

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 90 – Dicembre 2016**

---

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

---

**Sommario****⇒ Oncologia**

- Analisi funzionale di SNPs sul promotore di ERCC5 in pazienti con cancro coloretale avanzato trattati con chemioterapia basata sull'oxaliplatino
- Identificazione e validazione del ruolo meccanicistico di un polimorfismo del gene VAC14 come fattore genetico predittivo del rischio di insorgenza di neuropatia periferica indotta da docetaxel
- Polimorfismi miRNA associati all'età e tossicità severa in pazienti con carcinoma polmonare trattati con chemioterapia a base di platino
- Impatto dei polimorfismi genetici di FAS e FASL sull'esito clinico nel mesotelioma pleurale maligno

**⇒ Neurologia**

- Fattori genetici coinvolti nella variabilità della risposta alla levodopa nel morbo di Parkinson
- L'effetto dei polimorfismi dei geni UGT1A9, CYP2B6 E CYP2C9 nella farmacocinetica del propofol in pazienti polacchi sottoposti ad anestesia generale
- Predizione dell'aumento di peso precoce durante il trattamento con farmaci psicotropi tramite un modello che combina marker clinici e genetici

**⇒ Cardiovascolare**

- Valutazione di un algoritmo basato sulla farmacogenetica per il dosaggio di warfarin nei pazienti con ridotto tempo in range terapeutico - protocollo di studio per un trial controllato e randomizzato

**⇒ Immunomodulazione**

- La variante funzionale del recettore cannabinoide 2 contribuisce all'insorgenza delle malattie infiammatorie croniche intestinali pediatriche

**ONCOLOGIA****ANALISI FUNZIONALE DI SNPS SUL PROMOTORE DI ERCC5 IN PAZIENTI CON CANCRO COLORETTALE AVANZATO TRATTATI CON CHEMIOTERAPIA BASATA SULL'OXALIPLATINO**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro coloretale (CRC) è uno dei tumori più comuni ed ha un alto tasso di morte. Nonostante i notevoli miglioramenti apportati nei metodi di screening, circa un terzo dei casi sono diagnosticati in stadio avanzato. La chemioterapia basata sull'oxaliplatino è una delle più usate nel trattamento del CRC avanzato; il tasso di risposta può essere molto diverso tra i singoli pazienti e i fattori genetici, tra cui gli SNPs, hanno un ruolo chiave in questa variabilità interindividuale. Uno dei pathway chiave coinvolto nella rimozione degli addotti al DNA creati dal platino è il NER (*nucleotide excision repair*), uno dei sistemi di riparazione del DNA, in cui un ruolo essenziale è svolto dal gene ERCC5.

In questo lavoro, gli autori hanno studiato il ruolo funzionale di due SNPs sul promotore di ERCC5, in cui si trovano numerosi siti di legame per fattori di trascrizione.

Nello studio sono stati arruolati un totale di 170 pazienti con CRC avanzato, in trattamento con chemioterapia basata sull'oxaliplatino. I polimorfismi analizzati sono stati il -763A>G e +25A>G, che formano un blocco aplo tipico. Per scegliere questi SNPs è stato impiegato uno specifico software per la predizione dei siti di legame di fattori di trascrizione.

Per prima cosa, mediante un sistema di *dual reporter assay* è stata valutata l'attività del promotore in presenza del genotipo combinato *wild type* (-763A e +25G), mutato (-763G e +25A) o con un singolo genotipo mutato. L'attività della luciferasi è risultata più alta per l'aplotipo -763A e +25G, rispetto alle altre 3 combinazioni genotipiche ( $p > 0.005$ ), indicando che -763A e +25G potrebbero aumentare l'attività trascrizionale del promotore di ERCC5.

L'espressione di ERCC5 a livello proteico e di mRNA è stata valutata in 33 campioni tumorali. Dai dati è emerso che sia i livelli di espressione proteica che di mRNA erano significativamente più alti nei pazienti con genotipi -763AA e +25GG o -763AA e +25GA ( $p < 0.05$ ).

Per valutare se i due SNP possono influenzare l'*outcome* clinico, sono stati analizzati 170 pazienti affetti da CRC avanzato. Il tasso di risposta (risposta completa e parziale) alla chemioterapia basata sul oxaliplatino è stato del 44.1% ( $n=75$ ), il 24.7% mostravano una malattia stabile e il 31.2% erano in progressione.

Per quanto riguarda le associazioni con la PFS, è stato osservato che i portatori del genotipo -763 AA (57/170) avevano una PFS media significativamente più corta rispetto ai pazienti con -763 AG e GG (PFS AA = 6.8 mesi vs PFS AG = 8.4 mesi e PFS GG = 10 mesi,  $p=0.001$ ). Analogamente, pazienti con genotipo +25 GG avevano una PFS media (6.8 mesi) significativamente più corta rispetto ai pazienti con +25 AG (8.4 mesi) e AA (11 mesi),  $p=0.0004$ .

Le analisi delle associazioni genotipo-OS, hanno mostrato che i portatori del genotipo -763 AA avevano una OS media di 14.5 mesi, significativamente più corta rispetto ai pazienti con -763 AG e GG (rispettivamente di 16 mesi e 20.5 mesi,  $p=0.002$ ). Analogamente, pazienti con genotipo +25 GG avevano una OS media peggiore rispetto ai pazienti con +25 AG (16.4 mesi) e AA (20.5 mesi),  $p=0.005$ . I due polimorfismi hanno mantenuto la significatività anche dopo l'analisi multivariata aggiustata per età, sesso, sito tumorale. In particolare il genotipo -763 AA era associato con una peggior PFS (HR=1.72, 95%CI 1.2-2.4;  $p=0.002$ ) ed OS (HR=1.88, 95%CI 1.3-2.7;  $p<0.001$ ); pazienti con genotipo +25 GG mostravano PFS (HR=1.5, 95%CI 1.1-2.1;  $p=0.02$ ) ed OS (HR=1.7, 95%CI 1.2-2.4;  $p=0.004$ ) più corte. Sono state infine valutate le associazioni tra le combinazioni genotipiche. Su 170 pazienti, 110 non avevano alcun genotipo di rischio (gruppo 0), 9 avevano il genotipo -763 AA o +25 GG, mentre 51 avevano entrambi i genotipi di rischio. La PFS media nel gruppo 0 era di 9 mesi mentre nel gruppo 1 (pazienti con 1 o più genotipi di rischio) era di 6.5 ( $p=0.001$ ); l'OS media era di 20 mesi nel gruppo 0 e di 14.2 mesi nel gruppo 1 ( $p=0.001$ ). Nell'analisi multivariata, -763 AA e +25 GG erano associati con un aumentato rischio di progressione (HR=1.6, 95%CI 1.1-2.2;  $p=0.021$ ), ed una peggiore OS (HR=1.8, 95%CI 1.3-2.6;  $p=0.001$ ).

In conclusione, gli SNPs -763 allele A e +25 allele G sul promotore di ERCC5 potrebbero essere associati con una attività trascrizionale maggiore e quindi con livelli di espressione di ERCC5 più alti, favorendo di conseguenza una scarsa risposta alla chemioterapia basata su oxaliplatino.

Lo studio affronta l'analisi dei polimorfismi, non solo come semplice valutazione delle associazioni tra genotipi e *outcome* clinico in una popolazione tumorale, ma anche dal punto di vista funzionale in un modello cellulare. In questo modo gli autori riescono a evidenziare le differenze di espressione di ERCC5 in base alle diverse combinazioni genotipiche e l'impatto che tali polimorfismi potrebbero avere. Per quanto riguarda la coorte arruolata, gli autori stessi sottolineano l'importanza di coinvolgere un maggior numero di pazienti per poter confermare i risultati ottenuti, soprattutto in relazione all'incidenza di un tumore così comune come il CRC.

I due polimorfismi -763A>G e +25 A>G potrebbero essere importanti predittori dell'*outcome* clinico in pazienti affetti da CRC in stadio avanzato, in trattamento con oxaliplatino; tuttavia ulteriori studi sono necessari per confermare i risultati

**Parole chiave:** CRC, chemioterapia basata su oxaliplatino, ERCC

#### Riferimento bibliografico

[Chen J](#) et al. *Medicine* (Baltimore) 2016, 95(19):e3652.

## IDENTIFICAZIONE E VALIDAZIONE DEL RUOLO MECCANICISTICO DI UN POLIMORFISMO DEL GENE VAC14 COME FATTORE GENETICO PREDITTIVO DEL RISCHIO DI INSORGENZA DI NEUROPATIA PERIFERICA INDOTTA DA DOCETAXEL

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

I tassani sono una classe di farmaci chemioterapici antitumorali largamente impiegati nel trattamento farmacologico di tumori solidi a carico di polmone, mammella, ovaio, stomaco e prostata. Ad oggi, i tassani approvati per l'uso clinico dall'*US Food and Drug Administration* (FDA) sono paclitaxel, docetaxel e cabazitaxel. Essi agiscono stabilizzando i microtubuli e bloccando la mitosi cellulare in metafase. I tassani, come altri antitubulinici antimicrotubulari, quali gli alcaloidi della vinca, inducono neuropatia periferica di gravità variabile, caratterizzata dall'insorgenza di parestesie e disestesie. Data la natura cronica di tale tossicità nonché il suo forte impatto sulla qualità della vita dei pazienti, si evidenzia come a fronte dell'insorgenza di neuropatia periferica indotta da chemioterapici (CIPN) possa essere necessaria l'interruzione della somministrazione dei tassani, anche in caso di evidente efficacia terapeutica antitumorale. Fattori demografici e clinici, quali etnia, storia di neuropatia e dose cumulativa del chemioterapico, sono emersi essere predittivi dell'insorgenza di CIPN. Tuttavia, non è ad ora disponibile un modello efficacemente predittivo dell'insorgenza/severità di tale tossicità in pazienti in terapia con tassani. Recenti studi di associazione *genome-wide* riportano alcune varianti genetiche come potenziali fattori genetici predittivi dell'insorgenza di CIPN in pazienti neoplastici trattati con paclitaxel o vincristina. Alla luce di tali evidenze, è stato ivi condotto il primo studio di associazione *genome-wide* (GWAS) finalizzato all'individuazione di polimorfismi genetici correlati all'insorgenza di CIPN indotta da docetaxel in pazienti affetti da carcinoma prostatico metastatico. Al fine di testare l'impatto funzionale sulla neuropatia periferica dei geni emersi come associati all'*outcome* in studio, è stata effettuata una valutazione del loro ruolo meccanicistico tramite modelli cellulari ed animali.

Lo studio GWAS è stato condotto su un sottogruppo di pazienti affetti da carcinoma prostatico metastatico arruolati per il trial clinico *Cancer and Leukemia Group B* (CALGB/Alliance) 90401. Nello specifico, tali pazienti sono stati sottoposti a terapia con docetaxel + prednisone e sono stati randomizzati al trattamento con bevacizumab o placebo. La neurotossicità periferica indotta da docetaxel è stata definita secondo i criteri "*National Cancer Institute Common Toxicity Criteria for Adverse Events (NCI CTCAE) version 3,0*". La genotipizzazione è avvenuta tramite HumanHap610-Quad Genotyping BeadChip. Al fine di valutare se la variabilità genetica individuale sottesa all'insorgenza di CIPN fosse sovrapponibile per paclitaxel e

docetaxel, le varianti ivi emerse come statisticamente associate all'*outcome* in studio sono state testate in una coorte di pazienti caucasiche affette da carcinoma alla mammella ed in trattamento con paclitaxel, arruolate per lo studio CALGB/Alliance 40101. Analogamente, le varianti emerse da precedenti studi GWAS come fattori genetici predittivi di CIPN in pazienti trattati con paclitaxel (tra cui FGD4 rs10771973, EPHA4 rs17348202, EPHA5 rs7349683, rs3125923, FCAMR rs1856746) sono state analizzate nel campione di pazienti neoplastici trattati con docetaxel ed arruolati per il presente GWAS. Infine, è stata effettuata una valutazione del ruolo meccanicistico dei geni emersi come significativamente associati a CIPN nel presente GWAS tramite modelli cellulari e animali. Nello specifico, neuroni periferici derivati da cellule staminali pluripotenti indotte (Peri.4U) sono stati trasfettati con siRNA silenzianti il gene di interesse e trattati con DMSO o con docetaxel. Dopo 24/48 ore dal trattamento sono state osservate le eventuali variazioni morfologiche dei neuriti in termini di crescita, numero di processi, numero di rami, lunghezza media/mediana/massima dei processi, superficie cellulare, rettilineità e crescita media relativa. In ultimo, sono stati effettuati test comportamentali atti alla valutazione dell'insorgenza di neurotossicità periferica in topi *wild type*, eterozigoti e omozigoti per i geni di interesse, prima e dopo trattamento con docetaxel o placebo. Nello specifico è stato effettuato il test dei filamenti di von Frey, finalizzato alla valutazione della presenza di allodinia come surrogato della neuropatia periferica nel topo e consistente nella misurazione della variazione della soglia di risposta ad una stimolazione meccanica.

Sono stati arruolati 1050 pazienti per il trial clinico CALGB/Alliance 90401, di cui 863 reclutati per il sottostudio farmacogenetico CALGB 60604. Di questi ultimi, 616 pazienti affetti da carcinoma prostatico metastatico di etnia caucasica sono stati inclusi nel presente studio GWAS (età media: 69 anni, BMI: 29 kg/m<sup>2</sup>). Il tasso di incidenza di CIPN di grado  $\geq 3$  era del 8.1% (50/616). Non essendo emerse differenze statisticamente significative in termini di incidenza di CIPN tra i pazienti randomizzati a bevacizumab o a placebo, l'analisi GWAS è stata effettuata combinando i pazienti appartenenti ai due bracci di trattamento in un'unica coorte. Dopo controllo di qualità, sono stati inclusi nell'analisi 498022 SNPs e la significatività statistica è stata posta a  $0,05/498022=1,004 \times 10^{-7}$ . Solo la variante intronica VAC14 rs875858 è emersa essere associata, ad un livello di significatività statistica *genome-wide*, all'insorgenza di CIPN nei pazienti in studio (HR: 3,60; 95% CI 2,21-5,84;  $p=2,12 \times 10^{-8}$ ). Tuttavia, in fase di validazione, non è emersa una correlazione statisticamente significativa tra tale variante e l'insorgenza di CIPN nella coorte di replicazione, costituita da pazienti trattati con paclitaxel ed arruolati per lo studio CALGB Alliance 40101. Analogamente, varianti genetiche precedentemente emerse come associate a CIPN indotta da paclitaxel non sono risultate essere correlate all'*outcome* in studio nella coorte esplorativa di pazienti trattati con docetaxel inclusi nel presente studio GWAS.

*Validazione del ruolo meccanicistico di VAC14 rs875858 tramite modelli cellulari ed animali:* Dall'analisi della sensibilità delle cellule Peri.4U al trattamento con docetaxel è emerso come a 24 e a 48 ore dal trattamento fosse evidente una maggiore sensibilità delle cellule trasfettate con VAC14 siRNA rispetto ai controlli in termini di numero relativo dei processi ( $P=0,0015$ ) e dei rami ( $P<0,0001$ ) dei neuriti ma non in termini di crescita totale dei neuriti. Dai test comportamentali (filamenti di von Frey) eseguiti su topi VAC14<sup>+/+</sup> e VAC14<sup>+/-</sup>, è emerso come, prima del trattamento, i topi eterozigoti fossero più sensibili agli stimoli meccanici prodotti dal test rispetto ai topi *wild type*. Come atteso, a 8 giorni dall'inizio del trattamento i topi trattati con docetaxel hanno mostrato una maggiore sensibilità agli stimoli meccanici rispetto ai topi trattati con placebo. Tuttavia, non sono emerse differenze statisticamente significative in termini di allodinia tra topi VAC14<sup>+/+</sup> o VAC14<sup>+/-</sup> dopo 8 giorni di trattamento con docetaxel.

Lo SNP rs875858 è una variante intronica del gene VAC14, che codifica per una proteina *scaffold* per la chinasi lipidica PIKfyve e FIG4. Tali proteine sono strettamente implicate nel *signaling* di fosfatidilinositolo (3,5)-bisfosfato (PI (3,5)P<sub>2</sub>) e di PI5P, entrambi lipidi essenziali per la funzionalità di molti tessuti. Topi omozigoti VAC14<sup>-/-</sup> sono risultati sopravvivere 1-2 giorni dopo la nascita e l'autopsia su essi ha mostrato una massiva neurodegenerazione caratterizzata dalla presenza di grandi vacuoli nei corpi cellulari sia centrali che periferici. È rilevante sottolineare come una rara mutazione del gene VAC14 risulti in un sottotipo clinico della malattia di Charcot-Marie-Tooth, anche nota come neuropatia motorio-sensitiva ereditaria. La mancata replicazione della variante rs875858 nella coorte costituita da pazienti trattate con paclitaxel nonché l'assenza di correlazione tra le varianti associate a CIPN indotto da paclitaxel e l'insorgenza di neuropatia nei pazienti trattati con docetaxel, suggerisce come la variabilità genetica sottesa all'insorgenza di CIPN

possa essere farmaco-specifica. Si evidenzia infine come il presente studio GWAS sia il primo ad aver effettuato una valutazione del ruolo meccanicistico di una variante genetica in un modello animale di CIPN. Sulla base dei risultati ottenuti dal presente studio comportamentale, gli Autori ipotizzano che i pazienti con la variante a carico di VAC14 possano presentare al *baseline* una neuropatia subclinica successivamente esacerbata dal trattamento con docetaxel.

La variante VAC14 rs875858 è associata con una significatività statistica *genome-wide* all'insorgenza di neuropatia periferica indotta da docetaxel in pazienti caucasici affetti da carcinoma prostatico metastatico.

**Parole chiave:** neuropatia periferica, docetaxel, VAC14

#### Riferimento bibliografico

[Hertz DL](#) et al. *Clin Cancer Res* 2016, 22(19):4890-900.

### **POLIMORFISMI miRNA ASSOCIATI ALL'ETÀ E TOSSICITÀ SEVERA IN PAZIENTI CON CARCINOMA POLMONARE TRATTATI CON CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO**

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Lo sviluppo di *biomarker* utili per individualizzare il trattamento chemioterapico è sempre più richiesto. I microRNA (miRNA) appartengono ad una classe di piccole molecole endogene (RNA di circa 22 nucleotidi) che interagiscono con proteine formando complessi di silenziamento e regolazione post-traduzionale dell'espressione genica. Molti studi hanno dimostrato un'espressione alterata di miRNA in patologie tumorali (*Sheervalilou R et al. Diagnostic cytopathology* 2016; 44:442-9; *Varamo C et al. Genes, chromosomes & cancer* 2016). SNP a livello dei pre-miRNA e dei miRNA maturi possono alterarne l'espressione e/o la maturazione ed influenzare di conseguenza i geni target. Recentemente, la presenza di polimorfismi in miRNA è stata associata con l'insorgenza ed il tasso di sopravvivenza di diverse patologie tumorali (*Huang AJ et al. PloS one* 2012; 7:e35252. *Christensen BC et al. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 2010; 16:3713-20). L'associazione con la tossicità da chemioterapia non è stata ancora ben chiarita.

Obiettivo di questo studio retrospettivo era quello di chiarire il ruolo di polimorfismi dei miRNA in merito alla tossicità da chemioterapia a base di platino in pazienti cinesi con carcinoma polmonare.

Sono stati arruolati, dal novembre 2011 all'agosto 2014, 408 pazienti con diagnosi di carcinoma polmonare, di cui 319 uomini (78,19%) e 89 donne (21,81%). L'età media era di 56 anni. Tutti i pazienti erano stati trattati con chemioterapia di prima linea a base di platino per almeno 2 cicli, di cui 332 con cisplatino (81,37%) e 76 con carboplatino (18,63%). Tutti gli eventi avversi sono stati registrati, e 161 pazienti hanno presentato tossicità severa; in particolare 97 pazienti hanno presentato tossicità ematologica severa, 52 epatotossicità severa e 48 tossicità gastrointestinale severa. Il polimorfismo rs2042553 del miR-5197 ha presentato un'associazione significativa con tutte le tossicità severe ( $p=0.031$ , nel modello additivo e  $p=0.009$  nel modello dominante), in particolare nelle pazienti di sesso femminile e con *small cell lung cancer* (SCLC). Lo stesso SNP e l'rs2910164 del miR-605 sono stati associati con la tossicità severa globale nei pazienti non fumatori. Nei pazienti con *non small cell lung cancer* (NSCLC), l'rs2910164 del miR-605 è stato correlato con tossicità severa. L'rs2043556 del miR-605 è stato associato con epatotossicità severa ( $p=0,02$  nel modello dominante), in particolare nei pazienti di età  $\leq 56$  anni o fumatori o maschi o in trattamento con cisplatino. L'rs2910164 del miR-146a è stato associato con epatotossicità severa in pazienti fumatori e maschi, mentre i pazienti portatori di questo SNP e trattati con cisplatino avevano meno probabilità di presentare epatotossicità severa. Nei pazienti con SCLC, l'rs2042253 del miR-5197 è stato correlato con l'insorgenza di tossicità ematologica severa. L'rs895819 del miR-27a ha mostrato un'associazione significativa con la tossicità gastrointestinale nei pazienti di età superiore ai 56 anni, fumatori e non.

In questo studio è stata valutata l'influenza di polimorfismi di miRNA sulla tossicità severa da chemio a base di platino in pazienti con tumore polmonare. L'rs2042253 del miR-5197 è stato trovato associato con

tossicità severa globale e tossicità ematologica severa mentre l'rs2043556 del miR-605 è stato associato ad epatotossicità in pazienti con tumore polmonare trattati con chemioterapia a base di platino. L'rs2910164 del miR-146 è stato associato con tossicità globale severa in pazienti non fumatori. L'rs895819 del miR-27a è stato correlato con la tossicità gastrointestinale in pazienti di età > 56 anni fumatori e non. L'rs2042253 è stato associato con l'insorgenza di tossicità ematologica in pazienti con SCLC e trattati con cisplatino. Studi precedenti hanno dimostrato il ruolo degli stessi miRNA nel rischio di insorgenza di patologie tumorali, nella prognosi e nella risposta alla terapia.

In conclusione, i dati ottenuti in questo studio dimostrano che i polimorfismi del miR-5197, miR-605, miR-146a e miR27a contribuiscono alla tossicità della chemioterapia in pazienti affetti da tumore polmonare. Pertanto i polimorfismi dei miRNA possono essere considerati predittivi della tossicità da chemioterapia a base di cisplatino. Ulteriori studi sono necessari per confermare questi risultati.

**Parole chiave:** tumore polmonare, *miRNA*, chemio-radioterapia a base di platino

#### Riferimento bibliografico

[Fang C](#) et al. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2016 Nov 22 [Epub ahead of print].

## IMPATTO DEI POLIMORFISMI GENETICI DI FAS E FASL SULL'ESITO CLINICO NEL MESOTELIOMA PLEURALE MALIGNO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il mesotelioma maligno è considerato una patologia correlata all'asbesto, che, nella maggior parte dei casi, coinvolge il mesotelio pleurico. L'approccio multitarget comprendente chirurgia, radio e chemio terapia, offre un modesto miglioramento nella sopravvivenza al mesotelioma maligno della pleura (MPM), ma solo un piccolo sottogruppo di pazienti può accedere a questa modalità in quanto alla maggior parte di essi il tumore viene diagnosticato in fase avanzata, ovvero quando è impossibile la resezione chirurgica. Il trattamento d'elezione è costituito da cisplatino combinato con pemetrexed, anche se in alcuni casi si utilizza la combinazione del platino con gemcitabina, che ha dimostrato risultati comparabili in trials di fase II. Nei pazienti anziani che non tollerano il cisplatino, la terapia prevede l'utilizzo di carboplatino, che ha portato ad esiti clinici paragonabili.

Il ligando FAS (FASL) è una proteina transmembrana che lega il suo recettore, FAS, per iniziare la cascata apoptotica nelle cellule. È stato proposto che il cisplatino eserciti in parte la sua funzione citotossica nel MPM inducendo il *pathway* di FAS; inoltre, diversi studi hanno confermato che sia la gemcitabina, sia il pemetrexed, dipendono da questo *pathway* per attivare la cascata apoptotica. L'ipotesi alla base di questo studio è quindi quella per cui i livelli di espressione di FAS e FASL possano modificare l'attività anticancro di questi agenti. I due polimorfismi FAS-670 A>G (rs1800682) e FASL-844 C>T (rs763110) sono localizzati nelle regioni promotrici di FAS e FASL rispettivamente e possono quindi modificare i loro livelli di espressione. Nonostante siano stati eseguiti studi sulla correlazione di questi SNPs con gli esiti clinici di altri tumori quali quelli al polmone, al seno o alla vescica, i risultati sono stati inconcludenti, e non sono state realizzate ricerche riguardo una possibile loro associazione con MPM. In questo studio è stata quindi indagata la relazione fra gli SNPs FAS-670 A>G e FASL-844 C>T e l'*outcome* di pazienti egiziani affetti da MPM epiteliale, trattato con chemioterapia a base di cisplatino come linea standard, verificando il valore di risposta oggettiva, la progressione priva di ricadute (PFS), e la sopravvivenza globale (OS) a 18 mesi.

Sono stati arruolati 68 pazienti egiziani (43 uomini e 25 donne) affetti da MPM epiteliale. I pazienti hanno ricevuto uno dei seguenti protocolli: cisplatino o carboplatino addizionato con pemetrexed o gemcitabina. Nel caso in cui sia stato somministrato pemetrexed, è stata fatta un'ulteriore aggiunta di acido folico e vitamina B12. La PFS è stata calcolata dal primo giorno del primo ciclo di chemioterapia fino al giorno di progressione o morte per qualunque causa; OS è stata definita dal primo giorno del primo ciclo di chemioterapia fino al giorno della morte. Il follow-up è stato fissato a 18 mesi.

In termini di esito clinico, non sono emerse differenze fra i pazienti trattati con platino in combinazione con gemcitabina o pemetrexed, sia per quanto riguarda il rapporto di risposta ( $P=0.64$ ), PFS ( $P=0.81$ ), oppure OS

( $P=0.47$ ). Le frequenze genotipiche sono risultate in equilibrio di Hardy-Weinberg ed è emerso che il genotipo FASL-844 CC è più comune del previsto nei tumori ai primi stadi, mentre il genotipo FASL-844 TT è più frequente in quelli in stadio avanzato ( $P=0.042$ ).

Nessuno dei pazienti ha raggiunto una risposta completa, mentre 20 pazienti (29.4%) hanno mostrato una risposta parziale. Fra i pazienti analizzati, 32 (47.1%) avevano raggiunto una stabilità nella malattia, mentre in 16 (23.5%) c'è stata progressione. Al termine dello studio, la patologia è progredita in 53 (77.9%) pazienti, 7 (10.3%) hanno completato il follow-up senza mostrare progressioni e 8 (11.8%) hanno mancato il loro follow-up. La PFS totale è stata 16.4%, per i portatori di genotipo FASL-844 CC è stata di 45% rispetto ai FASL-844 CT/TT che è stata 10.6% (log-rank  $P=0.013$ ). Per quanto riguarda i genotipi di FAS-670 A>G, non sono emerse associazioni significative con PFS. In seguito ad aggiustamento per stadio del tumore e numero di cicli di chemio, il polimorfismo FASL-844 C>T è risultato un fattore predittivo indipendente per la PFS (HR =3.77 per FASL-844 CT/TT rispetto a FASL-844 CC; log-rank  $P=0.012$ ). L'OS a 18 mesi è stata di 47.7%, non sono emerse correlazioni significative fra gli SNPs analizzati e OS, l'unica variabile significativa è risultata il numero di cicli di chemioterapia eseguiti (log-rank  $P\leq 0.001$ ).

Nonostante i risultati ottenuti in questo studio siano promettenti, occorre tenere in considerazione alcuni fattori limitanti. Primo fra tutti il numero piuttosto esiguo di pazienti, dovuto anche alla bassa frequenza di questa patologia, che si traduce in una scarsa potenza statistica dello studio. Un altro possibile fattore limitante è costituito dal follow-up limitato a 18 mesi, tuttavia può essere ritenuto ragionevole nel contesto della MPM, considerato che la maggior parte dei pazienti sopravvive per 10-17 mesi dopo la comparsa dei primi sintomi. Inoltre, la coorte era eterogenea, sia per quanto riguarda le caratteristiche cliniche, sia per i protocolli di trattamento seguiti. Pertanto, questi risultati richiedono una conferma in studi più ampi e con maggiore uniformità nei trattamenti.

In conclusione, i risultati di questo studio suggeriscono un possibile ruolo predittivo del polimorfismo FASL-844 C>T sulla progressione tumorale in pazienti egiziani affetti da MPM in trattamento con chemioterapia a base di platino.

**Parole Chiave:** Mesotelioma Pleurico Maligno (MPM), SNPs, FAS e FASL

#### Riferimento bibliografico

[El-Hamamsy M](#) et al. *Onco Targets Ther* 2016, 9:6857-63.

## NEUROLOGIA

### FATTORI GENETICI COINVOLTI NELLA VARIABILITÀ DELLA RISPOSTA ALLA LEVODOPA NEL MORBO DI PARKINSON

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Il morbo di Parkinson è una patologia neurodegenerativa dovuta alla perdita dei neuroni dopaminergici che colpisce generalmente la popolazione anziana. L'eziologia è multifattoriale e i fattori genetici giocano un ruolo importante.

Il pro-farmaco levodopa è considerato anche se con un'ampia variabilità intra e inter-individuale della risposta terapeutica, il trattamento farmacologico di prima linea. Nonostante la sua indiscutibile efficacia nel contrastare la sintomatologia di tipo extrapiramidale la somministrazione prolungata è associata a fluttuazioni motorie e a discinesie farmaco-correlate. Infatti, il 35-40% dei pazienti parkinsoniani trattati con levodopa sviluppa effetti avversi dopo 4-6 anni dall'inizio della terapia. Studi recenti suggeriscono che tali effetti non siano correlati alla durata del trattamento ma piuttosto all'epoca di esordio della patologia e a un'elevata dose giornaliera di farmaco.

Essendo la levodopa il farmaco anti-parkinson di prima scelta, la variabilità della risposta terapeutica a esso associato ha un importante impatto clinico e potrebbe dipendere, almeno in parte, dal background genetico del paziente. Tuttavia, l'influenza dei fattori genetici coinvolti nella neurotrasmissione dopaminergica sulla risposta terapeutica ai farmaci anti-parkinson non è ancora stata chiarita. L'analisi di tali fattori e in particolare delle loro varianti polimorfiche potrebbe aiutare a programmare una terapia "individualizzata" in modo da adeguare caso per caso e nel corso del trattamento cronico le dosi di levodopa ed evitare le complicanze motorie a essa associate.

In questo studio, Altman et al. hanno analizzato il ruolo dei polimorfismi del gene codificante per il trasportatore della dopamina (SLC6A3) e del gene per l'isoforma C della vescicola sinaptica (SV2C), proteine espresse ad alti livelli nello striato e nella substantia nigra e coinvolte nel controllo extracellulare dei livelli di dopamina. La popolazione in studio era rappresentata da 224 pazienti con Parkinson che avevano assunto nell'ultimo anno la levodopa beneficiando di una risposta clinica positiva soprattutto per quanto riguarda il controllo della sintomatologia extrapiramidale. Per ciascun paziente sono stati collezionati dati demografici e clinici come l'età d'insorgenza della sintomatologia, durata di malattia, primo sintomo motorio riscontrato e dose giornaliera di farmaci prescritti.

Sono stati analizzati gli SNPs rs30196 e rs10214163 del gene SV2C e la variante VNTR rs2836371 nella regione 3' UTR del gene SLC6A3.

L'associazione tra questi genotipi, caratteristiche demografico-cliniche e dose di levodopa è stata analizzata attraverso un modello di regressione lineare multipla.

I pazienti arruolati avevano un'età media di 69 anni; tutti assumevano levodopa da almeno un anno a un dosaggio medio di  $715 \pm 297$  mg al giorno e alcuni assumevano farmaci in associazione come il pramipexolo, bromocriptina, entacapone, tolcapone, selegilina e amantadina. Il tremore era il più comune dei sintomi individuati precocemente.

I polimorfismi del gene SV2C influenzavano la dose di levodopa ( $p=0,024$ ) e, in particolare la presenza dell'allele C dell'SNP rs30196 era associata alla somministrazione di una dose più bassa di farmaco. Poiché i geni codificanti per le famiglie delle SV2C modulano i livelli endogeni di levodopa, i portatori dell'allele C-rs30196 potrebbero aver bisogno di una dose minore di farmaco. La variante rs2836371-SLC6A3 non era associata alla dose di levodopa, sebbene in uno studio precedente fosse stato correlato a una risposta clinica favorevole con dosi più basse del farmaco somministrate a intervalli di tempo più lunghi (*Int J Neuropsychopharmacol.* 2013 Jul;16(6):1251-1258.)

Per questo, gli autori hanno creato un modello composto da una variabile genetica combinata comprendente l'SNP SV2C-rs30196 e il polimorfismo VNTR del gene SLC6A3 con 9 ripetizioni.

Gli autori hanno trovato un'associazione statisticamente significativa tra dose di levodopa, durata di malattia ( $r=0.354$ ) e la dose di farmaci co-prescritti, nello specifico entacapone ( $p=0.033$ ) e pramipexolo ( $p=0.006$ ). Tutte le variabili con una  $p<0.20$  all'univariata sono state incluse e analizzate in un modello di regressione multiplo grazie al quale è stato possibile predire il 23% della variabilità della dose efficace di levodopa.

I polimorfismi nei geni che codificano per proteine coinvolte nella trasmissione dopaminergica quali SLC6A3 e SV2C sono coinvolti nella variabilità farmacocinetica e farmacodinamica della risposta alla levodopa.

**Parole chiave:** malattia di Parkinson, dose di levodopa, SV2C e SLC6A3

#### Riferimento bibliografico

[Altmann V](#) et al. *Pharmacogenomics* 2016,17(5):481-88.

## L'EFFETTO DEI POLIMORFISMO DEI GENI *UGT1A9*, *CYP2B6* E *CYP2C9* NELLA FARMACOCINETICA DEL PROPOFOL IN PAZIENTI POLACCHI SOTTOPOSTI AD ANESTESIA GENERALE

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

Il propofol è uno degli anestetici più sicuri e più usati nei pazienti sottoposti ad anestesia generale per via endovenosa. Tuttavia, nella pratica clinica, si osserva un'ampia variabilità inter-individuale di risposta a tale anestetico, incluse le reazioni avverse. Tale variabilità nella farmacocinetica del propofol determina differenze nella dose di anestetico richiesta per indurre un'efficace anestesia generale ed è dovuta soprattutto al polimorfismo dei geni che codificano per enzimi che partecipano al *pathway* di biotrasformazione del propofol. Il propofol è metabolizzato principalmente nel fegato dal citocromo P450 2B6 (CYP2B6) e P450 2C9 (CYP2C9) o dalla UDP-glucuronosiltransferasi 1A9 (UGT1A9). UGT1A9, giocando un ruolo nella biotrasformazione del propofol, è responsabile della coniugazione con l'acido glucuronico di circa il 70% dell'anestetico metabolizzato. Le più importanti varianti del gene *UGT1A9*, che determinano una ridotta attività enzimatica, sono tre: p.M33T, p.D256N e p.Y242X.

E' stato dimostrato che la variazione della sequenza nel codone 33 (c.98T>C, rs72551330, UGT1A9\*3) è in grado di alterare il profilo farmacocinetico e l'efficienza catalitica del legame del propofol all'UGT1A9.

CYP2B6 e CYP2C9 catalizzano l'idrossilazione del propofol. Lo SNP più frequente del gene *CYP2B6* è il c.516G>T (p.Q172H, rs3745274) nell'esone 4, mentre per il gene *CYP2C9* uno degli SNP più frequentemente analizzato è p.I359L (c.1075A>C, rs1057910, CYP2C9\*3). Alla luce di questi dati, lo scopo del presente studio è verificare l'impatto dei seguenti SNPs sul profilo farmacocinetico inter-individuale in un gruppo di pazienti Polacchi sottoposti ad anestesia generale: c.516G>T nel gene *CYP2B6*, c.98T>C in *UGT1A9* e c.1075A>C nel gene *CYP2C9*.

Sono stati sottoposti ad anestesia generale 85 pazienti Polacchi (32 donne e 53 uomini), in occasione di interventi chirurgici laringologici. Tutti i pazienti avevano un'anamnesi negativa per dipendenza da alcool o nicotina e rappresentavano la classe I e II dell'*American Society of Anesthesiologists (ASA) scale* per lo stato fisico (corrispondenti ad un individuo sano o con una malattia sistemica lieve). L'anestesia è stata indotta con propofol (2 mg/kg), seguita da un'infusione continua di 8 mg/kg/h, più boli (20-30 mg). E' stato inoltre utilizzato il fentanil per mantenere l'anestesia. L'infusione, la dose totale di propofol, il sesso, l'età e il *Body Mass Index (BMI)* sono stati monitorati. In tutti i soggetti è stata determinata la concentrazione plasmatica del propofol alla fine dell'anestesia e dopo 5, 10, 20 e 30 minuti. Come parametro farmacocinetico per ciascun paziente è stato calcolato la *mean retention time (MRT)* usando il software *PKSolver*. La genotipizzazione delle 3 varianti polimorfiche, p.Q172H (c.516G>T) nel gene *CYP2B6*, p.M33T (c.98T>C) in *UGT1A9* e p.I359L (c.1075A>C) in *CYP2C9*, è stata analizzata tramite *pyrosequencing*. Il *pyrosequencing* è stato realizzato con il *PSQ™ 96MA system* (Qiagen) usando *PyroMark™ Gold Q96 Reagents* (Qiagen GmbH, Hilden, Germania). La concentrazione plasmatica di propofol nei campioni è stata misurata usando il sistema HPLC/UV (P580A; Dionex, Germania) associato ad un rivelatore di fluorescenza (RF2000; Dionex, Germania).

I risultati hanno mostrato che l'allele CYP2B6\*9 (c.516T) era presente nel campione di pazienti con una frequenza del 18%, mentre le frequenze degli alleli UGT1A9\*3 (c.98C) e CYP2C9\*3 (c.1075C) erano del 2% e 4.7%, rispettivamente. L'MRT del propofol era nel *range* di 8-504 minuti. Usando i percentili sono stati identificati gli scarsi (20), intermedi (42) e rapidi (23) metabolizzatori di propofol, che costituivano il 24%, 49% e 27% dei pazienti, rispettivamente.

Dai dati è emerso che gli omozigoti c. 516T/T erano statisticamente più numerosi nel gruppo dei metabolizzatori rapidi ( $p < 0,05$ ). Inoltre, l'MRT del propofol era correlato con il BMI dei pazienti ( $p < 0,05$ ), essendo significativamente più lungo nei soggetti con più alto BMI. L'età dei pazienti influenzava l'MRT ( $p > 0,05$ ).

L'analisi della distribuzione del genotipo (per c.516 nel gene *CYP2B6*, c.98 in *UGT1A9* e c.1075 in *CYP2C9*) nei profili farmacocinetici ha mostrato che solo c.516G>T correlava con la velocità della biotrasformazione del propofol. Gli omozigoti c.516T/T erano, infatti, statisticamente più spesso identificati come soggetti rapidamente metabolizzanti.

I risultati del presente studio confermano il significato di questa sostituzione, c.516G>T del gene *CYP2B6*, nella velocità metabolica del propofol, dato rilevato anche da precedenti studi. Kansaku e collaboratori hanno mostrato che questa variazione è un fattore genetico determinante nella farmacocinetica e nella farmacodinamica del propofol ed hanno correlato un'alta Cmax dell'anestetico con il genotipo c.516T/T. Altri studi suggeriscono che l'allele c.516T determini una minore dose di propofol somministrata ai pazienti

sottoposti ad anestesia generale. Tuttavia, altri studi non hanno dimostrato associazioni tra i polimorfismi del gene *CYP2B6*, né del gene *UGT1A9* con la risposta al propofol.

Tra i parametri analizzati nel presente studio, solo il BMI era correlato in misura significativa con i profili di farmacocinetica del propofol. Un maggiore *retention time* osservato nei pazienti con più alto BMI può essere spiegato dalla natura lipofila dell'anestetico.

L'allele *CYP2C9\*3* (p.I359L), sebbene sia noto per essere associato ad un'alterata attività enzimatica, non ha avuto, in questo studio, un effetto significativo sulla velocità di biotrasformazione del propofol. Poiché non ci sono in letteratura dati sul ruolo di questa variazione nel metabolismo del propofol in pazienti anestetizzati è difficile discutere questi risultati.

L'effetto di *CYP2B6* p.Q172H sul profilo farmacocinetico del propofol riportato negli studi in letteratura finora disponibili, non è ancora completamente chiarito. Tuttavia, *CYP2B6* gioca un ruolo importante nel processo di biotrasformazione di questo anestetico, attraverso il *pathway* di idrossilazione. Probabilmente, nel gruppo di pazienti del presente studio, la glucuronidazione potrebbe essere la principale reazione nel metabolismo dell'anestetico, che minimizzerebbe l'influenza significativa del polimorfismo del gene *CYP2B6* nella risposta al propofol. Inoltre, vi sono alcune differenze per quanto riguarda i parametri analizzati tra il presente studio e quello di Kansaku e coll.: l'età media dei pazienti, il tempo di infusione del propofol e il *time point* di analisi della *clearance* del propofol dopo l'infusione (30 minuti nel presente studio, rispetto ai 60 minuti nello studio di Kansaku), differenze che potrebbero rendere ragione della discrepanza dei risultati ottenuti nei due studi. Una chiara dimostrazione dell'influenza di c.516G>T del gene *CYP2B6* sulla concentrazione plasmatica del propofol sarebbe possibile determinando i metaboliti del propofol.

Inoltre, la bassa frequenza della variante c.516G>T del gene *CYP2B6* potrebbe anche essere la causa della discrepanza dei dati riportati nel presente studio rispetto a quelli in letteratura.

In conclusione, il presente studio mostra che il polimorfismo c.516G>T del gene *CYP2B6* e l'indice di massa corporea influenzano il metabolismo del propofol in una popolazione di pazienti Polacchi sottoposti ad anestesia generale con questo farmaco.

**Parole chiave:** propofol, risposta individuale, farmacocinetica, anestesia generale, genotipizzazione

#### Riferimento bibliografico

[Mikstacki A](#) et al. *J Appl Genetics* 2016 Nov 8 [Epub ahead of print].

---

## PREDIZIONE DELL'AUMENTO DI PESO PRECOCE DURANTE IL TRATTAMENTO CON FARMACI PSICOTROPI TRAMITE UN MODELLO CHE COMBINA MARKER CLINICI E GENETICI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

L'obesità rappresenta un problema di salute pubblica di enorme rilevanza, con una prevalenza del 20-23% in Europa e del 35% negli Stati Uniti. Nella popolazione psichiatrica la prevalenza è ulteriormente superiore, raggiungendo una percentuale del 49% nei pazienti con disturbo bipolare e del 55% nei pazienti con schizofrenia. Inoltre, la popolazione psichiatrica presenta un'incidenza doppia di diabete mellito di tipo 2 (T2DM) e di ipertensione rispetto alla popolazione generale. L'alta prevalenza di disturbi metabolici può essere spiegata, almeno in parte, dagli effetti indotti dall'assunzione di farmaci psicotropi come gli antipsicotici atipici e alcuni antipsicotici classici, stabilizzanti dell'umore (ad esempio valproato e litio) e alcuni antidepressivi (ad esempio mirtazapina) che hanno effetti noti sul peso. Il meccanismo molecolare alla base dell'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi è conosciuto soltanto in parte, mentre sono stati segnalati alcuni fattori predisponenti (sesso femminile, BMI non elevato prima dell'inizio del trattamento, giovane età, primo episodio di malattia e etnia non Caucasica).

Nonostante gli studi di *genome-wide association* (GWA) abbiano identificato numerosi polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) associati con il BMI, la percentuale della varianza del BMI che questi SNPs sono in grado di spiegare nella popolazione generale rimane bassa (1,45%), a ulteriore conferma della complessità dei meccanismi implicati nella regolazione del peso corporeo e del coinvolgimento di numerosi fattori

ambientali. Alcuni studi suggeriscono un'ereditarietà dell'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi e hanno mostrato l'associazione di alcune varianti genetiche con questo tratto. I risultati più promettenti sono stati ottenuti per varianti localizzate nei geni *CRTC1*, *PCK1*, *MCHR2* e *HSD11β1*. Gli *effect size* dell'associazione tra alcune di queste varianti e l'aumento di peso nelle coorti psichiatriche sono risultati superiori rispetto a quelli riportati nella popolazione generale, suggerendo un'importante interazione tra varianti genetiche e fattori ambientali (malattia psichiatrica, trattamento farmacologico e stile di vita).

L'aumento di peso può avvenire precocemente, nel corso del primo mese di trattamento. I pazienti che mostrano un aumento di peso rapido durante il primo mese di trattamento sono soggetti ad un maggiore rischio di un aumento di peso significativo nel lungo termine. Essere in grado di individuare, ancor prima dell'inizio del trattamento, i pazienti a maggior rischio di aumento di peso precoce, sarebbe di notevole utilità per impostare una terapia personalizzata. Gli autori dello studio hanno studiato quanto un modello che includeva variabili cliniche e genetiche fosse in grado di predire il rischio di un aumento di peso superiore al 5% in una coorte psichiatrica dopo un mese di trattamento con farmaci psicotropi. I risultati sono stati replicati su una seconda coorte indipendente.

I pazienti sono stati selezionati da uno studio osservazionale longitudinale che ha valutato il *follow-up* metabolico dei pazienti che intraprendevano un trattamento con clozapina, olanzapina, risperidone, quetiapina, aripiprazolo, amisulpride, litio, valproico e/o mirtazapina. Nello studio sono stati inclusi soltanto pazienti di etnia caucasica, con *follow-up* di durata minima pari ad 1 mese e conferma della *compliance* tramite il monitoraggio dei livelli ematici del farmaco alla visita ad 1 mese (o a 3 mesi nel caso in cui il plasma non fosse disponibile alla visita ad 1 mese, n = 40).

Sono stati genotipizzati SNP precedentemente associati con il diabete mellito di tipo 2 (T2DM, n = 23) o con il BMI (n = 32) con significatività *genome-wide* o precedentemente associati con l'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi nei primi tre mesi di trattamento. Nella coorte di *discovery* gli SNP sono stati genotipizzati con *array* MetaboChip, mentre nella coorte di replicazione con sistema KASP™.

L'effetto degli SNP sull'aumento di peso precoce è stato valutato tramite un'analisi di regressione logistica. I farmaci sono stati raggruppati in base alla loro capacità potenziale di indurre aumento di peso (basso: amisulpride, aripiprazolo; media: quetiapina, risperidone, litio, mirtazapina; alta: clozapina, olanzapina e valproato). Gli SNP sono stati analizzati secondo il modello additivo e sono stati selezionati per l'inclusione nel modello tramite approccio *step-wise* sulla base dell'*Akaike Information Criterion* (AIC). L'area sotto la curva (AUC) della curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*) è stata utilizzata per calcolare la probabilità che i modelli (uno che includeva solo le variabili cliniche e demografiche, e un altro che comprendeva anche le informazioni genetiche) classificassero correttamente un paziente soggetto ad un aumento di peso superiore al 5%. Un'AUC di 0.75 è stata considerata sufficientemente informativa. La bontà del modello è stata successivamente testata nella coorte di replicazione.

E' stato inoltre determinato il *number needed to genotype*, ovvero il numero di pazienti da genotipizzare per rilevare un caso non classificato correttamente utilizzando le sole informazioni cliniche.

Lo studio ha incluso 248 pazienti dei quali al *baseline* il 22% aveva un BMI compreso tra 25 e 30 kg/m<sup>2</sup>, e il 14% un BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>. I pazienti che hanno mostrato un aumento di peso superiore al 5% erano significativamente più giovani e avevano una minore prevalenza di obesità al *baseline*. I disturbi psicotici rappresentavano la diagnosi più frequente e il risperidone il farmaco psicotropo più comunemente assunto (40%).

Tra gli SNP precedentemente associati con il T2DM, 4 sono sopravvissuti alla selezione tramite AIC. Nessuno di questi SNP è risultato associato con l'aumento di peso a 1 mese o migliorava l'accuratezza del modello rispetto alle sole variabili cliniche.

Tra gli SNP precedentemente associati con il BMI, 12 sono stati selezionati tramite l'AIC. L'aggiunta di queste variabili ha migliorato in modo significativo l'AUC del modello rispetto alla sola inclusione delle variabili cliniche [AUC (modello clinico) = 0,75; AUC (modello clinico + SNP GWAS) = 0,88, P (AUC) = 0,0002]. Inoltre, l'aggiunta al modello dei 12 SNP ha determinato un aumento significativo dell'accuratezza [Accuratezza (modello clinico) = 70; Accuratezza (modello clinico + SNP GWAS) = 83].

Tra gli SNP genotipizzati in base alla precedente associazione con l'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi in studi su geni candidati, 9 sono stati selezionati sulla base dell'AIC. Nonostante l'aggiunta di questi 9 SNP migliorasse in modo significativo l'AUC del modello clinico [AUC (modello clinico) = 0,75;

AUC (modello clinico + SNP geni candidati) = 0,85; P (AUC) = 0.01], la loro aggiunta non apportava un aumento significativo dell'accuratezza del modello.

Per il modello finale sono stati valutati i 9 SNP provenienti da studi su geni candidati e i 12 SNP selezionati in base all'associazione con il BMI in studi di GWA. Una ulteriore selezione in base all'AIC ha portato all'inclusione di 18 SNP nel modello finale. I tre SNP più significativi sono risultati rs6864049 (*ZNF608*), rs12444979 (*GPRC5B-IQCK*) e rs324420 (*FAAH*).

L'AUC del modello finale era significativamente più alta rispetto a quella del modello che includeva solo variabili cliniche AUC (modello clinico) = 0,75; AUC (modello finale) = 0,92; P (AUC) < 0.001). Inoltre, il modello finale ha mostrato migliori accuratezza, potere predittivo negativo e potere predittivo positivo. Rispetto al modello che includeva le sole variabili cliniche, quello che includeva anche le variabili genetiche aveva un'accuratezza superiore del 17% (dal 70 all'87%). Il *number needed to genotype* è risultato pari a 6.

Tra le varianti incluse nel modello finale, rs17300539 (*ADIPOQ*) è stato associato precedentemente con bassi livelli di adiponectina, mentre le varianti rs324420 (*FAAH*) e rs12444979 (*GPRC5B-IQCK*) sono localizzate in geni precedentemente associati con disturbi psichiatrici.

I limiti dello studio includono il fatto che molti pazienti fossero stati in precedenza esposti a farmaci psicotropi, la scelta di utilizzare un approccio di geni candidati e la dimensione del campione limitata, che ha impedito la possibilità di stratificare in base alla diagnosi o al farmaco.

In conclusione, lo studio suggerisce che l'aggiunta di varianti genetiche ad un modello comprendente i fattori di rischio clinici migliora l'accuratezza nel predire il rischio di aumento di peso precoce indotto da farmaci psicotropi.

**Parole chiave:** farmaci psicotropi, aumento di peso, *ADIPOQ*, *FAAH*

#### Riferimento bibliografico

[Vandenbergher F et al. Pharmacogenet Genomics 2016, 26: 547-57.](#)

## CARDIOVASCOLARE

### VALUTAZIONE DI UN ALGORITMO BASATO SULLA FARMACOGENETICA PER IL DOSAGGIO DI WARFARIN NEI PAZIENTI CON RIDOTTO TEMPO IN RANGE TERAPEUTICO - PROTOCOLLO DI STUDIO PER UN TRIAL CONTROLLATO E RANDOMIZZATO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il warfarin è un antagonista della vitamina K ed è l'agente anticoagulante orale più prescritto in tutto il mondo. Esso viene utilizzato per prevenire morbilità e mortalità da tromboembolia e, per questo, è molto importante ottenere una terapia anticoagulante ottimale. Inoltre, il warfarin ha un range terapeutico ristretto, dunque difficilmente viene raggiunto e mantenuto l'obiettivo terapeutico.

Il tempo trascorso in range terapeutico (TTR) misura la qualità del trattamento con il warfarin; valori di TTR <50% sono associati ad un maggior rischio di tromboembolia ed eventi emorragici; mentre valori > 65% sono associati all'efficacia terapeutica. Età, sesso, razza e farmaci concomitanti possono influenzare il TTR. Inoltre, alcuni studi hanno valutato l'impatto di algoritmi di farmacogenetica per guidare l'inizio del trattamento. *Pirmohamed et al.*, usando una versione leggermente modificata dell'International Warfarin Pharmacogenetics Consortium algorithm, hanno osservato che la percentuale media di TTR era più alta nel gruppo con il dosaggio genotipo-guidato (67,4%) rispetto al gruppo di controllo (60,3%,  $p < 0,001$ ). *Verhoef et al.*, usando un algoritmo sviluppato dal gruppo di EU-PACT per i farmaci fenprocumone e acenocumarolo, hanno notato che il dosaggio genotipo-guidato non ha migliorato il TTR durante le prime 12 settimane di terapia (61,6 e 60,2%,  $p=0,52$ ); tuttavia, hanno osservato un TTR diverso durante le prime 4 settimane (52,8 e 47,5%,  $p = 0,02$ ). *Kimmel et al.*, usando un algoritmo sviluppato dal gruppo di COAG,

hanno concluso che il dosaggio genotipo-guidato del warfarin non ha migliorato l'effetto anticoagulante durante le prime 4 settimane di terapia. Recentemente, gli autori di questo manoscritto, hanno sviluppato un algoritmo di dosaggio del warfarin basato sulla farmacogenetica per gli individui brasiliani, una popolazione altamente disomogenea. Esso è stato dimostrato essere più preciso di algoritmi precedentemente sviluppati. L'obiettivo principale di questo studio sarà quello di comparare l'impatto di un algoritmo basato sulla genetica, specifico per la popolazione brasiliana, rispetto alla terapia anticoagulante tradizionale, in termini di tempo per raggiungere il *target* terapeutico e della percentuale di TTR a 4 e 12 settimane; sarà inoltre valutato il rapporto costo-efficacia del dosaggio di warfarin genotipo-guidato in una specifica coorte di pazienti con bassa TTR (<50%).

Saranno reclutati 300 pazienti con bassa TTR (<50%) trattati presso l'Heart Institute- Clinical Hospital-University della São Paulo Medical School (InCor-HCFMUSP). I criteri di inclusione saranno: fibrillazione atriale, età maggiore di 18 anni, TTR <50% sulla base degli ultimi tre valori di INR (rapporto internazionale normalizzato). I criteri di esclusione saranno: raggiungimento di una dose stabile di warfarin, disfunzione epatica, alcolismo, uso di un altro anticoagulante, chemioterapia, cambiamento della dose di amiodarone nella settimana precedente, non soddisfazione dei criteri di inclusione.

I pazienti saranno randomizzati in due gruppi: gruppo TA (anticoagulante tradizionale, 150 pazienti) e il gruppo di PA (anticoagulazione su base farmacogenetica, 150 pazienti).

Per il gruppo TA, il medico regolerà la dose in base al valore di INR: i pazienti con INR <1.8 o > 3.2 saranno sottoposti ad aggiustamento della dose; per coloro con INR da 1.8 a <2.0 o da > 3.0-3.2, la dose di warfarin sarà mantenuta e il test INR sarà ripetuto ogni 7 giorni; nei pazienti con INR compresi tra 1.8 e 2.0 o tra 3.0 e 3.2, la dose di warfarin verrà cambiata. La dose media settimanale di warfarin verrà modificata in base al valore di INR del paziente: ≤1.5, aumento del 20%; > 1.5- <2.0, aumento del 5%; > 3.0-3.5, diminuzione del 5%; > 3.5- <6.0, 1 dose, diminuzione del 15%; ≥6.0, warfarin e aggiunta di vitamina K secondo linee guida.

Per il gruppo PA, la dose sarà prescritta sulla base di dati provenienti da ogni paziente, applicati in un algoritmo di farmacogenetica.

Alla seconda (7 giorni), terza (14 giorni), quarta (21 giorni) e quinta (28 giorni) consultazione il dosaggio di warfarin verrà regolato, se necessario, secondo linee guida attuali. Dopo la quinta consultazione, se l'INR del paziente rientra nell'obiettivo terapeutico, la misurazione successiva verrà effettuata dopo 30 giorni; contrariamente, verrà aggiustata la dose di warfarin e sarà effettuata una nuova misurazione dopo 7 giorni.

La terapia anticoagulante orale sarà valutata tramite il tempo di protrombina (PT) con un metodo coagulometrico automatizzato. Il calcolo dell'INR consisterà nel rapporto PT dei pazienti/ PT dei controlli normali, elevato per l'indice di sensibilità internazionale. Oltre l'INR in corso, gli ultimi valori di INR saranno controllati dalle cartelle cliniche elettroniche. Il TTR verrà calcolato con il metodo Rosendaal, che utilizza l'interpolazione lineare per assegnare un valore INR di ogni giorno tra i successivi valori di INR osservati. Il sangue venoso periferico verrà utilizzato per la misurazione di creatinina sierica, alanina aminotransferasi (ALT) e aspartato aminotransferasi (AST), tramite test colorimetrici ed enzimatici.

I medici e i farmacisti compileranno un questionario per ogni paziente, con le seguenti variabili: nome, età, sesso, indice di massa corporea, fumo, assunzione settimanale di bevande alcoliche, assunzione settimanale di verdure verde scuro, comorbidità, ultimi INR, eventi avversi, farmaci concomitanti. Inoltre, i pazienti verranno valutati con i punteggi CHADS2VASc2 (stima di rischio di ictus) e HAS-BLED (stima il rischio di sanguinamento). Il punteggio ottenuto servirà per fornire informazioni sulla dose di warfarin settimanale e giornaliera, e sui valori di INR. Le informazioni raccolte verranno gestite utilizzando l'applicazione Redcap (Research Electronic Data Capture).

Il DNA genomico verrà estratto mediante kit QIAamp DNA (QIAGEN, Hilden, Germania) da leucociti del sangue periferico. La genotipizzazione dei polimorfismi CYP2C9\*2 (c.430C> T, rs1799853), CYP2C9\*3 (c.1075A> C, rs1057910), e VKORC1 3673 (g.1639G> A, rs9923231) verrà effettuata mediante Real-Time PCR utilizzando sonde TaqMan (Applied Biosystems, CA, USA).

I pazienti saranno divisi in tre fenotipi previsti distinti: metabolizzatori veloci (EM: genotipi wild-type per i polimorfismi CYP2C9-\*1/\*1), metabolizzatori intermedi (IM: genotipi eterozigoti per la perdita di funzione dei polimorfismi CYP2C9-\*1/\*2 o \*1/\*3) e metabolizzatori lenti (PM: genotipi polimorfici omozigoti o eterozigoti composti per la perdita di funzione dei polimorfismi CYP2C9-\*2/\*2 o \*3/\*3 o \*2/\*3).

L'algoritmo di farmacogenetica utilizzato in questo studio clinico sarà sviluppato e validato utilizzando due coorti di pazienti indipendenti. Esso includerà le variabili età, sesso, peso, altezza, razza, uso di amiodarone, uso di induttori enzimatici, genotipo di VKORC1 e fenotipi previsti in base ai polimorfismi del CYP2C9.

Verrà inoltre valutata la relazione costo-efficacia di entrambi i gruppi (TA e PA), includendo i costi del test genetico, dei test INR e delle visite mediche e l'efficacia della terapia anticoagulante. Verrà fatta anche una stima dei costi per il calcolo del QALY (costi nel corso della vita e gli anni di vita aggiustati per la qualità), che comprende sanguinamento maggiore (che richiede ospedalizzazione), gravi eventi tromboembolici (ictus embolico, embolia sistemica, attacchi ischemici, trombosi venosa profonda ed embolia polmonare) e la morte.

Questo studio randomizzato è stato progettato per valutare se un algoritmo genetico specifico per la popolazione potrebbe essere più efficace della terapia anticoagulante tradizionale per un gruppo selezionato di pazienti con bassa TTR. Nessuno studio fino ad oggi si è concentrato su questo specifico gruppo di pazienti difficili da trattare.

Questo studio randomizzato prevede il reclutamento di pazienti con basso TTR e valuterà se un algoritmo genetico specifico per la popolazione brasiliana potrebbe essere più efficace della terapia anticoagulante tradizionale.

**Parole chiave**

TTR, INR, CYP2C9\*2, CYP2C9\*3, VKORC1 3673

**Riferimento bibliografico**

[Marcatto LR](#) et al. *BMC Cardiovasc Disord* 2016, 16(1): 224.

## IMMUNOMODULAZIONE

### LA VARIANTE FUNZIONALE DEL RECETTORE CANNABINOIDE 2 CONTRIBUISCE ALL'INSORGENZA DELLE MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI PEDIATRICHE

*A cura delle Dott.sse Alessia Di Silvestre e Marianna Lucafò*

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) sono caratterizzate da un'infiammazione cronica del tratto gastrointestinale e possono essere distinte in morbo di Crohn (CD) e rettocolite ulcerosa (UC). L'incidenza delle MICI è in forte aumento nei pazienti in età pediatrica e nonostante i progressi terapeutici ottenuti grazie alle maggiori conoscenze sulla patogenesi della malattia, sono necessari nuovi approcci farmacologici a causa della frequente resistenza osservata ai trattamenti farmacologici.

Il sistema endocannabinoide (EC), comprensivo dei neurotrasmettitori endocannabinoidi e dei relativi recettori cannabinoidi associati alla proteina G di tipo 1 e 2 (CB1 e CB2), è stato indicato come un possibile target terapeutico per le MICI. In letteratura, una variante funzionale di CB1 è stata associata alla suscettibilità alla UC e al fenotipo del CD. Inoltre, studi genome-wide su campioni di pazienti MICI hanno mostrato un linkage con la regione 1p36 dove risiede il gene *CNR2*, che codifica per CB2. La variante genica, sul gene *CNR2*, rs35761398 (CAA/CGG) è in grado di modulare la risposta immunitaria. Nella variante rs35761398 si osserva la sostituzione della glutammina (Q) con l'arginina (R) sul codone 63; questa sostituzione è in grado di modificare l'attività del recettore CB2. Gli EC producono infatti uno sbilanciamento nel rapporto tra i due tipi di cellule Th, sopprimendo le cellule Th1 e aumentando i livelli delle cellule Th2. La presenza della variante R, allele GG, riduce significativamente l'effetto indotto degli endocannabinoidi, rendendo il recettore CB2 meno funzionale.

Lo scopo di questo lavoro è di stabilire il ruolo di CB2-Q63R nelle MICI. Lo studio è stato condotto su una popolazione di 217 pazienti pediatriche con MICI arruolati tra gennaio 2001 e agosto 2015 (112 affetti da

morbo di Crohn e 105 con la rettocolite ulcerosa; maschi: 50%; età mediana: 13,1 anni (range: 6-16 anni)) e su 600 controlli sani italiani (maschi: 46%; età mediana 12,5 anni (range: 4-16,8 anni)), già genotipizzati per la variante CB2-Q63R con metodica Taqman. I dati clinici e demografici sono stati raccolti retrospettivamente, in cieco rispetto alle analisi genetiche. La gravità della malattia è stata definita tramite gli indici di attività PCDAI e PUCAI, comunemente impiegati nella pratica clinica rispettivamente per il CD e la UC. La localizzazione della malattia è stata eseguita secondo i criteri di Parigi.

La distribuzione del genotipo nei pazienti MICI non è risultata in accordo con l'equilibrio di Hardy-Weinberg ( $P=0,009$ ), prendendo come riferimento la distribuzione del genotipo nei controlli sani (frequenza dell'allele minore A, codificante la variante Q = 0,42). Raggruppando i pazienti sulla base delle due forme, CD e UC, l'equilibrio viene rispettato solo nei pazienti UC ( $P=0,24$ ).

I risultati ottenuti mostrano che la frequenza allelica AA, codificante per Q, nei pazienti CD è minore rispetto ai controlli ( $X^2$ ,  $P=0,002$ ), mentre non è significativamente diversa nei pazienti UC ( $X^2$ ,  $P=0,31$ ). La frequenza genotipica, invece, è diversa dai controlli sani sia per pazienti CD sia UC ( $P=0,00005$  e  $P=0,03$ , rispettivamente). I soggetti in omozigosi per R (GG/GG) hanno un'aumentata suscettibilità nello sviluppare CD, con un grado di confidenza del 95% (odds ratio (OR)=1,82,  $P=0,0002$  per MICI; OR=2,02,  $P=0,001$  per CD; OR=1,63,  $P=0,02$  per UC). Anche considerando la presenza di un solo allele GG (omozigosi per RR + eterozigosi QR vs. QQ) il rischio di sviluppare CD è significativamente più alto (OR=6,92,  $P=0,0002$ ).

Analizzando le caratteristiche cliniche rispetto alla variante CB2-Q63R, è stato trovato un aumento nell'indice di attività della malattia nei pazienti omozigoti per la variante R63 (GG/GG). In particolare, un'aumentata frequenza del PCDAI da moderato a severo alla diagnosi è stata osservata nei pazienti CD che portano il genotipo RR ( $P=0,01$ ). Inoltre nei pazienti UC, la variante CB2-Q63R in omozigosi è associata ad una maggiore attività della malattia alla diagnosi ( $PUCAI>35$ ,  $P=0,02$ ) oltre che una più alta incidenza di ricaduta precoce ( $P=0,04$ ).

Lo studio presenta il limite di esser stato condotto su un numero limitato di pazienti che sono stati arruolati solo in Italia meridionale: i risultati non sono quindi generalizzabili a tutta la popolazione italiana o ad altre popolazioni. Uno studio multicentrico sia su pazienti pediatriche che adulti, potrebbe essere utile per chiarire il ruolo di CB2 nell'eziopatogenesi delle MICI.

In questo lavoro si dimostra per la prima volta l'associazione tra il polimorfismo rs35761398 sul gene CNR2 (variante CB2-Q63R) e il rischio di UC e CD pediatriche. Il genotipo RR è maggiormente presente nei pazienti pediatriche con MICI e, analizzando separatamente le due forme della malattia, si è visto che c'è una maggiore frequenza del genotipo RR nei pazienti pediatriche affetti da CD. I risultati osservati suggeriscono che il recettore CB2 potrebbe rappresentare un potenziale target terapeutico per la cura delle MICI.

**Parole chiave:** infiammazione, morbo di Crohn, rettocolite ulcerosa, rs35761398

#### Riferimento bibliografico

[Strisciuglio C](#) et al. *J Clin Gastroenterol* 2016 Nov 21 [Epub ahead of print].

*La redazione augura a tutti Buone Feste*



### Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

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

[sif.informazione@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 Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Alessia Di Silvestre (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravagnini (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.

---

---