



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

Sommario

Oncologia

- Fattori di rischio clinici e genetici predisponenti la pancreatite acuta in pazienti pediatrici affetti da leucemia linfoblastica acuta
- Farmacocinetica dell'everolimus e relazione tra esposizione e tossicità in pazienti con carcinoma della tiroide
- Importanza del polimorfismo sul sito di legame di Sp sul gene *WWOX* per l'esito clinico del trattamento del tumore pancreatico
- Un polimorfismo sinonimo di EGFR predice la risposta alla terapia anti-EGFR in pazienti con cancro coloretale metastatico

⇒ Pneumologia

- Effetto della somministrazione orale di N-acetilcisteina in pazienti con polimorfismo microsatellite nel promotore del gene dell'eme ossigenasi-1

⇒ Infettivologia

- Effetti della gravidanza sulla farmacocinetica della nevirapina: evidenze da uno studio osservazionale genotipo-guidato del CYP2B6

⇒ Neurologia

- Varianti del gene del recettore D2 per la dopamina e risposta alla rasagilina negli stadi precoci della malattia di Parkinson: uno studio farmacogenetico
- Relazione tra *CYP2B6*6* e sensibilità al test del freddo in pazienti con dipendenza da oppiacei in trattamento di mantenimento con metadone

ONCOLOGIA

FATTORI DI RISCHIO CLINICI E GENETICI PREDISPONENTI LA PANCREATITE ACUTA IN PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

A cura della Dott.ssa Raffaella Franca

La pancreatite acuta è una infiammazione del pancreas ad insorgenza improvvisa che può essere indotta dall'uso di alcuni farmaci chemioterapici quali l'asparaginasi (ASP) e, in misura minore, gli steroidi e le tiopurine. La pancreatite acuta rappresenta quindi una possibile complicanza nella terapia della leucemia

linfoblastica acuta (LLA) e colpisce il 2-18% dei pazienti pediatrici affetti da LLA: la sua comparsa rappresenta una controindicazione per l'ulteriore uso dell'ASP in terapia ed è stata associata ad un esito negativo del trattamento. La conoscenza dei fattori di rischio predisponenti la pancreatite può quindi portare ad un miglioramento terapeutico: l'identificazione precoce dei soggetti ad alto rischio può consentire di intervenire da subito su questi pazienti con regimi terapeutici senza ASP e la comprensione dei meccanismi alla base di questo effetto avverso può portare allo sviluppo di strategie preventive o risolutive adeguate. La patogenesi della pancreatite da ASP non è stata ancora chiarita del tutto: l'uso intensivo del farmaco e l'età più avanzata sono stati identificati come fattori clinici di rischio in studi però generalmente limitati per potenza statistica. Studi sulle pancreatiti di altra eziologia (ad esempio, la pancreatite indotta dal consumo di alcol) hanno identificato anche alcuni geni legati all'attivazione prematura o eccessiva della tripsina (*PRSS1*, *PRSS2*, *SPINK1*, *CFTR*, *CTRC*, *CASR*, *CLDN2*, *CPA1* e *HLA-DRB1**07:01) come fattori di suscettibilità.

Il lavoro di Liu e collaboratori rappresenta il primo studio di associazione *genome-wide* (GWAS) sulla pancreatite indotta da ASP in pazienti con LLA al primo esordio. La popolazione di studio presa in considerazione è numericamente consistente ed è costituita da due coorti indipendenti di pazienti trattati con diversi regimi terapeutici presso il St Jude Children's Research Hospital di Memphis (USA) e presso gli ospedali afferenti al Children's Oncology Group (COG). Il primo gruppo include 5185 soggetti di età compresa tra 0 a 30 anni arruolati nei protocolli Total XIIIB, Total XV, COG P9904, COG P9905, COG P9906 e AALL0232: tra questi, 117 (2,2%) pazienti hanno sviluppato almeno un episodio di pancreatite acuta. Il secondo gruppo comprende 213 pazienti arruolati nel protocollo AALL0231, di cui 71 sono casi e 142 controlli (abbinati per età (± 2 anni) e dosi di ASP somministrate). Per normalizzare le dosi di ASP tra i vari protocolli, è stato assunto che la somministrazione settimanale di ASP derivante da *Escherichia coli* a 25000 U/m² per due settimane fosse equivalente alla somministrazione di ASP-peghilata da *Escherichia coli* a 2500 U/m² a settimane alterne. La gravità della pancreatite è stata classificata secondo i criteri NCI-CTC per gli effetti avversi, usando le versioni 2 e 3. Questi criteri sono simili tra i vari protocolli e valutano i sintomi della pancreatite (dolore addominale, nausea e vomito), l'aumento delle amilasi e lipasi sieriche ed i referti radiologici o chirurgici. Per le analisi, sono stati presi in considerazione solamente gli episodi sintomatici di pancreatite acuta indipendentemente dal grado di severità raggiunto; non ci sono stati comunque episodi tali da causare la morte del paziente (tossicità di grado V). Le genotipizzazioni sono state effettuate mediante le piattaforme Affymetrix Genome-Wide Human SNP 6.0 o il GeneChip Human Mapping 500K Array e l'Illumina Human Exome Beadchip Array: 751455 SNPs della piattaforma Affymetrix 6.0 e 169251 SNPs dell'Illumina hanno avuto una call rate adeguata.

Dall'analisi multivariata è risultato che l'insorgenza della pancreatite è associata all'avanzamento dell'età (hazard ratio (HR)= 1,1 per anno, P<0,001), alla razza (HR= 1,2 per ogni aumento del 10% della discendenza nativa americana determinata geneticamente, P<0,001) ed una maggiore dose cumulativa di ASP (≥ 240000 U/m², HR= 3,2, P<0,001). Le associazioni trovate invece dall'analisi delle varianti geniche codificanti e non codificanti più comuni (frequenza dell'allele minore (MAF) $\geq 1\%$) sono state abbastanza modeste e non hanno raggiunto la significatività normalmente richiesta per uno studio GWAS. La correlazione più importante è stata trovata per lo SNP rs9849262 nel gene *FHIT*: questo gene codifica per un enzima coinvolto nel metabolismo delle purine e ciò suggerisce quindi il contributo dei farmaci tiopurinici per almeno alcuni dei casi di pancreatite osservati nelle coorti. Tra i 20 SNP significativamente più associati alla pancreatite, 7 ricadevano in 3 geni (*DOCK5*, *ACTN2*, and *MICAL2*) coinvolti nella regolazione del citoscheletro, supportando quindi l'ipotesi che la disgregazione del citoscheletro contribuisca alla patogenesi dell'infiammazione acuta. Analizzando le varianti rare (MAF<1%) e nonsense, altri sei geni sono stati associati alla pancreatite con p<0,05 in entrambe le coorti. In particolare, lo SNP nonsense rs199695765 (C>T) localizzato nell'esone 2 del gene *CPA2* (MAF= 0,009% nella popolazione generale) è risultato essere fortemente associato alla comparsa di questo effetto avverso (HR= 587; 95% intervallo di confidenza (CI)= 66,8-5166; P=9x10⁻⁹ nello studio di coorte). *CPA2* codifica per la carbosipeptidasi A2 pancreatica, un proenzima inattivo di 417 amino acidi; la presenza dello SNP rs199695765 comporta la sintesi di una proteina tronca. Su 4379 pazienti, solo due erano portatori del genotipo variante (uno nel gruppo di coorte e l'altro nel gruppo caso-controllo): entrambi hanno sviluppato un'infiammazione acuta severa al pancreas nel giro di qualche settimana dalla prima somministrazione di ASP. Dal sequenziamento di *CPA2* in 4379 pazienti (4217 del gruppo di coorte e 162 del gruppo caso-controllo), sono state identificate altre 15 varianti associate alla pancreatite, oltre allo SNP rs199695765: 13 dei 24 pazienti che portavano almeno una di queste hanno avuto episodi sintomatici. Nonostante non sia ancora chiaro il meccanismo con cui queste

mutazioni in *CPA2* possano contribuire all'insorgenza della pancreatite e considerando che la pancreatite da ASP è dose dipendente, gli autori suggeriscono che i pazienti affetti da LLA portatori di queste varianti genetiche rare ma altamente penetranti debbano avere un approccio terapeutico personalizzato ed essere trattati con dosi minori di farmaco.

Pazienti con leucemia linfoblastica acuta che ereditano varianti rare nonsense del gene *CPA2* hanno un rischio aumentato di pancreatite indotta dall'asparaginasi.

Parole chiave: chemioterapia, leucemia linfoblastica acuta, pancreatite, asparaginasi, *CPA2*

Riferimento bibliografico

[Liu C](#) et al. *J Clin Oncol* 2016, 34(18): 2133-40.

FARMACOCINETICA DELL'EVEROLIMUS E RELAZIONE TRA ESPOSIZIONE E TOSSICITÀ IN PAZIENTI CON CARCINOMA DELLA TIROIDE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'everolimus, inibitore orale di mTOR, viene utilizzato per il trattamento del carcinoma della mammella avanzato con recettori ormonali positivi e mutazione di HER2 negativo, per il carcinoma a cellule renali metastatico (mRCC), per il tumore neuroendocrino pancreatico metastatico non resecabile (pNET) e l'astrocitoma subependimale a cellule giganti (SEGA). Nonostante la sua provata efficacia, il trattamento è spesso associato con effetti avversi seri, in particolare stomatite, rash, fatica, diarrea, infezioni, nausea, perdita dell'appetito, tossicità ematologica e alterazioni metaboliche. Queste reazioni sono per lo più gestibili e di severità lieve-moderata, ma molti pazienti possono richiedere una riduzione del dosaggio o un'interruzione del trattamento (Aapro M et al. *Ann Oncol* 2014, 25:763-773). Mentre nei soggetti trapiantati, considerato il ristretto indice terapeutico e l'alta variabilità nella farmacocinetica del farmaco, viene effettuato un dosaggio individualizzato del farmaco tramite l'uso del *therapeutic drug monitoring* (TDM), in oncologia viene utilizzato un dosaggio fisso di 10 mg/die. Pertanto è possibile riscontrare esposizioni a dosi sovra-terapeutiche con aumento di tossicità ma anche sub-terapeutiche con ridotta efficacia. Il farmaco viene metabolizzato dagli enzimi CYP3A4, CYP3A5 e CYP2C8 ed è anche substrato della pompa di efflusso P-glicoproteina (P-gp) codificata dal gene *ABCB1*. In questo studio è stata valutata la correlazione tra esposizione ad everolimus e tossicità in pazienti con carcinoma tiroideo avanzato, con un'analisi dei polimorfismi dei geni coinvolti nell'assorbimento e nel metabolismo del farmaco.

Sono stati selezionati 42 pazienti (22 uomini e 20 donne) con carcinoma della tiroide in progressione o ricorrente, non resecabile o metastatico nell'ambito di uno studio di fase II sulla valutazione della farmacocinetica e dell'efficacia di everolimus in questa popolazione. Il 66,7% (n=28) presentava un carcinoma differenziato, il 16,7% (n=7) un carcinoma anaplastico e il 16,7% (n=7) un carcinoma midollare avanzato della tiroide. I pazienti sono stati trattati con everolimus 10 mg/die fino a progressione, tossicità inaccettabile, morte o uscita dallo studio per altra causa. La tossicità è stata valutata al basale, al giorno 1, 14 e 28 e poi mensilmente, secondo i criteri *National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events* (NCI CTC-AE) *version 4.0*. Sono stati selezionati come *outcome* di tossicità la riduzione della dose, la stomatite e la polmonite, in quanto queste ultime ad alta prevalenza, oggettivamente misurabili, clinicamente rilevanti e non trattabili se non con una riduzione della dose o un'interruzione del trattamento. Un aggiustamento della dose (riduzione a 5 mg/die e se necessario a giorni alterni) è stato permesso per sospette reazioni avverse correlate al farmaco. Per lo studio di farmacocinetica sono stati raccolti campioni ematici ai giorni 1 e 15, prima della somministrazione del farmaco e alla prima, seconda e terza ora dalla somministrazione o in alcuni casi anche 4, 5, 6, 7 e 8 ore dopo. Per l'analisi sono stati esclusi 2 pazienti per mancanza di campioni o di farmaco rilevabile. Per l'analisi farmacogenetica sono stati selezionati 11 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) dei geni candidati.

È stata valutata la relazione tra esposizione all'everolimus e riduzione del dosaggio o stomatite o polmonite. In totale il 45% dei pazienti ha avuto una riduzione della dose a causa di tossicità, entro 3 mesi dall'inizio della terapia. Il 42,5% dei pazienti ha presentato una stomatite di qualunque grado ed il 7,5% di grado 3. Il 10% ha presentato polmonite non-infettiva. L'esposizione al farmaco era significativamente superiore nel

gruppo che ha poi ricevuto una riduzione di dosaggio, una stomatite di vario grado, mentre nessuna associazione è stata riscontrata con la polmonite. La presenza dell'aplotipo TTT del gene *ABCB1* (3435T-1236T-2677T) è risultata associata ad una ridotta esposizione all'everolimus per ridotto assorbimento. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare la correlazione tra l'esposizione ad everolimus e l'insorgenza di eventi avversi. I risultati hanno mostrato che i pazienti con riduzione del dosaggio per insorgenza di tossicità presentavano un'esposizione significativamente superiore rispetto ai pazienti che non hanno ridotto il dosaggio. Inoltre l'esposizione ad everolimus è stata associata con una più alta probabilità di insorgenza di stomatite, ed i pazienti con stomatite di grado >3 presentavano un'esposizione 2 volte più elevata di quella dei pazienti con stomatite di grado ≤ 2 . Inoltre, la presenza dell'aplotipo TTT del gene *ABCB1* è risultata associata con una ridotta esposizione al farmaco per ridotto assorbimento. Questi dati sono in linea con quelli di studi precedenti condotti in pazienti con carcinoma trattati con everolimus. È stato precedentemente dimostrato un aumento del rischio di tossicità polmonare, stomatite ed eventi metabolici di grado ≥ 3 in pazienti con tumori solidi avanzati. Il dato relativo all'associazione con la tossicità polmonare non è stato confermato, probabilmente a causa del numero limitato di pazienti. L'uso di una dose fissa di 10 mg si basa sul profilo di tossicità del farmaco e sui dati di farmacodinamica (Tanaka C. et al. *J Clin Oncol* 2008, 26:1596–1602; Taberner J. et al. *J Clin Oncol* 2008, 26:1603–10) che riportano una completa inibizione della via di mTOR a questo dosaggio. Questo studio sottolinea l'ampia variabilità inter-individuale nella farmacocinetica dell'everolimus in linea con precedenti osservazioni (O'Donnell A. et al. *J Clin Oncol* 2008, 26:1588–1595), analoga a quella riscontrata con altri inibitori delle tirosin chinasi (TKI). Sembra pertanto sempre più giustificato l'utilizzo di un approccio personalizzato con diversi TKI (Lankheet NA. et al. *Br J Cancer* 2014, 110:2441–2449; Verheijen R. et al. *ESMO meeting* 2014; abstract no. 7651). Nella valutazione delle covariate, la presenza dell'aplotipo TTT è stata associata con una ridotta esposizione all'everolimus per un ridotto assorbimento. In precedenza, la presenza di questo aplotipo è stata associata con un'aumentata funzione del trasportatore glicoproteina-P ed una conseguente riduzione dell'esposizione e dell'efficacia del trattamento (Kim RB. et al. *Clin Pharmacol Ther* 2001, 70:189–199; Wasilewska A. et al. *Pediatr Nephrol* 2007, 22:44–5122). L'associazione riportata in questo studio tra la presenza dell'aplotipo del gene *ABCB1* ed un'esposizione ridotta del 21%, risultata clinicamente rilevante, ha bisogno di ulteriori conferme. Questo è il primo studio a valutare la variabilità farmacocinetica dell'everolimus in pazienti con tumore, mentre gli studi precedenti sono stati condotti su pazienti trapiantati e a dosaggi inferiori. Un limite potrebbe essere rappresentato dalla valutazione dell'esposizione al giorno 15 di terapia e non al momento dell'insorgenza della tossicità. Prevenire l'alta esposizione tramite un'individualizzazione del dosaggio può ridurre gli effetti avversi dall'everolimus mantenendone l'efficacia. È stato dimostrato che un'alta esposizione ad everolimus è associata con una maggiore *progression free survival* (PFS) e *overall survival* (OS) (13.3 e 26.2 vs. 3.9 e 9.9 mesi per PFS e OS rispettivamente in pazienti con mRCC). Un dosaggio individualizzato può pertanto essere utile per alcuni pazienti in cui si riscontri un'inefficacia del trattamento per esposizioni a dosi sub-terapeutiche. Studi futuri sono necessari per definire la finestra terapeutica dell'everolimus per il trattamento di tumori maligni e ottimizzare il trattamento con un'individualizzazione del dosaggio riducendo la tossicità a favore della migliore efficacia.

In conclusione, questo studio mostra una chiara relazione tra l'esposizione a everolimus e la tossicità in pazienti con carcinoma della tiroide. Considerata anche l'associazione tra concentrazioni plasmatiche e l'aplotipo TTT del gene *ABCB1*, il farmaco risulta un buon candidato per l'individualizzazione del dosaggio in pazienti con carcinoma.

Parole chiave: carcinoma della tiroide, *ABCB1*, everolimus

Riferimento bibliografico

[De Wit D](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2016 May 11 [Epub ahead of print].

IMPORTANZA DEL POLIMORFISMO SUL SITO DI LEGAME DI SP SUL GENE *WWOX* PER L'ESITO CLINICO DEL TRATTAMENTO DEL TUMORE PANCREATICO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

L'adenocarcinoma duttale pancreatico (PDAC) rappresenta il fenotipo dominante del cancro pancreatico. La percentuale della sopravvivenza globale a 5 anni si aggira tra il 4 e l'8% e raramente supera il 20-25%, anche quando la resezione chirurgica è fattibile. L'analogo nucleosidico gemcitabina (GEM) rappresenta il trattamento standard di prima linea. Anche se la risposta generale a questo trattamento è piuttosto ridotta, una piccola percentuale di pazienti mostra notevoli benefici.

Recentemente, Innocenti e i suoi collaboratori hanno eseguito uno studio di associazione *genome-wide* (GWAS) per gli SNPs associati ad OS in pazienti affetti da tumore pancreatico avanzato ed in trattamento con GEM, suggerendo uno SNP su *IL17F* (rs763780) come possibile marker predittivo. Gli autori di questo lavoro hanno quindi eseguito una serie di analisi, basandosi sul lavoro prodotto da Innocenti e coll., in una coorte di pazienti simile ed indipendente, al fine di valutare le 5 associazioni più significative del lavoro di Innocenti e collaboratori, considerando anche saggi funzionali cellulari e molecolari.

Per condurre lo studio, sono stati arruolati 381 pazienti affetti da PDAC confermato a livello istopatologico, in trattamento adiuvante o palliativo con GEM. La sensibilità al farmaco e l'espressione genica cellulare sono state analizzate in 89 linee cellulari linfoblastoidi e di carcinoma pancreatico adenoduttale umano (MIA-PaCa-2, PaTu-8988t, L3.6). I 5 SNPs selezionati (*IL17F* rs763780, *BTRC* rs10883617, *PRB2* rs2900174, *DCP1B* rs11062040, *WWOX* rs11644322) sono stati genotipizzati e, in seguito, è stata silenziata l'espressione di *WWOX* nelle linee PaTu-8988t e L3.6 mediante trasfezione con siRNA, poi confermata con western blot.

Dai risultati dello studio è stato dimostrato che il polimorfismo *WWOX* rs11644322 G>A è fortemente correlato all'*outcome* clinico dei pazienti trattati con GEM. La variante allelica A, che ha una frequenza del 26% circa nei caucasici, conferirebbe una OS peggiore rispetto al *wild-type*. Infatti, la media degli OS è di 14 mesi per i GG, 13 mesi per GA e solo 9 mesi per gli AA ($p < 0.001$). Per quanto riguarda *PRB2* rs2900174, nonostante non sia stata raggiunta una significatività statistica, è emerso che la variante allelica polimorfica sembra presentare una prognosi più infausta. *BTRC* rs10883617 e *DCP1B* rs11062040 non hanno mostrato alcuna correlazione con OS nello studio realizzato.

Per determinare se la sensibilità cellulare al trattamento con GEM sia dipendente dalla presenza del polimorfismo su *WWOX* rs11644322, gli autori hanno analizzato la correlazione dose-risposta mediante saggi di citotossicità con diluizioni progressive di farmaco nelle linee cellulari LCL. Come nelle analisi cliniche, è emerso che l'allele A è associato con un aumento di resistenza ($p = 0.02$); viceversa, la citotossicità causata dal 5-fluorouracile somministrato alle stesse cellule, sembra non essere correlato a questo particolare polimorfismo.

In seguito è stata realizzata un'analisi bioinformatica per determinare quale proteina potesse legare, in maniera specifica per l'allele, rs11644322. Dall'indagine *in silico* sono risultati possibili candidati la proteina Sp1 o una sua omologa strutturale Sp3, con la quale condivide un'alta omologia nel legare gli stessi elementi di DNA. Però, utilizzando un anticorpo specifico per Sp3, si è visto un aumento del segnale determinato dal legame fra la proteina Sp3 e rs11644322 *wild-type*.

Concludendo, si può affermare che la variante rs11644322 dell'oncosoppressore *WWOX* rappresenti il maggior fattore predittivo nel tumore pancreatico trattato con gemcitabina, e una diminuzione dell'espressione di *WWOX* potrebbe interferire con la sensibilità alla GEM.

Lo studio presenta però alcune limitazioni. In particolare, non sono stati realizzati studi con ulteriori trattamenti per determinare se la presenza del polimorfismo su *WWOX* possa influenzare gli esiti clinici di altri farmaci. Inoltre, l'impiego di linee LCL anziché pancreatiche. Questa particolare scelta è dovuta al fatto che il numero di linee cellulari di tumore pancreatico geneticamente diverse fra loro è piuttosto esiguo, a differenza delle LCL che, comunque, presentano un profilo di EC_{50} rispetto alla gemcitabina in un range paragonabile a quello mostrato dalle linee PaTu-8988t e L3.6.

Parole chiave: PDAC, Gemcitabina, *WWOX*

Riferimento bibliografico

[Schirmer MA](#) et al, *J Natl Cancer Inst* 2016, 108(5).

UN POLIMORFISMO SINONIMO DI EGFR PREDICE LA RISPOSTA ALLA TERAPIA ANTI-EGFR IN PAZIENTI CON CANCRO COLORETTALE METASTATICO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

È ben noto che fattori genetici possono influenzare l'efficienza della terapia con anticorpi monoclonali (mAbs) specifici per EGFR in pazienti con cancro coloretale metastatico (mCRC). Al momento, l'unico marcatore molecolare in grado di predire la risposta alla terapia anti-EGFR è lo stato mutazionale di KRAS; tuttavia tra i pazienti wild-type per KRAS, solo il 25% ottiene benefici del trattamento anti-EGFR, indicando che le mutazioni somatiche di KRAS non sono le uniche responsabili del fallimento terapeutico. Recentemente diversi SNPs candidati sono stati studiati quali responsabili delle differenze di risposta in pazienti con CRC in trattamento con chemioterapie basate sul 5-fluorouracile o su derivati del platino (Garm Spindler KL et al, 2009, Ann Onc; Graziano F et al, 2007, J Clin Oncol). Ad oggi, tuttavia non esistono dati riguardo all'impatto farmacogenetico nel trattamento con mAbs. Date le suddette premesse, in questo studio, sono stati analizzati gli effetti dello SNP sinonimo di EGFR rs1050171 in pazienti affetti da mCRC. Nello studio sono stati arruolati un totale di 163 pazienti, di cui 98 (gruppo 1) erano stati trattati con un agente anti-EGFR, mentre 65 (gruppo 2) con chemioterapia basata sul regime FOLFIRI/FOLFOX4. Gli endpoints dello studio sono state la PFS (definita come tempo intercorso tra l'inizio della terapia e progressione della malattia) e sopravvivenza cancro specifica, CSS (tempo intercorso tra l'inizio della terapia e morte cancro-specifica). I pazienti dei due gruppi sono stati genotipizzati per lo SNP rs1050171 G>A; dai dati è emerso che sul totale dei pazienti, 20 (12%) avevano genotipo GG, 67 (41%) AG e 76 (47%) AA. Nei 98 pazienti trattati con cetuximab/panitumumab, l'evoluzione clinica è stata studiata mediante log-rank test e correlata con il genotipo di rs1050171; un'associazione significativa è stata osservata per la PFS (p=0.05). In particolare, pazienti con genotipo GG mostravano una PFS aumentata rispetto agli individui portatori di almeno un allele A, indipendentemente dalla stato mutazionale di KRAS (PFS GG =10.2 mesi, AG= 4.5 mesi, AA=5.6 mesi). Raggruppando i pazienti con genotipo AG + AA e confrontandoli con quelli a genotipo GG, il dato rimaneva comunque significativo (PFS, p=0.01; CSS, p=0.07). L'analisi multivariata di Cox, aggiustata per genere, sesso, età, stadio e sito tumorale, per genotipo di RAS, ha confermato che i pazienti portatori di almeno un allele A avevano un rischio aumentato di 3.19 volte di progredire dopo trattamento cetuximab/panitumumab [HR=3.19, 95%CI (1.45-7.03), p=0.004], indicando quindi che il genotipo di rs1050171 rappresenta un fattore predittivo indipendente.

Al contrario, nel gruppo 2, in trattamento con chemioterapia standard, non è stata osservata alcuna associazione significativa tra genotipo e PFS o CSS.

Ad oggi non vi sono studi sul ruolo biologico di questa variazione sinonima di EGFR, nè sulla sua significatività clinica nel CRC e nel trattamento anti-EGFR. È dunque possibile solamente ipotizzare che questo SNP possa avere un effetto a livello della stabilità dell'mRNA o sullo splicing alternativo. Tuttavia, al momento, la mancanza di dati al riguardo non permette di giungere a conclusioni esaustive.

Lo studio che ha valutato solo 98 casi in trattamento con terapia anti-EGFR, ha tra i limiti l'aver analizzato un solo polimorfismo e non è quindi da escludere che altri polimorfismi, non sinonimi, possano avere un ruolo o un contributo nella risposta a questa terapia farmacologica.

In conclusione, questo studio ha dimostrato che il polimorfismo sinonimo di EGFR, rs1050171, è significativamente associato con PFS, in pazienti affetti da cancro coloretale metastatico in trattamento con terapia anti-EGFR

Parole chiave: cancro coloretale, terapia anti-EGFR, SNP rs1050171

Riferimento bibliografico

[Bonin S](#) et al, *Tumour Biol* 2016, 37(6):7295-303.

PNEUMOLOGIA

EFFETTO DELLA SOMMINISTRAZIONE ORALE DI N-ACETILCISTEINA IN PAZIENTI CON POLIMORFISMO MICROSATELLITE NEL PROMOTORE DEL GENE DELL'EME OSSIGENASI-1

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è una patologia infiammatoria cronica delle vie aeree. Le particelle nocive di varia natura che vengono inalate, prime fra tutte gli ossidanti presenti in grande quantità nel fumo di sigaretta, funzionano da innesco dell'abnorme risposta infiammatoria che caratterizza questa patologia. Insieme all'infiammazione lo stress ossidativo ha un ruolo cruciale nel favorire sia lo sviluppo sia la progressione della BPCO e, di conseguenza, è stato ipotizzato che la riduzione di questi fenomeni possa rappresentare una valida strategia terapeutica. La N-acetilcisteina (NAC) grazie alle sue attività di mucolitico e antiossidante, modificando positivamente le caratteristiche qualitative e quantitative delle secrezioni delle vie aeree e favorendo il trasporto mucociliare, potrebbe influire in misura sostanziale sull'evoluzione e la risoluzione della BPCO. Tuttavia, gli studi clinici condotti finora non hanno riconosciuto univocamente un ruolo terapeutico per questa molecola. È possibile che la mancanza di risultati favorevoli possa essere legata al background genetico dei pazienti arruolati nei trial clinici. Negli ultimi anni è stato evidenziato il ruolo di un polimorfismo nel promotore del gene per l'eme ossigenasi-1 (HO-1). In particolare, alcuni ricercatori hanno dimostrato che un polimorfismo microsatellite (GT_n repeat) nella 5' UTR del gene è associato con la suscettibilità a sviluppare enfisema polmonare in pazienti giapponesi e con il declino della funzione polmonare in ex fumatori maschi sempre giapponesi (*Am J Hum Genet* 2000, 66(1):187-95; *Thorax* 2006, 61(10):921). Inoltre, uno studio multicentrico, *l'European Community Respiratory Health Survey* aveva dimostrato che questo polimorfismo, che può determinare una diminuzione dell'espressione e attività della HO-1, era associato a un'accelerazione del declino della funzione respiratoria specialmente nei forti fumatori. Infine, gli autori del lavoro qui revisionato avevano già studiato questa variante trovando un'associazione molto forte con la disfunzione respiratoria in una popolazione cinese. Lo scopo di questo lavoro è stato verificare se il polimorfismo microsatellite potesse influenzare la risposta a un trattamento con 600 mg di NAC somministrata per via orale due volte al giorno.

Nello studio sono stati consecutivamente arruolati pazienti del sud ovest cinese con BPCO diagnosticata secondo i criteri *Global Initiative of Obstructive Lung Diseases*, GOLD 2011, ex-fumatori da almeno un anno e in condizioni clinicamente stabili da almeno un mese. L'analisi di genotipizzazione per identificare la presenza del polimorfismo microsatellite GT_n è stata eseguita tramite PCR con l'utilizzo di primer fluorescenti con deossicitidina trifosfato (Applied biosystems Inc., USA). I frammenti di DNA amplificati sono stati poi corsi su gel denaturante di poliaccrilammide utilizzando il sequenziatore ABI PRISM 377 (Applied biosystems Inc., USA). I pazienti inclusi nello studio sono stati divisi in 3 classi in base al numero identificato delle ripetizioni (GT_n) in: S (<25 (GT_n)), M (26-31(GT_n)) e L (≥ 32 (GT_n)) e poi in 2 gruppi in base alla presenza dell'allele L: gruppo L+ (L/L; L/M; L/S) oppure gruppo L- (M/M; M/S; S/S). Ai pazienti è stata quindi somministrata una dose di 600 mg di NAC per via orale due volte al giorno per un periodo di 1 anno. Come misure d'esito sono stati presi in esame i risultati di un questionario, il *St George's Respiratory Questionnaire* (SGRQ) e del test di tolleranza all'esercizio fisico, *6 Minute Walking Distance* (6MWD). Inoltre, sono stati considerati i valori al basale e al follow-up dei parametri spirometrici FEV_1 , FEV_1 % e FVC e la frequenza delle riacutizzazioni.

Su 568 pazienti analizzati per la presenza del polimorfismo, 368 hanno completato lo studio. I pazienti (L+ e L-) non mostravano differenze tra loro al basale. Solo nel gruppo di pazienti L- è stato osservato un miglioramento del FEV_1 e del FEV_1 % e in tali individui è stata registrata una frequenza inferiore di riacutizzazioni e un miglioramento degli scores del SGRQ e 6MWD più consistente rispetto al gruppo L-. I trial clinici condotti con lo scopo di verificare l'effetto terapeutico della NAC nella BPCO hanno prodotto risultati contrastanti. Una causa può essere ricercata nelle dosi di NAC diverse utilizzate nei vari studi e nelle differenti misure di esito considerate. Il meccanismo alla base dell'influenza che la NAC potrebbe esercitare sull'espressione di HO-1 non è stato ancora chiarito. Tuttavia, ormai è noto che nella patogenesi della BPCO l'infiammazione e lo stress ossidativo svolgono ruoli chiave e inter-correlati. Da molti anni la NAC è considerata un possibile trattamento contro la BPCO per via della sua attività mucolitica, ma anche per le sue caratteristiche di antiossidante. La NAC potrebbe influenzare l'espressione della proteina HO-1 in pazienti con diversi polimorfismi (microsatellite o *short tandem repeats* di varia lunghezza) nel promotore del gene.

Questo è il primo studio ad aver dimostrato che l'effetto terapeutico della somministrazione orale di 600 mg di N-acetilcisteina può essere associato al genotipo del paziente BPCO, nello specifico alla presenza di polimorfismi microsatellite di varia lunghezza nel promotore del gene che codifica per la proteina regolatrice dello stato redox eme ossigenasi-1.

Parole chiave: microsatellite, eme-ossigenasi 1, N-acetilcisteina, BPCO

Riferimento bibliografico

[Zhang JQ](#) et al. *Drug Des Devel Ther* 2015, 9:6379-87.

INFETTIVOLOGIA

EFFETTI DELLA GRAVIDANZA SULLA FARMACOCINETICA DELLA NEVIRAPINA: EVIDENZE DA UNO STUDIO OSSERVAZIONALE GENOTIPO-GUIDATO DEL CYP2B6

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

L'avvio tempestivo della terapia antiretrovirale (ART) prima della gravidanza, o nelle prime fasi, con la prosecuzione durante l'allattamento al seno, ha ridotto la trasmissione del virus HIV da madre a figlio (MTCT) a meno del 5% dal basale 25-40%. Le linee guida dell'OMS raccomandano come regime preferenziale di prima linea per le donne in stato di gravidanza, efavirenz, emtricitabina e tenofovir (o lamivudina), disponibili sotto forma di compresse a dose fissa, una volta al giorno. La nevirapina, come l'efavirenz, è un inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa ed è comparabile come efficacia terapeutica. Polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nei geni CYP2B6, CYP3A4 e ABCC10 sono già stati associati in precedenza con la farmacocinetica di nevirapina. Inoltre, l'espressione e l'attività dei geni CYP2B6 e CYP3A4 sono regolate dai recettori nucleari NR1I2 e NR1I3 e dal citocromo P450 ossidoreduttasi (POR), che a loro volta sono influenzati dalla presenza di SNPs. Nella fase preliminare di questo studio, sono stati quindi indagati nove SNPs, presenti nei geni di disposizione della nevirapina, e le sue concentrazioni plasmatiche durante la gravidanza e dopo il parto. È stata poi studiata la grandezza dei cambiamenti indotti dalla gravidanza sulla farmacocinetica della nevirapina seguendo una stratificazione genotipo-guidata.

Pazienti. Lo studio è stato condotto in tre ospedali dello Stato di Benue, Nigeria. Le donne sieropositive potenzialmente ammissibili sono state identificate secondo le attuali annotazioni del protocollo di trasmissione madre-figlio (PMTCT), ed è stato ottenuto il consenso informato scritto. I criteri d'inclusione prevedevano la positività ad HIV e la gravidanza o l'allattamento; le partecipanti al programma PMTCT ricevevano un regime contenente 200 mg di nevirapina due volte al giorno per almeno le 2 settimane precedenti. I criteri di esclusione comprendevano le infezioni opportunistiche (ad esempio tubercolosi, polmonite), grave malattia e trattamento concomitante con altri farmaci o medicinali a base di erbe con nota o incerta interazione con nevirapina. Il protocollo sono stati approvati dal Comitato Etico del National Health Research, Abuja in Nigeria. **Disegno dello studio e raccolta del campione.** I campioni spot di sangue secco (DBS) sono stati raccolti da pazienti preselezionate sulla base del loro genotipo a 0,5, 1, 2, 4, 8 e 12 ore dopo una dose di un regime contenente 200 mg di nevirapina. **Genotipizzazione degli SNPs.** Sono stati utilizzati i saggi Taqman per la genotipizzazione di CYP3A4-392A>G (*1B; rs2740574), CYP3A4 20230 G>A (*1G; rs2242480), CYP2B6 516G>T (rs3745274), CYP2B6 983T>C (rs28399499), NR1I3 c.540C>T (rs2307424), NR1I3 c.152-1089T>C (rs3003596), NR1I2 63396C>T (rs2472677), POR*28 (1508C>T; rs1057868), e ABCC10 2843T>C (rs2125739) (Life Technologies Ltd). I grafici della discriminazione allelica e l'assegnazione del genotipo sono stati eseguiti utilizzando Opticon Monitor (Bio-Rad Laboratories Inc.). **Quantificazione di nevirapina e analisi farmacocinetica.** Per quantificare nevirapina in DBS è stato impiegato un metodo precedentemente descritto di cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa tandem. Le concentrazioni plasmatiche sono state determinate usando $[DBS_{(NVP)} / (1-HCT)] \times 0,6$, dove

DBS_(NVP) è la concentrazione di nevirapina in DBS, HCT è l'ematocrito specifico del paziente e 0.6 è la frazione di nevirapina legata alle proteine plasmatiche. L'area sotto la curva tempo-concentrazione (AUC) durante l'intervallo di somministrazione (AUC₀₋₁₂) è stata calcolata utilizzando la regola del trapezio mentre la clearance apparente (CL/F) è stata calcolata dividendo la dose per AUC₀₋₁₂. Le concentrazioni plasmatiche minime (C_{min}) e massime (C_{max}) sono state determinate mediante esame diretto. **Analisi statistica.** L'equilibrio di Hardy-Weinberg è stato testato come descritto da Rodriguez e colleghi (Rodriguez S. et al., Am J Epidemiol 2009). I dati sono stati sottoposti al test di normalità di Kolmogorov-Smirnov prima dell'analisi statistica. Un'analisi di regressione lineare univariata è stata effettuata per identificare le variabili associate alle concentrazioni plasmatiche di nevirapina. Le variabili indipendenti con valori di P fino a 0,2 nell'analisi univariata sono state incluse nell'analisi di regressione lineare multivariata. La correzione di Bonferroni è stata utilizzata per aggiustare i test multipli. Le differenze tra gruppi di pazienti nei parametri di farmacocinetica sono state analizzate con il test U di Mann-Whitney. Le analisi post-hoc di potenza statistica sono state ottenute utilizzando il software G*POWER (Heinrich-Heine-University, Düsseldorf, Germania). Tutte le altre analisi statistiche sono state eseguite con IBM SPSS Statistics (IBM, Armonk, New York, USA) e il software GraphPad Prism (La Jolla, California, USA). Tutti i grafici sono stati disegnati adoperando GraphPad Prism 5. Il target putativo per la C_{min} è stato fissato a 3400 ng/ml, precedentemente suggerita dalla concentrazione efficace minima.

Risultati. Un totale di 232 pazienti idonee (110 in stato di gravidanza, 122 del gruppo post-partum) è stato reclutato tra dicembre 2012 e ottobre 2013. Tutti gli SNPs (ad eccezione di CYP3A4*1G nel gruppo post-partum) erano in equilibrio di Hardy-Weinberg all'interno della popolazione di studio e sono state osservate differenze nelle frequenze dei genotipi tra le donne in gravidanza e il gruppo post-partum. **La farmacocinetica di nevirapina nelle donne in gravidanza e in quelle post-partum (fase preliminare).** Gli SNPs CYP2B6 516G>T e 983T>C sono stati associati, indipendentemente, a concentrazioni plasmatiche elevate di nevirapina nelle donne in gravidanza e in quelle post-partum. NR1I3 152-1089T>C è stato associato a concentrazioni plasmatiche più basse nelle donne in gravidanza mentre POR 1508C>T più elevate nelle donne post-partum. Non sono state osservate altre associazioni statisticamente significative. L'analisi di potenza post-hoc della regressione lineare multivariata ha mostrato che le dimensioni del campione (110 e 122) raggiungevano una potenza pari a 89,8 nel gruppo delle donne in gravidanza e 99,8% in quello post-partum. In seguito, le pazienti sono state stratificate in base al genotipo combinato di CYP2B6 516G>T e 983T>C, come: non portatrici, portatrici di un allele di un SNP e portatrici di due alleli di uno dei due SNPs o un allele di entrambi gli SNPs (designati 0, 1 e 2). Le concentrazioni plasmatiche erano significativamente più basse nelle donne in gravidanza rispetto a quelle post-partum, che erano portatrici di almeno un allele di un SNP. Nel gruppo 0, le concentrazioni plasmatiche sono state osservate al di sotto di quella raccomandata (3400ng/ml) nel 46% delle donne in gravidanza contro il 24% post-partum, nel gruppo 1 nel 21% contro 13%, e nel gruppo 2 nel 13% contro 10%. **Entità del cambiamento indotto dalla gravidanza sulla farmacocinetica di nevirapina (fase di stratificazione).** Nell'analisi globale, CL/F era più alta del 21.6% mentre AUC₀₋₁₂, C_{max} e C_{min} erano significativamente più basse nelle donne in gravidanza rispetto a quelle post-partum (P<0,05). La C_{min} era più bassa rispetto al target raccomandato (3400ng/ml) nel 61% delle donne in gravidanza rispetto al 25% del post-partum. Quando stratificate in base al genotipo combinato di CYP2B6, la CL/F era significativamente più alta nelle donne in gravidanza rispetto a quelle post-partum, ad eccezione del genotipo CYP2B6 516GG e 983TT. In questo gruppo di metabolizzatori veloci, la gravidanza non è stata associata ad un ulteriore aumento della CL/F e la conseguente C_{min} era 2470ng/ml (2070-5500) nelle donne in gravidanza e 2920 ng/ml (2440-3300) nel post-partum, al di sotto del target nel 67% (4/6) e 88% (7/8), rispettivamente. Nelle pazienti con genotipo CYP2B6 516GT o 983TC, la clearance è risultata superiore del 40,6% nelle donne in gravidanza rispetto a quelle post-partum (P=0.0009) e le corrispondenti AUC₀₋₁₂, C_{max} e C_{min} erano significativamente più basse. La mediana (IQR) della C_{min} è risultata 3130 ng/ml (2990-3540) nelle donne in gravidanza e 5590 ng/ml (4480-7680) nel gruppo post-partum (P<0,0001), e sotto il target nel 58% (11/19) e 0% (0/10), rispettivamente. Analogamente, la clearance era più alta del 51,7% nelle donne in gravidanza con genotipo combinato CYP2B6 516GT e 983TC o 516TT, o 983CC, rispetto alle donne post-partum (P=0,008). Le corrispondenti AUC₀₋₁₂, C_{max} e C_{min} erano significativamente più basse, con la C_{min} sotto il target nel 50% (3/6) nelle donne in gravidanza e 0% (0/10) nel gruppo post-partum. L'analisi post-hoc di potenza statistica ha mostrato il 63,6% di potenza raggiunto nell'analisi combinata e il 12,3, 98,6 e 59,0%, rispettivamente, nei tre confronti genotipo-guidati.

Ad oggi, questo è lo studio più grande ad aver esaminato l'effetto della gravidanza sulla farmacocinetica della nevirapina ed il primo a farlo nel contesto della genetica dell'ospite. Indipendentemente dallo stato di gravidanza, le donne con genotipo combinato CYP2B6 516 GG e 983 TT, mostrano una C_{min} al di sotto del target terapeutico raccomandato.

La più importante limitazione di questo studio è l'inadeguatezza della potenza statistica raggiunta in alcuni confronti effettuati nella fase di farmacocinetica. Inoltre, le donne in stato di gravidanza non sono state utilizzate come proprio controllo nel post-partum.

Parole chiave: CYP2B6, nevirapine, farmacogenetica, farmacocinetica, post-partum, gravidanza

Riferimento bibliografico

[Olagunju A](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2016 May 18 [Epub ahead of print].

NEUROLOGIA

VARIANTI DEL GENE DEL RECETTORE D2 PER LA DOPAMINA E RISPOSTA ALLA RASAGILINA NEGLI STADI PRECOCI DELLA MALATTIA DI PARKINSON: UNO STUDIO FARMACOGENETICO

A cura delle Dott.sse Donatella Carretta e Sarah Cargnin

La malattia di Parkinson (*Parkinson's Disease*, PD) è una malattia degenerativa caratterizzata da sintomi motori e non-motori che hanno un impatto significativo sulla vita dei pazienti e dei loro familiari. I sintomi e segni precoci sono dovuti al deficit di dopamina causato dalla perdita progressiva dei neuroni della sostanza nera che proiettano allo striato. La risposta alla terapia antiparkinsoniana nelle fasi iniziali e tardive della malattia varia molto da persona a persona e può essere correlata a fattori genetici. I polimorfismi dei geni per il recettore D2 della dopamina (*DRD2*), per il trasportatore della dopamina (*SLC6A3*), e per la catecol-O-metiltransferasi (*COMT*) sono quelli più frequentemente studiati. Gli studi farmacogenetici sulla PD finora realizzati hanno alcune limitazioni dovute al campione ristretto di pazienti, agli effetti della politerapia nelle fasi tardive della malattia, allo studio di pochi *markers* genetici ed all'assenza dello studio dell'effetto placebo.

La rasagilina è un inibitore selettivo ed irreversibile della monoamino ossidasi B, approvata per il trattamento sintomatico della PD. L'inibizione della monoamino ossidasi di tipo B riduce la deaminazione ossidativa della dopamina endogena ed esogena (cioè prodotta dalla levodopa) aumentando quindi i livelli cerebrali di dopamina e migliorando presumibilmente la funzione dopaminergica nigrostriatale con conseguente beneficio clinico. Vi è un'ampia variabilità interindividuale nella risposta clinica dei pazienti alla rasagilina. Nel presente studio sono stati selezionati alcuni geni che codificano per le proteine coinvolte nella farmacocinetica e nella farmacodinamica della rasagilina allo scopo di studiare l'impatto dei meccanismi farmaco-correlati sulla risposta clinica. Gli autori hanno ipotizzato che, dopo avere controllato l'effetto placebo che è modulato attraverso il sistema mesocorticolimbico dopaminergico, uno o più polimorfismi dovrebbero essere associati all'efficacia sintomatica di picco della rasagilina osservata dopo 12 settimane di terapia. Inoltre, i polimorfismi potrebbero essere associati ad un rallentamento del peggioramento dei sintomi parkinsoniani nei pazienti in terapia con rasagilina nelle 12-36 settimane successive all'inizio della terapia.

Sono stati reclutati pazienti con nuova diagnosi di PD e non trattati, diagnosticati sulla base dei criteri della *United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank* per malattia clinicamente probabile. I pazienti sono stati assegnati in maniera casuale a differenti trattamenti (rasagilina iniziata subito o in una fase tardiva) e gruppi di dosaggio (1 mg o 2 mg al giorno). Per le prime 36 settimane i pazienti destinati a ricevere il farmaco nelle fasi tardive hanno ricevuto placebo e sono stati valutati al *baseline* e dopo ogni 12 settimane fino alle 36 settimane.

Sono stati genotipizzati 204 SNPs e 5 *variable number tandem repeats* (VNTRs) da 30 geni. I geni sono stati selezionati sulla base del ruolo nel meccanismo d'azione o nel metabolismo della rasagilina, oppure per l'associazione con la PD in precedenti studi. Gli SNPs sono stati genotipizzati tramite PCR e i prodotti visualizzati con *QuantStudio™ Real-Time PCR system*. I VNTRs [geni: *SLC6A3*, *DRD4*, *SLC6A4* (comprendente lo SNP rs25531)] sono stati amplificati tramite PCR e analizzati con *Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer*. La valutazione clinica dei pazienti a ciascuna visita è stata effettuata tramite la *Unified Parkinson's Disease Rating Scale* (UPDRS), i cui punteggi (da 0 a 176) comprendono le sottoscale per le funzioni mentali (parte I), attività della vita quotidiana (parte II) e funzioni motorie (parte III); i punteggi più alti indicano sintomi più severi. Il cambiamento del punteggio totale dell'UPDRS dal *baseline* a 12, 24 e 36 settimane dopo la somministrazione di rasagilina o placebo è stato utilizzato come misura del risultato primario. Per l'analisi sono stati considerati 681 pazienti. Le differenze tra la risposta alla rasagilina e al placebo sono state valutate misurando il cambiamento del punteggio totale dell'UPDRS dal *baseline* alla settimana 12, 24 e 36 e considerando il numero di alleli di rischio. Il "picco di beneficio sintomatico" della rasagilina è stato valutato, in tutti i pazienti inizialmente randomizzati con farmaco e placebo, tramite il cambiamento del punteggio totale dal *baseline* alla settimana 12.

Per i pazienti inclusi nello studio farmacogenetico non vi erano differenze delle variabili demografiche e delle misure cliniche al *baseline* tra coloro che assumevano rasagilina e quelli che assumevano placebo.

I risultati hanno mostrato che, dopo il controllo dell'effetto placebo, due SNPs nel gene *DRD2* erano associati in misura significativa alla riduzione di picco del punteggio totale alla UPDRS (cioè beneficio clinico) in risposta alla rasagilina a 12 settimane: rs2283265 (coefficiente beta di regressione lineare = 2,5, Bonferroni-corrected P = 0,047; FDR *q-value* = 0,032) e rs1076560 (coefficiente beta di regressione lineare = 2,38, Bonferroni-corrected P = 0,063; FDR *q-value* = 0,032). Questi due SNPs sono localizzati nella regione intronica regolatoria del gene *DRD2*, sul cromosoma 11q23. Relativamente allo SNP rs2283265, dopo aver sottratto la risposta placebo e corretto per l'UPDRS al *baseline*, è emerso che i pazienti portatori di due alleli C avevano una riduzione del punteggio totale all'UPDRS dopo 12 settimane di rasagilina [cambiamento medio = -2,02, errore standard (SE) = 0,40], in contrasto ai pazienti con uno o nessuno allele C che erano clinicamente peggiorati (cambiamento medio = +0,74, SE = 0,78).

Una situazione sostanzialmente identica è stata osservata per rs1076560: i pazienti portatori di due alleli C avevano riduzioni del punteggio totale all'UPDRS dopo 12 settimane di rasagilina (cambiamento medio = -2,04, SE = 0,40) rispetto a coloro con uno o nessuno allele C che erano clinicamente peggiorati (cambiamento medio = +0,74, SE = 0,75).

Rispetto ai VNTRs non sono state osservate associazioni con l'effetto di picco della rasagilina.

È stata inoltre effettuata una *post hoc* analisi dei sottopunteggi dell'UPDRS per determinare quali specifici aspetti del quadro clinico dei pazienti miglioravano in risposta alla rasagilina in base ai genotipi di *DRD2* (SNPs rs2283265 e rs1076560). rs2283265 era associato in misura significativa al miglioramento delle funzioni motorie (P = 0,0004) e mentali (P = 0,01), mentre non vi era effetto sulle attività della vita quotidiana (P = 0,283). Dopo aver sottratto la risposta placebo e adeguato per l'UPDRS motoria al *baseline*, i pazienti portatori di due alleli C avevano riduzioni del punteggio motorio all'UPDRS dopo 12 settimane di rasagilina (cambiamento medio = -1,01, SE = 0,30); in contrasto, coloro che avevano uno o nessuno allele C erano clinicamente peggiorati (cambiamento medio = +0,81, SE 0,57). L'entità dell'effetto di questo SNP sul punteggio delle funzioni mentali era minore (omozigoti CC: cambiamento medio = -0,22, SE = 0,07 *versus* eterozigoti CA + omozigoti AA: +0,06, SE 0,13). Risultati simili sono stati osservati per rs1076560 (motoria, P = 0,0004; mentale, P=0,016; attività della vita quotidiana, P=0,318).

Nessun *marker* si associava significativamente all'effetto della rasagilina per ciò che riguarda il tasso di peggioramento dei sintomi parkinsoniani nel periodo 12-36 settimane.

Il presente studio mostra un'associazione significativa tra due SNPs di *DRD2*, rs2283265 e rs1076560, e il picco di miglioramento dei sintomi parkinsoniani in risposta alla monoterapia con rasagilina negli stati precoci della PD. Il gene *DRD2* codifica per i recettori D2 della dopamina, che sono localizzati nella via indiretta della circuiteria dei gangli della base; insieme ai recettori D1 della via diretta formano i circuiti cortico-striato-talamo-corticali responsabili della programmazione motoria. Il recettore D2 è il principale bersaglio della dopamina prodotta per via endogena e di quella somministrata per via esogena. rs2283265 e rs1076560 sono localizzati rispettivamente negli introni 5 e 6 di *DRD2* ed entrambi alterano i processi trascrizionali dell'esone 6 portando all'espressione di due distinte isoforme del recettore D2: D2 *long* (D2L) e D2 *short* (D2S). Gli alleli minori A di questi SNPs predicono un'aumentata espressione di D2L rispetto a

D2S che risulterebbe in un ridotto *output* motorio cortico-striato-talamo-corticale veicolato attraverso la via indiretta. I dati del presente studio mostrano che, mentre la maggioranza dei pazienti beneficiava della terapia con rasagilina indipendentemente dal genotipo, gli omozigoti CC per *DRD2* avevano un miglioramento sintomatologico e di maggiore entità, quando trattati con rasagilina, rispetto ai portatori dell'allele A.

Il genotipo CC era anche associato ad un miglioramento significativo delle funzioni mentali, anche se in misura molto minore rispetto alle funzioni motorie. Gli inibitori della monoamino ossidasi B hanno anche effetti antidepressivi e la rasagilina è in grado di migliorare il punteggio delle funzioni mentali all'UPDRS, compresi gli *items* relativi ai sintomi depressivi. E' plausibile che questi SNPs funzionali di *DRD2* influenzino la localizzazione delle isoforme di questo recettore anche nel sistema mesocorticolimbico, che renderebbe ragione dell'associazione significativa con le funzioni mentali nella PD.

In conclusione, il presente studio mostra un'associazione significativa tra gli SNPs rs2283265 e rs1076560 del gene per il recettore della dopamina D2, *DRD2*, ed il picco di risposta clinica alla rasagilina (a 12 settimane) negli stadi precoci della malattia di Parkinson.

Parole chiave: malattia di Parkinson, risposta alla rasagilina, polimorfismo, UPDRS, *DRD2*

Riferimento bibliografico

[Masellis M](#) et al. *Brain* 2016 May 13 [Epub ahead of print].

RELAZIONE TRA *CYP2B6**6 E SENSIBILITÀ AL TEST DEL FREDDO IN PAZIENTI CON DIPENDENZA DA OPIACEI IN TRATTAMENTO DI MANTENIMENTO CON METADONE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il metadone è utilizzato nel trattamento di mantenimento della dipendenza da oppiacei. L'enzima citocromo P450, famiglia 2, sottofamiglia B, polipeptide 6 (*CYP2B6*) è uno tra quelli maggiormente implicati nel metabolismo e nella clearance del metadone ed è altamente polimorfico. Le varianti *CYP2B6* 64C>T (rs8192709), 516G>T (rs3745274) e 785A>G (rs2279343) sono mutazioni missenso che causano la sostituzione di un amminoacido a livello dell'enzima e possono influenzare l'espressione di *CYP2B6* e/o la sua attività. L'analisi di questi polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) ha permesso l'individuazione degli alleli *CYP2B6**1, *CYP2B6**2 (64C>T), *CYP2B6**4 (785A>G), *CYP2B6**6 (516G>T, 785A>G) e *CYP2B6**9 (516G>T). In particolare, la variante *CYP2B6**6 è in grado di diminuire il metabolismo del metadone e l'espressione di *CYP2B6* a livello epatico. Diversi studi suggeriscono che varianti del *CYP2B6* contribuiscano a spiegare la variabilità interindividuale nelle concentrazioni plasmatiche di metadone, le dosi richieste di metadone, l'efficacia e gli effetti avversi del trattamento di mantenimento con questo farmaco. Inoltre, alcune varianti del *CYP2B6* sono state associate con un aumento della concentrazione plasmatica di metadone nei campioni post-mortem di pazienti deceduti per overdose da metadone. E' stato suggerito che il trattamento di mantenimento con metadone (MMT) possa alterare la sensibilità al dolore e che i pazienti in terapia con metadone mostrino una maggiore sensibilità al dolore rispetto ai controlli sani. Uno studio precedente ha mostrato un'associazione tra varianti del gene *OPRM1* e la tolleranza al dolore in un campione di pazienti maschi dipendenti da oppiacei in MMT. Lo scopo del presente studio è stato quello di valutare l'associazione tra l'allele *CYP2B6**6 e la risposta al test del freddo in pazienti con dipendenza da oppiacei in MMT.

Il campione dello studio era costituito da 148 pazienti maschi con dipendenza da oppiacei trattati con metadone da almeno un mese e reclutati presso l'Hospital University Sains Malaysia e altre cliniche nello stato del Kentalan (Malaysia). La dipendenza da oppiacei è stata definita secondo i criteri del DSM-IV. La *compliance* è stata verificata tramite due test delle urine consecutivi negativi per morfina, tetraidrocannabinolo, anfetamine e benzodiazepine.

I criteri di inclusione comprendevano: età superiore ai 18 anni; assenza di comorbidità mediche, chirurgiche e psichiatriche; nessuna assunzione di altre terapie acute o croniche; assenza di dipendenza da alcool; assenza di uno stato di intossicazione da oppiacei. I criteri di esclusione comprendevano: concomitante assunzione di benzodiazepine, cannabinoidi o barbiturici; soggetti affetti da condizioni dolorose acute o

croniche; assunzione di analgesici nei tre giorni precedenti il test del freddo; *impairment* cognitivo severo; assunzione di farmaci metabolizzati dal CYP2B6 o in grado di alterarne l'attività; somministrazione del metadone in dosi frazionate durante il giorno. Durante il test del freddo ai soggetti è stato chiesto di identificare il primo momento nel quale avvertivano una sensazione di dolore dopo aver immerso la mano in acqua (soglia del dolore). La seconda misurazione del tempo è stata fatta quando il soggetto non era più in grado di sopportare il dolore. Entrambi i tempi sono stati misurati in secondi. Subito dopo aver tirato fuori la mano dall'acqua, ai soggetti è stato chiesto di indicare l'intensità del proprio dolore utilizzando la *visual analogue scale* (VAS), dove 0 rappresentava "assenza di dolore" e 100 "il peggior dolore immaginabile". La severità della sindrome da astinenza da oppiacei è stata misurata utilizzando la *Subjective Opiate Withdrawal Scale* (SOWS). Due ore dopo l'assunzione della dose di metadone, i soggetti sono stati sottoposti ad un prelievo ematico e la concentrazione di metadone è stata misurata nel siero dei pazienti utilizzando il metodo ELISA. Le tre varianti missenso CYP2B6 64C>T (rs8192709), 516G>T (rs3745274) and 785A>G (rs2279343) sono state genotipizzate su DNA genomico. I soggetti omozigoti CYP2B6*6/*6 (516 TT e 785 GG) o eterozigoti [CYP2B6*4/*6 (516 GT e 785 GG) o CYP2B6*6/*9 (516 TT e 785 AG)] sono stati definiti *carrier* dell'allele CYP2B6*6. Le differenze nella sensibilità al test del freddo tra questi soggetti e i pazienti che non presentavano l'allele CYP2B6*6 sono state analizzate mediante t-test.

I due gruppi non presentavano differenze di età, età di esordio della dipendenza da oppiacei, durata dell'abuso di oppiacei, durata della MMT, dose di metadone, concentrazione ematica di metadone e *score* SOWS. I *carrier* dell'allele CYP2B6*6 hanno mostrato una soglia del dolore (21,05 vs 33,69, $p = 0.036$) e una tolleranza al dolore (27,15 vs 44,51, $p = 0.02$) inferiore rispetto ai pazienti non portatori di questo allele. Tra i limiti di questo studio vi sono la dimensione del campione relativamente ridotta e l'impossibilità di controllare le analisi per fattori che potrebbero contribuire alla variabilità interindividuale nella risposta al test del freddo, come induzione della tolleranza agli effetti del metadone, differenze nella clearance del metadone, autoinduzione del CYP2B6 e varianti genetiche a livello di altri geni coinvolti nel controllo del dolore o nella farmacocinetica/farmacodinamica del metadone.

In conclusione, i risultati dello studio suggeriscono che l'allele CYP2B6*6 sia associato ad una minore soglia del dolore e una minore tolleranza al dolore in pazienti con dipendenza da oppiacei in trattamento di mantenimento con metadone.

Parole chiave: metadone, dipendenza da oppiacei, CYP2B6

Riferimento bibliografico

Zahari Z et al. *Drug Alcohol Depend* 2016 Jun 6 [Epub ahead of print].



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

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

sif.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

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

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96).

Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.