



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 121 – Ottobre 2019

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

Sommario

Oncologia

- Influenza dell'adesione alla terapia e dei polimorfismi del CYP2D6 sulle concentrazioni plasmatiche del metabolita attivo del tamoxifene, (Z)-endoxifene, nel carcinoma mammario

Immunomodulazione

- Correlazione tra il profilo di espressione dei miRNA e la risposta clinica in pazienti con artrite reumatoide in trattamento con inibitori del TNF: uno studio prospettico

Neuropsichiatria

- Studio di associazione tra polimorfismi del gene KCNH7 e la risposta individuale al trattamento con risperidone nei pazienti con schizofrenia

Infettivologia

- Valutazione della terapia a base di voriconazolo guidata dal genotipo CYP2C19 nella profilassi post-trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HCT)

La metanalisi del mese

- Analisi della correlazione tra i polimorfismi c.415C>T, c.52G>A, 36_37insGGAGTC del gene NUDT15 e l'insorgenza di leucopenia ed alopecia severa indotte dal trattamento con tiopurine: una meta-analisi aggiornata

ONCOLOGIA

INFLUENZA DELL'ADESIONE ALLA TERAPIA E DEI POLIMORFISMI DEL CYP2D6 SULLE CONCENTRAZIONI PLASMATICHE DEL METABOLITA ATTIVO DEL TAMOXIFENE, (Z)-ENDOXIFENE, NEL CARCINOMA MAMMARIO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Un terzo dei pazienti con carcinoma mammario in fase iniziale, con tumore positivo al recettore degli estrogeni (ER), trattati con il modulatore selettivo dell'ER tamoxifene, ricadono o muoiono a causa della malattia nel decennio successivo. Il miglioramento dell'efficacia del tamoxifene richiede una migliore conoscenza dei fattori che determinano l'esito del trattamento, tra cui l'aderenza alla terapia. Un metodo oggettivo per valutare l'aderenza al tamoxifene è il monitoraggio delle concentrazioni di farmaco e del suo e il suo metabolita attivo (Z)-endoxifene. Quest'ultimo può essere facilmente misurato nel plasma dei pazienti, tuttavia le concentrazioni individuali dipendono dai polimorfismi del gene che codifica per il CYP2D6, che determinano i fenotipi metabolizzatore esteso (EM), scarso (PM), intermedio (IM) e ultrarapido (UM). In Brasile, la frequenza di PM osservata è del 2,5% con un aumento della del 4% nei pazienti con carcinoma mammario ER-positivi. Nei pazienti in terapia con tamoxifene la genotipizzazione del *CYP2D6* consente di prevedere le concentrazioni plasmatiche di (Z)-endoxifene. Una concentrazione di 5,9 ng/mL è stata proposta come soglia minima al di sopra della quale il metabolita è più efficace contro la recidiva del carcinoma mammario, e al di sotto della quale i pazienti sono a rischio più elevato di recidiva. Tuttavia, le attuali linee guida non supportano l'uso della farmacogenetica per prevedere la risposta al trattamento.

Nel presente studio prospettico sono state misurate l'aderenza alla terapia e la farmacogenetica del tamoxifene, al fine di valutare il loro contributo combinato all'abbassamento delle concentrazioni di (Z)-endoxifene nel plasma di pazienti donne con carcinoma mammario in fase precoce, originari del Brasile.

Sono state incluse 192 pazienti di età pari o superiore a 18 anni, con carcinoma mammario ER-positivi trattate con tamoxifene (20 mg per 5 anni di terapia). L'aderenza alla terapia è stata valutata utilizzando il questionario Morisky, Green and Levine Medication Adherence Scale a 3, 6 e 12 mesi dopo l'inizio della terapia. I punteggi sono stati sommati per definire tre livelli di aderenza: alto (0), medio (1-2) e bassa aderenza (3-4). Il DNA genomico ottenuto da cellule mononucleate del sangue periferico è stato genotipizzato per i polimorfismi del *CYP2D6*. Il punteggio dell'attività enzimatica (AS) del *CYP2D6* assegnato era: PM (0), IM (.5 a 1.0), EM (da 1.5 a 2.0) e UM (3.0). Altri polimorfismi includevano *CYP2C9* * 2 e * 3, *CYP2C19* * 2 e * 17 e *CYP3A4* * 22 e *CYP3A5* * 3. I campioni di plasma sono stati ottenuti a 3, 6 e 12 mesi dopo l'inizio della terapia. I livelli plasmatici di tamoxifene, del principale metabolita inattivo DM-Tam e dei metaboliti attivi (Z)-endoxifene e (Z)-4-OH-Tam sono stati misurati mediante LC-MS. Sono stati applicati test parametrici e non parametrici e sono stati applicati modelli multipli di regressione lineare, per valutare il contributo dei fattori sulla variabilità delle concentrazioni plasmatiche. Il rischio relativo (RR) e gli intervalli di confidenza al 95% (IC al 95%) sono stati calcolati dopo 12 mesi.

L'aderenza è stata valutata per 163 pazienti al terzo mese (85%), per 173 pazienti al sesto mese (90%) e per 170 pazienti dopo 12 mesi (89%). L'età media alla diagnosi era di 51,5 anni; 127 pazienti (66%) erano in premenopausa. A 3 e 6 mesi, dal 74% al 76% delle pazienti ha mostrato alti tassi di aderenza al trattamento che è sceso al 63% a 12 mesi. Non è stata osservata una bassa aderenza durante i primi 3 mesi, ma è aumentata del 10,6% a 12 mesi. L'elevata aderenza a 12 mesi era più prevalente nelle pazienti senza eventi avversi segnalati, rispetto a coloro che avevano riportato effetti tossici. Ad eccezione dell'età alla diagnosi, dello stato della menopausa e degli eventi avversi auto-risportati a 12 mesi, le caratteristiche delle pazienti e del tumore non differivano tra i sottogruppi di aderenza tra i punti temporali.

A 3 mesi di trattamento, le pazienti con buona aderenza avevano concentrazioni di tamoxifene del 26% più elevate rispetto alle pazienti con aderenza media (318 ± 97 nM contro 236 ± 115 nM; $P < .001$). Nelle analisi di regressione lineare multivariata l'adesione è stata confermata come unico determinante che ha spiegato il 47% della variabilità della concentrazione plasmatica ($P < .001$). Associazioni simili sono state ottenute per il metabolita (Z)-endoxifene. Nell'analisi dei sottogruppi di pazienti con *CYP2D6* funzionale l'aderenza al trattamento era significativamente correlata con maggiori concentrazioni di metabolita in tutti e tre i punti temporali. Le concentrazioni plasmatiche di tutti i metaboliti sono state influenzate dal fenotipo *CYP2D6* con un effetto più marcato per (Z)-endoxifene. L'AS *CYP2D6* è stato correlato sia al genotipo per tutti i metaboliti e che al rapporto tra metaboliti (MR) di N-desmetiltamoxifene (DM-Tam)/(Z)-endoxifene confermando l'importanza del *CYP2D6* per la bioattivazione del farmaco ($P < .001$). I pazienti con *CYP2D6*

PM presentavano concentrazioni di (Z)-endoxifene da 4,5 a 5,5 volte inferiori rispetto ai pazienti EM. Le concentrazioni medie dei PM rispetto ai EM a 3, 6 e 12 mesi erano $6,5 \pm 2,7$ nM contro $29,6 \pm 12,9$ nM, $7,2 \pm 3,3$ nM contro $30,3 \pm 14,5$ nM e $5,4 \pm 1,1$ nM contro $30,3 \pm 14,5$ nM, rispettivamente. Nelle analisi multivariate, il fenotipo del CYP2D6 era un predittore significativo delle concentrazioni di metaboliti e dell'MR in tutti i punti temporali. Sebbene 3 delle 4 pazienti che assumono un forte inibitore del CYP2D6 (fluoxetina) hanno mostrato bassi livelli di (Z)-endoxifene (da 6 a 15 nM), l'uso di inibitori del CYP2D6 non era significativamente associato con le concentrazioni di metabolita del tamoxifene. Tra le altre covariate, l'età alla diagnosi era positivamente associata all'aumento delle concentrazioni di farmaco e di DM-Tam, mentre i geni diversi dal CYP2D6 avevano poca influenza. Aderenza e fenotipo CYP2D6 sono stati associati congiuntamente alle concentrazioni di (Z)-endoxifene in tutti i punti temporali. L'effetto additivo di aderenza e fenotipo CYP2D6 era più evidente a 12 mesi. In tutti i punti temporali, l'effetto più forte sulla variabilità del (Z)-endoxifene sono stati i PM e l'adesione al trattamento bassa o media. Nelle analisi in pazienti EM, la bassa aderenza è risultata un forte fattore di rischio di non raggiunta delle concentrazioni soglia. Questa associazione era meno pronunciata nei pazienti IM.

Questo studio fornisce le prime prove che la capacità di raggiungere concentrazioni plasmatiche di (Z)-endoxifene clinicamente rilevanti, durante il trattamento per carcinoma mammario, è influenzata in modo cooperativo dall'aderenza, dal background genetico del CYP2D6 e dalla farmacocinetica. Congiuntamente ciò potrebbe migliorare la previsione dei livelli attivi di metabolita e possibilmente l'efficacia clinica, un obiettivo prioritario nel trattamento personalizzato. Poiché è noto che le donne smettono di assumere i farmaci prima di completare il regime standard di 5 anni, gli autori hanno studiato il comportamento di aderenza durante il primo anno di trattamento. L'elevato tasso di non aderenza al tamoxifene osservato nel primo anno può riflettere le condizioni socioeconomiche della popolazione e l'elevata percentuale di giovani donne (due terzi) nota per essere a rischio aumentato di interrompere la terapia. Inoltre, la bassa aderenza era un forte predittore nelle pazienti EM. Quindi, le pazienti EM e IM, che sono ora trattate da oltre 5 anni, devono essere incoraggiate ad aderire alla terapia. Dato il forte valore predittivo di aderenza per la variabilità delle concentrazioni plasmatiche, il monitoraggio farmacologico è risultato un potente surrogato per valutare la *compliance*. Questo studio, infatti, fornisce un primo collegamento tra scarsa aderenza e rischio di non ottenere concentrazioni plasmatiche rilevanti. Tuttavia, la soglia di 5,9 ng/mL (Z)-endoxifene non è stata validata in modo prospettico.

Il doppio monitoraggio dei livelli plasmatici di tamoxifene, come marker surrogato di aderenza, e (Z)-endoxifene, come marker surrogato di risposta clinica, potrebbe essere una strategia per evitare recidive e morte prematura in pazienti con carcinoma mammario.

Parole chiave: carcinoma mammario, tamoxifene, CYP2D6

Riferimento bibliografico

[Nardin JM](#) et al. *Clin Transl Sci*. 2019 [Epub ahead of print]

IMMUNOMODULAZIONE

CORRELAZIONE TRA IL PROFILO DI ESPRESSIONE DEI miRNA E LA RISPOSTA CLINICA IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE IN TRATTAMENTO CON INIBITORI DEL TNF: UNO STUDIO PROSPETTICO

A cura della Dott.ssa Debora Curci

L'artrite reumatoide (AR), è una malattia cronica autoimmune che colpisce circa dallo 0,5% all'1% della popolazione adulta. L'AR è caratterizzata da danno e distruzione articolare e da altre comorbidità extra-

articolari. La gestione della malattia è migliorata enormemente negli anni, principalmente grazie allo sviluppo di farmaci biologici anti-reumatici, in particolare inibitori del fattore di necrosi tumorale (TNF). Tuttavia, si stima che il 20-30% dei pazienti affetti da AR non rispondano al trattamento con gli anti-TNF o non tollerino gli elevati costi delle terapie. Pertanto, è necessario esplorare nuovi biomarcatori per prevedere la risposta clinica nei pazienti con AR. La genetica potrebbe svolgere un importante ruolo nella variabilità interindividuale nella risposta al trattamento con anti-TNF. I microRNA (miRNA), sono una famiglia di piccoli RNA non codificanti, altamente conservati che si legano alle regioni 3'-UTR e possono alterare l'espressione di geni target, l'espressione proteica e l'attivazione di diverse vie di segnalazione cellulare. È noto dalla letteratura il loro ruolo in diversi processi patologici e il loro ruolo come marker di progressione e di prognosi dell'AR. Tuttavia, nessuno studio è stato ancora condotto per valutare il ruolo dei miRNA come marcatori di risposta agli anti-TNF in pazienti affetti da AR. Pertanto, questo studio si propone di valutare la correlazione tra il profilo di espressione dei miRNA circolanti e la risposta clinica in pazienti affetti da AR in trattamento per 24 settimane con etanercept (ETN), un farmaco inibitore del TNF. Sono stati arruolati 92 pazienti adulti con malattia attiva, pre-trattamento con ETN. I criteri di inclusione sono stati i seguenti: diagnosi di AR secondo la classificazione dell'*American College of Rheumatology* (ACR); età compresa tra i 18 ed i 75 anni e stato di malattia attiva, definito secondo il *Disease activity score 28* (DAS28 \geq 3,2). I criteri di esclusione sono stati i seguenti: grave deformazione dell'articolazione e trattamento con altri farmaci biologici entro 3 mesi, gravi infezioni, disfunzione renale e/o epatica, gravidanza e allattamento.

L'analisi di espressione dei miRNA mediante microarray è stata condotta sui PBMC di otto *responder* e otto *non-responder* al trattamento di 24 settimane con ETN. La risposta terapeutica è stata definita come una diminuzione di 1.2 punti del DAS28. Grazie al microarray, sono stati identificati 59 miRNA up-regolati e 78 down-regolati nei *responder* rispetto ai *non-responder*, che sono coinvolti principalmente nella regolazione dei processi immunologici e infiammatori. I primi 10 miRNA disregolati (miR-192-5p, miR-146a-5p, miR-19b-3p, miR-320c, miR-335-5p, miR-149-3p, miR-766-3p, let-7a-5p, miR-24-3p e miR-1226-5p) sono stati selezionati e ulteriormente validati mediante qPCR nell'intera coorte di pazienti (N=92). In particolare, nella validazione mediante qPCR, miR-146a-5p è risultato essere aumentato in maniera statisticamente significativa (P = 0,004), mentre let-7a-5p è risultato essere ridotto (P=0,001) nei *responder* rispetto ai *non-responder*. Dall'analisi logistica multivariata è emerso che miR-146a-5p (P=0,011) e la proteina C reattiva (CRP) (P=0,006) sono associati in modo indipendente con una maggiore risposta clinica; mentre let-7a-5p (P=0,002) e l'assunzione in precedenza di altri biologici (P=0,037) sono associati in modo indipendente con una peggiore risposta clinica. Pazienti che hanno già assunto farmaci biologici sono infatti maggiormente suscettibili alla produzione di anticorpi anti-farmaco quando sono in trattamento con nuovi biologici, che potrebbero indurre resistenza secondaria, diminuendo così l'efficacia del trattamento.

Questi 4 fattori indipendenti emersi dall'analisi multivariata sono stati successivamente analizzati mediante curva ROC: è emerso che la combinazione di miR-146a-5p, let-7a-5p, CRP e l'assunzione in precedenza di biologici presenta un grande valore predittivo della risposta clinica all'inibitore del TNF nei pazienti con AR (AUC = 0,863, 95% CI 0,781-0,945) fornendo importanti informazioni per l'ottimizzazione della terapia e un miglioramento della prognosi dell'AR.

Il profilo di espressione dei miRNA è strettamente implicato nell'efficacia del trattamento dell'ETN e la misurazione combinata dei miR-146a-5p, let-7a-5p, della CRP e una l'assunzione in precedenza di biologici hanno rivelato un grande valore predittivo per la risposta clinica all'inibitore del TNF in pazienti affetti da AR.

Parole chiave: Artrite reumatoide, farmaci anti-TNF, Etanercept, miR-146a-5p, let-7a-5p, microarray

Riferimento bibliografico

[Liu Y](#) et al. *J Clin Lab Anal* 2019, 33(7):e22953

NEUROPSICHIATRIA**STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI DEL GENE *KCNH7* E LA RISPOSTA INDIVIDUALE AL TRATTAMENTO CON RISPERIDONE NEI PAZIENTI CON SCHIZOFRENIA**

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La schizofrenia è un disturbo psichiatrico cronico severo, con una prevalenza pari a circa l'1% della popolazione. Nei pazienti affetti, la risposta al trattamento con antipsicotici mostra un'ampia variabilità interindividuale. I fattori genetici rivestono un ruolo importante nella predisposizione allo sviluppo della schizofrenia. In particolare, tra i geni per i quali è stato ipotizzato un coinvolgimento nel disturbo, *KCNH2* fa parte della famiglia dei canali al potassio voltaggio-dipendenti Kv11. Questa famiglia comprende i canali *KCNH2*, *KCNH6* e *KCNH7*. I geni *KCNH2* e *KCNH7* sono espressi a livello del sistema nervoso centrale. Inoltre, varianti a livello del gene *KCNH2* sono state associate con la variabilità interindividuale nella risposta all'antipsicotico risperidone. Gli autori hanno condotto uno studio con l'obiettivo di analizzare l'associazione tra sei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) localizzati nel gene *KCNH7* e la risposta al risperidone dopo sei settimane di trattamento in pazienti di origine Han Chinese affetti da schizofrenia.

Lo studio ha incluso 393 pazienti che rispettavano i seguenti criteri di inclusione: 1) diagnosi di schizofrenia in accordo con i criteri del DSM-IV-TR; 2) età compresa tra 18 e 45 anni; 3) origine Han Chinese; 4) primo episodio o fase acuta del disturbo con sintomi severi; 5) *score* > 70 alla *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS). I criteri di esclusione comprendevano: gravidanza e allattamento, controindicazioni al trattamento con risperidone, disturbi fisici severi o non stabili, intervallo QT > 450 ms negli uomini o 470 ms nelle donne, storia di comportamento suicidario, necessità di farmaci *long-acting* per garantire la *compliance* o trattamento con clozapina nel mese precedente. Il dosaggio del farmaco è stato modificato in base alla risposta durante le prime due settimane di trattamento, per poi essere mantenuto inalterato per la restante durata dello studio. Lo *score* PANSS è stato misurato alle settimane 2, 4 e 6. Clinici e pazienti non conoscevano l'assetto genotipico delle varianti geniche selezionate. Il trattamento è stato interrotto in caso di risposta non adeguata o nel caso in cui un paziente si sia ritirato dallo studio (n=59). In questi casi, è stata utilizzata la procedura *last-observation-carried-forward* per le analisi. I pazienti che hanno mostrato una buona risposta hanno continuato il trattamento per sei settimane.

La risposta al risperidone è stata valutata tramite la variazione percentuale dello *score* PANSS rispetto al *baseline*. Gli autori hanno genotipizzato su DNA genomico sei varianti del gene *KCNH7* selezionate random, che avessero una distanza di almeno 300 kb tra loro e che non fossero in *linkage disequilibrium*. I dati sono stati analizzati utilizzando un modello di regressione lineare con la variazione percentuale dello *score* PANSS come *outcome* e i genotipi (secondo il modello additivo) come predittori. Il modello è stato corretto per sesso, età e per le prime cinque componenti principali che riflettono la struttura della popolazione. I *p-value* sono stati corretti per test multipli in base al metodo del *false discovery rate* (FDR). Il modello lineare misto con misure ripetute è stato utilizzato per valutare le variazioni percentuali del PANSS a diversi *timepoint*.

I pazienti inclusi avevano un'età media pari a $31,6 \pm 8$ anni e uno *score* PANSS al *baseline* medio pari a $89,3 \pm 15,3$. La variazione percentuale media dello *score* PANSS a sei settimane è risultata $57,2 \% \pm 23,1 \%$. Due SNP sono risultati associati alla risposta al risperidone dopo sei settimane di trattamento: rs77699177 (variazione percentuale PANSS CC: $55,8\% \pm 23,0\%$; TC: $70,9 \pm 20,3$, $p = 0,0001$) e rs2241240 (variazione percentuale PANSS TT: $58,7\% \pm 22,3\%$; CT + CC: $50,9 \pm 25,2$, $p = 0,003$). L'associazione significativa per le due varianti è stata confermata anche dall'analisi per misure ripetute che ha mostrato un effetto degli SNP

rs77699177 ($p = 0,0006$) e rs2241240 ($p = 0,01$) nel modulare la variazione percentuale dello score PANSS durante le sei settimane di trattamento.

Lo studio presenta alcune limitazioni. In particolare, la dimensione del campione relativamente ridotta e la frequenza ridotta dell'allele minore della variante rs77699177 non hanno permesso di includere partecipanti omozigoti per l'allele T. Inoltre, la scelta delle varianti da genotipizzare è stata effettuata in modo random e senza utilizzare approcci come la selezione di tag SNP o di SNP con effetto funzionale, che avrebbero permesso di ottenere maggiori informazioni sul potenziale coinvolgimento del gene *KCNH7* nella risposta al risperidone e sul significato biologico dei risultati ottenuti.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra le varianti rs77699177 e rs2241240, localizzate nel gene *KCNH7*, e la risposta al risperidone nei pazienti affetti da schizofrenia.

Parole chiave: risperidone, schizofrenia, *KCNH7*

Riferimento bibliografico

[Wang X](#) et al. *Front Psychiatry* 2019; 10:633

INFETTIVOLOGIA

VALUTAZIONE DELLA TERAPIA A BASE DI VORICONAZOLO GUIDATA DAL GENOTIPO *CYP2C19* NELLA PROFILASSI POST-TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE (HCT)

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Le infezioni fungine invasive (IFI) rappresentano una complicanza significativa del trapianto di midollo allogenico (HCT) con un alto tasso di mortalità (Mikulska M et al. *Bone Marrow Transplant* 2009,44:361-70; Kojima R et al. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004,10:645-52; Marr KA et al. *Blood* 2002,100:4358-66). Prima dell'introduzione della profilassi anti-fungina, il tasso di IFI era pari a 15-20% (Marr KA et al. *Blood* 2002,100:4358-66; Fukuda T et al. *Blood* 2003,102:827-33). Il voriconazolo è un antifungino ad ampio spettro utilizzato per la profilassi delle infezioni post-trapianto al dosaggio di 200 mg x 2/die. L'efficacia dipende dalle concentrazioni allo stato stazionario, raggiunte dopo 5-7 giorni di terapia (Luong ML et al. *J Antimicrob Chemother* 2016,71:1786-99; Troke PF et al. *Agents Chemother* 2011,55:4782-8; Miyakis S et al. *Clin Microbiol Infect* 2010,16:927-33). Il monitoraggio dei livelli plasmatici viene spesso utilizzato nei pazienti in trattamento con anti-fungini per infezioni attive per individuare i livelli terapeutici adeguati, ma il beneficio in caso dei pazienti in profilassi non è stato confermato. Il tasso di concentrazioni sub-terapeutiche (<1.0 mg/L) con dosaggio standard per la profilassi è risultato tra il 40 ed il 62% (Marks DI et al. *Br J Haematol* 2011,155:318-27; Trifilio S et al. *Bone Marrow Transplant* 2005,35:509-13; Trifilio S et al. *Cancer* 2007, 109:1532-5), con ampia variabilità inter-paziente. Il farmaco è metabolizzato dal *CYP2C19*, pertanto gli SNP più comuni con effetto sulla funzione enzimatica (SNP degli alleli *CYP2C19*2* e **3* causanti perdita di funzione e SNP dell'allele **17* con incremento di funzione) sono stati associati con variazioni delle concentrazioni di voriconazolo (Owusu Obeng A et al. *Pharmacotherapy* 2014,34:703-18; Moriyama B et al. *Clin Pharmacol Ther* 2016,102:45-51; Mikus G et al. *Pharmacogenomics* 2011,12:861-72; Hassan A et al. *Ther Drug Monit* 2011,33:86-93; Hamadeh IS et al. *Pharmacogenet Genomics* 2017,27:190-6; Mangal N et al. *Clin Pharmacol Ther* 2018,104:957-65; Trubiano JA et al. *J Antimicrob Chemother* 2015,70:1161-5; Hicks JK et al. *Pharmacogenomics* 2014,15:1065-78; Wang T et al. *Int J Antimicrob Agents* 2014,44:436-42; Wang T et al. *J Antimicrob Chemother* 2014,69:463-70). La variante *CYP2C19*17* è stata identificata in 1/3 dei pazienti Caucasic e Afro-Americani e può contribuire all'elevato riscontro di livelli sub-terapeutici con il

dosaggio standard. Le linee guida CPIC raccomandano l'uso di anti-fungini alternativi in pazienti portatori del *CYP2C19**17 (*1/*17 o *17/*17) o omozigoti *2 e/o *3. Potrebbe essere ragionevole somministrare dosi superiori a 200 mg x 2/die per ridurre il rischio di ridotta esposizione al farmaco in pazienti metabolizzatori rapidi (RM) e ultrarapidi (UM) e un approccio basato sulla genotipizzazione potrebbe aiutare a raggiungere le concentrazioni standard. Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'impatto del dosaggio guidato dal genotipo sulle concentrazioni di voriconazolo in profilassi rispetto al dosaggio standard in pazienti sottoposti a HCT.

L'analisi è stata condotta su 127 pazienti eleggibili sottoposti a genotipizzazione del *CYP2C19*, di cui 89 hanno effettuato un dosaggio sulla base del genotipo. Circa il 36% dei pazienti erano RM o UM del *CYP2C19*, 34% erano metabolizzatori normali (NM), 26% intermedi (IM) e 4% scarsi (PM). Nel 26% dei pazienti sono stati rilevati livelli sub-terapeutici di voriconazolo rispetto al 50% dei controlli storici ($p < 0.001$). Il 2,3% mostrava livelli sopra-terapeutici (RM) e il 68,5% livelli terapeutici. Il 15,6% dei pazienti RM/UM presentava livelli sub-terapeutici rispetto al 70% dei RM/UM storici trattati con dose standard giornaliera (< 0.001), mentre il 26% dei pazienti IM ed il 50% dei NM presentavano valori sub-terapeutici ($p = 0.015$). Il tasso di successo del voriconazolo era pari al 78,2%, in confronto al 54% dei controlli storici ($p < 0.001$). Nessun paziente ha sviluppato IFI e non è stata riscontrata differenza nel tasso di successo sulla base del fenotipo *CYP2C19*. Il 40,5% dei soggetti ha sperimentato almeno un evento avverso, di cui 5 di grado 3, e 12 pazienti hanno interrotto il trattamento per eventi non correlati alle concentrazioni del farmaco. I costi di trattamento per paziente nella coorte non-RM/UM erano pari a \$5.760 e \$8.720. I costi medi per paziente dell'intera coorte erano pari a \$6.830. I costi stimati per il gruppo controllo erano pari a \$11.520, con un 6% di IFI. Pertanto il modello ha stimato un risparmio di \$4.700 per paziente rispetto alla simulazione nel gruppo di controllo.

Il dosaggio guidato dal genotipo migliora l'abilità di raggiungere dosi target di voriconazolo, riduce il riscontro di livelli sub-terapeutici nei pazienti RM/UM e potenzialmente migliora l'efficacia del farmaco. L'utilizzo in particolare di un dosaggio di 300 mg x 2/die nei pazienti RM/UM riduce il rischio di fallimento terapeutico. Gli studi relativi all'impatto del dosaggio guidato dal genotipo sull'*outcome* di pazienti con malattie ematologiche sottoposti a profilassi anti-fungina sono limitati, nonostante le evidenze a supporto dell'associazione tra i polimorfismi del *CYP2C19* e le concentrazioni di voriconazolo. I dati di questo studio evidenziano, inoltre, un risparmio in termini di costo per paziente grazie al test genetico pre-trattamento. Concentrazioni di voriconazolo < 1 mg/L sono state associate con il fallimento della profilassi (Luong ML et al. *J Antimicrob Chemother* 2016,71:1786-99; Troke PF et al. *Agents Chemother* 2011,55:4782-8; Miyakis S et al. *Clin Microbiol Infect* 2010,16:927-33; Park WB et al. *Clin Infect Dis* 2012,55:1080-7), con prolungamento dell'ospedalizzazione e aumento del rischio di decesso, in aggiunta all'incremento dei costi associati alla gestione delle complicanze. Da notare tuttavia che nel 50% dei pazienti NM e nel 26% dei pazienti IM sono state riscontrate concentrazioni sub-terapeutiche, richiedendo dosi superiori a 200 mg x 2/die per raggiungere le concentrazioni target. Oltre a fattori genetici, altri fattori possono impattare sulle concentrazioni plasmatiche di voriconazolo, tra cui l'aderenza al trattamento, l'età, la funzione epatica, le interazioni e il peso. Altri geni, inoltre, potrebbero avere un impatto sulle concentrazioni del farmaco, tra cui *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1*, che saranno considerati in studi futuri. Tenuto conto della nota relazione dose-risposta (Owusu Obeng A et al. *Pharmacotherapy* 2014,34:703-18), limitare la sotto-esposizione dei pazienti dovrebbe ridurre il rischio di fallimento della profilassi. Per stimare l'impatto clinico del dosaggio guidato dal genotipo è stato confrontato il tasso di successo del voriconazolo dei pazienti in studio con quello di pazienti con malattie ematologiche sottoposti a HCT e profilassi con dose standard di voriconazolo arruolati in uno studio precedente (Marks DI et al. *Br J Haematol* 2011,155:318-27). Il dosaggio genotipo-guidato ha migliorato il tasso di successo del 24% e nessun paziente ha sperimentato IFI. Le linee guida CPIC in merito al trattamento con voriconazolo raccomandano di trattare i pazienti RM/UM e PM con un anti-fungino alternativo. I dati di questo studio suggeriscono, tuttavia, la possibilità di trattare con dosi più elevate i pazienti RM e UM, e con dosi standard i PM, pur essendo necessarie conferme su coorti più ampie di pazienti. Infine, anche se i costi dell'esecuzione degli esami di farmacogenetica rappresentano una barriera all'implementazione nella pratica clinica (Patel JN *Pharmacogenomics Pers Med* 2016,9:65-77;

Veenstra DL *Clin Pharmacol Ther* 2016,99:164-6; Mrazek DA & Lerman C *JAMA* 2011,306:304-5), lo studio ha dimostrato un risparmio dei costi per paziente rispetto ai controlli storici.

In conclusione, questo studio dimostra che la definizione del dosaggio del voriconazolo sulla base del genotipo del *CYP2C19* riduce le concentrazioni sub-terapeutiche di farmaco nei pazienti sottoposti a profilassi post-HCT, anche se sono necessari studi randomizzati per confermare questi risultati. La genotipizzazione da sola non può comunque spiegare in maniera completa la variabilità di esposizione. Ulteriori studi sono necessari per individuare altri fattori clinici/genomici predittivi dell'esposizione e della risposta al voriconazolo.

Limiti dello studio comprendono la mancanza di un braccio di controllo; l'implementazione del test è stata effettuata poco dopo l'apertura del centro trapianti, pertanto non erano disponibili controlli storici locali. Inoltre, non è possibile estrapolare l'impatto reale del dosaggio guidato dal genotipo sull'*outcome* clinico, per cui è necessario effettuare ampi studi randomizzati.

Parole chiave: infezioni fungine post-HST, *CYP2C19*, voriconazolo

Riferimento bibliografico

[Patel JN](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2019 Sep 24 [Epub ahead of print]

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DELLA CORRELAZIONE TRA I POLIMORFISMI C.415C>T, C.52G>A, 36_37insGGAGTC DEL GENE *NUDT15* E L'INSORGENZA DI LEUCOPENIA ED ALOPECIA SEVERA INDOTTE DAL TRATTAMENTO CON TIOPURINE: UNA META-ANALISI AGGIORNATA

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

Le tiopurine (azatioprina e 6-mercaptopurina) sono farmaci immunosoppressivi ed antitumorali largamente impiegati in pratica clinica per il trattamento di diverse condizioni patologiche, tra cui la leucemia linfoblastica acuta nei bambini, il trapianto d'organo e alcune malattie autoimmuni, come l'artrite reumatoide e le malattie infiammatorie croniche intestinali. L'azione farmacologica delle tiopurine si esplica in seguito alla loro trasformazione in nucleotidi 6-tioguanina, capaci di inibire *de novo* la sintesi delle purine e l'interconversione dei nucleotidi della purina. Il metabolismo dei nucleotidi 6-tioguanina è mediato da una serie di enzimi, tra cui si annovera la tiopurina metiltransferasi (TPMT). Dalla letteratura emerge come una ridotta attività enzimatica di TPMT porti ad un accumulo di nucleotidi 6-tioguanina, a sua volta risultante in un elevato rischio di sviluppo di leucopenia. Ad oggi, l'FDA raccomanda la determinazione del genotipo di TPMT prima dell'inizio della terapia con tiopurine, in modo tale da personalizzare il trattamento farmacologico e ridurre il rischio di insorgenza di gravi reazioni avverse. Tuttavia, è interessante osservare come una buona parte dei soggetti con una normale attività enzimatica di TPMT manifesti comunque la leucopenia. Inoltre, nonostante negli Asiatici la frequenza di varianti di TPMT si attesti essere molto più bassa che negli Europei, la frequenza di leucopenia in tale popolazione risulta più alta che nelle altre popolazioni. Alla luce di ciò, si è ipotizzato che altri fattori, oltre al genotipo per TPMT, potessero impattare sul rischio di sviluppare tossicità da tiopurine. In tale contesto è emerso un possibile ruolo di rilievo per *NUDT15*, un enzima che converte i metaboliti attivi 6-tio-GTP e 6-tio-dGTP nei metaboliti inattivi 6-tio-GMP e 6-tio-dGMP. Analogamente a TPMT, una ridotta attività enzimatica di *NUDT15* risulta in un accumulo dei metaboliti attivi e in un rischio maggiore di insorgenza di tossicità nell'utilizzatore di tiopurine. Negli ultimi 5 anni, sono stati pubblicati diversi studi di associazione genetica in cui è stata testata la correlazione tra

varianti del gene NUDT15 e l'incidenza di tossicità indotte da tiopurine. A fronte dell'accumulo di tali evidenze, sono state già pubblicate alcune meta-analisi finalizzate a combinare le stime ottenute negli studi primari. Tuttavia, essendo stati pubblicati almeno altri 10 studi dalla pubblicazione dell'ultima meta-analisi condotta nell'ambito, obiettivo del presente lavoro è stato quello di produrre una meta-analisi aggiornata sulla correlazione tra le varianti c.415C>T, c.52G>A, 36_37insGGAGTC del gene NUDT15 e l'insorgenza di tossicità indotte da tiopurine.

La ricerca bibliografica è stata condotta in data 3 giugno 2018 utilizzando i databases elettronici di PubMed, Embase e Web of Science. Sono stati definiti includibili tutti gli studi di coorte o caso-controllo in cui i) venisse investigata la correlazione tra le varianti del gene NUDT15 e l'insorgenza di tossicità indotte da tiopurine; ii) venissero riportate in maniera esplicita le distribuzioni genotipiche per le varianti analizzate. Sono stati esclusi i) case reports, reviews, abstracts congressuali, commentaries e short communications; ii) gli studi per i quali non fosse consultabile la pubblicazione nella sua interezza; iii) studi con risultati duplicati; iv) gli studi per i quali le pubblicazioni non fossero in lingua Inglese. Per ciascuno studio incluso nella presente meta-analisi sono stati estratti i dati relativi a: disegno di studio, dimensione campionaria, etnia, sesso, ed età dei soggetti arruolati, tipo di farmaco somministrato e relativo dosaggio, distribuzione genotipica per ciascuna variante analizzata, dose tollerata di tiopurina, tossicità sviluppata e grado di severità. La qualità di ciascuno studio primario è stata valutata tramite i criteri *Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale*. Sono stati calcolati gli OR combinati e i relativi intervalli di confidenza (95% IC) per ciascuna associazione genetica analizzata. In caso di presenza di eterogeneità tra gli studi ($I^2 \geq 50\%$) è stata utilizzata una tecnica di meta-analisi ad effetti random, al contrario è stata applicata una meta-analisi ad effetti fissi. Al fine di indagare le possibili fonti di eterogeneità tra gli studi sono state condotte delle analisi per sottogruppi.

Dei 198 risultati emersi dalla ricerca bibliografica, 16 studi ($N_{\text{pazienti}}=4458$) sono risultati essere includibili nella presente meta-analisi. Le varianti analizzate in questi studi sono state NUDT15 c.415 C>T ($N_{\text{studi}}=16$), c.52 G>A ($N_{\text{studi}}=5$) e c.36_37insGGAGTC ($N_{\text{studi}}=4$). In 13 studi l'etnia analizzata è stata quella Asiatica, mentre nei rimanenti 3 sono stati inclusi soggetti di etnia mista. In 5 studi i pazienti arruolati erano affetti da leucemia linfoblastica acuta, in 8 da malattie infiammatorie croniche intestinali o malattia di Crohn, in 1 da artrite reumatoide e nei rimanenti due i soggetti erano affetti da patologie miste. La qualità degli studi primari è risultata essere moderata-alta (range punteggio della scala NOS: 7-9). Per quanto riguarda la variante NUDT15 c.415 C>T, dalla meta-analisi è emerso come essa si correlata in maniera statisticamente significativa al rischio di sviluppare leucopenia, qualsiasi fosse il modello genetico analizzato (TC/TT vs CC, OR 7.64, 95% CI 6.19–9.44; TT vs CC/TC, OR 29.66, 95% CI 12.31–71.46; TT vs CC, OR 45.60, 95% CI 18.84–110.37; TC vs CC, OR 6.41, 95% CI 5.19–7.94; TT vs TC, OR 6.38, 95% CI 2.59–15.72). Inoltre, si evince come tale variante sia predittiva sia dell'insorgenza di leucopenia precoce che di quella tardiva, nei modelli genetici recessivo (rispettivamente, TT vs CC/TC, OR 49.42, 95% CI 16.53–147.76; OR 0.02, 95% CI 0.01–0.06) e co-dominante (rispettivamente, TT vs CC, OR 99.30, 95% CI 29.83–330.56; OR 0.01, 95% CI 0.00–0.03). Stratificando per etnia, è inoltre emerso come c.415 C>T sia predittiva dell'insorgenza di leucopenia, sia precoce che tardiva, nei sottogruppi di soggetti giapponesi (leucopenia precoce: TC/TT vs CC, OR 6.86, 95%CI 2.32–20.26, $P=0.0005$; leucopenia tardiva: OR 0.15, 95% CI 0.05–0.43, $P=0.0005$) coreani (leucopenia precoce: TC/TT vs CC, OR 20.48, 95% CI 9.77–42.91, $P<0.00001$; leucopenia tardiva: OR 0.05, 95% CI 0.02–0.10, $P<0.00001$) e cinesi (leucopenia precoce: TC/TT vs CC, OR 2.28, 95% CI 1.23–4.22, $P=0.009$; leucopenia tardiva: OR 0.44, 95% CI 0.24–0.81, $P=0.009$). Inoltre, lo SNP c.415 C>T è risultato essere correlato al rischio di insorgenza di leucopenia di grado 3-4 in diversi modelli genetici, tra cui quello dominante (TC/TT vs CC, OR 4.17, 95% CI 2.44–7.11, $P<0.00001$). Infine, si è osservata un'associazione tra tale SNP e l'insorgenza di alopecia severa in tutti i modelli genetici analizzati (tra cui, TC/TT vs CC, OR 43.45, 95% CI 14.51–130.10, $P<0.00001$) nonché la sua correlazione con la dose tollerata di tiopurine. Per quanto riguarda, invece, le varianti c.52 G>A e c.36_37insGGAGTC, esse sono risultate essere predittive del rischio di leucopenia unicamente nel modello genetico co-dominante (rispettivamente, GA vs GG, OR 3.52, 95% CI 1.52–8.17, $P=0.003$; -/ins vs -/-, OR 3.84, 95% CI 2.50–5.91, $P<0.00001$).

Il presente lavoro costituisce la più recente meta-analisi pubblicata nell'ambito. I risultati ivi ottenuti sono in linea con quelli riportati dalle meta-analisi prodotte in precedenza e supportano il fatto che le varianti c.415C>T, c.52G>A, 36_37insGGAGTC del gene NUDT15 possano fungere da fattori genetici predittivi dell'insorgenza di tossicità indotte da tiopurine, nello specifico leucopenia e alopecia severa. Tuttavia, bisogna evidenziare come tale meta-analisi presenti alcune limitazioni intrinseche al design del lavoro stesso. In primo luogo, nonostante gli Autori dichiarino di aver condotto la meta-analisi in accordo con le linee guida PRISMA, risultano essere mancanti: i) la registrazione del protocollo dello studio (ad es. sul database di PROSPERO) *a priori* della conduzione della meta-analisi, fatto che garantirebbe la massima trasparenza nell'esecuzione della revisione; ii) l'analisi della potenziale presenza di bias di pubblicazione, necessario da stabilire in quanto fortemente impattante sulla solidità delle stime riportate dalla meta-analisi. Inoltre, è importante evidenziare che è possibile che alcuni studi primari potenzialmente eleggibili non siano stati identificati durante il processo di revisione e che quindi siano stati erroneamente non inclusi nella meta-analisi (ad esempio: Chiengthong K et al. *Haematologica* 2016,101(1):e24-6; Kim H et al. *Cancer Res Treat* 2018,50(3):823-34; Soler AM et al. *Br J Haematol* 2018,181(2):252-5). Infine, sarebbe stato interessante condurre una *trial sequential analysis* (TSA) al fine di definire se le evidenze ivi riportate fossero conclusive o se, al contrario, siano necessari ulteriori studi clinici per valutare se le varianti c.415C>T, c.52G>A, 36_37insGGAGTC del gene NUDT15 possano essere considerate, al pari di quelle per il gene TMPT, fattori genetici predittivi della tossicità indotta da tiopurine.

Le varianti c.415C>T, c.52G>A, 36_37insGGAGTC del gene NUDT15 sono correlate all'insorgenza di leucopenia e alopecia severa indotte dal trattamento con tiopurine.

Parole chiave: leucopenia, alopecia, tiopurine; NUDT15

Riferimento bibliografico

[Wang R](#) et al. *Drug Des Devel Ther* 2019, 13:2729-44



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF. È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311. sif.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

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

Direttore

Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)

Vice-Direttore Coordinatore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Debora Curci (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)

Archivio SIF-Farmacogenetica

Edicola Virtuale SIF

DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di “SIF–Farmacogenetica” senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

La Società dichiara che i dati personali comunicati dall'utente sono trattati in conformità alle disposizioni del D. Lgs. 196/2003 ed alla normativa comunitaria secondo quanto indicato specificamente nell'informativa privacy reperibile sul sito internet della Società all'indirizzo https://sif-website.s3.amazonaws.com/uploads/attachment/file/240/Informativa_Privacy_SIF_Generica.pdf che l'utente, con la sottoscrizione del presente Contratto, dichiara di aver compiutamente visionato, compreso e accettato. Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.
