

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 79 – Dicembre 2015**

---

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

---

**Sommario****⇒ Oncologia**

- Analisi dei fattori genetici predittivi dell'insorgenza di epatotossicità indotta da chemioterapici a base di platino in pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule: uno studio di associazione *genome-wide*
- Aumentato rischio di tossicità gravi da fluoropirimidine in pazienti portatori di una sostituzione G>C nella prima ripetizione di 28bp nell'allele 2R della timidilato sintasi
- Effetto significativo dei polimorfismi di VEGFA sull'*outcome* clinico in pazienti con cancro colonrettale metastatico trattati con FOLFIRI-cetuximab
- I polimorfismi su TLR4/TIRAP sono associati con la progressione e la sopravvivenza dei pazienti con mieloma sintomatico

**⇒ Neurologia**

- Effetti dei polimorfismi genetici selezionati del citocromo P450 ossidoreduttasi sull'attività del citocromo P450 2B6 misurata dall'idrossilazione del bupropione
- Associazione del gene *PCK1* con il body mass index ed altri parametri metabolici in pazienti in trattamento con farmaci psicotropi
- Associazione tra *SLC6A4* e aumento di peso indotto da risperidone nella popolazione Cinese Han

**⇒ Cardiovascolare**

- Varianti *SLCO1B1* e tosse indotta da enalapril: uno studio di farmacogenetica

---

**ONCOLOGIA****ANALISI DEI FATTORI GENETICI PREDITTIVI DELL'INSORGENZA DI EPATOTOSSICITÀ INDOTTA DA CHEMIOTERAPICI A BASE DI PLATINO IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE: UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE***

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il tumore al polmone rappresenta la prima causa di mortalità per cancro al mondo, con oltre 1,38 milioni di decessi ad esso imputati rilevati nel 2008. Il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) è il tipo epiteliale più diffuso tra i tumori polmonari maligni (80% dei casi) e risulta in una prognosi sfavorevole, con un tasso di sopravvivenza medio a 5 anni dalla diagnosi del 15%. I chemioterapici a base di platino, come cisplatino e carboplatino, sono risultati essere farmaci efficaci nel trattamento di NSCLC in stato avanzato. Tuttavia, il loro utilizzo nella pratica clinica è limitato dall'insorgenza di reazioni avverse gravi da essi indotte, quali nefrotossicità, neurotossicità e tossicità gastrointestinali. Nello specifico, la tossicità a livello epatico si manifesta raramente in seguito all'assunzione di composti del platino a bassi dosaggi mentre risulta essere frequente in caso di somministrazione protratta nel tempo di alte dosi degli stessi. Diversi fattori, quali età, sesso e schema di somministrazione del farmaco, sono stati associati al rischio di insorgenza di epatotossicità indotta dai composti a base di platino. In tale contesto, è stato ipotizzato come anche la componente genetica individuale potesse influenzare il rischio di tossicità da platino. Nonostante siano ad ora note correlazioni statisticamente significative tra alcune varianti genetiche e gravi reazioni avverse indotte da composti del platino (ad esempio CASP rs6948 come fattore genetico predittivo di tossicità ematologica), non è ancora chiaro il ruolo della componente genetica individuale nel modulare specificamente il rischio di epatotossicità indotta da tali farmaci. A tale scopo è stato ivi condotto uno studio di associazione *genome-wide* finalizzato all'identificazione di potenziali fattori genetici predittivi dell'insorgenza di epatotossicità in due coorti di pazienti cinesi affetti da NSCLC ed in trattamento con chemioterapici a base di platino.

Lo studio è stato condotto su due coorti di pazienti cinesi Han (coorte esploratoria: N=334; coorte di validazione: N=375) affetti da NSCLC e sottoposti ad almeno due cicli di trattamento con chemioterapici a base di platino. Dati clinici relativi a sesso, età alla diagnosi, abitudine al fumo, storia familiare di cancro, stadio del tumore ed istologia tumorale sono stati raccolti sistematicamente al momento dell'ingresso in studio dei pazienti. Tutti i soggetti inclusi nello studio sono stati trattati in prima linea con chemioterapici a base di platino secondo i regimi di trattamento ivi elencati: cisplatino/carboplatino/oxaliplatino/nedaplatino + gemcitabina, cisplatino/carboplatino + paclitaxel, cisplatino/carboplatino + docetaxel e cisplatino + vinorelbina. La tossicità epatica è stata valutata dopo due o tre cicli di trattamento tramite i criteri riportati dal "National Cancer Institute Common Terminology Criteria Adverse Events Version 3.0" (CTCAE v 3.0). La gravità della tossicità è stata poi classificata con un punteggio da 1 a 4 a seconda dei valori di transaminasi ALT ed AST, bilirubina e fosfatasi alcalina rilevati dopo il trattamento. La chemioterapia con composti del platino è stata interrotta, rinviata o ridotta in termini di dosaggio in caso di progressione di malattia o di forte tossicità farmaco-indotta. La genotipizzazione è stata effettuata mediante *Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0 chips*. Le varianti emerse come associate al rischio di epatotossicità con un P value <  $1 \times 10^{-4}$  nella coorte esploratoria sono state successivamente testate nella coorte di replicazione.

I soggetti inclusi nelle due coorti non sono emersi differire significativamente tra loro in termini di caratteristiche cliniche. Dopo controllo di qualità, sono stati inclusi nell'analisi di associazione *genome-wide* i dati relativi a 329 soggetti appartenenti alla coorte esploratoria e genotipizzati per 588.732 SNPs. Di queste varianti, 20 SNPs sono risultati essere statisticamente associati al rischio di epatotossicità con un P value <  $1 \times 10^{-4}$ . Tuttavia, 9 di questi non sono stati inclusi nella fase di validazione in quanto in forte *linkage disequilibrium* con i rimanenti 11 SNPs di interesse. Dall'analisi di associazione condotta nella fase di replicazione solo la variante rs2838566 è risultata essere associata al rischio di epatotossicità con un P value < 0.05 (OR 1,89, 95% IC: 1,03-3,46, P=0.039). Effettuando un'analisi statistica di associazione combinando i dati relativi alla coorte esploratoria con quelli inerenti alla coorte di validazione, lo SNP rs2838566 è emerso essere correlato al rischio di epatotossicità con un P value =  $2,55 \times 10^{-5}$  (OR 2,56, 95% IC: 1,56-3,95). Infine, è stata condotta un'analisi di associazione sulle due coorti in combinazione per valutare la correlazione tra la variante rs2838566 ed il rischio di epatotossicità stratificando per età, sesso, abitudine al fumo, tipo istologico, stadio tumorale, intervento chirurgico e specifico composto del platino. La significatività statistica di tale associazione è risultata confermata in tutti i sottogruppi di soggetti, ad eccezione di quello costituito da sole donne (OR 2,12, 95% IC 0,94-4,76).

La variante rs2838566 è localizzata in una regione intergenica in prossimità di geni quali TRPM2 (*transient receptor potential cation channel*, sottofamiglia M, membro 2; 2,5 kb a valle), C21orf2 (*chromosome 21*

*open reading frame 2*; 127 kb a monte) e *LRRC3* (*leucine rich repeat containing 3*; 11 kb a valle). Nello specifico, il gene *TRPM2* codifica per una proteina canale con due distinti domini funzionali, uno dei quali funge da canale cationico per il  $\text{Ca}^{2+}$  mentre l'altro fa da ADP-ribosio-(ADPR)-fosfatasi specifica. Recenti studi hanno dimostrato come alcune sostanze intracellulari dotate di proprietà ossidanti o antiossidanti, quali glutatione, perossido di idrogeno ed alcune tossine, possano regolare l'afflusso di calcio e la tossicità ossidativa attraverso la funzionalità del canale *TRPM2* (Naziroglu M et al. *J Membr Biol* 2011, 242:109-18). Essendo noto il ruolo dello stress ossidativo come plausibile meccanismo biologico alla base dell'epatotossicità indotta da composti del platino, gli Autori di questo studio hanno ipotizzato che *TRPM2* possa modulare la suscettibilità al danno epatico attraverso un meccanismo di risposta allo stress ossidativo. Il gene *C21orf2* codifica, invece, per una proteina esistente in 4 diverse isoforme contenenti ripetizioni ricche di leucina. Uno studio condotto da Line e colleghi ha riportato una maggiore reattività sierica all'antigene *C21orf2* in campioni di siero di pazienti affetti da tumore al colon, stomaco, seno e prostata rispetto ai soggetti sani (Line A et al. *Cancer Immunol Immunother* 2002,51:574-82). Infine, dal *Cancer Genome Atlas database* emerge come *LRRC3* risulti essere scarsamente espresso nel carcinoma epatico.

Si evidenzia tuttavia come nessuno degli SNPs inclusi nell'analisi di associazione ivi condotta, compresa la variante rs2838566, abbia raggiunto la significatività statistica *genome-wide* ( $0.05/588.732 = 8.49 \times 10^{-8}$ ) nell'analisi di associazione, nemmeno dopo combinazione delle due coorti in studio (esploratoria+validazione). Data la limitata dimensione campionaria delle coorti di pazienti arruolati per lo studio, si rendono necessari ulteriori studi, possibilmente multicentrici e condotti su più ampie coorti di pazienti, finalizzati a validare il trend di associazione emerso tra la variante rs2838566 ed il rischio di epatotossicità indotta da chemioterapici a base di platino.

Nessuna delle varianti genetiche incluse nell'analisi è risultata associata con significatività *genome-wide* al rischio di epatotossicità indotta da chemioterapici a base di platino in pazienti cinesi affetti da tumore polmonare non a piccole cellule. Si evidenzia, tuttavia, un trend di associazione tra la variante rs2838566 e l'*outcome* in studio in entrambe le coorti di pazienti analizzate.

**Parole chiave:** NSCLC, chemioterapici a base di platino, *TRPM2*, *C21orf2*, *LRRC3*

#### Riferimento bibliografico

[Cao S](#) et al. *Sci Rep* 2015, 5:11556.

## AUMENTATO RISCHIO DI TOSSICITÀ GRAVI DA FLUOROPIRIMIDINE IN PAZIENTI PORTATORI DI UNA SOSTITUZIONE G>C NELLA PRIMA RIPETIZIONE DI 28BP NELL'ALLELE 2R DELLA TIMIDILATO SINTASI

A cura della Dott.ssa Raffaella Franca

Le fluoropirimidine quali il 5-fluorouracile (5-FU), la capecitabina ed il tegafur sono farmaci impiegati per la cura dei tumori gastrointestinali, della mammella e dell'area testa-collo. Esse agiscono inibendo la timidilato sintasi (TS), un enzima fondamentale per la replicazione e la riparazione del DNA in quanto coinvolto nella sintesi *de novo* della deossitimidina monofosfato. Nonostante il trattamento chemioterapico con le fluoropirimidine sia generalmente ben tollerato, circa il 20% dei pazienti trattati sviluppa effetti collaterali gravi e tossicità potenzialmente anche letali, soprattutto a causa di una carenza nell'attività dell'enzima metabolizzante diidropirimidina deidrogenasi (DPD). Il gene *DPYD* codificante per DPD presenta alcuni polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) che sono ormai riconosciuti come predittori clinici di tossicità da fluoropirimidine: lo screening di queste varianti eseguito prima della terapia può ottimizzare un uso sicuro del farmaco nel paziente. Anche l'espressione di TS è influenzata dai polimorfismi nel suo gene codificante *TYMS*. Tuttavia, a differenza delle varianti in *DPYD*, la rilevanza clinica di questi polimorfismi è lungi dall'essere stabilita. Il gene *TYMS* è localizzato sul cromosoma 18p11.32, è lungo 16kb e consiste in sette esoni. La regione 5' UTR contiene un numero variabile di ripetizioni di una sequenza di 28 bp (rs34743033) che agiscono come potenziatori dell'attività trascrizionale del promotore. La maggior parte degli individui presenta solo 2 o 3 ripetizioni (alleli 2R o 3R con frequenze di 0,47 e 0,53 rispettivamente). Studi *in vitro* hanno dimostrato che una regione 2R produce da 3 a 6 volte meno mRNA rispetto al 3R e che nel tessuto

tumorale un genotipo 2R/3R produce significativamente meno proteina rispetto al genotipo 3R/3R. Oltre alla modulazione dell'attività trascrizionale, Kawakami e collaboratori hanno dimostrato che la presenza di un maggior numero di ripetizioni conferisce anche una maggiore efficacia nel processo traduttivo. In linea con queste osservazioni, una recente meta-analisi ha dimostrato che i pazienti portatori dell'allele 2R in trattamento con la capecitabina hanno un rischio maggiore di sviluppare tossicità gravi da fluoropirimidine. La trascrizione di *TYMS* varia tra l'allele 2R e 3R a causa di una sequenza di 6 bp (CACTTG, E-box), che si trova all'interno delle ripetizioni e a cui si può legare il fattore di trascrizione USF-1 (acronimo per Upstream transcription factor-1): l'allele 2R contiene un unico E-box nella prima ripetizione di 28 bp, mentre il 3R ne ha due, uno nella prima e uno nella seconda ripetizione. Tuttavia, sul 12° nucleotide della seconda ripetizione proprio in corrispondenza dell'E-box si trova uno SNP G>C (rs2853542). Se in questa posizione è presente l'allele variante (indicato come 3RC per distinguerlo dalla condizione *wild type* 3RG), il sito di legame per USF-1 nella seconda ripetizione viene abolito e l'attività dell'allele 3R diventa paragonabile a quella dell'allele 2R, come dimostrato da studi *in vitro*. Nel 2006, è stato identificato per la prima volta nei pazienti un secondo SNP G>C (rs183205964), localizzato nella prima ripetizione e in grado di alterare l'unico E-box dell'allele 2R. L'allele variante di questo SNP è indicato come 2RC, per distinguerlo dal *wild type* 2RG, e ha una frequenza pari a 0,015-0,042. Studi *in vitro* indipendenti tra loro hanno dimostrato che questa mutazione riduce marcatamente l'espressione di TS; non sono state invece ancora studiate le associazioni tra questo SNP e l'attività di TS o la maggiore sensibilità alle fluoropirimidine nei pazienti. L'ipotesi di Meulendijks e collaboratori è che i soggetti portatori dell'allele 2RC siano a più alto rischio di tossicità, lo studio farmacogenetico da loro proposto ha perciò lo scopo di investigare la rilevanza clinica di questa variante.

Sono rientrati nello studio 1605 pazienti (55% maschi, età mediana: 61 anni) affetti da tumori di vario tipo e a vari stadi di avanzamento (53% cancro colon rettale, 22% tumore al seno, 14% tumore gastrico, sia localizzati che metastatici) trattati secondo procedure chemioterapiche convenzionali con un regime a base di fluoropirimidine in monoterapia o in associazione con altri farmaci o radioterapici. Tutti i pazienti erano *wild type* per l'allele *DPYD*\*2A. L'associazione tra lo SNP rs183205964 e l'insorgenza di tossicità grave indotta da fluoropirimidine (valutata ad ogni ciclo di trattamento e misurata secondo i criteri CTC-AE versione 3.0) è stata studiata confrontando i pazienti portatori dei genotipi *TYMS* a rischio (2RC/2RC, 2RG/2RC e 3RC/2RC) cioè con al massimo un unico sito di legame integro per l'USF-1) con il resto della popolazione studiata, assumendo un modello dominante in un'analisi univariata e multivariata. I pazienti con genotipo 3RG/2RC sono stati considerati a basso rischio di tossicità da fluoropirimidine per la presenza dell'allele 3G e quindi per la potenziale maggiore attività di TS. Le tre varianti rs34743033, rs2853542 e rs183205964 sono stati genotipizzati mediante PCR.

Ventotto pazienti (1,7%) sono risultati portatori dell'allele 2RC: la frequenza dell'allele nella popolazione studiata è stata di 0,009 e la distribuzione dei genotipi è risultata in equilibrio di Hardy-Weinberg. I 20 soggetti con genotipo a rischio (1,2%; un paziente 2RC/2RC, 13 pazienti 2RG/2RC e 6 pazienti 3RC/2RC) presentavano un maggior rischio di tossicità grave globale dopo il primo ciclo di trattamento (OR=3,0, intervallo di confidenza (IC) al 95%=1,04-8,93, p=0.043) ed una maggiore frequenza di ospedalizzazioni per tossicità da trattamento con fluoropirimidine (OR=3,8, IC 95%=1,19-11,9, p=0.024) nell'analisi multivariata. L'unico paziente con genotipo 2RC/2RC è stato ricoverato due volte e ha avuto episodi gravi di neutropenia febbrile (grado IV), diarrea (grado III) e sindrome mano-piede (grado III). L'attività enzimatica di TS è stata valutata nelle cellule mononucleari del sangue periferico (PBMC) di questo paziente omozigote mutato ed in 19 volontari sani (un eterozigote 3RC/2RC e 18 non portatori dell'allele 2RC) utilizzando un saggio radiochimico ed è stata valutata anche l'espressione relativa di *TYMS* in termini di mRNA. Al contrario di quanto riportato negli studi *in vitro*, l'attività di TS e l'espressione genica di *TYMS* nei soggetti 2RC/2RC e 3RC/2RC sono risultati nella norma. Gli autori hanno giustificato questo risultato inatteso ipotizzando che il contributo relativo di USF-1 nella modulazione della trascrizione genica di TS possa essere cellula- e contesto-specifico: USF-1 potrebbe avere un ruolo importante nell'espressione di TS solo in particolari condizioni di crescita (come ad esempio in presenza delle fluoropirimidine) e non avere invece un ruolo di rilievo nei PBMC maturi. Pur essendo consapevoli delle numerose limitazioni di questo studio (natura retrospettiva dello studio; eterogeneità di età, sesso, malattia e trattamento nella popolazione considerata; mancanza di una coorte di validazione), gli autori suggeriscono che pazienti portatori dei genotipi *TYMS* a rischio, soprattutto quelli omozigoti per l'allele 2RC, debbano essere trattati con dosaggi ridotti di

fluoropirimidine o con terapie alternative. Tuttavia, ulteriori studi sono necessari prima di confermare questa ipotesi.

In conclusione, ha investigato la rilevanza clinica dello SNP rs183205964 in una coorte di 1605 pazienti trattati con fluoropirimidine e ha identificato per la prima volta l'associazione tra questa variante e il rischio di sviluppare tossicità gravi precoci in seguito al trattamento con questi farmaci.

**Parole chiave:** capecitabina, 5-fluorouracile, fluoropirimidine, timidilato sintasi, tossicità

#### Riferimento bibliografico

[Meulendijks D](#) et al. *Int J Cancer* 2016, 138(1): 245-53.

## EFFETTO SIGNIFICATIVO DEI POLIMORFISMI DI VEGFA SULL'OUTCOME CLINICO IN PAZIENTI CON CANCRO COLONRETTALE METASTATICO TRATTATI CON FOLFIRI-CETUXIMAB

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Negli ultimi anni sono stati ottenuti importanti progressi nel *trattamento* del carcinoma colonrettale metastatico (mCRC) grazie all'introduzione degli anticorpi (Ab) anti -EGFR. Cetuximab è un anticorpo monoclonale in grado di bloccare specificatamente la cascata di segnale a valle di EGFR e di inibire, conseguentemente, proliferazione, angiogenesi e metastasi. L'efficacia di cetuximab nel trattamento del mCRC è limitata ai pazienti wild-type per KRAS e NRAS; tuttavia un sottogruppo di pazienti WT non risponde al trattamento con cetuximab e ad oggi la ricerca è volta all'identificazione di nuovi biomarcatori predittivi per la risposta. In questo studio, gli autori ipotizzano che polimorfismi del gene VEGFA, codificante per VEGF, possano influenzare l'efficacia dei regimi terapeutici basati su cetuximab nel mCRC. A tale scopo, è stato analizzato l'effetto di 5 polimorfismi nel gene VEGFA (rs35569394 Del/Ins, rs1570360 G/A, rs833061 C/T, rs 2010963 G/C, rs 3025039 C/T) sull'outcome di 98 pazienti affetti da mCRC in trattamento con FOLFIRI e cetuximab.

I pazienti sono stati suddivisi in responsivi (risposta completa -CR-, parziale -PR-, e malattia stabile -SD) e non responsivi (pazienti con progressione della malattia, PD). La porzione di pazienti portatori dei polimorfismi rs35569394 (Del/Del) e rs833061 (T/T), in linkage disequilibrium tra di loro, è risultata essere significativamente maggiore nel gruppo di pazienti responsivi al trattamento rispetto ai non responsivi (per entrambi i polimorfismi: 30% vs 4% rispettivamente,  $p=0.02$ ; OR=10; 95%CI:1.2-100). Analogamente, il genotipo GG per lo SNP rs1570360 era maggiormente presente tra i pazienti che rispondevano al trattamento (48.5% vs 16.5%;  $p=0.015$ ; OR=5; 95%CI:1.2-100). Gli stessi polimorfismi (rs35569394, rs833061, rs1570360) erano inoltre associati con la PFS (rs35569394 Del/Del vs Ins/Ins: 9.7 vs 6 mesi;  $p = 0.03$ ), (rs833061 TT vs CC: 9.7 vs 6 mesi;  $p = 0.03$ ), (rs1570360 GG vs AA: 9.4 vs 6 mesi;  $p=0.007$ ). Nell'analisi sono stati identificati 10 aplotipi; tra questi, i pazienti con aplotipo DGTGC o ICGGC avevano un rischio minore di progressione rispetto ai pazienti con l'aplotipo di riferimento IACGC (HRR=0.48;  $p=0.004$  e HRR=0.003, rispettivamente). Restringendo l'analisi al sottogruppo dei pazienti wild-type per KRAS ( $n=35$ ), l'aplotipo DGTGC rimaneva associato ad un rischio minore di progressione rispetto a IACGC (HRR=0.31; CI:0.1-0.97;  $p=0.045$ ).

Non esistono dati conclusivi riguardo il ruolo degli SNP del pathway di VEGF/VEGFR come fattori predittivi della risposta clinica nel carcinoma colorettale avanzato. I risultati di questo studio sono fortemente limitati dall'assenza di una coorte di replicazione. Inoltre, essendo il carcinoma al colonrettale uno dei tipi tumorali più diffusi, 98 pazienti non costituiscono una coorte sufficientemente rappresentativa. Infine, in questo studio non è stato considerato lo SNP rs699947, uno dei polimorfismi di VEGFA meglio caratterizzati, così come gli SNPs nei geni codificanti i recettori di VEGF.

In conclusione, questo studio suggerisce che polimorfismi di VEGFA possono influenzare la risposta clinica al trattamento con FOLFIRI + cetuximab in pazienti con carcinoma colonrettale metastatico.

**Parole chiave:** mCRC, cetuximab, SNPs di VEGFA

#### Riferimento bibliografico

[Rollin J](#) et al. *Pharmacogenomics* 2015, 16(18):2035-43.

## I POLIMORFISMI SU TLR4/TIRAP SONO ASSOCIATI CON LA PROGRESSIONE E LA SOPRAVVIVENZA DEI PAZIENTI CON MIELOMA SINTOMATICO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Un microambiente infiammatorio supporta la sopravvivenza, la proliferazione e lo sviluppo della resistenza ai farmaci delle cellule del mieloma multiplo (MM), dove le citochine infiammatorie (quali l'*interleuchina 6*, *IL6*) e i fattori di crescita (come il *fattore di crescita tumorale*, *TNF*) giocano un ruolo fondamentale come mediatori. I recettori *Toll-Like* (TLR) percepiscono i prodotti microbici e generano una cascata di segnali che porta all'attivazione dei fattori di trascrizione come il fattore nucleare *NFkB* e quello regolatore degli interferoni, *IRF*. Fra tutti i TLR umani, il TLR4 riconosce il lipopolisaccaride LPS dei batteri Gram-negativi e anche mediatori intrinseci come il gruppo *box-1* ad alta mobilità (*HMGB1*) o le proteine dello shock termico (*HSP*). L'intervento di TLR4 implica un coinvolgimento della segnalazione intracellulare dei adattatori molecolari che includono il fattore di risposta di differenziazione mieloide (*MYD88*) e il recettore *toll/interleuchine-1* (*TIR*) associato a proteine (*TIRAP*). Variazioni genetiche nel sistema TLR4/TIRAP sono associate con differenze individuali di risposta agli stimoli infettivi, ma sono associate anche con gli esiti clinici dei pazienti nei trattamenti antitumorali e nella risposta ai chemioterapici. Poiché il MM è una malattia caratterizzata da un forte impatto del microambiente infiammatorio, lo scopo di questo studio è stato quello di indagare come i polimorfismi genetici che coinvolgono le funzioni del pathway di TLR4 possano influenzare il trattamento e l'esito della patologia in pazienti affetti da MM.

Il DNA per le analisi è stato ottenuto dal sangue periferico di 255 pazienti che hanno cominciato la terapia nel periodo compreso fra il 1 gennaio 2006 e il 30 dicembre 2012. A tutti i pazienti sono stati somministrati sia lenalidomide che bortezomib durante il corso della loro terapia.

La frequenza degli SNPs su TLR4, rs4986790 (Asp299Gly) e rs4986791 (Thr399Ile), è stata, rispettivamente, di 8.9% (23 pazienti) e 8.6% (22 pazienti), ma nessun paziente è risultato omozigote per tali SNPs. TIRAP rs8177374 (S180L) è risultato eterozigote in 64 pazienti (25%) e solo nell'1% dei casi (2 pz) è risultato omozigote. Gli autori non hanno riscontrato associazioni fra alcuno SNP considerato e le caratteristiche dei pazienti o della malattia o sua citogenetica. La presenza degli SNPs su TLR4 è risultata associata con una minor risposta alla terapia primaria: la risposta parziale (PR) è stata il 65% per i portatori di varianti di rs4986790 e 56% per quelli aventi rs4986791 variante contro l'88% (P=0.008) e l'88.5% (P=0.001), rispettivamente, per i non portatori. Il rapporto risposta completa/risposta parziale molto buona (CR/VGPR) è risultato molto basso per i portatori di snps su TLR4 (35% e 31% per i portatori di rs4986790 e rs4986791, rispettivamente, contro il 55% e il 55.5% dei non portatori, P=0.026 e P=0.001)

Le associazioni fra i precedenti SNPs e la risposta alla terapia sono state molto più evidenti nei pazienti trattati con farmaci immunomodulatori (IMiD): il tasso di risposta globale (ORR) per i pazienti, trattati con IMiD, portatori di rs4986790 e rs4986791 in TLR4, è stato di 62.5% e 57% contro il 93% e il 91% dei non portatori.

In un'analisi multivariata, dopo aggiustamento con fattori prognostici noti, lo SNP presente su TIRAP è rimasto fattore indipendente associato alla PFS (sopravvivenza priva di ricadute) [HR: 1.74, 95% C.I. 1.15-2.62, P=0.008]; inoltre, lo SNP su questo gene è risultato essere associato con una OS (sopravvivenza globale) significativamente più breve (OS media di 53 mesi e, ai 5 anni OS del 45% contro 73%, P=0.001).

Questo studio partiva dal presupposto che un microambiente infiammatorio favorisca la degenerazione del mieloma, ed è stato quindi ipotizzato che fattori genetici che hanno un ruolo nella risposta infiammatoria, possano influenzare anche l'esito delle terapie anti-mieloma. Numerosi studi hanno mostrato come la variante S180L su TIRAP sia associata con l'aumento della produzione delle citochine pro-infiammatorie (TNF, IFN- $\gamma$ , IL6, IL10) e l'induzione del segnale di *NFkB* se comparato con il *wild-type*, dopo l'insulto con LPS. Poiché *NFkB* svolge un ruolo cruciale nella sopravvivenza delle cellule di MM, gli autori hanno supposto che alla base delle differenti risposte ottenute nei pazienti, ci siano le diverse varianti su TIRAP,

che coinvolgono sia l'induzione della farmacoresistenza sia l'aumento di un microambiente pro-infiammatorio. Il diverso impatto sulle terapie, ottenuto dai polimorfismi studiati, è indicativo, probabilmente, dei differenti meccanismi d'azione e del peculiare effetto di questi trattamenti sulle cellule del mieloma. La terapia IMiD ha proprietà immunomodulatorie peculiari, agendo direttamente su IL6 e TNF, mentre il bortezomib blocca la degradazione proteasoma-dipendente, avendo così modo di interferire in modo critico sul segnale di *NFκB*.

Concludendo, i risultati di questo studio sull'impatto dei polimorfismi a carico dei geni TLR4/TIRAP, che coinvolgono la segnalazione del *pathway* TLR4, evidenziano come in pazienti con mieloma il ruolo del sistema immunitario sia cruciale per l'evoluzione della malattia e pongono le basi per ulteriori accertamenti sul microambiente infiammatorio.

**Parole chiave:** mieloma, TLR4, TIRAP, snps, risposta infiammatoria

#### Riferimento bibliografico

[Bagratuni T](#) et al. *Br J Haematol* 2015 Nov 13 [Epub ahead of print].

## NEUROLOGIA

### EFFETTI DEI POLIMORFISMI GENETICI SELEZIONATI DEL CITOCROMO P450 OSSIDOREDUPTASI SULL'ATTIVITÀ DEL CITOCROMO P450 2B6 MISURATA DALL'IDROSSILAZIONE DEL BUPROPIONE

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

Il bupropione è un antidepressivo aminochetonico monociclico ampiamente utilizzato come aiuto nella cessazione dell'abitudine al fumo di sigaretta. Il citocromo P450 (CYP) 2B6 è l'enzima principale che catalizza il metabolismo del bupropione nel suo metabolita attivo, l'idrossibupropione, e l'idrossilazione del bupropione è stata validata come marker selettivo dell'attività in vivo del CYP2B6. L'allele CYP2B6\*6 [c.516G>T (\*9, rs3745274) e c.785A>G (\*4, rs2279343)] è stato descritto come variante *loss-of-function* con frequenze alleliche di 25, 30, e 15% nei caucasici, afro-americani e asiatici, rispettivamente. Sia lo stato omozigote CYP2B6\*6/\*6 che quello eterozigote CYP2B6\*1/\*6 si traducono in fenotipi metabolizzatori lenti per diversi farmaci in vivo, tra cui il bupropione. Il citocromo P450 ossidoreduttasi (POR) trasferisce gli elettroni dal NADPH a tutti i CYP microsomiali, e questo è un passaggio limitante nel metabolismo dei farmaci. Sia i modelli di topo transgenici sia i knockout fegato-specifici di POR hanno dimostrato che una diminuzione o un'abolizione dell'attività di POR potrebbe ridurre notevolmente la capacità dei CYP epatici di metabolizzare i farmaci. E' stato evidenziato che mutazioni rare presenti nella regione codificante di POR, generanti un deficit di POR, causano disturbi autosomici recessivi di steroidogenesi e influenzano il metabolismo dei farmaci dipendente dai CYP. Inoltre è stato studiato, sia in vivo che in vitro, il contributo dei diversi polimorfismi genetici di POR sul metabolismo o l'efficacia di alcuni farmaci substrato dei CYP, tra questi SNP: -208C>T (rs12537282), -173C>A (rs72553971), c.1508C>T (\*28 o rs1057868), e g.6593A>G (rs2868177). Ad oggi, non sono state ancora pubblicate documentazioni che abbiano indagato l'associazione tra i polimorfismi genetici di POR e l'attività del CYP2B6, specialmente nell'uomo. Il presente studio è stato quindi condotto per valutare l'effetto degli SNP di POR sull'attività del CYP2B6, misurata sulla base dell'idrossilazione del bupropione.

**Partecipanti.** Duecento volontari maschi cinesi sono stati genotipizzati con successo per CYP2B6 c.516G>T e c.785A>G, e POR g.6593A>G, c.1508C>T, -208C>T, e -173C>A. Trentacinque maschi sani volontari con genotipo selezionato per CYP2B6 e POR sono stati arruolati nello studio clinico, dopo aver dato il consenso informato scritto (età compresa tra i 20 e i 34 anni; range di peso di 52-78 kg; range di BMI, 18,2-26,2 kg/m<sup>2</sup>). Sono stati esclusi dallo studio i bevitori regolari pesanti, i fumatori, gli utilizzatori di glucocorticoidi

e quelli allergici al bupropione. Inoltre, i partecipanti sono stati invitati ad astenersi da droga, alcool e da bevande contenenti caffeina nelle 2 settimane prima dell'inizio e durante lo studio.

**Disegno dello studio.** Dopo un digiuno notturno, i partecipanti hanno ingerito una sola dose orale di 150 mg di bupropione (due compresse da 75mg) con 200 ml di acqua. I campioni di sangue per le analisi di farmacocinetica sono stati raccolti per 3 giorni. I partecipanti non hanno consumato alcun fluido per le successive 2h e qualsiasi cibo per le 4h successive a ciascuna dose di bupropione. A tutti i partecipanti sono stati forniti pasti standard. Una serie di campioni di sangue (5 ml) sono stati raccolti da un catetere venoso a permanenza (anticoagulante con eparina sodica) prima dell'ingestione del bupropione e nelle successive 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, e 72h. La genotipizzazione di POR g.6593A>G, c.1508C>T, -208C>T, e -173C>A è stata effettuata mediante PCR dei polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione. Per individuare gli alleli CYP2B6 c.516G>T e c.785A>G è stata eseguita una PCR allele-specifica in due step. Gli SNP sono stati identificati tramite sequenziamento del DNA secondo un protocollo standard con l'analizzatore di DNA ABI 3700 (Applied Biosystems, Foster City, California, Stati Uniti d'America).

**Analisi delle concentrazioni di farmaco.** Le concentrazioni plasmatiche di bupropione e del suo metabolita idrossibupropione sono state rilevate tramite cromatografia liquida-spettrometria di massa utilizzando lo strumento Finnigan LCQ Deca XPplus (Finnigan, San Jose, California, Stati Uniti d'America). I limiti inferiori di quantificazione per bupropione e idrossibupropione erano 0.21 e 1.172 ng/ml, e gli intervalli di dosaggio utilizzati erano 0.44-432.5 e 2.624-1198 ng/ml, rispettivamente. I coefficienti di correlazione delle curve di calibrazione del bupropione e dell'idrossibupropione erano 0.997 e 0.998, rispettivamente. Le concentrazioni plasmatiche più alte di bupropione e idrossibupropione sono state misurate rispettivamente 317.28 e 854.66 ng/ml. I coefficienti di variazione intraday e interday per il controllo della bassa, media e alta qualità dei campioni controllo erano meno del 5%.

**Analisi statistica.** I principali parametri farmacocinetici sono stati confrontati utilizzando un'analisi della varianza *one-way* o il t-test, mentre la trasformazione logaritmica è stata utilizzata prima dell'analisi per i dati con distribuzione non normale. La distribuzione dei genotipi è stata testata per l'equilibrio di Hardy-Weinberg. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando SPSS versione 18.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Il P-value a due code è stato considerato statisticamente significativo se inferiore a 0,05.

**Partecipanti.** Gli alleli più comuni del CYP2B6 rilevati nei partecipanti sono stati: \*1 (66,2%) e \*6 (22,8%); le varianti -208C>T e -173C>A del gene POR non sono state trovate in alcun partecipante. La frequenza allelica dei polimorfismi g.6593G e c.1508T di POR è risultata del 46,7 e 37,5%, rispettivamente. Le distribuzioni dei genotipi del CYP2B6 c.516G>T e c.785A>G, e di POR g.6593A>G e POR c.1508C>T sono risultate in equilibrio di Hardy-Weinberg ( $P>0,05$ ). **Influenza degli SNPs selezionati di POR e CYP2B6\*6 sull'attività del CYP2B6 misurata da AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub>.** La media AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub> era significativamente differente tra i genotipi CYP2B6\*1/\*1, CYP2B6\*1/\*6, e CYP2B6\*6/\*6 ( $17,1 \pm 6,23$  vs.  $10,3 \pm 4,53$  vs.  $9,41 \pm 2,84$ ,  $p=0,001$ ). Gli individui con genotipo CYP2B6\*1/\*1 hanno mostrato una media AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub> significativamente superiore rispetto agli individui portatori delle varianti CYP2B6\*1/\*6 e CYP2B6\*6/\*6 ( $17,1 \pm 6,23$  vs.  $10,3 \pm 4,53$ ,  $p=0,003$ , e  $17,1 \pm 6,23$  vs.  $9,41 \pm 2,84$ ,  $p=0,002$ , rispettivamente), mentre non c'era alcuna differenza significativa tra i gruppi \*1/\*6 e \*6/\*6 del CYP2B6. La media AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub> era significativamente differente tra i genotipi AA, AG e GG della variante POR g.6593A>G ( $8,54 \pm 2,65$  vs  $14,9 \pm 6,06$  vs.  $16,8 \pm 6,45$ ,  $p=0,003$ ). I genotipi omozigoti AA del SNP POR g.6593A>G hanno mostrato una media significativamente inferiore di AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub> rispetto agli eterozigoti AG e agli omozigoti GG della stessa variante ( $8,54 \pm 2,65$  vs.  $14,9 \pm 6,06$ ,  $p=0,005$ , e  $8,54 \pm 2,65$  vs  $16,8 \pm 6,45$ ,  $p=0,002$ , rispettivamente). Inoltre, gli omozigoti AA di POR g.6593A>G hanno mostrato una media significativamente più bassa di AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub> rispetto ai genotipi AG/GG nei gruppi CYP2B6\*1/\*1, CYP2B6\*1/\*6, e CYP2B6\*6/\*6 ( $10,9 \pm 1,82$  vs.  $19,7 \pm 5,53$ ,  $p<0,001$ ,  $6,18 \pm 0,284$  vs.  $12,1 \pm 4,31$ ,  $p=0,011$  e  $6,94 \pm 1,48$  vs  $10,9 \pm 2,39$ ,  $p=0,043$ , rispettivamente). Non è stata trovata alcuna differenza significativa nella media AUC<sub>hyd</sub>/AUC<sub>bup</sub> per i genotipi della variante POR c.1508C> T. **Influenza degli SNPs selezionati di POR e CYP2B6\*6 sulla media AUC<sub>0-∞</sub> di bupropione e idrossibupropione.** La media AUC<sub>0-∞</sub> del bupropione era significativamente superiore nei wild type per la variante POR g.6593A>G rispetto alle varianti CYP2B6\*1/\*6 ( $1557 \pm 190$  vs  $1033 \pm 254$ ,  $p=0,013$ ) e \*6/\*6 ( $1577 \pm 453$  vs  $972 \pm 231$ ,  $p=0,042$ ). Nei carriers CYP2B6\*1/\*1, la media AUC<sub>0-∞</sub> dell'idrossibupropione era significativamente più alta per POR g.6593A>G rispetto al wild type ( $16,405 \pm 4442$  vs  $10,907 \pm 2,275$ ,  $p=0,020$ ). Gli individui con genotipo CYP2B6\*6 e wild type per POR g.6593A>G hanno mostrato valori di

media AUC<sub>0-∞</sub> più alti di bupropione e più bassi d'idrossibupropione. Al contrario, gli individui con genotipo CYP2B6\*1/\*1 e con una variante di POR g.6593A>G esibivano valori di media AUC<sub>0-∞</sub> più bassi di bupropione e più alti d'idrossibupropione. Non vi era alcuna differenza significativa nella media AUC<sub>0-∞</sub> di bupropione e idrossibupropione tra i genotipi della variante POR c.1508C>T, anche dopo aver escluso l'effetto del CYP2B6\*6.

Questi risultati indicano, per la prima volta, che le variazioni genetiche di POR g.6593A>G aumentano in modo significativo l'attività enzimatica del CYP2B6, come misurato dall'idrossilazione del bupropione nella popolazione cinese. Gli SNP CYP2B6\*6 e POR g.6593A>G potrebbero essere considerati contemporaneamente per la terapia individualizzata di farmaci substrato del CYP2B6, come il bupropione.

**Parole chiave:** bupropione, CYP2B6, polimorfismo genetico, idrossibupropione, P450 ossidoreduttasi

#### Riferimento bibliografico

[Lv J et al. Pharmacogenet Genomics 2015 Nov 17 \[Epub ahead of print\].](#)

## ASSOCIAZIONE DEL GENE *PCK1* CON IL BODY MASS INDEX ED ALTRI PARAMETRI METABOLICI IN PAZIENTI IN TRATTAMENTO CON FARMACI PSICOTROPI

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'aumento di peso è un noto effetto collaterale dei farmaci psicotropi, quali antipsicotici, antidepressivi e stabilizzatori del tono dell'umore. Tale aumento di peso può portare a complicanze metaboliche, quali aumento dei trigliceridi (TG), del colesterolo (CHOL) e della circonferenza addominale (WC) ed è correlato a comorbidità quali diabete, ipertensione ed altre patologie cardiovascolari. Il gene della fosfoenolpiruvato carbossichinasi (*PCK*) codifica per un enzima coinvolto nella gluconeogenesi che si trova in due forme, *PCK1* e *PCK2*. La *PCK* catalizza la conversione da ossalacetato in fosfoenolpiruvato ed è anche coinvolta nella gliceroneogenesi e nella cataplerosi. Il gene *PCK* è un gene a valle del *transcription coactivator 1* (*CRTC1*), che è implicato nel controllo ipotalamico del consumo di cibo. Recentemente gli autori hanno osservato che i portatori di una variante allelica di un polimorfismo di *CRTC1* sembrano essere protetti dall'aumento di peso, in particolare le donne con meno di 45 anni. Sono state inoltre riportate diverse associazioni tra polimorfismi di *PCK1* e il diabete mellito di tipo 2 (T2DM), sebbene questi risultati non sono stati sempre replicati. Diverse evidenze indicano che nella popolazione generale *PCK* contribuisce all'obesità ed alla sindrome metabolica, ma non esistono studi nella popolazione psichiatrica che è ad alto rischio di obesità e sindrome metabolica.

Lo scopo del presente studio è investigare se i polimorfismi di *PCK1* siano associati al BMI e ad altri parametri metabolici in tre popolazioni psichiatriche indipendenti trattate con farmaci che inducono aumento di peso e in tre ampie coorti di popolazione generale. Lo scopo secondario dello studio è esplorare se polimorfismi di *PCK1* e *CRTC1* siano associati al BMI.

Il primo campione psichiatrico (*discovery sample*) è stato reclutato durante uno studio longitudinale di *follow-up* sulla sindrome metabolica. Sono stati inclusi 478 pazienti che stavano cambiando o iniziando un trattamento con psicofarmaci noti per indurre potenzialmente aumento di peso (aripirazolo, amisulpiride, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidone, mirtazapina, litio, e/o valproato). Peso, altezza ed altre variabili cliniche sono state registrate al *baseline* e 1, 2, 3, 6, 9 e 12 mesi dopo l'inizio del trattamento. La maggior parte dei pazienti avevano già ricevuto un altro trattamento con psicofarmaci prima del trattamento. Due altri campioni di popolazione provenienti da studi retrospettivi sono stati utilizzati come coorti di replicazione. Il campione di replicazione 1 includeva 168 pazienti trattati per almeno 3 mesi con olanzapina, clozapina, quetiapina, risperidone, litio, e/o valproato. Il campione di replicazione 2 includeva 188 pazienti la maggior parte dei quali trattati per più di un anno con aripirazolo, amisulpiride, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidone, mirtazapina, litio, e/o valproato. I risultati significativi sono stati replicati in tre ampi campioni di popolazione generale provenienti dal *Genetic Investigation of Anthropometric Traits Consortium* e dal *Global Lipids Genetics Consortium*. I polimorfismi *PCK1* rs2071023 e rs3746266 di *CRTC1* sono stati genotipizzati usando il *TaqMan allelic discrimination assay* (ABI PRISM 7000 Sequence

*Detection System*; Applied Biosystems). Inoltre, sono stati considerati 3 ulteriori SNPs di *PCK1*, disponibili nel *Cardio-MetaboChip* (rs11552145, rs707555 e rs8123020). Il *discovery sample* includeva pazienti con durata di trattamento più breve rispetto ai gruppi di validazione (media di 6 mesi *versus* 27.4 e 36 mesi nelle repliche 1 e 2, rispettivamente,  $P = 0.0001$ ), più basso BMI (media di BMI di 25 *versus* 28 e 27 per le repliche 1 e 2, rispettivamente,  $P = 0.0001$ ) e più bassa prevalenza di obesità ( $BMI \geq 30$ ) (18% *versus* 40% e 27%, rispettivamente,  $P < 0.001$ ).

Non sono state rilevate associazioni significative tra i polimorfismi di *PCK1* ed il BMI al *baseline*. Tuttavia, sono state rilevate una tendenza ed un'associazione significativa tra rs11552145 e rs2071023 ed il BMI (BMI all'ultima valutazione di *follow-up*) nel *discovery sample* ( $P = 0.08$  e  $0.018$ , rispettivamente) e nel campione combinato ( $P = 0.01$  e  $0.003$ , rispettivamente).

I portatori del genotipo rs11552145-AA avevano in media un valore di BMI di 2.20 unità più basso rispetto ai portatori dell'allele G ( $P = 0.0004$ ). Simili risultati sono stati osservati per il genotipo rs2071023-CC che aveva un BMI di 1.27 unità inferiore rispetto ai portatori dell'allele G ( $P = 0.004$ ). I risultati significativi sono stati replicati per rs11552145 e BMI nei 2 campioni di replicazione considerati insieme. Combinando i 3 campioni sono stati trovati risultati simili sia per rs11552145 che per rs2071023.

Una forte associazione è stata trovata nelle donne con meno di 45 anni, in cui le portatrici di rs11552145 AA avevano 2.25 unità di BMI in meno rispetto alle portatrici dell'allele G ( $P = 0.009$ ). Nessun risultato significativo è stato osservato per gli altri due SNPs rs8123020 e rs707555.

Nel *discovery sample*, in accordo con i risultati relativi al BMI, entrambi i portatori del genotipo rs11552145-AA e rs2071023-CC avevano una WC significativamente più bassa ( $P = 0.008$  e  $0.004$ , rispettivamente). Inoltre, i portatori del genotipo rs11552145-AA avevano livelli di TG inferiori rispetto ai portatori dell'allele G ( $P < 0.002$ ).

Per quanto riguarda l'analisi combinata di *CRTC1* rs3746266 e *PCK1* rs11552145 con il BMI, i genotipi *CRTC1* G e *PCK1* AA sono stati considerati insieme. Nell'analisi corretta per età, sesso, trattamento e durata di trattamento, i portatori del genotipo AA per *CRTC1* e *PCK1* o i portatori dell'allele G di *CRTC1* e *PCK1* avevano 0.79 unità di BMI in meno rispetto al gruppo di riferimento ( $P = 0.009$ ). In maniera simile, i portatori del genotipo *PCK1* AA e *CRTC1* G avevano 2.43 unità di BMI in meno rispetto al gruppo di riferimento ( $P < 0.001$ ).

Questo è il primo studio realizzato in pazienti psichiatrici ed il primo in cui si osserva un'associazione significativa tra polimorfismi di *PCK1* e BMI. Nel presente studio, rs11552145 è fortemente associato al BMI nel sottogruppo di donne con meno di 45 anni di età e la differenza osservata nel BMI tra i genotipi ha un significato clinico. Questo risultato è in accordo con un precedente studio che mostra che l'associazione tra un polimorfismo di *CRTC1* (un gene a monte di *PCK1*) e il BMI è più alto nelle donne di età inferiore ai 45 anni rispetto al campione non stratificato per genere. Questi risultati potrebbero essere spiegati considerando l'influenza dei livelli di estrogeni circolanti sul bilancio energetico. Tuttavia, questa ipotesi non è stata testata nel presente studio in quanto i livelli di estrogeni circolanti non sono stati misurati.

Inoltre, nel campione del presente studio, le associazioni più rilevanti sono state osservate nei pazienti psichiatrici piuttosto che nella popolazione generale; probabilmente questo è dovuto all'alta prevalenza di sovrappeso e di obesità nei pazienti psichiatrici indotta dalla malattia, dallo stile di vita e dall'effetto diretto dei farmaci che inducono aumento di peso.

Limitazioni dello studio: primo, i pazienti non erano *drug naive*, quindi non è stato possibile valutare se l'associazione tra i polimorfismi e il BMI od altri fenotipi fosse dovuta alla malattia psichiatrica in sé e/o al trattamento con psicofarmaci. Secondo, nonostante il principale criterio di inclusione per i pazienti nel presente studio prevedeva l'assunzione di farmaci psicotropi noti per indurre aumento di peso, ai pazienti sono stati prescritti anche altri tipi di farmaci che potenzialmente inducono aumento di peso, la cui influenza non è stato possibile valutare.

In conclusione, il presente studio mostra un'associazione tra il polimorfismo rs11552145G > A di *PCK1* ed il BMI ed altri parametri metabolici in pazienti psichiatrici trattati con farmaci psicotropi ed in donne di età inferiore ai 45 anni.

**Parole chiave:** sindrome metabolica, indice di massa corporea, farmaci psicotropi, farmacogenetica.

**Riferimento bibliografico**

[Saigi-Morgui N](#) et al. *J Clin Psychopharmacol* 2015, 35:544-52

**ASSOCIAZIONE TRA *SLC6A4* E AUMENTO DI PESO INDOTTO DA RISPERIDONE NELLA POPOLAZIONE CINESE HAN**

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

L'aumento di peso indotto da antipsicotici può condurre allo sviluppo di ridotta tolleranza glucidica, alterazioni del metabolismo lipidico, ipertensione arteriosa, obesità e diabete mellito di tipo II. E' stato inoltre associato all'aumento del rischio cardiovascolare e ad una ridotta aspettativa di vita nei pazienti con schizofrenia. L'aumento di peso può anche causare preoccupazioni estetiche nel paziente, determinando una ridotta *compliance* ed un conseguente aumento del tasso di recidiva. E' stato suggerito che l'aumento di peso indotto da antipsicotici possa essere spiegato, almeno in parte, da fattori genetici. Gli studi condotti finora si sono concentrati su tre categorie di geni: 1) geni implicati nella farmacocinetica (in particolare geni che codificano per enzimi della famiglia del citocromo P450); 2) geni implicati nella sintesi o nel metabolismo di neurotrasmettitori e loro recettori, come il recettore dopaminergico D2 (*DRD2*); 3) geni associati con aumento di peso o obesità nella popolazione generale, come i geni che codificano per la leptina (*LEP*) e per il recettore della leptina (*LEPR*).

Gli autori dello studio hanno selezionato 768 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) in 85 geni per testarne l'associazione con la variazione percentuale di peso indotta da 4 settimane di trattamento con risperidone in pazienti con schizofrenia di origine Cinese Han.

Il campione comprendeva 216 pazienti con schizofrenia (91 uomini e 125 donne) arruolati in Cina presso tre centri: l'Institute of Mental Health, Peking University (Beijing), il Department of Psychiatry of the Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University (Xinxiang), e il Jinzhou Kangning Hospital (Jinzhou). Tutti i pazienti avevano una diagnosi di schizofrenia in accordo con i criteri del DSM-IV. Nello studio sono stati inclusi solo pazienti in monoterapia con risperidone e benzodiazepine al bisogno. I criteri di esclusione comprendevano malattie cerebrali di origine organica, disordini tiroidei, diabete mellito, altre malattie metaboliche o una storia di complicanze mediche severe. Il peso dei pazienti è stato misurato, a digiuno, prima dell'inizio e dopo 4 settimane di trattamento con risperidone. Tutti i pazienti hanno completato il follow-up di 4 settimane. Gli autori hanno selezionato geni implicati nella farmacocinetica, nella neurotrasmissione o nell'omeostasi energetica. Gli SNP sono stati selezionati sulla base di evidenze riportate in letteratura, frequenza dell'allele minore > 5% nella popolazione giapponese o caucasica e aspetti tecnici legati al disegno della probe. Gli SNP selezionati sono stati genotipizzati su DNA genomico mediante piattaforma Illumina GoldenGateBeadArray.

L'associazione tra gli SNP e la variazione percentuale di peso indotta dal risperidone è stata valutata utilizzando un modello di regressione lineare, con la variazione di peso come variabile dipendente. La correzione per test multipli è stata effettuata utilizzando il metodo del *false discovery rate* (FDR), considerando un q-value soglia di 0.2.

Dopo 4 settimane di trattamento con risperidone, l'aumento medio di peso è stato di 1,2 Kg ( $\pm$  3 Kg) e l'aumento percentuale medio è stato del 2,1% ( $\pm$  5,2%). Il 12,5% dei pazienti è andato incontro ad un aumento significativo di peso ( $\geq$  7% del peso iniziale). Dopo le operazioni di *filtering*, sono rimasti 215 pazienti e 738 SNP disponibili per le analisi. 28 SNP localizzati in 17 geni avevano un p-value nominale < 0,05 prima della correzione per test multipli. I 7 SNP più significativi erano tutti localizzati a livello del gene *SLC6A4*, sul cromosoma 17. Quattro di questi SNP sono rimasti significativi in seguito alla correzione per test multipli: rs3813034 (p = 0.000357, q = 0.08), rs1042173, rs4325622 e rs9303628 (p = 0.000451, q = 0.08 per tutti e tre). I pazienti omozigoti per l'allele A dello SNP rs3813034 sono andati incontro ad un maggiore aumento percentuale di peso (8,8%  $\pm$  3,6%) rispetto ai pazienti eterozigoti AC (3,9%  $\pm$  5,3%) e ai pazienti omozigoti per l'allele C (1,6%  $\pm$  5,6%).

Il gene *SLC6A4* codifica per il trasportatore della serotonina, che è in grado di modificare le concentrazioni sinaptiche di questo neurotrasmettitore. La serotonina gioca un ruolo importante nella regolazione dell'appetito e del peso corporeo e altri geni del sistema serotoninergico come *HTR2A* e *HTR2C* sono stati precedentemente associati all'aumento di peso indotto da antipsicotici. Evidenze precedenti suggeriscono un

ruolo del gene *SLC6A4* nella regolazione del peso: il polimorfismo SS nella regione 5-UTR del gene è stato associato all'obesità nella popolazione generale, mentre l'espressione piastrinica di *SLC6A4* è stata correlata negativamente con il BMI. Lo SNP rs3813034 si trova nella regione 3-UTR del gene *SLC6A4* e analisi in silico mostrano che possa influenzare il legame di tre microRNA: *miR-2053*, *miR-569* e *miR-571*. I limiti di questo studio comprendono la mancanza di un calcolo del potere statistico e la mancanza di informazioni cliniche riguardanti la storia dei pazienti prima dell'ingresso nello studio.

In conclusione, lo studio suggerisce che varianti del gene *SLC6A4* possano essere associate all'aumento di peso indotto da risperidone nei pazienti con schizofrenia di origine Cinese Han.

**Parole chiave:** risperidone, schizofrenia, *SLC6A4*

#### Riferimento bibliografico

[Wang F](#) et al. *Pharmacogenomics* 2015, 16: 1943-49.

## CARDIOVASCOLARE

### VARIANTI *SLCO1B1* E TOSSE INDOTTA DA ENALAPRIL: UNA STUDIO DI FARMACOGENETICA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'enalapril fa parte della categoria degli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE-inibitori) usati nel trattamento dell'ipertensione primaria, dello scompenso cardiaco, della disfunzione ventricolare sinistra e dell'insufficienza renale cronica. La tosse rappresenta l'evento avverso più comune del trattamento con ACE-inibitori e può insorgere dopo poche ore dall'inizio del trattamento (*Am J Med* 2015,128:120–25; *Am J Med* 2010,123:1016–30). L'incidenza della tosse nei pazienti in trattamento con ACE-inibitori varia dal 5% in occidente fino al 50% o più in Cina. Diversi studi hanno valutato l'associazione di polimorfismi in geni candidati, ma nessuno ha mostrato una forte associazione con l'insorgenza di tosse da ACE-inibitori (*Pharmacogenomics* 2013,14:249–60; *Pharmacogenet Genomics* 2011,21:531–38; *Pharmacogenet Genomics* 2011,21:10; *Metabolism* 2001,50:1346–50). Pertanto, le basi genetiche della tosse indotta da ACE-inibitori rimangono sconosciute.

Il gene *SLCO1B1* codifica per un trasportatore degli acidi biliari sodio-indipendente, specificamente espresso nella membrana baso-laterale degli epatociti e coinvolto nella clearance di diversi farmaci, incluse le statine, gli antidiabetici, gli antagonisti del recettore dell'angiotensina II e gli ACE-inibitori (*J Pharmacol Exp Ther* 2006,318:395–402). In totale sono stati individuati 190 SNP per questo gene (*Pharmacogenet Genomics* 2010,20:211–16). Due di questi polimorfismi non sinonimi (521T>C, Val174Ala, rs4149056 e 388A>G, Asn130Asp, rs2306283) sono stati associati con alterazioni della farmacocinetica e della farmacodinamica dei substrati di questo trasportatore (*Br J Clin Pharmacol* 2007,64:346–52; *Br J Clin Pharmacol* 2006,62:567–72). Inoltre, uno studio recente ha mostrato che le varianti del gene *SLCO1B1* alterano la farmacocinetica dell'enalapril in pazienti cinesi (*Clin Ther* 2011,33:655–63). Tuttavia non ci sono al momento studi che valutino l'associazione tra le varianti funzionali del gene *SLCO1B1* e la tosse indotta da ACE-inibitori. È stato pertanto disegnato questo studio per valutare se le due varianti più comuni del gene *SLCO1B1* siano determinanti farmacogenetiche dell'insorgenza della tosse in pazienti cinesi con ipertensione essenziale trattati con enalapril.

Lo studio ha incluso soggetti cinesi, uomini o donne, con pressione sistolica  $\geq 140$  mmHg e/o pressione diastolica  $\geq 90$  mmHg. I dati riguardanti le informazioni cliniche al basale e le eventuali reazioni avverse sono stati raccolti. In caso di insorgenza di tosse o sintomi respiratori durante le due settimane di trattamento con enalapril senza un'altra causa identificabile (infezioni o altre patologie respiratorie, altri farmaci), è stata registrata come reazione avversa.

Sono stati arruolati 450 pazienti in trattamento con enalapril. La tosse è insorta in 144 di questi pazienti, mentre i rimanenti 306 sono stati considerati controlli. Tra le caratteristiche cliniche e demografiche dei due gruppi, sesso e status di fumatore sono risultati significativamente differenti, con una maggiore percentuale di donne ( $p=0,006$ ) e di non fumatori ( $p=0,038$ ) tra i pazienti con tosse.

La distribuzione della variante 521T>C del gene *SLCO1B1* è risultata differire tra i pazienti con tosse ed i controlli (17,6% versus 9,6%;  $p=6,2 \times 10^{-4}$ ), con i genotipi TC/CC presenti nel 31,7% dei pazienti con tosse e nel 18,5% dei pazienti controllo ( $p=0,002$ ). In confronto al genotipo TT, il genotipo TC presentava un più alto rischio di insorgenza di tosse da enalapril (OR= 1,92,  $p=0,007$ ), mentre il genotipo CC presentava un rischio 6 volte più alto. Per il polimorfismo 388A>G non è stata invece trovata un'associazione significativa.

Questo studio è il primo a valutare il coinvolgimento del trasportatore sintetizzato dal gene *SLCO1B1* nell'insorgenza di tosse da ACE-inibitori. In particolare, è stato evidenziato come la variante 521T>C modifichi il rischio di insorgenza di tosse indotta da enalapril in pazienti cinesi, probabilmente per influenze sulla farmacocinetica del farmaco. Il rischio è infatti risultato 2 volte superiore per gli eterozigoti CT e 6 volte superiore per gli omozigoti CC rispetto ai *wild-type* TT. In studi precedenti, le varianti del gene *SLCO1B1* sono state associate con la miopia da statine, la tossicità da irinotecan e la clearance del metotrexate (*Clin Pharmacol Ther* 2013,94:695–701; *N Engl J Med* 2008,359:789–99; *Chemother Pharmacol* 2009,63:1165–69; *Clin Pharmacol Ther* 2012,92:112–17; *Clin Pharmacol Ther* 2014,96:423–28; *Clin Pharmacol Ther* 2013,94:23–6; *Blood* 2013,121:898–904). La Food and Drug Administration (FDA) raccomanda che ai pazienti portatori dell'allele C venga prescritta una dose inferiore di simvastatina (40 mg/die) per l'aumento del rischio di miopia. Questo studio sul rischio di tosse da enalapril può contribuire ad implementare la pratica clinica con le analisi farmacogenetiche del gene *SLCO1B1*.

In conclusione, da questo studio emerge che varianti comuni del gene *SLCO1B1* possono rappresentare un nuovo *marker* farmacogenetico per il rischio di tosse indotta da enalapril in pazienti cinesi con ipertensione essenziale. Il meccanismo alla base di questa associazione potrebbe essere legato al controllo dei livelli plasmatici di enalapril da parte del trasportatore sintetizzato dal gene *SLCO1B1*.

Limiti dello studio sono rappresentati dalla necessità di essere ripetuto in altre popolazioni, tenendo in considerazione l'incidenza della tosse e delle varianti del gene in diverse etnie. Inoltre, questi risultati non possono essere estesi ad altri ACE-inibitori che non siano substrati dello stesso trasportatore. Infine, questi dati dovrebbero essere confermati dalla misurazione dei livelli plasmatici del farmaco nei portatori delle varianti.

**Parole chiave:** ipertensione, *SLCO1B1*, enalapril

#### Riferimenti bibliografici

[Luo JQ et al. Sci Rep 2015, 5:17253](#)

---

**La redazione augura a tutti Buone Feste**

---



**Sostieni la Società Italiana di Farmacologia**

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF.

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori.

Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.

[sif.informazione@sigr.it](mailto:sif.informazione@sigr.it); [sif.farmacologia@sigr.it](mailto:sif.farmacologia@sigr.it).

---

## **SIF – FARMACOGENETICA**

### **Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia**

*Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010 - ISSN 2282-4758*

[http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen.php](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php)

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (università di Bologna)

---

### **Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF**

<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: [webmaster@sifweb.org](mailto:webmaster@sifweb.org)

---

### **DISCLAIMER – Leggere attentamente**

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet [www.sifweb.org](http://www.sifweb.org) informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO

---

ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

---

### **RICEZIONE NEWSLETTER**

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.

---

---