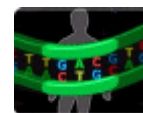


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 77 – Ottobre 2015**

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Vemurafenib in tumori con mutazioni di *BRAF V600* diversi dal melanoma
- Il microRNA-143 è un possibile fattore predittivo per la risposta a chemioterapia basata sulle fluoropirimidine in pazienti con cancro al colon metastatico
- Associazione di polimorfismi a singolo nucleotide presenti in *IL8* e *IL13* con la tossicità indotta da sunitinib in pazienti con carcinoma renale metastatico

⇒ Neurologia

- Studio farmacogenetico dei genotipi 5HT2a e del trasportatore della serotonina nell'autismo
- Associazione di una variante di suscettibilità alla schizofrenia nel locus DRD2 con la risposta al trattamento con antipsicotici in pazienti al primo episodio di psicosi

⇒ Asma

- L'analisi del trascrittoma di pazienti con asma infantile controllata e resistente alla terapia rivela profili di espressione genica distinti

⇒ Immunomodulazione

- Il polimorfismo rs763780 del gene IL-17F è associato alla risposta terapeutica ai farmaci biologici nei pazienti psoriasici

⇒ Oculistica

- Una variante genetica nel gene NRP1 è associata ad una risposta peggiore al trattamento con ranibizumab nella degenerazione maculare legata all'età neovascolare

ONCOLOGIA

VEMURAFENIB IN TUMORI CON MUTAZIONI DI *BRAF V600* DIVERSI DAL MELANOMA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Le mutazioni di *BRAF V600* vengono riscontrate in circa il 50% dei melanomi, e comportano l'attivazione costitutiva della via di segnalazione delle proteine chinasi attivate da mitogeni (MAPK) (Davies H et al. *Nature* 2002,417:949-54; Curtin JA et al. *N Engl J Med* 2005,353:2135-47). Il vemurafenib è un inibitore selettivo orale della chinasi *BRAF V600* ed il suo utilizzo ha dimostrato un tasso di risposta di circa il 50% ed un prolungamento della sopravvivenza in pazienti con melanoma metastatico con mutazione *BRAF V600E* (Chapman PB et al. *N Engl J Med* 2011,364:2507-16). Mutazioni del *BRAF V600* sono state riscontrate in diverse patologie tumorali, tra cui carcinoma colo-rettale, carcinoma polmonare non a piccole cellule, carcinoma papillare della tiroide, gliomi diffusi, colangio-carcinoma, con un'incidenza inferiore al 5%. In alcuni di questi tumori la presenza della mutazione è stata associata con un fenotipo aggressivo e sopravvivenze ridotte (Tol J et al. *N Engl J Med* 2009,361:98-9; Marchetti A et al. *J Clin Oncol* 2011,29:3574-9). L'efficacia del vemurafenib in questi tumori non è stata valutata sistematicamente ed è difficile condurre studi specifici per patologia, considerata la bassa frequenza della mutazione e la rarità di alcuni tipi tumorali.

È stato pertanto disegnato uno studio *basket* di fase 2 precoce, indipendente dalla istologia, per valutare l'uso di vemurafenib in pazienti con tumori diversi dal melanoma con mutazioni del *BRAF V600*.

Lo studio ha incluso 6 coorti di pazienti con tumori pre-specificati (tumore polmonare non a piccole cellule, carcinoma ovarico, carcinoma del colon-retto, colangio-carcinoma, carcinoma della mammella, mieloma multiplo) ed una settima coorte in cui potevano rientrare pazienti con qualsiasi altro tumore con mutazione *BRAF V600*. Criteri di inclusione aggiuntivi comprendevano malattia misurabile secondo i criteri RECIST ed un ECOG *performance* status da 0 a 2. Pazienti precedentemente trattati con inibitori di *BRAF* o *MEK* non erano eleggibili come anche i pazienti con melanoma, carcinoma papillare della tiroide, leucemia o linfoma. I pazienti con carcinoma papillare della tiroide e quelli con leucemia a cellule chiare sono stati esclusi poiché l'incidenza di mutazioni risulta sufficientemente alta da permettere studi specifici per patologia. L'efficacia è stata valutata sulla base del tasso di risposta a 8 settimane. Sulla base del numero di soggetti arruolati sono state aggiunte due coorti: quella dei pazienti con malattia di Erdheim-Chester o istiocitosi a cellule di Langerhans e quella del tumore anaplastico della tiroide.

Tra l'aprile 2012 ed il giugno 2014 sono stati arruolati da 23 centri in tutto il mondo 122 pazienti con carcinomi *BRAF V600* mutati. I tumori più comuni sono risultati il carcinoma del colon-retto (n=37), il carcinoma polmonare non a piccole cellule (n=20), la malattia di Erdheim-Chester o istiocitosi a cellule di Langerhans (n=18), i tumori primari al cervello (n=13), il colangio-carcinoma (n=8), il carcinoma anaplastico della tiroide (n=7) ed il mieloma multiplo (n=5). La coorte del carcinoma della mammella è stata chiusa per arruolamento insufficiente ed è stata compresa nella coorte aspecifica. Un'attività clinica, incluse risposta parziale o completa, regressione tumorale e prolungata stabilizzazione, sono state osservate in diversi tipi tumorali. Nei pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule sono state osservate 8 risposte parziali su una coorte di 20, con una risposta oggettiva del 42% e regressione tumorale in 14 pazienti; la progressione libera da malattia era di 7,3 mesi e la mediana di sopravvivenza globale non è stata raggiunta, mentre il tasso di sopravvivenza globale a 12 mesi era del 66%. Tra i pazienti con malattia di Erdheim-Chester o istiocitosi a cellule di Langerhans sono state rilevate 1 risposta completa e 5 risposte parziali nella coorte di 18 pazienti, con un tasso di risposta del 43%, mentre una regressione della patologia è stata riscontrata in 12 pazienti; la durata media del trattamento è stata di 5,9 mesi e nessuno dei pazienti ha interrotto il trattamento per progressione, mentre 4 pazienti hanno interrotto il trattamento per eventi avversi; le mediane di sopravvivenza libera da malattia e globale non sono state raggiunte; il tasso di sopravvivenza a 12 mesi era del 91% e la sopravvivenza globale a 12 mesi del 100%. Una risposta completa ed una risposta parziale sono state riscontrate nella coorte di 7 pazienti con carcinoma anaplastico della tiroide, mentre una risposta parziale in una coorte di 8 pazienti con colangio-carcinoma. L'attività del vemurafenib è risultata insufficiente nei pazienti con carcinoma colo-rettale con mutazione del *BRAF V600* (nessuna risposta è stata osservata in questa coorte, con una progressione libera da malattia di 4,5 mesi e una sopravvivenza globale di 9,3 mesi), confermando i risultati di uno studio precedente di fase I (Kopetz S et al. *J Clin Oncol* 2010,28;Suppl:15s. abstract). Dati di laboratorio suggeriscono che la resistenza nel carcinoma colo-rettale potrebbe essere mediata dall'attivazione della via di segnalazione dell'EGFR (Prahallad A et al. *Nature* 2012,483:100-3; Corcoran RB et al. *Cancer Discov* 2012,2:227-35). Per questo lo studio è stato modificato per includere una valutazione della sicurezza e dell'efficacia della combinazione tra il vemurafenib ed il cetuximab. In questa coorte è stata osservata una risposta, anche se non sono stati soddisfatti i criteri di

risposta parziale. La progressione libera da malattia era di 3,7 mesi, e la sopravvivenza globale di 7,1 mesi. Tra i 4 pazienti con xantastrocitoma anaplastico pleomorfo, 3 hanno avuto una risposta parziale. Una risposta è stata osservata anche in un paziente con tumore del dotto salivare, sarcoma dei tessuti molli e carcinoma ovarico. Una regressione tumorale, che non possedeva i criteri di risposta, è stata osservata in 3 pazienti con glioblastoma ed in uno con ependimoma anaplastico, uno con carcinoma del pancreas e uno con carcinoma di origine non nota. Nessun paziente con mieloma multiplo ha avuto una risposta. Gli eventi avversi sono risultati simili a quelli riscontrati in studi precedenti sul melanoma, in particolare rash (68% dei pazienti), fatica (56%) e artralgia (40%).

Gli studi *basket*, grazie al disegno statistico flessibile con l'aggiunta di una coorte di pazienti con qualsiasi tipo di tumore non pre-specificato, consentono l'identificazione di attività in tumori rari, da confermare in studi successivi o con un aumento del campione nello stesso studio. I risultati di questo studio mostrano una modesta attività del vemurafenib in tumori che sporadicamente esprimono la mutazione *BRAF V600*. Il farmaco ha mostrato efficacia in pazienti con tumore al polmone non a piccole cellule precedentemente trattati con regimi a base di platino, in cui il tasso di risposta è stato del 42%, migliore del 7% di risposta riportato per una seconda linea con docetaxel. In pazienti con malattia di Erdheim-Chester o istiocitosi a cellule di Langerhans, patologia che non ha farmaci approvati per gli adulti, il tasso di risposta è stato del 43%, e nessuno dei pazienti ha avuto progressione durante il trattamento, suggerendo che l'inibizione del BRAF in questi pazienti potrebbe essere clinicamente significativa. Considerata la mancata risposta in pazienti con carcinoma del colon-retto, il protocollo è stato modificato per valutare l'associazione del vemurafenib con cetuximab. Tuttavia l'attività modesta di questa combinazione potrebbe essere influenzata dall'alta percentuale di pazienti già precedentemente trattati con anti-EGFR. Pertanto l'inibizione combinata di EGFR e BRAF in carcinomi del colon-retto con mutazione di *BRAF V600*, merita ulteriori valutazioni. La presenza di una risposta in singoli casi con diversi tipi tumorali deve essere valutata con cautela. I dati di questo studio mostrano che i tumori con mutazioni di *BRAF V600* non rispondono uniformemente alla terapia specifica per BRAF.

In conclusione, da questo studio emerge che *BRAF V600* può rappresentare un target in diverse patologie tumorali che presentano la mutazione, ma non in tutte. Sono necessari ulteriori studi per confermare i dati ottenuti in questo studio *basket*.

Parole chiave: tumori diversi dal melanoma, *BRAF V600*, vemurafenib

Riferimento bibliografico

[Hyman DM](#) et al. *N Engl J Med* 2015, 373(8): 726-36

IL MICRORNA-143 È UN POSSIBILE FATTORE PREDITTIVO PER LA RISPOSTA A CHEMIOTERAPIA BASATA SULLE FLUOROPIRIMIDINE IN PAZIENTI CON CANCRO AL COLON METASTATICO

A cura della dott.ssa Gloria Ravegnini

Da oltre 40 anni, la chemioterapia basata sulle fluoropirimidine è impiegata nel trattamento dei pazienti con CRC metastatico (mCRC) ed ha significativamente prolungato la sopravvivenza. Tuttavia, una percentuale significativa di soggetti trattati può non rispondere al trattamento oppure manifestare tossicità. Pertanto, l'identificazione di biomarkers che permettano di differenziare i pazienti in responsivi e non, faciliterebbe l'ottimizzazione dell' *health care*. I microRNA sono delle molecole di RNA non codificante in grado di regolare l'espressione genica a livello post-trascrizionale. Codificati dal genoma come lunghi trascritti, i miRNA subiscono un processamento enzimatico nel nucleo, ad opera di Drosha, e nel citoplasma, ad opera di Dicer, per divenire miRNA maturi di circa 22 nucleotidi. I miRNA possono influenzare importanti processi biologici come crescita, proliferazione e differenziazione cellulare e la loro deregolazione è associata a tumorigenesi e progressione tumorale. Lo scopo di questo studio è stato quello di identificare fattori predittivi per la risposta alla chemioterapia basata sulle fluoropirimidine in pazienti affetti da mCRC.

Nello specifico, gli autori si sono focalizzati sul pathway che porta alla maturazione dei microRNA, ed analizzato l'espressione di Dicer e di 22 miRNAs che studi precedenti avevano associato al rischio di mCRC.

Nello studio sono stati inclusi un totale di 243 pazienti facenti parte di un trial multicentrico di fase III (CAIRO study-ClinTrials.gov NCT00312000). I pazienti erano in trattamento di prima linea con capecitabina. Allo scopo di valutare l'influenza dell'espressione di Dicer sulla *progression free survival* (PFS) è stata eseguita una prima analisi immunostochimica (IHC) per la suddetta proteina sui 243 casi. Di questi, solo 6 mostravano un forte staining, mentre la maggior parte presentava un'espressione debole con nessuna associazione con PFS. Successivamente, per 55 pazienti è stato valutato il livello di espressione di 22 microRNA nel tessuto tumorale e normale. Di questi, 5 (miR34a, miR-93, miR-19b, miR-92a and miR-125b) non hanno mostrato differenze significative tra tumore e controparte normale, mentre 17 miRs (miR-16, miR-18a, miR-21, miR26b, miR31, miR103, miR137, miR140, miR143, miR145, miR148, miR191, miR192, miR215, miR222, let7a e let7g) sono risultati significativamente differenti. Per 43 pazienti sono state collezionate sia le informazioni sull'analisi IHC per Dicer sia per l'espressione dei miRNAs ed è stata osservata una correlazione positiva tra miR21 e miR26b e l'espressione proteica di Dicer.

Per determinare l'associazione tra espressione miRNA e PFS, i pazienti sono stati stratificati in base ai livelli espressione per ciascun miRNA (utilizzando il valore della mediana come cut-off), ed analizzato i dati relativi a PFS mediante curve di Kaplan-Meier ed analisi multivariata. Relativamente a miR143, i risultati hanno mostrato che la PFS media per il gruppo di pazienti con bassa espressione era di 9 mesi (95%CI:7-11), mentre per il gruppo con espressione elevata era di 5 mesi (95%CI:4-8). Inoltre, le curve di Kaplan-Meier hanno mostrato che bassi livelli di espressione nel tessuto tumorale erano associati a prolungata PFS (*adjusted p value*=0.012). L'analisi multivariata di Cox ha poi confermato che miR-143 era un predittore di PFS. Una volta identificata l'associazione miR-143/PFS, è stato predetto il gene FXYD3 come possibile bersaglio di miR-143, utilizzando i dati di espressione forniti del portale TCGA. L'analisi dell'associazione tra espressione di FXYD3 e PFS ha infine evidenziato una correlazione tra livelli elevati della proteina e aumentata PFS (*p-value*=0.035).

FXYD3 fa parte di una famiglia di proteine regolatorie delle pompe sodio-potassio ed è stato ipotizzato che FXYD3 possa influenzare indirettamente i meccanismi di trasporto alla base del processo di uptake delle fluoropirimidine o dei loro metaboliti. Pertanto, una variazione dell'espressione di FXYD3 potrebbe alterare il trasporto della fluoropirimidina, con conseguente variazione della risposta clinica o comparsa di tossicità. È interessante sottolineare che i livelli miRNA-143 sono stati associati al potenziale metastatico nel cancro al colon (Chen DT et al. *J Gastrointest Surg* 2012,16(5):905-12), ma non era stata ancora valutata la correlazione con la risposta clinica alla chemioterapia basata su fluoropirimidine. Malgrado siano necessari ulteriori ricerche per confermare il ruolo predittivo di miRNA-143, questo studio pone le basi per l'identificazione di possibili nuovi meccanismi di azione delle fluoropirimidine.

In conclusione, questo studio ha evidenziato un'associazione significativa tra espressione di microRNA-143 e PFS, nei pazienti con carcinoma coloretale metastatico dopo trattamento con chemioterapia basata su fluoropirimidine.

Parole chiave: cancro al colon metastatico, chemioterapia basata sulle fluoropirimidini, microRNA-143

Riferimento bibliografico

[Simmer F](#) et al. *Oncotarget* 2015, 6(26):22996-3007.

ASSOCIAZIONE DI POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE PRESENTI IN *IL8* E *IL13* CON LA TOSSICITÀ INDOTTA DA SUNITINIB IN PAZIENTI CON CARCINOMA RENALE METASTATICO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Nel corso degli anni sono state approvate numerose *target-therapy* per il trattamento del carcinoma renale metastatico (mRCC); fra queste, l'inibitore tirosin chinasi (TKI) sunitinib è spesso impiegato come trattamento di prima linea. Solo il 35% dei pazienti trae benefici dal trattamento con sunitinib e circa il 30% necessita di una riduzione di dose in seguito all'insorgenza di reazioni avverse. A causa di queste ridotte percentuali, sarebbe clinicamente rilevante poter prevedere per ciascun paziente l'esito clinico nell'iniziale approccio alla terapia.

Numerosi studi hanno evidenziato l'associazione fra tossicità ed efficacia terapeutica di questo inibitore, nei pazienti affetti da mRCC, con gli SNPs e gli aplotipi presenti in CYP1A1, CYP3A5, ABCB1, ABCG2, NR1I3, VEGFA, VEGFR1, NOS3, VEGFR2, VEGFR3 e FLT3. Inoltre, recentemente sono stati trovati alcuni SNPs presenti in CYP3A4, NR1I2, POR, IL8 IL4-R, IL13, HIF1A e MET, che si pensa abbiano un ruolo fondamentale nell'influenzare l'esito clinico del trattamento con sunitinib. L'allele T dello snp rs35599367 di CYP3A4 è associato con una diminuzione della clearance di sunitinib, mentre l'allele T di rs3814055 su NR1I2 porta ad una riduzione dei mesi di sopravvivenza privi di ricadute (PFS) per lo stesso trattamento.

I dati ottenuti per questo studio sono stati raccolti da 3 studi esplorativi (SUTOX, SOGUG e CCF); sono stati arruolati 374 pazienti affetti da mRCC e trattati con sunitinib per via orale, partendo da una dose iniziale di 50mg, 37.5mg o 25mg al giorno, generalmente somministrato in un regime di 4 o 2 settimane. Per dimostrare l'efficacia sono state impiegate la PFS (sopravvivenza libera da progressione), intesa come tempo (in mesi) trascorso fra il primo giorno di somministrazione e il giorno in cui è comparsa progressione (PD), e la OS (sopravvivenza globale), intesa come tempo trascorso fra il primo giorno di trattamento e il successivo follow-up o, eventualmente, il giorno della morte. Il responso clinico obiettivo è stato suddiviso in tre sottoclassi: risposta parziale e completa, stabilità della patologia, e progressione della stessa. Fra gli eventi avversi provocati da sunitinib, fra cui troviamo trombocitopenia, leucopenia, infiammazione alle mucose e ipertensione, sono state raccolte quelle di grado >2. 143 pazienti (45%) hanno mostrato una risposta parziale (PR) o completa a sunitinib; il 95.7% non presentava tossicità all'inizio del trattamento, mentre, dopo 4 cicli di terapia, il 61% dei pazienti ha mostrato un qualche grado di trombocitopenia, il 59% ha mostrato infiammazione alle mucose, il 49% leucopenia e il 38% ipertensione. Fra questi, il 26% ha sviluppato una tossicità >grado 2; le medie di PFS e OS sono state calcolate in 16 e 26 mesi rispettivamente.

Tutti gli SNPs sono risultati in equilibrio di Hardy-Weinberg, e non sono emerse associazioni significative fra i polimorfismi e PFS, OS e risposta oggettiva al trattamento. Anche se non statisticamente significativo, è stato evidenziato che i portatori dell'allele A, nello SNP con rs11762213 di MET, hanno una migliore PFS se comparati con i corrispondenti *wild-type* GG. Inoltre, in un'analisi multivariata di tossicità, è emerso che l'allele T di rs1126647 (IL8) è associato ad un maggior rischio di ipertensione se paragonato al wt AA, mentre la presenza di un allele T in rs18925 di IL13 è associato ad un aumentato rischio per la leucopenia e per qualunque altra tossicità con grado >2.

L'ipertensione è una tossicità frequentemente causata dall'impiego di TKI, e il meccanismo, potenzialmente, potrebbe prevedere l'inibizione di VEGFR-2 e un successivo decremento di ossido nitrico, provocanti, in sincrono, vasocostrizione e conseguente innalzamento pressorio. IL8, aumentando l'espressione di VEGF attraverso NFkappaB, potrebbe giocare un ruolo essenziale nello stimolare l'attivazione di VEGFR2. I risultati di questo studio hanno evidenziato che i portatori della variante rs1800925T del gene IL13 presentano un incrementato rischio di contrarre leucopenia, un evento avverso molto comune fra i pazienti trattati con sunitinib, il cui meccanismo risulta tuttora sconosciuto. In uno studio condotto da Shen e colleghi (*PLoS One*, 2008), è stato riportato che VEGFR2 può essere upregolata da IL13 e, in particolare, rs1800925 si è dimostrato essere associato con un'incrementata funzionalità della proteina. Se, effettivamente, varianti alleliche di IL8 e IL13 alterano l'espressione proteica e hanno un'influenza su VEGFR2, una forte inibizione di questo recettore in concomitanza con l'utilizzo di sunitinib, potrebbe spiegare i risultati di questo studio circa l'alto rischio di sviluppare tossicità, incluse ipertensione e leucopenia. Tuttavia, lo studio presenta solo scoperte esplorative senza ulteriori validazioni esterne, e i soggetti in esame sono quasi tutti caucasici. Per questi motivi risulta molto difficile una estrapolazione dei risultati all'intera popolazione di mRCC. Sono pertanto necessari studi di validazione, e, in aggiunta, studi sulla regolazione specifica di VEGF(R) al fine di determinare i meccanismi coinvolti nell'insorgenza di eventi avversi al trattamento con l'inibitore tirosin chinasi.

In conclusione, i risultati di questo studio suggeriscono una possibile correlazione fra varianti geniche delle interleuchine, IL8 e IL13, e lo sviluppo di reazioni avverse come conseguenza al trattamento con sunitinib.

Parole Chiave: Inibitori tirosin chinasi; sunitinib; carcinoma renale metastatico; SNPs,

Riferimento bibliografico

[Diekstra MH](#) et al. *Eur J Clin Pharmacol* 2015 Sep 21 [Epub ahead of print]

NEUROLOGIA

STUDIO FARMACOGENETICO DEI GENOTIPI 5HT2A E DEL TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA NELL'AUTISMO

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'insistenza sulla ripetitività (*insistence on sameness*, IS) è un aspetto dei disordini comportamentali dello spettro autistico (*autism spectrum disorder*, ASD). È stato ipotizzato che una disregolazione della serotonina possa contribuire alla patologia ed alla severità dell'IS; si è pensato che i pazienti con ASD e IS possano quindi beneficiare di terapie con farmaci che agiscono sulla serotonina, quali gli inibitori della ricaptazione della serotonina (SSRIs). Anche se non sono formalmente indicati nell'ASD, gli SSRIs, come l'escitalopram, sono frequentemente utilizzati nella pratica clinica. Sebbene efficaci per molti pazienti con ASD, la risposta agli SSRIs in questa popolazione è variabile. Alcuni pazienti con ASD hanno effetti collaterali, quali agitazione, aumento dell'irritabilità o insonnia, mentre altri non mostrano alcun miglioramento dei sintomi. La variabile risposta agli SSRIs può essere in parte causata da polimorfismi genetici di due geni che influiscono sul *signaling* della serotonina. Il gene trasportatore della serotonina *SLC6A4* (anche noto come *5HTTLPR*) e il gene del recettore della serotonina 2A, *HTR2A*, sono stati implicati nella risposta al trattamento e nella tollerabilità agli SSRIs. McMahon e collaboratori hanno dimostrato una forte associazione tra lo SNP di *HTR2A*, rs7997012, e l'efficacia del trattamento con SSRIs nella depressione. L'obiettivo del presente studio è testare l'ipotesi che i genotipi *SLC6A4/5HTTLPR* o *HTR2A* rs7997012 siano associati alla risposta e alla tollerabilità all'escitalopram nei soggetti con ASD.

Sono stati selezionati 44 pazienti che soddisfacevano i criteri del manuale statunitense diagnostico e statistico dei disordini mentali (DSM-IV-TR) per la diagnosi di ASD. Sono stati somministrati test cognitivi diversi sulla base delle capacità cognitive del soggetto: la *Differential Ability Scales* è stata la misura preferenziale, la *Mullen Scales of Early Learning* è stata utilizzata per i soggetti con minori capacità cognitive e la *Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence* per i soggetti con maggiori capacità cognitive di età ≥ 18 anni.

I sintomi target sono stati valutati tramite la *Repetitive Behavior Scale-Revised* (RBS-R) e l'*Aberrant Behavioral Checklist-Community Version* (ABC-CV), che sono state compilate da coloro che assistevano i soggetti sulla base di osservazioni rilevate la settimana precedente. Il punteggio della sottoscala relativa all'irritabilità, ABC-CV irritabilità (ABC-CV-IRR), e la somma dei punteggi della sottoscala RBS-R *Compulsive Behavior Subscale* e *Ritualistic/Sameness Behavior Subscale* (RBS-R-CRS) sono stati usati come misura primaria per valutare i risultati.

Per essere inclusi nello studio i soggetti dovevano avere un punteggio minimo di gravità di 5 alla RBS-R-CRS. In aggiunta, è stata registrata anche la *Clinical Global Impressions (CGI) Severity Scale*.

Il trattamento con escitalopram è stato disegnato *open-label* per una durata di 6 settimane. Tutti i soggetti hanno iniziato con una dose di 2.5 mg di escitalopram all'inizio della settimana 1 dello studio. In assenza di effetti collaterali, la dose è stata aumentata a 5 mg per la settimana 2, poi a 10 mg per la settimana 3, a 15mg per la settimana 4 e a 20 mg per le settimane 5 e 6. Al termine di ogni settimana, ai genitori è stato chiesto di completare ed inviare al centro l'ABC-CV e il RBS-R che rifletteva il comportamento del soggetto durante la settimana precedente. Se i punteggi mostravano la comparsa di effetti collaterali la dose veniva diminuita alla dose precedentemente tollerata, per tutta la durata dello studio. I soggetti sono stati visitati inizialmente il

primo giorno (in cui è iniziata la terapia farmacologica), alla fine della settimana 3 ed alla fine della settimana 6.

La genotipizzazione per *5HTTLPR* è stata effettuata esaminando le versioni frequentemente studiate *long* e *short* di *5HTTLPR*. I gruppi SL e LL sono stati raggruppati e denominati *not-SS*, in contrasto con il gruppo SS (SS: n = 11; non-SS: n = 33). La genotipizzazione dello SNP *HTR2A* rs7997012 è stata effettuata tramite *TaqMan Assay* (*Applied Biosystems/Life Technologies*).

Lo studio è stato completato da 39 dei 44 soggetti reclutati. Dei 39 soggetti che hanno completato lo studio, 33 hanno tollerato la dose massima di 20 mg fino alla fine dello studio. Esaminando i punteggi RBS-R-CRS e ABC-CV nei diversi gruppi di genotipo è stato osservato al *baseline* che i soggetti *5HTTLPR* non-SS avevano punteggi di irritabilità migliori all'ABC-CV-IRR rispetto al gruppo SS (p = 0.013).

I risultati hanno mostrato effetti significativi per tutti i modelli, indicando che quando la popolazione dello studio veniva esaminata globalmente, l'IS e i sintomi di irritabilità miglioravano in misura significativa lungo il corso delle 6 settimane di trattamento (p < 0.0001).

Quando i risultati del trattamento sono stati esaminati in funzione dei gruppi *5HTTLPR* (SS n = 11 vs. not-SS n = 33) il cambiamento dei sintomi nelle 6 settimane non differiva tra i gruppi. Un effetto significativo del genotipo SS è stato osservato nei punteggi ABC-CV-IRR (p = 0.048), indicativo di punteggi di irritabilità più alti (peggiori) nel gruppo SS; la differenza osservata al *baseline* è stata dunque mantenuta per tutto il corso dello studio).

Il miglioramento del RBS-R-CRS in funzione del genotipo *HTR2A* rs7997012 era inoltre simile tra i gruppi (GG, AG e AA). Non sono state osservate differenze significative nel tasso di miglioramento dell'irritabilità, dalla settimana 0 alla settimana 6, in funzione del genotipo *HTR2A*.

Nel presente studio non sono state rilevate differenze significative nella risposta clinica all'escitalopram (misurata tramite le scale RBS-R e ABC-CV) relativamente ai diversi genotipi di *5HTTLPR* o *HTR2A* rs7997012. Uno studio precedente ha rilevato invece una diminuzione più piccola (minore risposta) dell'irritabilità, valutata con l'ABC-CV, nel gruppo *5HTTLPR* SS rispetto ai gruppi SL e LL. Un altro studio non solo ha mostrato che i soggetti con genotipo SS avevano una minore risposta, misurata con la CGI *Severity scale*, ma anche che l'allele S era associato ad un miglioramento significativo del linguaggio alla *Behavioral Assessment Scale* (BAS).

Le ragioni della discrepanza tra questi dati della letteratura ed i risultati del presente studio non sono chiari: tuttavia, in questo studio il campione esaminato è composto da soggetti di età lievemente maggiore rispetto agli studi precedenti e con una composizione etnica differente.

Le limitazioni del presente studio sono rappresentate dal campione limitato di soggetti, dalla natura *open-label* del trattamento farmacologico, dal relativamente ampio *range* di età considerato e dall'eterogeneità etnica.

In conclusione, nel presente studio non sono state rilevate associazioni significative tra la risposta clinica all'escitalopram ed i genotipi *SLC6A4* *5HTTLPR* o *HTR2A* rs7997012 nei soggetti con disturbi dello spettro autistico.

Parole chiave: autismo, escitalopram, serotonina, *SLC6A4*, *HTR2A*

Riferimento bibliografico

[Najjar F](#) et al. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2015, 25: 467-74.

ASSOCIAZIONE DI UNA VARIANTE DI SUSCETTIBILITÀ ALLA SCHIZOFRENIA NEL LOCUS *DRD2* CON LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON ANTIPISICOTICI IN PAZIENTI AL PRIMO EPISODIO DI PSICOSI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Lo studio di *genome-wide association* (GWA) condotto dallo Psychiatric Genomics Consortium (PGC) ha consentito di individuare 108 locus associati al rischio di schizofrenia. Tuttavia, il significato funzionale di

queste varianti rimane, in gran parte, sconosciuto. Uno tra i locus potenzialmente più rilevanti per il trattamento della schizofrenia è quello del gene che codifica per il recettore dopaminergico D2 (DRD2), che rappresenta un bersaglio di tutti gli antipsicotici attualmente in uso. A livello di questo locus, il polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) maggiormente associato con la schizofrenia nei risultati del PGC è rs2514218, che si trova 47 Kb a monte del *DRD2*. Nonostante gli antipsicotici rappresentino i farmaci di prima scelta nel trattamento della schizofrenia e dei disturbi psicotici correlati, molti pazienti interrompono la terapia o sono costretti a modificare il regime terapeutico per mancanza di efficacia e/o sviluppo di reazioni avverse. Attualmente, non esistono *marker* che predicano in maniera affidabile la risposta al trattamento con antipsicotici, e la scelta del farmaco è particolarmente difficile per i pazienti al primo episodio di psicosi. L'azione dei farmaci antipsicotici sul recettore DRD2 è associata specificatamente con la riduzione dei sintomi positivi, come deliri e allucinazioni, ma è molto meno efficace nella riduzione dei sintomi negativi e cognitivi. Inoltre, il blocco dei recettori D2 è associato ad un aumento del rischio di effetti avversi come sintomi extrapiramidali (EPS) e acatisia. Sulla base di queste evidenze, gli autori dello studio hanno valutato l'associazione tra la variante rs2514218, la risposta al trattamento con antipsicotici e lo sviluppo di effetti avversi in un campione di pazienti al primo episodio di psicosi e, nello specifico, hanno ipotizzato che lo SNP potesse giocare un ruolo nel miglioramento dei sintomi positivi.

Il campione dello studio era costituito da un subset di 100 pazienti reclutati tra i partecipanti di un trial clinico multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, che ha messo a confronto il trattamento con aripiprazolo e risperidone in pazienti con schizofrenia, disturbo schizoaffettivo, disturbo schizofreniforme o disturbo psicotico non altrimenti specificato (NAS), al primo episodio di psicosi. Il campione di 100 pazienti che hanno partecipato ad entrambi gli studi, clinico e genetico, comprendeva 75 uomini e 25 donne (età media: 21,5 anni, range: 15 - 39). Il 24% dei partecipanti era *antipsychotic naive* e nessun paziente era stato esposto in precedenza al trattamento con antipsicotici per più di due settimane. I pazienti sono stati reclutati nelle aree di New York, San Antonio, Texas e Calgary, Alberta, Canada. I partecipanti sono stati stratificati in base a sito di reclutamento, precedente esposizione agli antipsicotici (nessuna / presente) e diagnosi (disturbo psicotico NAS vs altre diagnosi) e sono stati randomizzati al trattamento con aripiprazolo (5-30 mg/die) o risperidone (1-6 mg/die) per 12 settimane. Il farmaco è stato titolato fino al raggiungimento dell'effetto terapeutico o al verificarsi di effetti avversi dose-correlati, per la gestione dei quali era permessa l'assunzione di un numero limitato di farmaci concomitanti (benztropina in caso di EPS; lorazepam o propanololo in caso di acatisia; lorazepam in caso di irrequietezza e ansia). Il trial clinico non ha mostrato differenze significative nella percentuale di risposta al trattamento nei due bracci di studio.

Lo stato psichico è stato valutato utilizzando la *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS), la *Scale for Assessment of Negative Symptoms* (SANS) e la *Clinical Global Impression Scale* (CGI-severity). Quattro degli item della BPRS sono stati utilizzati per determinare il punteggio relativo ai sintomi positivi (disorganizzazione concettuale, grandiosità, comportamento allucinatorio e contenuto di pensiero inusuale), mentre 4 item della SANS sono stati utilizzati per la valutazione dei sintomi negativi (appiattimento dell'affettività, alogia, avolizione/apatia e asocialità/anedonia). Le diagnosi sono state confermate mediante la *Structured Clinical Interview of Axis I DSM-IV Disorders* (SCID). Gli eventi avversi sono stati misurati utilizzando la *Simpson-Angus Scale* per la EPS e la *Barnes Akathisia Scale* (BAS).

La genotipizzazione di rs2514218 su DNA genomico ottenuto da linfociti è stata effettuata utilizzando la piattaforma *Illumina Infinium HumanOmniExpressExome*. L'allele C è l'allele precedentemente associato ad un aumentato rischio di schizofrenia e ha una frequenza dell'81% nella popolazione generale. Per via della presenza di soli 13 pazienti omozigoti per l'allele minore T, i pazienti sono stati dicotomizzati tra omozigoti per l'allele di rischio (C/C, n = 56) e *carrier* dell'allele minore (C/T o T/T, n = 44). I due gruppi non differivano in maniera significativa per sesso, diagnosi o farmaco assunto.

I dati sono stati analizzati tramite un approccio *mixed-model* per l'analisi di dati longitudinali, utilizzando il tempo come variabile principale *between-subjects*. L'apporto del genotipo nel modello è stato valutato utilizzandolo come fattore fisso e inserendo un termine di interazione gruppo x tempo nel *mixed-model*. Lo studio aveva come *outcome* primario il miglioramento dei sintomi positivi misurati con la BPRS, come *outcome* secondari la manifestazione di EPS, acatisia ed elevazione dei livelli di prolattina, e come *outcome* terziari i *total score* BPRS, i *CGI-severity scores* e i sintomi negativi. Per via degli effetti differenziali dei due farmaci, le analisi su EPS e acatisia sono state condotte separatamente nei sottogruppi di pazienti trattati con aripiprazolo o risperidone, mentre le analisi sui livelli di prolattina sono state condotte nei soli pazienti trattati con risperidone.

I pazienti omozigoti C/C hanno mostrato una maggiore riduzione dei sintomi positivi durante le 12 settimane di trattamento rispetto ai *carrier* dell'allele T (interazione genotipo x tempo: $p = 0,044$, d di Cohen = 0,38). Nonostante una maggiore gravità dei sintomi positivi al *baseline* (C/C = $14,80 \pm 0,46$; T carriers: $13,91 \pm 0,52$), alla fine del trattamento i pazienti omozigoti C/C mostravano una riduzione maggiore del 10% di tali sintomi rispetto ai T *carrier* (C/C: $6,51 \pm 0,52$; T carriers: $7,64 \pm 0,57$).

I pazienti omozigoti C/C trattati con aripiprazolo hanno mostrato un maggior rischio di acatisia rispetto ai T *carrier* (C/C: $0,72 \pm 0,11$; T *carrier*: $0,34 \pm 0,14$; $p = 0,046$, d di Cohen = 0,24). Al contrario, i pazienti omozigoti C/C maschi trattati con risperidone mostravano una minore elevazione dei livelli di prolattina alle settimane 8 e 12 rispetto ai T *carrier* (interazione genotipo x tempo: $p = 0,046$, d di Cohen = 0,28).

In questo studio l'allele C dello SNP rs2514218, che rappresenta l'allele più comune nella popolazione generale e l'allele di rischio per la schizofrenia nel GWA del PGC, è risultato associato ad un maggiore miglioramento dei sintomi positivi dopo 12 settimane di trattamento con antipsicotici e ad un maggior rischio di acatisia. I risultati suggeriscono che l'allele C potrebbe essere associato ad una maggiore sensibilità al blocco dei recettori D2. Tuttavia, per confermare questa ipotesi, sono necessari ulteriori studi *in vitro* e studi di imaging. I limiti dello studio comprendono una sample size limitata, in particolare per le analisi effettuate su sottogruppi, e il diverso meccanismo d'azione dei due farmaci utilizzati nei due bracci di trattamento. Il principale punto di forza dello studio è l'arruolamento di pazienti al primo episodio di psicosi, che ha consentito di ridurre gli effetti confondenti derivati da precedente esposizione al trattamento con antipsicotici, comorbidità e abuso di sostanze.

In conclusione, lo studio suggerisce che rs2514218 sia associato al miglioramento dei sintomi positivi dopo 12 settimane di trattamento con antipsicotici.

Parole chiave: antipsicotici, schizofrenia, DRD2

Riferimento bibliografico

[Zhang JP](#) et al. *Schizophrenia Bulletin* 2015, 41: 1248-1255.

ASMA

L'ANALISI DEL TRASCRITTOMA DI PAZIENTI CON ASMA INFANTILE CONTROLLATA E RESISTENTE ALLA TERAPIA RIVELA PROFILI DI ESPRESSIONE GENICA DISTINTI

A cura delle Dott.sse Alessia Di Silvestre e Sara De Iudicibus

L'asma è la patologia cronica più comune nei bambini e può essere suddivisa in lieve, moderata o severa in base al tipo di trattamento necessario per controllare i sintomi. L'asma severa problematica è caratterizzata da uno scarso controllo dei sintomi anche in seguito a somministrazioni di alte dosi di corticosteroidi per via inalatoria associati a terapie aggiuntive, determinando una grande sofferenza fisica con un precoce peggioramento della funzione polmonare. Questa forma asmatica è spesso associata a cofattori ambientali aggravanti, ad esempio fumo e allergie: nei pazienti in cui sono assenti tali variabili predisponenti, si parla di asma resistente alla terapia (SA).

Analisi di espressione genica globale sono stati effettuati principalmente su tipi di asma lieve, moderata e atopica ma pochi studi sono stati condotti sulle forme gravi o sulle SA.

Quindi lo scopo di questo lavoro è di identificare i *pathway* genici deregolati in bambini asmatici, tramite analisi di espressione genica dei leucociti del sangue periferico di 13 bambini con SA e 15 con asma persistente controllata (CA), provenienti da uno studio di ricerca svedese, confrontati con 9 controlli sani (CTRL) della stessa età dei pazienti. In specifico è stato utilizzato il Cap Analysis of Gene Expression (CAGE), una tecnologia basata sul next-generation sequencing, che quantifica l'espressione genica per ogni sito d'inizio trascrizione (TSS) già noto o nuovo, inclusi mRNA e long non coding RNA. L'espressione di un

particolare TSS è valutata dal raggruppamento delle *reads* sequenziate, in seguito a mappatura sull'intero genoma, in corrispondenza di frammenti definiti tag cluster (TC), quantificando in seguito le *reads* posizionate in ciascun cluster. L'analisi è stata effettuata su un totale di 45635 TC, di cui il 49% mappano all'interno di TSS noti, il 24% su esoni di geni noti, e il 27% sono localizzati su sequenze ignote sia codificanti e non codificanti. Comparando tutti i gruppi studiati (CA vs CTRL; SA vs CTRL; SA vs CA), sono stati identificati 1305 TC differenzialmente espressi, la maggior parte di essi su 816 geni noti e alcuni su nuovi trascritti.

Dato che queste analisi sono state condotte su una popolazione di leucociti complessa, i profili di espressione riflettono le differenze nella composizione cellulare, compreso il grande aumento di neutrofili nei soggetti con SA; per questo motivo è stato utilizzato un modello lineare generalizzato (GLM) per aggiustare i livelli di espressione sulla base delle differenze nelle conte cellulari di globuli bianchi, neutrofili, eosinofili e linfociti: è stato quindi possibile eliminare i TC variabili sia fra i gruppi di pazienti che in base alle conte dei neutrofili. E' stato quindi ottenuto un gruppo di TC differenzialmente espressi, indipendentemente dalla composizione cellulare. Grazie ad una analisi bioinformatica è stato possibile identificare 13 nuovi TSS di cui 10 sono stati validati su due campioni di controllo con test di RT-PCR e sequenziamento Sanger.

Sia i TSS noti che nuovi sono upregolati in bambini con SA rispetto ai CTRL così come negli SA rispetto ai CA; inoltre la maggior parte dei nuovi TSS sono espressi nei neutrofili ed eosinofili. I TC differenzialmente espressi sono stati comparati con 62 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) significativamente associati con l'asma in studi *genome wide*, e tramite il database HaploRef v2 sono stati valutati diversi aplotipi di *linkage disequilibrium* (LD). Due TC deregolati coincidono con aplotipi di LD associati con l'asma nella popolazione europea, localizzati sui geni per il recettore dell'IL-6 (IL6R) e il recettore β IL-2 (IL2RB). Entrambi i TC sono upregolati in bambini affetti da SA comparati con CA, ma non tra CA e CTRL. Un terzo TC coincide con un aplotipo associato con l'asma nella popolazione di discendenza africana. Inoltre sono presenti due ulteriori TC nei geni *GRB2-associated binding protein 1* (GAB1) e *RAR-related orphan receptor A* (RORA) i quali, seppur associati all'asma, non sono all'interno di un blocco di associazione.

Per comprendere i meccanismi di regolazione dell'espressione genica è stato utilizzato il *motif activity response analysis* (MARA), che tramite modelli matematici è in grado di predire i siti di legame per fattori di trascrizione che hanno un ruolo nel controllo dell'espressione genica. Le differenze nell'espressione genica tra SA e CA sembrano essere determinate da due gruppi di fattori di trascrizione. Uno di questi ha una maggiore attività in soggetti con SA e include GTF2I, HIC1, PAX5, ZNF238 e le famiglie di MYF e TFAP2. Mentre hanno una maggiore attività nei soggetti con CA le famiglie di ZNF148 e NFY. Inoltre è da sottolineare che è presente una minor frequenza di attività di regolazione sul gene del recettore dei glucocorticoidi in bambini con SA; invece studi di gene *ontology* (GO) e Kyoto Encyclopedia of gene and genomes (KEGG) hanno evidenziato che ZNF238 è associato ad una maggiore attività della via di segnalazione del *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) e delle Jun chinasi in pazienti con SA.

In conclusione questo lavoro ha dimostrato che i leucociti circolanti di bambini affetti da SA e CA hanno differenti profili di espressione in parte spiegati dai meccanismi regolatori dei fattori di trascrizione. Inoltre, analisi di network tra geni hanno identificato in pazienti con SA una diminuita attività del recettore dei glucocorticoidi e un'aumentata attività della via chinasi di MAPK e Jun. Questi risultati suggeriscono la possibilità di sviluppare biomarker molecolari per pazienti con SA, e la necessità di creare nuovi approcci terapeutici in questo gruppo di pazienti.

Parole chiave: asma resistente alla terapia, asma infantile, leucociti di sangue periferico, trascrittoma, *long noncoding* RNA.

Riferimento bibliografico

[Persson H](#) et al. *J Allergy Clin Immunol* 2015 Sept [Epub ahead of print].

IMMUNOMODULAZIONE

IL POLIMORFISMO rs763780 DEL GENE IL-17F É ASSOCIATO ALLA RISPOSTA TERAPEUTICA AI FARMACI BIOLOGICI NEI PAZIENTI PSORIASICI

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

La psoriasi è una malattia cronica della pelle presente in circa il 2% dei Caucasiche. La presentazione clinica più comune è la psoriasi a placche, spesso associata ad artrite psoriasica. Un ruolo cruciale nella patogenesi è svolto dal sistema immunitario e l'interleuchina 17A, espressa ad alti livelli nella pelle dei pazienti, è stata recentemente chiamata in causa per spiegare il complesso meccanismo patogenetico della malattia. Infatti, tale interleuchina induce la produzione di varie citochine promuovendo la risposta infiammatoria nella pelle. Gli agenti farmacologici oggi a disposizione per il trattamento delle forme psoriasiche sono generalmente efficaci, ma non tutti gli individui rispondono adeguatamente alla terapia e alcuni sviluppano eventi avversi molto seri. Negli ultimi anni, sono stati sviluppati nuovi farmaci per il trattamento della psoriasi come *ixelimumab* e *secukinumab* che agiscono come anti-IL17A e che oggi sono presi in considerazione per i pazienti con quadro clinico moderato-grave che non rispondono al trattamento con anti- TNF α o ustekinumab (anti-IL12 e anti-IL23).

I fattori genetici hanno un'importanza fondamentale nello sviluppo e nella progressione della psoriasi e, al riguardo, è stato ormai accertato che l'allele HLA-C*0602 sia un valido indicatore di rischio.

I geni IL-17A e IL-17F mostrano una rilevante omologia di sequenza e condividono anche le funzioni di fattore promuovente la risposta infiammatoria. Il polimorfismo rs763780 del gene IL-17F è stato studiato in pazienti giapponesi, ma non è stata trovata alcuna associazione con la patologia. Lo scopo di questo studio è stato ricercare una possibile associazione tra i polimorfismi rs2275913 e rs10484879 del gene IL-17A e lo SNP rs763780 del gene IL-17F con la psoriasi moderata o grave e con la risposta al trattamento con farmaci biologici.

La popolazione in studio era rappresentata da Caucasiche di almeno 18 anni d'età, 197 volontari sani e 194 pazienti con psoriasi a placche di grado moderato-grave arruolati presso l'ospedale di Madrid, Spagna che richiedevano un trattamento con farmaci biologici.

Lo studio di farmacogenetica è stato eseguito su 163 pazienti in terapia con agenti TNF α e/o ustekinumab.

Per valutare la risposta al trattamento è stato utilizzato l'indice PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*) misurato alle settimane 12, 16, 24 e 28 dall'inizio della terapia.

I pazienti che avevano raggiunto un PASI75, indicativo di un miglioramento del 75% rispetto al loro valore basale, sono stati considerati *Responders*.

La genotipizzazione dei tre SNP descritti sopra e del polimorfismo rs12191877 del gene HLA-C è stata eseguita tramite *Human TaqMan SNP Genotyping assays* (StepOne, Applied Biosystem, USA).

I tre SNPs analizzati erano in equilibrio di Hardy-Weinberg sia nei controlli sia nei pazienti.

Il genotipo TT-rs10484879 di IL17A era meno frequente nei pazienti rispetto ai controlli (4 vs 6%, rispettivamente, $p=0,037$). L'analisi univariata ha rilevato un'associazione tra la variante rs10484879 e l'incidenza di malattia, che, però era persa dopo aggiustamento per la presenza del polimorfismo rs12191877 del gene HLA-C.

Inoltre, gli autori non hanno trovato differenze nella risposta terapeutica dei pazienti stratificati in base al genotipo polimorfico quando i farmaci erano considerati insieme. Tuttavia è stata mostrata un'associazione tra il polimorfismo rs763780-IL-17F e la risposta al trattamento con ustekinumab e infliximab a 3 e 6 mesi e con adalimumab a 6 mesi. In particolare, la variante polimorfica rs763780 era correlata ad assenza di risposta all'adalimumab (genotipo TC; $p=0,0044$) e all'ustekinumab a 3 e a 6 mesi di trattamento ($p=0,022$ e $p=0,016$, rispettivamente). Un miglioramento degli outcome terapeutici è stato invece osservato nei pazienti trattati con l'infliximab tra le settimane 12-16 e 24-28 (genotipo TC; $p=0,023$ e $p=0,020$, rispettivamente).

In questo studio non è stata trovata alcuna associazione tra i polimorfismi IL-17A -rs2275913 e IL-17F rs763780 e il rischio di sviluppare la psoriasi, sebbene tali SNPs fossero stati identificati in precedenza come fattori di rischio per altre malattie autoimmuni.

Per quanto riguarda la risposta al trattamento, gli autori hanno messo in luce l'associazione tra il polimorfismo rs763780 e la terapia con adalimumab e infliximab, ma non con etanercept. Una spiegazione possibile potrebbe essere che l'etanercept è più attivo contro la forma solubile del TNF α rispetto agli altri

due farmaci, che, invece legano la forma trans-membrana. Inoltre, un'associazione positiva tra il polimorfismo rs763780 e la risposta alla terapia è stata trovata nel caso dell'ustekinumab.

Limitazioni di questo studio sono il potere statistico, basso per via del campione analizzato relativamente piccolo e le differenze di età tra casi e controlli. Per questo sarà necessario confermare i risultati in coorti di pazienti più ampie e di origini diverse.

Questo studio è il primo ad aver analizzato il polimorfismo rs763780 del gene IL-17F in pazienti Caucasiche con psoriasi a placche di grado moderato-grave. Sebbene, non sia stata dimostrata associazione tra tale polimorfismo e il rischio di psoriasi, gli autori hanno rilevato, invece, una possibile associazione tra tale SNP e la risposta a infliximab e ustekinumab dopo 3 e 6 mesi di trattamento. Considerato il ruolo fondamentale della costituzione genetica del singolo individuo nella patogenesi della psoriasi, è necessario incoraggiare lo svolgimento di studi che mirino a identificare geni potenzialmente coinvolti sia nella determinazione di rischio sia nella risposta terapeutica agli agenti farmacologici anti-psoriasi.

Parole chiave: psoriasi, farmaci biologici, IL-17F, IL17A, SNP.

Riferimento bibliografico

[Prieto-Pérez R](#) et al. *Pharmacogenomics* 2015 Sep 29 [Epub ahead of print].

OCULISTICA

UNA VARIANTE GENETICA NEL GENE NRP1 È ASSOCIATA AD UNA RISPOSTA PEGGIORE AL TRATTAMENTO CON RANIBIZUMAB NELLA DEGENERAZIONE MACULARE LEGATA ALL'ETÀ NEOVASCOLARE

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

La degenerazione maculare legata all'età (AMD) è la principale causa di cecità nel mondo occidentale. La forma di AMD neovascolare (nvAMD), o "umida", è quella più aggressiva, essendo responsabile di circa il 90% di perdita della vista causata dalla malattia. La terapia di prima scelta per la nvAMD prevede iniezioni intravitreali di farmaci anti-VEGF. Anche se questo trattamento ha cambiato drasticamente la prognosi della malattia, con un significativo miglioramento dell'acuità visiva media (VA), è stato descritto un alto tasso di variabilità nella risposta. Circa il 10% dei pazienti trattati non rispondono alla terapia con anti-VEGF ed inoltre perdono più di 15 lettere del "Early Treatment Diabetic Retinopathy Study" (ETDRS) dopo 2 anni dall'inizio del trattamento, che è paragonabile al corso naturale della malattia. Ad oggi, diversi studi hanno suggerito che le varianti genetiche possano influenzare questa variabilità. Questi studi si sono concentrati principalmente sui polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) situati nei loci AMD-associati, ma sono anche state indagate le varianti più comuni presenti nei membri della famiglia di VEGF, come citochine e proteine coinvolte nello sviluppo e nel mantenimento del sistema vascolare della retina. Recentemente, due SNPs presenti nel gene del recettore VEGF2 (VEGFR2 o KDR), che codifica per il recettore principale di VEGFA sulle cellule endoteliali vascolari, sono stati associati ad un migliore tasso di risposta alla terapia anti-VEGF. Studi recenti hanno descritto un coinvolgimento di neuropilina 1 (NRP1), un co-recettore di VEGFA che si lega all'isoforma predominante VEGFA₁₆₅ formando un complesso con VEGFR2 aumentando la trasduzione del segnale, nella neovascolarizzazione patologica della retina. Inoltre NRP1 è stato trovato coinvolto nella dispersione vascolare mediata da VEGFA. Infatti, NRP1 ha mostrato effetti sull'evoluzione della neovascolarizzazione coroidale in AMD ed è stato quindi proposto come nuova molecola target per il trattamento di AMD. NRP1 sembra giocare un ruolo anche nella prognosi di cancro quando il trattamento prevede composti anti-VEGF, il che rende questa molecola un candidato interessante per il coinvolgimento nella variabilità della risposta. Questo studio mira quindi a valutare l'influenza delle varianti genetiche presenti nel gene NRP1 sulla risposta al trattamento nella terapia anti-VEGF in pazienti con nvAMD.

Popolazione in studio. La coorte in studio era composta da 377 occhi di altrettanti pazienti naive, dai 50 anni di età in su, con attiva neovascolarizzazione coroidale secondaria a AMD. I pazienti sono stati arruolati in Germania e da cliniche olandesi tra il 2008 e il 2010 e sono stati raccolti in un Database Genetico Europeo (EUGENDA), un database multicentrico per l'analisi clinica e molecolare di AMD. La diagnosi di nvAMD attiva è stata determinata da specialisti della retina sulla base dell'esame oftalmologico, tomografia a coerenza ottica (OCT) nel dominio spettrale, o angiografia con fluoresceina (FA) (Spectralis HRA + OCT, Heidelberg Ingegneria, o Imagenet; Topcon, Tokyo, Giappone). In tutti i casi VA è stata valutata prima del trattamento (basale) e dopo tre iniezioni mensili di carico. Dopo la dose di carico, i pazienti sono stati seguiti su base mensile e trattati con schema "pro re nata" (secondo necessità) presso le cliniche di Nijmegen (Paesi Bassi) e Cologne (Germania). Alla clinica di Montreal, i pazienti sono stati ulteriormente gestiti attraverso un regime "tratta ed estendi". OCT, VA corretta al meglio, l'esame del fondo dell'occhio, e FA sono stati utilizzati singolarmente o in combinazione per valutare l'efficacia del trattamento. Le recidive o la persistenza della neovascolarizzazione coroidale sono state definite come fluido visto con OCT, perdita di VA di cinque lettere ETDRS o più, perdita della vista in FA, o nuova emorragia o fluido maculare. In caso di persistenza o ricorrenza della neovascolarizzazione coroidale, i pazienti hanno ricevuto tre iniezioni di ranibizumab mensili consecutive. Se disponibile, VA è stata raccolta dopo 6 e 12 mesi di trattamento. Per 304 pazienti le misure di VA secondo la tabella di Snellen sono state raccolte retrospettivamente e 73 pazienti sono stati seguiti prospettivamente utilizzando VA secondo ETDRS. La risposta a lungo termine al trattamento è stata definita come variazioni di VA dopo 6 e 12 mesi di trattamento. L'età dei pazienti alla prima iniezione di ranibizumab, così come il sesso e le altre variabili basali sono state raccolte con questionari o recuperate dai file dei pazienti. *Genotipizzazione.* SNP rs2229935, rs2247383, rs2070296, e rs2804495 sono stati selezionati dai maggiori *haploblocks* del gene NRP1. E' stata utilizzata la genotipizzazione chimica competitiva allele-specifica KASP (LGC, Hoddesdon, Regno Unito). Il sequenziamento Sanger dell'esone 4 del gene NRP1 (NM_003873.5) è stato eseguito in 11 pazienti per i quali non ha avuto successo la genotipizzazione con KASPar del SNP rs2070296. *Analisi statistiche.* Ai fini dell'analisi, i record di VA ETDRS e Snellen sono stati convertiti con il valore logaritmico del minimo angolo di risoluzione (logMAR). La deviazione delle frequenze genotipiche da quelle attese dall'equilibrio di Hardy-Weinberg è stata valutata mediante il test χ^2 . Per determinare l'influenza delle variabili basali sulle variazioni di VA dopo 3 mesi è stata utilizzata la correlazione di Spearman per le variabili continue e il test Kruskal-Wallis o il test U di Mann-Whitney per le variabili categoriche. L'associazione dei diversi SNPs con le variazioni di VA dopo 3, 6 e 12 mesi è stata valutata utilizzando il test U di Mann-Whitney. La procedura di Bonferroni è stata applicata per correggere quattro test ($P \leq 0,01$ sono stati considerati statisticamente significativi). Per analizzare l'effetto combinato di rs2070296 e rs4576072 in NRP1 sulla variazione di VA dopo 3, 6, e 12 mesi, i pazienti sono stati suddivisi in tre gruppi di dimensione simile (portatori di meno di due alleli di rischio, di due, o più di due alleli di rischio), ed è stato eseguito il test U di Mann-Whitney. Sono stati inclusi nell'analisi solo i pazienti genotipizzati con successo per rs4576072 in uno studio precedente ($n=353$). Dato che l'allele maggiore rs4576072 (T) è stato riportato associato ad una risposta peggiore alla terapia, è stato considerato come allele di rischio.

L'età avanzata alla prima iniezione ($P=0,01$), avente una migliore VA di base ($P < 10^{-3}$) e diabete mellito ($P=0,02$), è stata associata ad una risposta peggiore dopo 3 mesi di trattamento. La tipologia di neovascolarizzazione coroidale ha mostrato solo un trend di significatività ($P=0,06$). Le variabili basali non sono state associate agli SNPs d'interesse ($P > 0,05$, il più basso $P=0,22$). Nessun SNP ha mostrato deviazioni dall'equilibrio di Hardy-Weinberg nella coorte in studio ($P=0,81$, $0,93$, $0,98$ e $0,41$, rispettivamente). I genotipi GA o AA del SNP rs2070296 sono stati trovati associati ad una significativa riduzione del miglioramento di VA dopo 3 mesi ($P=0,01$) rispetto al genotipo GG. Gli SNP rs2229935, rs2248383 e rs2804495 non hanno mostrato alcuna associazione con la risposta al trattamento. L'analisi combinata di rs2070296 NRP1 e rs4576072, precedentemente associato a KDR, ha evidenziato una diminuzione della variazione di VA dopo 3 mesi a seconda del numero di alleli di rischio. I pazienti che presentavano due alleli di rischio hanno risposto significativamente peggio alla terapia rispetto ai portatori di uno o nessun allele (mediana di $0,090$ logMAR o $4,5$ lettere ETDRS guadagnate contro $0,196$ logMAR o 10 lettere ETDRS guadagnate, $P=0,03$), e i portatori di più di due alleli hanno avuto una risposta anche peggiore (mediana di $0,020$ logMAR o 1 ETDRS lettera acquisite, $P=3 \times 10^{-3}$). E' stato anche valutato se l'effetto di rs2070296 rimasse significativo dopo 6 e 12 mesi di trattamento ma non è risultato associato alle variazioni di VA. Tuttavia, l'effetto combinato di questo SNP in NRP1 e rs4576072 nel gene KDR ha mostrato di avere

un'influenza sulla risposta a lungo termine.

VA è un'importante misura dell'outcome funzionale, che è più rilevante per i pazienti, ed è stata quindi ampiamente utilizzata per valutare la risposta al trattamento in nvAMD. La maggior parte dei pazienti ha raggiunto le più grandi variazioni in VA dopo le prime tre iniezioni mensili, questo intervallo di tempo può essere predittivo di una risposta a lungo termine.

Lo studio suggerisce che la genotipizzazione di SNPs in NRP1, in combinazione con SNPs presenti in altri geni come VEGFR2 o KDR, potrebbe aiutare a predire l'esito del trattamento di nvAMD e, in un futuro, a personalizzare la terapia sulle esigenze individuali.

Parole chiave: degenerazione maculare legata all'età, farmaci antiangiogenici, neovascolarizzazione della coroide, neuropilina 1, neovascolarizzazione patologica.

Riferimento bibliografico

[Lorés-Motta L](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2015 Sep 29 [Epub ahead of print].



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

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

sif.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Sara De Iudicibus (Università di Trieste) Dott.ssa Alessia Di Silvestre (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (università di Bologna)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.
