* analizzando 50 geni sia su biopsia da tessuto primario e/o metastatico (69 campioni), sia su campioni di plasma (31 campioni) da 17 pazienti affetti da tumore della mammella.

I pazienti inclusi nello studio avevano una diagnosi di tumore della mammella istologicamente confermata, stadio metastatico e lesioni accessibili per effettuare la biopsia. Inoltre, i prelievi dei campioni di plasma sono stati effettuati prima dell'inizio del trattamento, dopo il primo ciclo del trattamento e alla progressione della malattia. Tra i 17 pazienti compresi tra 35 e 62 anni, 12 erano affetti da tumore della mammella ER+/HER2-, 2 erano ER-/HER2-, 2 erano ER-/HER2+ e 1 era ER+/HER2+.

Sono stati ottenuti risultati valutabili attraverso il *Next Generation Sequencing* su 60 dei 69 campioni di tessuto (primario o metastatico) e da tutti i campioni di plasma. Per quanto riguarda l'analisi su tessuto, il 71% dei pazienti (12 su 17 pazienti) presentava almeno una mutazione su uno dei geni analizzati (p53, PIK3CA, PTEN, AKT1 o IDH2). L'analisi di biopsie multiple provenienti dallo stesso sito metastatico o da lesioni diverse dello stesso paziente e alla stessa tempistica, non ha rilevato ulteriori mutazioni ad eccezione di un paziente. Analizzando gli stessi geni sui 31 campioni di plasma, il 71% dei pazienti aveva almeno una mutazione su uno dei geni analizzati (p53, PIK3CA, PTEN, AKT1, IDH2 o SMAD4); inoltre 7 pazienti presentavano più di una mutazione individuata nei campioni di plasma.

Per dimostrare se il DNA tumorale circolante possa rappresentare una valida alternativa alle singole biopsie, sono stati confrontati i risultati dei campioni di plasma con quelli delle biopsie: in 4 pazienti non è stata individuata nessuna mutazione né in plasma né su tessuto; in 9 pazienti è stata individuata la stessa mutazione sia su plasma che su tessuto. In 2 pazienti è stata identificata una mutazione su tessuto, ma non nel plasma: questo può essere dovuto o all'assenza della mutazione stessa nel plasma o alla presenza della mutazione, ma con una frequenza allelica inferiore al limite di determinazione. L'ultima ipotesi sembrerebbe essere quella più ragionevole, poiché in entrambi i pazienti è stata riscontrata la mutazione nel plasma usando una tecnologia meno sensibile.

Infine, in 2 pazienti è stata identificata la presenza di due mutazioni attivanti per PIK3CA e AKT1 nel plasma e nel campione metastatico, ma non su tumore primario: in questi casi il DNA tumorale circolante può catturare in maniera soddisfacente l'eterogeneità del tumore rispetto alla biopsia su tumore primario.

In questo studio è stata osservata una concordanza tra biopsia e DNA tumorale circolante del 76% dimostrando che il plasma può essere utilizzato come risorsa alternativa al tessuto tumorale usando metodiche sensibili, come il *Next Generation Sequencing*.

Per concludere, il plasma, considerato come biopsia liquida, potrebbe essere utilizzato in futuro almeno in quei casi in cui le lesioni metastatiche non siano accessibili per la biopsia. Sono comunque necessari ulteriori studi per poter applicare la procedura nella pratica clinica.

Parole chiave: DNA tumorale circolante, tumore della mammella, *Next Generation Sequencing*

Riferimento bibliografico

[Rothé F](#) et al. *Ann Oncol* 2014, 25(10):1959-65.

NEUROLOGIA

UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE* IDENTIFICA ALCUNE VARIANTI GENETICHE ASSOCIATE ALLE REAZIONI AVVERSE CUTANEE SEVERE INDOTTE DALL'USO DI FENITOINA

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

La fenitoina è un farmaco antiepilettico di prima scelta per il trattamento delle crisi epilettiche parziali e tonico-cloniche generalizzate. Tuttavia, l'assunzione di fenitoina è correlata all'insorgenza di reazioni avverse

di tipo cutaneo, che variano da eruzioni cutanee di lieve entità a reazioni avverse severe potenzialmente fatali per il paziente. Tra le reazioni avverse severe di tipo cutaneo si annoverano il rash da farmaci con eosinofilia e sintomi sistemici (DRESS: *DrugRash with Eosinophilia and SystemicSymptoms*), la sindrome di Stevens-Johnson (SJS) e la necrolisi epidermica tossica (TEN). Il rash da farmaco con eosinofilia e sintomi sistemici ha un tasso di mortalità del 10% circa nei pazienti asiatici trattati con fenitoina e si manifesta con eosinofilia, eruzione maculopapulare generalizzata, febbre alta e coinvolgimento viscerale. La sindrome di Stevens-Johnson e la necrolisi epidermica tossica risultano in un'elevata mortalità (10%-50%) e sono caratterizzate dalla rapida comparsa di esantemi vescicolari e reazioni mucocutanee gravi. Il contributo della variabilità genetica individuale nel manifestarsi di tali reazioni avverse severe cutanee non è al momento noto. Alcuni studi di associazione condotti con un approccio "gene-candidato" hanno individuato una correlazione tra la variante HLA-B*15:02 e l'insorgenza di reazioni avverse severe cutanee nei pazienti in trattamento con fenitoina. Tale associazione, tuttavia, risulta essere statisticamente più debole di quella riscontrata tra la medesima variante genetica e le reazioni avverse cutanee indotte dall'uso un altro farmaco antiepilettico, la carbamazepina. Obiettivo di questo studio di associazione *genome-wide* è stato quello di individuare i potenziali fattori genetici correlati al manifestarsi di reazioni avverse severe cutanee in pazienti affetti da epilessia ed in trattamento con fenitoina.

Questo studio multicentrico è stato condotto su pazienti asiatici trattati con fenitoina e reclutati dal 2002 al 2014 presso centri ospedalieri localizzati in Taiwan, Giappone e Malesia. Sono 168 i casi totali arruolati, di cui 90 affetti da reazioni avverse severe cutanee (N=48 con SJS-TEN e N=42 con DRESS) e 78 colpiti da esantemi maculo-papulari di moderata entità. I fenotipi delle reazioni avverse severe di tipo cutaneo sono stati caratterizzati secondo i criteri diagnostici riportati dal Registro delle Reazioni Avverse Severe Cutanee, un registro multinazionale che raccoglie i casi di reazioni avverse severe cutanee segnalati da medici appartenenti a strutture ospedaliere di differenti nazioni. Sono stati inoltre arruolati 130 pazienti "tolleranti" alla fenitoina che non abbiano presentato reazioni avverse severe cutanee dopo un trattamento di almeno 3 mesi con tale farmaco. Infine, sono 3655 i controlli sani complessivamente reclutati in Taiwan, Giappone e Malesia.

Lo studio di associazione *genome-wide* è stato condotto su una coorte esploratoria composta da 60 casi affetti da reazioni avverse severe cutanee (N=38 con SJS-TEN; N=22 con DRESS) e da 412 controlli sani reclutati presso un centro di riferimento in Taiwan. Inoltre, al fine di individuare tutte le varianti funzionali potenzialmente correlate all'*outcome* in studio, è stato effettuato il sequenziamento diretto dei geni emersi come statisticamente associati nell'analisi *genome-wide*. I risultati ottenuti in questa fase esploratoria sono stati successivamente validati in tre set indipendenti di pazienti, costituiti: 1) 30 casi affetti da reazioni avverse severe cutanee (n=10 SJS-TEN; n=20 DRESS) e 130 pazienti "tolleranti" alla fenitoina reclutati in Taiwan; b) 9 pazienti con SJS-TEN e 2869 controlli sani arruolati in centri ospedalieri giapponesi; 3) 6 casi e 374 controlli di nazionalità malesiana. Infine, sono stati raccolti campioni di plasma di 101 pazienti "tolleranti" alla fenitoina e di 40 casi affetti da reazioni avverse severe cutanee da fenitoina (n=14 SJS-TEN; n=26 DRESS) allo scopo di misurare la concentrazione plasmatica del farmaco in tali pazienti.

Dall'analisi di associazione *genome-wide* emergono 16 varianti genetiche statisticamente associate ($P < 5.9 \times 10^{-8}$) all'insorgenza di reazioni avverse severe cutanee. Di questi polimorfismi, gli 8 top SNPs sono localizzati nei geni CYP2C, tra cui CYP2C18, CYP2C19, CYP2C9 e CYP2C8. Il sequenziamento diretto dei geni CYP2C ha consentito l'individuazione di altre due varianti genetiche *missense* (CYP2C9*3, CYP2C19P*1) anch'esse statisticamente associate all'insorgenza di reazioni avverse severe cutanee in seguito ad assunzione di fenitoina (rispettivamente, $P = 3.4 \times 10^{-11}$, $P = 1.5 \times 10^{-12}$). Tali correlazioni statisticamente significative si riconfermano in un set indipendente di replicazione costituito da 30 casi e 130 pazienti "tolleranti" alla fenitoina arruolati in Taiwan. Essendo molto bassa la prevalenza delle reazioni avverse severe cutanee nei pazienti di Taiwan, è stata effettuata un'analisi di associazione combinando i casi e i controlli della coorte esploratoria con quelli del primo set di replicazione (casi totali: n=90; controlli totali: n=542). Sia dall'analisi di associazione *genome-wide* che da quelle di replicazione e combinazione delle due coorti emerge come tra le 10 varianti in analisi, CYP2C9*3 sia la più fortemente associata all'insorgenza di reazioni avverse severe cutanee indotte da fenitoina (GWAS: OR 11, 95% CI 5.7-20, $P = 1.5 \times 10^{-12}$; replicazione: OR 19.2, 95% CI 5.2-71, $P = 1.0 \times 10^{-16}$; combinazione delle coorti: OR 12, 95% CI 6.6-20, $P = 1.1 \times 10^{-17}$). L'associazione tra CYP2C9*3 e il manifestarsi di reazioni avverse severe cutanee è stata ulteriormente validata in due set di replicazione, costituiti rispettivamente da pazienti reclutati in Giappone

(9 casi, 2869 controlli: OR 10, 95% CI 3.4-32, $P=1.2 \times 10^{-3}$) e da pazienti arruolati in Malesia (6 casi, 374 controlli; OR 6.9, 95% CI 1.4-34, $P=0.048$). Infine, i portatori della variante CYP2C9*3 affetti da reazioni avverse severe cutanee presentano concentrazioni plasmatiche di fenitoina significativamente più elevate di quelle riscontrate nei pazienti non portatori dell'allele a rischio ($P=0.02$).

La fenitoina ha una farmacocinetica non lineare e viene metabolizzata a 5-(4'-idrossifenilfenil)-5-fenilidantoina (p-HPPH) primariamente dal citocromo P450 (CYP) 2C9. Si suppone che il metabolita p-HPPH sia ottenuto attraverso la formazione di un intermedio di ossido di arene reattivo, ritenuto responsabile dell'induzione dell'ipersensibilità alla fenitoina. Lo studio riporta l'associazione tra varianti dei geni CYP2C e l'insorgenza di reazioni avverse severe cutanee, sottolineando come la variante CYP2C9*3 sia la più fortemente associata all'*outcome* in studio. Dalla letteratura emerge come solo tale variante tra le 10 analizzate risulti in una ridotta attività funzionale dell'enzima CYP2C9. A supporto del ruolo di tale variante genetica nel determinare l'insorgenza di reazioni avverse cutanee indotte da fenitoina, si riscontrano evidenze in letteratura che descrivono una potenziale correlazione tra CYP2C9*3 e l'insorgenza di esantemi maculopapulari in soggetti in trattamento con fenitoina. Si ipotizza, quindi, come l'insorgenza di differenti tipologie di reazioni avverse severe cutanee sia dovuta ad una ridotta *clearance* del farmaco nonché all'accumulo di suoi metaboliti reattivi a livello cellulare e che tali alterazioni siano primariamente dettate dall'impatto di varianti genetiche sull'attività di enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci.

Alcune varianti dei geni CYP2C, ed in particolare CYP2C9*3, sono associate all'insorgenza di reazioni avverse severe cutanee indotte dal trattamento con fenitoina in pazienti asiatici affetti da epilessia.

Parole chiave: fenitoina, reazioni avverse severe cutanee, geni CYP2C

Riferimento bibliografico

[Chung WH](#) et al. *JAMA* 2014, 312(5):525-34.

HLA-B*1502 È ASSOCIATO ALLA SINDROME DI STEVENS-JOHNSON INDOTTA DA CARBAMAZEPINA NELLA POPOLAZIONE DELL'INDIA DEL NORD

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

La reazione avversa a un farmaco è definita dalla WHO come una risposta nociva e non intenzionale ad un farmaco alle dosi normalmente utilizzate nell'uomo. Le reazioni avverse alla carbamazepina e alla fenitoina possono variare da un esantema maculopapulare di media gravità fino a condizioni cliniche potenzialmente fatali, quali la sindrome di Stevens-Johnson (SJS) e la necrolisi epidermica tossica (*toxic epidermal necrolysis*, TEN). Da una recente revisione della letteratura è emerso che, nella popolazione Indiana, la carbamazepina (18.2%) e la fenitoina (13.4%) sono i farmaci maggiormente implicati nell'insorgenza della SJS e della TEN. L'identificazione di geni candidati che predispongono i pazienti a gravi reazioni cutanee indotte dagli antiepilettici consentirebbe al clinico di evitare la somministrazione del farmaco nei soggetti geneticamente suscettibili. I geni HLA sono localizzati nella regione del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), sul braccio corto del cromosoma 6p, che comprende circa 200 geni. Ci sono più di 10 geni HLA altamente polimorfici, che includono i loci HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP. HLA-B è il gene più polimorfico nel genoma umano. Studi precedenti hanno suggerito che esiste un'associazione tra l'HLA-B*1502 e la SJS indotta da carbamazepina nei pazienti di etnia Cinese/Asiatica. I dati nella popolazione Indiana sono invece scarsi; da qui la necessità di determinare la prevalenza della SJS-TEN e dell'HLA-B*1502 nei vari gruppi etnici dell'Asia e l'associazione con la SJS-TEN indotta da carbamazepina in ciascun gruppo etnico. Data la significativa morbilità e mortalità della SJS-TEN, sarebbe utile effettuare uno screening per l'HLA-B*1502 prima di prescrivere la carbamazepina in una popolazione suscettibile. Lo scopo del presente studio è esplorare l'associazione dell'HLA-B*1502 con la SJS-TEN indotta da carbamazepina e da fenitoina nella popolazione dell'India del Nord.

Sono stati reclutati pazienti ambulatoriali con anamnesi positiva per SJS o TEN secondaria alla somministrazione di carbamazepina o fenitoina. La SJS è stata definita come un distacco della cute $\leq 10\%$ della superficie corporea, mentre la TEN come un distacco della cute $\geq 30\%$. Il gruppo di controllo

comprendeva pazienti che avevano ricevuto carbamazepina o fenitoina per un periodo maggiore o uguale a 6 mesi senza riportare eventi avversi cutanei. Per l'analisi genetica è stata effettuata la tipizzazione a "bassa risoluzione" per HLA-B e ad "alta risoluzione" per HLA-B*15 su DNA estratto da sangue periferico. Sono stati reclutati 17 pazienti con anamnesi positiva per SJS-TEN secondaria a carbamazepina (n=9) o fenitoina (n=8). Il gruppo di controllo era composto da 50 pazienti tolleranti agli antiepilettici (37 in terapia con carbamazepina e 13 con fenitoina). L'età media dei pazienti e dei controlli era di 33.9 ± 11.6 anni (range: 15-50) e 28.1 ± 9.9 anni (range: 15-55), rispettivamente. Tra i pazienti con SJS-TEN, 13 erano femmine e 4 maschi (M:F 1:3.2); tra i controlli, il rapporto M:F era di 3:2. La maggior parte dei pazienti era affetto da SJS - 13 (76.4%), seguiti da TEN - 3 (17.6%) e da un singolo caso di sovrapposizione di SJS-TEN. Lesioni mucosali erano presenti in 8 casi (47%).

L'HLA-B*1502 è stato osservato in 2 dei 9 pazienti (22.2%) con SJS-TEN indotta da carbamazepina e in nessun caso dei 37 controlli tolleranti alla carbamazepina ($p = 0.035$). Entrambi i pazienti con genotipo HLA-B*1502 erano eterozigoti. L'HLA-B*1502 non è stato osservato in nessuno degli 8 pazienti con SJS-TEN indotta da fenitoina, né nei 13 pazienti di controllo tolleranti alla fenitoina. Altri genotipi HLA-B osservati nei pazienti con SJS-TEN includevano l'HLA-B*1505 (carbamazepina) in un caso e l'HLA-B*1518 (fenitoina) in un altro caso. Nei controlli tolleranti ai farmaci l'HLA-B*1517 è stato osservato in 4 casi (8%), l'HLA-B*1501 in 2 (4%) e l'HLA-B*1510 in 1 (2%); nessuno aveva il genotipo HLA-B*75. La sensibilità e la specificità dell'HLA-B*1502 per la SJS-TEN indotta da carbamazepina era del 22.2% e del 100%, rispettivamente.

La TEN e la SJS sono condizioni cliniche acute: la necrosi epidermica causa l'erosione delle membrane mucose, ampi distacchi dell'epidermide e una sintomatologia di grave entità. Tali condizioni sono potenzialmente fatali o in grado di provocare una grave disabilità in soggetti in precedenza in buona salute. Differenti farmaci antiepilettici hanno un diverso potenziale nel causare reazioni cutanee avverse. I farmaci che più frequentemente provocano la SJS-TEN variano da nazione a nazione. In Europa, la carbamazepina è il farmaco che più di frequente causa tali problemi (8.2%), seguita dal fenobarbital (5.3%) e dalla fenitoina (5%). In Asia, in particolare nelle nazioni del Sudest Asiatico, la carbamazepina rappresenta una quota ancora maggiore di SJS-TEN: 26% a Taiwan, 35.7% in Malaysia e 27.7% a Singapore. Il meccanismo attraverso il quale i farmaci provocano reazioni cutanee avverse è poco noto. Si ritiene che nella SJS-TEN possano essere coinvolte reazioni immunitarie, in quanto la ri-somministrazione dello stesso farmaco determina tipicamente gravi sintomi in 2-3 giorni. Inoltre, è stato osservato che nella SJS-TEN cellule T citotossiche infiltrano le lesioni cutanee; è stato dimostrato che la risposta citotossica mediata dalle cellule T CD8+ è il maggiore evento nella SJS-TEN.

Nel presente studio l'HLA-B*1502 è stato osservato nel 22.2% dei pazienti con SJS-TEN indotta da carbamazepina e in nessun controllo ($p = 0.035$). La prima associazione tra l'HLA-B*1502 e tali reazioni al farmaco è stata riportata in India nel 2009. Successivamente, è stato riportato uno studio realizzato nello stato occidentale di Gujarat in cui l'HLA-B*1502 è stato identificato in 6 su 8 (75%) pazienti con SJS-TEN indotta da carbamazepina. La diversa associazione osservata nel presente studio rispetto a quella di Gujarat potrebbe essere spiegata dalla diversa ascendenza genetica. Gli Indiani del Nord sono considerati geneticamente più vicini ai Caucasiche con una probabile origine in Eurasia, mentre l'India centro-occidentale, che comprende la popolazione etnica di Gujarat, è più strettamente correlata ad altri gruppi Asiatici, piuttosto che Europei. Pertanto, sono necessari ulteriori studi per identificare la frequenza dell'HLA-B*1502 nelle differenti popolazioni dell'India. Nel presente studio, tuttavia, il 78% dei pazienti con SJS-TEN indotta da carbamazepina non aveva l'HLA-B*1502; questo dato indica che probabilmente altri geni suscettibili sono implicati in tale fenomeno. A differenza della SJS-TEN indotta da carbamazepina, non è stata osservata un'associazione tra l'HLA-B*1502 e la SJS-TEN indotta da fenitoina; questo dato appare in contrasto con uno studio realizzato in Thailandia che ha riportato l'HLA-B*1502 in 4 pazienti (100%) con SJS da fenitoina e in 8 controlli (18%) tolleranti alla fenitoina ($p = 0.005$). Date le gravi conseguenze, potenzialmente fatali, della SJS-TEN e la disponibilità di farmaci alternativi, il test per l'HLA-B*1502 dovrebbe essere effettuato, in India, prima di iniziare la terapia con carbamazepina.

In conclusione, l'HLA-B*1502 è un fattore di rischio per la sindrome di Stevens-Johnson e la necrosi epidermica tossica indotta da carbamazepina nella popolazione del Nord dell'India.

Parole chiave: HLA, PCR, India, farmacogenetica, necrolisi epidermica tossica.

Riferimento bibliografico

[Aggarwal R](#) et al. *Hum Immunol* 2014 Oct 8 [Epub ahead of print].

DEPRESSIONE RESPIRATORIA INDOTTA DA OPIOIDI: FARMACOGENETICA DEL TRASPORTATORE ABCB1

A cura della Dott.ssa Concetta Rafaniello

La morfina è uno degli analgesici più frequentemente utilizzati per la gestione del dolore nella popolazione pediatrica nella fase post operatoria dell'intervento di tonsillectomia. Dosi terapeutiche di morfina deprimono in maniera marcata la ventilazione, con soppressione della risposta ventilatoria all'ipercapnia e all'ipossia. L'apnea ostruttiva notturna (OSA), condizione che rappresenta un'indicazione per la tonsillectomia, rende i bambini più sensibili agli effetti depressivi centrali mediati dagli oppioidi, inclusa la depressione respiratoria (RD). Gli effetti farmacologici della morfina sono mediati dai recettori μ localizzati a livello del tronco encefalico, in particolare, a livello della medulla e responsabili dell'analgesia e della risposta ventilatoria all'ipercapnia. Inoltre, gli oppioidi mediano effetti a livello dei centri corticali responsabili della profonda depressione respiratoria che si osserva contestualmente all'impiego di analgesici oppioidi. La morfina, una volta attraversata la barriera ematoencefalica, è soggetta a efflusso attivo mediato dalla glicoproteina-P, una proteina di membrana codificata dal gene ABCB1 localizzato sul cromosoma 7, anche noto come MDR1, appartenente alla superfamiglia dei trasportatori ABC. Il polimorfismo del gene ABCB1, c.3435C>T, è stato associato al trasporto della morfina attraverso la barriera ematoencefalica nell'adulto e il genotipo omozigote TT, rispetto agli altri genotipi, è risultato associato alle concentrazioni più elevate della morfina nel liquido cefalorachidiano. Ad oggi, tuttavia, non è stato ancora chiarito se le varianti del gene ABCB1 sono potenzialmente associate all'insorgenza di RD indotta da morfina nella popolazione pediatrica.

In tale contesto, dunque, è stato condotto uno studio osservazionale prospettico al fine di determinare specifiche associazioni tra comuni varianti genetiche di ABCB1 e RD post operatoria indotta da morfina somministrata per via endovenosa in un'omogenea popolazione pediatrica sottoposta a tonsillectomia.

Lo studio in oggetto è stato condotto presso il Dipartimento di Anestesia del *Cincinnati Children's Hospital Medical Center*, previa acquisizione del consenso informato. Sono stati arruolati bambini, di età compresa tra 6-11 anni, candidati per l'intervento di tonsillectomia (con tonsilliti ricorrenti, ipertrofia delle adenoidi o OSA) e con stato fisico ASA* 1 o 2. Sono stati esclusi bambini i cui genitori non parlavano la lingua inglese, allergici alla morfina, con ritardo dello sviluppo, disordini epatici o renali o con dolore preoperatorio trattato con analgesici. Tutti i soggetti sono stati trattati con procedure pre e post operatorie standard e tutto il personale clinico era in cieco rispetto al profilo genetico dei pazienti. Ogni paziente è stato sottoposto ad anestesia con sevoflurano seguito da propofol in bolo (2 mg/kg) per agevolare l'intubazione endotracheale. L'anestesia è stata mantenuta con sevoflurano senza l'uso di bloccanti neuromuscolari. La morfina è stata somministrata circa 5 minuti prima dell'incisione chirurgica. I pazienti con storia di OSA sono stati trattati con morfina 0,1 mg/kg e quelli senza con 0,2 mg/kg. La tonsillectomia è stata praticata con elettrocauterizzazione; se si riscontravano segni suggestivi di dolore dopo l'incisione chirurgica e cauterizzazione si provvedeva alla somministrazione aggiuntiva di 0,05 mg/kg di morfina. Tutti i bambini sono stati trattati con ondansetron (0,1 mg/kg) e desametasone (0,1 mg/kg) come terapia profilattica. Il recupero post-operatorio è avvenuto nell'Unità di terapia anestetica post operatoria (*Post Anesthesia Care Unit - PACU*), dove la valutazione dell'intensità del dolore post operatorio è stata effettuata tramite la scala di valutazione FLACC**. I parametri per valutare l'efficacia degli outcome relativi all'analgesia (punteggio FLACC e, eventualmente, necessità di somministrare morfina in PACU) e alle reazioni avverse (grave RD e prolungamento della degenza in PACU a causa della grave RD) correlate alla somministrazione degli oppioidi sono stati registrati per tutti i pazienti arruolati. Sono stati effettuati prelievi ematici in tutti i pazienti durante l'intervento chirurgico ed il DNA estratto è stato conservato a -20 °C; *Taqman allelic discrimination system assays* e *Genotype Software Version 1.0.1* (Life Technologies,

AppliedBiosystems, Foster City, CA, USA) sono stati utilizzati per analizzare e descrivere tre polimorfismi missenso non-sinonimi (rs2032582, rs2229109 e rs9282564) e due polimorfismi sinonimi (rs1045642 e rs1128503) del gene ABCB1 che sembrano influenzare significativamente la risposta a farmaci, inclusa la morfina. Frequenza allelica e genotipica per ogni variante di ABCB1 sono state valutate in maniera separata tra pazienti caucasici e afro americani e per ogni polimorfismo è stato testato l'equilibrio di Hardy-Weinberg. L'analisi statistica è stata eseguita con *Statistical Analysis Software version 9.3* (SAS) e *JMP Genomics version 6.0* (SAS Institute, Cary, NC, USA). È stata valutata la qualità dei dati e sono stati applicati modelli di regressione logistica per l'analisi degli esiti binari (RD, prolungamento della degenza in PACU conseguente a RD e necessità di somministrare morfina nel postoperatorio) e modelli di regressione lineare per l'analisi della dose di morfina somministrata nel postoperatorio. I punteggi massimi FLACC sono stati analizzati mediante un modello binomiale *zero-inflated* negativo al fine di identificare in maniera accurata la distribuzione di tale variabile: infatti il 26% dei pazienti non ha presentato dolore (punteggio di dolore uguale a zero). Prima di valutare le varianti di ABCB1, sono stati valutati gli effetti delle covariate età, sesso, indice di massa corporea come z-score, OSA, somministrazione di morfina durante l'intervento e dose totale di morfina, confrontando diversi modelli di analisi statistica mediante la valutazione dei criteri *log likelihood*, *Akaike* e *Bayesian Information* e dei residui. Le covariate che risultavano significative ($P < 0,05$) sono state poi utilizzate per l'analisi genetica. Per valutare l'associazione tra SNP e gli *outcome* è stato utilizzato un modello additivo aggiuntivo in cui i diversi genotipi sono stati ricodificati ed analizzati come variabili continue. Per i quattro SNPs biallelici, i genotipi sono stati codificati come 0, 1 e 2 in base al numero dell'allele minore. Per il polimorfismo rs2032582, il genotipo GG è stato codificato come 0, i genotipi GA e GT sono stati entrambi codificati come 1 e i genotipi TT e TA 2. L'analisi statistica è stata effettuata sia separando i pazienti in base all'origine etnica (caucasici e afroamericani) sia in maniera combinata. Il presente studio ha valutato l'associazione di cinque SNPs di ABCB1 associati a due *outcome* primari di sicurezza e tre *outcome* secondari di analgesia. La D'media, misura di *linkage disequilibrium*, tra i cinque SNPs è stata di 0,95. La media per l'indice di correlazione di Spearman tra gli *outcome* primari e secondari è stata rispettivamente di 0,51 e 0,74. Per le diverse associazioni è stato applicato il metodo conservativo di correzione di Bonferroni per i confronti multipli, con dati di soglia di $P = 0.002$ (25 test totali; $P = 0.05/25$). Negli studi di associazione genetica, una frequenza allelica bassa può implicare che un piccolo numero di individui determinino l'associazione. Per le varianti significativamente associate ad una minore frequenza allelica ($MAF \leq 0,1$) è stato dunque utilizzato il test di permutazione, considerando i gruppi etnici combinati per calcolare il valore P empirico. Utilizzando il programma *R*, sono stati generati circa 10000 replicati di dati ottenuti dal rimescolamento causale dei genotipi, mentre le associazioni tra outcome e covariate erano invariate. Il test statistico di ogni replicato è stato confrontato con il test statistico osservato e il numero di replicati con un test statistico maggiore di quello osservato (N_{hit}) è stato calcolato. Il valore P empirico è stato dunque calcolato come $(N_{hit} + 1) / 10\,001$.

Di 273 pazienti arruolati, 219 erano caucasici e 44 afroamericani. Su 263 bambini, 86 hanno manifestato RD (33%) e 30 hanno prolungato il ricovero postoperatorio a causa di RD (11%). Prima di valutare gli effetti dei diversi SNPs, è stato valutato l'impatto delle principali covariate (OSA che è uno dei maggiori fattori di rischio per la RD). Dai risultati è emerso che i bambini affetti da OSA vs quelli senza non hanno mostrato differenze significative sia in termini di RD sia per ricovero postoperatorio in PACU conseguente a RD. I risultati hanno mostrato la correlazione tra SNPs di ABCB1 e decorso postoperatorio; in particolare è stata evidenziata un'associazione tra la variante rs9282564 di ABCB1 e il prolungamento postoperatorio in PACU dovuto a RD in pazienti di entrambe le razze. Tale risultato è stato confermato anche quando l'analisi è stata condotta in maniera combinata rispetto alle razze e aggiustando per covariate che mostrano un impatto significativo sull'outcome ($P = 0,0002$). Questa associazione è risultata anche robusta al test di permutazione, con un P empirico di 0.0008. I bambini con il genotipo GG e GA della variante rs9282564 del gene ABCB1 hanno presentato un rischio maggiore di RD, risultante in un prolungamento della degenza in PACU; ogni copia dell'allele a frequenza minore (G) aumentava il rischio di PACU prolungato a causa di RD di 4,7 volte. Dall'analisi stratificata per razza è emerso che aggiungendo una copia dell'allele G della variante rs9282564 il rischio di prolungamento della degenza in PACU per RD era di 4,1 (IC 95% 1,7-9,9) nei bambini di razza bianca e di 13,9 (IC 95% 1,1-175,8) per la razza nera.

Gli esiti considerati per l'analgesia sono stati il punteggio massimo FLACC e la necessità di ulteriore somministrazione di morfina durante e dopo l'intervento. Il punteggio massimo FLACC è stato di 3 con una range interquartile di 0-6. Dei 263 pazienti, 162 (62%) hanno richiesto morfina durante il periodo

postoperatorio con un quantitativo di morfina di $0,10 \pm 0,05$ mg/kg. ogni copia dell'allele minore per rs2229109 (A) è risultata associata alla riduzione della dose di morfina nel postoperatorio di 0,04 mg/kg, indicando una maggiore sensibilità alla morfina.

Il presente studio ha dimostrato che, indipendentemente dall'origine etnica, i bambini con genotipo GG e GA del polimorfismo rs9282564 di ABCB1 avevano maggiori rischi di sviluppare RD con conseguente prolungamento del ricovero ospedaliero; l'aggiunta di una copia dell'allele minore (G) dello stesso polimorfismo ha aumentato le probabilità di ricovero ospedaliero prolungato in PACU dovuto a RD postoperatoria di 4,1 volte (IC 95% 2,1-10,8; $P = 0,0012$) nella razza bianca e ancora maggiore in quella afroamericana (13,9).

I risultati ottenuti potrebbero avere risvolti importanti nella gestione del dolore postoperatorio in pazienti pediatrici. Tuttavia, saranno necessari ulteriori studi per poter applicare nella pratica clinica quotidiana i dati relativi alle varianti genetiche di ABCB1.

Parole chiave: morfina, RD, ABCB1, pediatria.

Riferimento bibliografico

[Sadhasivam S](#) et al. Pharmacogenomics J 2014 Oct 14 [Epub ahead of print]

Note:

**Classificazione stato fisico secondo l'American Society of Anesthesiology (ASA) accettata internazionalmente, che permette una categorizzazione dei pazienti in funzione della presenza o meno di alterazioni organiche o funzionali dell'organismo al momento del trattamento chirurgico ed anestesiológico. Si distinguono 5 Classi che definiscono livelli crescenti di rischio a partire dalla Classe I fino alla Classe V. La maggior parte dei pazienti si colloca nelle prime due Classi di rischio (I-II).*

** *La scala FLACC della valutazione del dolore nei bambini in età preverbale consta di cinque categorie Volto(V); Gambe(G); Attività(A); Pianto(P); Consolabilità(C) e viene conteggiata da 0 a 2, con un punteggio totale tra 0 e 10.*

EFFETTO DEL POLIMORFISMO -900G>A (-842G>A; RS7438135) DI UGT2B7 NELLA GLUCURONIDAZIONE DELLA MORFINA IN NEONATI PRETERMINE: RISULTATI DI UNO STUDIO PILOTA

A cura delle Dott.sse Sara De Iudicibus e Eva Cuzzoni

Nonostante i pochi dati inerenti alla farmacocinetica (PK) e farmacodinamica (PD) dei farmaci oppioidi, essi vengono utilizzati anche in neonatologia per il controllo del dolore durante interventi necessari in terapia intensiva: è noto infatti che i neonati e soprattutto i pretermine sono molto sensibili all'esperienza del dolore, ma anche agli effetti collaterali legati a questo trattamento. Per quanto riguarda la farmacogenetica (PG) degli oppioidi, sono presenti correlazioni in studi con pazienti adulti, ma ad oggi esistono solo due lavori che analizzano pazienti in età neonatale: uno studio valuta la correlazione PK-PG del tramadolo, il secondo l'esposizione in utero al metadone e buprenorfina. In letteratura non sono presenti studi di PG della morfina in neonati pretermine.

In generale, la cinetica della morfina rappresenta la variabile più indicativa associata alla risposta clinica: è noto che tale farmaco subisce prevalentemente delle reazioni di biotrasformazione di fase II come la glucuronazione, la quale è catalizzata dalle UDP-glucuroniltransferasi (UGT), e nello specifico UGT2B7 è l'enzima maggiormente coinvolto in tale reazione. La glucuronidazione nei neonati non è molto sviluppata, ma aumenta rapidamente dalla nascita: l'attività dell'enzima UGT2B7 sulla morfina inizia attorno alle 15 settimane di vita del feto, raggiunge il 10-20% dell'attività enzimatica dell'adulto a metà trimestre, e diventa paragonabile all'adulto tra i 2 mesi e i 2,5 anni. Sembra comunque che la variabilità osservata nella PK della morfina nei neonati non derivi solamente dalla maturazione enzimatica, ma anche, in parte, da una predisposizione genetica: è noto infatti che il gene UGT2B7 sia polimorfico, e la presenza di tali varianti potrebbe portare ad un'alterata PK della morfina nei neonati. UGT2B7 infatti metabolizza la morfina principalmente in morfina-3-glucoronide (M3G), e per un 10% in morfina-6-glucoronide (M6G), che è un metabolita attivo, e tale reazione sembra essere influenzata da polimorfismi genetici. In particolare il

polimorfismo -900G>A (rs7438135) è stato associato in molti studi alla PK e tolleranza della morfina: è stato osservato in giovani adulti *carrier* dell'allele G per questo polimorfismo che i livelli di M6G risultavano significativamente più bassi.

Lo scopo di questo studio è di esplorare eventuali correlazioni tra il polimorfismo -900G>A (rs7438135) del gene UGT2B7 e la PK della morfina in neonati pretermine.

Nell'ambito di uno studio clinico randomizzato che prevedeva trattamento con remifentanil (1 µg/kg) o morfina (0,3 mg/kg) preintubazione, sono stati arruolati 34 neonati pretermine: di questi, i 17 che hanno ricevuto morfina sono stati considerati nelle analisi. Prima e dopo 20 minuti, 6 ore e 24 ore dall'inizio del trattamento con morfina, sono stati raccolti prelievi di sangue intero per le analisi farmacocinetiche di quantificazione del farmaco e dei suoi metaboliti tramite LC-MS/MS. Dal DNA di ogni paziente arruolato è stato inoltre valutato il polimorfismo -900G>A utilizzando le sonde Taqman per la discriminazione allelica.

Le concentrazioni plasmatiche della morfina e dei metaboliti M3G e M6G sono state correlate al genotipo di ogni paziente per il polimorfismo del gene UGT2B7: a 20 minuti, la quantificazione della morfina è risultata significativamente più bassa nei neonati portatori dell'allele A (regressione lineare multipla, $p=0,036$). Tali pazienti, presentano anche livelli di M3G più alti, anche se questa differenza non è risultata statisticamente significativa (regressione lineare multipla, $p=0,28$). Nessuna differenza è stata invece osservata valutando la correlazione tra la quantificazione di M6G e il polimorfismo studiato. Le concentrazioni dei metaboliti M3G e M6G sono state correlate in maniera statisticamente significativa solo al periodo gestazionale ed età del neonato (regressione logistica, $p=0,005$).

Questo studio pilota dimostra che oltre alle variabili cliniche e demografiche (periodo gestazionale ed età del neonato), anche il polimorfismo -900G>A di UGT2B7 altera in maniera significativa la farmacocinetica della morfina in neonati pretermine.

In questo studio pilota è stata dimostrata per la prima volta un'associazione tra il polimorfismo -900G>A di UGT2B7 e la farmacocinetica della morfina dopo una somministrazione in singola dose, in una popolazione speciale come quella dei neonati pretermine, confermando i risultati sugli adulti. Tali risultati, confermati in un numero maggiore di pazienti, permetteranno di considerare in uno studio prospettico i portatori dell'allele -900A predisposti ad una peggiore risposta analgesica e quindi potenzialmente sottoponibili a somministrazioni addizionali di morfina per il controllo del dolore.

Parole chiave: morfina, farmacogenetica, farmacocinetica, neonati pretermine, UGT2B7

Riferimento bibliografico

[Matic M](#) et al. *Pharmacogenomics* 2014, 15(12):1589-97

IMMUNOMODULAZIONE

L'INFLUENZA DELLE VARIANTI GENETICHE DEL CYP3A, PPARA, POR SULLA FARMACOCINETICA DI TACROLIMUS E CICLOSPORINA IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO RENALE

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

Gli inibitori della calcineurina (CNI), ciclosporina (CsA) e tacrolimus (Tac), sono potenti farmaci immunosoppressori ampiamente utilizzati nei pazienti sottoposti a trapianto d'organo solido. Entrambi questi farmaci sono caratterizzati da una stretta finestra terapeutica ed un'alta variabilità farmacocinetica interindividuale. Sia CsA che Tac sono metabolizzati dagli enzimi del citocromo P450 3A (CYP3A). L'attività del CYP3A5 è in gran parte determinata dalla variante a singolo nucleotide (SNV) CYP3A5*3 (c.219-237A>G; rs776746), che risulta in uno splicing alternativo del mRNA e in una proteina tronca e non funzionante. In molte popolazioni, la variante CYP3A5*3 è dominante e la maggior parte dei caucasici (circa

80%) manca dell'allele CYP3A5 funzionante. È noto che, pazienti portatori dell'allele funzionante del CYP3A5 (uno o due alleli CYP3A5*1), necessitano di circa il doppio della dose di partenza di Tac. La CsA sembra essere ossidata prevalentemente dal CYP3A4 ma alcuni dei principali metaboliti sono formati anche dal CYP3A5. È stato dimostrato che il genotipo del CYP3A5 ha un notevole impatto sulla farmacocinetica della CsA. Uno studio recente ha identificato una SNV funzionale nell'introne 6 del gene CYP3A4 (c.522-191C>T, rs35599367, CYP3A4*22) associata ad un'attività ridotta del CYP3A4. La frequenza di quest'allele è relativamente bassa nella popolazione caucasica (3-8%), ma comunque clinicamente rilevante nei pazienti portatori della variante (CYP3A4*22). Recentemente sono state identificate due SNV nel gene che codifica per il recettore alfa nucleare attivato dai proliferatori perossisomiali (PPAR-alfa), c.209-1003G>A (rs4253728) e c.208 + 3819A>G (rs4823613), che spiegano l'8-9% della variabilità dell'attività epatica del CYP3A nell'uomo. Il citocromo P450 ossidoreduttasi (POR) è un altro sistema che influenza l'attività del CYP3A. Il gene umano POR è altamente polimorfico e la variante più comune POR*28 (c.1508C>T; rs1057868), induce una sostituzione aminoacidica (p.Ala503Val), che influenza la frazione di legame all'elettrone di POR, necessaria per il trasferimento degli elettroni nei microsomi. Gli individui esprimenti il CYP3A5 che trasportano uno o due alleli POR*28 mostrano un rapporto metabolico inferiore al 45% di midazolam e richiedono una dose più alta di Tac rispetto agli esprimenti il CYP3A5 e non portatori della variante POR*28. Lo scopo del presente studio è di valutare l'effetto degli alleli CYP3A5*3, CYP3A4*22, PPARA c.209-1003G>A, PPARA c.208+3819A>G, e POR*28 sulle concentrazioni dose-aggiustate (C/D) di Tac e CsA in pazienti sottoposti a trapianto renale nella fase immediatamente dopo il trapianto.

I pazienti sono stati sottoposti ad un trattamento immunosoppressivo basato su CsA o Tac in combinazione con micofenolato e steroidi. Nessuno è stato trattato contemporaneamente con farmaci potenzialmente inibitori del CYP3A4 o statine, ma tutti hanno ricevuto gli inibitori della pompa protonica al momento della misurazione delle concentrazioni del farmaco. Il TDM è stato eseguito almeno due volte alla settimana nella fase iniziale di post-trapianto e le dosi di Tac e CSA sono state adattate individualmente per raggiungere i range predefiniti; le concentrazioni a valle di Tac sono state misurate tra 3 e 7 mg/L e le concentrazioni C₂ di CsA tra 800 e 1.100 mg/L, rispettivamente. Dati adeguati provenienti da 158 pazienti (Tac, n=123/ CsA, n=35) sono stati utilizzati nella presente analisi oltre ai dati di 19 pazienti trattati con CsA già presentati precedentemente (NCT00139009). Le concentrazioni del farmaco e le dosi somministrate sono state raccolte retrospettivamente dalle carte dei pazienti presso l'Ospedale universitario di Oslo, Rikshospitalet, Norvegia. Per ogni paziente è stata raccolta la concentrazione allo *steady-state* nella fase subito dopo il trapianto, cioè da 2 a 7 settimane dopo il trapianto. Tutti i pazienti (n=177) sono stati genotipizzati per le SNV CYP3A5*3, CYP3A4*22, PPARA c.209-1003G>A, PPARA c.208+3819A>G, e POR*28. Le concentrazioni di Tac su sangue intero sono state misurate utilizzando il CMIA (*chemiluminescent microparticle immunoassay*) sullo strumento Architect (Abbott Laboratories, Lake Forest, IL, USA) e le concentrazioni della CSA utilizzando l'assay CEDIA PLUS (*cloned enzyme donor immunoassay*; Microgenics Corporation, Fremont, CA, USA) su un analizzatore modulare P800 (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Svizzera). Le genotipizzazioni di POR*28, PPARA c.209-1003G>A, e PPARA c.208+3819A>G sono state eseguite utilizzando il metodo di analisi dei polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione mediante reazione a catena della polimerasi (PCR-RFLP). I saggi sono stati poi convalidati tramite il sequenziamento di una selezione di campioni wild-type per la variante. Gli alleli CYP3A5*3 (NM_000777.3: c.219-237A>G) e CYP3A4*22 (NM_001202855.2: c.522-191C>T) sono stati analizzati mediante Real Time PCR e l'analisi della curva di melting con sonde ad ibridazione allele-specifica sullo strumento LightCycler[®]480 (Roche). L'assenza di varianti alleliche è stata interpretata come presenza dell'allele wild-type (*1). È stata analizzata la potenziale associazione tra i genotipi di CYP3A5*3, CYP3A4*22, PPARA, POR*28 e lo *steady-state* dose-regolato della concentrazione a C₀ di Tac (C₀/D, mg*L⁻¹/mg) o a C₂ di CsA (C₂/D, mg*L⁻¹/mg), a 2-7 settimane dopo il trapianto. Le analisi statistiche sono state eseguite con il software SPSS (versione 20, IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA). Il Test di Kolmogorov-Smirnov è stato impiegato per valutare la distribuzione delle variabili continue e, se necessario, i dati sono stati trasformati in logaritmico per ottenere una distribuzione normale. L'impatto degli alleli sulle concentrazioni dose-aggiustate di Tac o CsA è stato studiato mediante l'analisi univariata della varianza (ANOVA). Le associazioni tra i dati categorici (ad esempio, il genotipo PPARA c.208+3819A>G) sono state analizzate utilizzando il test esatto di Fisher. Il rho di Spearman è stato valutato per studiare la correlazione tra variabili continue e dicotomiche. Valori di P inferiori a 0,05 sono stati considerati statisticamente significativi.

Pazienti trapiantati, eterozigoti per l'allele CYP3A5*1, hanno mostrato una media del rapporto C₀/D minore del 42% (1,38±1,07mg*L⁻¹/mg) rispetto alla media degli omozigoti per il CYP3A5*3 (2.34±1.04mg*L⁻¹/mg; P<0,001).L'analisi di correlazione ha rivelato che il genotipo CYP3A5*1 spiega circa il 25% della variabilitàinterindividuale della concentrazione a valle dose-aggiustata di Tac ($r^2=0,249$, n=177, p<0.001). Non è stata trovata alcuna associazione tra CYP3A4*22 e il rapporto C₀/D del Tac. Il rapporto C₀/D del Tac è risultato invece superiore del 19% (p=0,01) nei portatori della variante allelica di PPARA rispetto agli individui *wild-type* anche dopo la correzione per gli altri genotipi (POR*28, CYP3A5*3, e CYP3A4*22); le concentrazioni di valle dose-aggiustate di Tac erano significativamente più alte nei portatori della variante PPARA (1.93±1.09mg*L⁻¹/mg vs 1.63±1.09mg*L⁻¹/mg nei *wild-type*). I portatori della variante allelica POR*28 hanno mostrato un rapporto più basso di C₀/D di Tac (10%) rispetto agli individui *wild-type* (P=0,19). Dopo aver incluso nell'analisi anche i genotipi CYP3A5*3, CYP3A4*22, PPARA come fattori fissi, i portatori dell'allele POR*28 sia omozigoti che eterozigoti hanno mostrato un rapporto C₀/D significativamente più basso (1.65±1.09mg*L⁻¹/mg) rispetto ai pazienti omozigoti per l'allele *wild-type* (1.90±1.09mg*L⁻¹/mg; 15%, P=0,04). Nel gruppo della CsA, il genotipo CYP3A5*3 non ha mostrato alcuna influenza statisticamente significativa sul rapporto C₂/D (P=0,31). Tuttavia, pazienti sottoposti a trapianto di rene, portatori dell'allele CYP3A4*22, hanno mostrato livelli C₂ dose-aggiustati di CsA significativamente più elevati. L'analisi univariata ha rivelato che i portatori del CYP3A4*1/*22 hanno un rapporto C₂/D superiore del 50% (media 10.26±1.20mg*L⁻¹/mg) rispetto agli individui omozigoti CYP3A4*1/*1 (6,84±1.04 mg*L⁻¹/mg; P=0,04). La correzione per gli altri genotipi nell'analisi multivariata ha confermato un effetto indipendente del CYP3A4*22 sulla farmacocinetica del CsA, con un rapporto C₂/D di CsA maggiore al 53% (10.91±1.22 mg*L⁻¹/mg) nei portatori della variante allelica rispetto al *wild-type* (7.12±1,07 mg*L⁻¹/mg) (P=0.03). L'allele CYP3A4*22 spiega circa il 12% della variabilitàinterindividuale nel rapporto C₂/D della ciclosporina ($r=0,35$, P<0,01). Nessuna associazione statisticamente significativa è stata invece osservata tra le varianti di PPARA (P=0.85, P=0.74) o POR*28 (P=0,27, P=0.52) e il rapporto C₂/D della ciclosporina.

La genotipizzazione dei soggetti prima del trapianto potrebbe consentire una migliore individuazione delle dosi iniziali di CNi e ridurre in tal modo il rischio di sovra o sotto dosaggio nella fase critica immediatamente dopo il trapianto. Limiti dello studio sono: la dimensione del campione del sottogruppo CsA e le frequenze alleliche basse del CYP3A4*22 e del CYP3A5*1, che spiegano però in parte la discrepanza tra le osservazioni fatte nel presente studio e la letteratura.

I risultati di questo studio suggeriscono che le varianti alleliche POR*28 e PPARA, in aggiunta al CYP3A5*3, potrebbero influenzare l'esposizione al Tac, e che il CYP3A4*22 è importante per la farmacocinetica della CsA.

Parole chiave: inibitori della calcineurina, farmacocinetica, CYP3A, POR, PPARA

Riferimento bibliografico

[Lunde I](#) et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2014 Jun.

CARDIOVASCOLARE

LA FARMACOGENETICA ETNIA-CORRELATA: IL CASO DEL WARFARIN NEGLI AFRO-AMERICANI

A cura della Dr.ssa Valeria Conti

Recentemente un consorzio di ricercatori, l'*International Warfarin Pharmacogenetic Consortium* (IWPC), ha sviluppato un algoritmo farmacogenetico basato sull'utilizzo di parametri clinici e genetici per la predizione della dose stabile di warfarin, ossia la dose di farmaco idonea a mantenere il paziente in un range definito "terapeutico". I fattori genetici analizzati sono gli SNP CYP2C9*2 (rs1799853), CYP2C9*3

(rs1057910) e VKORC1 -1639 (rs9923231) (*NEJM*. 2009; 360(8):753-764). L'algoritmo è stato validato in ampie coorti di pazienti in studi indipendenti tra loro, tuttavia, la popolazione degli Afro-Americani (AA) è stata sempre poco rappresentata. Le caratteristiche genetiche considerate nell'algoritmo dell'IWPC e in molti altri algoritmi (tutti sviluppati nelle popolazioni Caucasiche) sono state associate per lo più a uno stato di sensibilità al warfarin e, di conseguenza, sono funzionali a identificare i pazienti che richiedono dosi inferiori di farmaco rispetto al normale. Le frequenze alleliche degli alleli minori delle varianti summenzionate e incluse negli algoritmi sono molto più basse tra gli AA che nei Caucasici e questo, almeno in parte, spiega perché la farmacogenetica del warfarin sia stata molto più utile nelle popolazioni caucasiche e asiatiche (dove arriva a predire fino al 55% della variabilità nella risposta al trattamento farmacologico) rispetto a quelle di origine africana, dove la percentuale di predizione è pari a circa il 20%. In precedenza gli autori di questo studio avevano descritto in una coorte di AA due nuove varianti nel gene VKORC1 (rs61162043) e CYP2C9 (rs7089580) associate a una richiesta di warfarin più elevata del normale, indipendentemente dalla presenza dei polimorfismi VKORC1 e CYP2C9 già validati. Inoltre, mediante un'analisi di *genome wide search*, in collaborazione con il consorzio IWPC, essi avevano identificato un polimorfismo (rs12777823) nel gene CYP2C18 associato a una dose stabile di warfarin più bassa negli AA, ma non in popolazioni originarie dell'Europa e del Giappone. Sulla base di questi dati era stato creato un nuovo algoritmo farmacogenetico specifico per la popolazione Afro-Americana e lo scopo di questo studio è stato determinare se tale algoritmo potesse essere più efficace di quello dell'IWPC nel predire la dose stabile di warfarin nei pazienti appartenenti a tale gruppo etnico.

Lo studio ha previsto il reclutamento di una coorte di derivazione di 349 pazienti utilizzata per generare l'algoritmo e una coorte di validazione di 149 individui. Le analisi di genotipizzazione per gli SNP di CYP2C9 (rs1799853, rs1057910, rs28371686, rs7900194, rs28371685, rs7089580), VKORC1 (rs9923231, rs61162043), e CYP2C18 (rs12777823) sono state eseguite tramite piro-sequenziamento e restrizione enzimatica. Inoltre, un pannello di 105 marker informativi sul gruppo etnico (*ancestry informative markers, AIMs*) è stato utilizzato per determinare la percentuale di AA provenienti dall'ovest dell'Africa. L'algoritmo comprendeva oltre ai genotipi, le seguenti caratteristiche del paziente: età, peso, sviluppo di trombosi venosa profonda o embolia polmonare, le varianti rs1799853, rs1057910, rs28371686, rs7900194, rs28371685 (CYP2C9*2, *3, *5, *8e *11) dell'isoforma CYP2C9, tutte correlate a riduzione dell'attività enzimatica e raggruppate vista la loro bassa frequenza, le altre varianti sono state considerate in maniera indipendente.

Sono stati genotipizzati 129 pazienti per i quali è stata registrata una dose terapeutica media di warfarin di 46,9 mg/settimana; più della metà dei pazienti avevano una diagnosi di trombosi venosa profonda o embolia polmonare.

Dall'analisi di confronto tra il nuovo algoritmo e gli algoritmi (clinico e farmacogenetico) dell'IWPC è emerso che questi ultimi tendevano a sottostimare, mentre il nuovo algoritmo a sovrastimare la dose di farmaco. Tuttavia, con il nuovo algoritmo l'entità di errore, rilevato nel 38% dei casi, era comunque inferiore a 10 mg/settimana, mentre l'algoritmo farmacogenetico IWPC tendeva a sottostimare con valori di dose maggiori di 10 mg/settimana e in una percentuale più alta di pazienti (circa 53%). Inoltre, il nuovo algoritmo prediceva il valore esatto di dose terapeutica nel 10,9% dei pazienti AA contro il 2,3% predetto dall'algoritmo farmacogenetico IWPC ($p = 0.02$).

In definitiva, con l'applicazione dell'algoritmo specifico per la popolazione Afro-Americana quasi il 60% (contro il 48,8% e il 26,4% degli algoritmi IWPC, rispettivamente, farmacogenetico e clinico) rientrava in valori compresi all'interno del 20% della dose stabile.

La maggior parte dei pazienti dosati in maniera incorretta utilizzando la dose iniziale standard richiedono dosi basse oppure alte di warfarin; è dunque importante valutare la prestazione degli algoritmi in questi sottogruppi di pazienti. Gli autori di questa ricerca hanno quindi esaminato l'accuratezza del nuovo algoritmo farmacogenetico in tre gruppi diversi di pazienti, stratificati in base alla richiesta di dose bassa (<40 mg/settimana), intermedia (40-50 mg/settimana) e alta (>50 mg/settimana).

Per i pazienti che richiedevano una dose bassa o intermedia di farmaco, non è stata rilevata nessuna differenza nella capacità di predizione dei tre algoritmi messi a confronto. Al contrario, il nuovo algoritmo si è dimostrato significativamente più efficace nel predire correttamente la dose terapeutica di warfarin dei pazienti che richiedevano dosi alte di anticoagulante, individuata nel 53%, in confronto al 26% ($p = 0.004$) e 2% ($p = 0.0001$) degli algoritmi IWPC, rispettivamente, farmacologico e clinico.

L'efficacia predittiva del nuovo algoritmo è stata confermata anche in considerazione dell'alta percentuale di individui provenienti dall'ovest dell'Africa (WAA) tra gli AA. Per quanto riguarda l'algoritmo IWPC, invece, l'analisi di regressione lineare ha dimostrato una correlazione inversa tra la percentuale di WAA e la dose predetta di warfarin nei pazienti AA che richiedevano un dosaggio >60 mg/settimana.

Il nuovo algoritmo farmacogenetico, che include caratteristiche cliniche e genetiche associate con la dose di warfarin nei pazienti Afro-Americani, si è rivelato utile a predire la dose stabile di anticoagulante in una più alta percentuale di pazienti rispetto agli algoritmi IWPC già validati.

L'introduzione di nuovi SNP ha contribuito a migliorare l'accuratezza della dose predetta di warfarin nei pazienti AA che richiedono un regime posologico elevato soprattutto perché in questo gruppo etnico esiste un'alta incidenza di trombosi venosa profonda ed embolia polmonare, che rende necessario l'impiego di alte dosi di anticoagulante.

L'algoritmo presentato in questo studio si è dimostrato efficace nel predire la dose terapeutica nel 58,9% degli individui rispetto al 48,8% e 26,4%, ossia le percentuali predette rispettivamente dall'algoritmo farmacogenetico e clinico dell'IWPC.

Una limitazione dello studio è il fatto di non aver considerato due varianti (CYP4F2 e CALU) recentemente proposte da Ramirez e collaboratori che sembrano predire la dose stabile di warfarin più efficacemente rispetto agli algoritmi IWPC sia nelle popolazioni Europee che Afro-Americane (*Pharmacogenomics* 2012, 13(4):407-18). Inoltre, in uno studio precedente SNP rs339097 del gene CALU era stato associato con la richiesta di una dose alta di warfarin negli AA (*ClinPharmacolTherap* 2010, 87(4):445-51), ma il lavoro qui revisionato non ha dimostrato nessuna associazione tra tale polimorfismo e la dose stabile di farmaco comportando l'esclusione di tale variante.

Inoltre un'altra limitazione, che tuttavia potrebbe essere considerata paradossale, è la potenziale ridotta prestazione di questo nuovo algoritmo, che include fattori genetici così specifici per gli AA, in gruppi di pazienti di differente etnia, che rimane tuttavia da verificare.

In conclusione, questo studio descrive un nuovo algoritmo farmacogenetico che incorpora al suo interno varianti genetiche specificamente associate alla dose stabile di warfarin negli Afro-Americani che non erano state considerate negli algoritmi precedentemente sviluppati. Tale algoritmo si è dimostrato efficace nel predire la dose appropriata di anticoagulante nei pazienti che richiedevano un'alta dose di farmaco e pone l'accento sull'importanza di sviluppare algoritmi farmacogenetici specifici per pazienti appartenenti a diversi gruppi etnici.

Parole chiave: warfarin, dose stabile, Afro-Americani, SNP, gruppo etnico

Riferimento bibliografico

[Hernandez W](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2014, 14(3):223-8.



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 Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) Dott.ssa Valentina Citi (Università di Pisa) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Eva Cuzzoni (Università di Trieste) Dott.ssa Sara De Iudicibus (Università di Trieste) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Concetta Rafaniello (Università Seconda di Napoli) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)

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.