



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 97 – Luglio 2017

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Il DNA tumorale circolante come possibile biomarcatore per predire il decorso clinico e monitorare la risposta al trattamento chemioterapico di pazienti affetti da neoplasia pancreaticata
- Una *signature* di microRNA è associata con la risposta patologica completa ad un nuovo regime terapeutico neoadiuvante nel tumore alla mammella triplo negativo
- Associazione di polimorfismi dei geni NR1H2, CYP3A5 e ABCB1 con la variabilità farmacocinetica e la tossicità del temsirolimus in pazienti con tumore metastatico della vescica
- Fattori predittivi e prognostici in pazienti affette da tumore alla cervice metastatico o ricorrente in trattamento con chemioterapia a base di platino

⇒ Neurologia

- Associazione tra i polimorfismi del trasportatore della serotonina (5-HTTLPR) e i punteggi MADRS relativi a disforia, lentezza e sintomi vegetativi nel trattamento della depressione
- Effetto protettivo di *CYP2C19*17* nei confronti delle complicanze metaboliche nel corso del trattamento con clozapina

⇒ Immunomodulazione

- Valutazione dei livelli di espressione dell'mRNA del *tumor necrosis factor* (TNF)- α e del polimorfismo rs1799964 del gene del TNF- α nelle cellule mononucleate del sangue periferico di pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali

⇒ Infettivologia

- Effetto della farmacogenetica sulla farmacocinetica della lumefantrina e sull'*outcome* del trattamento della malaria in donne in gravidanza

⇒ La metanalisi del mese

- Revisione sistematica e metanalisi su polimorfismi e farmacogenomica nella tossicità da metotrexato somministrato in monoterapia in pazienti con artrite reumatoide

ONCOLOGIA**IL DNA TUMORALE CIRCOLANTE COME POSSIBILE BIOMARCATORE PER PREDIRE IL DECORSO CLINICO E MONITORARE LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CHEMIOTERAPICO DI PAZIENTI AFFETTI DA NEOPLASIA PANCREATICA**

A cura delle Dott.ssa Eleonora Rofi

Il carcinoma del pancreas (PDAC) rappresenta la quarta causa di morte per tumore nel mondo. Purtroppo, solo il 15-20 % dei pazienti presenta una malattia suscettibile di resezione chirurgica alla diagnosi, unico trattamento potenzialmente curativo per questa neoplasia. Attualmente, le combinazioni fluorouracile, leucovorina, irinotecan e oxaliplatino (FOLFIRINOX) e gemcitabina e nab-paclitaxel (paclitaxel legato all'albumina formulato in nano particelle) rappresentano il trattamento in prima linea standard per i pazienti con malattia localmente avanzata o metastatica. Nonostante i progressi scientifici in termini di trattamento farmacologico, la sopravvivenza a 5 anni di questi pazienti rimane inferiore al 5%. In supporto alle tecniche di imaging, il marcatore sierico CA 19-9 è normalmente utilizzato nella diagnosi, nella prognosi e nel follow-up dei pazienti con PDAC. Tuttavia, la sensibilità e la specificità di tale marcatore risultano deboli, ed i suoi livelli possono essere alterati anche in condizioni non maligne. Sussiste, pertanto, la necessità di trovare nuovi biomarcatori affidabili, utilizzabili per una corretta diagnosi, per il monitoraggio nel tempo del decorso clinico e dell'efficacia del trattamento terapeutico nei pazienti con PDAC.

Nell'eziologia del tumore rivestono un ruolo significativo mutazioni "drivers" a carico di geni chiave quali KRAS, CDKN2A, SMAD4 e TP53. Purtroppo, nessuna di queste alterazioni è risultata utile per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche. Recenti studi indicano che il microambiente tumorale, caratterizzato da un denso e fibroso tessuto stromale, rappresenta una barriera meccanica criticamente coinvolta nella resistenza ai trattamenti chemioterapici.

La ricerca ha individuato il DNA tumorale circolante (ctDNA), e quindi la biopsia liquida, come uno strumento non invasivo utile nella caratterizzazione molecolare di una neoplasia e nella definizione dei meccanismi di resistenza ai trattamenti farmacologici.

Gli Autori di questo studio hanno primariamente utilizzato la tecnologia del sequenziamento massivo in parallelo (o Next Generation Sequencing, NGS) di nuova generazione per l'identificazione di nuovi geni associati alla malattia, valutando un pannello di 60 geni candidati sul DNA circolante estratto dal plasma di 10 pazienti affetti da PDAC, prima dell'inizio della terapia chemioterapica. Successivamente, le mutazioni identificate sono state validate con il sistema della digital droplet PCR (ddPCR) analizzando il ctDNA estratto dal plasma di 188 pazienti con PDAC. Infine, in uno studio prospettico, il ctDNA estratto da campioni plasmatici seriali di 13 pazienti con PDAC è stato analizzato per identificare un suo potenziale ruolo come biomarcatore per il monitoraggio della risposta tumorale in seguito a trattamento con gemcitabina e nab-paclitaxel.

Dall'analisi condotta con tecnologia NGS e dalla successiva validazione con sistema ddPCR, sono state selezionate mutazioni somatiche a carico di 5 geni (geni KRAS, BRCA2, EGFR, KDR e ERBB2). In particolare, dei 188 campioni analizzati, il 72.3% è risultato KRAS mutato (p.G12V il 34.6%, p.G12D il 52.1% e p.G12R il 9.0%), l'11.7% mutato per BRCA2, il 13.3% mutato per EGFR, il 13.8% mutato per KDR e, infine, il 13.3% e il 6.4% mutato, rispettivamente, per ERBB2 esone 17 e ERBB2 esone 27.

I risultati dell'analisi di regressione multivariata di Cox hanno mostrato come mutazioni e carico dell'esone 17 del gene ERBB2 e la mutazione p.G12V a carico del gene KRAS rappresentino fattori indipendenti associati all'overall survival ($p=0.035$, HR=1.61 e $p=0.019$, HR=1.45, rispettivamente).

Inoltre, nello studio prospettico di monitoraggio, i livelli della mutazione di KRAS p.G12V nel ctDNA estratto da campioni plasmatici seriali di 13 pazienti con PDAC, hanno mostrato un maggior intervallo dinamico ed una maggior correlazione con i cambiamenti del tumore durante il trattamento, rispetto ad altri marcatori, tra cui il CA 19.9. In particolare, il ctDNA è stato identificato e risultato essere associato alla risposta del tumore al trattamento in 10 dei 13 pazienti (76.9%), come confermato dalle immagini

radiografiche. Interessante notare che il ctDNA ha fornito la misura più precoce di risposta al trattamento in 6 su 10 pazienti (60%; 3 pazienti non presentavano progressione di malattia durante il periodo di follow-up).

Ad oggi, pochi studi hanno indagato l'utilità clinica del ctDNA nella gestione dei pazienti con PDAC. Nonostante la limitazione principale dello studio, rappresentata dal numero esiguo di pazienti inclusi, in particolare nello studio prospettico di monitoraggio, i risultati hanno messo in evidenza come, avvalendosi di nuove tecnologie (ad esempio ddPCR), il DNA tumorale circolante possa essere un biomarcatore specifico e sensibile per il tumore del pancreas, in grado di fornire importanti informazioni sull'instabilità genomica tumorale e di prevedere la comparsa precoce di resistenza al trattamento chemioterapico.

Parole chiave: PDAC, DNA tumorale circolante, KRAS, chemioterapia, ddPCR

Riferimento bibliografico

[Cheng H](#) et al. *Int J Cancer* 2017, 140(10):2344-50

UNA SIGNATURE DI MICRORNA È ASSOCIATA CON LA RISPOSTA PATOLOGICA COMPLETA AD UN NUOVO REGIME TERAPEUTICO NEOADIUVANTE NEL TUMORE ALLA MAMMELLA TRIPLO NEGATIVO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro alla mammella è una delle principali cause di morte tra le donne. Nello specifico, il cancro alla mammella triplo negativo (TNBC) è un sottotipo eterogeneo e molto aggressivo che caratterizza circa il 12-15% dei casi ed ha una prognosi sfavorevole.

La risposta patologica completa (pCR), definita come l'assenza di malattia residua alla mammella ed ai linfonodi, è il criterio per la discriminazione tra pazienti con *outcome* favorevole o sfavorevole alla chemioterapia neoadiuvante. Tuttavia, al momento, non sono stati identificati biomarcatori specifici in grado di predire la risposta a questo regime terapeutico. Negli ultimi anni, i miRNA hanno attirato l'attenzione dei ricercatori grazie al loro ruolo nella regolazione dell'espressione genica e di molti processi biologici. Tuttavia, la loro rilevanza come predittori di risposta clinica nei pazienti con tumore al cancro alla mammella non è stata completamente compresa. Date le suddette premesse, lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare l'espressione di un pannello di 754 miRNA, in pazienti affetti da TNBC ed in trattamento con chemioterapia adiuvante con 5-fluorouracile, adriamicina, ciclofosfamida-cisplatino/paclitaxel (FAC-CDDP/PTX).

La coorte analizzata era composta da un totale di 18 pazienti, di cui 10 avevano mostrato una risposta patologica completa e 8 no. I pazienti avevano un'età compresa tra 28 e 65 anni. Analizzando i livelli di espressione tra i pazienti pCR *versus* non-pCR sono stati identificati 11 miRNA differenzialmente espressi ($p < 0.05$, $FC > 1.5$), di cui 3 erano down-regolati (miR-143-5p, miR-770-5p, miR584) e 8 up-regolati (miR-135b, miR-380-5p, miR-941, miR-30a-3p, miR-652, miR-9-3p, miR-181c* e miR-135*) nei pazienti responsivi. Per confermare i dati del *profiling*, 4 miRNA (miR-30a-3p, miR-9-3p, miR-770-5p, miR-143-5p) sono stati analizzati singolarmente mediante qRT-PCR, mostrando risultati simili. Successivamente, i 4 miRNA sono stati valutati in RT-PCR in una coorte indipendente di 17 soggetti affetti da TNBC, confermando che questi miRNA erano in grado di discriminare tra i pazienti con pCR e non pCR.

Le analisi di Kaplan-Meier sono state impiegate per stimare la sopravvivenza libera da malattia (DFS); i pazienti sono stati dicotomizzati in due gruppi in base ai livelli di espressione dei miRNA (espressione alta *versus* espressione bassa). L'espressione della *signature* di miRNA comparata con il livello mediano è risultata essere un predittore significativo della mancata risposta al regime FAC-CDDP/PTX (long-rank test $p < 0.001$, 95% CI: 0.014-0.052).

Gli autori hanno scelto di focalizzarsi specificatamente su un sottogruppo di pazienti affetti da tumore alla mammella e questo rende la casistica piuttosto omogenea. Tuttavia, lo studio ha analizzato un totale di 35 casi di TNBC, che rappresenta una coorte relativamente piccola e che non offre certamente un adeguato potere statistico. Per questo, i dati andrebbero considerati di tipo esplorativo e come punto di partenza per successive analisi, valutando anche gli altri sottogruppi di cancro alla mammella.

Tra i punti meno chiari dell'articolo, gli autori non descrivono il criterio con cui hanno scelto i 4 miRNA da validare che costituiscono la *signature* significativa, e di conseguenza il ruolo dei restanti 7 miRNA andrebbe approfondito.

In conclusione, in questo lavoro è stata identificata una nuova *signature* di miRNA associata con la risposta clinica completa nel cancro alla mammella triplo-negativo e con la DFS.

Parole chiave: cancro alla mammella triplo negativo, regime neoadiuvante FAC-CDDP/PTX, miRNA

Riferimento bibliografico

[García-Vazquez R](#) et al. *Tumour Biol* 2017, 39(6):1010428317702899

ASSOCIAZIONE DI POLIMORFISMI DEI GENI *NR1I2*, *CYP3A5* E *ABCB1* CON LA VARIABILITÀ FARMACOCINETICA E LA TOSSICITÀ DEL TEMSIROLIMUS IN PAZIENTI CON TUMORE METASTATICO DELLA VESCICA

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il temsirolimus è un profarmaco inibitore di mTOR (*mammalian target of rapamycin*) approvato per il trattamento di vari tipi di tumore, incluso il carcinoma a cellule renali. Il tasso di risposta obiettivo a questo farmaco, usato da solo o in combinazione con altri chemioterapici, resta comunque ridotto, probabilmente a causa della sua variabilità farmacocinetica. Il metabolismo del temsirolimus e del sirolimus, il suo metabolita attivo, è simile agli inibitori della calcineurina (come ciclosporina e tacrolimus). In particolare, il temsirolimus è substrato del CYP3A4, del CYP3A5 e del trasportatore MDR1. Studi precedenti mostrano come i livelli di metaboliti di temsirolimus- CYP450 derivati varino di circa 20 volte tra un paziente e l'altro. Polimorfismi dei geni *CYP3A5* and *ABCB1* sono i principali fattori genetici alla base della variabilità inter-individuale degli inibitori della calcineurina (Barbarino JM et al. *Pharmacogenet Genomics* 2013,23(10):563–585; Zochowska D et al. *Ann Transpl* 2012,17(3):36–44). Più nello specifico, l'allele *CYP3A5**3 è in grado di influenzare la farmacocinetica del tacrolimus; per questo motivo la determinazione del genotipo del *CYP3A5* è stata inclusa nelle linee guida pubblicate dal Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium e dal The Royal Dutch Pharmacists Association Pharmacogenetics Working Group. Anche i polimorfismi *ABCB1* rs1045642 (C.3435C>T, p.I1145I), rs1128503 (C.1236.C>T, p.G412G) e rs2032582 (G2677.G>T/A, p.A893S/T) sono stati associati alla farmacocinetica del sirolimus e degli inibitori della calcineurina (Marzolini et al. *Clin Pharmacol Ther* 2004,75(1):13–33; Wolking et al. *Clin Pharmacokinet* 2015,54(7):709–735).

L'espressione dei geni *CYP3A5* e *ABCB1* è regolata dai fattori nucleari NR1I2 e NR1I3. L'attivazione mediata dal ligando di NR1I2 è il meccanismo principale di induzione del *CYP3A4* e polimorfismi di questo gene sono stati associati alla farmacocinetica del tacrolimus.

Poiché studi sulla farmacogenetica mancano in letteratura, l'obiettivo degli autori è quello di analizzare l'effetto di polimorfismi dei geni *CYP3A5*, *ABCB1* e *NR1I2* sulla farmacocinetica e sulla tossicità del temsirolimus, e del sirolimus, in una coorte di pazienti con tumore metastatico della vescica.

Sedici pazienti con carcinoma uroteliale recidivo della vescica, refrattari alla chemioterapia di primo livello, sono stati arruolati nel trial clinico VESTOR (NCT01827943). Il temsirolimus, somministrato endovena alla dose di 25 mg/settimana per 30 min, è stato associato al trattamento anti-H1 per evitare reazioni allergiche. I pazienti sono stati suddivisi, secondo il Data Common Terminology Criteria for Adverse Events (versione 3) in due gruppi: tossicità di grado 3 e 4 e tossicità di grado 1, 2 o nessuna tossicità. I campioni di sangue sono stati raccolti durante il primo ciclo di terapia ai timing 0 (prima dell'inizio dell'infusione), 0,25, 0,5 (fine dell'infusione), 1,5, 3,5, 8, 24, 48, 96 e 168 ore. Temsirolimus e sirolimus sono stati simultaneamente quantificati con un metodo HPLC–MS/MS. Per le analisi farmacogenetiche sono stati selezionati 7 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs): *NR1I2* rs3814055, rs2472677 e rs6785049, *CYP3A5* rs2472677 (*CYP3A5**3), *ABCB1* rs1045642, rs1128503 e rs20322582. Il DNA è stato estratto utilizzando i kit Roche MagNAPure LC Total Nucleic Acid Isolation; successivamente è stata eseguita l'amplificazione delle sequenze target (GoTaq Master Mix, Promega), la purificazione dei prodotti di PCR (ExoSAP-IT® PCR

Product Cleanup kit, Thermo Fisher Scientific) e la loro analisi (ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer, Applied Biosystems usando il kit Agencourt CleanSEQ, Beckman Coulter). Infine sono state svolte le valutazioni statistiche considerando il valore $p=0.05$ come soglia per la significatività.

I valori di AUC_{TOT} di temsirolimus e del suo metabolita hanno mostrato un'alta variabilità interindividuale. I pazienti con tossicità severa ($n=9$) hanno mostrato un valore di AUC_{ratio} 1.6 volte maggiore ($p=0.034$), una esposizione al temsirolimus minore del 20% ($p=0.077$) e una eliminazione del farmaco maggiore del 20% ($p=0.077$). La frequenza di eventi avversi è risultata significativamente più bassa nei *carriers* degli alleli *NR1I2* rs3814055 T ($p=0.0057$) e rs6785049 G ($p=0.04$). I valori di odd ratio (OR) ottenuti per la tossicità severa sono 0.032 ($[4.2E-4; 5.7 E-1]$, $p = 0.0087$) nel gruppo con genotipo *NR1I2* rs3814055 CT/TT e 0.065 ($[9.5E-4; 9.9 E-1]$, $p = 0.034$) negli rs6785049 AG/GG. Considerando l'influenza della farmacogenetica sulla farmacocinetica, i genotipi *ABCB1* rs1128503 TT e *NR1I2* rs6785049 GG sono stati associati con un aumento dell'esposizione al temsirolimus. Inoltre, i genotipi *ABCB1* rs1128503TT, rs2032582 GT/TT e *NR1I2* rs3814055 TT sono stati associati con un aumento dell'emivita del farmaco. Infine, il genotipo *CYP3A5* rs776746 GG è risultato associato con C_{max} aumentate di sirolimus.

Questo studio conferma l'elevata variabilità farmacocinetica del temsirolimus, la quale risulta essere influenzata da polimorfismi dei geni *CYP3A5* e *ABCB1*. Inoltre, la frequenza di tossicità severa è significativamente più elevata nei pazienti omozigoti per gli alleli *NR1I2* rs6785049 A e rs3814055 C e nei pazienti con elevata AUC_{ratio} . Questi risultati suggeriscono che il sirolimus potrebbe essere il principale responsabile della tossicità. Pertanto, un'attenzione particolare deve essere prestata all'esposizione del sirolimus nei pazienti trattati con temsirolimus e soprattutto ai fattori genetici coinvolti nella sua variabilità inter-individuale.

I polimorfismi del gene *CYP3A5* vengono utilizzati per personalizzare il dosaggio di tacrolimus; questi risultati evidenziano il forte effetto degli SNPs *ABCB1* rs1128503, rs2032582 e *CYP3A5* * 3 sulla variabilità farmacocinetica del sirolimus dopo la somministrazione del temsirolimus; in particolare essi sono risultati significativamente associati ad un'esposizione più elevata e ad una più lenta eliminazione del sirolimus.

In questa coorte, il tasso di eliminazione di temsirolimus e il rischio di tossicità grave sono stati inferiori nei pazienti con l'allele *NR1I2* rs3814055 T. L'allele *NR1I2* rs6785049 A è stato associato ad un'esposizione sistemica inferiore ma ad un rischio maggiore di tossicità severa. La variabilità inter-individuale degli eventi tossici può essere correlata a cambiamenti nel metabolismo epatico e nell'esposizione sistemica, ma anche a modifiche del metabolismo e del trasporto di temsirolimus e sirolimus nei tessuti sani.

Ulteriori studi in popolazioni più grandi sono necessari per confermare questi risultati preliminari, includendo ulteriori SNPs (*CYP3A4* * 22 e *CYP3A4* * 1B) e altri geni (*NR1I3* e *POR*, regolatori dell'attività del CYP3A).

Il presente lavoro è il primo studio di farmacogenetica del temsirolimus. Nonostante il ridotto numero di pazienti arruolati e inclusi nelle analisi, questi risultati preliminari suggeriscono che SNPs dei geni *ABCB1*, *CYP3A5* e *NR1I2* potrebbero essere potenziali marcatori farmacogenetici per il trattamento personalizzato di temsirolimus, in termini di predizione del dosaggio e della tossicità, nei pazienti con tumore metastatico della vescica.

Parole chiave: temsirolimus, tumore metastatico della vescica, *ABCB1*, *CYP3A5*, *NR1I2*

Riferimento bibliografico

[Mbatchi LC](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2017 Jul 4 [Epub ahead of print]

FATTORI PREDITTIVI E PROGNOSTICI IN PAZIENTI AFFETTE DA TUMORE ALLA CERVICE METASTATICO O RICORRENTE IN TRATTAMENTO CON CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il tumore della cervice uterina è il 4° più comune cancro che colpisce le donne e conta il 7.5% di tutte le morti annuali femminili a causa di neoplasie. Le pazienti affette da tumore metastatico o ricorrente sono trattate con chemioterapia palliativa basata sulla combinazione cisplatino-paclitaxel. Ultimamente sono stati documentati dei significativi progressi in seguito all'impiego di un agente anti-angiogenico (bevacizumab) in aggiunta alla terapia standard con cisplatino-paclitaxel o topotecan-paclitaxel [incremento della OS da 13.3 mesi a 17]. La resistenza ai chemioterapici è ampiamente riconosciuta come uno dei maggiori fattori limitanti per l'efficacia terapeutica e la sopravvivenza dei pazienti.

Il gene ERCC1 (Excision Repair Cross-complement) è stato riconosciuto come un fattore influenzante lo sviluppo di resistenza ai composti contenenti platino nei pazienti affetti da tumore NSCLC, uterino e alla cervice, ed è noto che esistono varianti alleliche di ERCC1 con potenziale ruolo funzionale. La tubulina di III classe è un target comune per la chemioterapia con taxani e la sua iperespressione è stata associata con la resistenza in pazienti aventi NSCLC, e tumori gastrici o al seno in trattamento con agenti leganti la tubulina. Il gene per resistenza a molteplici farmaci (MDR1) è altamente polimorfico e le sue variazioni sono state correlate con la funzionalità proteica, una cinetica alterata per i farmaci antitumorali e agli esiti clinici dei pazienti. Inoltre, è stato osservato che la ciclo-ossigenasi 2 (COX2) gioca un ruolo chiave nella carcinogenesi dei tumori alla cervice, all'ovario e all'endometrio, inibendo la sorveglianza ad opera del sistema immunitario, l'angiogenesi e l'apoptosi. Una risposta immunitaria efficiente richiede l'attivazione dei linfociti T CD4 e CD8 e l'attivazione di quelli citotossici infiltranti è correlata con un incremento nella sopravvivenza per i pazienti affetti dai tumori alla cervice, all'endometrio, all'ovaio, al pancreas e al conretto.

Lo scopo di questo studio è stato quello di confermare o confutare il valore prognostico e predittivo di questi specifici marker nel tumore alla cervice metastatico o ricorrente in pazienti trattate con chemioterapia a base di platino. Sono stati analizzati sia l'espressione di ERCC1, sia due suoi frequenti SNP (C8092A e N118N) in relazione alla predizione del responso clinico; è stato inoltre valutata l'associazione fra due comuni polimorfismi di MDR1 (C3435T e G2677), e la classe delle β -tubuline III con la sopravvivenza e la resistenza alla chemioterapia. Infine, sono state ricercate possibili correlazioni tra l'espressione di COX2 nel microambiente tumorale e la percentuale di linfociti T infiltranti (TIL) CD4 e CD8 con le caratteristiche delle pazienti e l'esito clinico.

I campioni presi in esame appartengono alle pazienti dello studio randomizzato multicentrico di fase II in trattamento con cisplatino e ifosfamide con l'aggiunta o meno di paclitaxel (rispettivamente ITP o IP). In particolare, è stato possibile eseguire analisi immunoistochimiche e di genotipizzazione su 43 campioni tissutali. L'immunoistochimica è stata eseguita mediante un sistema automatizzato, utilizzando i seguenti anticorpi monoclonali: ERCC1, IgG2b, e per COX-2, IgG1, clone 4H12, per la β -tubulina III, IgG1, clone OT15H2, per CD4, IgG1, clone 4B12, e per CD8, IgG1. La genotipizzazione per ERCC1 C8092A e N118 N è stata eseguita con la tecnica PCR-RFLP; per le analisi statistiche sono state utilizzati il Chi-quadro ed il test esatto di Fisher.

Tra le 43 pazienti analizzate, 22 avevano ricevuto il regime terapeutico ITP, mentre 21 erano state sottoposte al trattamento con IP. Quarantadue pazienti (97.7%) sono andate incontro a progressione e 37 (86%) decedute durante il periodo di follow-up. Le COX2 sono risultate espresse per la maggior percentuale nel carcinoma squamoso (90.3%), in minore nel carcinoma adenosquamoso (66.7%) e ancora meno nell'adenocarcinoma (50%) [P= 0.034]. Il polimorfismo ERCC1 N118 N è risultato influenzare la produzione di ERCC1 poiché tutti i tumori con il genotipo CT sono risultati positivi per la proteina ERCC1 (20/20, 100%). Non sono state osservate correlazioni significative fra i tassi di risposta e i livelli di espressione di ERCC1, tuttavia coloro che avevano alti livelli di espressione della β -tubulina III presentavano una diminuita risposta completa o parziale rispetto a coloro che l'avevano bassa o non presente (5/20, 25% vs 15/23 62.5%, P= 0.008). Le pazienti in trattamento con ITP avevano un tasso di risposta oggettiva maggiore rispetto alle pazienti in trattamento con IP (HR= 22.45, P= 0.006), mentre le pazienti con alta β -tubulina III hanno raggiunto un tasso di risposta inferiore rispetto a coloro che avevano valori bassi o nulli di β -tubulina III (HR = 0.52, P= 0.008). Cinque pazienti su 11 del regime ITP (45.5%) e 5/12 (41.7%) delle pazienti sottoposte al regime IP sono andate incontro a progressione (PD) se over-esprimevano β -tubulina III, al contrario di coloro che l'avevano bassa o assente (lo 0% è andato in progressione, P= 0.0035 e P= 0.045 rispettivamente per ITP e IP).

L'espressione di ERCC1 mostra una forte correlazione negativa con la PFS e l'OS in questa coorte di pazienti; l'OS media per le donne aventi un alto o medio livello di espressione si aggira sui 10.5 mesi,

rispetto ai 21.4 mesi di quelle con bassa o nulla espressione ($P= 0.006$). Lo stesso trend è stato evidenziato per la PFS, con 5.1 vs 10.2 mesi rispettivamente ($P= 0.027$). In seguito all'analisi multivariata, solo l'espressione dei ERCC1 è rimasta un fattore predittivo indipendente sia per OS ($HR= 3.187, P= 0.008$), sia per PFS ($HR = 2.473, P= 0.021$).

I polimorfismi *MDR1* G2677 T and *ERCC1* N118 N sembrano influenzare la PFS media: le pazienti portatrici del genotipo GT (*MDR1* G2677 T) hanno raggiunto intervalli privi di progressione tumorale maggiori rispetto alle corrispondenti GG e TT (rispettivamente: 8.6, 5.1 e 2.9 mesi, $P= 0.027$). Inoltre, le pazienti con genotipo TT per *ERCC1* N118 N hanno una PFS maggiore rispetto alle pazienti con genotipo CC e CT (8.8, 5.2 e 3.9 mesi, rispettivamente; $P= 0.006$).

In conclusione, questo studio supporta l'ipotesi che l'espressione di ERCC1 possa essere un fattore prognostico negativo che comporta una riduzione della sopravvivenza delle pazienti affette da tumore alla cervice metastatico o ricorrente dopo trattamento con chemioterapia a base di platino. Inoltre, i polimorfismi *ERCC1* N118 N e *MDR1* G2677 T hanno una valenza prognostica per la progressione tumorale mentre la sovraespressione di β -tubulina III sembra essere positivamente correlata all'insorgenza di chemio-resistenza.

Parole chiave: tumore alla cervice metastatico o ricorrente, platino-chemioterapia, polimorfismi, ERCC1

Riferimento bibliografico

[Karageorgopoulou S et al. BMC Cancer 2017, 17\(1\):451](#)

NEUROLOGIA

ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI DEL TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA (5-HTTLPR) E I PUNTEGGI MADRS RELATIVI A DISFORIA, LENTEZZA E SINTOMI VEGETATIVI NEL TRATTAMENTO DELLA DEPRESSIONE

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

Diverse evidenze supportano l'ipotesi che le alterazioni del sistema serotoninergico siano coinvolte nella fisiopatologia della depressione. Gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRIs) e gli inibitori della ricaptazione della serotonina o 5-idrossitriptamina (5-HT) e noradrenalina (NE) (SNRIs) sono ampiamente utilizzati nella terapia dei disturbi depressivi maggiori (*major depressive disorders*, MDD). La principale azione farmacologica degli SSRIs e degli SNRIs è l'inibizione della ricaptazione della 5-HT attraverso il legame con il 5-HT transporter (5-HTT). Un precedente studio ha riportato sia la variante lunga (L) che corta (S) della 5-HTT *gene-linked polymorphic region* (5-HTTLPR). Dati *in vitro* suggeriscono che la forma L (inserzione) di 5-HTTLPR è funzionalmente più attiva della forma S (delezione). Pertanto, si suppone che i polimorfismi di 5-HTTLPR siano correlati alla risposta al trattamento con SSRIs e SNRIs. Lo scopo del presente studio è investigare la relazione tra la risposta agli antidepressivi fluvoxamina e milnacipran e polimorfismi genetici correlati alla 5-HT, incluso 5-HTTLPR; la risposta clinica è stata valutata tramite i punteggi della *Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale* (MADRS).

I partecipanti allo studio erano pazienti Giapponesi con diagnosi di MDD, effettuata sulla base dei criteri del *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV)*, e con punteggi MADRS ≥ 21 . Sono stati esclusi pazienti con altri disturbi dell'asse I e quelli con disturbi dell'asse II. I pazienti avevano dai 20 ai 69 anni e non hanno assunto psicofarmaci da almeno 14 giorni prima dell'inizio dello studio.

La fluvoxamina è stata somministrata due volte/die per 6 settimane. La dose giornaliera iniziale era di 50 mg/die, è stata incrementata a 100 mg/die dopo 1 settimana e stabilizzata a 100, 150 o 200 mg/die dopo la seconda settimana. Il milnacipran è stato somministrato due volte/die per 6 settimane. La dose giornaliera

iniziale era di 50 mg/die ed è stata aumentata a 100 mg/die dopo 1 settimana. Ai pazienti con insonnia è stata prescritta una benzodiazepina, il brotizolam (0,25 o 0,5 mg) la sera.

L'entità dei sintomi depressivi è stata valutata tramite la MADRS, sia come punteggio totale che come punteggio separato di tre sottogruppi di sintomi (disforia, lentezza e sintomi vegetativi). Le valutazioni sono state registrate al *baseline* e a 1, 2, 4 e 6 settimane dopo l'inizio della terapia antidepressiva. La risposta clinica è stata definita come la riduzione $\geq 50\%$ del punteggio MADRS al *baseline*. A 4 settimane dall'inizio del trattamento antidepressivo, sono stati effettuati prelievi ematici, 12 ore dopo la somministrazione del farmaco.

Sono stati determinati i seguenti polimorfismi, tramite la metodica della *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*: polimorfismi nella *gene-linked polymorphic region* di 5-HTT (5-HTTLPR), un numero variabile di ripetizioni in tandem nel secondo introne del gene 5-HTT (5-HTTVNTR) e 1438G/A nella regione promotrice del gene per il recettore 5-HT_{2A} (5-HT_{2A} 1438G/A).

Le concentrazioni plasmatiche di milnacipran e fluvoxamina sono state quantificate tramite *high-performance liquid chromatography*.

Per il trattamento con fluvoxamina, sono stati reclutati 100 pazienti; di questi, 16 non hanno completato lo studio a causa di nausea o vomito (n=3), grave insonnia e tensione interna (n=3) o altri motivi (n=10). Degli 84 pazienti che hanno completato lo studio, 4 sono stati esclusi dall'analisi in quanto i campioni plasmatici hanno rivelato concentrazioni molto basse di fluvoxamina. I pazienti che hanno completato lo studio includevano 43 donne e 37 uomini, (21-69 anni; età media =48,3±13,5 [SD]). La dose giornaliera finale di fluvoxamina era di 100 mg in 10 pazienti, 150 mg in 8 e 200 mg in 62. Per il trattamento con milnacipran, sono stati reclutati 96 pazienti; di questi, 10 non hanno completato lo studio a causa degli effetti collaterali (n=5), grave insonnia (n=1) o altro (n=4). Degli 86 pazienti che hanno completato lo studio, 6 sono stati esclusi dall'analisi in quanto i campioni plasmatici hanno rivelato concentrazioni molto basse di milnacipran, indicative di scarsa *compliance*. I pazienti che hanno completato lo studio includevano 52 donne e 28 uomini (25-69 anni; età media =51,4±12,2 [SD]).

Non vi erano differenze significative tra i *responders* e *nonresponders* rispetto a sesso, età, numero di episodi precedenti, presenza di melanconia, punteggi alla MADRS prima del trattamento.

Per quanto riguarda 5-HTTLPR, è stata osservata una differenza significativa nei punteggi della disforia tra i gruppi di genotipo S/S e S/L + L/L ($F = 3,23$, $df = 4$, $P = 0,012$). Non vi erano differenze significative alla settimana 1, 2 e 4; alla settimana 6, invece, i punteggi della disforia mostravano una riduzione significativa nei pazienti con genotipo S/S rispetto ai pazienti con genotipo S/L + L/L ($t = -2,51$, $df = 158$, $P = 0,013$). Non vi erano differenze significative, tra i gruppi di genotipo S/S e S/L + L/L, dei punteggi della lentezza, dei sintomi vegetativi e dei punteggi totali di MADRS. Dopo la correzione di Bonferroni, nessuna analisi è risultata statisticamente significativa.

Relativamente a 5-HTTVNTR e 5-HT_{2A} (1438G/A), nessun polimorfismo è risultato associato in misura significativa alla risposta alla terapia per nessuno degli fattori clinici analizzati.

Il presente studio suggerisce che i polimorfismi di 5-HTTLPR influenzino l'efficacia degli antidepressivi sulla disforia, ma non sulla lentezza, sui sintomi vegetativi e sui punteggi totali alla MADRS. In particolare, è stata osservata una riduzione significativamente maggiore dei punteggi della disforia nei pazienti con genotipo S/S rispetto ai pazienti con genotipo S/L + L/L. Nonostante questi risultati non siano stati confermati dopo la correzione di Bonferroni, i presenti dati suggeriscono che non sia sufficiente valutare la risposta clinica agli antidepressivi usando solo la scala totale della depressione, specialmente negli studi di farmacogenetica clinica.

Nel presente studio, i polimorfismi 5-HTTVNTR e 1438G/A non sono risultati associati a modificazioni dei punteggi della scala MADRS relativi a disforia, lentezza e sintomi vegetativi. Gli stessi Autori, in un precedente studio, non avevano rilevato associazioni significative tra questi polimorfismi e la risposta agli antidepressivi valutata tramite il punteggio totale alla MADRS. Sarebbe, pertanto, che i polimorfismi 5-HTTVNTR e 1438G/A non abbiano influenza sulla risposta agli antidepressivi.

Le limitazioni del presente studio risiedono nella ridotta dimensione del campione analizzato e nella mancanza di un gruppo di controllo. Un'ulteriore limitazione è rappresentata dal fatto che, nonostante entrambi gli antidepressivi adottati nel presente studio abbiano la capacità di inibire la ricaptazione della 5-HT, i meccanismi d'azione sono diversi.

In conclusione, il presente studio mostra che, in un gruppo di pazienti Giapponesi depressi trattati con fluvoxamina e milnacipran, i polimorfismi di *5-HTTLPR* sono associati alla disforia: i punteggi della disforia mostrano una riduzione significativa nei pazienti con genotipo S/S rispetto ai pazienti con genotipo S/L + L/L. Nonostante tale significatività non sia stata confermata dopo la correzione di Bonferroni, tali dati indicano l'importanza di analizzare anche sottogruppi specifici di sintomi quando si realizzano studi farmacogenetici di associazione alla risposta terapeutica agli antidepressivi.

Parole chiave: polimorfismo del trasportatore della serotonina, punteggio della disforia, antidepressivi, MADRS.

Riferimento bibliografico

[Takahashi H](#) et al. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2017, 13:1463-9.

EFFETTO PROTETTIVO DI *CYP2C19*17* NEI CONFRONTI DELLE COMPLICANZE METABOLICHE NEL CORSO DEL TRATTAMENTO CON CLOZAPINA

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La clozapina rappresenta il farmaco più efficace per la schizofrenia resistente al trattamento. La clozapina viene metabolizzata a livello epatico dagli enzimi del citocromo P450 (CYP) e l'attività di questi enzimi può essere influenzata da varianti genetiche. Varianti a livello dei geni *CYP1A2*, *CYP2C19*, *CYP2D6* e *CYP3A4*, in grado di causare variazioni nell'eliminazione e biotrasformazione della clozapina, sono state associate con la sensibilità alla risposta al farmaco. In particolare, il polimorfismo *CYP2C19*17* è associato con un'attività aumentata dell'enzima. L'allele *CYP2C19*17* influenza anche il metabolismo di numerosi farmaci, tra i quali gli inibitori di pompa protonica, il voriconazolo, il clopidogrel, gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI), il warfarin e il tamoxifene. Inoltre, alcuni studi hanno suggerito l'associazione tra tale variante e la risposta clinica ad alcuni farmaci. In particolare, il genotipo **17* è stato associato con una dose di mantenimento ridotta di fludrocortisone, e l'attività aumentata di questo enzima è stata associata con un leggero miglioramento del deficit di mineralcorticoidi nel deficit di 21-idrossilasi. Questo studio ha valutato per la prima volta il ruolo del polimorfismo *CYP2C19*17* e alcuni parametri clinici nel corso del trattamento con clozapina.

Lo studio ha incluso 137 pazienti affetti da schizofrenia e seguiti presso la *Clozapine Clinic* del Blacktown Mental Health Service, reclutati tra il 2014 e il 2015, che hanno prestato il consenso per il test genetico. Gli autori hanno valutato l'associazione tra il polimorfismo *CYP2C19*17* e alcuni parametri farmacocinetici (livelli sierici di clozapina, del metabolita norclozapina e rapporto clozapina/norclozapina) e clinici (dosaggio, cambiamento nel peso e nel BMI dopo 3 e dopo 12 mesi dall'inizio del trattamento con clozapina, pressione sistolica e diastolica, glicemia a digiuno e random, emoglobina glicosilata, colesterolo totale, LDL e HDL, trigliceridi, prolattina e velocità di filtrazione glomerulare). Per ogni paziente sono state collezionate informazioni in merito a status di fumatore, storia di utilizzo di antipsicotici prima dell'inizio del trattamento con clozapina, età, sesso, co-somministrazione di SSRI, storia di diabete ed etnia. La genotipizzazione del polimorfismo *CYP2C19*17* (rs12248560), precedentemente associato con la risposta clinica a farmaci psicotropi, è stata effettuata per digestione con enzimi di restrizione. L'associazione tra il polimorfismo e le variabili cliniche è stata effettuata mediante modello di regressione lineare multipla. I pazienti sono stati caratterizzati come "migliorati" o "non migliorati" tramite due valutazioni cliniche indipendenti effettuate dallo psichiatra e dal coordinatore infermiere della Clozapine Clinic e confermate, quando possibile, dal paziente.

La coorte di 137 pazienti era eterogenea dal punto di vista etnico ed includeva pazienti di etnia caucasica (64%), asiatica (13%), delle isole del Pacifico (10%) o altre (13%). Lo studio ha incluso 45 donne (33%) e 92 uomini (67%), con un'età media di 39,7 (\pm 12,6) anni e 38,1 (\pm 10,8) anni, rispettivamente. Quaranta pazienti (29%) erano stati trattati con antipsicotici prima dell'inizio del trattamento con clozapina, mentre 9 (6%) assumevano anche SSRI. Cinquantacinque pazienti (40%) erano fumatori. Si è registrata una differenza significativa tra i dosaggi di clozapina assunti dalle donne (300 ± 151 mg/die) rispetto agli uomini (392 ± 180 mg/die, $p < 0,001$). I risultati della genotipizzazione sono stati disponibili per 136 pazienti: 83 sono

risultati *carrier* dell'allele *wild-type*, 9 eterozigoti e 44 *carrier* omozigoti dell'allele *CYP2C19*17*17*. I *carrier* dell'allele *CYP2C19*17* hanno mostrato livelli minori di emoglobina glicosilata ($35,36 \pm 4,78$ mmol/mol vs $49,40 \pm 20,60$, $p = 0,006$) e di glicemia a digiuno ($5,66 \pm 1,19$ mmol/L vs $6,72$ mmol/L, $p = 0,009$). Queste associazioni sono risultate indipendenti da età, sesso o status di fumatore. La prevalenza dell'allele *CYP2C19*17* è risultata del 15% tra i pazienti con una storia di diabete ($n = 20$) e del 46% nei pazienti senza una storia di diabete ($n = 105$, $p = 0,012$).

I *carrier* omozigoti dell'allele *CYP2C19*17* hanno mostrato dosaggi medi di clozapina inferiori ($n = 38$, 307 ± 158 mg) rispetto ai *non-carrier* ($n = 61$, 381 ± 176 mg, $p = 0,034$). Dal momento che il dosaggio è stato titolato in base alla risposta clinica, questo suggerisce che i *carrier* dell'allele *CYP2C19*17* abbiano mostrato una risposta clinica a dosaggi inferiori rispetto ai *non-carrier*. In un sottogruppo di pazienti per i quali il dato era disponibile, i livelli di norclozapina alla prima visita sono risultati più elevati nei *carrier* omozigoti dell'allele *CYP2C19*17* rispetto ai *non-carrier* ($p = 0,049$). Gli autori hanno osservato un miglioramento clinico in 29 pazienti e nessun miglioramento in 16 pazienti. Il genotipo omozigote *CYP2C19*17*17* è risultato associato al miglioramento clinico (*odds ratio* = 4,39, $p = 0,042$). Infine, non è stata osservata un'associazione significativa tra *CYP2C19*17* e cambiamenti del BMI dopo trattamento con clozapina o altri parametri clinici.

I limiti dello studio comprendono l'analisi retrospettiva dei dati e la dimensione limitata del campione comprendente i pazienti che hanno prestato il consenso per la partecipazione allo studio. Inoltre, lo studio ha valutato un unico polimorfismo.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra il polimorfismo *CYP2C19*17* e ridotti livelli di glucosio ed emoglobina glicosilata in pazienti affetti da schizofrenia trattati con clozapina. Inoltre, lo studio suggerisce un'associazione tra questo polimorfismo e il miglioramento clinico.

Parole chiave: clozapina, schizofrenia, *CYP2C19*

Riferimento bibliografico

[Piatkov I et al. World J Biol Psychiatry 2017 Jul 18 \[Epub ahead of print\].](#)

IMMUNOMODULAZIONE

VALUTAZIONE DEI LIVELLI DI ESPRESSIONE DELL'MRNA DEL TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF)- α E DEL POLIMORFISMO RS1799964 DEL GENE DEL TNF- α NELLE CELLULE MONONUCLEATE DEL SANGUE PERIFERICO DI PAZIENTI CON MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI

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

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD), morbo di Crohn (CD) e rettocolite ulcerosa (UC), sono caratterizzate da un'inflammatione cronica del tratto gastrointestinale, UC e CD si possono differenziare dalla diversa localizzazione di tale infiammazione.

Le cause esatte di questa patologia rimangono sconosciute, ma studi dimostrano che interazioni complesse multi-fattoriali (genetiche, ambientali e immunologiche) potrebbero esserne la causa.

Il *tumor necrosis factor* (TNF)- α è una citochina multifunzionale coinvolta nella progressione della risposta infiammatoria ed è di fondamentale importanza nella patogenesi di malattie infiammatorie, autoimmuni e tumorali ed è un fattore chiave nell'immunità cellula-mediata, come dimostrato dagli alti livelli sierici di TNF- α nel sangue di pazienti affetti da IBD.

Il TNF- α ha numerosi polimorfismi, la maggior parte dei quali è localizzata nella regione del promotore e tali polimorfismi potrebbero influenzare i valori di espressione genica del TNF- α e numerosi studi hanno proposto una correlazione diretta tra i polimorfismi a singolo nucleotide con la malattia.

Lo scopo di questo lavoro è di determinare se i livelli di espressione genica del TNF- α e del suo polimorfismo rs179994 (TNF- α -1031 T>C) sono elementi di suscettibilità genica nello sviluppo delle IBD.

Lo studio è stato condotto su 101 pazienti affetti da IBD (15 CD e 86 UC) e 100 donatori sani dell'Istituto di ricerca di malattie del tratto gastrointestinale e del fegato del *Shahid Beheshti University of Medical Science* (Iran). L'espressione genica del TNF- α è considerata anche in correlazione alle diverse terapie prescritte con acido 5-ammisalicilico (5ASA), prednisone (Pred), azatioprine (AZA) e infliximab (IFX).

La frequenza dei genotipi TT, TC e CC del polimorfismo rs179994 nei pazienti affetti da IBD è del 64.4, 28.7 e 6.9%, rispettivamente, mentre nel gruppo controlli è del 63, 29, e 8% rispettivamente; quindi la frequenza dei genotipi del polimorfismo 1031 T>C del gene del TNF- α non mostra risultati statisticamente significativi comparando il gruppo di pazienti con il gruppo di controllo.

Inoltre, l'analisi di espressione genica è stata effettuata comparando due gruppi di pazienti divisi in base al decorso della malattia: in una fase remissiva o progressiva. L'espressione del TNF- α non mostra risultati significativi tra i due gruppi.

Analisi di espressione genica del TNF- α sono state effettuate anche dividendo il gruppo dei pazienti affetti da CD o UC. Le differenze osservate però non mostrano risultati statisticamente significativi.

La valutazione dell'espressione del gene TNF- α è stata effettuata, inoltre, sulla popolazione dei pazienti divisi in cinque gruppi in base al trattamento seguito: 1) 5-ASA, 2) 5-ASA+Pred, 3)5-ASA+AZA, 4) 5-ASA+Pred+AZA e 5) 5-ASA+Pred+AZA+IFX. In questo caso il gene del TNF- α mostra un significativo aumento di espressione nel gruppo che riceve tutti i farmaci (gruppo 5) quando comparato con gli altri gruppi ($p<0.05$).

Infine, analizzando l'interazione tra il polimorfismo 1031 T>C e i livelli di espressione del TNF- α si osserva una over-espressione del gene TNF- α nel genotipo CC rispetto ai genotipi CT e TT ($p<0.05$) e un'espressione ridotta nel genotipo TT ($p<0.05$).

In conclusione questo lavoro analizza l'associazione tra l'espressione genica del TNF- α con il polimorfismo rs179994. La maggiore espressione dell'mRNA del TNF- α in pazienti con genotipo CC potrebbe rappresentare un fattore di rischio per l'insorgenza delle IBD nei pazienti iraniani. Inoltre, l'over-espressione del gene TNF- α nel gruppo di pazienti che hanno assunto i quattro diversi tipi di farmaci (5-ASA+Pred+AZA+IFX) potrebbe essere un indice per la prognosi, diagnosi e trattamento nelle IBD.

Parole chiave: malattie infiammatorie croniche intestinali, morbo di Crohn, rettocolite ulcerosa, polimorfismo TNF- α -1031 T>C

Riferimento bibliografico

[Nourian M](#) et al. *Biomed Rep* 2017, 6(6):698-70.

INFETTIVOLOGIA

EFFETTO DELLA FARMACOGENETICA SULLA FARMACOCINETICA DELLA LUMEFANTRINA E SULL'OUTCOME DEL TRATTAMENTO DELLA MALARIA IN DONNE IN GRAVIDANZA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

I cambiamenti fisiologici indotti dalla gravidanza possono modificare la farmacocinetica di farmaci anti-malarici, risultando solitamente in una ridotta esposizione ed un ridotto tasso di cura soprattutto negli stadi avanzati della gravidanza (McGready R et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2006,62:1021–31; McGready R et al. *PLoS Med* 2008,5:e253). Il cambiamento dei livelli ormonali è stato correlato con modifiche nell'espressione e nell'attività degli enzimi epatici del citocromo p450. Per esempio, l'attività del CYP3A4, del CYP2C9 e

del CYP2A6 aumenta durante la gravidanza mentre quella del CYP2C19 e del CYP1A2 diminuisce (Isoherranen N, Thummel KE. *Drug Metab Dispos* 2013,41:256–62; Jeong H. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2010,6:689–99). Questi enzimi sono coinvolti nel metabolismo di diversi farmaci anti-malarici, tra cui lumefantrina (LF) e artemeter (Staehli Hodel EM et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2013,57:950–8; Mukonzo JK et al. *Ther Drug Monit* 2010,32:346–52; Piedade R, Gil JP. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2011,7:1185–200) e la loro attività presenta un'ampia variabilità inter-individuale a causa di polimorfismi genetici (Mirghani RA et al. *Pharmacogenet Genom* 2006,16:637–45; Mugusi S et al. *PLoS ONE* 2012,7:e40180; Gebeyehu E et al. *Pharmacogenom J* 2011,11:130–7; Aklillu E et al. *OMICS* 2014,18:446–53; Habtewold A et al. *Pharmacogenom J* 2013,13:484–9; Hatta FH et al. *OMICS* 2015,19:346–53). Un ridotto livello di esposizione in gravidanza è stato riportato per artemeter/diidroartemisina, artesunato/diidroartemisina, diidroartemisina e LF (Tarning J et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2012,56:1997–2007. Kloprogge F et al. *CPT Pharmacometr Syst Pharmacol* 2013,2:e83; Mosha D et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2014,58:4583–92) con conseguente aumento del rischio di fallimento terapeutico, di problemi al feto e sviluppo di resistenza. Le variazioni genetiche negli enzimi del metabolismo possono predire l'esposizione plasmatica, il fallimento terapeutico e/o l'insorgenza di resistenza. Il CYP3A, responsabile del metabolismo di artemeter e LF (ALu), è aumentato di 2 volte durante il terzo trimestre ed un basso tasso di cura (83.5%) è stato riportato per donne gravide Tailandesi (McGready R et al. *PLoS Med* 2008,5:e253) mentre una risposta adeguata a dosaggi simili è stata riportata in Uganda (98.2%) (Piola P et al. *Lancet Infect Dis* 2010,10:762–9). Questa differenza può essere potenzialmente spiegata da differenze alleliche di popolazione. Ad oggi, sono pochi gli studi sul ruolo dei polimorfismi genetici sulla cinetica dei farmaci anti-malarici.

Scopo di questo studio di coorte prospettico è quello di valutare gli effetti di polimorfismi genetici sulle concentrazioni plasmatiche di LF al giorno 7 e sull'*outcome* di donne in gravidanza trattate con ALu in Tanzania.

Tra maggio 2014 ed aprile 2016, sono state arruolate 92 donne in gravidanza (nel 60,7% dei casi al secondo trimestre), con età media di 23 anni (15-41), affette da infezione da *Plasmodium falciparum* non complicata e con livelli di emoglobina >8g/dl. Le pazienti hanno ricevuto 6 dosi di 4 compresse di ALu (20 mg di artemeter e 120 mg di LF) in 3 giorni (a 0, 8, 24, 36, 48 e 60 ore). È stata effettuata la genotipizzazione per le seguenti varianti funzionali più comuni riportate come rilevanti per l'esposizione a artemeter e LF: *CYP2B6*6*, *CYP2B6*18*, *CYP3A4*1B*, *CYP3A5*3*, *CYP3A5*6*, *CYP3A5*7* e *ABCB1 c.4036A>G* (rs3842) (Djimde A, Lefevre G. *Malar J* 2009,8(Suppl1):S4; German PI, Aweeka FT. *Clin Pharmacokinet* 2008,47:91–102). La raccolta dei campioni ematici per la valutazione delle concentrazioni di LF è stata effettuata al giorno 7 del trattamento a base di ALu. Il plasmodio era presente in 11 pazienti (12%) durante il periodo di follow-up, con conferma all'analisi PCR di recrudescenza in 7 pazienti (63.3%) mentre nelle 4 rimanenti si trattava di una re-infezione. La concentrazione plasmatica mediana al giorno 7 era pari a 650 ng/ml e non è stata individuata una differenza significativa sulla base della presenza dei genotipi *CYP2B6*, *CYP3A4*1B* o *ABCB1 c.4036AG*. La concentrazione plasmatica di LF è risultata invece correlata con il genotipo *CYP3A5* (P=0.04), in particolare a concentrazioni \geq di 600 ng/ml (P=0.01). Non è stata individuata un'influenza delle varianti genetiche *CYP2B6*, *CYP3A5* o *ABCB1* sull'*outcome* del trattamento, eccetto il polimorfismo *CYP3A4*1B* (P=0.018).

In questo studio è stato valutato l'effetto di varianti geniche sulla farmacocinetica della LF e sull'*outcome* del trattamento in donne gravide. In particolare, sono state valutate le varianti alleliche dei geni *CYP2B6*, *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1* coinvolte nel metabolismo dei farmaci anti-malarici. Il *CYP3A5* ha mostrato una significativa influenza sulle concentrazioni plasmatiche di LF ed il *CYP3A4*1B* è stato associato con l'esito della terapia. Le pazienti portatrici di alleli difettivi del gene *CYP3A5* presentavano un rischio maggiore di avere una concentrazione plasmatica <600 ng/ml, che espone al rischio di ricorrenza della malattia (Mutagonda RF et al. *Malar J* 2016,15:278). Tuttavia non è stato riscontrato un impatto di questo gene sull'esito del trattamento, probabilmente perché riveste un ruolo minore rispetto al *CYP3A4*. Al giorno 7 non è stata riscontrata un'influenza dell'allele *CYP3A4*1B* sulle concentrazioni plasmatiche di LF, ma è stato associato con un *outcome* migliore, probabilmente per una ridotta attività enzimatica ed una conseguente ridotta eliminazione del farmaco (Rodriguez-Antona C et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2005,338:299–305).

In conclusione, questo studio ha dimostrato un'associazione tra la presenza del genotipo *CYP3A5* e *CYP3A4*1B*, rispettivamente con una più elevata esposizione al farmaco e miglior esito clinico, in donne in gravidanza dopo trattamento antimalarico con lumefantrina.

Parole chiave: malaria, *CYP3A*, lumefantrina

Riferimento bibliografico

[Mutagonda RF](#) et al. *Malar J* 2017, 16:267.

LA METANALISI DEL MESE

REVISIONE SISTEMATICA E METANALISI SU POLIMORFISMI E FARMACOGENOMICA NELLA TOSSICITÀ DA METOTREXATO SOMMINISTRATO IN MONOTERAPIA IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia autoimmune sistemica, caratterizzata da infiammazione cronica delle articolazioni, a decorso progressivo e ingravescente. Il metotrexato (MTX), membro della classe dei DMARD (*Disease-Modifying AntiRheumatic Drugs*), è il farmaco di elezione per il trattamento di tale patologia. Tuttavia, la risposta al MTX è molto variabile soprattutto per quanto attiene al suo profilo di sicurezza e, infatti, molti pazienti (10-30%) sono costretti a interrompere la terapia a causa di eventi avversi. Negli ultimi anni, i ricercatori hanno rivolto particolare attenzione verso l'identificazione e la caratterizzazione di biomarcatori farmacogenetici grazie ai quali predire la tossicità correlata al MTX. I risultati ottenuti finora sono contrastanti soprattutto a causa del basso potere statistico degli studi e dell'eterogeneità dei pazienti arruolati, spesso trattati con associazioni di farmaci. Questa revisione sistematica è stata pianificata allo scopo di stabilire se i polimorfismi presi in esame negli studi precedenti possano essere realmente considerati predittori di tossicità in pazienti con AR trattati con MTX somministrato in monoterapia.

Sono state consultate le banche dati EMBASE e PubMed alla ricerca degli studi di farmacogenetica su polimorfismi associati a reazioni avverse da MTX somministrato in monoterapia in pazienti con AR. Inizialmente sono stati valutate 696 pubblicazioni e, dopo un'attenta selezione, nella revisione sistematica sono state prese in considerazione 42 articoli che includevano 88 SNP in 28 geni codificanti per proteine di trasporto e enzimi coinvolti nel metabolismo dell'MTX. Di questi 42 studi, 31 sono stati inclusi in 7 metanalisi. La maggior parte dei pazienti arruolati era di origine Europea. Venti studi riguardavano un polimorfismo nel gene per il metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR 677C>T, rs1801133) studiato in pazienti europei e del sud-est asiatico; sedici riguardavano l'SNP MTHFR 1298A>C (rs1801131) in pazienti di origine Europea e dell'Asia dell'est; quattro studi avevano investigato il polimorfismo ATIC 347C>G (rs2372536); due erano sull'SNP MTRR 66A>G (rs1801394) nel gene codificante una metionina sintasi reduttasi e cinque lavori riguardavano il polimorfismo ABCB1 3435C>T (rs1045642) del gene per il trasportatore ABC. Per tutti questi polimorfismi, sia quando i pazienti arruolati sono stati considerati insieme, sia quando i dati sono stati stratificati sulla base dell'etnia, non è stata trovata nessuna associazione significativa con la tossicità da MTX. Un'associazione significativa, invece, è stata dimostrata per l'SNP MTR 2756A>G (rs1805087) nel gene che codifica per l'enzima metionina sintetasi e per il polimorfismo RFC -1 80G>A (rs1051266) nel gene codificante il *carrier* per i folati per il quale è stata trovata un'associazione con le reazioni tossiche da MTX nella popolazione di pazienti di origine Europea.

L'evenienza di tossicità limita fortemente l'uso del metotrexato nei pazienti con artrite reumatoide. I fattori genetici coinvolti nel metabolismo del farmaco svolgono senza dubbio un ruolo importante nel determinare tale tossicità. Studi recenti sono stati svolti nel tentativo di identificare marcatori farmacogenetici per ottimizzare la terapia con MTX nei pazienti con AR. I risultati di queste ricerche suggeriscono, che il gene MTHFR possa avere un ruolo importante nella risposta terapeutica sia in termini di efficacia sia di sicurezza.

In particolare, due varianti polimorfiche a singolo nucleotide (MTHFR 677C>T e MTHFR 1298 A>C) associate a diminuzione dell'attività enzimatica della proteina MTHFR sono state indicate come predittori di tossicità da MTX. Al contrario 5 recenti metanalisi, compresa quella qui revisionata, hanno però sconfessato tali indicazioni. Gli autori di questa metanalisi non hanno trovato un'associazione significativa nemmeno per altri SNP che erano stati suggeriti in studi precedenti come predittori della tossicità da MTX.

Un risultato interessante riguarda l'SNP RFC -1 80G>A che ha riguardato 10 studi inclusi in questa metanalisi per un totale di 791 pazienti che avevano sperimentato reazioni tossiche e 1008 che non ne avevano riportate. E' importante rilevare che nessuna associazione è stata trovata quando i pazienti arruolati nei vari studi sono stati considerati tutti insieme. Al contrario, stratificando i pazienti sulla base dell'etnia, un'associazione significativa tra questo polimorfismo e l'evenienza di tossicità è stata identificata negli individui di origine Europea. Un altro dato molto importante è che gli studi nei quali i pazienti erano in terapia di combinazione con metotrexato e altri DMARD o farmaci biologici sono stati esclusi da questa indagine.

In conclusione, questa metanalisi dimostra l'esistenza di un'associazione significativa tra il polimorfismo RFC -1 80G>A (rs1051266) nel gene codificante il *carrier* per i folati e le reazioni avverse in pazienti con artrite reumatoide in monoterapia con metotrexato. Inoltre, questo studio sottolinea l'importanza di eseguire studi di analisi farmacogenetica su un numero più ampio di individui e con criteri di selezione più stringenti che tendano a rendere più omogenea la popolazione in studio.

Parole chiave: metotrexato, artrite reumatoide, *carrier* dei folati

Riferimento bibliografico

Qiu Q et al. *Medicine (Baltimore)* 2017, 96(11):e6337.

*La newsletter di SIF-Farmacogenetica va in ferie.
Auguri di buone vacanze a tutti i nostri lettori.
Arrivederci a settembre.*

La redazione



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

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

sif.informazione@sigr.it; sif.farmacologia@sigr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

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

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 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 Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Eleonora Rofi (Università di Pisa) 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 tentativo 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.