



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 91 – Gennaio 2017

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Tossicità severa da fluoropirimidine dovuta a nuove e rare mutazioni *missense*, delezioni e amplificazioni del gene *DPYD*, con modifiche dell'attività enzimatica e dello *splicing*
- Alterata trascrizione genica e modifiche epigenetiche post stimolo con 5-fluorouracile evidenziano i meccanismi della resistenza indotta dai farmaci nelle cellule di cancro colon-rettale
- Importanza prognostica della metilazione del miR-155 nel glioma anaplastico

⇒ Neurologia

- Concordanza tra dose di desvenlafaxina efficace per la remissione dei sintomi e dose predetta dalla farmacogenetica nel disturbo depressivo maggiore: uno studio *open-label* di 10 settimane
- Geni che codificano per le neurotrofine ed aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi: uno studio prospettico caso-controllo

⇒ Cardiovascolare

- Le varianti dell'isoforma *CYP2C19* influenzano efficacia e sicurezza del clopidogrel dopo un anno di terapia in pazienti sottoposti a intervento percutaneo coronarico
- Uno score di rischio genetico è associato alla risposta alla terapia con statine in una popolazione di soggetti anziani

⇒ Oftalmologia

- Uno studio di associazione *genome wide* identifica l'associazione di OR52B4 rs4910623 con la risposta al trattamento anti-VEGF nella degenerazione maculare senile

⇒ Farmacocinetica

- Caratterizzazione delle variazioni genetiche dell'ADME in 21 popolazioni tramite sequenziamento dell'esoma

⇒ La metanalisi del mese

- Polimorfismi nella linea germinale come biomarcatori di risposta tumorale in pazienti con cancro del colon retto in terapia con anticorpi monoclonali anti-EGFR: revisione sistematica e meta-analisi

ONCOLOGIA**TOSSICITÀ SEVERA DA FLUOROPIRIMIDINE DOVUTA A NUOVE E RARE MUTAZIONI *MISSENSE*, DELEZIONI E AMPLIFICAZIONI DEL GENE *DPYD*, CON MODIFICHE DELL'ATTIVITÀ ENZIMATICA E DELLO *SPLICING***

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il 5-fluorouracile (5-FU) ed il pro-farmaco capecitabina sono tra i chemioterapici più frequentemente utilizzati per il trattamento adiuvante e palliativo di pazienti affetti da tumori gastrointestinali, tumore della mammella e tumore della testa-collo (Meyerhardt JA et al. *N Engl J Med* 2005, 352: 476–87; Twelves C et al. *N Engl J Med* 2005, 352: 2696–04). Il 5-FU ha un indice terapeutico ristretto ed il 10-26% dei pazienti trattati con regimi a base di fluoropirimidine sviluppa tossicità severa, che spesso risulta in interruzione del trattamento e aumento del rischio di progressione di malattia. Considerato il numero elevato di pazienti trattati e l'impatto sulla qualità della vita, la riduzione dell'incidenza di eventi avversi è di elevato interesse clinico. La carenza di diidropirimidino deidrogenasi (DPD), enzima di degradazione del 5-FU, è stata associata con tossicità severa, a volte fatale (Johnson MR & Diasio RB. *Adv Enzym. Regul* 2001, 41: 151–7; van Kuilenburg ABP *Eur J Cancer* 2004, 40: 939–50; van Kuilenburg ABP et al. *Clin Pharmacokinet* 2012, 51: 163–74; Milano GA et al. *Br J Cancer* 1999, 79: 627–30; Loganayagam A et al. *Br J Cancer* 2013, 108: 2505–15; Froehlich TK et al. *Int J Cancer* 2015, 136: 730–9). L'aggiustamento di dosaggio guidato dalla farmacogenetica permetterebbe l'identificazione di pazienti a rischio di sviluppare tossicità severa prima di iniziare il trattamento. Sono state descritte numerose mutazioni e polimorfismi nel gene *DYPD*, e le varianti *c.1905+1G>A*, *c.2846A>T*, *c.1679T>G* e *c.1129-5923C>G/hapB3* sono state associate con un aumento del rischio di tossicità (Terrazzino S et al. *Pharmacogenomics* 2013, 14: 1255–72; Rosmarin D et al. *J Clin Oncol* 2014, 32: 1031–39; Lee AM et al. *J Natl Cancer Inst* 2014, 106; van Kuilenburg ABP et al. *Hum Genet* 2010, 128: 529–38; Meulendijks D et al. *Lancet Oncol* 2015, 16: 1639–50). La sensibilità di queste 4 varianti nel predire la tossicità di grado 3 e 4 è ancora molto bassa (Morel A et al. *Mol Cancer Ther* 2006, 5: 2895–2904; Schwab M et al. *J Clin Oncol* 2008, 26: 2131–8; Deenen MJ et al. *Clin Cancer Res* 2011, 17: 3455–68), probabilmente per la relativamente bassa frequenza di queste mutazioni nella popolazione generale. L'aggiunta di nuove e rare varianti di rischio potrebbe individuare una maggiore frazione di pazienti con carenza di DPD (Offer SM et al. *Cancer Res* 2014, 74: 2545–54). In aggiunta all'approccio genotipico, sono state sviluppate procedure di valutazione del fenotipo per screenare i pazienti con ridotta attività enzimatica.

In questo studio sono state individuate 4 nuove varianti e 4 varianti rare del gene *DYPD* in 9 pazienti oncologici con ridotta attività del DPD, 6 dei quali hanno riportato tossicità severa e 2 tossicità letale a seguito del trattamento con fluoropirimidine. In un paziente la ridotta attività dell'enzima è stata misurata prima dell'inizio del trattamento e l'uso di un dosaggio ridotto è stato ben tollerato ed efficace.

Sono stati valutati per la carenza di DPD 8 pazienti tedeschi ed un paziente danese. La tossicità è stata valutata secondo la versione 3.0 dei criteri NCI-CTC AE. Dei 9 pazienti, 8 erano stati trattati con regimi a base di fluoropirimidine ed avevano sviluppato tutti tossicità severa (1 di grado III, 5 di grado IV e 2 di grado V, ovvero letale). La tossicità era comparsa in media 11 giorni dopo l'inizio del trattamento. Tutti hanno mostrato un'attività del DPD notevolmente ridotta nelle cellule mononucleari di sangue periferico. In un paziente l'analisi dell'attività del DPD condotta prima di essere sottoposto alla terapia è risultata ridotta, pertanto il dosaggio del chemioterapico è stato ridotto del 50% ed è stata osservata solo una tossicità di grado I, mantenendo l'efficacia terapeutica. L'analisi delle sequenze dei 23 esoni e delle regioni introniche fiancheggianti del gene *DYPD* nei 9 pazienti ha dimostrato la presenza di 9 varianti introniche, 7 *missense*, 3 varianti in siti di *splicing* e 1 delezione di 21 nucleotidi. Tra queste, sono state individuate 3 nuove mutazioni e 4 varianti molto rare, di cui 3 mutazioni *missense* (*c.851G>T*, *c.1280T>C*, *c.2843T>C*), 2 mutazioni in siti di *splicing* (*c.321+1G>A*, *c.1740+2T>C*), 1 mutazione intronica (*c.2766+87G>A*) ed una

delezione di 21 nucleotidi (c.2407_2427del). In un paziente è stata individuata un'amplificazione degli esoni 9-12. Le mutazioni nuove e/o rare sono state valutate più in dettaglio da punto di vista funzionale e per l'espressione proteica.

In questo studio è stata valutata l'influenza di varianti nuove e rare del gene *DYPD* in 9 pazienti con ridotta attività enzimatica di cui 8 avevano già presentato tossicità severa o letale associata a fluoropirimidine. I pazienti con tossicità letale ricevevano un trattamento combinato con radioterapia o cisplatino/epirubicina ed è stato supposto che la ridotta attività del DPD possa aumentare la suscettibilità del paziente nel caso in cui la chemioterapia con fluoropirimidine sia abbinata a radioterapia o farmaci che danneggino l'integrità del DNA. Considerata la bassa frequenza degli alleli minori nella popolazione generale, un *trial* per determinare la rilevanza clinica delle mutazioni rare è praticamente irrealizzabile. Pertanto, la caratterizzazione delle mutazioni e degli effetti sull'attività enzimatica è di estrema importanza per fornire raccomandazioni sull'aggiustamento del dosaggio delle fluoropirimidine. Limiti dell'analisi del genotipo sono legati alla mancata individuazione di mutazioni nelle regioni codificanti del gene in molti pazienti con ridotta attività enzimatica; inoltre, l'attività enzimatica può essere influenzata anche da modifiche epigenetiche e post-traduzionali. Per questo, i saggi basati sul fenotipo consentono la valutazione dei fattori genetici e non che influenzano l'attività enzimatica e rappresentano una valida alternativa all'approccio genotipico. Uno studio precedente ha dimostrato una maggiore accuratezza della combinazione della fenotipizzazione e della genotipizzazione rispetto alla genotipizzazione da sola (Boisdron-Celle M et al. *Cancer Lett* 2007, 249: 271–82). L'analisi dell'attività enzimatica del DPD è stata proposta come il metodo più adeguato per l'identificazione di pazienti a rischio (Thomas F et al. *Clin Pharmacol Ther* 2016, 99: 235-42).

In conclusione, questo studio dimostra che strategie combinate di valutazione del fenotipo e del genotipo potrebbero essere utili per lo *screening* della carenza di DPD in modo da assicurare una somministrazione sicura delle fluoropirimidine, chemioterapici ampiamente prescritti.

Parole chiave: patologie tumorali, *DYPD*, fluoropirimidine

Riferimento bibliografico

[van Kuilenburg AB](#) et al. *Biochim Biophys Acta* 2016, 1863(3): 721-30.

ALTERATA TRASCRIZIONE GENICA E MODIFICHE EPIGENETICHE POST STIMOLO CON 5-FLUOROURACILE EVIDENZIANO I MECCANISMI DELLA RESISTENZA INDOTTA DAI FARMACI NELLE CELLULE DI CANCRO COLON-RETTALE

A cura della Dott.ssa Eva Cuzzoni

Il cancro colon rettile (CRC) è una neoplasia con un indice di sopravvivenza che non supera generalmente i 5 anni. La chemioterapia basata sul trattamento con 5-fluorouracile (5-FU) è attualmente di prima linea nel CRC, sebbene la percentuale di pazienti responsivi a questo trattamento sia solamente del 50%, e la maggior parte dei pazienti tendano ad acquisirne una certa resistenza. I meccanismi per i quali un tumore acquisisce resistenza ai farmaci durante la chemioterapia non sono ancora stati largamente esplicitati ma potrebbero essere in parte mimati con un saggio *in vitro*, esponendo la linea nativa al trattamento farmacologico per un periodo determinato di tempo. Una cellula tumorale con una resistenza indotta da farmaci presenta un profilo trascrizionale di risposta al trattamento farmacologico differente rispetto alla linea nativa: queste differenze nel pattern di risposta trascrizionale potrebbero essere correlate ad alterazioni nella metilazione del DNA acquisite in seguito alla stimolazione delle cellule con il farmaco.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare le differenze nel pattern di risposta trascrizionale e di metilazione del DNA tra cellule sensibili e cellule con una resistenza indotta dal 5-FU, per valutarne le differenze.

In questo studio gli autori hanno valutato i profili trascrizionali e di metilazione del DNA della linea cellulare umana di CRC HCT-8 wild type (HCT-8/WT) e la corrispettiva linea cellulare con una resistenza indotta dal trattamento con 5-FU (HCT-8/5-FU), in seguito al trattamento con 5-FU per 24 e 48 ore.

Il profilo di espressione delle cellule non trattate (0 h) e trattate con 5-FU, per 24 e 48 ore, è stato valutato utilizzando la metodica di next generation sequencing Affymetrix GeneChip PrimeView Human Gene Expression Array (Central Expressway) mentre il profilo di metilazione è stato analizzato utilizzando Infinium HumanMethylation450 BeadChip (Illumina).

Dai risultati dell'analisi di metilazione, gli autori hanno evidenziato, confrontando le cellule HCT-8/5-FU con le native HCT-8/WT, 1658 geni con siti CpG ipermetilati nelle regioni promotrici. Tra questi 1658 geni ipermetilati, 459 geni presentavano anche alterazioni a livello del profilo di espressione genica: 67,76% (311) di questi geni erano downregolati nelle cellule HCT-8/5-FU rispetto alle cellule HCT-8/WT. Tra questi 311 geni, 242 sono stati mappati/correlati nel database di interazioni proteina-proteina (PPI): il 24,79% (60) ha evidenziato collegamenti diretti PPI con almeno uno dei 254 geni associati con il metabolismo, il trasporto o l'attività del 5-FU evidenziati da Drugbank, KEGG e PharmGKB; una percentuale significativamente superiore rispetto a quella ottenuta considerando tutti i geni con diversa espressione genica o una metilazione alterata (17,91% con collegamenti diretti nella rete PPI con geni associati al 5-FU; test esatto di Fisher, P-value = 8.65×10^{-4}).

Integrando le analisi dei profili di trascrizione genica e di metilazione del DNA, gli autori hanno dimostrato che geni con ipermetilazione del promotore e contemporanea ridotta espressione genica nelle cellule HCT-8/5-FU, sono principalmente coinvolti nelle pathway del metabolismo delle pirimidine e del citocromo P450.

L'analisi di trascrizione genica, inoltre, ha evidenziato che le differenze nei livelli di espressione concordavano sia nelle linee cellulari HCT-8/5-FU e HCT-8/WT dopo il trattamento con 5-FU per 24 o 48 ore, che nei tessuti di CRC resistenti e responsivi alla terapia: a 24 ore, 21 geni erano differenzialmente espressi (71,43% di concordanza; test binomiale, P-value = 3.92×10^{-2}), a 48 ore i geni erano 71 (77,47%; P-value = 1.88×10^{-6}).

I risultati ottenuti in questo studio, suggeriscono che alterati livelli di ipermetilazione potrebbero essere un importante meccanismo epigenetico che controlla la resistenza acquisita a 5-FU dalle cellule tumorali. Gli autori con questo studio confermano i risultati evidenziati da altri studi recenti che dimostrano come i pazienti con CRC con ipermetilazione del DNA non beneficiano della terapia con 5-FU. Tuttavia gli autori, sottolineano come sia ancora necessario effettuare altri esperimenti per identificare dei marker, tra i geni della resistenza individuati dal modello cellulare con resistenza indotta da farmaci, che potrebbero rappresentare un potenziale target terapeutico e predire la risposta dei pazienti al trattamento chemioterapico con 5-FU.

Questo lavoro rivela un importante meccanismo epigenetico che induce le cellule HCT-8/WT ad acquisire resistenza al 5-FU e suggerisce un intervallo di tempo adeguato (24-48 h) di esposizione al 5-FU per identificare marker clinicamente rilevanti da modelli cellulari con resistenza indotta dai farmaci.

Parole chiave: 5-fluorouracile, cancro colon rettale, espressione genica, metilazione del DNA

Riferimento bibliografico

[Shen Y](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2017 Jan 3 [Epub ahead of print].

IMPORTANZA PROGNOSTICA DELLA METILAZIONE DEL MIR-155 NEL GLIOMA ANAPLASTICO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il glioma anaplastico di III grado, secondo l'Organizzazione mondiale della Sanità (WHO), è suddiviso in tumore anaplastico astrocitico e oligodendrogliale (e misto). Le notevoli differenze per grado e tipo di glioma, le variazioni di esiti clinici e una povertà di bersagli terapeutici efficaci hanno portato a suggerire una classificazione su base molecolare dei gliomi di II e III grado. Fra i target più interessanti, in quanto risultante in profili epigenetici simili, ci sono le mutazioni a carico dell'isocitrato deidrogenasi (IDH). È importante porre attenzione al fatto che la maggior parte dei trascritti all'interno di una cellula non rappresenta RNA codificante proteine, ma piuttosto non-codificante (ncRNA). Fra questi, sono degni di nota i miRNA, come maggiori inibitori della traduzione mediante impedimento sterico dei ribosomi o tramite impulso alla degradazione dell'mRNA. In un contesto tumorale, l'effetto fenotipico dei miRNA dipende dalla funzione degli mRNA inibiti. Lo scopo di questo studio è stato, quindi, quello di comprendere meglio la regolazione trascrizionale dei miRNA nel glioma, di trovare nuovi marker indicatori di sopravvivenza e innovative opzioni terapeutiche.

La sovrapposizione delle regioni differenzialmente metilate (DMR) rilevate nei campioni di tessuto del *trial* NOA-04 e le regioni dei presunti miRNA promotori hanno generato una lista iniziale di 29 regioni di promotori di miRNA candidate. I 12 miRNA più promettenti - che tengono conto di una distanza ed orientamento favorevoli del miRNA, e della vicinanza fra le isole CpG - associati alle regioni candidate aventi differenti metilazioni nei gliomi anaplastici sono stati utilizzati per un'analisi più approfondita e validati in 106 pazienti affetti da glioma anaplastico appartenenti al *trial* NOA-04. Per tutte le DMR, eccetto una associata con il miR-10b, un'elevata metilazione è associata con una più lunga progressione priva di ricadute (PFS) e maggior sopravvivenza globale (OS). La rilevanza prognostica di queste regioni selezionate è stata validata in una coorte di pazienti (82) affetti da glioma anaplastico appartenenti al GGN (Network Tedesco di Gliomi). Nelle analisi di conferma è emerso che bassi livelli di metilazione dei promotori di miR-155 e miR-210 sono significativamente associati con peggiori PFS e OS, mentre i livelli di metilazione della regione associata con il miR-335 sono correlati solo con OS. Gli studi eseguiti hanno permesso di evidenziare che le mutazioni a carico di IDH, il fenotipo metilato delle isole CpG (CIMP) - codelezione 1p/19q - la metilazione del promotore di MGMT e il background oligodendrogliale sono correlate con alti livelli di metilazione dei miRNA associati alle regioni 5'.

La consultazione della banca dati "The Cancer Genome Atlas" (TCGA) ha confermato l'importanza della metilazione del promotore dei miRNA e la correlazione negativa con il miR-155. Per testare il differente impatto della radio- o chemioterapia, i campioni dei pazienti del *trial* NOA-04 sono stati suddivisi in base al tipo di trattamento di prima linea, e ciò ha mostrato che il vantaggio per la sopravvivenza rispetto ai siti di metilazione candidati era indipendente dalla modalità di trattamento. Per determinare l'influenza dell'età e del grado WHO, le regioni candidate sono state testate su 101 pazienti provenienti dal *trial* NOA-08 aventi più di 65 anni e affetti principalmente da glioblastoma (89%) o astrocitoma anaplastico (11%). In questi soggetti non sono emerse relazioni fra lo stato di metilazione e la sopravvivenza.

Una volta stabilita e validata la rilevanza prognostica della metilazione delle regioni promotrici dei miR-155, miR-210 e miR-335, l'obiettivo è stato quello di determinare l'impatto funzionale delle differenze nella metilazione del DNA, testandolo su 12 campioni. È stato riscontrato che un'alta metilazione a livello della regione promotrice di miR-155 comporta una bassa espressione del miRNA, dato poi confermato mediante ricerca su TCGA, tramite il quale è stato possibile determinare anche una conseguente bassa sopravvivenza in seguito ad alta espressione del miR-155. L'importanza della metilazione dei promotori per l'espressione dei miRNA è stata ulteriormente indagata attraverso studi *in vitro* utilizzando come terapia la decitabina. Le cellule con un'iniziale bassa espressione del miR-155, ma elevata metilazione della regione promotrice dello stesso (T98G e U251MG) hanno mostrato un forte incremento dell'espressione in seguito a demetilazione; lo stesso andamento è stato riscontrato per il miR-335.

In seguito, sono state eseguite analisi multivariate per la PFS che tenessero conto di tutte le variabili riscontrate nello studio del *trial* NOA-04 (istologia, trattamento di prima linea, mutazioni su IDH e stato di metilazione del promotore di MGMT). L'unico fattore prognostico risultante è stata la metilazione a carico dei promotori di miR-155 e miR-210. Per confermare ulteriormente l'indipendenza delle mutazioni a carico di IDH dal valore prognostico di miR-155, è stata eseguita un'analisi con regressione Cox univariata e multivariata sui due sottogruppi IDH *wild-type* e mutati. È stato riscontrato che nelle coorti di NOA-04 e

TCGA la metilazione del promotore di miR-155 possa essere di importanza prognostica, ma solo nei pazienti *wild-type*.

Un ulteriore step dello studio ha previsto un'indagine sulla biologia e sul ruolo di miR-155 nella sopravvivenza dei pazienti. La vitalità delle cellule di glioma (U87MG, A172 e LN-428) è stata fortemente ridotta in seguito a riduzione temporanea dell'espressione di miR-155 mediante specifico siRNA. È stata poi indotta un'overespressione stabile del miRNA in cellule T98G, in seguito trattate con temozolomide e radioterapia al fine di determinarne il grado di proliferazione e clonogenicità. È emerso che il miR-155 conferisce resistenza ad entrambi i trattamenti. È stato inoltre scoperto - e validato - che 3 geni sono consistentemente deregolati in presenza di overespressione del miR-155, nei pazienti IDH *wild-type*: BEX1, ATL1 e TSPAN7, anche se non direttamente correlati al miRNA stesso (mediante predizioni con miRTarBase, targetscan, TarBase, miRDB e Pictar).

I campioni di tessuto di glioma sono stati acquisiti da due trial: NOA-04 e NOA-08, e dalla corte di studio prospettico del GGN. Le linee cellulari impiegate sono state fornite del laboratorio del Prof. Nicolas de Tribolet (Losanna, Svizzera) o acquistate presso ATCC e sono: LN-308, LN-319, LN-428, D247, U373, LN-229, LN-18, U138 MG, T98G, A172 e U87MG.

In conclusione, questo studio ha evidenziato che la metilazione del promotore di miR-155 è correlata con la sopravvivenza dei pazienti affetti da glioma anaplastico mentre un basso livello di metilazione, cui consegue una sovraespressione dello stesso, è associato ad una prognosi peggiore.

Parole chiave: glioma, miR-155, metilazione

Riferimento bibliografico

[Schliesser MG](#) et al. *Oncotarget* 2016, 7(50):82028-45.

NEUROLOGIA

CONCORDANZA TRA DOSE DI DESVENLAFAXINA EFFICACE PER LA REMISSIONE DEI SINTOMI E DOSE PREDETTA DALLA FARMACOGENETICA NEL DISTURBO DEPRESSIVO MAGGIORE: UNO STUDIO OPEN-LABEL DI 10 SETTIMANE

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'efficacia e il dosaggio degli antidepressivi nella pratica clinica sono molto variabili; ciò è dovuto, in parte, a polimorfismi genetici che influenzano la biodisponibilità di questi farmaci. I polimorfismi più studiati sono quelli dei geni *CYP2D6* e *CYP2C19* che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo di fase I della maggior parte degli antidepressivi di seconda generazione. Gruppi indipendenti esperti in farmacogenetica clinica hanno sviluppato linee-guida per il dosaggio degli SSRI e degli antidepressivi triciclici esclusivamente sulla base delle variazioni genetiche di *CYP2D6* e *CYP2C19*. Tuttavia, non tutti gli antidepressivi sono metabolizzati da *CYP2D6* e *CYP2C19*, quindi gli strumenti di supporto alla clinica basati sulla farmacogenetica dovrebbero includere ulteriori geni coinvolti nella farmacocinetica. Uno di questi strumenti commerciali è il CNSDose che, oltre alle varianti genetiche di *CYP2D6* e *CYP2C19*, misura anche le varianti di *UGT1A1* (UDP-glucuronosiltransferasi 1A1), un gene che codifica per un enzima del metabolismo di fase II, e di due geni *ATP-binding cassette* (*ABCB1* e *ABCC1*), che codificano per trasportatori di efflusso che a loro volta limitano la permeabilità dei farmaci a livello della barriera emato-encefalica. Questi geni sono particolarmente rilevanti per la farmacocinetica della desvenlafaxina che non è soggetta al metabolismo del CYP450, ma a quello dell'*UGT1A1*. Inoltre, alcuni dati suggeriscono che *ABCB1* è in grado

di moderare la concentrazione encefalica della desvenlafaxina e che le varianti genetiche funzionali di *ABCB1* e *ABCC1* sono associate all'efficacia degli antidepressivi.

Il presente studio è uno studio prospettico *open-label* di 10 settimane, durante le quali è stata somministrata desvenlafaxina in pazienti con disturbo depressivo maggiore (*major depressive disorder*, MDD); lo scopo è di confrontare la dose predetta dal CNSDose con la dose efficace richiesta per la remissione dei sintomi al fine di valutare la validità clinica del CNSDose nella scelta del dosaggio efficace di desvenlafaxina da prescrivere.

I partecipanti allo studio erano pazienti ambulatoriali *naive* per gli antidepressivi, Caucasici, di età maggiore di 18 anni, con una diagnosi di MDD formulata sulla base del *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed.* (DSM-5) e con un punteggio alla *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) a 17-item maggiore o uguale a 18. I criteri di esclusione comprendevano: storia di traumi infantili, concomitante di altre diagnosi psichiatriche oltre alla MDD, gravidanza, allattamento, compromissione epatica o renale, coprescrizione di farmaci induttori/inibitori di *UGT1A1* o *ABCB1*. Era consentito l'uso di ipnotici, ma non altri psicofarmaci. I partecipanti allo studio (n=119) hanno ricevuto desvenlafaxina in aperto per un periodo di 10 settimane; il dosaggio del farmaco è stato aumentato, ridotto o lasciato invariato ogni 2 settimane sulla base della tollerabilità soggettiva riportata e sulla valutazione clinica del miglioramento sintomatologico. Gli incrementi del dosaggio erano limitati ad aumenti di 50 mg di farmaco ogni 2 settimane, al fine di mitigare i potenziali effetti collaterali, come ad esempio l'ipotensione ortostatica. La gravità dei sintomi è stata valutata con la HDRS al *baseline* ed alla settimana 2, 4, 6, 8, e 10 *postbaseline*. La remissione è stata definita da un punteggio alla HDRS di 7 o meno alla settimana 10 dello studio.

Per ogni partecipante allo studio è stato utilizzato un rapporto interpretativo farmacogenetico commerciale (CNSDose; Baycrest Biotechnology Pty Ltd, Melbourne, Victoria, Australia) alla conclusione del *trial*. Il rapporto interpretativo prediceva il *range* di dosaggio ottimale di desvenlafaxina: basso (≤ 50 mg), medio (>50 e < 150 mg) o alto (≥ 150 mg), sulla base delle variazioni genetiche in *ABCB1* (rs1045642), *ABCC1* (rs212090), *CYP2C19*, *CYP2D6* e *UGT1A1* (rs8175347). In questo studio le informazioni genetiche su *CYP2C19* e *CYP2D6* non sono state usate in quanto non rilevanti per la farmacocinetica della desvenlafaxina.

La genotipizzazione è stata realizzata tramite PCR, seguita da *single primer extension* e analisi su un *Sequenom Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry genetic analysis system by Healthscope Molecular* (Clayton, Victoria, Australia).

Per i pazienti che hanno raggiunto la remissione dei sintomi, la *performance* dello strumento CNSDose è stata valutata confrontando il *range* di dose di desvenlafaxina predetto dal rapporto interpretativo con la dose efficace richiesta per ottenere la remissione dei sintomi.

Dopo 10 settimane di terapia con desvenlafaxina l'80% (n=95) dei partecipanti ha raggiunto la remissione dei sintomi. La media del tempo di remissione è stata di 8,4 (SD=1.4) settimane. I pazienti a cui è stata prevista la necessità di un'alta dose di farmaco hanno richiesto un tempo significativamente più lungo (media=9,3, SD=1,0 settimane) per raggiungere la remissione rispetto ai gruppi in cui era stata predetta una dose bassa (media=8,1, SD=1,3 settimane; Bonferroni $P=0,01$) e media (media=8,2, SD=1,4 settimane; Bonferroni $P=0,006$). Dei 95 partecipanti che hanno raggiunto la remissione dei sintomi, 22 (23%) hanno ricevuto una dose bassa; 53 (56%) una dose media e 20 (21%) una dose alta di desvenlafaxina. Il CNSDose ha predetto che 22 (23%) pazienti avrebbero richiesto una dose bassa, 55 (58%) una dose media e 18 (19%) una dose alta per ottenere una remissione. Il confronto tra la dose assunta e quella prevista dal CNSDose per la remissione ha indicato una forte concordanza ($T_b=0,84$, $P=0,0001$; $\kappa=0,82$, $P=0,0001$). Inoltre, la dose predetta dal CNSDose ha mostrato un'alta sensibilità (85-92%), specificità (86-92%) ed accuratezza (89-96%) in relazione alla dose efficace per la remissione dei sintomi.

Tra i 24 pazienti che non hanno raggiunto la remissione alla decima settimana, il 42% (n=10) mostrava una riduzione alla HDRS maggiore del 50% rispetto al *baseline*. Di questi pazienti, 2 (20%) hanno ricevuto una bassa dose, 6 (60%) una dose media e 2 (20%) una dose alta di farmaco. Il CNSDose ha predetto che 3 (30%) pazienti avrebbero richiesto una dose bassa, 5 (50%) una dose media e 2 (20%) una dose alta. In maniera simile all'analisi dei pazienti con remissione, il confronto tra la dose efficace e quella predetta dal CNSDose

ha evidenziato una forte concordanza ($T_b=0,87$, $P=0,004$; $\kappa=0,83$, $P=0,0001$). Tuttavia, tra i *nonresponders* ($n=14$), la concordanza era solo moderata ($T_b=0,86$, $P=0,005$; $\kappa=0,39$, $P=0,006$), anche se tutti i *nonresponders* avevano ricevuto la CNSDose predetta o una dose maggiore alla settimana 10. La sensibilità, specificità ed accuratezza in questo gruppo non sono state calcolate a causa della ridotta dimensione del campione.

I risultati del presente studio suggeriscono che lo strumento del CNSDose potrebbe avere un'utilità clinica nel guidare il dosaggio della desvenlafaxina in un gruppo di pazienti con sintomi depressivi di moderata o grave entità. La dose predetta dal CNSDose aveva un'alta concordanza con la dose efficace richiesta per la remissione, suggerendo che l'uso del CNSDose all'inizio del trattamento con desvenlafaxina ha un potenziale nel ridurre i tempi di remissione, in particolare tra i pazienti che richiedono una dose alta di farmaco (≥ 150 mg). I risultati, in parte, supportano un precedente studio in doppio-cieco randomizzato, che ha mostrato come il CNSDose sia in grado di migliorare la risposta dei pazienti con MDD alle diverse terapie con antidepressivi di prima e seconda generazione; in questo studio, tuttavia, erano pochi i pazienti trattati con desvenlafaxina.

Due dei geni (*CYP2D6* e *CYP2C19*) inclusi nel CNSDose non sono stati utilizzati nel predire il dosaggio di desvenlafaxina e la rilevanza di *ABCB1* e *ABCC1* risulta incerta dagli studi in letteratura. Pertanto, i meccanismi attraverso cui il CNSDose conferisce il suo valore predittivo coinvolgono presumibilmente la fase II epatica del gene *UGT1A1*. Tuttavia, sembra che *UGT1A1* in sé abbia una capacità limitata nel predire la dose efficace necessaria per raggiungere la remissione, suggerendo che il valore predittivo di CNSDose richieda un approccio poligenico.

Il presente studio presenta alcune limitazioni. L'esclusione di pazienti con terapia precedente o in atto con antidepressivi, con una storia di traumi infantili, con comorbidità, in particolare con disturbi della personalità con distimia o con alterazioni del tono dell'umore, può limitare l'applicazione di questi risultati ad una popolazione clinica generale in cui queste comorbidità sono molto frequenti. Questa considerazione è supportata anche dal tasso di risposta e remissione nel presente studio che mostra valori molto più alti di quelli registrati in altri *trials* con antidepressivi. Questi dati potrebbero inoltre essere spiegati anche dall'utilizzo di dosi maggiori (fino a 150 mg, rispetto ai 50 mg raccomandati come dose efficace) utilizzati in questo studio. Un'altra limitazione è rappresentata dal disegno *open-label* dello studio: ai pazienti la dose di antidepressivo non è stata variata in cieco e questo può aver influenzato la valutazione del quadro clinico sintomatologico. Inoltre, nel presente studio sono stati valutati solo una piccola parte dei polimorfismi noti di *ABCB1*, *ABCC1* e *UGT1A1*; è probabile che altri polimorfismi di questi geni o altri geni siano rilevanti nella farmacocinetica della desvenlafaxina.

In conclusione, il presente studio *open-label*, mostra evidenze preliminari di validità clinica del CNSDose (uno strumento farmacogenetico poligenico) nel predire il dosaggio efficace di desvenlafaxina in pazienti Caucasici con disturbo depressivo maggiore.

Parole chiave: antidepressivi, desvenlafaxina, depressione maggiore, medicina personalizzata, farmacogenetica, farmacogenomica, medicina di precisione

Riferimento bibliografico

[Bousman CA](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2017, 27: 1-6.

GENI CHE CODIFICANO PER LE NEUROTROFINE ED AGGRAVAMENTO DELL'IDEAZIONE SUICIDARIA INDOTTO DA ANTIDEPRESSIVI: UNO STUDIO PROSPETTICO CASO-CONTROLLO

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

L'aggravamento dell'ideazione suicidaria durante il trattamento con antidepressivi è un fenomeno non comune ma rilevante, che è stato associato a diverse classi di antidepressivi tra i quali gli inibitori selettivi

della ricaptazione della serotonina, gli antidepressivi triciclici e gli inibitori della ricaptazione della serotonina e della noradrenalina. E' stato suggerito che l'ideazione suicidaria presenti delle basi genetiche. In particolare, è stato suggerito il ruolo del fattore neurotrofico BDNF e del suo recettore TrkB. Nei cervelli postmortem di soggetti morti per suicidio sono stati riscontrati diminuzioni della trascrizione dei geni *BDNF* e *NTRK2* (che codifica per TrkB) e alterazioni qualitative (ad esempio una diminuzione della capacità di autofosforilazione di TrkB). Studi recenti di farmacogenetica suggeriscono che anche l'aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi possa avere delle basi genetiche. Nonostante sia stato inizialmente descritto perlopiù in adolescenti e giovani adulti di età inferiore ai 25 anni, questo aggravamento può verificarsi anche nei pazienti adulti. Gli autori dello studio hanno valutato l'associazione tra varianti geniche della pathway delle neurotrofine e l'aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi in una grande coorte naturalistica di pazienti ambulatoriali depressi, trattati con tianeptina.

Il campione era rappresentato dai pazienti arruolati dallo studio GENESE, una grande coorte naturalistica, prospettica, comprendente 3771 pazienti ambulatoriali francesi con una diagnosi di depressione maggiore e trattati con tianeptina, uno degli antidepressivi maggiormente prescritti in Francia. Il dosaggio di tianeptina era gestito dal medico di medicina generale e variava tra 12,5 e 37,5 mg/die. La diagnosi di episodio depressivo maggiore è stata fatta dal medico di medicina generale in base ai criteri del DSM IV. L'ideazione suicidaria è stata valutata utilizzando un unico item ("suicidal thoughts") della *Montgomery-Asberg Depression Rating Scale* (MADRS). I pazienti hanno autovalutato i sintomi depressivi al *baseline* utilizzando la *Hospital Anxiety and Depression Scale*, e hanno compilato l'item 10 della MADRS al giorno 14. Infine, entrambe le valutazioni sono state riefettuate dal medico di medicina generale durante l'ultima visita (tra il giorno 42 e il giorno 56) per valutare l'evoluzione dell'episodio depressivo. Il DNA genomico è stato estratto al *baseline* mediante un prelievo di saliva. E' stato definito peggioramento dell'ideazione suicidaria un aumento di almeno 2 punti del punteggio attribuito all'item 10 della MADRS tra il *baseline* e il giorno 14 o l'ultima visita. Altri criteri di inclusione comprendevano età superiore ai 18 anni e etnia Caucasica. I controlli sono stati selezionati con rapporto 4 a 1 rispetto ai casi, in base al *matching* per età, sesso e severità dell'ideazione suicidaria al *baseline*.

I polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) sono stati selezionati per la genotipizzazione in base a 4 criteri: 1) SNP di geni della *pathway* delle neurotrofine precedentemente associati con suicidio o aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi, 2) frequenza dell'allele minore > 5%, 3) distanza tra due SNP > 10.000 paia di basi, e 4) numero totale < 20 per via del numero limitato di casi. Nella scelta degli SNP è stata data priorità al gene *NTRK2*, per via del suo ruolo nel meccanismo d'azione degli antidepressivi. Lo studio ha incluso un totale di 13 SNP: rs6265 e rs962369 (*BDNF*); rs10868235, rs1114800, rs1867283, rs1147198, rs1187286, rs1439050 e rs1387923 (*NTRK2*); rs2072446 (*p75NTR*); rs2551919 e rs4675690 (*CREB*) e rs1360550 (*PKC*). La genotipizzazione è stata effettuata utilizzando la tecnica TaqMan. L'analisi caso-controllo è stata condotta mediante la costruzione di un modello di regressione logistica. La correzione per test multipli è stata effettuata mediante permutazione. I test t di Student e chi quadro sono stati utilizzati per individuare variabili rilevanti da includere nel modello di regressione logistica.

Un totale di 78 pazienti ha soddisfatto i criteri di diagnosi di aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi e 312 pazienti sono stati selezionati come controlli. L'età media di inclusione era di 48,2 anni e il rapporto femmine/maschi era di 2:1. Abuso di alcool e coprescrizione di benzodiazepine erano più frequenti nei casi rispetto ai controlli. Nei casi, l'episodio depressivo considerato era meno frequentemente il primo episodio nella storia del paziente, rispetto ai controlli. Una storia di comportamento suicidario era più frequente nei casi rispetto ai controlli. Due SNP, entrambi localizzati nel gene *NTRK2*, sono risultati associati con l'aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi: rs1439050 ($p=0,01$) e rs1867283 ($p=0,04$). Soltanto rs1439050 è rimasto significativo dopo la correzione per test multipli ($p=0,02$). Dopo la correzione per variabili cliniche potenzialmente rilevanti (storia di comportamento suicidario, primo episodio depressivo, abuso di alcool e coprescrizione di benzodiazepine) rs1439050 è stato l'unico SNP a conservare un'associazione significativa con il fenotipo in esame ($p<0,01$, $p=0,02$, $p=0,02$ e $p=0,04$, rispettivamente).

In una seconda fase, gli autori hanno stratificato le analisi per "prima presentazione vs peggioramento dell'ideazione suicidaria", "con o senza storia di comportamento suicidario" e "età minore di 24 anni), trovando che rs1439050 risultava associato 1) nei pazienti che mostravano un peggioramento dell'ideazione suicidaria, 2) nei pazienti con età maggiore di 25 anni e 3) nei pazienti senza storia di comportamento suicidario [$p=0,02$, odds ratio (OR)=1,72; $p=0,01$, OR=1,72; $p=0,01$ OR=1,72). Tre aplotipi composti da SNP localizzati nel gene *NTRK2* sono risultati associati con l'aggravamento dell'ideazione suicidaria. Soltanto uno comprende lo SNP rs1439050 (rs1439050|rs1187286, test omnibus $p=0,03$). Gli altri due aplotipi risultati associati erano: rs10868235|rs11140800, test omnibus $p=0,04$, e rs1867283|rs10868235|rs1114080, test omnibus $p=0,02$.

Lo SNP intronico rs1439050 era già stato associato da un lavoro precedente all'aumento di ideazione suicidaria durante la prima settimana successiva all'introduzione di un trattamento con antidepressivi. Tuttavia, i risultati dei due lavori, entrambi condotti nella popolazione caucasica, mostrano direzione opposta. E' stato suggerito che il recettore TrkB possa giocare un ruolo nel meccanismo d'azione degli antidepressivi anche indipendentemente dal legame del BDNF. Studi preclinici hanno mostrato che la somministrazione di antidepressivi induce un aumento dei livelli di fosforilazione di TrkB anche in topi knockout per il BDNF, suggerendo che il legame della neurotrofina non sia indispensabile per l'attivazione di TrkB ad opera degli antidepressivi. Un'alterazione funzionale di TrkB potrebbe alterare l'azione degli antidepressivi sulla *pathway* delle neurotrofine ed avere un ruolo nell'emergenza di effetti avversi. Tuttavia, dal momento che lo SNP rs1439050 non sembra avere un significato funzionale, resta da capire se questo possa essere in *linkage disequilibrium* con altre varianti in grado di esercitare un effetto.

Tra i limiti dello studio vi sono il numero limitato di casi (nonostante le dimensioni delle coorte dai quali sono stati selezionati), il fatto che la coorte GENESE comprenda solo pazienti ambulatoriali (escludendo i casi più severi e potenzialmente maggiormente esposti al peggioramento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi), la valutazione dell'ideazione suicidaria effettuata dal medico di medicina generale e dal paziente, e non dallo specialista psichiatra.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra l'aggravamento dell'ideazione suicidaria indotto da antidepressivi e lo SNP rs1439050 del gene *NTRK2* in soggetti depressi trattati con tianeptina.

Parole chiave: antidepressivi, ideazione suicidaria, *NTRK2*

Riferimento bibliografico

[Voegeli G](#) et al. *Int J Neuropsychopharmacol* 2016, 19(11).

CARDIOVASCOLARE

LE VARIANTI DELL'ISOFORMA *CYP2C19* INFLUENZANO EFFICACIA E SICUREZZA DEL CLOPIDOGREL DOPO UN ANNO DI TERAPIA IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A INTERVENTO PERCUTANEO CORONARICO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Gli antiaggreganti piastrinici clopidogrel e aspirina sono i farmaci di prima linea per la prevenzione di eventi tromboembolici maggiori come la morte e l'infarto del miocardio dopo intervento percutaneo coronarico. Tuttavia, alcuni pazienti (dal 4,2 al 27,8%) sono resistenti alla terapia con dosi standard di clopidogrel e i polimorfismi a singolo nucleotide *CYP2C19*2* e *CYP2C19*3* rappresentano le varianti genetiche più importanti nell'influenzare tale resistenza farmacologica. Il clopidogrel è un inibitore irreversibile del

recettore P2Y₁₂ per l'ADP presente sulla superficie delle piastrine. L'attività di questo antiaggregante si manifesta anche attraverso la riduzione dell'espressione e del rilascio dalle piastrine del fattore solubile sCD40L e della selectina-P. Altri fattori coinvolti nel processo dell'aggregazione piastrinica sono molecole di adesione vascolare come VCAM-1 che è indotta da varie citochine, la selectina E ed altre proteine di adesione localizzate sulla superficie dell'endotelio vasale. L'attività antiaggregante può essere valutata tramite aggregometro che misura il grado di aggregazione piastrinica residua (*Residual Platelet Aggregation, RPA*) e il grado massimo di aggregazione (*Maximal Aggregation Rate, MAR*).

Gli autori di questo lavoro hanno studiato l'influenza dei polimorfismi del gene *CYP2C19* sugli effetti terapeutici e tossici del clopidogrel ed anche sugli effetti antiinfiammatori e protettivi della funzione endoteliale mediati dal farmaco.

I pazienti (età ≥ 18 anni) sono stati arruolati presso l'ospedale "*Fujian Provincial Hospital*" in Cina tra marzo 2012 e marzo 2014 e tutti, avendo ricevuto una diagnosi di malattia coronarica, sono stati sottoposti a intervento percutaneo coronarico. I criteri di esclusione erano l'assunzione di aspirina e ipersensibilità al clopidogrel o a mezzi di contrasto, comorbidità come tumori o disordini emorragici e cause d'instabilità emodinamica.

L'aggregazione piastrinica residua è stata misurata tramite metodo turbidimetrico dopo 24 ore dall'intervento. La genotipizzazione è stata eseguita tramite un kit basato su *primer extension*, PCR e spettrometria di massa (*BAIO company, Shanghai, China*). Gli individui con i genotipi *CYP2C19*-*1/*1, -*1/*2 e -*1/*3 sono stati definiti rispettivamente come metabolizzatori estensivi (EM), intermedi (IM) e lenti (PM). Come *outcome* clinici, gli autori hanno preso in considerazione gli eventi cardiovascolari maggiori come la morte per causa cardiovascolare, l'infarto del miocardio e l'angina instabile.

Considerati i criteri di esclusione, la popolazione in studio è risultata composta da 559 pazienti che sono stati seguiti per un periodo di 1 anno. I pazienti sono stati stratificati sulla base del genotipo e quindi suddivisi in tre gruppi: 181 EM; 253 IM e 85 PM. I gruppi erano omogenei tra loro per quanto attiene alle variabili come l'età, il sesso, i fattori di rischio cardiovascolare, comorbidità e terapia farmacologica. Gli autori hanno trovato differenze statisticamente significative tra i gruppi portatori dei tre genotipi sia per quanto riguarda il grado di RPA e MAR sia nei livelli delle molecole infiammatorie selectina P ed E, sCD40L, metalloproteinasi-9 (MMP-9) e VCAM-1. Per tutti i parametri molecolari analizzati è stato osservato un aumento nel gruppo composto dagli individui IM+PM rispetto ai soggetti EM. Dopo un anno di osservazione, 69/519 pazienti (13,3%) avevano subito un evento cardiovascolare maggiore. Il rischio di tale evenienza è risultato essere 2,7 volte più alto nel gruppo IM+PM rispetto al gruppo EM. Particolarmente alta è risultata la frequenza di angina instabile negli individui IM e PM rispetto agli individui *wild type* (EM). Questo studio dimostra che le varianti *CYP2C19**2 e *3 influenzano la funzione piastrinica in termini di aggregazione piastrinica residua e livello massimo di aggregazione e, inoltre, sono associati a cambi nei livelli di espressione di molecole coinvolte nel processo di aggregazione piastrinica, nell'adesione cellulare e nel processo infiammatorio.

Dal punto di vista clinico, l'efficacia del clopidogrel è risultata essere ridotta nel gruppo composto IM+PM rispetto ai pazienti EM. Gli autori hanno confermato che i polimorfismi *CYP2C19**2 e *3 sono fattori di rischio indipendenti per gli eventi cardiovascolari maggiori nei pazienti sottoposti a intervento percutaneo coronarico. Inoltre, l'associazione trovata tra la presenza delle varianti e le differenze dei livelli di espressione di molecole coinvolte nel complicato processo dell'aggregazione piastrinica rafforzano ancora di più il ruolo di questi polimorfismi nel determinare l'esito della terapia antiaggregante con clopidogrel in questo *setting* clinico. I livelli di MMP-9, sVCAM-1 e selectina erano più elevati nei pazienti IM e PM rispetto agli EM. Questo implica che i polimorfismi del *CYP2C19* influenzano l'attività del clopidogrel nell'inibire l'infiammazione e migliorare la funzione endoteliale.

Una limitazione di questo studio è dovuta al fatto che questi fattori molecolari sono stati valutati 24 ore dopo l'intervento e non sono stati misurati al follow-up, di conseguenza essi potrebbero non essere direttamente associati all'evenienza degli eventi avversi analizzati come *outcome* clinico.

Lo screening farmacogenetico delle varianti del *CYP2C19* è utile nei pazienti con malattia coronaria sottoposti a rivascolarizzazione con intervento percutaneo coronarico. I pazienti che sono metabolizzatori intermedi o lenti potrebbero beneficiare di dosi più alte di clopidogrel per aumentare l'efficacia del farmaco e ridurre il rischio di eventi avversi cardiovascolari maggiori.

Parole chiave: CYP2C19*2, CYP2C19*3, aggregazione piastrinica residua, eventi avversi cardiovascolari maggiori

Riferimento bibliografico

[Sun H](#) et al. *Front Pharmacol* 2016, 7:453.

UNO SCORE DI RISCHIO GENETICO È ASSOCIATO ALLA RISPOSTA ALLA TERAPIA CON STATINE IN UNA POPOLAZIONE DI SOGGETTI ANZIANI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Le statine sono farmaci che inibiscono la sintesi di colesterolo endogeno tramite il blocco dell'attività dell'idrossimetilglutaril-CoA reduttasi, un enzima deputato alla conversione di 3-idrossi-3-metilglutaril-CoA in acido mevalonico, un precursore del colesterolo. L'assunzione di statine risulta in una riduzione pari al 30-50% dei livelli plasmatici di colesterolo LDL (lipoproteine a bassa densità), a cui consegue una significativa diminuzione dell'insorgenza di eventi cardiovascolari. Essendo ad oggi nota una rilevante variabilità interindividuale in termini di risposta farmacologica a tali farmaci, si rende di forte interesse clinico l'identificazione di fattori predittivi dell'efficacia e della sicurezza degli stessi. Alcuni fattori clinici e genetici sono ad ora noti come potenziali modulatori dell'efficacia e della sicurezza delle statine. Tra i fattori clinici si includono l'età, l'abitudine al fumo e l'etnia dei pazienti. Tra i fattori genetici si evidenziano un polimorfismo del gene *SLCO1B1*, emerso come associato sia a variazioni della farmacocinetica delle statine che ad una maggiore incidenza di miopatie, nonché alcune varianti dei geni *APOE*, *PCSK9* e *LPA*, riportate come correlate ad alterazioni dei livelli lipidici endogeni dopo somministrazione di statine. Un recente studio di associazione *genome-wide* ha, inoltre, identificato la variante rs646776, localizzata tra i geni *CELSR/PSRC1/SORT1*, come fattore genetico predittivo della risposta alle statine. Alla luce di tali evidenze, gli obiettivi del presente studio sono stati quelli di: i) validare il ruolo di polimorfismi, noti in letteratura per essere correlati all'efficacia/sicurezza delle statine, come determinanti genetici della variazione dei livelli plasmatici di colesterolo LDL dopo somministrazione di statine in un'ampia coorte di pazienti anziani; ii) costruire un punteggio di rischio poligenetico predittivo della risposta terapeutica alle statine.

Il presente studio di associazione genetica è stato condotto su un campione di 243 pazienti anziani di età ≥ 70 anni, arruolati tra il 2001 ed il 2011 per lo studio *Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors* (PIVUS). Nello specifico sono stati inclusi tutti i partecipanti allo studio PIVUS che all'età di 75 (sottogruppo 1: N=104) e 80 anni (sottogruppo2: N=139) fossero stati in trattamento con statine da almeno 5 anni. Sono stati rilevati i livelli di colesterolo totale, colesterolo LDL, trigliceridi e glucosio sia al *baseline* che ogni 5 anni di *follow-up*. È stata, inoltre, arruolata una coorte di replicazione costituita da un campione di 221 soggetti di età ≥ 60 anni e in trattamento con statine da almeno 5 anni, precedentemente reclutati per lo studio CoLaus. Il DNA dei pazienti arruolati nella coorte esploratoria è stato genotipizzato per 23 varianti genetiche emerse in letteratura come correlate all'efficacia/sicurezza delle statine. Di queste 23 varianti, solo gli SNPs non in *linkage disequilibrium* tra loro sono stati inseriti nell'analisi di associazione genetica univariata (test non parametrico di Mann-Whitney) e multivariata (regressione lineare) condotta separatamente nei due sottogruppi di pazienti costituenti la coorte esploratoria. Analogamente, è stata poi condotta dagli Autori un'analisi *Random Forest* ed i polimorfismi genetici eccedenti più del 10% l'errore quadratico medio (MSE) sono stati inseriti nel modello finale di punteggio di rischio poligenetico. Tale punteggio di rischio poligenetico è stato, in ultimo, validato nella coorte di replicazione.

Tutti e 23 gli SNPs analizzati sono risultati essere in equilibrio di Hardy-Weinberg. Tra questi, le varianti rs1724481 e rs6453131 sono emerse essere in *linkage disequilibrium* con altri due polimorfismi inclusi nella genotipizzazione (rispettivamente, rs17238540 e rs12916) e per tale ragione sono stati esclusi dalle analisi di associazione. Dall'analisi di associazione genetica univariata, sono emerse associazioni nominali tra le varianti HMGCR rs17238484 ($P=0.048$), HMGCR rs17238540 ($P=0.011$), LDLR rs11668477 ($P=0.049$), APOE rs769449 ($P=0.008$), APOE rs7412 ($P=0.008$) ed i livelli di LDL-C nel sottogruppo 1 di pazienti trattati con statine ($N=104$). Nel sottogruppo 2 ($N=139$) è, invece, emersa un'associazione nominale tra lo SNP APOE rs7412 ($P=0.037$) e l'*outcome* in studio. Al contrario, l'analisi multivariata ha evidenziato associazioni nominali per le varianti CELSR/PSRC1/SORT1 rs646776 ($P=0.019$), HMGCR rs17238484 ($P=0.013$), HMGCR rs17238540 ($P=0.004$), APOE rs7412 ($P=0.011$) nel sottogruppo 1 e per gli SNPs APOE rs7412 ($P=0.035$) e LPA rs3798220 ($P=0.026$) nel sottogruppo 2. Tuttavia, dopo correzione per test multipli, nessuna di tali associazioni nominali ha mantenuto la significatività statistica. Alla luce di questi risultati, è stata condotta nella coorte esploratoria un'analisi *Random Forest* dalla quale sono emerse 7 varianti genetiche eccedenti più del 10% l'errore quadratico medio (APOE rs4420638, HMGCR rs17238540, LDLR rs11668477, ABCC2 rs2002042, CELSR/PSRC1/SORT1 rs646776, HMGCR rs17238484, APOE rs7412). In seguito a limiti metodologici discussi dagli Autori, 4 di queste 7 varianti (APOE rs4420638, APOE rs7412, ABCC2 rs2002042, CELSR/PSRC1/SORT1 rs646776) sono state effettivamente incluse nel punteggio di rischio poligenetico. Dall'analisi di regressione lineare corretta per sesso, BMI, abitudine al fumo e diabete è emersa una correlazione significativa tra lo *score* di rischio poligenetico ed i livelli plasmatici di LDL-C, sia nel sottogruppo 1 ($P=0.011$) che nel sottogruppo 2 ($P=0.047$). Tale correlazione è stata validata nella coorte di replicazione ($P=0.042$).

Dall'analisi *Random Forest* è emerso come i due top SNPs tra i 7 identificati come correlati ai livelli di LDL-C negli utilizzatori di statine fossero APOE rs7412 e CELSR/PSRC1/SORT1 rs646776. Tali risultati sono in linea con quelli emersi da studi precedenti riportanti APOE rs7412 come determinante genetico dei livelli di HDL-C, sia negli utilizzatori di statine che nei non-utilizzatori di tali farmaci. Analogamente, CELSR/PSRC1/SORT1 rs646776 è indicato in letteratura come modulatore genetico della riduzione dei livelli plasmatici di LDL-C, in quanto risultante in un'elevata espressione a livello epatico della sortilina, una proteina chiave nel metabolismo delle LDL-C. Data la ridotta dimensione campionaria delle coorti di pazienti incluse nel presente studio, sono necessari ulteriori studi al fine di confermare i risultati ivi ottenuti. Gli Autori suggeriscono inoltre la possibilità di testare il valore dello *score* di rischio poligenetico ivi proposto come fattore predittivo della risposta a specifiche statine nonché come potenziale modulatore genetico del rischio di insorgenza di reazioni avverse indotte dall'uso di tali farmaci, quali ad esempio, le miopatie.

Il punteggio di rischio poligenetico basato sulla combinazione delle varianti APOE rs4420638, APOE rs7412, ABCC2 rs2002042 e CELSR/PSRC1/SORT1 rs646776 è risultato essere correlato alla riduzione dei livelli di LDL-C in una popolazione di pazienti anziani in trattamento con statine.

Parole chiave: punteggio di rischio poligenetico, statine, dislipidemia

Riferimento bibliografico

[Ciuculete DM](#) et al. *Clin Genet* 2016 Oct 13 [Epub ahead of print].

OFTALMOLOGIA

UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME WIDE* IDENTIFICA L'ASSOCIAZIONE DI OR52B4 RS4910623 CON LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO ANTI-VEGF NELLA DEGENERAZIONE MACULARE SENILE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

La degenerazione maculare senile (DMS) è una malattia legata all'invecchiamento che colpisce la macula, ossia la porzione più centrale della retina e può portare alla perdita irreversibile della vista.

La vista viene seriamente messa in pericolo quando DMS raggiunge le sue fasi più tardive, quali atrofia geografica (AG) o vascolarizzazione coroidale (CV). Uno dei regolatori più importanti del processo di neovascolarizzazione è il fattore di crescita vascolare (VEGFA), importante attore dell'angiogenesi. Al momento, il trattamento più efficace per contrastare la CV prevede l'inibizione di VEGF mediante i farmaci biologici ranibizumab, aflibercept o bevacizumab. Molteplici studi hanno infatti dimostrato che questi farmaci sono efficaci nel migliorare l'acuità visiva (AV) di pazienti con DMS, tuttavia circa il 10% dei pazienti non mostra progressi e esibisce un declino continuo dell'AV.

Dato il possibile coinvolgimento di fattori genetici nella risposta farmacologica, lo scopo di questo studio è stato quello di investigare le possibili associazione genetiche, tramite uno studio di associazione *genome-wide* (GWAS).

Lo studio ha previsto 3 fasi: i) fase di *discovery* in cui sono stati arruolati un totale di 285 pazienti, impiegando un array Illumina; ii) fase di validazione in cui sono stati validati i singoli genotipi nei primi 285 soggetti + 12 nuovi pazienti; iii) fase di replicazione in una coorte indipendente di 376 pazienti. Tutti i pazienti avevano un'età >50 anni, con CV e ricevuti iniezioni di trattamenti anti-VEGF.

Dalla fase di *discovery*, sono emersi un totale di 44 SNPs, significativamente associati con la risposta farmacologica. La validazione tecnica (fase ii), dopo correzione di Bonferroni, ha confermato l'associazione significativa di 3 SNPs (OR52B4 rs4910623, LEPR rs10158937, LOC100287225 rs323085) con la risposta a 6 mesi di trattamento con ranibizumab. L'allele rs4910623 G è risultato associato con una risposta peggiore (OR=2.58, 95%CI: 1.63-4.10, $p=5.7 \times 10^{-5}$), mentre rs323085 C (OR=0.16, 95%CI: 0.06-0.46, $p=6.5 \times 10^{-4}$) e rs10158937 C (OR=0.32, 95%CI: 0.17-0.65, $p=1.3 \times 10^{-3}$) mostravano un effetto protettivo.

Nella fase di replicazione (fase iii) lo SNP OR52B4 rs4910623 ha mantenuto l'associazione statisticamente significativa con la risposta a 6 mesi ($p=2.4 \times 10^{-3}$, OR=1.8, 95%CI= 1.24-2.71); LEPR rs10158937, LOC100287225 rs323085 invece non sono risultati significativamente associati nella coorte di validazione.

Infine, per confermare ulteriormente la rilevanza del polimorfismo, gli autori hanno eseguito una meta-analisi unendo la coorte di *discovery* e di replicazione e analizzando l'associazione con la risposta farmacologica a 6 mesi, verificando un effetto statisticamente significativo ($p=9.3 \times 10^{-6}$).

Lo studio ha permesso di identificare lo SNP rs4910623 come associato con una risposta peggiore al trattamento con ranibizumab. Questo polimorfismo è situato sul promotore del gene OR52B4 e secondo il database HaploReg è predetto alterare i motivi regolatori GATA e TCF4, posizionati 22bp a monte del gene. OR52B4 è un gene di 314 bp, espresso nella retina, nel nervo ottico e corioide, tuttavia il ruolo nell'angiogenesi non è stato ancora chiarito, nè è stato precedentemente riportato essere associato con la farmacogenetica nella DMS.

Lo studio è ben progettato e sviluppato. Infatti l'analisi prevede due coorti indipendenti di pazienti, una per il *discovery* e una di replicazione, che permettono di raggiungere un potere statistico maggiore. I risultati della prima fase mettono in luce 44 polimorfismi associati con la risposta al trattamento, ottenuti con un array high-through-put Illumina; la fase di validazione tecnica, eseguita con una diversa metodologia – piattaforma MassArray-, riesce tuttavia a validare solo 3 SNPs. Questa discrepanza è sollevata dagli stessi autori, che la imputano ad errori tecnici nella preparazione dei pool di DNA per gli array.

Il gene OR52B4 non è stato precedentemente associato con la risposta farmacogenetica nella degenerazione maculare senile, così come nell'angiogenesi; di conseguenza ulteriori studi saranno necessari per chiarire il suo ruolo biologico.

In conclusione, questo studio riporta per la prima volta l'associazione tra OR52B4 rs4910623 e risposta farmacologica a ranibizumab dopo 6 mesi di trattamento.

Parole chiave: degenerazione maculare senile (DMS), ranibizumab, OR52B4

Riferimento bibliograficoRiaz M et al. *Sci Rep* 2016, 6: 37924.**FARMACOLOGIA****CARATTERIZZAZIONE DELLE VARIAZIONI GENETICHE DELL'ADME IN 21 POPOLAZIONI TRAMITE SEQUENZIAMENTO DELL'ESOMA***A cura della Dott.ssa Sarah Allegra*

La selezione di una dose efficace e sicura è fondamentale per lo sviluppo di farmaci e richiede la valutazione dei fattori intrinseci ed estrinseci che ne influenzano la farmacocinetica. Le proteine coinvolte nell'assorbimento, nella distribuzione, nel metabolismo e nell'escrezione (ADME) del farmaco svolgono un ruolo importante nel determinarne il profilo farmacocinetico. Vi è una notevole variazione genetica nei geni che codificano per le proteine dell'ADME, sia fra gli individui di uno stesso gruppo etnico, sia tra le diverse popolazioni, che può influenzare la cinetica del farmaco. Questa differenza interetnica può essere dovuta, almeno in parte, alle differenti frequenze di varianti genetiche funzionali dei geni codificanti le proteine dell'ADME.

Data l'importanza di sviluppare farmaci per i pazienti in tutto il mondo, e la crescente globalizzazione dello sviluppo di farmaci clinici, identificare e quantificare tutte le variazioni genetiche dell'ADME è di estremo interesse. In ultima analisi, la comprensione delle variazioni nei geni dell'ADME nelle popolazioni globali potrebbe orientare le strategie di sviluppo preclinico e clinico e aiutare nell'interpretazione dei dati di farmacocinetica di studi clinici multiregionali.

Nonostante la recente disponibilità di campioni con dati di sequenze dell'esoma e dell'intero genoma, nessuno studio fino ad oggi ha sfruttato la potenza del next-generation sequencing (NGS) per indagare in modo più completo le variazioni codificanti le proteine dell'ADME, in campioni raccolti da diverse popolazioni etniche.

Gli autori hanno quindi cercato di utilizzare i dati derivati da *exome-sequencing capture arrays* commerciali per indagare sistematicamente variazioni a singolo nucleotide (SNVs), inserzioni, delezioni (*indels*) e varianti del numero di copie (CNVs) in campioni provenienti da diverse etnie, con lo scopo di identificare le varianti codificanti che possono influenzare la funzione delle proteine dell'ADME, e che potrebbero essere utili in studi di biodisponibilità dei farmaci.

Mediante l'utilizzo di un elenco di geni ADME come punto di partenza, gli autori hanno valutato la capacità dell'*exome sequencing* di registrare le variazioni codificanti in 298 geni ADME (38 *core* e 260 *extended*), mettendo in evidenza la scoperta di nuove e non ancora caratterizzate variazioni codificanti coinvolte nell'ADME.

Essi hanno compilato una lista di 1062 SNVs dalla letteratura noti per essere importanti per l'ADME, e hanno riportato le frequenze alleliche delle 21 diverse popolazioni in questo studio per le varianti polimorfiche codificanti in questo elenco. È stata posta particolare attenzione alle popolazioni nord-est asiatiche poiché in questa regione risiede oltre il 22% della popolazione mondiale.

Inoltre, i parametri genetici della popolazione (per esempio variazione per kilobasi) hanno permesso di approfondire la storia di questi geni all'interno di una popolazione, così come le forze evolutive e il loro tasso di variazione, confrontato con altre parti del genoma. Infine, sono stati esplorati i punti di forza ed i limiti di utilizzo del sequenziamento come approccio alla realizzazione degli studi genetici sull'ADME.

Il confronto delle varianti tra l'attuale pannello di genotipizzazione dell'ADME e questo studio mostra l'influenza dei campioni europei presenti nel pannello e mette in evidenza i candidati importanti per i futuri pannelli di genotipizzazione dell'ADME e per l'esplorazione di candidati funzionali. In particolare, sono state

identificate 40 varianti potenzialmente funzionali (MAF $\geq 2\%$) in geni core comuni in almeno una delle popolazioni analizzate che non sono stati inclusi negli studi di farmacogenetica. Inoltre, hanno dimostrato che molte varianti ADME specifiche di popolazione nuove e non caratterizzate sono probabilmente deleterie. Con il 25% in più di varianti per kilobase nei geni ADME rispetto ai non-ADME per le popolazioni studiate, sembra che i geni ADME siano sottoposti ad una minore selezione rispetto al resto del genoma.

Le analisi di variazione all'interno di ogni gene ADME suggeriscono che alcuni dei geni possono essere sottoposti a differenti pressioni selettive.

Le popolazioni africane hanno mostrato i più alti livelli di variazione genetica in entrambe le sequenze ADME e non ADME, seguiti da americani, europei, asiatici del sud e asiatici orientali. Popolazioni in relativamente stretta vicinanza geografica, generalmente condividono la maggior parte delle varianti ADME con frequenze simili.

Queste analisi gli autori hanno caratterizzato la frequenza allelica e predetto la funzionalità delle varianti dei geni coinvolti nell'ADME in 21 popolazioni diverse; molte varianti erano nuove o non caratterizzate, e quindi di potenziale interesse per i ricercatori che svolgono studi clinici di geni ADME. I dati ottenuti permettono di comprendere meglio le potenziali forze evolutive che agiscono su questi geni, e suggeriscono la potenziale rilevanza clinica delle variazioni nei geni coinvolti nell'ADME in una vasta gamma di popolazioni.

Questa analisi di sequenza caratterizza in modo sistematico e completo le variazioni codificanti dei geni ADME in più popolazioni, mostra la potenziale utilità e il valore del NGS per studiare le variazioni ADME, valutata la completezza dei pannelli ADME di genotipizzazione attualmente presenti e indica che i geni ADME hanno significativamente più varianti e sono più variabili tra le popolazioni, rispetto ai non ADME.

Parole chiave: ADME, NGS, farmacogenetica popolazione

Riferimento bibliografico

[Hovelson DH](#) et al. *Pharmacogenetics and Genomics* 2016 Dec 15.

LA METANALISI DEL MESE

POLIMORFISMI NELLA LINEA GERMINALE COME BIOMARCATORI DI RISPOSTA TUMORALE IN PAZIENTI CON CANCRO DEL COLON RETTO IN TERAPIA CON ANTICORPI MONOCLONALI ANTI-EGFR: REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Gli anticorpi monoclonali diretti contro il recettore del fattore di crescita epidermico (anti-EGFR), che includono cetuximab e panitumumab, rappresentano tutt'oggi la strategia terapeutica più utilizzata nel trattamento del cancro del colon retto (CRC). Questi farmaci rivestono un ruolo fondamentale per il trattamento della malattia metastatica mantenendo inoltre un profilo di sicurezza migliore rispetto alle terapie tradizionali con irinotecano, oxaliplatino e fluoropirimidine. Tuttavia, la maggioranza dei pazienti con CRC non raggiunge risposte cliniche adeguate in seguito alla terapia con anti-EGFR. Sono in corso numerosi studi per identificare biomarcatori in grado di definire a priori questa tipologia di pazienti, risparmiando in questo modo tempo prezioso per altri tipi di terapie e reazioni avverse inutili. Questi sforzi hanno portato alla scoperta ed all'utilizzo del test NRAS/HRAS, e di alcune mutazioni in geni candidati come BRAF, PIK3CA e PTEN, la cui efficacia come marcatore predittivo rimane tuttavia ancora incerta. Le alterazioni genetiche utilizzabili come potenziali biomarcatori predittivi possono essere a carico sia del DNA somatico (del tumore) che germinale (del paziente). Le alterazioni del DNA germinale condizionano

direttamente le cellule del paziente e possono influenzare fattori come la biodisponibilità, la cinetica e il metabolismo del farmaco, così come l'interazione con il sistema immunitario e le risposte tissutali locali. In passato molti polimorfismi genetici sono stati proposti come possibili biomarcatori non ottenendo purtroppo risultati consistenti, questo probabilmente a causa dell'assenza di una reale associazione biologica, dell'eterogeneità e della bassa potenza statistica degli studi. Per questo motivo, nel lavoro di *Morgen EK* e colleghi, recentemente pubblicato su *The Pharmacogenomics Journal*, è stata affrontata questa problematica con una revisione sistematica e meta-analisi con l'obiettivo di valutare il ruolo di questi polimorfismi come biomarcatori di risposta alla terapia con cetuximab/panitumumab.

La risposta alla terapia è stata valutata come *outcome* principale in quanto (1) la risposta viene riportata negli studi in maniera più uniforme e con una maggiore frequenza, e (2) la maggior parte di questi studi non è stato disegnato con un braccio di controllo composto da pazienti non trattati con anti-EGFR, rendendo, di conseguenza, gli *outcome* tempo/eventi poco utilizzabili per valutare associazioni prognostiche e predittive. Gli studi utilizzati nella meta-analisi sono stati selezionati utilizzando i seguenti criteri di inclusione ed esclusione. Criteri di inclusione: studi in cui erano stati valutati uno o più polimorfismi nella linea germinale come predittori di risposta tumorale in pazienti CRC trattati con anti-EGFR (cetuximab o panitumumab), con dati sui polimorfismi e clinici riportati in maniera accurata. Sono stati esclusi i seguenti lavori: revisioni, case report, studi con meno di 25 pazienti, studi con analisi ripetute o con utilizzo di sottoinsiemi di dati pubblicati già su altri lavori. Nell'analisi finale sono stati utilizzati soltanto i polimorfismi con risultati pubblicati in almeno tre studi separati, analizzando con attenzione le varianti alleliche associate ad un miglioramento dell'*outcome* in studi precedenti. Gli alleli di questi polimorfismi sono stati analizzati utilizzando vari modelli genetici, tra cui l'additivo, il dominante ed il recessivo. L'analisi di associazione è stata valutata con un modello ad affetti casuali, utilizzando la statistica di Higgins I^2 per testare l'eterogeneità tra gli studi. Per ogni polimorfismo, il modello con il p-value più basso è stato successivamente analizzato per confronti multipli, valutando prima di tutto che la direzione dell'associazione fosse la stessa di quella individuata negli studi originari. La correzione per confronti multipli è stata effettuata utilizzando la procedura di Benjamini – Hochberg, in modo da limitare il tasso di falsi positivi al 5%. Sono state inoltre effettuate numerose analisi di sensibilità escludendo gli studi in base ai seguenti criteri: (1) quelli che mostravano, a causa del bias di pubblicazione, uno sbilanciamento nel grafico ad imbuto; (2) studi con pazienti *wild-type* per KRAS (includendo di conseguenza soltanto studi con pazienti non selezionati per lo stato di KRAS) o (3) studi con pazienti non selezionati per KRAS (includendo di conseguenza soltanto studi con pazienti *wild-type* per KRAS); (4) studi con una classificazione qualitativa bassa o adeguata; e (5) studi che mostravano deviazioni dall'equilibrio di Hardy – Weinberg (rilevante soltanto per i polimorfismi del gene FCGR).

Al termine della ricerca bibliografica sono stati inclusi nella meta-analisi 23 studi, per un totale di 3768 pazienti. La definizione di risposta tumorale era definita nella maggior parte dei lavori utilizzando i criteri RECIST. Sono stati utilizzati nella meta-analisi 11 polimorfismi, tra cui alcuni chiaramente legati ai meccanismi di attività dei farmaci (EGF, EGFR, FCGR, KRAS), altri secondari (CCND1, COX2, IL8 e VEGF). Tra gli studi rilevanti, erano ben rappresentati sia studi retrospettivi che prospettici, molti di questi trial di fase II/III. Il numero mediano di pazienti per analisi era 110 (con un range 50 – 740). Soltanto 2 polimorfismi mostravano un'associazione statisticamente significativa con la risposta tumorale: EGF A61G (rs4444903; modello recessivo; allele testato G; RR 1.81 (95% CI 1.08, 3.02); numero studi: 6; I^2 48.4%; $p = 0.023$) e EGFR R497K (rs11543848; modello recessivo, allele testato K; RR 1.52 (95% CI 1.01, 2.31); numero studi: 6; I^2 0.0%; $P = 0.047$). Tuttavia, nessun risultato ha mantenuto la significatività dopo la correzione per test multipli.

Lo studio pubblicato da *Morgen EK* e colleghi su *The Pharmacogenomics Journal* rappresenta la prima revisione sistematica e meta-analisi dei polimorfismi del DNA germinale valutati come biomarcatori di risposta tumorale in pazienti CRC trattati con anticorpi monoclonali anti-EGFR. I risultati dell'analisi non hanno messo in evidenza associazioni statisticamente significative dopo la correzione per test multipli, tuttavia non può essere esclusa del tutto la possibilità di un'associazione con polimorfismi della linea germinale. Nello specifico ci sarebbero da tenere in considerazione alcuni aspetti: l'eterogeneità nella metodologia utilizzata tra gli studi inclusi, il basso numero di studi analizzabile per ogni polimorfismo e

l'impossibilità di analizzare in maniera sistematica un outcome di sopravvivenza. I risultati di questo studio sono molto robusti per quanto riguarda le varie analisi di sensibilità ed, inoltre, in linea con dati osservati recentemente in studi ampi e ben condotti, disegnati per replicare associazioni significative messe in evidenza in studi di piccole dimensioni. I risultati negativi di questa meta-analisi evidenziano la necessità di utilizzare approcci metodologici (disegno e analisi degli studi) più proficui, attraverso l'organizzazione di studi con casistiche più ampie, sfruttando i consorzi e le risorse dei centri coinvolti, e, dove possibile, cercando di adottare un approccio *genome-wide*. Tali approcci faciliterebbero la scoperta e l'analisi di nuovi biomarcatori, migliorando la condivisione dei dati (genomici e clinici) e la validazione di polimorfismi proposti anche da altri gruppi o consorzi. Inoltre, appare cruciale ed indispensabile, per progressi futuri in questo campo, la necessità di una classificazione degli outcome di sopravvivenza più omogenea e la pubblicazione di tutte le variabili cliniche e genetiche studiate (almeno come dati supplementari), in modo da ridurre al minimo il bias di pubblicazione e facilitare l'aggregazione dei risultati.

I polimorfismi nella linea germinale non risultano associati alla risposta tumorale in pazienti con cancro del colon retto in terapia con anticorpi monoclonali anti-EGFR.

Conflitto d'interesse: alcuni autori dichiarano di collaborare con alcune aziende farmaceutiche

Parole chiave: DNA germinale, anticorpo monoclonale, anti-EGFR, cancro colon retto

Riferimento bibliografico

[Morgen EK](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2016 Nov 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@sigr.it; sif.farmacologia@sigr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)

Hanno contribuito a questo numero:

Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino)
Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale)
Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna)
Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno)
Dott.ssa Eva Cuzzoni (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)
Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

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

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

RICEZIONE NEWSLETTER

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