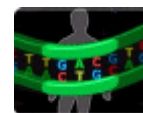




## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 82 – Marzo 2016

---

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 della sopravvivenza a lungo termine dopo chemioradioterapia neoadiuvante nei pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato
- Il profilo di espressione dei miR-125b e miR-130a predicono la chemioresistenza al regime chemioterapico R-CHOP nel linfoma diffuso a grandi cellule B
- Espressione di miR-21 e *outcome* clinico nel carcinoma del pancreas localmente avanzato: analisi esplorativa del trial PERU
- Effetto dei polimorfismi genetici delle glutatione-transferasi sulla farmacocinetica del busulfano e sull'esito del trapianto di cellule staminali ematopoietiche nei pazienti pediatrici talassemici
- Effetti della farmacocinetica e della farmacogenetica sull'efficacia e la sicurezza di gefitinib in pazienti con tumore non a piccole cellule avanzato positivo per la mutazione dell'*EGFR*

### ⇒ Immunomodulazione

- Il tasso di leucopenia indotto dal trattamento con ciclofosfamide nelle vasculiti ANCA-associate è influenzato dalle varianti genotipiche del CYP450 2C9

### ⇒ Neurologia

- Associazione tra i geni serotoninergici e la risposta al trattamento con escitalopram in pazienti con disturbo depressivo e sindrome coronarica acuta: lo studio ESDEPACS
- Il ruolo della Farmacogenetica nel migliorare la sicurezza della terapia psichiatrica tramite la predizione del potenziale rischio di mania nei pazienti metabolizzatori lenti del CYP2D6 con una diagnosi di Disturbo Bipolare

---

**ONCOLOGIA**

## ANALISI DEI FATTORI GENETICI PREDITTIVI DELLA SOPRAVVIVENZA A LUNGO TERMINE DOPO CHEMIORADIOTERAPIA NEOADIUVANTE NEI PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA ESOFAGEO LOCALMENTE AVANZATO

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

La chemioradioterapia neoadiuvante (CRT) seguita da resezione chirurgica, rispetto al solo trattamento chirurgico, è in grado di determinare un miglioramento significativo della sopravvivenza nei pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato. Dalla letteratura emergono robuste evidenze a supporto del ruolo di alcuni polimorfismi come potenziali fattori genetici predittivi della prognosi dei pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato in trattamento con CRT. Nello specifico, queste varianti risultano essere a carico di geni implicati nei i) meccanismi di riparazione del DNA (quali XPA, XPC, XPD, XRCC1, XRCC3, ERCC1), ii) pathways di detossificazione cellulare (MDR1, GSTP1) e iii) meccanismo d'azione e metabolismo del 5-fluorouracile (MTHFR e TYMS). Alla luce di tali evidenze in letteratura, l'obiettivo di questo studio di associazione è stato quello di valutare il ruolo di 12 varianti localizzate nei geni sopracitati come potenziali fattori predittivi della sopravvivenza dei pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato in terapia con CRT.

Questo studio prospettico è stato condotto su pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato (T2-T4, con o senza coinvolgimento dei linfonodi) in trattamento con CRT. Nello specifico, i pazienti hanno ricevuto settimanalmente docetaxel (35 mg/m<sup>2</sup>), cisplatino (25 mg/m<sup>2</sup>), infusione venosa protratta di fluorouracile (150 mg/m<sup>2</sup>) e concomitante radioterapia (50Gy). La resezione chirurgica è stata effettuata dopo 6-8 settimane dal termine del trattamento. La risposta patologica completa al trattamento (CR) è stata definita come l'assenza di tumore residuo. Al contrario, la quasi completa risposta patologica (nCR) è stata definita come la presenza di microfocolai o di cellule tumorali nel sito primario, senza coinvolgimento dei linfonodi. I pazienti con CR o nCR sono stati classificati come *responder* al trattamento mentre i rimanenti sono stati categorizzati come *non-responders*. La sopravvivenza cancro-specifica (CSS) è stata definita come il tempo tra la diagnosi e la morte per cancro, mentre la sopravvivenza libera da recidiva (RFS) è stata calcolata come l'intervallo di tempo tra l'inizio della terapia e la prima evidenza di recidiva della patologia. Il DNA dei pazienti è stato estratto da campioni di sangue intero periferico ed è stato genotipizzato tramite tecnica di PCR-RFLP per le seguenti varianti: XPA rs1800975, XPC rs2228000 e rs2228001, XPD rs13181, XRCC1 rs25487, XRCC3 rs861539, ERCC1 rs11615, MDR1 rs2032582, GSTP1 rs11338272, MTHFR rs1801133, TYMS rs45445694 e UMPS rs1801019.

L'analisi di associazione è stata effettuata su 124 pazienti (104 di sesso maschile, età media:60 anni) di cui 62 affetti da adenocarcinoma e 62 da carcinoma squamoso. Il 59,5% dei pazienti è risultato rispondere alla radiochemioterapia neoadiuvante [CR: 55 (45.1%); nCR: 18 (14.7%)]. Il 48,4% dei soggetti mostrava una RFS del 53,6% a 3 anni e del 48,7% a 5 anni. I deceduti per cancro sono stati 53 (42,7%) e la sopravvivenza cancro-specifica è risultata essere del 65,2% e del 53,6%, rispettivamente a 3 e a 5 anni. Dall'analisi univariata, i genotipi MTHFR 677TT, MDR1 2677GT, GSTP1 114CC, XPC 499CC e XPC939AC+CC sono emersi essere associati ad una minore RFS a 5 anni ( $P \leq 0,1$ ). Dall'analisi dei 5 SNPs in combinazione è emerso che i portatori di 0-2 (n=48), 3 (n=38) e 4-5 (n=36) genotipi a rischio, la RFS è risultata essere, rispettivamente del 67,1%, 55,8% e 20,9% ( $P=0,0002$ ). La sopravvivenza libera da tumore a 5 anni è risultata del 71,1%, 55,8% e 25,8%, rispettivamente per i portatori di 0-2, 3 e 4-5 genotipi a rischio ( $P=0,0003$ ). Quando al modello costituito dai 5 SNPs è stata aggiunta la variabile clinica "natura istologica del tumore" (adenocarcinoma/carcinoma squamoso), sono stati identificati due sottogruppi di pazienti, caratterizzati da una migliore o peggiore RFS a 5 anni (GRUPPO 1: 0-2/squamoso+0-2/adenocarcinoma+3/squamoso, RFS 60-75%; GRUPPO 2: 3/adenocarcinoma+4-5/squamoso+4-5/adenocarcinoma, RFS 22-36%;  $P < 0,001$ ). Analogamente, unendo al modello genetico la variabile "risposta patologica alla terapia", sono stati identificati due sottogruppi di pazienti con buona o scarsa RFS ( $\geq 70\%$  vs  $\leq 36\%$ ,  $P < 0,0001$ ). Nello specifico, tra i pazienti con nCR, che presentavano un rischio di ricaduta complessivo pari al 44,4%, i portatori di 0-2 genotipi a rischio sono risultati avere una migliore RFS (nCR/0-2 genotipi a rischio: 77,8%) rispetto ai portatori di 3-5 genotipi a rischio (nCR/3-5 genotipi a rischio: 33,3%). Inoltre, tra i *responders* completi (CR) che presentavano una RFS pari al 79,7%, i portatori di 0-2 genotipi a rischio avevano una migliore RFS rispetto ai soggetti con 3-5 genotipi a rischio (CR/0-2: 91,3% vs CR/3-5: 69,5%,  $P=0,058$ ). Infine, il sottogruppo formato da *non-responders* + soggetti con risposta non completa

(NCR), entrambi portatori di 3-5 genotipi a rischio, aveva una RFS significativamente inferiore rispetto al sottogruppo formato da pazienti con CR o NCR portatori di 0-2 genotipi a rischio (rispettivamente, 17,7% vs 79,5%,  $P < 0,0001$ ).

Le evidenze riportate in questo studio suggeriscono come il modello costituito dai 5 fattori genetici, ivi riportati, in combinazione con specifiche variabili cliniche, quali la natura istologica del tumore o la risposta alla terapia, possa rappresentare un potenziale strumento predittivo della prognosi di pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato in trattamento con chemioradioterapia neoadiuvante. Nello specifico, essendo la natura istologica del tumore nota fin dalla diagnosi della malattia, la valutazione della combinazione di tale variabile clinica in associazione ai sopracitati fattori genetici può rappresentare un modello predittivo della prognosi di tali pazienti, utile al clinico per l'identificazione *a priori* dei pazienti che possano beneficiare di una chemioradioterapia intensiva (quali ad esempio i portatori di 0-2 genotipi a rischio con adenocarcinoma o carcinoma squamoso oppure i portatori di 3 genotipi a rischio con carcinoma squamoso) o, al contrario, di individuare i soggetti per i quali si renderebbero necessari approcci terapeutici alternativi (portatori di 4-5 genotipi a rischio, o i *carriers* di 3 genotipi a rischio affetti da adenocarcinoma). Analogamente, il modello costituito dalla combinazione delle 5 varianti genetiche con la risposta alla chemioradioterapia può costituire uno strumento atto alla personalizzazione della terapia, sulla base del quale selezionare tra i *responders* i soggetti a rischio di recidiva (portatori di 3-5 genotipi a rischio) per sottoporli a trattamenti adiuvanti alternativi. Trattandosi di uno studio esploratorio, si rende tuttavia necessaria la conferma delle associazioni rilevate in un'ampia coorte indipendente di pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato ed in trattamento con chemioradioterapia neoadiuvante.

Il modello costituito dalla combinazione dei genotipi MTHFR 677TT, MDR1 2677GT, GSTP1 114CC, XPC 499CC, XPC939AC+CC con variabili cliniche, quali la natura istologica del tumore o la risposta alla terapia, è in grado di predire la sopravvivenza libera da recidiva nei pazienti affetti da carcinoma esofageo localmente avanzato ed in trattamento con chemioradioterapia neoadiuvante.

**Parole chiave:** chemioradioterapia neoadiuvante, carcinoma esofageo localmente avanzato, MTHFR, MDR1, GSTP1, XPC

#### Riferimento bibliografico

[Gusella M](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2016 Mar 1 [Epub ahead of print].

## IL PROFILO DI ESPRESSIONE DEI MIR-125B E MIR-130A PREDICONO LA CHEMIORESISTENZA AL REGIME CHEMIOTERAPICO R-CHOP NEL LINFOMA DIFFUSO A GRANDI CELLULE B

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL), è una neoplasia linfoide che colpisce soprattutto, ma non esclusivamente, soggetti adulti o anziani, caratterizzata tipicamente dal coinvolgimento di una singola sede linfonodale o extralinfonodale e da rapida espansione della massa tumorale. L'introduzione del regime chemioterapico R-CHOP ha permesso la remissione completa nel 75-80% dei pazienti; ciò nonostante, il 20% risulta resistente a questo trattamento immunoterapico, mostrando progressione della malattia e propensione ad essere scarsamente responsivi alle successive linee terapeutiche.

Per questo, l'identificazione di biomarcatori di resistenza permetterebbe una migliore predizione dell'efficacia chemioterapica e quindi l'identificazione precoce di una strategia terapeutica. Date le suddette premesse, questo studio si è focalizzato sull'analisi di una serie di miRNA circolanti, potenzialmente coinvolti nella farmacoresistenza a R-CHOP.

A tale scopo, sono stati arruolati 56 pazienti con DLBCL, in trattamento con R-CHOP per 6-8 cicli. Il regime R-CHOP consisteva di rituximab 375 mg/m<sup>2</sup> al giorno 0, ciclofosfamida 600 mg/m<sup>2</sup> + vincristina 1.4mg/m<sup>2</sup> + epirubicina 60 mg/m<sup>2</sup> al giorno 1 e prednisone 60 mg/m<sup>2</sup> dal giorno 1 al 5. Se i pazienti non mostravano risposta o progredivano entro i primi 3 mesi di trattamento, il trattamento chemioterapico era considerato fallito.

Il follow-up medio dei 56 pazienti è stato di 37 mesi; di questi, 29 (52%) hanno sperimentato progressione durante o dopo il trattamento, mentre 27 (48%) pazienti sono morti a causa della malattia. 21 soggetti sono risultati resistenti a R-CHOP di cui 7 primariamente e 14 secondariamente mentre 35 pazienti sono rimasti sensibili alla terapia dall'inizio alla fine. Nei 56 pazienti, sono stati analizzati i livelli di espressione di 8 miRNA (miR-125b, miR-155, miR-200c, miR-29c, miR-130a, miR-145, miR-451, miR-21) nel siero e nel tessuto neoplastico prima dell'inizio del regime terapeutico. Tutti, ad eccezione del miR-125b, sono risultati più espressi nel tessuto rispetto al siero. L'espressione dei miRNA nei pazienti affetti da DLBCL è stata successivamente comparata con quella di 20 controlli sani: da questa comparazione è emerso che i miR-155, miR-200c, miR-130a, miR-125b e miR-21 erano significativamente up-regolati nei casi, mentre i livelli di miR-29c, miR-451 e miR-145 erano down-regolati, rispetto ai controlli sani. Per valutare la correlazione dei livelli di miRNA con la chemioresistenza, sono stati arruolati 20 pazienti DLBCL, di cui 10 resistenti e 10 sensibili a R-CHOP. I miR-130a e miR-125b sono risultati significativamente più espressi nel gruppo di pazienti chemioresistenti ( $p=0.026$  e  $p=0.013$ , rispettivamente). Per verificare il potere discriminativo dei due miRNA identificati nello studio preliminare, i livelli di miR-125b e 130a sono stati analizzati nella corte di 56 pazienti, comprensiva dei 20 casi impiegati per lo studio esplorativo ( $n=21$  chemioresistenti e  $n=35$  chemiosensibili). In linea con i risultati precedenti, i livelli dei due miRNA sono risultati significativamente più elevati nel siero dei casi chemioresistenti; le curve ROC sono state quindi impiegate per verificare sensibilità e specificità dei livelli di miR-130a e miR-125b nella discriminazione tra i casi resistenti e sensibili. Per il miR-130a e 125b la sensibilità era rispettivamente 61.1 e 77.8% mentre la specificità di 75 e 62.5%. Infine i livelli dei due miRNA sono stati dinamicamente analizzati nel tempo per 6 casi. I dati hanno mostrato che le alterazioni di miR-130a e miR-125b anticipavano la diagnosi clinica di progressione o recidiva; pazienti che mantenevano una over-espressione dei due miRNA avevano inoltre un'aumentata probabilità di chemioresistenza, se comparati con i pazienti con nessuno o un solo miRNA up-regolato. Infine, mediante curve di Kaplan Maier, gli autori hanno osservato che i soggetti con elevata espressione di miR-125b, ma non di miR-130a, mostravano OS ridotte: il tasso di OS a 3 anni in pazienti con alti livelli di miR-125b era del 44% (95%CI 30.25-41.72) mentre del 65% in quelli con bassi livelli (95%CI 19.08-33.21) (log-rank test  $p=0.048$ ). Le multivariate di Cox (aggiustate per diversi parametri, tra cui età, sesso, livelli di miR-125b) hanno infine evidenziato che il livello up-regolato di miR-130a era un fattore indipendente di ridotto outcome.

In conclusione, questo studio ha dimostrato per la prima volta che l'espressione del miR-125b e miR-130a ha il potenziale di essere un biomarcatore per valutare il rischio di chemioresistenza nei pazienti affetti da linfoma diffuso a grandi cellule B. Inoltre, il monitoraggio dinamico dei livelli di questi due miRNA durante la terapia sembra riflettere la risposta terapeutica a R-CHOP.

Lo studio presenta il limite della numerosità dei pazienti arruolati, che va pertanto considerato di tipo esplorativo. Infatti 56 soggetti per un tumore così comune come linfoma diffuso a grandi cellule B non sono molti e ciò ha ripercussioni sul potere statistico. Va inoltre considerato che il monitoraggio dinamico dei miRNA è stato condotto solamente su 6 casi.

Sebbene siano necessari ulteriori ricerche per confermare il ruolo predittivo dei miRNA qui identificati, tuttavia questo studio pone le basi per l'identificazione di possibili nuovi biomarkers per l'outcome clinico nel trattamento del linfoma diffuso a grandi cellule B.

**Parole chiave:** DLBCL, regime R-CHOP, miR-125b e miR-130a sierici

#### Riferimento bibliografico

[Yuan WX](#) et al. *Oncology Lett* 2016, 11:423-32.

## ESPRESSIONE DI MIR-21 E OUTCOME CLINICO NEL CARCINOMA DEL PANCREAS LOCALMENTE AVANZATO: ANALISI ESPLORATIVA DEL TRIAL PERU

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Nonostante i recenti progressi nella diagnosi dei tumori solidi, l'adenocarcinoma del dotto pancreatico (PDAC) rimane, tuttavia, una patologia estremamente letale, e il management del carcinoma pancreatico localmente avanzato (LAPC) risulta incompleto sia dal punto di vista del trattamento che della ricerca di biomarker prognostici. Recenti studi suggeriscono che l'inibizione del recettore per il fattore di crescita dell'epidermide (EGFR) in sinergia con il protocollo di chemio-radioterapia (CRT), sia promettente dal punto di vista dell'efficacia. Per esempio, il cetuximab, un anticorpo anti-EGFR, è stato utilizzato in maniera sicura in associazione con chemio e radioterapia in pazienti affetti da LAPC. Si è inoltre visto che la sovraespressione di miR-21 sia associata con una diminuzione della sensibilità alla gemcitabina in vitro e con scarso outcome in studi clinici retrospettivi.

In questo studio randomizzato di fase 2 (PERU trial), gli autori hanno valutato il ruolo prognostico di miR-21 in pazienti affetti da LAPC che avevano raggiunto un controllo della malattia (DCR) in seguito al trattamento neo-adiuvante con gemcitabina e capecitabina in combinazione (gem-cap). La ricerca è stata svolta su 17 soggetti arruolati, tutti alla prima diagnosi, trattati in neo-adiuvante con gem-cap (NACT). 16 di questi hanno seguito almeno 3 cicli di NACT e, fra questi, i 13 che hanno raggiunto un tasso di controllo della malattia (DCR) sono stati randomizzati in due bracci di studio: braccio A con 7 pazienti trattati con RT e fluoropirimidina (FLUO) e braccio B con 6 pazienti trattati con RT + FLUO + cetuximab (CETUX).

Dopo follow-up, con una media di 61.2 mesi, sono state calcolate la sopravvivenza globale (OS: 15.8 vs 22.0 mesi) e la sopravvivenza priva di progressione (PFS: 10.4 vs 12.7 mesi) fra il gruppo A e il B. La sopravvivenza dopo il primo anno è stata del 100% nel gruppo A e del 66.7% in quello B, e l'OS registrata in tutti i pazienti è stata di 15.3 mesi, con una percentuale di pazienti vivi, dopo il primo anno, di 64.7%. L'approccio NACT, con la gemcitabina e la capecitabina, e l'associazione del CETUX con CRT o con CT, si è rivelato, in entrambi i casi, sicuro.

Dei 17 pazienti arruolati, il plasma era disponibile solo per 16 e, di questi, 4 non sono stati analizzati poiché il campione è andato incontro ad emolisi. L'espressione basale del miR-21 circolante è stata determinata, mediante TaqMan assay, nei campioni di plasma dei 12 pazienti che sono poi stati divisi in due gruppi (basso ed alto miR-21) in base ai valori della mediana. Tutti questi pazienti sono stati trattati con gem-cap. Dopo esclusione di quelli andati incontro a progressione durante la NACT, i restanti 8 sono stati suddivisi nei bracci A e B, composti ciascuno da 4 pazienti. Il tasso di controllo della malattia (DCR) in seguito a trattamento con NACT è stato del 100% nei pazienti con basso miR-21, contro il 40% di quelli con un alto miR-21 ( $p=0.06$ ). È inoltre interessante evidenziare che tutti i pazienti andati incontro a progressione in seguito al trattamento con NACT, avevano un alto valore di miR-21 circolante.

I risultati hanno inoltre evidenziato che i pazienti con bassa espressione di miR-21 avevano un miglior DCR (100% vs 50%) dopo 6 settimane di trattamento ed una migliore PFS (9.5 mesi contro i 4.2) rispetto ai pazienti con alto miR-21. Inoltre, l'espressione tumorale di miR-21 è risultata negativa per pazienti con bassa concentrazione di miR-21 circolante, mentre era da moderata a consistente per coloro che presentavano un alto valore di miR-21 circolante.

Nonostante il numero esiguo di pazienti arruolati per questo studio randomizzato, interrotto precocemente a causa del fallimento nella dimostrazione di una prolungata sopravvivenza dopo aggiunta di cetuximab al trattamento chemio-radioterapico, i risultati suggeriscono un ruolo prognostico di miR-21 circolante nei pazienti LAPC. Anche se i numeri sono troppo esigui per delineare delle conclusioni, questo studio supporta il razionale per la conduzione di studi più ampi sul ruolo di miR-21 quale possibile biomarcatore nel PDAC.

In conclusione, i risultati di questo studio suggeriscono che un'alterata espressione di miR-21 nel plasma possa rappresentare un marcatore prognostico nei pazienti LAPC trattati con NACT seguita da trattamento radio-chemioterapico.

Parole chiave: cancro pancreatico, miR-21, chemio-radioterapia, gem-cap

Riferimento bibliografico

[Khan K](#) et al. *Oncotarget* 2016 Feb 5 [Epub ahead of print].

## **EFFETTO DEI POLIMORFISMI GENETICI DELLE GLUTATIONE-TRANSFERASI SULLA FARMACOCINETICA DEL BUSULFANO E SULL'ESITO DEL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE NEI PAZIENTI PEDIATRICI TALASSEMICI**

A cura della Dott.ssa Raffaella Franca

La talassemia è una malattia ereditaria eterogenea caratterizzata da anemia cronica di gravità variabile conseguente a un difetto quantitativo nella produzione di emoglobina (Hb), la proteina utile al trasporto dell'ossigeno e dell'anidride carbonica nel sangue. La malattia è diffusa soprattutto nelle aree dei paesi del Mediterraneo, del Medio Oriente e dell'Asia meridionale, con un'incidenza di 40000 neonati affetti l'anno. La talassemia si distingue in due gruppi principali, la  $\alpha$ - e la  $\beta$ -talassemia, e si suddivide in diverse forme a seconda del quadro clinico: la talassemia maggiore si presenta con Hb  $<7$ g/dL ed una marcata splenomegalia, l'intermedia ha valori di Hb pari a 7-10 g/dL e splenomegalia; la minore ha Hb  $>10$  g/dl e splenomegalia lieve. Per le forme più gravi di talassemia, il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (dall'inglese *hematopoietic stem-cell transplantation*, HSCT) è ad oggi l'unica opzione terapeutica, con il busulfano (Bu) impiegato come farmaco chiave nel regime mieloablativo di preparazione al trapianto. Recentemente, sono stati introdotti nel regime di condizionamento anche altri agenti alchilanti come il Treosulfano, un analogo strutturale del Bu, con buoni risultati. Differenze interindividuali nella farmacocinetica del Bu possono influenzare l'efficacia terapeutica del farmaco, anche quando il Bu viene somministrato per via endovenosa. L'esposizione del paziente ad alte concentrazioni del farmaco ( $AUC > 1500 \mu\text{mol}/\text{min}$  o concentrazione allo stato stazionario ( $C_{ss}$ )  $> 900 \text{ ng}/\text{ml}$ ) è stata associata ad una maggiore tossicità e ad episodi acuti di malattia del trapianto contro l'ospite (dall'inglese *Graft versus Host Disease*, GVHD), mentre basse esposizioni al farmaco ( $AUC < 900 \mu\text{mol}/\text{min}$  o  $C_{ss} < 600 \text{ ng}/\text{ml}$ ) sono state associate a rigetto e ricaduta della malattia. Il Bu viene metabolizzato principalmente nel fegato dalle glutatione transferasi (GST): la GSTA1 è la principale isoforma coinvolta nella reazione di coniugazione con il glutatione, mentre le GSTM1-1 e GSTP1-1 contribuiscono rispettivamente per il 46% ed il 18% dell'attività di GSTA1. Varianti polimorfiche nei geni *GST*, in particolare in *GSTA1* ed in *GSTM1*, possono influenzare la farmacocinetica di Bu e l'esito del trapianto sia nei bambini con neoplasie che in pazienti non oncologici, come già riportato in letteratura dagli stessi autori di questo articolo. Ad oggi, per predire l'esito del trapianto nei pazienti talassemici di età inferiore a 17 anni si impiega il sistema di classificazione del rischio di Pesaro (dall'inglese *Pesaro risk classification*, PRC) che si basa sulla risposta del paziente alla terapia chelante il ferro in eccesso dovuto alle trasfusioni, sull'epatomegalia o sulla presenza di fibrosi in biopsie epatiche. Il PRC non è però uno strumento prognostico in grado di predire gli eventi avversi indotti dal regime di condizionamento (dall'inglese *regimen-related toxicities*, RRTs), quali la GvHD acuta (che può interessare fino al 20% dei pazienti trapiantati), la malattia veno-occlusiva epatica (o sindrome da ostruzione sinusoidale), la cistite emorragica e la tossicità polmonare. E' dunque necessario identificare dei nuovi marcatori predittivi della risposta del paziente al trattamento.

In questo lavoro, Ansari e collaboratori hanno studiato retrospettivamente 44 bambini (età mediana: 8 anni, maschi: 47%), affetti da talassemia maggiore dipendente dalle trasfusioni (35, 79,5%) o intermedia (9, 20,5%) e sottoposti a HSCT presso l'Unità di Immunoematologia e di Trapianto di Midollo Osseo Pediatrico dell'Ospedale San Raffaele di Milano tra dicembre 2005 e dicembre 2010. Un unico paziente rientrava nella classe di rischio I della scala PCR, 23 (53,2%) erano in classe II e 20 (45,5%) in classe III. In questa coorte, la sopravvivenza libera da eventi (intesa come il tempo trascorso dal giorno del trapianto al giorno della morte o del rigetto) è risultata essere più breve nei pazienti di classe di rischio III ( $p=0,009$ ), soprattutto per la comparsa del rigetto del trapianto.

Tutti i pazienti avevano ricevuto un regime mieloablativo con Bu combinato con altri farmaci a seconda della diversa fascia di rischio PRC. Il Bu è stato sempre somministrato endovena, ogni 6 ore dal 9° al 6° giorno prima del trapianto, per un totale di 16 infusioni della durata di due ore ciascuna. La dose iniziale di Bu veniva stabilita sul peso del paziente ( $<9$ kg: 1mg/kg;  $9 \leq \text{kg} < 16$ : 1,2 mg/kg;  $16 \leq \text{kg} < 23$ : 1,1 mg/kg;  $23 \leq \text{kg} \leq 34$ : 0,95 mg/kg;  $\text{kg} > 34$ : 0,8 mg/kg), mentre successivamente veniva aggiustata sulla base della farmacocinetica. I parametri farmacocinetici del Bu (massima concentrazione plasmatica ( $C_{\text{max}}$ ), area totale sotto la curva AUC), concentrazione allo steady state ( $C_{\text{SS}}$ ) e clearance (CL)) sono stati estrapolati usando un metodo non compartimentale dalle concentrazioni plasmatiche misurate a 0, 2, 3, 4, 6 ore alla prima infusione. Il dosaggio del BU veniva aggiustato a partire dalla 5.a dose impiegando la formula: dose

aggiustata = dose attuale x AUC target/ AUC misurata (AUC target = 1250  $\mu\text{mol}/\text{min}$ ); valori di AUC tra 900 e 1500  $\mu\text{mol}/\text{min}$  erano considerati nel range terapeutico. In questa coorte, l'aggiustamento della dose (misurato come rapporto dose aggiustata/ dose non aggiustata) correlava con alcune delle variabili di esito clinico (recupero dei neutrofili a tre giorni dal trapianto, recupero delle piastrine a 10 giorni, comparsa di RRTs entro 180 giorni): infatti, la GvHD si sviluppava più frequentemente nei pazienti in cui la dose era stata aumentata ( $p=0,02$  considerando le GvHD acute di tutti i gradi (I–IV) e  $p=0,001$  considerando solo le GvHD acute più gravi (grado II–IV)), mentre il rigetto era più frequente nei pazienti in cui la dose era stata diminuita ( $p=0,04$ ). In accordo con questa osservazione, la GvHD è stata osservata più spesso nei pazienti con una  $C_{ss}$  minore del limite terapeutico di 600 ng/ml ( $p=0,01$ ) mentre il rigetto è stato più frequente in coloro che presentavano una  $C_{ss}$  superiore al limite terapeutico di 900 ng/ml ( $p=0,05$ ).

Tutti i pazienti sono stati genotipizzati per i polimorfismi a singolo nucleotide di *GSTAI* (C-69T, A-513G, G-631T e C-1142G) e per la delezione di *GSTM1*, analizzati poi per l'associazione con i parametri farmacocinetici del Bu e con la risposta clinica al trapianto. L'analisi è stata eseguita considerando i polimorfismi sia individualmente che in aplotipi, trovando risultati significativi per *GSTAI* C-69T e C-1142G: l'allele T di C-69T definisce comunemente l'aplotipo \*B di *GSTAI*, mentre l'allele G di C-1142G identifica il sottoaplotipo \*B1. I risultati riportati si riferiscono pertanto sempre al polimorfismo C-69T. Rispetto ai soggetti -69CC (aplotipo \*A/\*A), i soggetti portatori del genotipo -69TT (aplotipo \*B/\*B) presentavano valori di  $C_{ss}$  e AUC significativamente più elevati ( $p=0,03$  e  $p=0,02$ ). L'aggiustamento della dose del Bu correlava in modo lineare con il genotipo di *GSTAI* C-69T: la dose veniva ridotta maggiormente nei pazienti -69TT rispetto agli eterozigoti rispetto ai soggetti -69CC ( $p=0,008$ ). Correlazioni lineari sono state riscontrate anche tra l'aumento dei livelli plasmatici di Bu e il numero di alleli T del polimorfismo C-69T nei pazienti con classe di rischio PCR I-II ( $C_{max}$ ,  $p=0,01$ ;  $C_{ss}$ ,  $p=0,002$ ; AUC,  $p=0,001$ ; con conseguente riduzione della CL che quindi è più bassa nei portatori del genotipo -69TT,  $p=0,01$ ) e nelle bambine ( $C_{max}$ ,  $p=0,001$ ;  $C_{ss}$ ,  $p=0,0005$ ; AUC,  $p=0,0005$ ; CL,  $p=0,006$ ). Non sono state trovate associazioni significative tra i polimorfismi di *GSTAI* e l'esito clinico del trapianto. Al contrario, per quanto riguarda *GSTM1*, sono state trovate associazioni significative con la risposta clinica e non con la farmacocinetica del Bu: i bambini deleti per *GSTM1* presentavano una maggiore incidenza di RRTs rispetto ai bambini non portatori del gene (hazard ratio (HR)= 4,28, 95% intervallo di confidenza (95%CI)= 1,23–14,9,  $p=0,01$ ) soprattutto a causa di un aumento degli episodi acuti di GvHD (HR= 5,65, 95%CI= 1,23–25,1;  $p=0,01$ ).

In conclusione, i risultati di questo articolo dimostrano che il sistema di classificazione PRC è ancora il miglior strumento predittivo per quanto riguarda il rigetto del trapianto nei pazienti talassemici, mentre non è in grado di predire le RRTs indotte dal Bu. I risultati farmacogenetici non hanno ben chiarito il ruolo dei polimorfismi di *GSTAI* e *GSTM1* nell'ottimizzazione del trattamento con Bu.

L'aggiustamento della dose del Bu sulla base della farmacocinetica così come proposto da questo studio si è rivelato controproducente per alcuni pazienti, comportando sia un aumento del rischio di GvHD per sovradosaggio che un aumento del rischio di rigetto per sottodosaggio, ponendo quindi la questione sulle strategie ottimali da usarsi per aggiustare la dose. Gli autori suppongono che gli effetti genetici possano venir mascherati da altri fattori forse a causa dell'eterogeneità della popolazione studiata in termini di gravità della malattia e assunzione di farmaci concomitanti. Come sottolineato dagli autori, sarebbero necessari studi su popolazioni di pazienti talassemici più omogenee.

**Parole chiave:** glutatione transferasi; busulfano; trapianto cellule ematopoietiche; talassemia; pazienti pediatrici

#### Riferimento bibliografico

[Ansari M](#) et al. *Bone Marrow Transplant* 2016, 51(3):377-83

**EFFETTI DELLA FARMACOCINETICA E DELLA FARMACOGENETICA SULL'EFFICACIA E LA SICUREZZA DI GEFITINIB IN PAZIENTI CON TUMORE NON A PICCOLE CELLULE AVANZATO POSITIVO PER LA MUTAZIONE DELL'*EGFR***

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il trattamento con inibitori tirosin-chinasici del recettore del fattore di crescita dell'epidermide (EGFR-TKI) viene considerato la prima linea standard in alcuni pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC). Il gefitinib è un EGFR-TKI metabolizzato a livello epatico in particolare dai citocromi CYP3A4/3A5 e dai CYP2D6 e 1A1, e trasportato da pompe di efflusso attivo (ABCB1 e ABCG2). Dopo assorbimento orale il farmaco presenta un'ampia variabilità inter-individuale nella farmacocinetica, attribuibile a polimorfismi nei geni dei CYP e ABC. La somministrazione del gefitinib causa diverse reazioni avverse, la più grave rappresentata dalla malattia interstiziale polmonare (*interstitial lung disease*, ILD). Tra le più comuni reazioni avverse si registrano la tossicità cutanea e gastro-intestinale, correlate in alcuni studi con le concentrazioni plasmatiche del farmaco (Li J, Karlsson MO et al. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98:1714–23; Kobayashi H et al. *Clin Lung Cancer* 2015, 16: 274–81). I polimorfismi del gene *ABCG2* sono stati associati con l'insorgenza di diarrea da gefitinib (Cusatis G. et al. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98: 1739–42), anche se altri studi hanno smentito questa associazione (Kobayash H et al. *Clin Lung Cancer* 2015, 16: 274–81, Akasaka K et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010, 66: 691–98). Inoltre, i livelli del farmaco al giorno 3 e 8 di somministrazione sono stati associati in uno studio (Nakamura Y et al. *J Thorac Oncol* 2010, 5: 1404–09) con la *progression-free survival* (PFS), pur essendo i risultati non conclusivi per la presenza sia di pazienti con mutazioni dell'*EGFR* sia di pazienti senza la mutazione. Ad oggi non è stata stabilita la relazione tra farmacocinetica e farmacogenomica ed efficacia e sicurezza del gefitinib in pazienti con NSCLC.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare le relazioni tra farmacocinetica, farmacogenetica, efficacia ed effetti avversi del gefitinib in pazienti affetti da NSCLC *EGFR*-mutato.

Criteri di inclusione erano i seguenti: diagnosi istologica o citologica di NSCLC *EGFR*-mutato, non reseccabile e non eleggibile per radioterapia toracica, stadio IIB o IV, età  $\geq 20$  anni, nessuna precedente terapia a base di EGFR-TKI, *performance status* 0-3, lesione misurabile, adeguata funzione midollare, renale ed epatica. Sono stati esclusi i pazienti con ILD, infezioni attive, malattia cardiaca grave, diabete mellito scompensato, altre neoplasie, in trattamento con farmaci che influenzino il CYP3A4, inibitori di pompa ed H<sub>2</sub>-antiagonisti. Il gefitinib è stato somministrato per os al dosaggio di 250 mg/die fino a progressione o eventi avversi gravi. La valutazione farmacocinetica è stata effettuata su prelievi di sangue periferico ottenuti un giorno prima e 1, 3, 5, 8 e 24 ore dopo la prima somministrazione di 250 mg di gefitinib e prima della somministrazione del giorno 8 e 15. Per l'analisi farmacogenetica sono stati presi in considerazione i polimorfismi 1236C>T, 2677G>T o A, 3435C>T dell'*ABCB1*, 421C>A dell'*ABCG2*, 20230G>A, 15603C>G, 20070T>C, 20148A>G del *CYP3A4*, 6986A>G del *CYP3A5* e \*1/\*1, \*10, o \*36 del *CYP2D6*. I pazienti sono stati valutati al basale con esame fisico, esami del sangue, radiografia del torace, TC torace-addome, RMN o TC encefalo e scintigrafia ossea o PET. La risposta è stata valutata secondo i criteri RECIST 1.1, mentre la tossicità è stata valutata con i criteri NCI-CTCAE 4.0.

Tra l'ottobre 2009 ed il dicembre 2012 sono stati arruolati 35 pazienti con NSCLC *EGFR*-mutato (18 con delezione dell'esone 19, 16 con mutazione L858R dell'esone 21 e 1 con mutazione G719A dell'esone 18) di stadio IV (14 uomini e 21 donne, età media 72 anni). La farmacocinetica è stata valutata in tutti i pazienti, mentre le analisi farmacogenetiche sono state condotte in 33 pazienti. La C<sub>max</sub> è stata raggiunta dopo 5 ore dalla somministrazione, con un valore medio di 377 ng/mL. L'AUC del giorno 1 era di 4893 ng/mL/h, ed al giorno 8 e 15 era rispettivamente di 431 e 390 ng/mL/h. Non è stata riscontrata un'associazione statisticamente significativa tra l'AUC e la C<sub>max</sub> ed i genotipi *ABCG2*, *ABCB1*, *CYP3A4*, *CYP3A5* e *CYP2D6*. L'evento avverso più comune è stata la tossicità cutanea (69%), seguito dal danno epatico (63%) e dalla diarrea (46%). Una paziente deceduta per ILD correlata al farmaco aveva 78 anni e non presentava ILD prima della somministrazione di gefitinib. Una TC torace 1 mese dopo l'inizio della terapia mostrava diffuse opacità a vetro smerigliato in entrambi i polmoni. Il farmaco è stato interrotto ed è stata iniziata una terapia con corticosteroidi (1000 mg/die di metil-prednisolone per 3 giorni) ed ossigeno-terapia, ma senza miglioramento fino al decesso 21 giorni dopo l'insorgenza della ILD. I parametri di farmacocinetica non sono stati associati in maniera significativa con la tossicità cutanea, la diarrea o il danno epatico. Tuttavia, la paziente deceduta per ILD presentava i livelli plasmatici più elevati. È stata riscontrata una risposta completa, 28 risposte parziali, 2 malattie stabili e 2 malattie in progressione. Due pazienti non sono risultati valutabili. Il tasso di risposta globale è stato dell'82,9% (29 su 35 pazienti) ed il tasso di controllo di malattia



dell'88,6% (31 su 35) pazienti. La PFS media era di 10 mesi ed il tempo di sopravvivenza medio di 25 mesi. I parametri di farmacocinetica non hanno mostrato un'associazione con la risposta al trattamento.

Lo studio è il primo a valutare l'associazione tra farmacocinetica e farmacogenetica ed efficacia e sicurezza del gefitinib in pazienti con NSCLC avanzato *EGFR*-positivo, senza evidenziare alcuna associazione. Alcuni studi precedenti avevano mostrato un'associazione tra farmacocinetica e farmacogenetica e tossicità da erlotinib, pur con risultati controversi (Fukudo M et al. *Clin Pharmacokinet* 2013, 52: 593–609; Lu JF et al. *Clin. Pharmacol Ther* 2006, 80: 136–45). In particolare il polimorfismo *ABCG2* ha mostrato un'influenza sulla *clearance* dell'erlotinib ed un altro studio ha trovato un'associazione tra le concentrazioni di erlotinib e la tossicità (Hamada A et al. *Pharmacogenomics* 2012, 13: 615–24), compresa laILD farmaco-correlata (Lu JF et al. *Clin Pharmacol Ther* 2006, 80: 136–45; ter Heine R. et al. *Lung Cancer* 2012, 75: 391–7). Non sono disponibili studi che correlino laILD alle concentrazioni plasmatiche di gefitinib. Il caso riscontrato in questo studio suggerisce che un'elevata esposizione al gefitinib potrebbe essere associata con l'ILD. Sono necessari ulteriori studi per confermare questa associazione.

In conclusione, in questo studio non è stata individuata un'associazione significativa tra farmacocinetica e farmacogenetica ed efficacia e sicurezza del gefitinib in pazienti con NSCLC avanzato *EGFR*-mutato. Tuttavia, la paziente deceduta perILD farmaco-correlata presentava i livelli più elevati di gefitinib, supportando l'ipotesi che il grado di esposizione sistemica possa essere correlato con questa reazione avversa. Sono necessari ulteriori studi per chiarire questa associazione.

Uno dei limiti dello studio è rappresentato dal ridotto numero di pazienti che non ha consentito di ottenere dei dati precisi di associazione. Inoltre l'ILD è stata riscontrata solo in un paziente.

**Parole chiave:** NSCLC, *ABCG2*, *ABCB1*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP2D6*, gefitinib

#### Riferimento bibliografico

[Hirose T](#) et al. *Lung Cancer* 2016, 93:69-76.

## IMMUNOMODULAZIONE

### IL TASSO DI LEUCOPENIA INDOTTO DAL TRATTAMENTO CON CICLOFOSFAMIDE NELLE VASCULITI ANCA-ASSOCIATE È INFLUENZATO DALLE VARIANTI GENOTIPICHE DEL CYP450 2C9

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

Le vasculiti associate (AVV) agli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA) sono malattie infiammatorie idiopatiche che interessano i vasi di piccolo e medio calibro e che causano danni d'organo potenzialmente pericolosi per la vita, come la glomerulonefrite rapidamente progressiva e la capillarite polmonare. Quest'ultime sono state classificate in granulomatosi con poliangioite (AAP, precedentemente nota come granulomatosi di Wegener) e poliangioite microscopica (MPA) e granulomatosi eosinofila con poliangite (EGPA, precedentemente nota come sindrome Churg-Strauss). La terapia combinata con ciclofosfamide (CP) e glucocorticoidi è ancora l'approccio standard per i pazienti con una generalizzata o grave AAV. Nonostante l'efficacia di questo trattamento, va preso in considerazione l'alto tasso di eventi avversi ed è necessario il monitoraggio del paziente. Tra questi eventi avversi i più rilevanti sono la mielotossicità, con leucopenia e il conseguente aumento del rischio d'infezione, oltre che l'urotossicità (cistite emorragica) e le possibili complicanze successive, quali l'induzione di tumori. Per queste ragioni, i trials più recenti sono stati mirati a trovare trattamenti alternativi. In seguito a questi studi è aumentato l'utilizzo del rituximab (RTX). I due studi clinici controllati randomizzati, al momento disponibili, di RTX sull'induzione della remissione non sono riusciti a dimostrare chiaramente né la superiorità di CP o di RTX,

né per quanto riguarda il tasso di remissione o sicurezza. Pertanto, CP o RTX sono usati come opzioni alternative per l'induzione della remissione in AAV. CP è un profarmaco che viene attivato nel suo metabolita intermedio, 4-idrossiciclofosfamide (4-OH-CP), da vari enzimi del CYP450, in particolare dal CYP2C9 e CYP2C19 così come dal CYP2B6 e CYP3A4. L'attività di 4-idrossilazione è dovuta principalmente al CYP2B6 rispetto al CYP2C9, ma gli enzimi CYP2C sono stati indicati come le forme principali (20%) del CYP450, mentre 2B6 è una forma minore (<1%). Recenti dati provenienti da studi oncologici hanno dimostrato una possibile influenza sugli effetti CP-mediati delle diverse varianti del CYP450. L'interpretazione di questi studi, tuttavia, è spesso limitata a causa dei protocolli polichemioterapici di solito applicati. In questo studio, pertanto, è stato ipotizzato che nei pazienti trattati con CP, come unico farmaco citostatico, le influenze sui risultati dipendenti dal genotipo potrebbero essere rilevabili e quindi condurre ad una valutazione più prevedibile del rischio/beneficio.

**Pazienti e metodi.** Sono stati raccolti tutti i dati clinici e i campioni di DNA dei pazienti con confermata AAV e con induzione della remissione con CP completata e completamente documentata. I pazienti sono stati classificati secondo l'algoritmo EMA. I pazienti con GPA e EGPA sono stati inclusi; mentre i pazienti con poliangiite microscopica non sono stati inclusi perché il DNA non era disponibile in numero sufficiente. Sono stati analizzati anche i pazienti con induzione della remissione da CP per AAV appena diagnosticata così come per le recidive. La terapia con CP era utilizzata di routine ad una dose iniziale di 2 mg/kg per peso corporeo (BW) o come terapia endovenosa con impulsi di 15 mg/kg per peso corporeo (massimo 1200 mg). La terapia orale è stata somministrata per 3 mesi e sono stati applicati sei impulsi di CP per via endovenosa. I pazienti hanno ricevuto alte dosi di farmaci glucocorticoidi (partendo da 1 mg/kg di prednisolone equivalente e successivo scalo). È stata impiegata la protezione uroteliale con Mesna e la profilassi per la polmonite da *pneumocysti jirovecii* con trimetoprim/sulfametossazolo (960 mg tre volte la settimana). Le caratteristiche cliniche, le modalità di trattamento e gli eventi avversi sono stati recuperati dai file dei dati clinici. La leucopenia è stata definita come una conta dei leucociti inferiore a 4,0/nl in qualsiasi momento durante il trattamento. Sono state registrate solo le infezioni che portavano al ricovero in ospedale, cioè solo quelle gravi. Il corso della malattia è stato definito come refrattario, se la definizione di refrattario derivata dalle raccomandazioni per gli studi clinici nelle vasculiti sistemiche dell'organizzazione *European League Against Rheumatism* (EULAR) e della società europea per lo studio delle vasculiti (EUVAS) era verificata e se il medico curante aveva deciso di intensificare il trattamento (in genere, da impulsi periodici per via endovenosa si passava ad un trattamento orale continuo con CP o a RTX). Gli SNP CYP2C9\*2 (430 C>T; rs1799583), CYP2C9\*3 (1075A>C; rs1057910) e CYP2C19\*2 (681G>A; rs4244285) sono stati analizzati mediante PCR-RFLP o pyrosequencing. Tutti i genotipi che comprendevano almeno una variante dell'allele CYP2C9 o del CYP2C19 sono stati considerati come genotipo "mutato". Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software SPSS (versione 22, IBM, NY, USA). È stato poi analizzato l'impatto del genotipo sugli eventi avversi, come la leucopenia, le infezioni, le cistiti emorragiche e il corso della malattia refrattaria. **Approvazione etica e consenso del paziente.** Questo studio è stato condotto dopo aver ricevuto l'approvazione del Comitato Etico dell'Università di Lübeck, in Germania, ed è stato ottenuto il consenso informato scritto del paziente.

**Risultati.** Sono stati identificati 196 pazienti, soprattutto con GPA (30 EGPA). Una percentuale significativamente più grande di pazienti con la variante del gene CYP2C9 ha sviluppato leucopenia rispetto al gruppo wild-type (55,4 vs 37,4%; OR: 2,08, IC 95%: 1,14-3,80; p=0,017). Non c'era alcuna correlazione significativa tra i genotipi del CYP2C9 e uno qualsiasi degli altri eventi avversi documentati (infezioni, cistiti emorragiche, malattia refrattaria) e nessuna correlazione significativa tra il CYP2C19, o le combinazioni delle due varianti alleliche (CYP2C9 e CYP2C19), con qualsiasi degli *outcome* documentati. È stata poi condotta un'analisi dei sottogruppi di pazienti trattati per via orale e per via endovenosa pulsata con gli *outcome* più frequentemente osservati (leucopenia e malattia refrattaria). Dopo questa stratificazione per il trattamento, è stato osservato un rischio più elevato di leucopenia nei pazienti portatori della variante CYP2C9 trattati per via orale (69,6 vs 45,6%; OR:2,73; 95% CI:1.27-5.89; p=0,009). Quest'associazione non è stata osservata nei pazienti trattati per via endovenosa. Mentre non vi era alcuna associazione significativa tra la variante del genotipo CYP2C9 e la malattia refrattaria in tutta la coorte, è stata osservata una tendenza ad un tasso di risposta clinica più alto associato alla variante del CYP2C9 nel sottogruppo trattato per via orale (19,6 vs 35,4%; OR:0,44; 95% CI:0,19-1,05; p=0,061). Non è stata invece vista alcuna relazione significativa tra il genotipo del CYP2C19 o la combinazione delle varianti dei due genotipi nel

sottogruppo in analisi. Per confermare questi risultati in un gruppo più omogeneo di pazienti, gli autori hanno ripetuto l'analisi solo nei pazienti con GPA (n=166), escludendo i pazienti EGPA (n=30). I risultati sono gli stessi ottenuti dall'analisi fatta su tutta la coorte di 196 pazienti. La presenza della variante del CYP2C9 è stata associata a leucopenia (OR:2,05; 95% CI:1,06-3,95; p=0,031). Non è stata osservata alcuna correlazione statisticamente significativa con il genotipo del CYP2C9 e la malattia refrattaria in tutti i pazienti GPA (OR:0,68; 95% CI:0,34-1,35; p=0,272) o nel sottogruppo trattato per via orale (OR:0,46; 95% CI:0,18- 1,15; p=0,094). Come visto nei risultati su tutta la coorte, anche nei pazienti GPA non è stata osservata alcuna correlazione significativa tra le varianti del CYP2C9, CYP2C19 o la combinazione delle varianti dei genotipi e qualsiasi altro *outcome* documentato. A causa dell'esiguo numero di pazienti EGPA (n=30), gli autori hanno deciso di non effettuare un'analisi escludendo i GPA.

Nei portatori della variante del CYP2C9, la terapia orale con CP ha mostrato un alto tasso di remissione/risposta >80%. Gli autori si aspettavano dei risultati opposti, in quanto le proteine codificate dalla variante CYP2C9\*2 e \*3 possiedono una ridotta attività 4-idrossilasi rispetto alla proteina wild-type, che porta quindi ad un'attivazione lenta del profarmaco CP ai suoi intermedi reattivi. Una possibile spiegazione di questo risultato potrebbe essere che l'attivazione decelerata della CP possa provocare un'esposizione più estesa ad alti livelli di CP con un conseguente aumento dell'intensità della terapia nei pazienti trattati per via orale. A causa dell'approccio retrospettivo di questo studio, non erano disponibili i dati di farmacocinetica per supportare quest'ipotesi.

I pazienti portatori della variante del gene CYP2C9 presentano un rischio maggiore di leucopenia indotta da ciclofosfamide, ma possono avere una migliore possibilità di risposta al trattamento.

**Parole chiave:** vasculite ANCA-associata, ciclofosfamide, CYP450, metabolismo dei farmaci

#### Riferimento bibliografico

[Schirmer JH](#) et al. *Pharmacogenomics* 2016, 17(4):367-74.

## NEUROLOGIA

### ASSOCIAZIONE TRA I GENI SEROTONINERGICI E LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON ESCITALOPRAM IN PAZIENTI CON DISTURBO DEPRESSIVO E SINDROME CORONARICA ACUTA: LO STUDIO EsDEPACS

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

La depressione è un disturbo frequente nei pazienti con sindrome coronarica acuta (*acute coronary syndrome*, ACS) ed è associata con un aumento della morbilità e mortalità. La revisione di trial randomizzati controllati mostra un lieve effetto positivo degli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (*selective serotonin reuptake inhibitors*, SSRIs) rispetto al placebo, in questi pazienti. Diverse evidenze suggeriscono che fattori genetici contribuiscano in maniera sostanziale alla variabilità interindividuale della risposta agli antidepressivi. Il *signaling* della serotonina a livello delle sinapsi neuronali è controllato da diversi *pathways*, compresi quelli che coinvolgono i trasportatori della serotonina ed i recettori della serotonina. Una meta-analisi indica che i genotipi *serotonin transporter gene-linked promoter region* (5-HTTLPR), *STin2 VNTR* e polimorfismi del gene del recettore per la serotonina 2a (5-HTR2a) possono modulare la risposta agli SSRIs. Il presente studio ha lo scopo di investigare se i genotipi di 5-HTT and 5-HTR2a siano associati alla risposta al trattamento nei pazienti con depressione e ACS.

Lo studio è stato condotto per 24 settimane all'interno di un trial in doppio-cieco, *placebo-controlled* sull'escitalopram, come parte di uno studio relativo a tale farmaco come antidepressivo nell'ACS (*Escitalopram for DEPRESSION in ACS*, EsDEPACS). Il presente studio ha reclutato 300 pazienti che avevano di recente sviluppato una ACS ed avevano ricevuto una diagnosi di disturbo depressivo (maggiore o minore)

in accordo ai criteri del DSM-IV e con l'ausilio della *Mini-International Neuropsychiatric Interview*. I pazienti sono stati assegnati in maniera casuale al gruppo trattato con escitalopram (n=149) o al gruppo placebo (n=151). I farmaci sono stati forniti ai pazienti da farmacisti in cieco rispetto alle condizioni dei pazienti. La misura primaria di efficacia del farmaco è stata la *Hamilton Depression Rating Scale* (HAMD); lo studio EsDEPACS ha determinato che l'escitalopram è superiore al placebo in termini di efficacia terapeutica. Dei 300 partecipanti allo studio EsDEPACS, 255 hanno acconsentito a sottoporsi all'analisi farmacogenetica. I pazienti sono stati genotipizzati (mediante PCR) per i polimorfismi 5-HTTLPR, 5-HTR2a 102T/C, 5-HTR2a 1438A/G e STin2 VNTR. La remissione della depressione è stata definita in presenza di un punteggio della HAMD  $\leq 7$ . Ulteriori analisi sono state condotte prendendo in considerazione la gravità dell'ACS (punteggio di Killip  $\leq 1$  o  $>1$ ), in quanto è noto che i geni serotoninergici predicono la prognosi cardiaca dei pazienti.

Dei 255 partecipanti (127 assegnati *random* al gruppo trattato con escitalopram, 128 al gruppo trattato con placebo), 49 (19%) hanno abbandonato lo studio dopo la valutazione al *baseline*; sono rimasti così 206 pazienti (104 nel gruppo escitalopram e 102 nel gruppo placebo) a costituire il campione per l'analisi farmacogenetica.

Non sono state rilevate differenze significative tra i gruppi trattati con escitalopram e placebo per nessuna caratteristica. Il punteggio Killip ( $p=0,019$ ) e i livelli sierici di CK-MB ( $p=0,022$ ) erano significativamente più alti nel campione dei pazienti, ma solo al *baseline*. Il tasso di remissione complessiva dei sintomi depressivi è stato significativamente più alto nel gruppo escitalopram (51.9%) rispetto al gruppo placebo (34.3%) ( $p=0,011$ ).

Le frequenze alleliche non differivano in misura significativa, rispetto allo stato di remissione, né nel gruppo dell'escitalopram, né nel gruppo placebo. Non è stata rilevata nessuna relazione significativa tra i gruppi di trattamento e i genotipi. L'analisi che ha classificato e considerato i pazienti sulla base della gravità dell'ACS non ha rilevato differenze significative.

I presenti dati mostrano che l'escitalopram è superiore al placebo per il trattamento del disturbo depressivo nei pazienti con ACS, ma che non ci sono associazioni significative tra i geni serotoninergici e le risposte al trattamento, anche considerando la gravità dell'ACS.

Dalla letteratura risultano dati variabili per quanto riguarda l'analisi farmacogenetica della depressione nella popolazione generale. Una meta-analisi di 33 studi, effettuati su 19 campioni di etnia Caucasica e 11 di etnia Asiatica, ha concluso che il polimorfismo 5-HTTLPR prediceva la risposta agli SSRI nei campioni di soggetti Caucasici, ma che i dati erano meno chiari nelle popolazioni Asiatiche, indicando che la risposta alla terapia differisce in una maniera dipendente dall'etnia. I dati del presente studio supportano la mancanza di un'associazione tra 5-HTTLPR e la risposta agli SSRI e quindi rafforzano la possibilità che altre variabili sociodemografiche e cliniche influenzino la risposta alla terapia con SSRI nei gruppi Asiatici.

In generale, il ruolo di questi polimorfismi dei geni serotoninergici nella fisiopatologia dell'ACS è poco chiara. Alla luce di questi dati controversi e considerando il complesso ruolo dei geni serotoninergici sulla prognosi cardiaca non è possibile concludere che esistano associazioni farmacogenetiche serotoninergiche con l'escitalopram nei pazienti depressi con ACS.

Le limitazioni dello studio risiedono nel tasso di *drop out*, poiché il 19% dei soggetti randomizzati nel trial EsDEPACS ha lasciato lo studio dopo la valutazione basale. La percentuale di abbandono è stata associata ad uno *status* cardiaco basale più scarso; pertanto, i pazienti con ACS e una patologia basale più grave al *baseline* hanno abbandonato lo studio più frequentemente, fenomeno che può avere influenzato i livelli di significatività. La negatività dei dati di questo studio suggerisce che la risposta al trattamento nei pazienti con depressione e ACS possa essere influenzata da variabili sociodemografiche e cliniche piuttosto che dai geni serotoninergici. I presenti dati quindi non forniscono alcuna evidenza che supporti l'uso di uno screening genetico serotoninergico come fattore predittivo per la risposta al trattamento con escitalopram nei pazienti con depressione e ACS.

In conclusione, il presente studio mostra che l'efficacia terapeutica dell'escitalopram nei disturbi depressivi in pazienti con sindrome coronarica acuta è indipendente dai polimorfismi di 5-HTT and 5-HTR2a (5-HTTLPR, STin2 VNTR, 5-HTR2a 102T/C e 5-HTR2a 1438A/G).

**Parole chiave:** sindrome coronarica acuta, depressione, trasportatore della serotonina, recettore della serotonina, studio farmacogenetico

**Riferimento bibliografico**

Kang HJ et al. *Psychiatry Investig* 2016, 13: 157-160.

**IL RUOLO DELLA FARMACOGENETICA NEL MIGLIORARE LA SICUREZZA DELLA TERAPIA PSICHIATRICA TRAMITE LA PREDIZIONE DEL POTENZIALE RISCHIO DI MANIA NEI PAZIENTI METABOLIZZATORI LENTI DEL CYP2D6 CON UNA DIAGNOSI DI DISTURBO BIPOLARE**

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Sebbene i dati a supporto del suo utilizzo siano ancora limitati, l'implemento della farmacogenetica nella terapia delle malattie psichiatriche è in aumento. Il 25% dei farmaci attualmente utilizzati viene metabolizzato dall'isoforma del citocromo P450 CYP2D6, per il quale sono state caratterizzate oltre 100 varianti. Mentre i metabolizzatori estesi (EM) per il CYP2D6 possiedono almeno un allele funzionale, il termine metabolizzatori intermedi (IM) si riferisce a individui dotati di un allele caratterizzato da attività ridotta e un allele caratterizzato da attività nulla. I metabolizzatori ultrarapidi (UM) mostrano un'attività enzimatica aumentata. Infine, i metabolizzatori lenti (PM), che possiedono due alleli caratterizzati da attività nulla, sono esposti ad un maggiore rischio di eventi avversi dose-correlati. Alcuni antidepressivi, come la paroxetina o la fluoxetina, sono potenti inibitori del CYP2D6 e il loro utilizzo può modificare il fenotipo del paziente da EM a PM. Lo scopo dello studio è stato quello di valutare se la genotipizzazione del *CYP2D6* possa essere d'aiuto nella predizione degli effetti avversi in una popolazione psichiatrica in terapia con farmaci substrati/inibitori del *CYP2D6*.

Il campione dello studio era costituito da 224 pazienti con una diagnosi di disturbo psicotico (n = 76), depressivo (n = 72), disturbo bipolare (n = 45), disturbo d'ansia (n = 16) o altri disturbi psichiatrici (n = 15), in terapia con farmaci antidepressivi o antipsicotici, reclutati presso lo University Hospital di Salamanca. La genotipizzazione del *CYP2D6* è stata effettuata utilizzando il test AmpliChip P450 (Roche Molecular Systems) approvato dalla *Food and Drug Administration* (FDA) nel 2005. Il test è in grado di discriminare tra 33 varianti alleliche del *CYP2D6*. Oltre ai polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), il test evidenzia anche alcune duplicazioni del gene *CYP2D6* e la delezione *CYP2D6*\*5. Inoltre, il test evidenzia la presenza delle varianti *CYP2C19*\*2 e *CYP2C19*\*3.

Su un totale di 224 pazienti, il 4,5% è risultato avere un fenotipo UM, il 9,8% IM e il 6,3% PM. I genotipi più frequentemente osservati sono stati *CYP2D6*\*1/\*2xN per il gruppo UM, \*4\*/41 per il gruppo IM e \*4/\*4 per il gruppo PM. Il 90,1% dei pazienti inclusi nello studio è stato trattato con almeno un farmaco metabolizzato dal CYP2D6. Tra i pazienti con disturbo bipolare di tipo I, 3 pazienti sono risultati PM (6,7%) e 2 pazienti IM (4,4%). In 4 di questi 5 pazienti si è verificato uno switch maniaco dopo la somministrazione di farmaci substrati/inibitori del CYP2D6 come paroxetina e fluoxetina. Lo studio non ha riscontrato associazioni tra effetti avversi in pazienti con disturbo depressivo, psicotico o d'ansia e genotipo del *CYP2D6*.

Diversi fattori neurobiologici sono stati associati con gli *switch* maniacali nei pazienti con disturbo bipolare. La terapia con antidepressivi è stata associata ad un aumento del rischio di induzione della mania e ad un aumento della severità dei sintomi maniacali. Tuttavia, alcuni *trial* clinici hanno evidenziato un numero simile di *switch* maniacali nel gruppo trattato con antidepressivi rispetto al placebo. Gli autori suggeriscono che la farmacogenetica potrebbe aiutare a spiegare queste differenze. L'implementazione della farmacogenetica nella pratica clinica permette un approccio terapeutico maggiormente personalizzato, evitando alcune combinazioni di farmaci nei pazienti a rischio. Ad esempio, sono disponibili le linee guida del Clinical Pharmacogenetics implementation Consortium (CPIC) per il dosaggio di antidepressivi triciclici e inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI). Inoltre, l'FDA ha inserito informazioni sulla farmacogenetica nelle schede tecniche di diversi farmaci comunemente utilizzati in psichiatria, come amitriptilina, clozapina, fluoxetina e paroxetina. Tra i limiti dello studio vi sono le dimensioni limitate del campione, che non permettono di svolgere un'analisi statistica ma una semplice descrizione dei risultati

ottenuti, e la scelta di utilizzare il test AmpliChip P450 che non permette di genotipizzare tutte le varianti conosciute del *CYP2D6* e del *CYP2C19*, ma le più comuni.

In conclusione, i risultati preliminari di questo studio suggeriscono un'associazione tra varianti genetiche del *CYP2D6* che conferiscono il fenotipo di metabolizzatore lento o intermedio e lo *switch* maniacale in pazienti con disturbo bipolare trattati con farmaci substrati/inibitori del *CYP2D6*.

**Parole chiave:** SSRI, disturbo bipolare, *CYP2D6*

#### Riferimento bibliografico

[Sánchez-Iglesias S](#) et al. *Medicine* 2016, 95: e2473.



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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) 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.

---