# Giornale Italiano di Farmacoeconomia e Farmacoutilizzazione

FOCUS SU UTILIZZO, RISCHIO-BENEFICIO E COSTO-EFFICACIA DEI FARMACI E SULLE POLITICHE SANITARIE

Rivista ufficiale del Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP) e della Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale (SITeCS)

Pubblicazione trimestrale Volume 9 • Numero 4 • Dicembre 2017

RASSEGNA

Il ruolo della farmacogenetica nella terapia con statine

RECENSIONI DALLA LETTERATURA

ANGOLO DEL MASTER IN FARMACOVIGILANZA



Periodico trimestrale Reg. Trib. N. 506 del 15.09.2008 ISSN 2279-9168



Direttore responsabile

Paolo E. Zoncada

Redazione

Manuela Casula Elena Loggia

© 2017 by

Edizioni Internazionali srl **Divisione EDIMES** 

Edizioni Medico-Scientifiche - Pavia Via Riviera, 39 - 27100 Pavia Tel. 0382/526253 r.a. Fax 0382/423120

E-mail: edint.edimes@tin.it

La pubblicazione di un articolo sul giornale GIFF implica l'impegno degli Autori a rispettare una open access Creative Commons license (CC-BY). Secondo i termini di questa licenza, gli Autori conservano la proprietà dei diritti d'autore dei loro articoli. Tuttavia, la licenza consente a qualsiasi utente di scaricare, stampare, estrarre, riutilizzare, archiviare e distribuire l'articolo, purché sia dato credito agli Autori e alla fonte del lavoro, attribuendo adeguatamente la paternità del materiale, fornendo un link all'originale e indicando se sono state effettuate modifiche.

## Giornale Italiano di Farmacoeconomia e Farmacoutilizzazione

FOCUS SU UTILIZZO, RISCHIO-BENEFICIO E COSTO-EFFICACIA DEI FARMACI E SULLE POLITICHE SANITARIE

Rivista ufficiale del Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP) e della Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale (SITeCS)

Pubblicazione trimestrale

Volume 9 · Numero 4 · Dicembre 2017

#### Sommario

► RASSEGNA

Il ruolo della farmacogenetica nella terapia con statine Manuela Casula, Jessica Cocchiarella

SELEZIONE DALLA LETTERATURA

- Epidemiologia, caratteristiche del paziente e consumo di risorse sanitarie per l'epatite C in Italia
- ► Gestione della politerapia: situazione corrente e prospettive future
- Farmacogenomica delle reazioni avverse off-target Elena Tragni, Manuela Casula

► ANGOLO DEL MASTER IN FARMACOVIGILANZA

#### Editor in Chief

#### Alberico L. CATAPANO

Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari Università degli Studi di Milano

Board editoriale

#### Vincenzo ATELLA

Facoltà di Economia

Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"

#### Claudio BORGHI

Dipartimento di Medicina Clinica

e Biotecnologia Applicata "D. Campanacci"

Università degli Studi di Bologna

#### Ovidio BRIGNOLI

Società Italiana di Medicina Generale (SIMG)

#### **Achille CAPUTI**

Dipartimento Clinico Sperimentale Medicina

e Farmacologia

Università degli Studi di Messina

#### Francesco CIPOLLONE

Centro Studi di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento

Università degli Studi di Chieti - Pescara

#### Giovanni CORRAO

Dipartimento di Statistica Socio Demografica Università degli Studi Milano Bicocca

#### Romano DANESI

Dipartimento di Medicina Interna Università degli Studi di Pisa

#### Gianfranco DE CARLI

GDC - Pharmaservices

#### Renato FELLIN

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Università degli Studi di Ferrara

#### **Ettore NOVELLINO**

Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica

Università degli Studi di Napoli Federico II

#### Francesco ROSSI

Dipartimento di Medicina Sperimentale

Seconda Università degli Studi di Napoli

#### Elena TRAGNI

Dipartimento di Scienze Farmacologiche

e Biomolecolari

Università degli Studi di Milano

#### **Mauro VENEGONI**

Centro Regionale di Farmacovigilanza della Lombardia

#### **EDITORIALE**

## Cari colleghi,

questo numero del GIFF 2017 vi propone una rassegna sul tema della farmacogenetica, ovvero lo studio di come i fattori genetici contribuiscono a spiegare la variabilità nella risposta al trattamento farmacologico tra paziente e paziente, da sempre uno dei problemi più rilevanti nella pratica clinica. In particolare, questa tematica viene affrontata relativamente alla classe delle statine, analizzando i casi in cui la variabilità genetica può modificare l'efficacia o la tossicità di questi farmaci.

La rivista ospita, come consuetudine, una tesi relativa a un progetto di stage nell'ambito del Master in Farma-covigilanza. Questo lavoro, condotto presso il Centro Regionale di Farmacovigilanza del Veneto, con sede presso l'Università degli Studi di Verona, ha voluto fornire una descrizione del ruolo dei registri di monitoraggio regionali nella valutazione delle reazioni avverse da farmaco, evidenziando le potenzialità di tali esperienze regionali, soprattutto nella prospettiva di un'efficace integrazione con i registri AIFA già avviati.

Infine, viene presentato un elaborato conclusivo del Corso di Perfezionamento in Farmacovigilanza; l'articolo descrive lo stato attuale e le prospettive future dell'ecofarmacovigilanza, una branca della farmacovigilanza che tratta gli effetti negativi legati alla presenza dei prodotti farmaceutici nell'ambiente.

Certo che questi contributi forniscano ancora una volta spunti di riflessione su argomenti di particolare interesse, vi auguro Buona Lettura!

Alberico L. Catapano

Editor in Chief

#### RASSEGNA

## IL RUOLO DELLA FARMACOGENETICA NELLA TERAPIA CON STATINE The role of pharmacogenetics in therapy with statins

#### Manuela Casula, Jessica Cocchiarella

Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DiSFeB), Università degli Studi di Milano

#### Keywords

Pharmacogenetics Pharmacogenomics Statins

#### **Abstract**

Statins are a cornerstone of the pharmacologic treatment and prevention of atherosclerotic cardiovascular disease. Inter-individual variability in response to statins with regard to both efficacy and safety is a target for pharmacogenetic research. Many genes have been identified as possible contributors to variability in statin response and safety. Genetic polymorphisms may alter the structure or expression of coded proteins, with potential impacts on lipid and statin absorption, distribution, metabolism, and elimination as well as response pathways related to the pharmacologic effect. Further research and evaluation of clinical value of pharmacogenetic testing are warranted to optimize the use of statins. Research efforts should focus strategically on collecting data that help clarify existing ambiguities and build more robust evidence showing impact on clinical outcomes to advance the use of pharmacogenetics for treatment of dyslipidemia in the future.

#### **Introduzione**

La risposta al trattamento farmacologico mostra profonde differenze interindividuali, sia per quanto riguarda gli effetti terapeutici che le reazioni avverse. Tra i principali responsabili di tali differenze, come evidenziato da diversi studi negli ultimi anni, vi sono i fattori di tipo genetico.

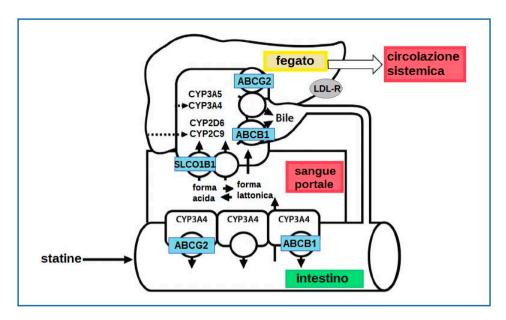
Negli ultimi dieci anni è stato registrato un importante aumento delle prescrizioni di statine nel mondo occidentale. In virtù del loro ampio utilizzo, la letteratura scientifica si è arricchita di studi svolti allo scopo di valutare l'efficacia e la sicurezza - e le variazioni interindividuali - dei farmaci appartenenti a questa classe.

Come è ben noto, esistono profonde differenze nella risposta del singolo individuo al trattamento con i farmaci, sia per quanto riguarda gli effetti terapeutici che le reazioni avverse. Questa variabilità può dipendere da fattori di tipo metabolico, di genere e di età o da interazioni con altre sostanze o farmaci, ma negli ultimi due decenni si sono sviluppati molti studi volti ad indagare l'influenza dei fattori di tipo genetico. Basandosi sull'ipotesi che sequenze differenti di nucleotidi dei geni codificanti per proteine che regolano l'assorbimento, il metabolismo e l'eliminazione di un farmaco o altri codificanti recettoriali, secondi messaggeri, potessero giustificare le variazioni inter-individuali nella risposta ai farmaci, sono stati progettati e condotti numerosi studi di farmacogenetica. L'obiettivo di questi studi è sostanzialmente quello di predire, o almeno prevedere, la risposta individuale a un certo principio attivo e a un certo dosaggio tramite un test genetico, ottenendo così una strategia terapeutica ottimale e personalizzata, con minore incidenza di reazioni avverse e migliori risultati terapeutici. Nell'ambito della terapia con statine, i polimorfismi genetici, se presenti a livello di sequenze che codificano per proteine coinvolte nella farmacocinetica e nella farmacodinamica di questi farmaci, possono infatti modificare sia la risposta farmacologica che l'incidenza delle reazioni avverse legate a queste molecole e, di conseguenza, anche l'aderenza alla terapia da parte dei pazienti [1, 2]. Tra i geni più studiati e maggiormente soggetti a polimorfismi, ci sono quelli che codificano per gli enzimi del metabolismo di fase I e per i trasportatori epatici delle statine (Figura 1), così come i geni coinvolti nella sintesi e nel trasporto del colesterolo.

Corrispondenza: Manuela Casula. Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DiSFeB), Università degli Studi di Milano, via Balzaretti, 9 - 20133 Milano. E-mail: manuela.casula@unimi.it

6 M. Casula, J. Cocchiarella

Figura 1 Enzimi e trasportatori i cui polimorfismi influenzano la terapia con statine.



#### Polimorfismi genetici degli enzimi del metabolismo

Citocromi P450 3A4 e 3A5

Tutte le statine, salvo pravastatina, sono metabolizzate dal citocromo P450, in particolare dagli isoenzimi CYP3A4 e CYP2C9, e in parte minore da CYP3A5 e CYP2C8. La concentrazione plasmatica del farmaco e quindi la sua efficacia. dipendono dalla velocità con cui il farmaco viene degradato dall'organismo. D'altro canto, una maggiore e più prolungata esposizione a dosi elevate di principio attivo è spesso causa di effetti avversi importanti.

L'attività del CYP3A4 può variare fino a 10 volte tra i vari pazienti, influenzando in questo modo l'efficacia e la tollerabilità della terapia con simvastatina, atorvastatina e lovastatina [3]. La variante genica più studiata è il CYP3A4\*22 (rs35599367), un polimorfismo caratterizzato dalla sostituzione di una citosina con una timina a livello dell'introne 6 e diffuso con bassa frequenza (3-8%) nella popolazione caucasica [4]. Questa mutazione è associata a ridotta funzionalità enzimatica, così come ad alterata farmacocinetica e farmacodinamica dei substrati su cui agisce [5]. In particolare per simvastatina, la seconda statina più utilizzata in Italia [6], uno studio ha dimostrato che, nei soggetti portatori dell'allele mutato, la biodisponibilità del farmaco è superiore del 50% [7]; in un altro studio è emerso che in soggetti bianchi portatori del CYP3A4\*22 le concentrazioni del profarmaco e della molecola attiva, dopo 12 ore dalla somministrazione, sono rispettivamente superiori del 20% e del 14% rispetto ai soggetti portatori dell'allele wild type [8].

È stato inoltre valutato l'effetto di questo polimorfismo genetico nell'efficacia della terapia ipolipemizzante con statine. In particolare è stato condotto un primo studio su 235 pazienti dislipidemici al fine di determinare le dosi di simvastatina, atorvastatina e lovastatina necessarie per ottenere una concentrazione lipidica ottimale nel plasma. Per i portatori dell'allele CYP3A4\*22 le dosi di statine richieste sono corrispondenti soltanto al 20-60% di quelle che devono essere somministrate nei pazienti non recanti la mutazione genica, al fine di ottenere la stessa efficacia terapeutica [5]. Un secondo studio ha inoltre rivelato che la riduzione del colesterolo LDL, associata all'assunzione di simvastatina, è superiore del 7% nei pazienti portatori dell'allele mutato rispetto ai non portatori [9].

Per contro, altri autori non hanno riportato alcuna associazione tra il polimorfismo CYP3A4\*22 e l'efficacia delle statine. In particolare, è stato condotto uno studio su 416 pazienti di origine greca, dei quali 207 sono stati trattati con simvastatina e 209 con atorvastatina. Dal punto di vista genotipico, 375 pazienti presentavano l'allele *wild type* CYP3A4\*1/1, mentre gli altri 41 erano portatori dell'allele mutato CYP3A4\*22. I pazienti sono stati trattati con una dose giornaliera di farmaco pari a 10-40 mg per 6 mesi, al termine dei quali sono stati valutati i livelli sia di colesterolo totale che di colesterolo LDL e confrontati con i corrispondenti valori basali. Non è stata osservata nessuna correlazione tra la presenza del polimorfismo rs35599367 e una maggiore efficacia di atorvastatina e simvastatina, né studiando il gruppo di partecipanti nel suo complesso, né valutandoli separatamente in base al farmaco assunto [10].

Un altro polimorfismo del CYP3A4, di cui si hanno evidenze dalla letteratura scienti-

fica, è il CYP3A4\*1B, noto anche come variante A290G o rs2740574. Questa mutazione è presente a livello del promotore del gene e la sua presenza è stata riscontrata nel 52% degli afro-americani, nel 9,6% dei caucasici ma non è stata identificata nella popolazione asiatica [11]. Nonostante in vitro la mutazione sia stata associata ad un'alterazione dell'attività trascrizionale con un aumento della sintesi proteica, in vivo è stata dimostrata una riduzione della funzionalità dell'enzima nei soggetti portatori del polimorfismo. È stato svolto uno studio su 142 individui affetti da ipercolesterolemia, di età media pari a 56 anni, trattati con una dose giornaliera di atorvastatina di 10 mg per un mese. Nei soggetti portatori del polimorfismo la riduzione del colesterolo LDL e del colesterolo totale è stata più significativa [12].

Infine, in uno studio del 2008, sono stati arruolati 416 pazienti di etnia cinese affetti da iperlipidemia al fine di stabilire la variabilità nella risposta ad atorvastatina e simvastatina in presenza del polimorfismo CYP3A4\*1G, una variante allelica molto diffusa nelle popolazioni asiatiche. In particolare 217 soggetti sono stati trattati con simvastatina, 199 con atorvastatina. Entrambi i farmaci sono stati somministrati in monoterapia giornaliera alla dose di 20 mg per 4 settimane. I pazienti sono inoltre stati classificati in base al genotipo: omozigoti per l'allele wild type (\*1/\*1), eterozigoti (\*1/\*1G), omozigoti per l'allele mutato (\*1G/\*1G). Il polimorfismo CYP3A4\*1G influenzava in maniera significativa l'efficacia del trattamento ipolipemizzante con atorvastatina, determinando nei pazienti omozigoti \*1G/\*1G una riduzione del colesterolo totale superiore rispetto ai soggetti eterozigoti e non portatori dell'allele mutato. Al contrario, per quanto riguarda la terapia con simvastatina, questa associazione non è stata riscontrata. In questo caso, infatti, i soggetti omozigoti per l'allele polimorfico non hanno manifestato una riduzione del colesterolo totale significativamente migliore. Ciò potrebbe essere, in parte, dovuto al differente grado di coinvolgimento del CYP3A4 nel metabolismo delle due molecole [13].

Il citocromo P450 3A5 è localizzato nelle vicinanze del CYP3A4 ed è stato ipotizzato che il metabolismo di simvastatina, lovastatina e atorvastatina sia da attribuire ad entrambe le isoforme enzimatiche. Nonostante la via enzimatica del CYP3A5 non sia quella maggiormente coinvolta nella biotrasformazione delle statine, in letteratura sono presenti vari studi relativi all'associazione tra la variabilità genetica di questo enzima e le differenze inter-individuali nella risposta ad alcune statine. Quando un individuo è portatore di entrambe le copie dell'allele wild type del gene (CYP3A5\*1/ \*1), esprime l'enzima CYP3A5 nel fegato e in altri tessuti extraepatici come il piccolo intestino. La variante allelica CYP3A5\*3, data dal polimorfismo 6986 A>G nell'introne 3 del gene, è invece associata a ridotta o non rilevabile espressione dell'enzima, rispettivamente nei soggetti eterozigoti (CYP3A5\*1/\*3) e in quelli omozigoti per l'allele mutato (CYP3A5\*3/\*3). Questa mutazione è presente nelle popolazioni caucasiche con una frequenza pari a 0,82-0,95, mentre quest'ultima si riduce negli afro-americani (0,33) [14]. In uno studio condotto su 69 pazienti caucasici è stato valutato l'effetto di questo polimorfismo nel metabolismo e nell'efficacia di lovastatina, simvastatina e atorvastatina [15].

I soggetti hanno ricevuto un dosaggio non noto del farmaco e dopo un anno di trattamento sono stati valutati i livelli plasmatici di colesterolo totale e colesterolo LDL. I pazienti portatori dell'allele 1 hanno mostrato, dopo un anno di terapia, livelli plasmatici di colesterolo LDL e colesterolo totale superiori rispettivamente del 24% e 23% rispetto ai pazienti omozigoti per l'allele 3. Inoltre, per questi ultimi, la riduzione del colesterolo totale è stata del 31%, mentre nei pazienti con piena funzionalità enzimatica solo del 17%. Infine, per quanto riguarda la riduzione del colesterolo LDL, essa è stata del 45% nei pazienti omozigoti per l'allele CYP3A5\*3 e del 31% per i portatori dell'allele wild type. Sempre nell'ambito di questo studio, gli stessi parametri sono stati valutati in 23 pazienti trattati con fluvastatina o pravastatina. In questo caso non sono state rilevate differenze dipendenti dal genotipo. Infatti, sia i pazienti omozigoti per l'allele CYP3A5\*3 che i pazienti portatori dell'allele wild type CYP3A5\*1, hanno mostrato una riduzione del colesterolo LDL e del colesterolo totale rispettivamente del 34% e del 21,5%. La mancanza di una relazione tra il polimorfismo genetico studiato e l'efficacia di queste due molecole deriva dal fatto che fluvastatina e pravastatina non sono soggette a biotrasformazione da parte del CYP3A.

8 M. Casula, J. Cocchiarella

#### Citocromo P450 2D6 e 2C9

Un primo studio volto a valutare il possibile legame tra i polimorfismi del CYP2D6 e l'efficacia e la tollerabilità della terapia con statine è stato condotto nel 2001 su 88 pazienti affetti da ipercolesterolemia trattati con simvastatina [16]. I soggetti reclutati sono stati caratterizzati dal punto di vista del genotipo, dell'efficacia del trattamento e dell'insorgenza di reazioni avverse. In particolare:

- 54 soggetti erano omozigoti per l'allele *wild type* (wt/wt). La riduzione del colesterolo totale è stata di 0,10 mmol/L per mg di simvastatina e solo 9 pazienti (17%) hanno interrotto la terapia per insorgenza di miopatia.
- 28 soggetti recavano un solo allele mutato (\*3, \*4 o \*5) associato a ridotta attività enzimatica (mut/wt). La riduzione del colesterolo totale è stata di 0,20 mmol/L per mg di simvastatina e 13 pazienti (46%) non hanno tollerato la terapia per l'insorgenza di effetti indesiderati.
- 5 soggetti portavano entrambi gli alleli non funzionanti del gene (mut/mut) e sono stati classificati come *poor metabolizers*. La riduzione del colesterolo totale è stata di 0,23 mmol/L per mg di simvastatina e ben 4 pazienti (80%) hanno interrotto la terapia a causa di eventi avversi.
- 1 soggetto portava copie multiple dell'allele *wild type* (\*4/ 2 x N) ed è classificato come *ultra rapid metabolizer*. La riduzione del colesterolo è stata di 0,01 mmol/L e non c'è stata interruzione della terapia.

I soggetti con genotipo wt/wt e quelli con genotipo mut/wt non hanno mostrato differenze significative per quanto riguarda l'efficacia della terapia e il dosaggio di simvastatina richiesto (rispettivamente 25 mg/die e 20 mg/die). I soggetti recanti entrambi gli alleli mutati hanno mostrato invece una maggiore efficacia del trattamento ipolipemizzante poiché, con un dosaggio giornaliero inferiore di simvastatina (10 mg), la riduzione del colesterolo è stata più consistente. Il genotipo wt/wt è stato inoltre correlato alla più alta incidenza di intolleranza.

Un secondo studio è stato svolto nel 2007, arruolando 100 pazienti selezionati all'interno di un istituto clinico specializzato nei disordini lipoproteici [17]. Tutti i soggetti erano in terapia con una statina e 50 di essi erano affetti da miopatia, mentre gli altri 50 sono stati scelti tra coloro che non manifestavano dolore muscolare (gruppo controllo). I partecipanti sono poi stati suddivisi in base al genotipo; in particolare, per quanto riguarda il CYP2D6, sono stati presi in considerazione 30 pazienti in cura con simvastatina e fluvastatina, molecole nel cui metabolismo è parzialmente coinvolto questo enzima. Dal punto di vista del corredo genetico, i soggetti sono stati così suddivisi: 16 omozigoti per l'allele wild type (CYP2D6 \*1/\*1), 13 portatori di almeno un allele mutato del gene (CYP2D6\*1/\*4 oppure CYP2D6\*4/\*4) e un ultrarapid metabolizer (UM, CYP2D6\*2 x N). Di questi 30 soggetti, inoltre, 18 avevano manifestato effetti indesiderati, mentre gli altri 12 appartenevano al gruppo controllo. L'incidenza di tossicità muscolare non era però legata al genotipo a differenza dell'efficacia di simvastatina e fluvastatina nell'abbassare il colesterolo LDL. Infatti, la migliore riduzione si è avuta nei pazienti recanti almeno un allele mutato mentre il peggior effetto ipocolesterolemizzante è stato riscontrato nel paziente UM.

I due SNP due più comuni del gene CYP2C9 nella popolazione caucasica sono il CYP2C9\*2 e il CYP2C9\*3. Il primo determina la sostituzione di una cisteina con una arginina a livello dell'esone 3 e ha una frequenza dell'8%-14%; il secondo porta sempre a una sostituzione amminoacidica (Ile359Leu) ma a livello dell'esone 7 ed è presente nel 4%-11% dei caucasici [18]. Entrambe queste varianti alleliche sono associate a minor attività enzimatica rispetto al citocromo CYP2C9 wild type. In un primo studio del 2003 [19] è stato valutato l'impatto del polimorfismo CYP2C9\*3 nella farmacocinetica e nell'efficacia di fluvastatina. Sono stati selezionati 24 volontari sani, trattati con 40 mg/die di farmaco per 14 giorni. La farmacocinetica è stata analizzata dopo la prima somministrazione, mentre i livelli lipidici (colesterolo totale e colesterolo LDL) sono stati misurati al giorno 15 e confrontati con quelli basali. In particolare, i soggetti con genotipo CYP2C9 \*1/\*1, \*1/\*3 e \*3/\*3 hanno mostrato valori di area sotto la curva (AUC) rispettivamente crescenti. Più recentemente, è stato svolta un'ulteriore analisi al fine di stabilire una correlazione tra il genotipo CYP2C9 e l'effetto ipolipemizzante della fluvastatina. In primo luogo sono stati reclutati 87 pazienti di

origine ceca, tutti in terapia per la prima volta con fluvastatina [20]. Da questo gruppo, sono stati selezionati 48 pazienti trattati in monoterapia con fluvastatina, scelti quindi sulla base del fatto che non fossero in cura con induttori/inibitori del CYP2C9 o con altri potenziali farmaci ipolipemizzanti, anche da banco. I soggetti recanti il genotipo \*1/\*3 hanno raggiunto una migliore riduzione del colesterolo totale e LDL rispetto a coloro che portavano il genotipo *wild type* omozigote o \*1/\*2. La maggior efficacia nella riduzione lipidica non ha trovato, però, un riscontro statisticamente significativo a livello clinico poiché il raggiungimento dei livelli ottimali di colesterolo totale e LDL non era correlabile al genotipo.

#### Polimorfismi genetici dei trasportatori 0ATP1B1

L'assorbimento intestinale e il metabolismo epatico delle statine sono veicolati da diverse classi di proteine trasportatrici. Le statine sono substrato delle proteine appartenenti alla famiglia dei solute carrier organic anion transporter SLCO1B1. I recettori espressi da questo gene sono responsabili del riassorbimento delle statine dal circolo sanguigno agli epatociti, dove vengono metabolizzati. Sono stati individuati polimorfismi che ne alterano l'attività, influenzando la concentrazione plasmatica di farmaco e conseguentemente l'effetto e la tossicità.

Tra i polimorfismi più frequentemente trattati in letteratura ci sono quelli a carico del gene SLC01B1, il quale codifica per il polipeptide trasportatore degli anioni organici OATP1B1, necessario per l'uptake delle statine da parte delle cellule epatiche. Sono state identificate due importanti varianti del gene SLCO1B1: la sostituzione di una adenina con una guanina in posizione 388 (388A>G) e la sostituzione di una timina con una citosina in posizione 521 (521T>C). Nel primo caso il polimorfismo è associato a un aumento dell'attività del trasportatore e a una minore concentrazione plasmatica del farmaco [21]: nel secondo caso la mutazione, molto comune nelle popolazioni caucasiche e asiatiche, determina invece una ridotta attività della proteina e aumentate concentrazioni plasmatiche della statina [22]. Nonostante tutte le statine siano substrati del trasportatore OATPB1, gli studi sui polimorfismi del gene SLCO1B1 hanno mostrato i risultati più significativi nell'ambito della terapia con simvastatina. In generale, l'uptake delle statine negli epatociti può essere importante sia in termini di aumento della loro efficacia che di riduzione della concentrazione plasmatica periferica. Quindi, la riduzione della captazione di simvastatina da parte degli epatociti, causata dal polimorfismo SLC01B1 521C, potrebbe portare sia a una diminuzione dell'effetto ipocolesterolemizzante che a un aumento del rischio di effetti avversi sistemici. Per quanto riguarda l'influenza dei polimorfismi sulla farmacocinetica della simvastatina, in uno studio su 32 giovani volontari di origine caucasica è emerso che i soggetti portatori del genotipo SLCO1B1 521CC avevano una maggior AUC e una maggiore C<sub>max</sub> del farmaco attivo rispetto ai portatori del genotipo 521TC e 521TT [23]. In particolare, i soggetti portatori del genotipo 521CC hanno mostrato AUC superiore del 120% e del 221% di quelli portatori del genotipo 521CT e 521TT, rispettivamente. Analogamente, anche i valori di  $C_{\max}$  si sono rivelati superiori, rispettivamente, del 162% e del 200%. Le associazioni trovate tra la farmacocinetica della forma attiva della simvastatina e i genotipi non sono state riscontrate per la forma lattonica della molecola (profarmaco). Ciò suggerisce che simvastatina nella sua forma acida sia substrato del trasportatore OATP1B1 e necessiti di questo trasportatore attivo per penetrare la membrana dell'epatocita. Al contrario, il profarmaco può raggiungere il citosol cellulare tramite diffusione passiva o attraverso il legame con un trasportatore diverso. Un'importante indagine avente lo scopo di identificare un'associazione tra la variabilità del gene SLCO1B1 e la miopatia legata all'utilizzo di statine è stata quella condotta nell'ambito dello studio SEARCH (Study of the Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteina) nel 2008 [24]. Gli autori di questo lavoro hanno eseguito uno studio GWAS in 85 pazienti (casi) che, all'interno di un trial clinico che aveva coinvolto oltre 12.000 partecipanti, avevano sviluppato miopatia dopo trattamento con un dosaggio di 80 mg/die di simvastatina e li hanno confrontati con altri 90 soggetti (controlli) i quali, arruolati nello stesso trial, non avevano sviluppato miopatia. Le analisi genomiche hanno identificato una forte associazione tra la comparsa di miopatia indotta da simvastatina e la presenza del polimorfismo rs4363657 a livello dell'introne 11 del gene SLC01B1. Ulteriori analisi genetiche hanno mostrato che esso si trova in linkage disequilibrium con un altro polimorfismo, il rs4149056 (SLC01B1 521T>C) presente in una regione codificante del gene. I soggetti eterozigoti per questa variante allelica (SLC01B1 521CT) hanno un rischio 4,5 volte maggiore di sviluppare miopatia rispetto ai soggetti wild-type (SLCO1B1 521TT), mentre tale rischio è di 17 volte maggiore per i soggetti omozigoti per la mutazione (SLCO1B1 521CC).

10 M. Casula, J. Cocchiarella

A partire da questi dati, sono stati svolti ulteriori studi al fine di confermare la correlazione tra i polimorfismi del gene SLCO1B1 e la miopatia indotta dall'assunzione di statine. Nello studio STRENGTH (Statin Response Examined by Genetic Haplotype Markers) 542 pazienti non ospedalizzati con ipercolesterolemia sono stati randomizzati a ricevere per 8 settimane atorvastatina 10 mg/die o simvastatina 20 mg/die o pravastatina 10 mg/die seguite, rispettivamente, da atorvastatina 80 mg/die o simvastatina 80 mg/die o pravastatina 40 mg/die [25]. Lo scopo era di verificare la comparsa, in qualsiasi momento dello studio, di un evento avverso tra interruzione prematura della somministrazione del farmaco per qualsiasi effetto indesiderato, mialgia o crampi notturni indipendentemente dai valori di creatinchinasi (CK), valori di CK >3 volte rispetto al limite superiore. Sono stati sequenziati o genotipizzati più di 160 potenziali geni candidati; l'attenzione è stata focalizzata su 5 geni (CYP2D6, CYP2C8, CYP2C9, CYP3A e SLC01B1) coinvolti nella farmacocinetica delle statine. La comparsa di un evento avverso tra quelli specificati si è verificata in 99 soggetti, dei quali 54 hanno interrotto la terapia, 49 hanno manifestato mialgia e 9 un aumento dei valori di CK. Inoltre, gli autori hanno notato una maggior diffusione degli eventi avversi nei soggetti di sesso femminile. Per quanto riguarda la correlazione tra la tossicità indotta da statine e il genotipo, i risultati più significativi sono stati quelli ottenuti per il gene SLC01B1, il cui polimorfismo rs4149056 era diffuso maggiormente tra i soggetti che hanno manifestato un evento avverso. Infine, è stata valutata l'incidenza degli eventi avversi sulla base del sesso e del genotipo studiando separatamente i soggetti che hanno assunto le tre statine. In particolare, i pazienti portatori di almeno un allele SLCO1B1 522C trattati con simvastatina hanno manifestato una più alta incidenza di eventi avversi rispetto agli omozigoti per l'allele wild type. Lo stesso si è verificato per coloro che hanno assunto atorvastatina, anche se la percentuale di reazioni avverse è stata inferiore. Al contrario, i soggetti che hanno assunto la pravastatina hanno mostrato la stessa incidenza di reazioni avverse indipendentemente dal genotipo.

Poiché diversi studi hanno dimostrato il ruolo dei polimorfismi dei geni SLCO1B1 e CYP3A4 nella farmacocinetica, nell'efficacia e nell'incidenza di reazioni avverse di alcune statine, nel 2015 è stato condotto uno studio volto a valutare se le combinazioni di queste varianti alleliche possano influenzare le concentrazioni plasmatiche di simvastatina (SV, profarmaco) e della sua forma acida attiva (SVA) [26]. Queste mutazioni, infatti, sono presenti con una buona frequenza nella popolazione ed è quindi possibile che alcuni pazienti siano portatori di più di una variante allelica che influenza il metabolismo e/o il trasporto del farmaco. Per lo svolgimento delle ricerche sono stati reclutati 646 soggetti di etnia sia caucasica che afro-americana, maschi e femmine, di età superiore o uguale a 30 anni. Sono stati esclusi coloro che assumevano altri farmaci ipolipemizzanti, che avevano funzionalità epatiche e renali compromesse. diabete o ipertensione, che abusassero di alcool e che avessero una intolleranza nota alle statine. I partecipanti hanno ricevuto una dose giornaliera di simvastatina pari a 40 mg per 6 settimane e la valutazione delle concentrazioni è stata condotta 12 ore dopo la somministrazione. L'allele CYP3A4\*22 era associato alla concentrazione plasmatica di SV dopo 12 ore dalla somministrazione, mentre gli alleli CYP3A5\*3 e SLCO1B1 521C non lo erano in maniera significativa. In particolare, i partecipanti recanti l'allele CYP3A4\*22 hanno mostrato una concentrazione plasmatica dopo 12 ore superiore del 58% rispetto a coloro i quali presentano un genotipo non mutato (CYP3A4\*1/\*1). Per quanto riguarda invece la concentrazione plasmatica di SVA, essa era correlata alla presenza dei genotipi mutati SLCO1B1 521T/C e SLCO1B1 C/C, i quali ne hanno determinato un aumento rispettivamente del 71% e del 248% se confrontati con i soggetti omozigoti per l'allele wild type. Tenendo in considerazione questi risultati, i partecipanti allo studio sono stati suddivisi in tre gruppi in relazione all'entità del rapporto tra la concentrazione plasmatica di SVA e quella del profarmaco che ci si aspetta essi esprimano in base al genotipo. In particolare:

- 1. Soggetti portatori delle varianti CYP3A4\*22 e SLC01B1 521 TT (4% dei partecipanti): il rapporto SVA/SV plasmatico è <1, quindi basso.
- 2. Soggetti portatori delle varianti CYP3A4\*1/1\* e SLCO1B1 521T/T oppure le varianti CYP3A4\*1/\*22 e SLCO1B1 521C (79% dei partecipanti): il rapporto SVA/ SV nel plasma è circa uguale a 1, quindi intermedio.

3. Soggetti portatori delle varianti CYP3A4\*1/\*1 e SLCO1B1 521C (17% dei partecipanti): il rapporto SVA/SV nel plasma è >1, quindi alto.

In primo luogo, questo studio ha prodotto risultati coerenti con quelli ottenuti precedentemente per quanto riguarda le varianti genetiche del *CYP3A4* e del *SLCO1B1* considerate indipendentemente l'una dall'altra. Il polimorfismo CYP3A4\*22 è stato associato a maggiore efficacia della simvastatina ma non all'aumento dell'incidenza di miopatia, mentre il gene SLCO1B1 521C è stato correlato ad aumentata tossicità ma non a miglior attività terapeutica. I pazienti appartenenti al terzo gruppo hanno il rapporto rischio/beneficio meno favorevole e richiedono un monitoraggio continuo durante la terapia oppure l'utilizzo di un farmaco alternativo. Infatti, poiché esprimono l'allele CYP3A4\*1/\*1, questi soggetti richiedono un dosaggio maggiore di simvastatina per avere la stessa efficacia nel ridurre il colesterolo. Ciò comporta, però, un rischio molto elevato di tossicità muscolare dovuta alla contemporanea espressione del polimorfismo SLCO1B1 521C. Al contrario i pazienti del gruppo 1 avranno un rapporto rischio/beneficio favorevole poiché, in virtù del loro genotipo, richiedono la dose più bassa di simvastatina ai fini dell'efficacia.

#### **Glicoproteina-P e Breast Cancer Resistance Protein**

Un'altra famiglia di trasportatori coinvolti nella variabilità della risposta alle statine è quella che comprende le proteine ABC (*ATP Binding Cassette*), di cui fanno parte la glicoproteina-P (Pgp) e la *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP). Si tratta di trasportatori di efflusso, presenti a livello sia intestinale che epatico.

La glicoproteina-P è codificata dal gene ABCB1, la cui variabilità consiste in 3 principali SNP (C3435T, 1236C>T, 2677G>T) ed è stata analizzata da diversi autori. Uno dei primi studi è stato condotto nel 2004 su 344 pazienti trattati con una dose giornaliera di atorvastatina pari a 10 mg, per 52 settimane [27]. La risposta farmacologica era associata al polimorfismo C3435T (rs1045642) e al sesso. In particolare, nelle donne, questa variante allelica ha determinato una minore efficacia del farmaco in termini di riduzione del colesterolo LDL. Al contrario, in un altro studio, il polimorfismo 3435T era associato ad una diminuita stabilità dell'mRNA di ABCB1 che, di conseguenza, porta ad una ridotta espressione del trasportatore [28]. Un'ulteriore indagine è stata svolta nel 2005 e ha coinvolto 116 pazienti affetti da ipercolesterolemia trattati con una dose di simvastatina di 20 mg/die per 6 mesi [29]. I pazienti portatori del polimorfismo 1236C>T (rs1128503) hanno mostrato un'aumentata efficacia del farmaco in termini di riduzione del colesterolo totale (29%) e LDL (39.6%) rispetto ai pazienti portatori dell'allele wild type (24,2% e 33,8%, rispettivamente). L'alterata efficacia osservata negli studi precedenti è stata successivamente supportata da uno studio svolto sulla popolazione finlandese, nel quale sono state considerate 3 varianti alleliche del gene ABCB1 in *linkage disequilibrium* fra loro: 1236C>T (rs1128503), 2677G>T (rs2032582), 3435C>T (rs1045642) [30]. Lo scopo era quello di confrontare gli effetti dei due aplotipi CGC (1236C-2677G-3435C) e TTT (1236T-2677T-3435T) nella farmacocinetica di 20 mg/die di simvastatina e atorvastatina somministrate a 24 pazienti bianchi in salute. In primo luogo, il genotipo ABCB1 non influenzava in maniera significativa i parametri farmacocinetici della forma lattonica della simvastatina mentre, per quanto riguarda la SVA, i soggetti omozigoti per l'aplotipo TTT mostravano un AUC superiore del 60% rispetto ai soggetti CGC/CGC. Nel caso della forma attiva della atorvastatina, il genotipo TTT/TTT era associato non solo ad una AUC superiore del 55%, ma anche ad una emivita prolungata del 24% rispetto al genotipo CGC omozigote.

Il polimorfismo più comune del gene ABCG2, codificante per la proteina BCRP, è la sostituzione di una C con una A in posizione 421 (421C>A), presente nel 15-36% della popolazione asiatica [31]. Alcuni studi hanno riportato un'associazione tra questo polimorfismo e i parametri farmacocinetici della rosuvastatina [32, 33], dell'atorvastatina e della fluvastatina [34]. In tutti e tre i casi, i soggetti omozigoti per la variante 421A del gene hanno manifestato un aumento dei livelli di esposizione al farmaco. In particolare nello studio condotto da Zhang nel 2006, sono stati reclutati 7 soggetti con genotipo ABCG2 421CC e 7 recanti almeno un allele mutante del gene. L'AUC e la  $C_{\max}$  del farmaco erano rispettivamente superiore dell'80% e del 90% nel gruppo

12 M. Casula, J. Cocchiarella

dei soggetti 421CA o 421AA, se confrontati con corrispondenti valori del gruppo di soggetti omozigoti per l'allele *wild type*. L'emivita e il tempo di raggiungimento della C<sub>max</sub> invece non variavano significativamente. Lo studio di Tomlinson del 2010 è stato svolto allo scopo di verificare se il polimorfismo 421C>A del gene *ABCG2*, influenzando i parametri farmacocinetici della rosuvastatina, ne influenzasse anche l'efficacia nel ridurre il colesterolo LDL. L'indagine è stata condotta in un gruppo di 305 pazienti cinesi affetti da ipercolesterolemia, trattati con 10 mg/die di farmaco. La variante genetica 421A era associata in modo significativo all'azione ipocolesterolemizzante della rosuvastatina. Infatti, rispetto ai soggetti omozigoti per l'allele *wild type*, i pazienti portatori del genotipo 421AA hanno mostrato una riduzione del colesterolo LDL superiore del 6,9%, ottenendo un effetto paragonabile a quello fornito da un dosaggio doppio della stessa statina.

In base ai risultati ottenuti dagli studi svolti sui geni *ABCB1* e *ABCG2*, è possibile affermare che, in presenza di polimorfismi che compromettono la funzionalità dei trasportatori, aumenta l'assorbimento orale e si riduce la clearance epatica delle statine. Pertanto, determinate varianti alleliche sono associate ad una maggiore esposizione al farmaco da cui può risultare un migliore effetto farmacologico. Nonostante diverse ricerche abbiano confermato una correlazione tra i polimorfismi genetici dei trasportatori di efflusso e i parametri farmacocinetici delle statine, soltanto uno studio ha valutato il ruolo di tali geni nella sicurezza di questi farmaci [29]. In particolare, è emerso che su 116 pazienti trattati con 20 mg di simvastatina, 15 hanno interrotto la terapia a causa di dolori muscolari. Sempre nell'ambito dello stesso studio, è emerso che la frequenza con cui si riscontra l'aplotipo ABCB1 TTT è inferiore nei pazienti non affetti da mialgia.

#### Polimorfismi genetici a livello della biosintesi e del trasporto del colesterolo

**HMG-CoA** reduttasi

L'enzima 3 idrossi-3metilglutaril- coenzima A reduttasi (HMGCR), bersaglio delle statine, è una glicoproteina di membrana degli epatociti. L' HMGCR catalizza la reazione di ossidoriduzione che converte il mevalonato in 3-idrossi-3 metilglutaril-CoA, precursore del colesterolo. La reazione rappresenta la tappa limitante nella biosintesi del colesterolo. È stato dimostrato che polimorfismi nel gene che codifica per l'enzima determinano una diversa risposta al trattamento farmacologico ipolipemizzante.

Il gene che codifica per l'enzima HMG-CoA reduttasi (HMGCR) è polimorfico: le sue varianti possono alterare la velocità di biosintesi del colesterolo e portare ad una variabilità nella risposta alla terapia con statine. In uno studio su 1536 pazienti trattati con 40 mg/die di pravastatina per 24 settimane, sono stati analizzati 148 SNP a livello di dieci geni candidati coinvolti nel metabolismo lipidico. In particolare sono stati individuati due polimorfismi, entrambi nel gene HMGCR, che si manifestano con una frequenza del 6,7% nella popolazione e sono strettamente legati alla risposta alle statine. Il primo (SNP 12, rs17244841) consiste nella sostituzione di una adenina con una timina, il secondo (SNP 29, rs17238540) nella sostituzione di una timina con una guanina. Sono stati analizzati i pazienti eterozigoti per l'allele mutato (SNP 12 AT; SNP 29 TG) e confrontati con i pazienti omozigoti per l'allele wild type (SNP 12 AA; SNP 29 TT) in termini di riduzione del colesterolo totale e LDL. Per entrambi i polimorfismi, il genotipo eterozigote era associato a una riduzione del colesterolo totale e del colesterolo LDL inferiore, rispettivamente, del 22% e del 19% rispetto al genotipo omozigote per l'allele non mutato. Non sono presenti, invece, differenze significative per quanto riguarda l'aumento del colesterolo HDL associato alla terapia con pravastatina [35]. Questi dati sono stati confermati da uno studio del 2008, nel quale è emerso che il 51% dei pazienti eterozigoti per il polimorfismo 29 non ha raggiunto l'obiettivo terapeutico di riduzione del colesterolo, mentre questa percentuale si riduceva al 29% nel caso dei pazienti SNP 29 TT. Inoltre i soggetti eterozigoti (TG) hanno mostrato una minore efficacia terapeutica in termini di riduzione del colesterolo totale (-32,3% vs -37,1%) e dei livelli di trigliceridi [36].

Un altro studio è stato svolto nel 2008 allo scopo di confrontare la risposta al trattamento con 40 mg/die di simvastatina, per 6 settimane, in 326 uomini afro-americani e 596 pazienti caucasici. In particolare è stato indagato il genotipo dei partecipanti per verificare la presenza dell'aplotipo 7 (H7), costituito dagli SNP 12, 29 e 20144 in *linkage disequilibrium* tra loro. Poiché la presenza di questo aplotipo è associata alla razza, i soggetti neri e bianchi sono stati analizzati separatamente. Gli afro-americani recanti l'aplotipo 7 hanno mostrato una risposta significativamente ridotta alla simvastatina in termini di riduzione del colesterolo LDL rispetto ai soggetti non portatori dei polimorfismi. È stato successivamente analizzato anche l'aplotipo H2 (dato dalla

combinazione di 11 SNP del gene *HMGCR*) e gli autori hanno verificato che esso determina una minore riduzione del colesterolo LDL, in modo specifico nei soggetti neri. Sempre nella popolazione afro-americana, sono state rilevate associazioni simili tra i due aplotipi e la riduzione di colesterolo totale. Infine, è stato studiato l'impatto della combinazione di questi due aplotipi a livello del genoma di 272 soggetti, 260 dei quali erano portatori di H7 o H2, mentre 12 erano portatori entrambi gli aplotipi. In primo luogo questi pazienti hanno mostrato livelli basali di colesterolo LDL inferiori del 6% rispetto a coloro che non portano mutazioni nel genotipo. Inoltre è stata rilevata una minore riduzione del colesterolo LDL, principalmente tra gli afro-americani, mentre non sono emerse differenze nella risposta farmacologica di bianchi e neri non portatori degli aplotipi H2 e H7 [37].

#### **Cholesterol Ester Transfer Protein**

La Cholesteryl ester transfer protein è una proteina citoplasmatica responsabile del trasferimento degli esteri del colesterolo dalle HDL alle lipoproteine ricche di trigliceridi, con conseguente riduzione dei livelli di HDL. Il polimorfismo rs1532624 (C>A) è stato associato a diversa efficacia ipolipemizzante delle statine.

Nonostante la proteina CETP (Cholesterol Ester Transfer Protein) non sia un target farmacologico delle statine, essa svolge un ruolo molto importante nel trasporto del colesterolo al fegato e nel trasferimento dei trigliceridi dalle LDL alle HDL. I polimorfismi a livello del gene CETP possono influenzare i livelli di colesterolo, l'incidenza di eventi clinici (infarto del miocardio, ictus) e la risposta terapeutica alle statine. In un primo studio (The Regression Growth Evaluation Statin Study Group-REGRESS) è stato analizzato il DNA di 807 pazienti uomini affetti da patologia aterosclerotica per la presenza del polimorfismo di restrizione Taq1B a livello dell'introne 1 del gene CETP [38]. I partecipanti all'indagine sono stati, quindi, suddivisi in tre gruppi genotipici: omozigoti per la presenza del sito di restrizione (B1B1), omozigoti per l'assenza del sito di restrizione (B2B2) ed eterozigoti (B1B2). I pazienti sono stati trattati per due anni con pravastatina oppure con placebo allo scopo di verificare la risposta in termini di andamento della patologia coronarica in base al genotipo. In particolare quest'ultimo aspetto è stato valutato considerando la variazione del diametro arterioso. Nel gruppo placebo i portatori del genotipo B1B1 hanno mostrato una più elevata concentrazione plasmatica di CETP e più bassi livelli di HDL, così come una più veloce progressione della patologia aterosclerotica, rispetto ai soggetti B1B2 e B2B2. Quest'ultimo genotipo, infatti, è associato a bassi livelli di CETP e a maggiore concentrazione di colesterolo HDL. Nel gruppo di pazienti che hanno assunto il farmaco, la terapia farmacologica rallentava la progressione della patologia nei pazienti B1B1 ma non nei B2B2. Inoltre, dopo un periodo di follow-up di 10 anni, è stata valutata la mortalità dei partecipanti allo studio. Questa era maggiore nei pazienti portatori dell'allele B2; considerando la morte per cause relative alla aterosclerosi, il rischio per i soggetti B1B1, B1B2, B2B2 era rispettivamente del 5%, 8% e 15% [39].

Un'ulteriore ricerca del 2003 ha valutato questo polimorfismo del gene *CETP* in risposta al trattamento con 10 o 80 mg/die di simvastatina in 217 pazienti diabetici, ottenendo risultati simili ai precedenti [40]. I soggetti portatori del genotipo B1B1 avevano un profilo lipidico basale più aterogeno ma hanno risposto meglio alla terapia farmacologica, con un aumento della concentrazione di colesterolo HDL pari al 7,2%, rispetto al 6,1% e allo 0,5% dei pazienti B1B2 e B2B2. Questi risultati suggeriscono che il trattamento con statine può essere più utile nei soggetti portatori del genotipo B1B1 nonostante, in assenza della terapia ipolipemizzante, i pazienti B2B2 abbiano un rischio di progressione di malattia coronarica più basso.

L'associazione tra lo SNP *Taq1B*, i livelli di colesterolo HDL ed il rischio di malattia coronarica è stata ulteriormente valutata nel 2005 in una metanalisi (n=13.677), dalla quale, tuttavia, non è emersa alcuna evidenza di un'interazione tra il polimorfismo e la terapia con pravastatina [41].

Più recentemente, sono state identificate altre varianti regolatorie nel gene CETP [42]:

- uno SNP nell'esone 9 che può originare allo *splicing* un'isoforma proteica non funzionale o una proteina negativa dominante, la quale interferisce con la funzionalità delle proteine *wild type*;
- vari polimorfismi (ad esempio rs247616) nelle regioni enhancer e promotore che alterano la trascrizione genica.

Entrambe le varianti sono significativamente associate ai livelli di colesterolo e al rischio cardiovascolare sesso-dipendente, mentre la loro associazione con la risposta

14 M. Casula, J. Cocchiarella

alla terapia con statine è attualmente in fase di studio. Ci sono buone probabilità che ulteriori studi sul gene *CETP* possano fornire le conoscenze necessarie per lo sviluppo di un test clinico capace di identificare a priori i soggetti nei quali una terapia con statine ha scarsa probabilità di successo.

#### Apolipoproteina E

L'ApoE ha un ruolo molto importante nel modulare i livelli di lipoproteine circolanti poiché, legandosi ai lipidi e ai recettori delle lipoproteine, influenza la loro produzione e la loro velocità di eliminazione. Il gene che codifica per l'ApoE può essere espresso in tre differenti alleli: E2, E3 (*wild type*) ed E4, con affinità crescente nei confronti del recettore LDL.

In uno studio su pazienti che seguivano una dieta ricca di grassi, specifici polimorfismi del gene ApoE erano associati con lo sviluppo di infarto del miocardio. In particolare, un elevato apporto di grassi saturi era correlato a un aumento del rischio cardiaco del 49% nei soggetti con genotipo wild type, mentre nei pazienti portatori degli alleli E2 ed E4 il rischio era aggravato dalla variante genetica [43]. Una ricerca ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) ha inoltre dimostrato che sia gli americani bianchi sia gli afro-americani recanti l'allele E2 hanno livelli più alti di colesterolo HDL, livelli più bassi di colesterolo LDL e uno spessore minore dell'intima-media rispetto ai pazienti wild type. Il contrario avviene nel caso dei soggetti portatori dell'allele E4 [44].

Altri studi hanno mostrato che l'allele E4 è associato a una ridotta risposta alla terapia con statine rispetto all'allele E2, il quale è presente con maggiore frequenza nei soggetti che rispondono meglio al trattamento. In particolare, nei soggetti portatori dell'allele E4 è stata riscontrata una bassa aderenza terapeutica causata da una ridotta risposta alle statine o dall'incidenza di effetti indesiderati [45]. Riguardo alla terapia con fluvastatina, al genotipo omozigote wild type (E3/E3) è stata attribuita un'aumentata efficacia in termini di riduzione del colesterolo totale (20,4% vs 15,4%) e LDL (28,7% vs 22,7%), rispetto ai genotipi 3/4 o 4/4. Inoltre il genotipo 2/3 è associato ad un maggiore aumento dei livelli di HDL (19,1% vs 4,3%) in risposta alla terapia con fluvastatina rispetto al genotipo wild type, 3/4 o 4/4 [46].

Ulteriori ricerche svolte al fine di correlare il genotipo ApoE alla risposta terapeutica ipolipemizzante includono uno studio del 2001 nel quale sono stati reclutati 328 uomini e donne trattati con 10 mg/die di atorvastatina per un anno. Per quanto riguarda i livelli lipidici basali, non sono state riscontrate differenze tra i due sessi. Nel gruppo dei soggetti di sesso maschile, i portatori dell'allele E2 hanno mostrato, rispetto ai portatori degli alleli E3 e E4, una maggiore efficacia ipolipemizzante del farmaco in termini di riduzione del colesterolo totale (34%), LDL (44%) e trigliceridi (27%) [47]. Ciò nonostante, la miglior efficacia nei pazienti E2 non si è rivelata significativa in un successivo studio svolto su 401 uomini e donne trattati con pravastatina (20 mg/die per 16 settimane). Questa indagine ha infatti mostrato che, quando vengono presi in considerazione altri fattori come indice di massa corporea, età o sesso, la diversità genotipica non è più associata alla variabilità nella risposta al farmaco [48].

#### Mutazioni del gene LDLR

Lo studio delle mutazioni del gene che codifica per il recettore delle LDL (LDLR) è particolarmente rilevante nell'ambito dell'ipercolesterolemia familiare (familial hypercholesterolemia, FH), poiché esse sono la principale causa dell'insorgenza di questa patologia ereditaria, clinicamente caratterizzata da elevati livelli di colesterolo LDL e da alto rischio di sviluppare una patologia coronarica in età precoce. Sono state individuate più di 1600 mutazioni nel gene LDLR, suddivise in cinque gruppi sulla base dei diversi effetti fenotipici che ne possono derivare:

- Classe I: sono solitamente mutazioni non senso, delezioni di lunghi tratti e mutazioni a livello del promotore che non portano alla sintesi di una proteina rilevabile.
- Classe II: sono mutazioni caratterizzate da alleli difettosi che portano a completo (IIa) o parziale (IIb) blocco del trasporto dei recettori LDL dal reticolo endoplasmatico all'apparato del Golgi durante la loro sintesi.
- Classe III: sono mutazioni che portano ad un legame difettoso delle LDL al recettore.

Un certo grado di variabilità nella risposta alle statine è stato osservato per mutazioni a carico del recettore per le LDL, il cui malfunzionamento aumenta i livelli di colesterolo LDL circolante, e di PCSK9, una proteina responsabile della degradazione del recettore, per cui mutazioni con guadagno di funzione riducono la quantità di recettori espressi a livello della membrana.

- Classe IV: sono mutazioni che portano ad una ridotta internalizzazione delle LDL dopo il legame con il recettore.
- Classe V: sono mutazioni che compromettono il riciclaggio dei recettori LDL in seguito all'endocitosi.

È noto che la variabilità inter-individuale nella risposta al trattamento ipolipemizzante è maggiore nei pazienti affetti da FH rispetto a quella osservata negli studi che prendono in considerazione la popolazione generale. A questo proposito sono stati condotti diversi studi con lo scopo di valutare l'associazione tra il tipo di mutazione del gene *LDLR* e la risposta al trattamento farmacologico ipolipemizzante. Santos ha valutato la risposta al trattamento farmacologico in 156 pazienti brasiliani affetti da ipercolesterolemia familiare, classificati in tre gruppi sulla base delle mutazioni presenti nel gene *LDLR*: mutazioni di classe I o IIa (gruppo 1); mutazioni di classe IIb, III, IV, V (gruppo 2); nessuna mutazione (gruppo 3) [49]. Sono stati osservati livelli basali più elevati di colesterolo totale e LDL nei soggetti del gruppo 1, rispetto a quelli appartenenti ai gruppi 2 e 3. Inoltre, dopo un anno di terapia, anche la percentuale dei pazienti del gruppo 1 che hanno raggiunto una concentrazione di colesterolo LDL <130 mg/dL era la più bassa.

Un ulteriore studio è stato svolto da Alonso su pazienti spagnoli al fine di valutare la correlazione tra il tipo di mutazione del gene LDLR e lo sviluppo di una patologia cardiovascolare prematura, ovvero un evento che si verifica prima dei 55 anni negli uomini e prima dei 65 nelle donne [50]. In questo caso è risultato che i pazienti recanti mutazioni di classe I e Ila avevano un rischio maggiore, ma non sono state rilevate differenze nei livelli di colesterolo LDL tra i pazienti recanti mutazioni differenti.

Nello studio di Miltiadous è stata valutata la risposta ad una terapia con atorvastatina per 12 settimane in 49 pazienti greci affetti da FH. I partecipanti sono stati suddivisi in due gruppi, a seconda che recassero nel gene LDLR la mutazione di classe V G1775A o una delle mutazioni di classe II G1646A e C858A [51]. È stato osservato che nei portatori della mutazione di classe V si ha una maggiore riduzione del colesterolo LDL rispetto ai soggetti portatori di una mutazione di classe II. Nel 2002 è stato svolto in Canada uno studio randomizzato in doppio cieco per valutare l'effetto terapeutico della simvastatina alla dose di 20 mg/die per 6 settimane, in relazione alle mutazioni del gene LDLR [52]. Sono stati selezionati 64 pazienti adolescenti con FH, di cui 47 trattati con il farmaco e 17 costituenti il gruppo placebo. Gli autori hanno rilevato livelli basali più elevati di colesterolo totale e LDL così come una maggiore efficacia terapeutica ipocolesterolemizzante nei pazienti con una mutazione del gene LDLR di classe I e IIa. Risultati praticamente opposti sono emersi, invece, da uno studio analogo condotto in Spagna nel 2001 su 55 pazienti trattati con 20 mg/die di simvastatina per 6 settimane. I soggetti con una mutazione di classe I o Ila hanno mostrato una minore riduzione del colesterolo LDL e nessuna differenza in termini di valori lipidici basali è stata rilevata tra i pazienti recanti mutazioni di classe diversa [53]. Infine, anche due studi svolti nel Regno Unito hanno dato risultati significativi. Nel primo sono stati arruolati 109 pazienti e trattati con 40 mg/die di simvastatina [54]. I soggetti portatori di una mutazione "severa" (classe I o IIa) mostravano una minore possibilità di raggiungere livelli di colesterolo LDL inferiori a 160 mg/dL, rispetto a coloro che presentavano mutazioni "lievi" del gene LDLR. Nel secondo studio, condotto su 42 pazienti affetti da FH, è stato osservato che i livelli di colesterolo LDL registrati sia al basale che in seguito alla terapia con simvastatina, erano più elevati nei pazienti che presentavano una mutazione severa del gene LDLR [55].

#### Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9

Le statine inducono l'espressione del fattore di trascrizione SREBP-2 (*Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2*), il quale attiva il gene (*Proprotein Convertase Subtilisin/ Kexin Type 9, PCSK9*) che a sua volta codifica per una proteina che regola (attraverso la degradazione) il numero di recettori LDL a livello della superficie cellulare. Poiché le statine inibiscono l'enzima HMG-CoA reduttasi e regolano indirettamente l'espressione dei recettori LDL aumentando la clearance del colesterolo LDL dal plasma, un polimorfismo del gene *PCSK9* potrebbe causare una variazione della risposta al trattamento con statine. A questo proposito, un primo studio è stato condotto da Berge [56]. Sono

stati genotipizzati 479 pazienti, dei quali 441 ipocolesterolemici e 38 ipercolesterolemici: nel primo gruppo 6 soggetti (16%) erano eterozigoti per un polimorfismo del gene *PCSK9* (R46L, G106R o R237W), mentre nel secondo nessun paziente era portatore di una mutazione. Confrontando i risultati ottenuti, i polimorfismi erano associati a ipocolesterolemia. Gli autori di questo studio hanno inoltre sottolineato l'importanza di classificare i polimorfismi del gene PCSK in base al fatto che determinino un guadagno o una perdita di funzionalità, poiché gli effetti sulla risposta terapeutica alle statine risultano opposti nei due casi. Dato che normalmente l'enzima PCSK9 ha il compito di degradare i recettori LDL epatici per regolarne la quantità, le mutazioni genetiche che riducono la funzionalità della proteina portano ad un aumento dei recettori e a conseguente ipocolesterolemia. Nel caso invece in cui la presenza di una mutazione porti ad un aumento dell'attività di degradazione dei recettori da parte dell'enzima, il risultato sarà l'ipercolesterolemia. In entrambi i casi ci si aspetta che la variabilità genetica influenzi l'efficacia delle statine.

#### Conclusioni

Le statine sono farmaci ampiamente prescritti e molto efficaci nel trattamento delle patologie cardiovascolari. Poiché esiste una grande variabilità nella risposta clinica ipolipemizzante, così come nell'incidenza delle reazioni avverse, sono stati svolti diversi studi farmacogenetici allo scopo di correlare la variabilità genetica alla risposta alle statine (**Tabella 1**). Dal momento che le statine sono metabolizzate principalmente a livello epatico dagli enzimi del citocromo P450, alcuni studi si sono focalizzati sulla ricerca di una relazione tra i numerosi polimorfismi genetici di queste proteine e l'efficacia delle statine. Le varianti del CYP3A4 A-290 G e M445T, così come l'allele CYP3A5\* 3 sono stati correlati a una alterata risposta ipolipemizzante e a alterati livelli di colesterolo LDL. Inoltre, i soggetti *poor metabolizers* per il gene *CYP2D6* hanno mostrato ridotto metabolismo di alcune statine e conseguenti livelli più bassi di colesterolo LDL.

 Tabella 1
 Effetti delle varianti genetiche associate alla risposta alle statine.

Gene	Mutazione / variante	Effetti	Risultati
CYP3A4	A290G M445T	Alterazione del metabolismo e della efficacia di atorvastatina	<ul> <li>La variante A290G causa ridotta risposta</li> <li>e più alti livelli di C-LDL</li> <li>La variante M445T mostra livelli più bassi di C-LDL</li> </ul>
CYP3A5	Allele CYP3A5*3	Ridotta espressione del CYP3A5 e alterazione dell'efficacia di alcune statine (lovastatina, simvastatina, atorvastatina)	L'allele CYP3A5*3 porta a maggiore riduzione del C-LDL rispetto all'allele CYP3A5*1
CYP2D6	CYP2D6 mut/mut	Alterazione del metabolismo e della efficacia di simvastatina	I PM portatori dell'allele mut/mut mostrano una maggior riduzione del C-LDL e una maggiore incidenza di effetti collaterali rispetto ai portatori del genotipo <i>wild type</i> (wt/wt)
SLC01B1	521T>C	Ridotto trasporto di simvastatina, atorvastatina, rosuvastatina e pravastatina	- Aumentata area sotto la curva (AUC) delle statine - Aumentato rischio di miopatia indotta da statine
SLCOIBI	Aplotipo 15 (521T>C e 388A>G)	Ridotto trasporto di varie statine	Aumentata AUC plasmatica delle statine
	3435C>T	Alterato efflusso di simvastatina e atorvastatina	Ridotta funzione e più elevati livelli di AUC delle statine nei portatori dei genotipi TTT rispetto ai non portatori
ABCB1	1236C>T 2677G>A/T	Alterato efflusso di simvastatina	<ul> <li>I portatori della variante 1236T mostrano maggiore riduzione del C-LDL.</li> <li>Risultati simili per i portatori della variante 2677A/T</li> </ul>
ABCG2	421C>A	Limitato assorbimento di rosuvastatina, atorvastatina e simvastatina	II polimorfismo 421AA mostra aumentata AUC delle statine rispetto al genotipo 421CC
APOE	E2, E3, E4	<ul> <li>Alterati livelli di HMG-CoA reduttasi</li> <li>Alterata risposta lipidica alle statine</li> <li>Ridotta incidenza di eventi CV</li> </ul>	<ul> <li>L'allele E4 è associato a minore riduzione del C-LDL.</li> <li>Livelli inferiori di C-LDL nei portatori dell'allele E2 rispetto ai non portatori</li> </ul>
CETP	Taq1B (genotipi B1B1, B1B2, B2B2)	<ul> <li>Variazioni nel trasferimento lipidico</li> <li>Elevati livelli di CETP e bassi livelli di C-HDL</li> <li>Ridotta incidenza di eventi CV</li> </ul>	<ul> <li>Il genotipo B1B1 è stato associato a ridotti livelli di C-HDL e ad aumentato rischio di patologia coronarica rispetto ai portatori del genotipo B2B2.</li> <li>Ridotta progressione dell'aterosclerosi nei portatori del genotipo B1B1 in terapia con statine rispetto ai portatori del genotipo B2B2</li> </ul>
HMGCR	SNP 12 SNP 29	Ridotta risposta alla terapia con statine	I portatori dello SNP 12 o delle SNP 29 mostrano una minore riduzione del colesterolo totale e LDL rispetto ai non portatori

Altri importanti geni associati a una variazione nella risposta ipolipemizzante alle statine sono l'HMGCR e l'APOE. In particolare molti studi hanno confermato l'impatto degli SNP 12 e 29 del gene HMGCR nell'alterare l'efficacia delle statine e lo stesso accade nel caso dei polimorfismi ApoE E2/E3/E4. Altri geni coinvolti sono SLCO1B1, CETP, ABCB1 e ABCG2 (BRCP). I sistemi di trasporto ABC e OATP sono coinvolti nell'assorbimento e nella distribuzione delle statine. Sono stati ampiamente studiati i polimorfismi del gene SLCO1B1 388A>G e 521T> e quest'ultimo in particolare era associato ad una riduzione del trasporto, con conseguente aumento di AUC di alcune statine. Inoltre alcuni studi hanno anche confermato un legame tra questo polimorfismo e l'aumentato rischio di miopatia indotta da statine. Per quanto riguarda il gene ABCB1 sono stati analizzati in modo più approfondito i polimorfismi 3435C>T e 1236C>T, mentre per quanto riguarda il gene ABCG2 alcuni autori hanno riportato una riduzione dell'attività di trasporto ed una aumento della AUC delle statine nei portatori del polimorfismo 421C>A. Infine alcuni studi hanno evidenziato che la variante Taq1B del gene CETP è associata ad una riduzione dei livelli plasmatici di colesterolo HDL e ad una variabilità nell'efficacia della terapia. Sono ancora poche le conoscenze sul contributo delle varianti di altri geni (GATM, LDLR, PCSK9).

#### **Bibliografia**

- [1] Maxwell WD, Ramsey LB, Johnson SG, et al. Impact of Pharmacogenetics on Efficacy and Safety of Statin Therapy for Dyslipidemia. Pharmacotherapy 2017: 37(9): 1172-1190.
- [2] Kitzmiller JP, Mikulik EB, Dauki AM, et al. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. Pharmacogenomics and personalized medicine 2016; 9: 97-106.
- [3] Bolego C, Baetta R, Bellosta S, et al. Safety considerations for statins. Current opinion in lipidology 2002V 13(6): 637-644.
- [4] Klein K, Thomas M, Winter S, et al., PPARA: a novel genetic determinant of CYP3A4 in vitro and in vivo. Clinical pharmacology and therapeutics 2012; 91(6): 1044-1052.
- [5] Wang D, Guo Y, Wrighton SA, et al. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. The pharmacogenomics journal 2011; 11(4): 274-286.
- [6] AIFA, Rapporto Osmed 2015 http://www.aifa.gov.it/content/luso-dei-farmaci-italia-rapporto-osmed-2015.
- [7] Tsamandouras N, Dickinson G, Guo Y, et al. Identification of the effect of multiple polymorphisms on the pharmacokinetics of simvastatin and simvastatin acid using a population-modeling approach. Clinical pharmacology and therapeutics 2014; 96(1): 90-100.
- [8] Kitzmiller JP, Luzum JA, Baldassarre D, et al. CYP3A4\*22 and CYP3A5\*3 are associated with increased levels of plasma simvastatin concentrations in the cholesterol and pharmacogenetics study cohort. Pharmacogenetics and genomics 2014; 24(10): 486-491.
- [9] Elens L, Becker ML, Haufroid V, et al. Novel CYP3A4 intron 6 single nucleotide polymorphism is associated with simvastatin-mediated cholesterol reduction in the Rotterdam Study. Pharmacogenetics and genomics 2011; 21(12): 861-866.
- [10] Ragia G, Kolovou V, Tavridou A, et al. No effect of CYP3A4 intron 6 C>T polymorphism (CYP3A4\*22) on lipid-lowering response to statins in Greek patients with primary hypercholesterolemia. Drug metabolism and personalized therapy 2015; 30(1): 43-48.
- [11] Ball SE, Scatina J, Kao J, et al. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promoter region of CYP3A4. Clinical pharmacology and therapeutics 1999; 66(3): 288-294.
- [12] Rosales A, Alvear M, Cuevas A, et al. Identification of pharmacogenetic predictors of lipid-lowering response to atorvastatin in Chilean subjects with hypercholesterolemia. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 2012; 413(3-4): 495-501.
- [13] Gao Y, Zhang LR, Fu Q, CYP3A4\*1G polymorphism is associated with lipid-lowering efficacy of atorvastatin but not of simvastatin. European journal of clinical pharmacology 2008; 64(9): 877-882.
- [14] Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al., Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. Nature genetics 2001; 27(4): 383-391.
- [15] Kivisto KT, Niemi M, Schaeffeler E, et al. Lipid-lowering response to statins is affected by CYP3A5 polymorphism. Pharmacogenetics 2004; 14(8): 523-525.
- [16] Mulder AB, van Lijf HJ, Bon MA, et al. Association of polymorphism in the cytochrome CYP2D6 and the efficacy and tolerability of simvastatin. Clinical pharmacology and therapeutics 2001; 70(6): 546-551.
- [17] Zuccaro P, Mombelli G, Calabresi L, et al. Tolerability of statins is not linked to CYP450 polymorphisms, but reduced CYP2D6 metabolism improves cholesteraemic response to simvastatin and fluvastatin. Pharmacological research 2007; 55(4): 310-317.
- [18] Scordo MG, Aklillu E, Yasar U, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a Caucasian and a black African population. British journal of clinical pharmacology 2001; 52(4): 447-450.
- [19] Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, et al. Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. Clinical pharmacology and therapeutics 2003; 74(2): 186-194.
- [20] Buzkova H, Pechandova K, Danzig V, et al. Lipid-lowering effect of fluvastatin in relation to cytochrome P450 2C9 variant alleles frequently distributed in the Czech population. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research 2012; 18(8): CR512-517.
- [21] Mwinyi J, Johne A, Bauer S, et al. Evidence for inverse effects of OATP-C (SLC21A6) 5 and 1b haplotypes on pravastatin kinetics. Clinical pharmacology and therapeutics 2004; 75(5): 415-421.
- [22] Niemi M, Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. Clinical pharmacology and therapeutics 2010; 87(1): 130-133.
- [23] Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, et al. Different effects of SLC01B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. Clinical pharmacology and therapeutics 2007, 82(6): 726-733.
- [24] Group SC, Link E, Parish S, et al. SLC01B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. The New England journal of medicine 2008; 359(8): 789-799.

18 M. Casula, J. Cocchiarella

[25] Voora D, Koboldt DC, King CR, et al. A polymorphism in the VKORC1 regulator calumenin predicts higher warfarin dose requirements in African Americans. Clinical pharmacology and therapeutics 2010; 87(4): 445-451.

- [26] Luzum JA, Kitzmiller JP, Isackson PJ, et al. GATM polymorphism associated with the risk for statin-induced myopathy does not replicate in case-control analysis of 715 dyslipidemic individuals. Cell metabolism 2015; 21(4): 622-627.
- [27] Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, et al. Polymorphisms in the multidrug resistance-1 (MDR1) gene influence the response to atorvastatin treatment in a gender-specific manner. The American journal of cardiology 2004; 93(8): 1046-1050.
- [28] Wang D, Johnson AD, Papp AC, et al. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. Pharmacogenetics and genomics 2005; 15(10): 693-704.
- [29] Fiegenbaum M, da Silveira FR, Van der Sand CR, et al. The role of common variants of ABCB1, CYP3A4, and CYP3A5 genes in lipid-lowering efficacy and safety of simvastatin treatment. Clinical pharmacology and therapeutics 2005; 78(5): 551-558.
- [30] Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvoneni PJ, et al. ABCB1 haplotypes differentially affect the pharmacokinetics of the acid and lactone forms of simvastatin and atorvastatin. Clinical pharmacology and therapeutics 2008; 84(4): 457-461.
- [31] Robey RW, To KK, Polgar O, et al. ABCG2: a perspective. Advanced drug delivery reviews 2009; 61(1): 3-13.
- [32] Tomlinson B, Hu M, Lee VW, et al. ABCG2 polymorphism is associated with the low-density lipoprotein cholesterol response to rosuvastatin. Clinical pharmacology and therapeutics 2010; 87(5): 558-562.
- [33] Zhang W, Yu BN, He YJ, et al. Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 2006; 373(1-2): 99-103.
- [34] Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, et al. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. Clinical pharmacology and therapeutics 2009; 86(2): 197-203.
- [35] Chasman DI, Posada D, Subrahmanyan L, et al. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. Jama 2004; 291(23): 2821-2827.
- [36] Donnelly LA, Doney AS, Dannfald J, et al. A paucimorphic variant in the HMG-CoA reductase gene is associated with lipid-lowering response to statin treatment in diabetes: a GoDARTS study. Pharmacogenetics and genomics 2008; 18(12): 1021-1026.
- [37] Krauss RM, Mangravite LM, Smith JD, et al. Variation in the 3-hydroxyl-3-methylglutaryl coenzyme a reductase gene is associated with racial differences in low-density lipoprotein cholesterol response to simvastatin treatment. Circulation 2008; 117(12): 1537-1544.
- [38] Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. The New England journal of medicine 1998; 338(2):
- [39] Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction. European heart journal 2008; 29(22): 2792-2799.
- [40] van Venrooij FV, Stolk RP, Banga JD, et al. Common cholesteryl ester transfer protein gene polymorphisms and the effect of atorvastatin therapy in type 2 diabetes. Diabetes care 2003; 26(4): 1216-1223.
- [41] Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, et al. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardio-vascular risk, and efficacy of pravastatin treatment: individual patient meta-analysis of 13,677 subjects. Circulation 2005; 111(3): 278-287.
- [42] Papp AC, Pinsonneault JK, Wang D, et al. Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) polymorphisms affect mRNA splicing, HDL levels, and sex-dependent cardiovascular risk. PloS one 2012; 7(3): e31930.
- [43] Huang Y, Mechanisms linking apolipoprotein E isoforms with cardiovascular and neurological diseases. Current opinion in lipidology 2010; 21(4): 337-345.
- [44] Volcik KA, Barkley RA, Hutchinson RG, et al., Apolipoprotein E polymorphisms predict low density lipoprotein cholesterol levels and carotid artery wall thickness but not incident coronary heart disease in 12,491 ARIC study participants. American journal of epidemiology 2006; 164(4): 342-348
- [45] Ordovas JM, Mooser V, The APOE locus and the pharmacogenetics of lipid response. Current opinion in lipidology 2002; 13(2): 113-117.
- [46] Ballantyne CM, Herd JA, Stein EA, et al. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression-regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering drug therapy. Journal of the American College of Cardiology 2000; 36(5): 1572-1578.
- [47] Pedro-Botet J, Schaefer EJ, Bakker-Arkema RG, et al. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. Atherosclerosis 2001; 158(1): 183-193.
- [48] Pena R, Lahoz C, Mostaza JM, et al. Effect of apoE genotype on the hypolipidaemic response to pravastatin in an outpatient setting. Journal of internal medicine 2002; 251(6): 518-525.
- [49] Santos RD and Maranhao RC, What is new in familial hypercholesterolemia? Current opinion in lipidology 2014; 25(3): 183-188.
- [50] Alonso R, Mata N, Castillo S, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. Atherosclerosis 2008; 200(2): 315-321.
- [51] Miltiadous G, Xenophontos S, Bairaktari E, et al. Genetic and environmental factors affecting the response to statin therapy in patients with molecularly defined familial hypercholesterolaemia. Pharmacogenetics and genomics 2005; 15(4): 219-225.
- [52] Vohl MC, Szots F, Lelievre M, et al. Influence of LDL receptor gene mutation and apo E polymorphism on lipoprotein response to simvastatin treatment among adolescents with heterozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis 2002; 160(2): 361-368.
- [53] Chaves FJ, Real JT, Garcia-Garcia AB, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia in a South European outbreed population: influence of low-density lipoprotein (LDL) receptor gene mutations on treatment response to simvastatin in total, LDL, and high-density lipoprotein cholesterol. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 2001; 86(10): 4926-4932.
- [54] Heath KE, Gudnason V, Humphries SE, et al. The type of mutation in the low density lipoprotein receptor gene influences the cholesterol-low-ering response of the HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. Atherosclerosis 1999; 143(1): 41-54.
- [55] Sun XM, Patel DD, Knight BL, et al. Influence of genotype at the low density lipoprotein (LDL) receptor gene locus on the clinical phenotype and response to lipid-lowering drug therapy in heterozygous familial hypercholesterolaemia. The Familial Hypercholesterolaemia Regression Study Group. Atherosclerosis 1998; 136(1): 175-185.
- [56] Berge KE, Ose L and Leren TP, Missense mutations in the PCSK9 gene are associated with hypocholesterolemia and possibly increased response to statin therapy. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 2006; 26(5): 1094-1100.

#### SELEZIONE DALLA LETTERATURA

#### Elena Tragni, Manuela Casula

Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Università degli Studi di Milano

#### Epidemiologia, caratteristiche del paziente e consumo di risorse sanitarie per l'epatite C in Italia

### EPIDEMIOLOGY, PATIENT PROFILE, AND HEALTH CARE RESOURCE USE FOR HEPATITIS C IN ITALY

Sangiorgi D, Perrone V, Buda S, et al. Clinicoecon Outcomes Res 2017; 9: 609–616

#### RIASSUNTO

#### Introduzione

L'epatite C è una malattia infettiva causata dal virus dell'epatite C (HCV) ed è una delle principali cause globali di morte e morbilità. Attualmente per la popolazione italiana sono disponibili poche informazioni sull'epidemiologia delle infezioni da HCV. Secondo lo studio condotto dal Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie (ECDC), l'Italia ha il più alto numero di soggetti HCV-positivi in Europa e il più alto tasso di mortalità da HCV e cirrosi.

Le terapie disponibili per il trattamento dell'HCV sono cambiate notevolmente negli ultimi 5 anni e hanno, inoltre, completamente cambiato il panorama della patologia. In Italia fino alla metà del 2013, interferone peghilato (peg-IFN) alfa in combinazione con ribavirina (RBV) era l'unica opzione di trattamento per l'infezione cronica da HCV. Nell'aprile del 2013 è diventata disponibile in Italia la prima generazione di farmaci antivirali ad azione diretta (DAA), ovvero due inibitori della proteasi (PI) (boceprevir e telaprevir) per la gestione dell'HCV in combinazione con peg-IFN-alfa e RBV. Più recentemente, nel 2016 in Europa, sono stati autorizzati molti nuovi farmaci DAA usati in terapie combinate per la gestione dell'HCV (come sofosbuvir, simeprevir, daclatasvir, ombitasvir, paritaprevir, ledipasvir); come riportato nel riassunto delle caratteristiche del prodotto (RCP), con questi farmaci sono stati ottenuti tassi di guarigione superiori al 90%.

Nonostante la forte raccomandazione per il trattamento di quasi tutti i pazienti con infezione da HCV, una grande percentuale di individui infetti rimane non diagnosticata e quindi non trattata per un lungo periodo di tempo, essendo così esposta a rischio di malattia epatica avanzata. In Italia, la gestione dell'infezione da HCV genera un onere economico considerevole per il Servizio Sanitario Nazionale (NHS). Inoltre, l'utilizzo complessivo delle risorse sanitarie associato all'HCV tende ad aumentare in corrispondenza di stati patologici avanzati (cirrosi compensata, cirrosi scompensata e carcinoma epatocellulare).

#### Metodi

È stato condotto uno studio retrospettivo utilizzando database amministrativi di sei ASL italiane. Per l'analisi sono stati inclusi tutti i pazienti con un record correlato all'HCV durante il periodo di arruolamento (dall'1 luglio 2009 al 31 dicembre 2014), che disponevano di almeno 6 mesi di dati disponibili precedenti al primo record correlato all'HCV. La data dell'identificazione del primo record correlato all'HCV durante il periodo di arruolamento è stata considerata come proxy della diagnosi e utilizzata come data indice. I pazienti sono stati seguiti dalla data indice fino a 1 anno, alla morte o all'uscita dal database. Utilizzando la coorte complessiva dei pazienti adulti con HCV come numeratore, è stata stimata la prevalenza dell'HCV tra le sei ASL. I denominatori sono stati ottenuti dall'Istituto Nazionale di Statistica (totale 1.665.682). Sono state valutate anche le caratteristiche descrittive dei pazienti e i loro pattern di trattamento, e sono stati stimati i tassi di consumo per assistenza sanitaria e i relativi costi per la gestione dell'HCV.

#### Risultati

Durante il periodo di arruolamento (2009-2014), sono stati identificati 7550 pazienti con una diagnosi di HCV (età media di 57,6 ± 16,4 anni; 57% maschi). La prevalenza stimata di HCV nella popolazione dello studio era dello 0,45% (IC 95% 0,44-0,46). La distribuzione geografica della prevalenza dell'HCV tra le tre macro aree studiate era 0,26% nel Nord Italia, 0,49% nel Centro Italia e 0,51% nel Sud Italia. La prevalenza di HCV all'arruolamento nello studio era più elevata nei maschi (0,53%; 0,51-0,55) che nelle femmine (0,38%; 0,37-0,39). I valori più elevati riguardavano gli individui di mezza età e gli anziani (0,56%; 0,54-0,58 e 0,67%; 0,65-0,70 rispettivamente nel gruppo di età 50-60 e 70+). Tra i soggetti di età compresa tra i 18-29 e i 30-49 anni, la prevalenza era rispettivamente pari allo 0,13% (0,12-0,14) e allo 0,39% (0,37-0,41). La maggior parte dei pazienti con HCV (n=5934, il 78,6% di tutti i pazienti inclusi) non hanno ricevuto alcun trattamento antivirale durante il follow-up. Tra i pazienti trattati (n=1616, il 21,4% di tutti i soggetti inclusi), 1556 pazienti sono stati trattati con peg-IFN (con o senza RBV) e 30 pazienti hanno ricevuto PI. Le prescrizioni per entrambi i trattamenti (peg-IFN o PI) hanno interessato il 2% dei pazienti trattati. La spesa annuale complessiva per la gestione dell'HCV è stata pari a € 6022,7 (±7922,6) per paziente, di cui € 2149,0 (±5201,9) per il trattamento farmacologico, € 2343,4 (±5626,6) per i ricoveri ospedalieri e € 1062,1 (±1757,9) per le prestazioni specialistiche ambulatoriali. Il costo medio annuo dell'assistenza dovuta all'epatite C è stato di € 3154,6 (±4972,0) per paziente.

20 E. Tragni, M. Casula

#### Discussione

L'analisi qui presentata ha stimato che la prevalenza dell'infezione da HCV diagnosticata tra lei sei ASL italiane negli anni 2009-2014, è stata dello 0,45/1.665.682 individui assistiti. Tale valore è sicuramento sottostimato perché questa infezione è per lo più asintomatica nella fase acuta. In questa valutazione relativa alla real-life, il 78,6% delle persone con infezione diagnosticata da HCV non ha ricevuto un trattamento antivirale. Una percentuale così elevata di pazienti non trattati potrebbe essere spiegata dagli eventi avversi severi attesi e dalla scarsa gestibilità delle terapie disponibili al momento dello studio, nonché dal fatto che i medici e i pazienti, al tempo dello studio, stavano aspettando l'arrivo nel mercato italiano degli antivirali di nuova generazione. Ad ogni modo, questi risultati sono coerenti con quelli di altri studi italiani trovati in letteratura fino ad ora. Un recente studio italiano retrospettivo ha rivelato che i pazienti che non hanno ricevuto trattamenti per l'HCV hanno mostrato un tasso più alto di progressione della malattia rispetto ai pazienti sottoposti ad un trattamento. I risultati della presente analisi hanno anche dimostrato che i pazienti che non hanno ricevuto alcun trattamento hanno determinato un maggior consumo di risorse sanitarie, soprattutto in termini di ospedalizzazioni. Tuttavia, il vero carico economico della malattia non è ben noto in molti Paesi, sia perché la capacità di raccolta di dati epidemiologici è limitata sia perchè le fonti non riportano alcuna informazione sui costi effettivi sostenuti dai pazienti con HCV. In Italia l'impatto economico della malattia rimane elevato, nonostante la prevalenza attuale di HCV sia bassa. Studi futuri dovrebbero concentrarsi su un numero maggiore di ASL e coprire un periodo di follow-up più lungo per garantire la rappresentatività nazionale ed includere i trattamenti per l'HCV recentemente immessi nel mercato.

## Gestione della politerapia: situazione corrente e prospettive future

### CURRENT AND FUTURE PERSPECTIVES ON THE MANAGEMENT OF POLYPHARMACY

Molokhia M, Majeed A BMC Family Practice 2017; 18:70

#### **RIASSUNTO**

#### Introduzione

La polifarmacia è l'uso concomitante di più farmaci da parte di un individuo. Sta diventando sempre più comune man mano che la popolazione invecchia, il numero di persone con condizioni patologiche a lungo termine aumenta e i medici subiscono una crescente pressione per seguire le linee guida basate sull'evidenza per la gestione delle malattie croniche. Non esiste una definizione standard di polifarmacia. Sebbene molti studi su questo argomento riportino semplicemente un conteggio del numero di farmaci prescritti, si tratta di una misura approssimativa. Ad esempio, la definizione di polifarmacia basata semplicemente sul numero di farmaci che un paziente sta assumendo non tiene conto dei benefici che i pazienti possono ricevere da questi medicinali. Quindi, un numero di farmaci che poteva essere considerato elevato qualche decennio fa potrebbe non essere più tale ai nostri giorni.

#### Rischi associati a polifarmacia

Tassi più elevati di prescrizione sono associati a tassi più alti di prescrizioni potenzialmente pericolose e di eventi avversi. Lo studio PRACtICe ha riportato che il 30% e il 47% dei pazienti che ricevevano rispettivamente ≥5 o ≥10 farmaci avevano più probabilità di ricevere farmaci non appropriati o di non essere correttamente monitorati nel periodo di studio di 12 mesi. Dopo aver aggiustato per altri fattori, ogni ulteriore farmaco aumentava il rischio di incorrere in un errore del 16%. Il fattore maggiormente associato ad una prescrizione ad alto rischio era proprio il numero di farmaci prescritti: i pazienti con più di 10 farmaci mostravano un aumento di quasi 3 volte nelle prescrizioni ad alto rischio rispetto a quelli che assumevano 1 o 2 farmaci.

#### Identificazione dei pazienti con polifarmacia

Duerden e Avery (2013) hanno delineato un approccio pragmatico per classificare i pazienti con polifarmacia e identificare i pazienti "a rischio" utilizzando una combinazione delle caratteristiche del paziente e del numero di farmaci prescritti. Gli autori raccomandano di concentrarsi sui pazienti che assumono 10 o più farmaci, oppure sui pazienti che assumono 5-9 farmaci e che hanno altri fattori di rischio, come una comorbilità importante (ad esempio, diabete o artrite reumatoide), hanno avuto precedenti reazioni avverse da farmaco (ADR) o appartengono a un gruppo vulnerabile (ad esempio, persone che vivono in case di cura o con difficoltà di apprendi-

Selezione dalla letteratura 21

mento). Un altro studio britannico (2004) ha riportato che i tre farmaci più comunemente correlati ad ADR che determinano ricovero in ospedale erano antinfiammatori non steroidei, diuretici e warfarin.

Il rapido sviluppo, l'implementazione e l'uso di cartelle cliniche elettroniche nell'assistenza primaria semplifica enormemente il processo di individuazione dei pazienti con polifarmacia. Ciò può consentire ai medici di identificare gruppi ad alto rischio che potrebbero trarre beneficio dalla *medication review* e dal monitoraggio più attento delle prescrizioni. In futuro, il collegamento dei registri delle cure primarie con i registri delle ospedalizzazioni potrà ulteriormente migliorare questo processo, consentendo l'identificazione delle persone che hanno avuto un ricovero in acuto per una ADR o per una interazione farmacologica.

Gestione della polifarmacia in pazienti con multimorbilità Nel 2016, il National Institute for Health and Care Excellence britannico ha pubblicato indicazioni sulla valutazione clinica e sulla gestione dei pazienti con multimorbilità (definita come la presenza di due o più morbilità croniche). La guida NICE raccomanda ai medici di prendere in considerazione le evidenze di probabili benefici e danni per il singolo paziente e gli outcome rilevanti per il paziente. Ciò potrebbe essere realizzato ad esempio attraverso l'uso di uno strumento di screening (come i criteri STOPP/START nelle persone anziane) per identificare problemi di sicurezza legati ai farmaci e individuare altri farmaci da cui la persona potrebbe trarre beneficio ma che attualmente non sta assumendo. Viene inoltre sottolineata l'importanza di rivedere i pazienti per monitorare gli effetti di eventuali modifiche apportate alla prescrizione, che includerebbe la necessità di valutare se sono necessarie ulteriori modifiche ai trattamenti (incluso il riavvio di una terapia). La rilevanza del processo decisionale condiviso è anche una parte fondamentale di questa guida; ciò è particolarmente importante nelle persone con fragilità o aspettativa di vita limitata che hanno meno possibilità di beneficiare degli interven-

#### Ottimizzazione dell'uso dei farmaci

ti farmacologici.

Considerate le conseguenze derivanti dalla polifarmacia, il miglioramento dell'uso dei medicinali e la riduzione dei rischi derivanti da prescrizioni inappropriate o non sicure dovrebbero essere una priorità per i sistemi sanitari. Tutti i prescrittori devono considerare attentamente i potenziali costi e i benefici del trattamento prima di iniziare un farmaco ed essere consapevoli dei rischi di sovra-trattamento, interazioni farmacologiche e ADR. Fino a poco tempo fa, i sistemi sanitari e le società scientifiche professionali si concentravano sulle predisposizioni di linee guida per le singole malattie; solo attualmente si possono osservare progressi nello sviluppo di linee guida per la gestione dei pazienti con multimorbilità. Anche gli strumenti per promuovere il processo decisionale condiviso da medici e pazienti sono relativamente nuovi.

I medici prescrittori devono inoltre disporre di sistemi per monitorare le prescrizioni e rivedere regolarmente i pazienti. L'uso di cartelle cliniche elettroniche può facilitare questo monitoraggio, così come il supporto di altri gruppi professionali quali farmacisti, infermieri specializzati e assistenti medici.

#### Riconciliazione terapeutica

Un altro settore chiave della polifarmacia è la "riconciliazione terapeutica"; essa garantisce che quando i pazienti vengono dimessi dall'ospedale, in particolare dopo un ricovero in acuto, siano predisposti sistemi per comunicare rapidamente ai medici di medicina generale eventuali cambiamenti nei farmaci e per quali motivi questi cambiamenti hanno avuto luogo. Evidenze precedenti hanno dimostrato che i riepiloghi compilati dai medici alle dimissioni sono spesso imprecisi o privi di informazioni chiave. Questa area necessita quindi una più efficace collaborazione tra la medicina primaria e quella secondaria per sviluppare politiche di dimissione più sicure e ridurre il rischio di medication error. Una metanalisi sulla riconciliazione terapeutica (2016) ha mostrato che questa attività può ridurre gli accessi al pronto soccorso e i ricoveri correlati a eventi avversi da farmaci.

Un altro passo fondamentale nella riduzione dei rischi derivanti dalla polifarmacia è il miglioramento del processo di dimissione per i pazienti. Questo includerebbe:

- garantire che le modalità di dimissione siano discusse con pazienti, familiari e accompagnatori e che venga loro fornita una copia del riepilogo medico;
- coordinare in modo adeguato ospedale, servizi sanitari della comunità, medicina generale e i fornitori di servizi di assistenza sociale;
- mettere in atto un follow-up dopo la dimissione di pazienti ad alto rischio di complicanze o riammissione
   - di persona o per telefono per garantire che le raccomandazioni date alla dimissione funzionino correttamente:
- eseguire la riconciliazione terapeutica, cioè il processo di verifica degli elenchi dei farmaci dei pazienti in un preciso momento di una transizione delle cure sanitarie (come il ricovero o la dimissione ospedaliera) per identificare quali farmaci sono stati aggiunti, sospesi o modificati rispetto alle liste dei farmaci pre-ammissione;
- garantire che tutti i risultati degli esami post-dimissione siano trasmessi al medico di medicina generale ed assicurare che vi siano disposizioni chiare per l'esecuzione e l'attuazione di eventuali esami proposti dopo il ricovero.

#### Il coinvolgimento dei pazienti

Una componente chiave per affrontare i rischi associati alla polifarmacia è garantire che il paziente sia pienamente coinvolto nella decisione di iniziare un nuovo farmaco; inoltre, monitorando l'uso dei farmaci assunti è possibile far raggiungere al paziente un'adeguata aderenza al regime terapeutico prescritto. Si dovrebbe pre-

22 E. Tragni, M. Casula

vedere un incontro con il paziente per illustrare quali rischi e quali benefici comportano i farmaci prescritti, l'importanza di sottoporsi a una *medication review* periodica e di segnalare prontamente eventuali eventi avversi, e quali sistemi di 'promemoria' il paziente può utilizzare (scatole apposite per farmaci per assicurarsi che l'assunzione avvenga al momento e al dosaggio giusti oppure uso di polipillole che consentono ai pazienti di assumere una sola compressa invece che un numero superiore).

Tuttavia dare troppe informazioni ai pazienti potrebbe causare effetti negativi: i pazienti, cioè, potrebbero essere scoraggiati dall'assumere un farmaco a causa delle preoccupazioni sui suoi effetti indesiderati. Strumenti per promuovere il processo decisionale condiviso possono aiutare a superare tali preoccupazioni e migliorare l'aderenza dei pazienti al piano di gestione terapeutica proposto, fornendo informazioni sul profilo rischio-beneficio dei farmaci in un formato che i pazienti possono comprendere più facilmente.

Un altro ambito in cui il processo decisionale condiviso può essere di aiuto è quello del deprescribing, che comporta la riduzione graduale programmata e controllata del dosaggio di farmaci inappropriati o la loro cessazione. Il deprescribing è particolarmente importante nei pazienti fragili, anziani o in pazienti con un'aspettativa di vita limitata in cui è diffuso l'uso inappropriato dei farmaci e che sono ad alto rischio di ADR, ospedalizzazione e morte. L'ottimizzazione dei farmaci in questi gruppi di pazienti può essere difficile, ma può produrre notevoli benefici, sia per i pazienti che per i sistemi sanitari. Un processo di deprescribing incentrato sul paziente potrebbe prevedere l'anamnesi farmacologica completa, l'identificazione di farmaci potenzialmente inappropriati, la determinazione dell'interruzione dei farmaci potenzialmente inappropriati e la pianificazione del processo di sospensione, compresi monitoraggio, supporto e documentazione.

## Farmacogenomica delle reazioni avverse off-target

#### PHARMACOGENOMICS OF OFF-TARGET ADVERSE DRUG REACTIONS

Garon SL, Pavlos RK, White KD, et al. Br J Clin Pharmacol 2017; 83:1896-1911

#### **RIASSUNTO**

#### Introduzione

La reazione avversa da farmaco (adverse drug reaction, ADR) è stata definita come una risposta non voluta ad un farmaco che si verifica a dosi standard utilizzate nel trattamento o nella prevenzione di una specifica malattia. Nel 1977, Rawlins e Thompson hanno classificato le ADR in due tipi principali: tipo A e tipo B. Le reazioni di tipo A sono comuni (>1% dei pazienti che assumono il farmaco) e hanno effetti collaterali farmacologici prevedibili che sono dose dipendenti. Le reazioni di tipo B sono generalmente non comuni (<1% dei pazienti che assumono il farmaco) e sono imprevedibili sulla base dell'azione farmacologica nota del farmaco. Queste reazioni possono essere immunologico-mediate direttamente in maniera dose-dipendente o indipendente, oppure correlate ad un'interazione off-target con un recettore farmacologico o a un meccanismo non ancora noto.

Molto è stato scoperto sui meccanismi di ADR negli ultimi 15 anni, in particolare il fatto che i fattori relativi al soggetto (ad esempio la farmacogenomica) e quelli ambientali sono strettamente correlati ed entrambi contribuiscono al rischio di ADR. Pertanto, è ora possibile costruire una classificazione che differenzi le ADR in base al fatto che siano correlate ad effetti farmacologici primari *on-target* o mediate da effetti *off-target* su recettori distanti. Infatti, sia il tipo A (un tipo di reazione *on-target*) che il tipo B (*off-target*) possono dipendere dalla dose e da fattori genetici, e recenti scoperte hanno chiarito che reazioni *on-target* e *off-target* possono, allo stesso modo, essere prevedibili sulla base dei fattori di rischio relativi al soggetto (farmacogenomica) e ambientali.

Le ADR immuno-mediate (IM) sono considerate reazioni off-target e comprendono meno del 20% di tutte le ADR. Queste reazioni sono state ulteriormente classificate da Gell e Coombs, includendo reazioni di tipo I-III, che sono anticorpo-dipendenti (con o senza il coinvolgimento delle cellule-T) e reazioni di tipo IV, che sono reazioni ritardate, unicamente mediate dalle cellule-T. Le reazioni di tipo I sono reazioni immediate, IgE-mediate, che si verificano di solito entro 1 ora dalla somministrazione del farmaco e che causano principalmente orticaria, angioedema, broncospasmo, prurito e anafilassi. L'allergia alla penicillina è un esempio di ADR di tipo I comunemente osservata nella pratica clinica. Le reazioni di tipo IV sono mediate da linfociti-T reattivi ai farmaci e includono fenotipi clinici che vanno dall'esantema maculopapulare a reazioni avverse cutanee gravi (severe cutaneous adverse Selezione dalla letteratura 23

reactions. SCAR) come sindrome di Stevens-Johnson/ necrolisi epidermica tossica (SJS/TEN), pustolosi esantematica generalizzata acuta e reazione ai farmaci con eosinofilia e sintomi sistemici (DRESS). Le patologie che coinvolgono un singolo organo, come malattie epatiche indotte da farmaci (drug-induced liver disease, DILI), pancreatite indotta da farmaci e agranulocitosi indotta da farmaci, comprendono anche reazioni immuno-mediate, come evidenziato dalle forti associazioni con antigeni leucocitari umani (HLA). Tuttavia, particolarmente rilevante per DILI, anche i meccanismi tossici possono svolgere un ruolo significativo. Le statine causano una miopatia infiammatoria dose-dipendente che è più comune per le statine metabolizzate dal citocromo P450 (CYP) 3A4 e nei pazienti con inibizione dell'enzima. Il trattamento con statine riduce l'ubichinone nel muscolo scheletrico e diminuisce la fosforilazione ossidativa mitocondriale, che potrebbe assumere un ruolo nella patogenesi. Il polipeptide trasportatore dell'anione organico 1B1 (OATP1B1), codificato dal gene SLCO1B1 (solute carrier transporter 1B1), è coinvolto nell'assorbimento epatico della maggior parte delle statine. Una variante comune in questo gene aumenta il rischio di miopatia da simvastatina. Raramente si può verificare una miopatia autoimmune con statine, evidenziata da autoanticorpi contro la 3-idrossi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) riduttasi e da necrosi del miocita con la biopsia. HLA-DRB1\*11:01 è associato a miopatia autoimmune da statine e allo sviluppo di anticorpi contro HMG-CoA reduttasi, anche in soggetti senza malattia clinica. La sindrome di ipersensibilità da abacavir (ABC) e la SJS/ TEN indotta da carbamazepina (CBZ) sono le ADR mediate da cellule-T CD8+ più caratteristiche e hanno associazioni HLA significative. Oltre a queste IM-ADR che utilizzano il sistema immunitario adattivo e variano in relazione alla longevità della memoria immunologica, esiste un'entità separata di reazioni off-target che vengono definite "pseudo-allergiche" poiché condividono alcune caratteristiche cliniche con la reazione allergica di tipo I mediata, che causa orticaria o prurito, ad esempio attraverso meccanismi di attivazione dei mastociti non IgE-mediata.

#### Reazioni prive di memoria immunologica

Le reazioni con una componente farmacologica o immunologica off-target possono presentarsi clinicamente come orticaria, angioedema e sintomi respiratori classicamente associati a risposte immunitarie adattative. Tuttavia, queste reazioni non sono mediate da un meccanismo immunologico adattativo primario, non sono associate a una memoria immunologica di lunga durata e mancano delle caratteristiche cliniche classiche attribuite alle ADR associate alla memoria immunologica. In molti casi, l'interazione primaria è tra il farmaco e un recettore farmacologico.

La malattia respiratoria esacerbata da aspirina (AERD) è caratterizzata da asma e rinosinusite cronica con poliposi nasale, che è aggravata dall'esposizione a farmaci anti-

infiammatori non steroidei (FANS), tra cui aspirina e altri inibitori non selettivi della ciclo-ossigenasi (COX). Sono stati esaminati i predittori genetici di queste reazioni ad aspirina e, in senso più ampio, ai FANS: appartengono alla via dell'acido arachidonico, alla famiglia di geni di membrana 4A, al processo di produzione dell'istamina e alle citochine proinfiammatorie. Inoltre, recenti studi di GWAS (genome-wide association studies) hanno identificato i geni che codificano per la proteina centrosomica 68 (CEP68) e il gene HLA-DPB1 come i più forti candidati associati all'AERD.

Inoltre, aspirina e gli altri farmaci antinfiammatori non steroidei sono noti per causare ipersensibilità cutanee, tra cui orticaria/angioedema (come forma di orticaria cronica) esacerbati da FANS e orticaria/angioedema isolati o cross-reattivi indotti da FANS. I geni *HLA* (HLA-DRB1\*11, HLA-B44, HLA-Cw5) e i geni coinvolti nella via dell'acido arachidonico sono stati identificati come predittori di queste reazioni dermatologiche immunomediate ai FANS.

#### Reazioni che implicano memoria immunologica

Le reazioni immediate (<1 ora dopo la somministrazione del farmaco) e quelle a breve termine (<6 ore dopo la somministrazione del farmaco) sembrano utilizzare le vie IgE-dipendenti, mentre le reazioni accelerate che si verificano tra 6-72 ore dopo la somministrazione del farmaco hanno più probabilità di essere mediate da cellule-T o non IgE-mediate. La maggior parte degli studi genetici si è concentrata sull'ipersensibilità immediata ai farmaci beta-lattamici, ad aspirina o ai FANS. Un piccolo numero di GWAS ha esaminato le ADR associate agli antibiotici, ma ad oggi non sono emerse associazioni significative. Tuttavia, per le reazioni immediate ai beta-lattamici, la più forte associazione appare con geni HLA di classe II che presentano l'antigene, citochine (IL4, IL13, IL18, IL10) e recettore delle citochine (IL4R), e produzione e rilascio di mediatori preformati. Ci sono stati studi genomici limitati che hanno esaminato l'ipersensibilità immediata al di fuori degli antibiotici e degli agenti antiinfiammatori.

Le IM-ADR ritardate sono guidate da un'inappropriata attivazione delle cellule-T. Le proteine chiave che mediano queste risposte immunitarie si pensa siano principalmente molecole HLA codificate all'interno del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) sul cromosoma 6. I geni del MHC sono i più polimorfici, con >5000 varianti alleliche, di cui >2500 sul solo gene HLA-B. Identificare la vera entità di ipersensibilità ai farmaci fenotipici con specificità risulta essere la chiave per identificare i marcatori farmacogenomici associati a queste sindromi. L'esempio ABC ha fornito una tabella di marcia traslazionale dal percorso di scoperta di un'associazione farmacogenetica all'attuazione clinica nell'assistenza clinica di routine e alla prevenzione della tossicità del farmaco. Lo screening di HLA-B\*57:01 prima del trattamento con ABC è stato ampiamente implementato nella pratica clinica quotidiana e fa parte delle linee guida della FDA

24 E. Tragni, M. Casula

(Food and Drug Administration) statunitense e di quelle internazionali sul trattamento dei virus dell'immunode-ficienza umana.

Implementazione di test farmacogenomici nella pratica clinica

In futuro, con l'identificazione di fenotipi clinici definiti, diventeranno facilmente realizzabili miglioramenti nella tecnologia e negli strumenti che definiscono la farmacogenomica delle ADR off-target. Si prevede che molti di questi non avranno una traduzione diretta nella pratica clinica come strategia primaria di screening, ma saranno fondamentali per far progredire la comprensione dei meccanismi di queste reazioni. Si prevede inoltre che la scoperta di nuove associazioni HLA per ADR off-target associate alla memoria immunologica rimarrà di primaria importanza per l'attuazione di strategie di screening nella pratica clinica.

Sono però necessarie ulteriori ricerche sull'immunopatogenesi delle ADR associate alla memoria immunologica per migliorare la comprensione delle interazioni molecolari tra farmaci e molecole HLA. Ciò sarà fondamentale per capire come mai solo una piccola percentuale di pazienti portatori di un allele specifico per il rischio di HLA svilupperà una IM-ADR. In definitiva, questo progresso guiderà lo sviluppo di programmi di screening preclinici per consentire una progettazione di farmaci più sicura, più efficiente e più costo-efficace.

#### ANGOLO DEL MASTER



## CORSO di PERFEZIONAMENTO in FARMACOVIGILANZA

anno accademico 2015-2016

## ECOFARMACOVIGILANZA: PROBLEMATICHE ATTUALI E PROSPETTIVE FUTURE

## **Ecopharmacovigilance: current issues and future perspectives**

#### Cecilia Florean

#### Keywords

Ecopharmacovigilance Drug Environment Human Health

#### **Abstract**

Ecophamacovigilance is a new developing science concerning detection, evaluation, understanding and prevention of adverse effect on human and other animal species, related to the presence of pharmaceutical in the environment.

In the last decades, several studies showed the presence of many different classes of drugs in the environment: in effluent from medical care units, landfills, municipal sewage, sewage treatment plants, and also in surface water, seawater, groundwater, and drinking water. The possible consequences on human health is nowadays unknown, but some modification in wildlife, particularly regarding the behaviour and the reproduction, due to the presence of drugs in the environment have already been reported.

Thus, further investigations need to be conducted. Moreover, different approaches, like sewage treatment plants improvement, rational prescriptions, drug waste reductions, green drugs design, could contribute to limit the impact of drugs in the environment. This would improve both environmental and human health, which are strictly interconnected.

#### Introduzione

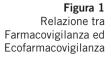
Il termine Ecofarmacovigilanza (EPV) fu coniato per la prima volta dal Prof. Velo [1] per indicare una disciplina emergente che può essere definita come "la scienza e le attività di rilevazione, valutazione, comprensione e prevenzione degli effetti negativi legati alla presenza dei prodotti farmaceutici nell'ambiente" [2].

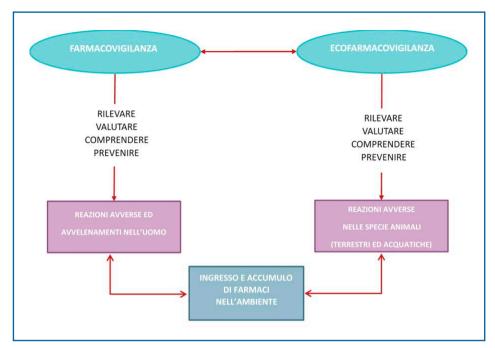
Questa definizione è tratta direttamente dalla definizione di Farmacovigilanza data dall'Organizzazione Mondiale della Sanità: "la disciplina e l'insieme di attività volte all'individuazione, valutazione e prevenzione di effetti avversi o altri problemi correlati all'utilizzo dei farmaci" [3].

L'EPV può essere considerata, infatti, come una suddivisione della Farmacovigilanza e con essa condivide molte similarità (**Figura 1**): lo scopo di entrambe è di rilevare gli effetti avversi da farmaci, la Farmacovigilanza nei pazienti, l'EPV nell'ambiente.

Tuttavia, mentre l'esposizione di un individuo ad un farmaco può essere stabilita, conoscendo la dose somministrata o attraverso un prelievo plasmatico, e di conseguenza essere correlata ad un potenziale effetto avverso, al contrario la quantità di un farmaco o dei suoi metaboliti nell'ambiente è difficile da prevedere o misurare. Inoltre, mentre la Farmacovigilanza è una disciplina altamente regolamentata in tutto il mondo, l'EPV è una scienza emergente non ancora regolamentata [4].

Corrispondenza: Cecilia Florean. E-mail: cecilia.florean@gmail.com





Come la Farmacovigilanza, la quale ha avuto un grande sviluppo in risposta al disastro talidomide [5], l'EPV ha suscitato interesse in seguito ad un evento catastrofico, ovvero la morte di milioni di avvoltoi intossicati da diclofenac in Pakistan [6]. Questo antiinfiammatorio veniva impiegato per trattare il bestiame, in particolare le mucche, per alleviare i dolori causati da zoccoli spaccati o le mammelle gonfie. Gli avvoltoi cibandosi delle carcasse del bestiame, che era stato trattato con diclofenac prima di morire, svilupparono la gotta viscerale, una malattia dovuta ad un aumento dell'acido urico nel sangue, che causa la cristallizzazione degli organi interni e morte per insufficienza renale acuta [7].

Questo episodio ha risvegliato l'attenzione sulle possibili conseguenze negative derivanti dalla, già nota, presenza di farmaci nell'ambiente. A partire dagli anni '70, infatti, sono stati pubblicati un numero sempre maggiore di studi, principalmente da parte di chimici analitici, che mostravano la presenza di principi attivi e dei loro metaboliti [8], nel suolo e nelle acque [9].

#### La distribuzione dei farmaci nell'ambiente

I farmaci sono spesso inseriti in una più grande categoria insieme ai prodotti di cura della persona (*pharmaceutical and personal care product*, PPPC) quali profumi, filtri solari, eccipienti, tensioattivi, etc. [10].

La loro presenza è stata riscontrata negli scarichi di ospedali e case di cura [11], nelle discariche, nelle acque di scarico municipali, negli impianti di depurazione delle acque, nelle acque di superficie, nel mare, nelle falde acquifere e persino nell'acqua potabile [12, 13]. Oltre 160 principi attivi, appartenenti a svariate classi di farmaci, si trovano nell'ambiente (**Tabella 1**).

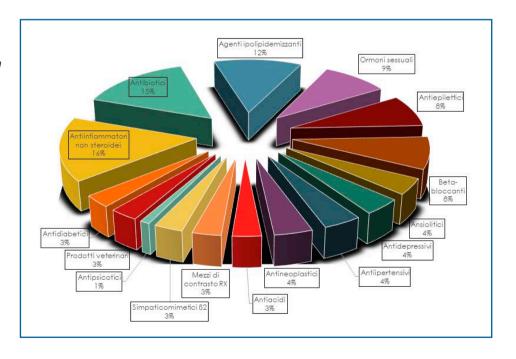
La loro presenza varia sia in funzione dell'utilizzo, sia in funzione della struttura chimica e della conseguente biodegradabilità (**Figura 2**). Ad esempio, amoxicillina, uno degli antibiotici più utilizzati, è stata rilevata in concentrazioni molto basse perché altamente biodegradabile; al contrario, carbamazepina e fenofibrato sono stati riscontrati in concentrazioni maggiori, nonostante abbiano un impiego minore, proprio a causa della loro elevata persistenza.

Angolo del master 27

**Tabella 1** Classi di farmaci rilevati nei fiumi e nei laghi d'Europa (*modificato da Heberer, 2002* [12]).

CLASSE DI FARMACO	MOLECOLE
Penicilline	Amoxicillina
Tetraciciline	Tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina
Chinoloni	Ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina, enofloxacina
Macrolidi-Lincosamidi	Claritromicina, eritromicina, deidro-eritromicina, lincomicina, spiramicina
Sulfonamidi	Sulfametazolo, sulfametoxina, sulfametazione, sulfatiazolo
Antinfiammatori non Steroidei/Analgesici	Ibuprofene, paracetamolo, acido acetilsalicilico, diclofenac, 4-aminoantipirina, aminofenazone, codeina, fenoprofene, idrocortone, indometacina, ketoprofene, acido mefenamico, naproxene, fenazone, propifenazone
Cardiovascolari	Atenololo, metoprololo, propanolo, betazolo, bisoprololo, nadololo, enalapril, enalaprilat, nifedipina, diltiazem
Diuretici	Furosemide, idroclortiazide
Antidiabetici	Glibencalmide, metformina, clorpropamide
Gastrointestinali	Omeprazolo, ranitidina, cimetidina
Farmaci per il sistema Nervoso centrale	Carbamazepina, primidone, diazepam, fluoxetina, pentobarbital, fensuximide
Broncodilatatori	Salbutamolo, terbutalina, clenbuterolo, fenoterolo
Ormoni	Etinilestradiolo, mestranol
Antitumorali	Ciclofosfamide, ifosfamide
Mezzi di contrasto	Diatrizoato, loexolo, lopamidolo, lomeprolo, acido iotalamico, acido ioxitalamico, acido amidotrizoico, complessi organici del gadolinio
Farmaci veterinari	Oleandomicina, oxitetraciclina, tilmicosina, tilosina, cloramfenicolo
Altri	Trimetoprim, feneturide, pentoxifillina

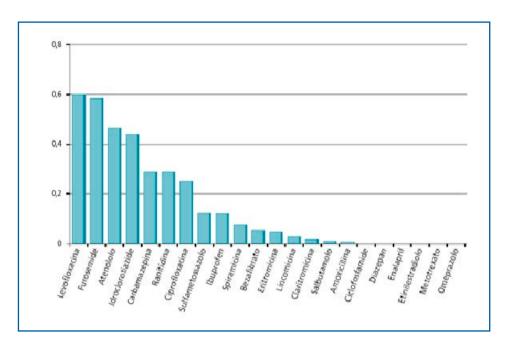
Figura 2 Classi di farmaci rilevati nell'ambiente espressi in percentuali (*modificato da* Santos et al., 2010 [14]).



Anche sostanze d'abuso e i loro metaboliti come l'anfetamina, la cocaina, la morfina, la 6-acetilmorfina, l'11-nor-9-carboxy- $\Delta$ -9-tetraidrocannabinolo, il metadone etc., sono stati rilevati nelle acque di scarico e in quelle di superficie in molte città europee [15, 16].

In Italia, uno studio condotto in Lombardia ha rilevato la presenza di molti principi attivi nelle acque di superficie, previa depurazione (**Figura 3**), nelle acque dei fiumi e anche nelle acque potabili (**Tabella 2**) [17].

Figura 3
Farmaci ancora presenti nelle
acque depurate da alcuni
impianti di depurazione
in Italia e che si riversano
nell'ambiente, concentrazioni
in mg/m³ (Modificato da
Zuccato et al, 2005 [18]).



**Tabella 2** Alcuni dati quantitativi di farmaci nelle acque di fiume (Po, Adda, Lambro) e potabili (Varese, Lodi, Milano) in Italia (*Modificato da Zuccato et al.*, 2000 [17]).

Farmaci	Acque potabili	Acque di fiume
Atenololo	·	•••
Bezafibrato	-	•••
Ceftriaxone	-	-
Acido clofibrico	•	-
Ciclofosfamide		•
Diazepam	••	•
Eritromicina	-	••
Furosemide	-	••
Ibuprofene	-	•••
Lincomicina		••
Oleandomicina	-	•
Ranitidina		•
Salbutamolo	-	•
Spiramicina	-	••
Tilmicosina	-	-
Tilosina	•	•

- inferiore a 0,01 microgrammi/litro
- •• tra 0,01 e 0,1 microgrammi/litro
- ••• tra 0,1 e 1 microgrammi/litro

#### Le vie di ingresso dei farmaci nell'ambiente

Le vie attraverso le quali i farmaci vengono immessi nell'ambiente sono molteplici (**Figura 4**).

Le industrie farmaceutiche sono una fonte significativa di principi attivi: nonostante si presuma che le loro emissioni, almeno in Europa e Nord America, siano controllate e relativamente basse, è stata riscontrata una concentrazione maggiore di principi attivi negli effluenti degli stabilimenti produttivi di medicinali [19].

Ancor più critica è la situazione in alcuni Paesi asiatici, tra cui l'India, dove la concentrazione di alcuni principi attivi delle acque di scarico industriali raggiunge valori dell'ordine dei mg/L [20].

Angolo del master 29



Figura 4 Origine e distribuzione dei farmaci nell'ambiente (da EPA [28]).

Gli ospedali e le case di cura, attraverso le loro acque di scarico, rappresentano una seconda via di ingresso [19]. Tuttavia la fonte principale sono i pazienti stessi. Infatti, una volta assunti, i farmaci vengono escreti, come tali o sotto forma di metaboliti, con le feci, le urine e il sudore raggiungendo in maniera diretta ed indiretta le acque fognarie [21].

Un'altra via di ingresso è rappresentata dai farmaci venduti/dispensati ed inutilizzati che, nella maggior parte dei casi, non vengono correttamente smaltiti ma direttamente gettati nella spazzatura o negli scarichi fognari [22, 23]. Vanno inoltre considerati i dispositivi transdermici, i quali, una volta rimossi, dopo l'utilizzo, contengono ancora elevate quantità di principio attivo, dal 28% all'84% della quantità iniziale, e anch'essi sono gettati nei rifiuti domestici [24].

Come noto, i rifiuti non sempre vengono inceneriti ma spesso sono stoccati nel sottosuolo, pertanto le sostanze chimiche in essi contenuti possono facilmente disciogliersi nel suolo e, successivamente, nelle acque [19].

Nonostante le acque fognarie siano sottoposte a trattamenti, la maggior parte dei farmaci non viene rimossa dai depuratori [25] poiché questi non sono stati progettati per rimuovere xenobiotici, principi attivi e centinaia di altri microcontaminanti presenti attualmente nelle acque di scarico domestiche [26].

Nei grandi agglomerati urbani la capacità degli impianti di depurazione delle acque di scarico è decisamente inferiore alla quantità di scarichi prodotti e nei Paesi in via di sviluppo capita spesso che le acque di scarico vengano direttamente riversate nell'ambiente senza essere prima sottoposte a un processo di depurazione.

Nei Paesi con scarse risorse idriche, inoltre, le acque reflue vengono utilizzate in agricoltura per l'irrigazione di coltivazioni, sia previa depurazione che non, e, di conseguenza, tutte le sostanze in esse disciolte, compresi i principi attivi, trovano la loro via di ingresso nel cibo e nella catena alimentare [27].

Infine, i farmaci veterinari dopo il loro utilizzo vengono direttamente rilasciati nell'am-

biente, tramite le feci e le urine animali, ma anche attraverso le carcasse di animali trattati prima della morte non correttamente smaltiti.

Considerando che l'utilizzo di farmaci cresce annualmente in tutto il mondo, il problema di accumulo di principi attivi nell'ambiente è destinato ad aumentare. Ogni anno vengono utilizzati più di centomila tonnellate di antibiotici [28] e, solo negli Stati Uniti, vengono assunte più di trenta miliardi di dosi di antinfiammatori non steroidei ogni anno [29].

#### Effetti sulle specie animali

Oltre all'evento verificatosi in Pakistan in seguito al quale alcune specie di avvoltoi, attualmente rischiano l'estinzione [6], non sono stati documentati altri episodi con effetti devastanti dovuti alla presenza di un farmaco nell'ambiente. Le concentrazioni di principi attivi rilevati sono infinitesimali, (nell'ordine dei µg/L o dei ng/L nelle acque di superficie), ed è difficile poter prevedere gli effetti di un'esposizione cronica a basse dosi, poiché i dati tossicologici in letteratura si riferiscono, nella maggior parte dei casi, ad esposizioni acute ad alte dosi. Generalmente l'esposizione cronica a basse dosi non provoca un'aumentata mortalità ma piuttosto degli effetti più sottili, e pertanto più difficili da osservare e da misurare, quali alterazioni a livello comportamentale e riproduttivo. Queste modificazioni possono manifestarsi anche dopo un lungo intervallo di tempo. Anche le vie di esposizione, la biodisponibilità e il bioaccumulo sono molto più difficili da rilevare e quantificare, pertanto, una delle maggiori sfide dell'EPV è appunto quella di trovare una correlazione tra l'esposizione ambientale cronica a bassissime dosi di farmaco ed effetti avversi da essa derivanti [4].

Etinilestradiolo (EE2) è il farmaco con una più vasta letteratura riguardo agli effetti avversi in ambiente acquatico dovuti alla sua presenza nell'ambiente. Questo farmaco di origine sintetica ha una struttura chimica simile a quella dell'estradiolo (E2) e da studi in laboratorio si è dimostrato capace di interferire con il normale sviluppo sessuale di pesci maschi già a concentrazioni molto basse [29]. A basse dosi, infatti, è in grado di stimolare la sintesi di vitellogenina, una proteina normalmente assente nei pesci maschi e prodotta da pesci femmina durante il periodo riproduttivo e fondamentale per la formazione delle uova [30]. La produzione di vitellogenina da parte di pesci maschi è stata riscontrata in natura in numerose specie di pesci, tra cui trote, carpe, spinarelli, etc. nei fiumi e nei laghi di Europa e Nord America [31] e anche nel pesce spada nel Mar Mediterraneo [32]. La produzione di vitellogenina da parte di esemplari di pesci maschi comporta la "femminizzazione" di questi ultimi e la conseguente diminuzione del tasso di riproduzione [30]. Non solo, sembra che l'esposizione ad estrogeni possa compromettere anche la loro capacità di rispondere ai predatori [33]. Un effetto simile è attribuibile anche agli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina, in particolare alla fluoxetina [34].

Le possibili conseguenze derivanti dagli avvenimenti appena descritti sono il rischio di sopravvivenza di intere specie ittiche e, conseguentemente, gravi squilibri ecologici delle specie acquatiche e marine.

#### Effetti sulla salute dell'uomo

Allo stato attuale non esistono dati attendibili su un possibile rischio per la salute umana, infatti, come già detto, è molto difficile fare una stima del rischio poiché l'esposizione è di complessa previsione e i dati sulla tossicità da farmaco si riferiscono all'esposizione acuta ad alte dosi.

L'OMS ha dichiarato che la presenza di farmaci nelle acque potabili non costituisce un rischio per la salute umana, essendo le dosi in esse contenute circa mille volte inferiori alla dose farmacologicamente attiva [35].

Tuttavia, occorre considerare che, in alcuni casi, si assiste ad un'esposizione cronica, anche per tutto l'arco di una vita, a principi attivi progettati per essere utilizzati solo per un breve periodo, oppure si verifica un'ingestione orale di farmaci solitamente utilizzati per via topica o transcutanea [36]. Inoltre, essendo presenti nelle acque molteplici classi di farmaci, si potrebbe verificare un'esposizione contemporanea a principi attivi la cui somministrazioni simultanea dovrebbe essere evitata poiché causa di interazioni farmacologiche [37].

Angolo del master 31

Pertanto non è da escludere un possibile effetto biologico dovuto alla loro sinergia o all'interazione con farmaci assunti durante una terapia. Ciò potrebbe tradursi nell'insorgenza di effetti indesiderati nelle popolazioni più a rischio: anziani, donne in gravidanza e bambini [38], persone con insufficienza renale o epatica. Inoltre, le reazioni avverse immunomediate (di tipo B) sono indipendenti dalla dose e si manifestano anche in risposta a quantità infinitesimali di farmaco.

Il possibile rischio conseguente all'esposizione da farmaci nell'ambiente può essere suddiviso in due categorie:

- **Cumulativo** derivante da diversi farmaci presenti nella stessa matrice comportando un effetto avverso dovuto all'esposizione a più contaminanti;
- Aggregato derivante dalla presenza di un contaminante in più matrici con conseguente possibilità di un evento avverso per l'esposizione ad un principio attivo presente in più fonti.

Tra le possibili conseguenze, vi sono, ad esempio, alterazioni comportamentali, ritardi nell'apprendimento o nello sviluppo di alcune capacità cognitive in seguito ad esposizione durante la vita fetale che non sono sempre facilmente correlabili anche a causa della loro insorgenza posticipata [39].

L'esposizione involontaria ai farmaci attraverso l'ambiente non è scevra da problemi etici; infatti, mentre il singolo individuo prima di sottoporsi ad un trattamento farma-cologico viene informato su benefici e rischi da esso derivanti, l'esposizione per via ambientale porta a rischi sconosciuti a cui tutti sono sottoposti a prescindere dal loro stato di salute e dall'utilizzo o meno di medicinali. Inoltre, a differenza di quanto avviene per le specie animali, per cui un effetto viene considerato avverso solo quando si ripercuote sulla sopravvivenza dell'intera specie, negli umani ogni effetto su un singolo individuo dovrebbe essere considerato avverso se indesiderato o comunque non ricercato [36].

Le classi di farmaci la cui esposizione involontaria potrebbe porre problemi di tipo tossicologico sono di seguito descritte e sono: antibiotici, antitumorali citostatici e citotossici, ormoni estrogeni [40].

#### Antibiotici

Gli antibiotici sono largamente utilizzati sia per il trattamento di patologie di origine batterica e sia come profilassi per il 50% in ambito umano e per il restante 50% in ambito veterinario, in acquacoltura e in agricoltura. In particolare, negli allevamenti, piccole quantità di antibiotici vengono aggiunti al mangime e utilizzati come promotori della crescita [41].

La problematica principale, associata all'impiego massivo di antibiotici, è la selezione di batteri resistenti all'utilizzo di chemioterapici utilizzati in clinica e in veterinaria, che ne compromettono l'efficacia. Questo fenomeno, detto antibiotico-resistenza, è un processo molto complesso [42]. Un microrganismo può, in seguito un'esposizione ad una determinata sostanza, anche a dosi molto basse, subire una modificazione genetica ed acquisire, di conseguenza, la resistenza a tale sostanza. La resistenza si attua secondo diversi meccanismi di cui i principali sono: la modifica del target batterico, la produzione da parte del batterio di enzimi inattivanti l'antibiotico, la ridotta permeabilità all'antibiotico e l'efflusso attivo che induce l'uscita dell'antibiotico stesso dalla cellula grazie a un sistema di pompe attive. Una volta instauratesi, queste modificazioni genetiche, possono essere trasmesse sia per replicazione cellulare agli organismi della stessa specie (trasferimento verticale), sia attraverso uno scambio di materiale genetico tramite plasmidi, a specie batteriche differenti (trasferimento orizzontale) [42].

Non è ancora completamente chiaro se la presenza di antibiotici nell'ambiente possa contribuire in maniera determinante allo sviluppo della resistenza o se l'uso improprio di antibiotici costituisca la causa principale di antibiotico-resistenza [43]. Tuttavia i due fattori sono strettamente correlati fra di loro in quanto un massiccio uso improprio di antibiotici è la principale causa della loro presenza a livello ambientale.

#### Farmaci citotossici e citostatici

Costituiscono la classe di farmaci maggiormente usati nel trattamento del cancro. Richiedono un'attenzione speciale poiché il loro meccanismo d'azione non è selettivo e

pertanto agiscono sia sulle cellule tumorali sia sulle cellule sane provocando numerosi e seri effetti avversi. Essi sono, inoltre, persistenti nell'ambiente e anche i loro metaboliti possono agire come citotossici, genotossici, mutageni e teratogeni anche a basse concentrazioni [44]. Di recente, è stato riscontrato un rischio maggiore di sviluppare il cancro nel personale infermieristico che preparava e somministrava questi farmaci [45]. Data la loro elevata tossicità, le persone sane non dovrebbero essere esposte a queste sostanze.

Tuttavia, l'incidenza del cancro sta aumentano a livello mondiale [46] e ci si aspetta, pertanto, che anche l'uso di farmaci antitumorali cresca di pari passo [47] e, di conseguenza, anche la loro presenza nelle acque di scarico e di superficie.

Vista la loro criticità, attualmente, in Europa, sono in corso due progetti, Pharmas [48] e Cytothreat [49], per monitorare la quantità di antitumorali nell'ambiente e i relativi rischi associati.

#### Estrogeni

Gli ormoni estrogeni sono prescritti ed utilizzati principalmente per il controllo delle nascite e nella terapia ormonale sostitutiva. All'interno di questa classe di farmaci il più utilizzato è etinilestradiolo (EE2) di origine sintetica. Tuttavia nelle acque di superficie è stato rilevato anche estradiolo, prodotto ed escreto naturalmente dalle donne in età fertile [50].

Gli ormoni sono in grado di produrre un effetto biologico, ad esempio modificare il metabolismo o l'attività di un organo e un tessuto, a bassissime concentrazioni, anche nell'ordine dei µg/L.

Nell'ambiente sono presenti, inoltre, altri composti chimici aventi una struttura simile a quella degli estrogeni, chiamati xenoestrogeni, come bisfenolo A, i bifenili policlorurati e gli ftalati, utilizzati dall'industria chimica per molteplici scopi ed in grado di riprodurre in vivo un'azione simile a quella degli estrogeni. Sebbene estrogeni naturali e xenostrogeni abbiano concentrazioni ambientali molto inferiori rispetto alla dose alla quale producono una risposta biologica, la loro presenza contemporanea potrebbe determinare un effetto congiunto [51] e causare problemi a livello riproduttivo, riduzione della fertilità [52] e alterazioni nello sviluppo sessuale e comportamentale [53].

#### Normative in vigore

Date le potenziali problematicità derivanti dalla presenza di determinati farmaci nelle acque potabili, dal 2013 l'Unione Europea ha inserito in una "watch list" tre farmaci: diclofenac, estradiolo (E2) e etilenilestradiolo (EE2). Questi, insieme ad altre molecole, non sono stati ritenuti pericolosi, tuttavia la loro presenza nelle acque deve essere costantemente monitorata [54].

A partire dal 2004, l'EMA ha richiesto, per i farmaci veterinari, che venga allegata alla richiesta di immissione in commercio la valutazione del rischio ambientale (ERA: *Ecological Risk Assessment*), ovvero la valutazione dell'esposizione ambientale ai farmaci e le procedure di valutazione del rischio legato a tale esposizione. Successivamente, nel 2006, la valutazione del rischio ambientale è divenuta obbligatoria anche per i farmaci ad uso umano [55].

Negli Stati Uniti, invece, già dal 1998 erano state redatte dall'EPA le linee guida per la stesura dell'ERA, richiesto solamente per l'immissione in commercio di farmaci veterinari, i quali, come già detto, vengono direttamente rilasciati nell'ambiente dopo il loro utilizzo e pertanto hanno un impatto ambientale più elevato [56].

L'ERA è definita come la procedura mediante la quale vengono stimati, con metodologie scientifiche, gli effetti avversi, presenti o probabili, di inquinanti o altre attività dell'uomo sull'ecosistema ed è quindi per definizione una valutazione predittiva di un rischio potenziale.

In particolare, i due parametri stimati sono la concentrazione ambientale prevista (PEC) e la concentrazione prevista a cui non si hanno effetti (PNEC). Se il loro rapporto è <1 il farmaco viene considerato sicuro dal punto di vista ambientale e non sono richieste informazioni aggiuntive. Altrimenti se il valore ottenuto è >1, vengono effettuate ulteriori valutazioni, oppure vengono stabilite alcune misure di mitigazione da attuare durante lo stoccaggio, la somministrazione ai pazienti e lo smaltimento. In

Angolo del master 33

ogni caso l'immissione in commercio non viene negata e per i farmaci già presenti sul mercato non è contemplata alcuna valutazione.

L'ERA, inoltre, viene richiesta solo in USA e UE. Non è prevista alcuna valutazione del rischio ambientale in altri stati, come Cina [57] o India [58], in cui si concentra un terzo della popolazione mondiale e in cui il settore dell'industria farmaceutica è in forte sviluppo.

#### **Prospettive future**

I farmaci non possono essere considerati come dei semplici inquinanti chimici poiché, a differenza di questi, sono stati progettati o comunque vengono utilizzati per la loro azione biologica che si esplica grazie alla loro elevata specificità per i recettori cellulari. Inoltre, data la loro fondamentale importanza per la salute umana non possono essere messe in atto le stesse misure che si realizzano per altre molecole, ad esempio il divieto di utilizzo. Tuttavia, il loro ingresso e il potenziale bioaccumulo nell'ambiente possono essere evitati in diversi modi di seguito descritti.

#### Miglioramento degli impianti di depurazione

L'efficacia di rimozione dei farmaci dalle acque è estremamente variabile e dipende sia dalle caratteristiche dell'impianto che dalla tipologia e complessità della molecola che dovrà essere degradata. Solo pochi farmaci sono rimossi in maniera efficace dai depuratori cosiddetti tradizionali che dispongono di soli due sistemi di depurazione, primario e secondario. L'introduzione di un ulteriore step di depurazione, detto "terziario", che comprende processi innovativi di tipo chimico, come l'ozonazione, o di tipo fisico, come le membrane microfiltranti, permetterebbe di rimuovere inquinanti persistenti e complessi come i farmaci [59]. Per quanto riguarda le acque potabili alcuni semplici procedimenti come l'ozono-ossidazione o l'adsorbimento con carbone attivato si sono dimostrati efficaci nella rimozione di farmaci [60].

#### Controllo dello smaltimento dei farmaci inutilizzati

I farmaci dispensati/venduti ed inutilizzati non solo costituiscono una forma di inquinamento ambientale ma rappresentano anche una perdita economica da parte del paziente e/o uno spreco di risorse del sistema sanitario che potrebbero essere meglio impiegate [61]. Si calcola che, solo negli Stati Uniti, una quantità di farmaci corrispondente ad un miliardo di dollari venga gettata, ogni anno, negli scarichi domestici [62]. Questo dato evidenzia anche una bassa compliance da parte dei pazienti che può tradirsi in un fallimento terapeutico. I farmaci dispensati/venduti e non utilizzati, inoltre, possono essere causa di abusi, automedicazioni inappropriate o esposizioni non desiderate (ad esempio ingestione accidentale). Per eliminare gli sprechi di farmaci occorre attuare delle misure preventive, come la progettazione di confezioni che contengano un numero di dosi non superiori a quelle previste dalla terapia, e promuovere delle campagne educative per incentivare, da un lato, l'aderenza terapeutica e, dall'altro, la riconsegna di medicinali inutilizzati per un eventuale riciclo o comunque per un corretto smaltimento [61].

Riducendo la quantità di farmaci dispensati/venduti ed inutilizzati non solo si ridurrà l'impatto ambientale ma si aumenterà anche la costo-efficienza del sistema sanitario.

#### Uso razionale dei farmaci

L'uso razionale del farmaco, secondo la definizione dell'OMS [63], consiste nel "prescrivere il medicinale appropriato al bisogno clinico del singolo paziente, nella dose adatta alle sue necessità, per un periodo di tempo adeguato e al costo più basso possibile". Una terapia appropriata deve massimizzare l'efficacia del trattamento, minimizzare i rischi, minimizzare i costi e rispettare le scelte dei pazienti [64]. I farmaci andrebbero somministrati solo se necessari e tenendo in considerazione le reazioni avverse che questi possono provocare [65]. Oltre ad essere una seria minaccia per la salute, l'uso scorretto ed eccessivo di farmaci, come detto, provoca anche sprechi inutili. I dati dell'OMS indicano che più del 50% dei farmaci viene prescritto, dispensato o venduto impropriamente. Molti farmaci sono prescritti a determinate fasce di popolazione, a dosaggi più alti rispetto a quelli necessari o addirittura sicuri [66]. Teoricamente, se si

prescrivesse a ogni individuo la dose esatta di farmaco di cui necessita per un particolare trattamento, si avrebbe, da un lato, la riduzione di effetti avversi e, dall'altro, un minor impatto ambientale. Si passerebbe così ad un uso dei farmaci sostenibile ed ecosostenibile che mira a proteggere sia gli individui che l'ambiente, i quali sono interconnessi perché lo stato di salute di uno si ripercuote su quello dell'altro.

#### Sviluppo di farmaci biodegradabili

effetti avversi [68].

Come già accennato in precedenza, la struttura chimico-fisica di un farmaco determina la sua persistenza nell'ambiente. I farmaci biodegradabili si accumulano difficilmente nell'ambiente in quanto la loro struttura viene scissa da enzimi idrolitici in molecole più piccole.

Alcuni farmaci biologici, quali ad esempio l'insulina umana ricombinante o gli anticorpi monoclonali, vengono velocemente metabolizzati e non pongono problemi di rischio ambientale, sebbene possano avere più problemi riguardanti la loro sicurezza [67]. Si dovrebbe raggiungere un approccio che minimizzi l'impatto ambientale utilizzando la chimica verde, il cosiddetto "benign by design" che consiste nel progettare molecole altamente biodegradabili che, al tempo stesso, provochino un numero minore di

Nella prescrizione di un medicinale, dunque, il medico dovrebbe considerare anche il futuro impatto che esso avrà dopo l'utilizzo del paziente. Questo sta già accadendo in Svezia dove è stata introdotta "un'etichettatura ecologica" per identificare i principi attivi in funzione delle loro caratteristiche ambientali, quali la persistenza, il bioaccumulo e la tossicità [69].

#### Conclusioni

La presenza di farmaci nell'ambiente rappresenta un rischio potenziale per la salute umana soprattutto per determinate categorie quali anziani, donne in gravidanza, bambini e persone con determinate patologie. Gli effetti derivanti da un'esposizione cronica ad una miscela di farmaci, anche a bassissime concentrazioni, non sono noti e, attualmente sono difficilmente stimabili.

L'Ecofarmacovigilanza è una nuova disciplina il cui obiettivo dovrebbe essere non solo quello di rilevare, valutare, comprendere e prevenire gli effetti negativi legati alla presenza dei prodotti farmaceutici nell'ambiente, ma anche di promuovere una visione che tenga conto della profonda interconnessione della salute ambientale e umana.

Se si considerassero i pazienti e l'ambiente, non su due piani distinti, ma come due aspetti di un unico insieme, potrebbe emergere un sistema sanitario sostenibile con un minore impatto ambientale e il massimo beneficio per i pazienti. Infatti, ogni azione volta a proteggere o a migliorare la salute di uno dei due, ha delle conseguenze positive anche sulla salute dell'altro.

L'obiettivo finale deve essere quello di massimizzare l'efficacia e la sicurezza dei farmaci e per fare ciò occorre considerare ogni fase del loro ciclo vitale: progettazione, produzione, vendita/dispensazione, uso e smaltimento. Adottando un approccio ecosostenibile non solo si ridurrà l'impatto ambientale, ma si avrà un utilizzo più efficiente delle risorse economiche in ambito sanitario, una riduzione delle spese mediche ed, infine, un miglioramento della salute pubblica e della qualità della vita.

#### Bibliografia

- [1] Velo GP. Why EcoPharmacovigilance? 7th ISoP Annual Meeting, Bournemouth, Dorset, UK, 21-24 October, 2007.
- [2] Murray-Smith R. Ecopharmacovigilance: a drug company perspective. 10th Annual Meeting of the International Society of Pharmacovigilance, Accra, Ghana. 4 November 2010.
- [3] The importance of pharmacovigilance: safety monitoring of medicinal products. Geneva: World Health Organisation; 2002.
- [4] Holm G, Snape JR, Murray- Smith R, et al. Implementing Ecopharmacovigilance in Practice: Challenges and Potential Opportunities. Drug Saf. 2013; 3: (6): 533-546.
- [5] McBride WG. Thalidomide and congenital abnormalities. Lancet. 1961; 2: 1358.
- [6] Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ et al. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. Nature. 2004; 427(6975): 630-633.
- [7] Swan GE, Cuthbert R, Quevedo M, et al. Toxicity of diclofenac to Gyps vultures. Biol Lett. 2006; 2(2): 279-282.
- [8] Daughton CG. Environmental stewardship and drugs as pollutants. Lancet. 2002; 360: 1035-1036.
- [9] Holm JV, Rugge K, Bjerg PL, Christensen TH. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grinsted Denmark). Environ. Sci. Technol. 1995; 29: 1415–1420.

Angolo del master 35

[10] Daughton CG, Ternes TA. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?" Environ. Health Perspect. 1999; 107(Suppl. 6): 907-938.

- [11] Kümmerer K. Drugs, diagnostic agents and disinfectants in waste water and water a review. Chemosphere 2001; 45: 957-469.
- [12] Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. Toxicol. Lett. 2002; 131: 5-17.
- [13] Benotti MJ, Trenholm RA, Vanderford BJ, et al. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43: 597-603.
- [14] Santos LH, Araújo, AN, Fachini A, et al. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. JcHazard Mater 2010; 175(1-3): 45-95.
- [15] Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, et al. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. Environ. Health 2005: 5: 4-14
- [16] Boleda MR, Galceran MT, Ventura FJ. Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2007; 1175: 38-48.
- [17] Zuccato E, Calamari D, Natangelo M, et al. Presence of therapeutic drugs in the environment. Lancet 2000; 355: 1789-1790.
- [18] Zuccato E, Castiglioni S, Fanelli R. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. J Hazard Mater 2005; 122: 205-209.
- [19] Kümmerer K. Pharmaceuticals in the Environment Annual Review of Environment and Resources. 2010; 35:57-75.
- [20] Larsson DG, de Pedro C, Paxeus N. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. J. Hazard. Mater. 2007: 148: 751-755.
- [21] Barnes AJ, Smith ML, Kacinko SL, et al. Excretion of methamphetamine and amphetamine in human sweat following controlled oral methamphetamine administration. Clin Chem 2008; 54: 172-180.
- [22] Daughton CG, Ruhoy IS. Environmental footprint of pharmaceuticals the significance of factors beyond direct excretion to sewers. Environ. Toxicol. Chem. 2009; 28(12): 2495-2521.
- [23] Ruhoy IS, Daughton CG. Types and quantities of leftover drugs entering the environment via disposal to sewage: revealed by coroner records. Sci Total Environ 2007; 388(1-3): 137–48.
- [24] Marquardt KA, Tharratt RS, Musallam NA. Fentanyl remaining in a transdermal system following three days of continuous use. Ann Pharmacother. 1995; 29(10): 969-971.
- [25] Joss A, Zabczynski S, Gobel A, et al. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: proposing a classification scheme. Water Res 2006; 40(8): 1686-1696.
- [26] Taylor D, Senac T. Human pharmaceutical products in the environment the "problem" in perspective. Chemosphere. 2014; 115: 95-99.
- [27] Malchi T, Maor Y, Tadmor G, et al. Irrigation of root vegetables with treated wastewater: evaluating uptake of pharmaceuticals and the associated human health risks. Environmental Science & Technology, 2014; 48(16): 9325-933.
- [28] www.epa.gov/ppcp
- [29] Nash JP, Kime DE, Van der Ven LT, et al. Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of the Pharmaceutical Ethynylestradiol Causes Reproductive Failure in Fish. Environ Health Perspect. 2004; 112(17): 1725-1733.
- [30] Purdom CE, Hardiman PA, Bye VJ, et al. Oestrogenic effects of effluent from sewage treatment works. Chem Ecol. 1994; 8: 275-285.
- [31] Kidd AK, Blanchfield PJ, Mills KH, et al. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. Environ Sci Technol. 2015; 49(5): 3136-44.
- [32] Fossi MC, Casini S, Marsili L et al. Evaluation of ecotoxicological effects of endocrine disrupters during a four-year survey of the Mediterranean population of swordfish (Xiphias gladius). Marine Environmental Research. 2004; 58: 425–429.
- [33] Sárria MP, Soares J, Vieira MN, et al. Rapid-behaviour responses as a reliable indicator of estrogenic chemical toxicity in zebrafish juveniles. Chemosphere. 2011; 85(10): 1543-1547.
- [34] Weinberger J, Klaper R. Environmental concentrations of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine impact specific behaviours involved in reproduction, feeding and predator avoidance in the fish Pimephales promelas (fathead minnow). Aquat Toxicol. 2014; 151: 77-83.
- [35] WHO, Pharmaceuticals in Drinking-water. http://www.who.int/water\_sanitation\_health/publications/2011/pharmaceuticals\_20110601.pdf
- [36] Daughton CG, Ruhoy IS. The Afterlife of Drugs and the Role of PharmEcovigilance. Drug Safety December. 2008; 31(12): 1069-1082.
- [37] Daughton CG. Pharmaceutical ingredients in drinking water: overview of occurrence and significance of human exposure. In: Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations. Halden RU Ed. ACS Symposium Series 1048, American Chemical Society, Washington, DC, USA 2010; 9-68.
- [38] Collier AC. Pharmaceutical contaminants in potable water: concerns for pregnant women and children. EcoHealth J. 2007; 4(2): 164-171.
- [39] Kuehn BM. Traces of drugs found in drinking water: health effects unknown, safer disposal urged. JAMA 2008; 299(17): 2011-2013.
- [40] Kümmerer K, Pharmaceuticals in the Environment. Annual Review of Environment and Resources 2010; 35:57-75
- $[41] \ \ Cromwell \ GL. \ Why \ and \ how \ antibiotics \ are \ used \ in \ swine \ production. \ Anim \ Biotechnol. \ 2002; \ 13(1): \ 7-27.$
- [42] Kümmerer K. Antibiotics in the environment a review part II. Chemosphere 2009; 75: 435-441.
- [43] Kim S, Aga DS. Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants. J. Toxicol. Environ. Health B 2007; 10:559-573.
- [44] Allwood M, Stanley A, Wright P. The Cytotoxics Handbook. Radcliffe Medical Press, 2002.
- [45] Bouraoui S, Brahem A, Tabka F, et al. Assessment of chromosomal aberrations, micronuclei and proliferation rate index in peripheral lymphocytes from Tunisian nurses handling cytotoxic drugs. Environ Toxicol Pharmacol. 2011; 31: 250-257.
- [46] Stewart BW, Wild CP. World Cancer Report 2014. IARC Non Serial Publication WHO Press, 2014.
- [47] Besse JP, Latour JF, Garric J. Anticancer drugs in surface waters: what can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs? Environ. Int. 2012; 39: 73-86.
- [48] http://www.pharmas-eu.net/
- [49] http://www.cytothreat.eu/
- [50] Cargouët M, Perdiz D, Mouatassim-Souali A, et al. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). Science of The Total Environment. 2004; 324(1-3): 55-66.
- [51] Thorpe KL, Cummings RI, Hutchinson TH et al. Relative potencies and combination effects of steroidal estrogens in fish. Environ Sci Technol. 2003; 37(6): 1142-1149.
- [52] Vrooman LA, Oatley JM, Griswold JE, et al. Estrogenic Exposure Alters the Spermatogonial Stem Cells in the Developing Testis, Permanently Reducing Crossover Levels in the Adult. *PLoS Genetics*. 2015; 11(1): 1004949.

- [53] Winneke G, Ranft U, Wittsiepe J, et al. Behavioral Sexual Dimorphism in School-Age Children and Early Developmental Exposure to Dioxins and PCBs: A Follow-Up Study of the Duisburg Cohort. Environmental Health Perspectives. 2014; 122: 292-298.
- [54] Carvalho RN, Ceriani L, Ippolito A, Lettieri T. Development of the first Watch List under the Environmental Quality Standards Directive. Directive 2008/105/EC, as amended by Directive 2013/39/EU, in the field of water policy.
- [55] http://www.ema.europa.eu/docs/en\_GB/document\_library/Scientific\_guideline/2009/10/WC50 0003978.pdf
- [56] www.epa.gov/risk/guidelines-ecological-risk-assessment
- [57] Medhi B, Sewal RK. Ecopharmacovigilance: An issue urgently to be addressed. Indian Journal of Pharmacology. 2012; 44(5): 547-549.
- [58] Wang J, Hu X. Ecopharmacovigilance: Current state, challenges, and opportunities in China. Indian Journal of Pharmacology. 2014; 46(1): 13-17.
- [59] Huber MM, Canonica S, Park GY, et al. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. Environ Sci Technol. 2003: 37(5): 1016-24.
- [60] Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D et al. Removal of Pharmaceuticals during drinking water treatment Environ Sci Technol. 2002; 36: 3855-3863.
- [61] Daughton CG, Ruhoy IS. Green pharmacy and pharmEcovigilance: prescribing and the planet. Expert Rev Clin Pharmacol. 2011; 4(2): 211-32.
- [62] Strom S. Old Pills Finding New Medicine Cabinets. The New York Times, 18 May 2005.
- [63] World Health Organization, Geneva. The rational Use of Drug.
- [64] Casula M, Tragni E, Catapano AL. La prescrizione razionale. Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale.
- [65] Velo G, Moretti U. Ecopharmacovigilance for better health. Drug Saf. 2010; 33(11): 963-968.
- [66] Curfman GD, Morrissey S, Drazen JM. High-value health care a sustainable proposition. N Engl J Med. 2013; 360: 1163-1164.
- [67] Kühler TC, Andersson M, Carlin G, et al. Do biological medicinal products pose a risk to the environment?: a current view on ecopharmacovigilance. Drug Saf. 2009; 32(11): 995-1000.
- [68] Anastas PT, Farris CA. Benign by design: alternative synthetic design for pollution prevention- 1994 ACS Publications.
- [69] Wennmalm Å, Gunnarsson B. Pharmaceutical management through environmental product labeling in Sweden. Envirofn. 2009; 35(5): 775–777.

#### ANGOLO DEL MASTER



## Master in FARMACOVIGILANZA

anno accademico 2015-2016

## REGISTRI DI MONITORAGGIO REGIONALI NELLA VALUTAZIONE DELLE REAZIONI AVVERSE DA FARMACO Regional Monitoring Registries for evaluation of Adverse Drug Reactions

#### Alessandra Nardone, Roberto Leone, Elena Arzenton

Dipartimento di Diagnostica e Sanità Pubblica, Sezione di Farmacologia, Università degli Studi di Verona, Verona

#### Keywords

Regional monitoring registries Adverse Drug Reaction AIFA registries VigiSegn

#### **Abstract**

Background The Italian monitoring registries represent advanced tools to control the appropriateness of prescriptions and use, the safety profile, and the effectiveness of certain drugs. However, at regional level it is not possible to analyse these data even though they should be available to evaluate appropriateness and monitor expenditure. Thus, in this context, Veneto has activated its own registries: a monitoring registry of biological drugs and a database, called NAVIGATORE, for the new direct-acting antivirals (DAAs), for the treatment of hepatitis C.

Objective Evaluating the Adverse Drug Reactions (ADRs) found in registries, and recording them into the National Pharmacovigilance Network (NPN) it was possible to understand registries situation. Once identified the reports type, an analysis was carried out through VigiSegn with the purpose of integrating the missing ones as new information in the NPN.

Results This project enables to detect 14 ADRs in biological registry, and put 6 of them in the NPN; finding 137 reports in NAVIGATORE database, and record 132 of them in the NPN.

Conclusion Although in a different manner, both regional registries can be considered as a valid regulatory instrument that could contribute to assess safety and benefit/risk profile of drugs. From an evolutionary perspective, a considerable effort would be integrated regional registries with a section that allows automatically transferring ADRs to the NPN, in order to preserve precious information.

#### **Introduzione**

Registri Italiani di monitoraggio

I registri di monitoraggio italiani sono stati introdotti dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) nel 2005 per migliorare l'accesso alle terapie innovative, garantirne la sostenibilità e collezionare dati epidemiologici. I registri vengono utilizzati specialmente per monitorare la prescrizione dei cosiddetti farmaci innovativi, dove per "innovativo" si definisce qualsiasi nuova formulazione proposta.

L'International Society of Drug Bulletins, nutrendo un crescente interesse per l'argomento innovazione terapeutica, nel 2001 propose la seguente definizione: 'Una nuova sostanza o un nuovo uso di un farmaco esistente rappresenta un vero progresso solo quando i pazienti traggono un beneficio supplementare rispetto ai trattamenti precedenti. L'avanzamento terapeutico può essere fornito in tre modi: maggiore efficacia, minori effetti avversi o maggiore praticità per i pazienti' [1].

Corrispondenza: Alessandra Nardone. Email: nardonealessandra40@gmail.com

I registri rappresentano anche uno strumento avanzato per il controllo dell'appropriatezza prescrittiva e l'uso, il profilo di sicurezza e l'efficacia effettiva del farmaco [2]. Permettono di utilizzare in maniera migliore il farmaco nella pratica clinica, di collezionare dati epidemiologici, di tracciare l'eleggibilità dei pazienti e di seguire l'andamento del trattamento [3, 4]. Un altro importante scopo dei registri è il controllo della spesa farmaceutica poiché il costo dei farmaci innovativi è molto alto ed ha un impatto rilavante sul Sistema Sanitario Nazionale (SSN). Dal 2012 i registri sono disponibili via web per permettere una procedura di rimborso attivo chiamata *Managed Entry Agreements* (MEA) (Law n. 135/2012) [5].

II MEA è basato su diversi modelli, che condizionano il rimborso:

- Cost Sharing (CS) prevede uno sconto sul prezzo dei primi cicli di terapia per tutti i pazienti eleggibili al trattamento, così come individuati dal Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto;
- Risk Sharing (RS) lo sconto è applicato solo ai "non-responders";
- Payment by Result (PbR) estende le modalità del RS, prevedendo un rimborso totale da parte dell'Azienda farmaceutica su tutti i "non responders" (100% su tutti i fallimenti terapeutici);
- Success fee (SF) si basa sul concetto del PbR ma al contrario, in quanto prevede un rimborso totale da parte dell'Azienda Ospedaliera su tutti i "responder" (100% su tutti i successi terapeutici) all'Azienda farmaceutica [6].

I registri sono anche un importante strumento per collezionare nuove informazioni sul profilo di rischio dei farmaci durante la sorveglianza post-marketing, su una coorte di pazienti ampia ed eterogenea, molto utile per investigare l'appropriatezza, l'efficacia e la sicurezza, incluse le reazioni avverse da farmaci (ADR), dei farmaci monitorati [7]. La definizione più esaustiva di registro è probabilmente quella suggerita dall'*Agency for Healthcare Research and Quality* (AHRQ): "Un registro pazienti è un sistema organizzato che usa i metodi degli studi osservazionali per collezionare dati omogenei (clinici e non) per valutare esiti specifici di una popolazione definita da una patologia particolare, da una condizione, o esposizione, e che serve a più scopi scientifici, clinici e politici" [8].

In Italia l'AIFA ha instituito per primo il registro sui farmaci oncologici, per poi espandere l'esperienza ad altre aree come la reumatologia, la dermatologia, i farmaci orfani, la cardiologia, l'oftalmologia ed altri [9].

#### Registri regionali di monitoraggio

Nel 2013 il sistema dei registri di monitoraggio dell'AIFA ha subito una fase di implementazione del Sistema informatico, con lo scopo di migliorare l'efficienza della raccolta dei dati. L'implementazione ha visto il coinvolgimento delle regioni. Tuttavia, sebbene le regioni siano state attivamente responsabili della scelta dei centri prescrittori, dell'attivazione dei registri e dell'autorizzazione degli utenti (clinici, medici e farmacisti), non possono accedere a tutte le informazioni dei registri, se non opportunamente anonimizzate.

Poiché solo AIFA ha l'accesso completo alle informazioni dei registri e le regioni sono stranamente escluse, non è possibile condurre operazioni di *record linkage* con altri tipi di database. Così, per ridurre la mancanza di dati, alcune regioni come il Veneto, hanno creato i propri registri di monitoraggio per alcuni farmaci in modo da ottenerne il profilo di rischio.

Se i registri regionali di monitoraggio potessero essere integrati con quelli AIFA, si potrebbero avere dei quadri individuali relativi ai pazienti molto completi. Ovviamente, migliorando la comunicazione tra le regioni ed AIFA si potrebbero mettere in atto procedure che permettano alle regioni di ottenere dei dati, secondo la legge sulla privacy [10].

La cosa migliore sarebbe poter creare un registro unico gestito da AIFA, che possa assicurare alle regioni la possibilità di estrapolare dati, migliorare la conoscenza relativa ai farmaci e dare feedback sia ad i clinici che ai prescrittori [11].

Lo scopo di questo studio è stata la valutazione della situazione dei registri regionali di monitoraggio, ed in particolare la valutazione delle ADR e la loro connessione con la Rete Nazionale di Farmacovigilanza (RNF).

Angolo del master 39

#### Materiali

Registri

I registri di monitoraggio AIFA sono uno strumento che include la possibilità di avere informazioni sull'indicazione d'uso, dose e durata di terapia, ragioni per la sospensione della terapia, ed altre informazioni clinicamente rilevanti che riguardano i pazienti. Solo alcuni medici autorizzati possono prescrivere i farmaci contenuti nei registri di monitoraggio, e possono prescriverli ai pazienti eleggibili secondo criteri stabiliti da AIFA. In aggiunta, i registri includono anche informazioni riguardanti l'insorgenza delle ADR. Queste informazioni non sono trasferite automaticamente all'RNF quindi i medici vengono incoraggiati a compilare il form ADR della RNF e mandarlo ai responsabili locali di farmacovigilanza [12]. Vista l'importanza delle informazioni ricavabili dai registri e la non accessibilità da parte delle regioni, il veneto ha deciso di attivarne dei suoi per i farmaci biologici ed ha costituito un database per i nuovi antivirali ad azione diretta (DAA) per il trattamento dell'epatite C.

Registri biologici

La regione veneto ha creato i registri biologici per monitorare l'epidemiologia e la farmacoterapia delle patologie reumatiche, dermatologiche e gastroenterologiche identificando degli specialisti di reparto autorizzati alla prescrizione dei suddetti farmaci (Decreto 641/2013 of 7 maggio 2013). Poiché questi farmaci sono contenuti anche nei registri AIFA per alcune indicazioni terapeutiche, i medici oltre a dover compilare il registro AIFA per prescrivere questi farmaci, devono anche aggiungere i dati anagrafici dei pazienti al registro regionale di monitoraggio dei farmaci biologici.

I farmaci biologici utilizzati per un'indicazione terapeutica non contenuta nei registri AIFA vengono invece prescritti attraverso la compilazione del registro regionale. Quindi, il registro regionale dei farmaci biologici contiene i dati anagrafici di tutti i pazienti trattati con questo tipo di farmaci, ma informazioni dettagliate solo per quei pazienti che usano i farmaci biologici per indicazioni diverse da quelle del registro AIFA. Il registro permette di:

- · Creare un database.
- Ottenere il piano terapeutico per i farmaci biologici.
- Monitorare l'andamento dei trattamenti attraverso il cambiamento dei parametri clinici.
- Registrare le ADR.
- Monitorare la spesa [13].

I registri biologici, di ogni area terapeutica, consistono in sezioni differenti:

- Registrazione: informazioni anagrafiche, patologia, reparto ed anno di insorgenza della malattia. Ogni paziente viene riconosciuto attraverso l'assegnazione di un codice univoco.
- Prima valutazione: esami di laboratorio, esami strumentali, risultati di esami clinici, eleggibilità del paziente, terapie precedenti e prescrizione di farmaci concomitanti.
- Dispensazione: nome della specialità, autorizzazione al commercio, dosaggio, data di dispensazione dalla farmacia.
- Rivalutazione: esami di laboratorio, esami strumentali, risultati di esami clinici, switch ad un altro farmaco biologico contenuto nel registro, nuova prescrizione e ragioni del cambiamento della terapia.
- ADR: ADR verificatesi durante il trattamento. Sono report costituiti ad hoc che includono informazioni sulla data di insorgenza, descrizione della reazione, gravità e relativi criteri, esito, esami di laboratorio, farmaco sospetto, dosaggio, numero di lotto, via di somministrazione, dechallenge e rechallenge, durata del trattamento, farmaci concomitanti, informazione del segnalatore.
- Fine del trattamento: data della sospensione o della fine del trattamento e relative cause.

**NAVIGATORE** 

NAVIGATORE (Nuovi AntiVIrali per epatite C Gestione ATtravers0 un Registro degli Esiti) è il database creato per il monitoraggio dei DAA. Il Decreto n. 222 del 4 agosto 2015 [14] identifica i centri Hub e gli Spoke. I primi sono responsabili della prescrizione, distribuzione e monitoraggio dei trattamenti con i DAA, gli ultimi sono centri autorizza-

ti alla prescrizione dei trattamenti con Peg-interferone e ribavirina, ma sono obbligati ad interagire con gli Hub per riportare l'eleggibilità dei pazienti al trattamento con i DAA. Tutti i centri sono stati invitati a registrare nel database NAVIGATORE sia le caratteristiche, che l'eleggibilità dei pazienti secondo i criteri AIFA [15]. Data la recente immissione in commercio di questi farmaci, gli stessi sono monitorati attraverso i registri AIFA. Perciò i clinici devono compilare entrambe i registri sia per prescrivere i DAA che per seguire i pazienti in trattamento.

#### NAVIGATORE permette di:

- Supportare i clinici, identificati dal the Decreto regionale no. 224 del 30 dicembre 2014, alla prescrizione di questi nuovi farmaci.
- Facilitare e velocizzare la diffusione di informazioni legate all'utilizzo di questa nuova classe di farmaci.
- Fornire uno strumento ai clinici per evitare interazioni con terapie concomitanti.
- Dare indicazioni sul monitoraggio e la valutazione dei risultati legati agli schemi terapeutici applicati.
- Monitorare in tempo reale ed a vari livelli la quantità, la spesa ed i risultati dei trattamenti.
- Costituire un database epidemiologico per i risultati a lungo termine in veneto [15]. Il database NAVIGATORE è diviso in diverse sezioni:
- Scheda: contiene i dati essenziali dei pazienti, per esempio iniziali, sesso, età, genotipo, reparto, tipologia di trattamento precedente, comorbidità, criteri di eleggibilità 1-6 AIFA [15], sospensione o inizio del trattamento.
- Stato: contiene il peso del paziente, virologia, fibrosi ed evidenze biochimiche, stadio della patologia epatica e trattamenti concomitanti.
- Trattamento: basato sui criteri di eligibilità AIFA. Dipende dalla politica di prescrizione dello schema terapeutico secondo i criteri AIFA e AISF (Associazione Italiana per lo Studio del Fegato).
- Controllo dopo 4 settimane: cambiamenti del dosaggio e relative motivazioni, valutazioni strumentali (FibroScan) esami di laboratorio, conta dell'HCV RNA, obbligatorio per il proseguimento nella compilazione del registro. Rivalutazione del trattamento in base alla carica virale, ADR, dechallenge, modifica del protocollo o del dosaggio.
- Controllo a 8 e 12 settimane: vanno compilati gli stessi campi del paragrafo precedente.
- EOT (End Of Therapy check): esami di laboratorio e strumentali (FibroScan), valutazione della tollerabilità del trattamento.
- 12 settimane dopo EOT: esami di laboratorio e strumentali dopo 12 settimane dopo la fine del trattamento, risultati e follow-up. Lo stesso viene applicato a 24 settimane dalla fine del trattamento, ed ogni anno per o successivi 5 anni dalla fine del trattamento.

#### Metodi

Poiché uno degli obiettivi dello studio era di valutare il potenziale dei registri come strumento di sicurezza, il numero totale di ADR all'interno dei registri regionali è stato comparato con i report della RNF relativi alla regione Veneto. I report dei registri veneti mancanti nella RNF sono stati inseriti in RNF per evitare lacune e migliorare l'analisi del profilo di rischio dei farmaci monitorati.

#### Registri biologici

Nell'analisi è stato preso in considerazione il periodo compreso tra il primo settembre 2014 ed il 30 settembre 2016. Dopo aver scaricato i dati del database dei registri dei farmaci biologici veneto, sono stati valutati tutti i record riguardanti l'area reumatologica, gastroenterologica e dermatologica e sono state considerate tutte le ADR presenti all'interno dei registri. L'analisi dei report in RNF, invece, è stata condotta attraverso l'applicazione data warehousing VigiSegn, che ha permesso di verificare se i report erano stati inseriti in rete dai clinici [16].

Dopo questa analisi i report sono stati classificati arbitrariamente in:

 Report provenienti dai centri autorizzati con Double Entry (RDE): report trovati sia in RNF che nel registro dei biologici. Angolo del master 41

- Report provenienti dai centri autorizzati con *Single Entry* (RSE): presenti solo in RNF, ma non riportati nell'apposita sezione dei ADR dei registri dei biologici.
- Report provenienti da altre figure sanitarie (OTHER), non facenti parte dei centri autorizzati: report trovati in RNF provenienti da medici di medicina generale o farmacisti (ospedalieri o territoriali)

Infine le ADR presenti solo nei registri regionali sono state riportate in RNF. Grazie alla facilità di accesso ai registri ed alla possibilità di scaricare l'intero database, è stato possibile recuperare tutte le informazioni per completare il form ADR: informazioni dei pazienti, data di insorgenza, descrizione, gravità ed esito della reazione avversa, farmaco biologico sospetto, follow-up.

#### **NAVIGATORE**

Dal database NAVIGATORE è stato possibile analizzare solo un file, appositamente estrapolato, per il mese di luglio 2016. Il file mostrava: codice univoco paziente, età, sesso, centro prescrittore, trattamenti concomitanti, schema terapeutico e relativa durata, data di inizio terapia con i vari punti di controllo ogni 4 settimane, valutazione della tollerabilità alla fine del trattamento. Durante le visite di controllo dei pazienti, ogni 28 giorni, venivano registrati gli eventi avversi, insorti durante la terapia.

Attraverso VigiSegn sono state identificate le ADR nel registro, che erano già state riportate in RNF. Quindi, è stato deciso di inserire le mancanti in RNF.

Quello che si può dire sulla qualità dell'informazione è che erano sufficienti per riempire i campi obbligatori del modulo di segnalazione. Ma è stato deciso di adottare alcune regole per far fronte ad alcuni problemi. Ad esempio, è stato necessario chiedere il nome del ribavirina, quasi sempre presente tra i farmaci sospetti; la gravità dell'ADR, quando non espressamente indicata dai medici, è stata arbitrariamente attribuita sulla base dell'elenco IME (*Important Medical Event*). Infine, l'inizio dell'ADR è stato attribuito considerando la data di inizio terapia.

#### Risultati

I registri hanno rivelato una situazione importante dal punto di vista della farmacovigilanza.

#### Registri biologici

Nel periodo di studio sono state rilevate 14 ADR nei registri dei biologici.

- Dieci ADR su 4788 (pazienti) nell'area reumatologica; 5 già presenti in RNF e 5 (1 grave, 4 non gravi) aggiunte grazie a questo progetto.
- Nessuna ADR nell'area dermatologica, che include 939 pazienti.
- Quattro ADR su 1272 (pazienti) nell'area gastroenterologica. Una già presente in RNF, mentre 3 (tutte non gravi) inserite in rete grazie a questo progetto.

In RNF, grazie a VigiSegn, sono stati ritrovati 2514 report, di cui il 34,6% grave. Questi report erano relativi a ciascun farmaco presente nel registro regionale, per le tre aree terapeutiche nel periodo in esame. 150 report (16,7% grave), appartenevano alla regione veneto (**Tabella 1**).

Tabella 1 Numero di ADR in RNF tr	a settembre 2014 e settembre 2016.
-----------------------------------	------------------------------------

FARMAGI	REPORT ITALIANI		REPORT DEL VENETO	
FARMACI	Numero di Report	Percentuale Report gravi	Numero di Report	Percentuale Report gravi
ABATACEPT	319	29,46	15	13,30
ADALIMUMAB	483	33,95	19	10,52
ANAKINRA	17	17,64	0	0
CERTOLIZUMAB PEGOL	75	40	6	50
ETANERCEPT	447	34,22	17	23,52
GOLIMUMAB	136	31,61	8	0
INFLIXIMAB	651	37,48	60	15
RITUXIMAB	75	41,33	9	11,11
TOCILIZUMAB	246	34,95	12	25
USTEKINUMAB	60	36,66	3	33,33
SECUKINUMAB	2	0	0	0
VEDOLIZUMAB	3	33,33	1	0
TOTAL	2514	34,64	150	16,66

Solo 5 (3%) delle 150 erano presenti anche nei registri regionali; noi le abbiamo classificati come "RDE". I report classificati come "RSE" erano 100; mentre 45 sono stati classificati come "OTHER" (**Tabella 2**).

Tabella 2 Numero di REPORT in RNF divisi per farmaco, secondo la classificazione arbitraria, del Veneto.

	RDE	RSE	OTHER	
FARMACI	Report provenienti dai centri autorizzati con Double Entry	Report provenienti dai centri autorizzati con Single Entry	Report provenienti da altre figure sanitarie	
ABATACEPT	1	4	10	
ADALIMUMAB	0	10	9	
ANAKINRA	0	0	0	
CERTOLIZUMAB PEGOL	0	2	4	
ETANERCEPT	1	9	7	
GOLIMUMAB	2	1	5	
INFLIXIMAB	1	57	2	
RITUXIMAB	0	4	5	
TOCILIZUMAB	0	9	3	
USTEKINUMAB	0	3	0	
SECUKINUMAB	0	0	0	
VEDOLIZUMAB	0	1	0	
TOTAL	5	100	45	

#### **NAVIGATORE**

Come il registro AIFA mostra, nel giugno 2016, il numero di pazienti trattati con i DAA era 50282 [16]. Circa 3000 di questi pazienti erano trattati in Veneto e registrati anche nel database NAVIGATORE. Dal database abbiamo analizzato solo un file relativo al mese di luglio 2016, in cui ci erano riportati 203 pazienti. Sono stati estratti 136 sospette ADR, e solo 9 erano già stati registrati in RNF. Le restanti 128 sono state inserite in RNF con questa analisi. Nel periodo compreso tra gennaio 2015 (inizio del database regionale) e giugno 2016 (ultimo mese precedente estrazione di file di dati analizzati) sono stati trovati 1688 report in RNF relativi a tutti i DAA, di cui 53 dal veneto.

#### Discussione

I registri di monitoraggio sono una caratteristica rilevante del sistema di controllo dei farmaci in Italia, introdotti dall'AIFA nel 2005 al fine di monitorare sia la prescrizione e l'uso di farmaci innovativi a livello nazionale, sia il controllo del bilancio farmaceutico [17]. Potrebbero avere un impatto importante nel monitorare la sicurezza dei farmaci e potenzialmente ridurre l'uso inappropriato. Poiché sovraccaricano la quantità di lavoro dei prescrittori autorizzati, sono spesso considerati come un ulteriore dovere burocratico, senza alcuna relazione con la pratica clinica o con i benefici per i pazienti. L'Italia è tra i pionieri nello sviluppo di regimi di accesso a medicinali innovativi e a livello europeo l'interesse per tali strumenti è in aumento [18]. Poiché le regioni non sono autorizzate ad accedere ai registri AIFA e ad elaborare i loro dati, purtroppo la trasparenza e la conoscenza globale sono carenti, per cui i registri regionali diventano essenziali per la raccolta di informazioni sulle spese e sull'utilizzo connesso a tali farmaci innovativi. Innanzitutto, questo studio è stato condotto per cercare di valutare la situazione dei registri regionali, e per la prima volta è stato possibile esplorare le ADR dei registri regionali. I dati analizzati da entrambi i registri fanno emergere l'annosa questione della sotto segnalazione. Tuttavia, ci sono giustificazioni valide. A causa del fatto che, per la maggior parte delle volte, sia il registro biologici che NAVIGATORE richiedono la registrazione dei dati dei pazienti doppio, i medici non sono invogliati a compilare un ulteriore modulo per le ADR.

#### Registri biologici

Proprio nel registro regionale biologici, l'elevato numero di rapporti "RSE" potrebbe implicare una mancanza di attenzione da parte dei medici per completare la sezione appropriata del modulo ADR, ma in realtà questo avviene perché i medici preferiscono compilare direttamente il modulo ADR di AIFA. Ciò accade perché nel registro regionale i pazienti vengono trattati con farmaci monitorati diversamente. Se il farmaco

Angolo del master 43

non è incluso nel registro AIFA, i dati del paziente verranno registrati solo nel registro biologico regionale, mentre, se il farmaco è anche nel registro AIFA, per una specifica indicazione terapeutica, la procedura sarà diversa. Infatti, in questo caso i medici dovrebbero registrare la scheda anagrafica dei pazienti nel registro regionale, ma non possono procedere a completare ulteriori sezioni. In conclusione, questi pazienti saranno seguiti e monitorati attraverso il registro AIFA. Di conseguenza, i report "RSE" possono influenzare sia i pazienti presenti solo nel registro regionale che i pazienti seguiti dal registro AIFA. Di conseguenza, il numero di rapporti ADR nel registro biologico regionale mostra l'utilizzo ridotto di tale sistema come strumento di sicurezza. La maggior parte delle segnalazioni relative a farmaci biologici, incluse nel registro, AIFA o regionale, erano presenti in RNF e contribuiscono all'analisi dei segnali per quella classe di farmaci.

#### **NAVIGATORE**

Per quanto riguarda NAVIGATORE, che controlla tutti i nuovi DAA, va ricordato che questi farmaci sono inclusi anche nel registro AIFA. Pertanto, i medici sono obbligati a compilare il registro AIFA per prescrivere farmaci, ma devono anche completare NAVI-GATORE, come da decreto regionale. Ciò implica una perdita di tempo significativa per i medici, che si addiziona alla doppia compilazione del form ADR sia sul database che sulla RNF. In ogni caso, il database rappresenta uno strumento in cui sono mostrate le ADR, la maggior parte delle quali non sono registrate in RNF; quindi potrebbe essere considerata una valida fonte di informazioni sia per gli aspetti epidemiologici della sicurezza che per la valutazione delle ADR. Inoltre, NAVIGATORE offre la possibilità di avere maggiori informazioni rispetto al registro AIFA, in particolare considerando il follow-up dei pazienti ai vari controlli e alla fine della terapia. Tuttavia, per i medici che devono già compilare il registro AIFA, la compilazione accurata di NAVIGATORE diventa un lavoro oneroso, talvolta trascurato. Per questo motivo, è stata inviata alle varie unità operative una notifica regionale che ha invitato a compilare il più accuratamente possibile il database.

#### **Prospettive future**

In sintesi, i registri hanno dimostrato di essere uno strumento importante per migliorare l'uso corretto dei farmaci, con un impatto positivo sulla salute dei pazienti. I registri biologici regionali, e il database NAVIGATORE, condividono come obiettivi comuni: creare un database con un valore epidemiologico e rappresentare un sostegno essenziale alla programmazione regionale, in particolare in termini di spese sanitarie. Entrambi prevedono e consentono la raccolta di sospette ADR, garantendo la possibilità di utilizzarle come dispositivo di sicurezza. Comunque, questo non è strettamente applicabile a entrambi i sistemi di monitoraggio. Da un lato, il progetto NAVIGATORE rappresenta un buon sistema di raccolta per i report, in quanto per i DAA è molto più numeroso in questo database rispetto a quelli inclusi nell'RNF. NAVIGATORE può essere considerato un eccellente sistema per l'analisi delle ADR. D'altra parte, il registro biologico regionale è gestito in modo diverso in quanto controlla i farmaci che non sono inclusi nel registro AIFA e quei farmaci nel registro AIFA utilizzati per un'altra indicazione terapeutica. Di conseguenza, dal momento che il numero di ADR è inferiore nel registro regionale rispetto alla RNF, il registro biologico non presenta una grande utilità come dispositivo di sicurezza.

Da una prospettiva evolutiva, un notevole sforzo sarebbe integrare registri regionali con una sezione che consente di trasferire automaticamente le ADR direttamente alla RNF, al fine di preservare preziose informazioni e di razionalizzare una serie di procedure ripetitive.

In conclusione, fornirà maggiori informazioni sui farmaci, contribuirà a migliorare l'analisi dei segnali e ad effettuare una corretta valutazione del profilo rischio/beneficio.

#### **Bibliografia**

- [1] International Society of Drugs Bulletins. ISDB Declaration on therapeutic advance in the use of medicines ISDB Meeting. Paris: 2001. Disponibile su http://english.prescrire.org/Docu/Archive/docus/ISDBTherapAdvanceEN.pdf. Ultimo accesso il 01-02-2017.
- [2] AIFA Disponibile su http://www.agenziafarmaco.gov.it/it/content/registri-farmaci-sottoposti-monitoraggio. Ultimo accesso il 01-02-2017.

- [3] Siviero PD. Managed-entry agreements as a way of enabling patient access to innovation. Ejop. 2012; 6(3-4):30-31.
- [4] Traversa G, Sagliocca L, Magrini N, et al. A perspective for the role of drug registries in the post-marketing surveillance. Recenti Prog Med. 2013; 104: 280-287.
- [5] Klemp M, Frønsdal KB, Facey K. HTA i policy forum. What principles should govern the use of managed entry agreements? Int J Technol Assess Health Care. 2011; 27(1): 77-83.
- [6] Garrison LP, Towse A, Briggs A, et al. Performance-based risk-sharing arrangements Good practices for design, implementation, and evaluation: Report of the ISPOR Good Practices for Performance-Based Risk-Sharing Arrangements Task Force. Value Health. 2013; 16: 703-719.
- [7] Traversa G, Sagliocca L, Magrini N, Venegoni M. A perspective for the role of drug registries in the post-marketing surveillance. Recenti Prog Med. 2013; 104(6): 280-7.
- [8] Gliklich RE, Dreyer NA. Registries for Evaluating Patient Outcomes: A User's Guide. Agency for Healthcare Research and Quality (US). Settembre 2010.
- [9] Montilla S, Xoxi E, Russo P, et al. Monitoring registries at Italian medicines agency: fostering access, guaranteeing sustainability. Int J Technol Assess Health Care. 2015; 31(4): 210-213.
- [10] Traversa G. Auspicando un'intesa AIFA-Regioni per i dati dei registri AIFA. R&P 2015; 31: 162-163.
- [11] Pharmastar- II giornale on-line sui farmaci Disponibile su http://www.pharmastar.it/index.html?pgnav=12&id=3521. Ultimo accesso il 01-02-2017
- [12] Magro L, Arzenton E, Moretti U, Sottosanti L, Potenza S, Leone R. Italian monitoring registries: a tool for a safer use of innovative drugs? Data from the national pharmacovigilance system. Expert Opin Drug Saf. 2016; 15(sup2):69-75.
- [13] Regione del Veneto- Registro dei farmaci sottoposti a monitoraggio regionale Disponibile su http://registriveneto.cineca.org/registri\_monitoraggio.htm. Ultimo accesso il 01-02-2017.
- [14] Veneto Decree n. 222 del 4 agosto 2015 Linee di utilizzo regionali per l'impiego dei nuovi farmaci antivirali ad azione diretta nella terapia dell'Epatite C cronica. [Cited 2017 Feb 01] Disponibile su http://www.ulss16.padova.it/all/Linee\_indirizzo\_HCV.pdf. Ultimo accesso il 01-02-2017.
- [15] AIFA Disponibile su http://www.agenziafarmaco.gov.it/it/content/aggiornamento-epatite-c. Ultimo accesso il 01-02-2017.
- [16] PROGETTO "NAVIGATORE" Disponibile su http://quovadis-ass.it/page10/
- [17] VigiSegn, Analisi dei dati della Rete Nazionale di Farmacovigilanza Available from https://vigisegn.vigifarmaco.it/pentaho/Home. Ultimo accesso il 01-02-2017.
- [18] Palozzo AC. New drugs-how much are they worth? The Italian registries: a model to evaluate appropriateness and effectiveness. Eur J Hosp Pharm. 2012; 19:398–403.