



## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 102 – Gennaio 2018

---

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

---

#### Sommario

##### Oncologia

o Un polimorfismo in un trasportatore della vitamina d predice l'outcome di pazienti con cancro coloretale metastatico trattati con FOLFIRI/bevacizumab o FOLFIRI/cetuximab

##### Infettivologia

o Differenze etniche nella farmacogenetica della sospensione di atazanavir correlata alla bili-rubina

##### Neurologia

o Studio farmacogenetico di sette polimorfismi in tre subunità del recettore nicotinico per l'acetilcolina nelle terapie di cessazione del fumo di sigaretta

o L'interazione tra i geni DRD4 e COMT modula la risposta clinica alla clozapina in pazienti con schizofrenia resistente al trattamento

##### Cardiovascolare

o Associazione tra il genotipo ARMS2 e la risposta al trattamento con anti-VEGF in pazienti con vasculopatia coroideale polipoide

o Genetica e risposta clinica al warfarin e all'edoxaban in pazienti con tromboembolismo ve-noso

##### Immunomodulazione

o Un polimorfismo nel gene FCGR3A predice la formazione di anticorpi anti-farmaco nei pa-zienti con malattie infiammatorie croniche intestinali trattati con anti-TNF

##### La metanalisi del mese

o Meta-analisi dell'impatto dei polimorfismi ABCB1 sulla risposta a clopidogrel nei pazienti affetti da coronaropatie

---

<b>ONCOLOGIA</b>
------------------

## UN POLIMORFISMO IN UN TRASPORTATORE DELLA VITAMINA D PREDICE L'OUTCOME DI PAZIENTI CON CANCRO COLORETTALE METASTATICO TRATTATI CON FOLFIRI/BEVACIZUMAB O FOLFIRI/CETUXIMAB

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro coloretale (CRC) è la quarta causa di morte cancro-correlata nel mondo. Con l'introduzione dei regimi terapeutici basati sul 5-fluorouracile, l'*outcome* dei pazienti con CRC metastatico (mCRC) è notevolmente migliorato, tuttavia per ottimizzare ulteriormente i trattamenti sono necessari nuovi farmaci efficaci. Recentemente, diversi studi hanno evidenziato che elevati livelli di vitamina D e del suo metabolita 25-hydroxyvitamina D (25-OHD) nel sangue sono associati con un minor rischio di CRC ed una sopravvivenza globale (OS) maggiore. È stata, inoltre, riportata un'associazione tra il genotipo AA dello SNP rs4588 del gene GC (*Vitamin D Binding protein*) e bassi livelli di 25-OHD. Sulla base di queste premesse, e poiché l'allele A potrebbe essere correlato con un minor effetto anti-angiogenico, gli autori hanno ipotizzato che portatori di rs4588 AA, trattati con FOLFIRI e bevacizumab (inibitore dell'angiogenesi), potessero avere un *outcome* clinico peggiore rispetto ai portatori dell'allele C; al contrario, pazienti con genotipo AA trattati con FOLFIRI e cetuximab potrebbero mostrare risposte migliori. Infatti bassi livelli di 25-OHD sono associati con una risposta immunitaria adattativa maggiore e cetuximab esibisce un effetto più pronunciato quando l'immunità adattativa è attivata.

Nello studio sono stati coinvolti un totale di 893 pazienti con mCRC; di questi 800 erano stati arruolati nei trials di fase III, FIRE-3 e TRIBE, ricevendo FOLFIRI/bev (coorte di *discovery* FIRE-3 n=295, coorte di validazione TRIBE n=227) o FOLFIRI/cet (coorte di controllo FIRE-3, n=278), e 93 pazienti, impiegati come seconda coorte di validazione, trattati con cetuximab + irinotecano o unicamente con cetuximab. Sono stati analizzati 6 SNPs in 6 geni coinvolti nel trasporto e nel metabolismo di 25-OHD (GC, CYP24A1, CYP27B1, VDR, DKK1 e CST5).

Nella coorte di *discovery* (FOLFIRI/bev), GC rs4588 è risultato significativamente associato con OS; in particolare, sia nell'analisi univariata che multivariata, i portatori del genotipo AA mostravano OS inferiore (15.9 vs 25.1 mesi), rispetto ai pazienti portatori dell'allele C (analisi multivariata: HR 1.72, 95%CI 1.01-2.92, P=0.047). Nella coorte di validazione l'associazione ha mantenuto la significatività nell'analisi multivariata aggiustata per sesso, età, sito tumorale, stato ECOG, stato mutazionale di BRAF e precedente chemioterapia adiuvante (HR 1.83, 95%CI 1.04-3.23, P=0.037). Combinando i due gruppi in trattamento con FOLFIRI/bev, l'associazione risultava ancora più evidente (HR 1.59, 95%CI 1.08-2.33, P=0.019). Al contrario, pazienti con mCRC rs4588 AA trattati con FOLFIRI/cet mostravano una OS maggiore (48.0 vs 25.2 mesi), rispetto ai portatori dell'allele C (HR 0.50, 95%CI 0.27-0.91, P=0.021). Questo *outcome* favorevole osservato nei soggetti con rs4588 AA trattati con FOLFIRI/cet è risultato poi confermato anche nella seconda coorte di validazione in trattamento con cetuximab (analisi multivariata; HR 0.40, 95%CI 0.27-0.91, P=0.021). Tra gli SNP analizzati, anche VDR rs731236 ha mostrato una correlazione con OS nella coorte di *discovery*. In questo caso, pazienti con genotipo GG mostravano una miglior OS (28.8 vs 23.7 mesi) in analisi multivariata (HR 0.62, 95%CI 0.39-0.99, P=0.046); tuttavia, nel set di validazione non è stata osservata la stessa associazione.

Questo studio è stato disegnato molto accuratamente, prevedendo una coorte di *discovery*, una di controllo e due di validazione. I risultati ottenuti dalla comparazione tra il gruppo di *discovery* e di controllo sono stati confermati nei due set indipendenti di validazione. Dal punto di vista della potenza dell'analisi, 893 pazienti rappresentano senza dubbio un gruppo numeroso con un adeguato potere statistico. Il dato andrà certamente confermato mediante ulteriori studi, ma i risultati raccolti suggeriscono che l'analisi genotipica di GC rs4588 potrebbe aiutare i clinici ad identificare quali pazienti riceveranno maggiori benefici aggiungendo bevacizumab o cetuximab al regime chemioterapico. Tra i limiti dello studio, gli autori segnalano la mancanza del dosaggio dei livelli di 25-OHD, che tuttavia non pregiudica la bontà del lavoro.

In conclusione, questo studio per la prima volta ha dimostrato un ruolo del polimorfismo GC rs4588 quale possibile biomarcatore in pazienti con mCRC dopo trattamento con FOLFIRI/bevacizumab o FOLFIRI/cetuximab

**Parole chiave:** cancro coloretale, FOLFIRI/cetuximab, FOLFIRI/bevacizumab, GC

#### Riferimento bibliografico

[Berger MD](#) et al. *Clin Cancer Res* 2017 Dec 5 [Epub ahead of print].

## INFETTIVOLOGIA

### DIFFERENZE ETNICHE NELLA FARMACOGENETICA DELLA SOSPENSIONE DI ATAZANAVIR CORRELATA ALLA BILIRUBINA

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

L'inibitore della proteasi dell'HIV-1 atazanavir, somministrato insieme ad *enhancer* farmacocinetici, ritonavir (atazanavir/r) o cobicistat (atazanavir/c), è generalmente sicuro ed efficace come regime di prima linea per l'infezione da HIV-1. Atazanavir inibisce la glucuronidazione della bilirubina mediante uridinadifosfatoglucuronosiltransferasi (UGT) 1A1, causando un aumento della concentrazione plasmatica di bilirubina indiretta, che in alcuni casi ha determinato l'interruzione della terapia. I polimorfismi nell'*UGT1A1* sono associati a concentrazioni di bilirubina indiretta nella popolazione generale (sindrome di Gilbert). Una ripetizione tandem TA del promotore, *UGT1A1*\*28 (TA)<sub>7</sub>, correla con una ridotta trascrizione di *UGT1A1* rispetto a *UGT1A1*\*1 (TA)<sub>6</sub> e \*37 (TA)<sub>8</sub>. Tra i trattati con atazanavir, *UGT1A1*\*28 è stato associato a iperbilirubinemia, così come il polimorfismo C→T (rs887829) che è in *linkage disequilibrium* quasi completo con \*28. In uno studio *genome-wide* che coinvolgeva individui trattati con regimi contenenti atazanavir (protocollo ACTG A5202), il genotipo rs887829 T/T e la bilirubina basale indiretta erano indipendentemente associati alla concentrazione totale di bilirubina nel picco del trattamento (Ribaud HJ et al. *J Infect Dis* 2013, 207:420–425). Uno studio svizzero ha inoltre ipotizzato un'associazione tra il polimorfismo di Gilbert e la sospensione di atazanavir (Lubomirov R et al. *J Infect Dis* 2011, 203:246–257). Un'analisi successiva (protocollo ACT25 A5257) ha mostrato che, tra 481 partecipanti che iniziavano il trattamento con atazanavir/r, la probabilità di interruzione della terapia a causa dell'aumento della bilirubina era bassa nei genotipi *UGT1A1* rs887829 C/C o C/T, ma sostanzialmente maggiore nei T/T, in particolare tra i partecipanti bianchi (Vardhanabhuti S et al. *Open Forum Infect Dis* 2015, 2:ofv085).

Il presente studio ha esaminato le associazioni tra genotipo *UGT1A1* rs887829 e l'interruzione di atazanavir/r correlata alla bilirubina tra i pazienti HIV, e se le associazioni differivano per etnia.

Gli autori hanno condotto uno studio osservazionale di coorte in pazienti che avevano iniziato regimi contenenti atazanavir/r per l'infezione da HIV-1 presso la Vanderbilt Comprehensive Care Clinic a Nashville, nel Tennessee, USA. I partecipanti avevano almeno 12 mesi di follow-up e avevano fornito il consenso informato per la ricerca genetica. Su 349 pazienti che hanno iniziato regimi contenenti atazanavir, non sono stati rilevati motivi chiari per la sospensione per 7 individui e in altri 3 atazanavir è stato interrotto per test di funzionalità epatica elevata, non chiaramente correlato alla bilirubina. Altri 18 individui sono stati persi al follow-up entro i primi 12 mesi.

Il DNA è stato genotipizzato per 535.543 polimorfismi a singolo nucleotide, incluso rs887829 C→T, mediante Illumina HumanCore Exome assay (San Diego, California, USA). I *genotype call rates* hanno superato il 99% per 807 campioni, inclusi 349 individui inclusi nello studio.

Per tenere conto della possibile stratificazione della popolazione, sono stati utilizzati i dati dell'intero genoma per generare coordinate multidimensionali di *scaling* (MDS) con PLINK. Oltre 500.000 polimorfismi disponibili da 224 individui nello studio attuale e 582 partecipanti aggiuntivi da uno studio precedente di efavirenz sono stati utilizzati per generare le coordinate MDS. Il test log-rank ( $\chi^2$ ) è stato utilizzato per valutare la correlazione tra le variabili genotipo e binomiale. Il modello di regressione del rischio proporzionale di Cox, adattato per la stratificazione della popolazione sulla base delle coordinate MDS, è stato utilizzato per esaminare le associazioni tra genotipo e interruzione di atazanavir correlata alla bilirubina. Le analisi hanno preso in considerazione tre gruppi di metabolizzatori, lenti, intermedi ed estesi, basati sui genotipi rs887829 T/T, C/T e C/C, rispettivamente. Tutte le analisi hanno utilizzato un livello di significatività pari al 5% ( $p=0.05$ ) e sono state eseguite utilizzando Stata/IC, versione 14.1 (StataCorp LLC, College Station, Texas, USA).

Un totale di 321 pazienti eleggibili ha avuto dati genotipici che hanno superato il controllo di qualità. Di questi 321 pazienti, 57 (17%) hanno interrotto definitivamente atazanavir entro il primo anno di terapia, mentre 264 hanno continuato ad assumerlo per almeno 12 mesi. 152 pazienti (47%) erano bianchi, 153 (48%) erano neri, 14 (4%) erano ispanici e due (1%) erano asiatici. Dei 67 pazienti iniziali che hanno interrotto il trattamento, in 15 di essi la causa principale era correlata alla bilirubina (22,4%).

Tra i 321 pazienti valutabili, 120 (37,5%) avevano genotipo rs887829 C/C, 142 (44%) avevano C/T e 59 (18,5%) avevano T/T. Tra i 59 pazienti omozigoti T/T, 43 (73%) erano neri, 13 (22%) erano bianchi e tre (5%) erano ispanici. Rs887829 T/T era presente nel 28,1% dei neri, nel 21,4% dei ispanici e nell'8,6% dei pazienti bianchi.

Tra i 321 pazienti valutabili, nelle analisi corrette per le prime due coordinate MDS, il rapporto di rischio (HR) per la sospensione di atazanavir correlata alla bilirubina con genotipo T/T era 7,4 [intervallo di confidenza al 95% (CI): 1,7-31,5;  $P = 0,007$ ] e con genotipo C/T era 1,5 (IC 95%: 0,5-8,4;  $P = 0,30$ ). Tra 152 pazienti bianchi, gli HR, non corretti per interruzione, per i genotipi T/T e C/T erano 14,4 (IC 95%: 2,6-78,7;  $P = 0,002$ ) e 1,3 (IC 95%: 0,2-9,4;  $P = 0,78$ ), rispettivamente. Tra 153 pazienti di colore, gli HR, non corretti per interruzione, per i genotipi T/T e C/T erano 0,8 (IC 95%: 0,1-12,7;  $P = 0,87$ ) e 1,4 (IC 95%: 0,1-13,6;  $P = 0,77$ ), rispettivamente. Tra i 14 pazienti ispanici, due riportavano interruzione di atazanavir correlata alla bilirubina, di cui uno su tre con genotipo T/T e uno su sette con C/T.

Queste analisi non hanno considerato la bilirubina basale (pre-trattamento) come covariata. Al basale, sei pazienti avevano concentrazioni di bilirubina superiori al range normale, compresi cinque con valori tra 1,1 e 1,3 mg/dl, e uno con una bilirubina di 2,3 mg/dl. Tra i 321 pazienti valutabili, nelle analisi corrette per le prime due coordinate MDS, l'HR della concentrazione basale di bilirubina per la sospensione di atazanavir correlata alla bilirubina era 7,3 (IC 95% = 2,6-20,7;  $P < 0,001$ ). In un modello multivariabile che includeva il genotipo rs887829, la concentrazione di bilirubina basale e 2 coordinate MDS, l'HR per interruzione era significativo per il genotipo T/T (HR = 5,2; IC 95%: 1,1-24,5;  $P = 0,038$ ) ma non per il valore basale di bilirubina (HR = 2,0; IC 95%: 0,8-4,9;  $P = 0,14$ ). Con questo stesso modello, ma includendo solo pazienti bianchi, l'HR per interruzione è risultato significativo per il genotipo T/T (HR = 9,4; IC 95%: 1,3-66,9;  $P = 0,026$ ) ma non per la bilirubina basale (HR = 5,2; 95 % CI: 0,7-40,4;  $P = 0,11$ ). Considerando solo i pazienti di etnia nera, l'HR per interruzione non era significativo per il genotipo T/T (HR = 0,30; IC 95%: 0,01-6,7;  $P = 0,45$ ) ma era significativo per la bilirubina basale (HR = 140,6; IC 95%: 3,6-5481;  $P = 0,008$ ).

Il presente studio ha mostrato che, tra 321 pazienti valutabili che avevano iniziato regimi contenenti atazanavir/r, il genotipo *UGT1A1* rs887829 T/T è associato ad un aumento di bilirubina correlato all'interruzione del trattamento durante i primi 12 mesi di terapia. Nelle analisi stratificate per etnia, l'HR nei pazienti bianchi era 14,4 ( $P = 0,002$ ), ma nei pazienti neri era 0,8 ( $P = 0,87$ ), nonostante il genotipo T/T fosse considerevolmente più frequente nei pazienti di etnia nera. Il numero quasi identico di pazienti neri e pazienti bianchi nell'analisi rafforza il valore dei risultati ottenuti. Gli autori non hanno svolto le analisi genetiche per il polimorfismo *UGT1A1* rs8175347 TA perché una precedente analisi (protocollo A5202) ha dimostrato che rs887829 era in *linkage* quasi completo con l'allele \*28 in bianchi, neri e ispanici.

Nei pazienti in cui è stato prescritto atazanavir, il polimorfismo di Gilbert predice una concentrazione plasmatica di bilirubina più elevata indipendentemente dall'etnia. Una possibile spiegazione per la mancanza di associazione tra *UGT1A1* T/T e sospensione di atazanavir/r correlata alla bilirubina nei pazienti di etnia nera rispetto ai pazienti bianchi, è che l'ittero può essere meno visibile tra gli individui con la pelle più scura. Se è così, allora questo è un esempio di una variante farmacogenetica funzionale nota che ha un impatto diverso su un risultato di tossicità antiretrovirale a seconda del contesto di appartenenza etnica.

Tra i pazienti trattati con regimi contenenti atazanavir/ritonavir, il genotipo metabolizzatore lento *UGT1A1* rs887829 T/T è stato associato alla sospensione della terapia dovuta all'aumento di bilirubina, nei pazienti bianchi, ma non nei pazienti neri.

**Parole chiave:** HIV-1, Atazanavir, *UGT1A1*

#### Riferimento bibliografico

[Leger P](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2018, 28(1): 1-6.

## NEUROLOGIA

### STUDIO FARMACOGENETICO DI SETTE POLIMORFISMI IN TRE SUBUNITA' DEL RECETTORE NICOTINICO PER L'ACETILCOLINA NELLE TERAPIE DI CESSAZIONE DEL FUMO DI SIGARETTA

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'uso del tabacco aumenta il rischio di decesso per cause sia neoplastiche che cardiovascolari e polmonari. Smettere di fumare è molto difficile; ogni anno, solo il 6% dei fumatori riesce a smettere da solo. Studi genetici hanno ampiamente dimostrato che la cessazione dell'abitudine al fumo e la dipendenza da nicotina sono geneticamente determinati e che molti *loci* cromosomici sono associati a questi fenotipi. Tre di questi *loci* contengono *clusters* di geni che codificano per sei subunità del recettore nicotinic dell'acetilcolina (nAChR): *CHRNA3-CHRNA6* sul cromosoma 8p11, *CHRNA5-CHRNA3-CHRNA4* sul cromosoma 15q25 e *CHRNA4* sul cromosoma 20q13. SNPs in questi *loci* sono stati associati alla dipendenza da nicotina, come pure SNPs del gene *CHRNA2*, sul cromosoma 1. Gli nAChRs sono proteine pentameriche composte da varie combinazioni di subunità, chiamate  $\alpha$ 1-10,  $\beta$ 1-4,  $\gamma$ ,  $\delta$  e  $\epsilon$ . Gli nAChRs sono attivati anche dalla nicotina, pertanto sono il *target* per le terapie farmacologiche per la cessazione del fumo, le più efficaci delle quali sono la *nicotine replacement therapy* (NRT), la vareniclina e il bupropione.

La vareniclina lega l' $\alpha$ 4 $\beta$ 2 come agonista parziale, mentre il bupropione è un antagonista non competitivo di nAChRs19. L'efficacia di questi trattamenti è ancora limitata e variabile, probabilmente a causa di differenze genetiche dei nAChRs, come dimostrato da studi farmacogenetici di associazione.

Lo scopo del presente studio è di valutare la possibilità che variazioni genetiche delle subunità di AChR possano influire sull'abitudine al fumo e sull'efficacia delle terapie per smettere di fumare. Sono stati genotipizzati sette SNPs in tre subunità di nAChR. In *CHNA4*, è stato studiato rs2236196. In *CHRNA5*, sono stati considerati cinque SNPs: rs16969968, tre SNPs in 5'-UTR (rs503464, rs55853698 e rs55781567) e rs3841324 nel promotore. Infine, è stato genotipizzato rs2072661 in *CHRNA2*.

Sono stati reclutati un totale di 337 adulti. Un gruppo di pazienti non selezionato per età e numero di sigarette fumate e, sulla base dell'abitudine al fumo, ha ricevuto farmacoterapia con vareniclina, bupropione, NRT da soli oppure NRT più bupropione, con diversi schemi di somministrazione. Un altro gruppo di soggetti, costituito da forti fumatori (età 49-75 anni), è stato trattato con vareniclina secondo lo

schema seguente: 0,5 mg/die per i primi tre giorni, 0,5 mg due volte al giorno per i seguenti quattro giorni e 1 mg due volte al giorno dall'ottavo giorno fino alla fine del mese.

I dati dei pazienti sono stati registrati al *baseline* e a 1, 3 e 12 mesi dall'inizio della terapia. A ciascuna visita il paziente dichiarava la sua situazione nei confronti del fumo e il numero di sigarette/die (*cigarettes per day*, CPD). I pazienti sono stati inoltre sottoposti alla misurazione del monossido di carbonio espirato (eCO) che è prodotto dalla combustione incompleta del materiale contenente carbone nel polmone e fornisce una stima di quanto fumo è stato inalato, costituendo un parametro efficace per monitorare i progressi della cessazione del fumo. Durante il *follow-up* i pazienti che avevano smesso di fumare erano definiti sulla base di un'auto-dichiarazione di avere cessato l'uso delle sigarette e un eCO<6 ppm.

Sei SNPs sono stati genotipizzati tramite *pyrosequencing*: rs2072661 in *CHRNA2* (cromosoma 1), quattro SNPs in *CHRNA5* (rs503464, rs55853698, rs55781567 e rs16969968 sul cromosoma 15q25), e rs2236196 in *CHRNA4* (cromosoma 20q13). *Pyrosequencing* è stato realizzato su *PSQ96MA system (Biotage, Uppsala, Sweden) running PyroMark Q96 ID Software (Qiagen)*. Inoltre, rs3841324 in *CHRNA5* è stato genotipizzato con saggio PCR ed elettroforesi su gel 3% di agaroso.

Lo studio comprendeva 337 Italiani adulti (197 uomini e 140 donne). Prima di iniziare il trattamento, i soggetti fumavano in media 20 sigarette al giorno ed avevano un eCO medio di 20 ppm. Due terzi dei soggetti hanno ricevuto vareniclina, mentre gli altri sono stati trattati con bupropione, NRT o entrambi. Un mese dopo l'inizio del trattamento (valutazione a breve termine) la maggior parte dei pazienti (76.3%) aveva smesso di fumare. Alle valutazioni a medio e lungo termine la percentuale dei pazienti che non fumavano era scesa al 64.4% e 47.2%, rispettivamente, a causa di ricadute.

I dati dello studio hanno mostrato che i polimorfismi in *CHRNA5* sono associati alla dipendenza da nicotina. Quattro SNPs in *CHRNA5* (rs503464, rs55853698, rs55781567 e rs16969968) erano associati in misura significativa al numero di CPD e al valore di eCO ( $p<0,01$ ) e tale associazione rimaneva statisticamente significativa dopo la correzione per *multiple testing* ( $FDR<0,05$ ). Non è stata osservata alcuna associazione significativa tra eCO o CPD e rs3841324 in *CHRNA5*, rs2072661 in *CHRNA2* o rs2236196 in *CHRNA4*.

Per quanto riguarda l'associazione degli SNPs con la cessazione dell'abitudine al fumo solo uno SNP, rs503464, una variante nel 5' UTR di *CHRNA5*, era associato alla risposta (regressione logistica,  $p<0,05$ ). Questa associazione è stata osservata in tutte le visite di *follow-up* ( $p=0,011$ ,  $p=0,0043$ ,  $p=0,020$ , per la risposta a breve, medio e lungo termine, rispettivamente), con un OR<1, che indica che l'aumento del numero degli alleli minori (A) conferisce una minore probabilità di continuare a fumare. Dopo correzione per *multiple testing*, tuttavia, solo l'associazione con la risposta alle terapie a medio termine rimaneva statisticamente significativa ( $FDR=0,03$ ). Al *follow-up* a medio termine, la percentuale di pazienti che si asteneva dal fumo aumentava progressivamente con il numero degli alleli minori a rs503464, tanto che 10 degli 11 casi con genotipo AA (91%) avevano smesso di fumare alla visita dei tre mesi.

Nel presente studio è stato investigato il coinvolgimento dei polimorfismi delle subunità di nAChR nella dipendenza da nicotina e nella risposta alla terapia per smettere di fumare: è stata osservata un'associazione degli SNPs di *CHRNA5* con entrambi i fenotipi. In particolare, lo SNP rs16969968 e gli SNPs 5'-UTR (rs503464, rs55853698, rs55781567) erano associati in misura significativa ai valori al *baseline* di CPD e eCO, misure della dipendenza dalla nicotina. Lo SNP rs503464 era anche associato alla risposta alla terapia per smettere di fumare.

Questi dati sono in accordo con le ripetute associazioni riportate in letteratura di rs16969968 con la dipendenza da nicotina e confermano anche la già menzionata associazione di rs55853698 con la quantità di sigarette fumate. Inoltre, in questo studio è emersa, per la prima volta, la significativa associazione di due polimorfismi 5'-UTR di *CHRNA5* (rs503464 e rs55781567) che non erano mai stati associati alla dipendenza da nicotina.

Uno dei punti di forza del presente studio è la valutazione dello stato di fumatore tramite la misurazione di eCO; il CPD, infatti, è un dato auto-riferito dal paziente, quindi soggettivo, non attendibile nei casi in cui i fumatori non ammettono il loro fallimento. Negli studi di associazione genetica è stato inoltre riportato che eCO è un *biomarker* migliore di CPD.

In conclusione, il presente studio mostra, in una popolazione Italiana di fumatori, un'associazione dei polimorfismi rs503464, rs55853698, rs55781567 e rs16969968 di *CHRNA5* con numero di sigarette/die e valori di monossido di carbonio espirato. Inoltre, rs503464, una variante nel 5'-UTR di *CHRNA5*, è associato anche alla risposta alla terapia per smettere di fumare, a breve, medio e lungo termine, sebbene, dopo correzione per *multiple testing* solo l'associazione a medio termine è rimasta significativa

**Parole chiave:** dipendenza da fumo, nAChR, *CHRNA5*, *nicotine replacement therapy*, vareniclina, bupropione, farmacogenetica

#### Riferimento bibliografico

[Pintarelli G](#) et al. *Scientific Reports* 2017, 7(1): 16730.

### L'INTERAZIONE TRA I GENI *DRD4* E *COMT* MODULA LA RISPOSTA CLINICA ALLA CLOZAPINA IN PAZIENTI CON SCHIZOFRENIA RESISTENTE AL TRATTAMENTO

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La clozapina è il farmaco di scelta per il trattamento della schizofrenia resistente al trattamento. Tuttavia, il trattamento può associarsi a reazioni avverse gravi quali agranulocitosi, convulsioni e miocarditi. La risposta clinica alla clozapina è variabile e difficile da prevedere. Avere a disposizione dei *marker* farmacogenetici in grado di assistere il clinico nella scelta della terapia più adeguata sarebbe quindi di notevole importanza.

Il meccanismo d'azione della clozapina non è perfettamente conosciuto. Il farmaco si lega a una serie di recettori dopaminergici e serotoninergici. Tra i recettori dopaminergici, il recettore D4 è espresso nella corteccia prefrontale e mostra un'affinità per la clozapina 10 volte superiore rispetto al recettore D2. Il gene *DRD4*, che codifica per il recettore D4, è altamente polimorfico. Una duplicazione di 120 paia di basi nella regione del promotore del gene *DRD4* (duplicazione 120-bp) riduce l'espressione del recettore D4 *in vitro* ed è stata ipotizzata essere in grado di influenzare la risposta clinica alla clozapina. La dopamina è degradata ad opera dell'enzima catecol-O-metiltrasferasi (COMT). Il polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) Val158Met riduce l'attività dell'enzima. L'allele met, associato a riduzione dell'attività enzimatica, comporta l'aumento dei livelli di dopamina nella corteccia prefrontale.

Anche se studi precedenti hanno già evidenziato l'associazione tra polimorfismi localizzati nei geni *DRD4* e *COMT* e la risposta alla clozapina, questo studio ha valutato per la prima volta le interazioni epistatiche tra i due geni in riferimento a questo fenotipo.

Lo studio ha arruolato 101 pazienti consecutivi con schizofrenia resistente al trattamento (in accordo con i criteri di Kane), reclutati nel Dipartimento di Psichiatria, Christian Medical College, Vellore, India. I pazienti presentavano una diagnosi di schizofrenia in accordo con i criteri del DSM-IV-TR ed erano trattati con una dose stabile di clozapina da almeno 12 settimane. I criteri di esclusione comprendevano patologie neurologiche severe e disabilità intellettive. Per 93 pazienti è stato possibile ottenere un campione di DNA genomico per la genotipizzazione delle due varianti dei geni *DRD4* (duplicazione 120-bp) e *COMT* (Val158Met).

I pazienti sono stati definiti *responder* alla clozapina in caso presentassero un punteggio *cross-sectional* non superiore a 35 nella scala BPRS, e *non-responder* in caso il punteggio fosse superiore a 35.

L'associazione tra le varianti geniche e la risposta, così come l'interazione tra le varianti, è stata valutata tramite la costruzione di un modello di regressione logistica, inserendo la risposta come *outcome*, i genotipi come predittori, età, sesso e livelli sierici di clozapina come covariate. Le interazioni epistatiche sono state analizzate secondo i modelli additivo, co-dominante, dominante e recessivo. Altre variabili quali dosaggio, durata della terapia con clozapina, fumo, consumo di caffeina e farmaci concomitanti, sono risultate correlate tra loro. Pertanto, è stata eseguita una *principal component analysis* che ha incluso tutte le variabili cliniche e sociodemografiche per ridurre la multicollinearità, e le componenti principali sono state utilizzate come covariate nelle successive analisi.

Tra i 93 partecipanti reclutati, 59 sono stati identificati come *responder* (punteggio BPRS  $\leq$  35). Singolarmente, le due varianti geniche non sono risultate associate con la risposta alla clozapina. Le analisi di epistasi hanno mostrato un'interazione di tipo antagonista significativa secondo i modelli dominante ( $p = 0,003$ ,  $p$ -value corretto per Bonferroni: 0,012) e additivo ( $p = 0,003$ ,  $p$ -value corretto per Bonferroni: 0,012). Nel sottogruppo di pazienti che non presentavano la duplicazione del gene *DRD4* in omozigosi (e cioè che presentavano genotipo 120/120 o 120/240), l'allele met del gene *COMT* è risultato associato con una migliore risposta alla clozapina rispetto al genotipo val/val.

Nel sottogruppo di pazienti che presentavano l'allele met del gene *COMT* (val-met, met-met), l'allele 120-bp del gene *DRD4* (genotipi 120/120 o 120/240) è risultato associato con una migliore risposta alla clozapina rispetto al genotipo *DRD4* 240/240. Nel sottogruppo di pazienti con genotipo val/val del gene *COMT* è stato osservato un *trend* non significativo per un effetto in direzione opposta.

Questo studio ha mostrato per la prima volta un'interazione tra le due varianti dei geni *COMT* e *DRD4*, suggerendo che:

- 1) pazienti con uno o due alleli *COMT* met (val/met o met/met) e uno o due alleli *DRD4* 120-bp (120/120 o 120/240) mostrino una risposta migliore alla clozapina rispetto a pazienti che non presentano tali alleli;
- 2) i genotipi *DRD4* 120/120 e 120/240 si associno ad una scarsa risposta alla clozapina in presenza del genotipo *COMT* val/val;
- 3) l'allele *COMT* met non si associ ad una buona risposta alla clozapina in presenza della duplicazione *DRD4* 120-bp in omozigosi (240/240).

I limiti dello studio comprendono la valutazione *cross-sectional* della risposta alla clozapina e la dimensione del campione limitata, che tuttavia è risultata sufficiente ad evidenziare un effetto significativo con un potere statistico superiore all'80% in base ad una *power analysis* condotta dagli autori.

In conclusione, lo studio suggerisce un'interazione tra le varianti geniche *COMT* val158met e *DRD4* 120-bp nel predire la risposta clinica alla clozapina nei pazienti con schizofrenia resistente al trattamento.

**Parole chiave:** clozapina, schizofrenia, *COMT*, *DRD4*

#### Riferimento bibliografico

[Rajagopal VM](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2018, 28: 31-5.

## CARDIOVASCOLARE

### ASSOCIAZIONE TRA IL GENOTIPO *ARMS2* E LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON ANTI-VEGF IN PAZIENTI CON VASCULOPATIA COROIDEALE POLIPOIDE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La vasculopatia coroidale polipoide (PCV) è generalmente considerata un sottotipo di neovascolarizzazione coroidale (CNV) secondaria alla degenerazione maculare legata all'età (AMD). Attualmente lo standard di cura è rappresentato dalle iniezioni intra-vitreali di inibitori del fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF), con riduzione dell'essudato e delle emorragie (Cho HJ et al. *Am J Ophthalmol* 2013;156(3):524–31.e521; Hikichi T et al. *Br J Ophthalmol* 2013;97(5):617–21; Hikichi T et al. *Am J Ophthalmol* 2010;150(5):674–82. e671; Kokame GT et al. *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde* 2014;231(2):94–102) ma con scarsi effetti in termini di regressione delle lesioni polipoidi o del *network* vascolare (*branching vascular network*, BVN) (Hikichi T et al. *Br J Ophthalmol* 2013;97(5):617–21; Hikichi T et al. *Am J Ophthalmol* 2010;150(5):674–82. e671; Kokame GT et al. *Ophthalmologica Journal international d'ophtalmologie International journal of*

*ophthalmology Zeitschrift fur Augenheilkunde* 2014,231(2):94–102; Koh A et al. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2012,32(8):1453–64). Studi di larga scala su pazienti caucasici con AMD non hanno trovato un'associazione significativa tra variabili farmacogenetiche e risposta agli anti-VEGF (Hagstrom SA et al. *Ophthalmology* 2013,120(3):593–9; Lotery AJ et al. *Ophthalmology*. 2013,120(12):2637–43), tuttavia rimane dubbia l'associazione in pazienti asiatici (Park UC et al. *Mol Vis* 2014,20:1680–94; Park UC et al. *Retina (Philadelphia, Pa)* 2014,34(2):288–97). Nel caso della PCV, forma più comune nella popolazione asiatica, è stata valutata l'associazione con la risposta agli anti-VEGF solo per poche varianti genetiche (Hata M et al. *Graefes archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie* 2015,253(2):221–7; Yamashiro K et al. *Am J Ophthalmol* 2012,154(1):125–36). Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza di varianti genetiche rilevanti per l'AMD sulla risposta terapeutica agli anti-VEGF in pazienti coreani affetti da PCV.

Sono stati arruolati retrospettivamente pazienti di età superiore ai 50 anni, trattati con anti-VEGF a partire dal gennaio 2010 e fino al luglio 2013. Il trattamento prevedeva tre iniezioni mensili di ranibizumab seguite da iniezioni al bisogno. In alcuni pazienti, per motivi assicurativi, è stato utilizzato per il ritrattamento bevacizumab in *off-label*.

Dei 112 pazienti arruolati, 81 sono stati inclusi nell'analisi farmacogenetica. Dei 31 pazienti non inclusi, 2 non avevano un campione sufficiente per l'analisi genetica, 15 non hanno completato il periodo di 12 mesi previsto per il trattamento al bisogno, 3 presentavano condizioni generali scadenti e 11 risultavano persi al *follow-up* per cause non note.

L'età media era di 67.6 anni e 49 erano maschi (60.5%). Il valore di *best-corrected visual acuity* (BCVA) è migliorato da  $50.6 \pm 20.7$  lettere al basale a  $55.6 \pm 25.0$  lettere al mese 12 ( $P = 0.016$ ). Lo spessore foveale medio (*total foveal thickness*, TFT) si è ridotto passando da  $425.6 \pm 199.4 \mu\text{m}$  al basale a  $344.4 \pm 277.2 \mu\text{m}$  al mese 12 ( $P = 0.003$ ). L'angiografia con verde indocianina è stata eseguita al mese 12 su 55 pazienti, e 19 hanno mostrato regressione delle lesioni. Nessuna variabile non genetica (età, sesso, fumo, BCVA al basale, TFT, area della lesione vascolare) ha mostrato associazione con cambiamenti del valore BCVA e TFT. L'analisi farmacogenetica ha mostrato un'associazione tra la regressione del distacco dell'epitelio pigmentato valutato tramite *optical coherence tomography* (OCT) e la presenza del genotipo *ARMS2 rs10490924* (26.4%, 45.7%, e 63.6% rispettivamente per gli alleli *TT*, *TG* e *GG*;  $p = 0.043$ ).

In questo studio è stata valutata l'associazione tra geni e risposta terapeutica ad iniezioni di anti-VEGF in pazienti coreani affetti da PCV. Dopo 12 mesi di terapia al bisogno, solo il polimorfismo *ARMS2 rs10490924* ha mostrato un'influenza positiva sugli *outcome* anatomici: in particolare l'allele G ha mostrato un effetto additivo sulla regressione del distacco dell'epitelio pigmentato all'OCT al mese 12. Ad oggi, oltre al suddetto polimorfismo, sono stati associati con la prognosi della PCV dopo terapia fotodinamica anche i polimorfismi *PEDF rs12603825* (Nakata I et al. *Ophthalmology* 2011,118(7):1408–15) e *CD36 rs3173798* (Honda S et al. *Mol Vis* 2012,18:2796–804).

In conclusione, questo studio mostra una possibile associazione tra il genotipo *ARMS2 rs10490924* e l'*outcome* di pazienti coreani affetti da PCV trattati in monoterapia con anti-VEGF. Sono necessari ulteriori studi su un più ampio campione di pazienti, per un più lungo periodo di *follow-up* e per una più ampia varietà di geni candidati.

Limiti dello studio sono i seguenti: numero limitato di pazienti con conseguente basso potere statistico; mancata valutazione dei pazienti che non hanno completato i 12 mesi di *follow-up*; mancata inclusione di geni di suscettibilità specifici per la PCV; mancato utilizzo della valutazione tramite angiografia con verde indocianina per tutta la coorte.

**Parole chiave:** vasculopatia coroideale polipoide, *ARMS2*, anti-VEGF

**Riferimento bibliografico**

[Park UC](#) et al. *BMC Ophthalmology* 2017, 17(1): 241.

## GENETICA E RISPOSTA CLINICA AL WARFARIN E ALL'EDOXYBAN IN PAZIENTI CON TROMBOEMBOLISMO VENOSO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Il Tromboembolismo venoso (TEV), che comprende la Trombosi Venosa Profonda (TVP) e l'Embolia Polmonare (EP), si presenta con un'incidenza pari all'1-2 per mille della popolazione generale. La gestione terapeutica dei pazienti con TEV ormai da lungo tempo si avvale della terapia anticoagulante orale con gli antagonisti della Vitamina K (AVK), warfarin e acenocumarolo. Questi farmaci, associati a un'iniziale eparinizzazione, rappresentano ancora adesso, nonostante l'introduzione in commercio dei nuovi anticoagulanti orali (NAO), la terapia di prima scelta. Gli AVK sono farmaci efficaci ma hanno una finestra terapeutica molto stretta per cui è necessario monitorare lo stato coagulativo del paziente mediante periodiche misurazioni del tempo di protrombina tramite il calcolo dell'International Normalized Ratio (INR). Esiste un'ampia variabilità interindividuale nella risposta agli AVK: molti pazienti sono particolarmente sensibili alla terapia, altri manifestano resistenza. All'aumentare della sensibilità agli AVK, aumenta il rischio di emorragie, anche maggiori. I fattori che influenzano la risposta individuale al warfarin sono di tipo demografico, ambientale, clinico e genetico. I fattori genetici più importanti sono il polimorfismo G-1639A nel promotore del gene codificante per la Vitamina K epossido reduttasi (VKORC1), bersaglio molecolare del farmaco e due polimorfismi (CYP2C9-\*2 e -\*3) nel gene per il citocromo P450 2C9 (CYP2C9), isoforma enzimatica essenziale per il suo metabolismo.

Per superare alcuni dei limiti della terapia con AVK come il basso indice terapeutico e la probabilità particolarmente elevata d'interazioni farmacologiche, sono stati sviluppati i NAO come l'edoxaban, un potente inibitore diretto del fattore Xa. I NAO sono efficaci, hanno una farmacodinamica più prevedibile e richiedono monitoraggi laboratoristici meno frequenti rispetto agli AVK. Inoltre, i trial disegnati per dimostrare la non inferiorità dei NAO, compreso l'edoxaban, rispetto al warfarin hanno fatto rilevare un minor rischio di sanguinamenti maggiori nei pazienti con TEV. Già nello studio ENGAGE AF-TIMI 48 era stato osservato come i pazienti con fibrillazione atriale classificati come "sensibili" e "molto sensibili" al warfarin, sulla base della genotipizzazione VKORC1 e CYP2C9, avessero un rischio più elevato di sanguinamento rispetto ai pazienti, wild type. I pazienti "sensibili" e "molto sensibili" al warfarin avevano mostrato, inoltre, una significativa riduzione del rischio di sanguinamento quando trattati con edoxaban. Le complicanze, in particolare quelle di tipo emorragico, erano state riportate soprattutto nei primi 90 giorni di terapia, suggerendo che l'identificazione dei polimorfismi summenzionati potesse essere utilizzata come strumento per prevedere la risposta al warfarin prima di iniziare la terapia, consentendo di individuare più precocemente la dose corretta, rispetto all'approccio empirico con misurazioni seriate dell'INR (Giugliano et al., *N Engl J Med* 2013, 369:2093-104).

In modo simile all'ENGAGE AF-TIMI 48, lo studio qui revisionato "Hokusai-venous thromboembolism (Hokusai-VTE)", un trial di non inferiorità, randomizzato, multicentrico, in doppio cieco, ha valutato sicurezza e efficacia dell'edoxaban rispetto al warfarin in pazienti con TEV. Sono stati arruolati 8292 pazienti affetti da TEV provenienti da 439 centri in tutto il mondo; a tutti i pazienti è stata somministrata eparina per almeno cinque giorni; i pazienti sono stati randomizzati 1:1 a ricevere edoxaban 60 mg/die o warfarin; la terapia con warfarin è stata iniziata "embricata" all'eparina, aggiustando la dose dell'AVK per mantenere l'INR a target (tra 2 e 3). Prima di iniziare la terapia, sono stati determinati i genotipi per gli alleli CYP2C9-\*2 e -\*3 e VKORC1-G1639A e di conseguenza i pazienti sono stati suddivisi in tre gruppi rappresentativi della diversa sensibilità al warfarin e indicati come: normali, sensibili e molto sensibili.

È stato definito *sanguinamento maggiore* un sanguinamento evidente con una riduzione dell'emoglobina di 2 g/dL o più, che abbia richiesto la trasfusione di due o più unità di sangue, occorso in sede critica o che

abbia causato la morte. Si è definito *sanguinamento clinicamente rilevante non-maggiore (SCRNM)* un sanguinamento evidente che, pur non rientrando nei criteri di sanguinamento maggiore, ha richiesto intervento medico, sospensione del farmaco o compromissione delle attività quotidiane. Infine, per *sanguinamento totale* si è inteso un sanguinamento maggiore, SCRNM e sanguinamento fastidioso (ovvero tutte le forme di sanguinamento che non rientrano nelle prime due categorie).

Nei pazienti trattati con warfarin la dose settimanale media è stata ridotta, proporzionalmente alla sensibilità determinata tramite lo screening genetico VKORC1-CYP2C9. All'aumentare della sensibilità, i pazienti trattati con warfarin tendevano a spendere più tempo con valori di INR sovra-terapeutici sia nei primi 90 giorni di terapia sia per tutta la durata dello studio. Inoltre, essi hanno subito sanguinamenti più precocemente durante i 90 giorni di osservazione rispetto ai soggetti normali. Invece, nei primi 90 giorni di terapia, in particolare nei primi 28, i pazienti trattati con edoxaban hanno manifestato un più alto numero di sanguinamenti maggiori rispetto ai pazienti trattati con warfarin indipendentemente dal genotipo. Tuttavia, i pazienti trattati con warfarin classificati come "sensibili" e "molto sensibili" hanno mostrato un maggior numero di sanguinamenti totali rispetto a quelli in terapia con edoxaban.

Questa sub-analisi del trial Hokusai VTE è stata concepita per confermare ed estendere i risultati già emersi dall'analisi farmacogenetica ENGAGE AF-TIMI 48 eseguita in una popolazione di pazienti con fibrillazione atriale. Lo studio ha confermato l'aumento del rischio di sanguinamento associato alla terapia con warfarin nei soggetti portatori delle varianti polimorfiche CYP2C9-\*2 e -\*3 e VKORC1/G-1639A associate a maggiore sensibilità agli AVK. Questi risultati confermano la validità dello screening farmacogenetico per l'identificazione dei pazienti sensibili al trattamento con AVK specialmente quando eseguita all'inizio della terapia.

Attraverso lo screening farmacogenetico è possibile identificare i pazienti "sensibili" e "molto sensibili" al warfarin e considerare un abbassamento del dosaggio o, in alternativa, cambiare la terapia anticoagulante somministrando un NAO, come l'edoxaban. Tuttavia, è molto importante considerare che la terapia con NAO non è libera da rischi e reazioni avverse, comprese le emorragie maggiori e richiede, al pari del trattamento con AVK, un adeguato monitoraggio.

**Conflitto d'interesse:** Lo studio è stato sponsorizzato dall'azienda farmaceutica Daiichi Sankyo, Inc (Parsippany, New Jersey, USA), produttrice di edoxaban. Due autori dello studio sono stati dipendenti dell'azienda e cinque di essi lo sono tuttora.

**Parole chiave:** TEV, Warfarin, Edoxaban, CYP2C9, VKORC1, emorragie maggiori

#### Riferimento bibliografico

[Vandell AG](#) et al. *Heart* 2017, 103: 1800-5.

## IMMUNOMODULAZIONE

### UN POLIMORFISMO NEL GENE FCGR3A PREDICE LA FORMAZIONE DI ANTICORPI ANTI-FARMACO NEI PAZIENTI CON MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI TRATTATI CON ANTI-TNF

A cura delle Dott.sse Debora Curci e Marianna Lucafò

Nelle malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) un'aumentata secrezione di citochine pro infiammatorie, come il fattore di necrosi tumorale (TNF $\alpha$ ) a livello della lamina propria dell'intestino, svolge

un ruolo essenziale nell'iniziazione e propagazione della malattia. Pertanto, non è sorprendente che l'infliximab (IFX) e l'adalimumab (ADM), due anticorpi IgG monoclonali (mAbs) diretti contro il TNF $\alpha$ , abbiano mostrato una maggiore efficacia rispetto alle terapie convenzionali. Tuttavia la risposta agli anti-TNF $\alpha$  mostra una grande variabilità interindividuale e la diminuzione dei livelli di farmaco nel siero assieme alla produzione di anticorpi anti-farmaco sono tra le principali cause di perdita di risposta terapeutica.

L'IFX e l'ADM, mediante la frazione Fc, esercitano funzioni effettrici come la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC). L'Fc, infatti, si lega ai recettori gamma Fc (Fc $\gamma$ R) espressi sulla superficie delle cellule immunitarie (macrofagi, neutrofilii e cellule natural killer) inducendo la lisi della cellula esponente il TNF $\alpha$  e la degradazione dei complessi IgG-Fc $\gamma$ R a livello degli endolisosomi o lisosomi secondari. Pertanto, la presentazione di antigeni (IgG) su queste cellule, attraverso il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC II), aumenta la probabilità di produzione di anticorpi anti-farmaco da parte delle plasmacellule attivate. Un polimorfismo funzionale (V158F; rs396991) in uno dei geni che codifica per i Fc $\gamma$ R (FCGR3A), che influenza l'affinità di legame dell'anticorpo, è stato già associato con la risposta all'IFX nella Malattia di Crohn (MC); inoltre il genotipo FCGR3A 158V/V è stato associato con un'aumentata *clearance* dell'IFX e un maggior rischio di recidiva nei pazienti con MC. Lo scopo di questo lavoro quindi, è quello di valutare se la presenza del polimorfismo V158F nel gene FCGR3A può influenzare i livelli sierici del TNF $\alpha$ , degli anti-TNF $\alpha$  (IFX e ADM) e la comparsa di anticorpi anti-farmaco, con l'obiettivo di identificare biomarkers che permettano di individuare le opzioni cliniche e terapeutiche più favorevoli al paziente.

Lo studio è stato condotto su 103 pazienti adulti affetti da MICI (80 MC; 23 rettocolite ulcerosa RU) provenienti dal Santa Lucia General University Hospital in fase di mantenimento della terapia.

Il DNA è stato estratto dal buffy coat del paziente utilizzando il DNA mini kit QiaAmp e l'estrattore automatico Qiacube. È stata eseguita successivamente la genotipizzazione di FcGR3A V158F tramite *nested-PCR* e RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) al fine di amplificare in maniera selettiva FCGR3A e non FCGR3B.

Uno studio comparativo che include diverse variabili (età, peso, durata trattamento e concentrazioni sieriche di TNF, albumina, CRP), che potrebbero influenzare le concentrazioni del farmaco, non ha rivelato nessuna differenza tra il gruppo di pazienti che assume IFX e quello che assume ADM. La distribuzione del genotipo V158F nei casi di studio (FF:38,8%, FV: 44,6% VV: 15,5%) è coerente con l'Equilibrio di Hardy-Weinberg ( $p=0,722$ ) e non sono state riscontrate differenze significative tra la distribuzione genotipica e il tipo di malattia (MC: 37,5%FF, 46,4% FV. 16,3% VV vs RU: 43,5% FF, 45,5% FV,13% VV;  $p = 0,85$ ).

Le concentrazioni sieriche di TNF $\alpha$  (pg/ml), nei pazienti in fase di mantenimento della terapia, sono state misurate prima dell'infusione del farmaco tramite un saggio immunometrico chemiluminescente a fase solida (IMMULITE 1000 analyzer Siemens, e IMMUNLITE TNF- $\alpha$ ) risultando più alte nei portatori FF rispetto ai FV e più basse nei pazienti con genotipo VV.

Il test ANOVA, anche se non raggiungendo significatività statistica, mostra una tendenza tra i diversi gruppi (FF:  $5.4 \pm 1.4$ , FV:  $5.1 \pm 1.3$ , VV:  $4.9 \pm 1.2$ ;  $p=0.09$ ) dovuta principalmente al confronto tra gli FF e i VV ( $p=0.055$ ) e in minor misura al confronto tra FF e FV ( $p=0.08$ ). Quando si considera solo il gruppo di pazienti che assume ADL, i pazienti FF mostrano una concentrazione di TNF significativamente più alta rispetto ai pazienti FV ( $p=0.035$ )

I pazienti con genotipo FF avevano concentrazioni sieriche di IFX o ADM più alte ( $\mu\text{g/mL} \pm \text{SD}$ ) rispetto ai pazienti con genotipo VV anche se le differenze non sono risultate significative (IFX:  $2,4 \pm 1,9$  vs  $1,8 \pm 1,7$  e ADM:  $6,3 \pm 3,8$  vs  $3,4 \pm 3,5$ ) ( $p=0,20$  e  $p=0,38$  rispettivamente).

Dei soggetti inclusi nello studio, 13 (12,6%) (11 CD e 2 UC) hanno sviluppato anticorpi anti-farmaco (11 anti-IFX (16,7%) e 2 anti-ADM (5,4%)) e la produzione degli stessi non è associata al tipo di farmaco utilizzato ( $p=0,086$ ), al tipo di malattia ( $p=0,52$ ) o alla durata del trattamento, suggerendo che alla base dello sviluppo di anticorpi anti-farmaco e quindi della resistenza agli anti-TNF ci potrebbero essere motivi genetici. Infatti nello studio è stato dimostrato che pazienti con genotipo VV hanno prodotto più anticorpi anti-farmaco rispetto ai pazienti con genotipo FV o FF ( $p=0.004$ ; 37,5% vs 10,6% o 5%, rispettivamente). Questo probabilmente è dovuto al fatto che l'allele V conferisce una maggiore affinità di legame del recettore (Fc $\gamma$ R) all'IgG rispetto ai portatori dell'allele F, determinando una maggiore ADCC e *clearance* del farmaco.

Risultati simili sono stati ottenuti limitando l'analisi ai pazienti che assumono solo IFX (VV vs FF + FV (41,7% vs 11,1%;  $p = 0,01$ ).

L'analisi multivariata ha rivelato inoltre che il polimorfismo (V158F; rs396991) nel gene FCGR3A (FF + FV vs VV) è un predittore indipendente della produzione di anticorpi anti-farmaco ( $p=0,032$ ; OR = 6,084; CI (95%) = 1,16-31,84).

Il polimorfismo V158F nel gene FCGR3A sembra essere associato alla produzione di anticorpi anti-farmaco; in particolare l'analisi multivariata dimostra che il genotipo VV può essere considerato un marker predittivo indipendente di questo evento (VV: 37,5% vs FV: 10,6% o FF: 5%;  $p = 0,004$ ) e potrebbe essere preso in considerazione per la personalizzazione della terapia nei pazienti affetti da MICI.

**Parole chiave:** malattia di Crohn, colite ulcerosa, infliximab, adalimumab, anticorpi anti-farmaco, farmacogenetica, polimorfismo, FCGR3A, V158F

#### Riferimento Bibliografico

[Romero-Cara P et al. Int J Med Sci 2018, 15\(1\): 10-5.](#)

### LA METANALISI DEL MESE

#### META-ANALISI DELL'IMPATTO DEI POLIMORFISMI ABCB1 SULLA RISPOSTA A CLOPIDOGREL NEI PAZIENTI AFFETTI DA CORONAROPATIE

A cura della Dott.ssa Sarah Cargin

Il clopidogrel è un derivato tienopiridinico indicato per la terapia farmacologica delle coronaropatie. Una volta assorbito a livello intestinale, clopidogrel viene convertito da alcuni citocromi P450 ad un metabolita attivo, dotato di attività antiaggregante piastrinica. Tale metabolita, infatti, inattiva in maniera specifica e irreversibile i recettori piastrinici P2Y<sub>12</sub>, inibendo così l'aggregazione piastrinica indotta da adenosindifosfato (ADP). Numerosi studi sulla farmacocinetica e farmacodinamica di clopidogrel hanno evidenziato una forte variabilità inter-individuale in termini di risposta antiplastrinica, nonché un aumentato rischio di sanguinamento o attacco ischemico, rispettivamente, nei soggetti iper- o ipo-responsivi al trattamento. Dalla letteratura emerge come alcuni geni implicati nei meccanismi di attivazione del clopidogrel sembrano modulare la risposta clinica al trattamento con tale farmaco. Tra questi, si annovera il gene ABCB1, che codifica per la P-glicoproteina, un trasportatore di efflusso enterico ATP-dipendente noto per limitare la biodisponibilità di clopidogrel e modularne l'assorbimento intestinale. Delle oltre 50 varianti localizzate nella regione codificante del gene, ABCB1 rs1045642 (c.3435C>T) è lo SNP funzionale più largamente studiato in correlazione alla risposta clinica a clopidogrel. Tuttavia, i risultati riportati dai diversi studi presenti in letteratura sono inconclusivi. Alla luce di quanto detto, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di stimare, tramite un approccio meta-analitico, l'associazione tra la variante ABCB1 rs1045642 e la risposta clinica a clopidogrel nei pazienti affetti da coronaropatie.

Il presente studio di meta-analisi è stato condotto sulla base delle linee guida PRISMA. La ricerca bibliografica è stata effettuata sui databases PubMed ed EMBASE ad ottobre 2016. Sono stati inclusi nella meta-analisi: i) studi osservazionali o clinical trials pubblicati in lingua inglese condotti su pazienti affetti da coronaropatia e trattati con clopidogrel, ii) studi in cui venisse analizzata la correlazione tra la variante ABCB1 rs1045642 e la reattività piastrinica, eventi avversi cardiovascolari maggiori, trombosi dello stent o sanguinamento, iii) periodo di follow-up di almeno 12 mesi. Di ciascun studio primario eleggibile sono stati estratti i dati inerenti all'etnia dei pazienti, tipologia di coronaropatia diagnosticata, dose di clopidogrel, durata del follow-up, distribuzione genotipica, saggio di reattività piastrinica utilizzato ed outcome clinico

studiato. La qualità degli studi primari è stata valutata tramite i criteri della Newcastle-Ottawa Scale. Nello specifico, sono stati considerati studi di buona qualità quelli con un punteggio  $\geq 6$ ; al contrario, sono stati definiti di bassa qualità i lavori con un punteggio  $< 6$ . La stima meta-analitica della correlazione tra ABCB1 rs1045642 e la risposta clinica a clopidogrel è stata valutata mediante meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, ri-spettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità (Cochran's Q test:  $p < 0.1$ ;  $I^2 > 50\%$ ) tra gli studi primari. L'associazione genetica è stata stimata nei modelli genetici dominante, recessivo, omozigote e eterozigote. Al fine di identificare eventuali fonti di eterogeneità tra gli studi, sono state effettuate sia una meta-regressione (covariate incluse: anno di pubblicazione, etnia, tipologia di saggio utilizzato per la determinazione della reattività piastrinica) che delle analisi per sottogruppi sulla base della tipologia di saggio di reattività piastrinica utilizzato e dell'etnia dei pazienti arruolati. Sono state, inoltre, effettuate analisi di sensibilità escludendo gli studi di bassa qualità e quelli in cui la distribuzione genotipica non rispettasse l'equilibrio di Hardy-Weinberg (HWE). Infine, per valutare la robustezza dei risultati, è stata condotta una meta-analisi leave-one-out.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 182 studi, di cui 28 sono risultati essere eleggibili per la presente meta-analisi. Di questi, 18 hanno investigato la correlazione tra ABCB1 rs1045642 e la reattività piastrinica, mentre in 15 è stata valutata l'associazione genetica con eventi avversi cardiovascolari maggiori, trombosi dello stent o sanguinamento. Nella maggior parte degli studi ( $N=21$ ) clopidogrel è stato somministrato ad una dose iniziale di 300-600 mg, seguita da una dose di mantenimento di 75 mg/die. In 5 studi le distribuzioni genotipiche non sono risultate rispettare l'equilibrio HWE. La qualità degli studi è emersa essere mediamente alta (punteggio  $> 6$ ). Dalla meta-analisi, non sono emerse correlazioni statisticamente significative tra ABCB1 rs1045642 e la reattività piastrinica, ad eccezione del sottogruppo di studi in cui la reattività è stata valutata mediante saggio LTA ( $N_{\text{studi}}=3$ , modello dominante: TT+CT vs CC, 95% CI -0.272 - 0.009,  $P=0.036$ ,  $I^2=14.3\%$ ;  $N_{\text{studi}}=3$ , modello eterozigote: CT vs CC, OR 1.793, 95% CI 1.091-2.946,  $P=0.027$ ,  $I^2=13.6\%$ ). Tuttavia, escludendo dal presente sottogruppo di studi uno in cui le distribuzioni genotipiche non rispettavano l'HWE, la significatività statistica non si è mantenuta (TT+CT vs CC:  $p=0.860$ ; CT vs CC:  $p=0.132$ ). Inoltre, non è emersa alcuna correlazione statisticamente significativa tra ABCB1 rs1045642 e l'insorgenza di eventi avversi cardiovascolari maggiori o trombosi dello stent. Al contrario, unicamente nel sottogruppo di studi in cui i pazienti arruolati erano di origine asiatica ( $N_{\text{studi}}=3$ ), si è evinta un'associazione statisticamente significativa tra ABCB1 rs1045642 ed eventi di sanguinamento nei modelli genetici dominante (TT+CT vs CC, OR 1.805, 95% CI 1.124-2.900,  $P=0.015$ ,  $I^2=0.0\%$ ), omozigote (TT vs CC, OR 1.952, 95% CI 1.055-3.611,  $P=0.033$ ,  $I^2=0.0\%$ ) ed eterozigote (CT vs CC: OR 1.793, 95% CI 1.091-2.946,  $P=0.021$ ,  $I^2=0.0\%$ ). Infine, dall'analisi di Begg's ed Egger's non è emersa la presenza di publication bias.

Dalla presente meta-analisi emerge come ABCB1 rs1045642 possa essere un potenziale fattore predittivo della reattività piastrinica e dell'incidenza di sanguinamento in specifici sottogruppi di pazienti (rispettivamente, pazienti sottoposti a test LTA e di etnia asiatica) affetti da coronaropatia e in trattamento con clopidogrel. I risultati ottenuti nella presente meta-analisi sono, tuttavia, da interpretare alla luce di alcune limitazioni intrinseche allo studio, quali sono: i) potenziale bias dovuto all'inclusione di lavori pubblicati unicamente in lingua inglese ("language bias"); ii) mancata inclusione nella meta-analisi di studi primari per i quali i dati genetici sono risultati essere mancanti, anche dopo contatto via mail con i corresponding Authors dei suddetti studi; iii) scarsa solidità delle associazioni genetiche significative ivi riportate (ABCB1 rs1045642 e reattività piastrinica nel sottogruppo di studi in cui il saggio utilizzato è stato LTA; ABCB1 rs1045642 e sanguinamento nei pazienti asiatici) in quanto calcolate su un numero decisamente esiguo di studi primari ( $N_{\text{studi}}=3$ ). Gli Autori del presente lavoro suggeriscono come la mancata evidenza di associazione tra ABCB1 rs1045642 e la risposta clinica a clopidogrel possa essere spiegata dal fatto che la variabilità individuale nella risposta a clopidogrel possa essere modulata, più che dal singolo polimorfismo nel gene ABCB1, da una complessa interazione tra varianti genetiche, fattori ambientali, interazioni farmacologiche e abitudine al fumo.

La variante ABCB1 rs1045642 (c.3435C>T) non è associata alla reattività piastrinica e all'insorgenza di eventi avversi cardiovascolari maggiori, trombosi dello stent o sanguinamenti in pazienti affetti da coronaropatie e in trattamento con clopidogrel.

**Parole chiave:** coronaropatia, clopidogrel, ABCB1

#### Riferimento bibliografico

Zhai Y et al. Eur J Clin Pharmacol 2017, 73(7): 843-54.



### 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 Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno). Dott.ssa Debora Curci (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)

**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.