

**Newsletter Numero 99 – Ottobre 2017**

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

**Sommario****⇒ Oncologia**

- Il miR-125b predice la risposta al trattamento chemioterapico BFM nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica
- Associazione dei polimorfismi di GSTM1, GSTT1 E GSTP1 (Ile105Val) con la risposta clinica dei pazienti malesi affetti da leucemia mieloide cronica dopo trattamento con imatinib mesilato
- Il sequenziamento dell'esoma identifica i fattori di rischio genetico per le complicazioni associate all'asparaginasi nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica

**⇒ Neurologia**

- Impatto di polimorfismi del gene *BDNF* sulla suicidalità nel disturbo depressivo maggiore resistente al trattamento: studio europeo multicentrico
- I polimorfismi a singolo nucleotide ABCB1 e ABCC1 in pazienti trattati con clozapina
- Efficacia di un test farmacogenetico prospettico nel trattamento del disturbo depressivo maggiore: risultati di un trial clinico randomizzato in doppio cieco

**⇒ La metanalisi del mese**

- Studio dell'associazione tra i polimorfismi C677T e A1298C del gene MTHFR e la tossicità indotta da metotrexato in pazienti pediatrici oncologici: una meta-analisi

**ONCOLOGIA****IL MIR-125B PREDICE LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CHEMIOTERAPICO BFM NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA**

*A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini*

La leucemia linfoblastica acuta (LLA) è la malattia maligna più frequentemente diagnostica nei bambini e rappresenta circa il 25% di tutti i tumori pediatrici.

Negli ultimi 50 anni la stratificazione dei pazienti ha permesso di raggiungere notevoli miglioramenti nei tassi di OS e di sopravvivenza libera da eventi (DFS). Sulla base del protocollo BFM (messo a punto dal gruppo europeo Berlino-Francoforte-Munster), allo scopo di suddividere i pazienti in categorie di rischio, i

biomarcatori prognostici attualmente impiegati in clinica sono molteplici; tuttavia, in alcuni pazienti, si presentano fenomeni di tossicità o resistenza ai trattamenti antileucemici.

Sulla base di studi precedenti che hanno identificato una deregolazione del miR-125b in diversi tipi di leucemie (Garzon et al, *Blood*. 2008, 111(6):3183-9), questo studio è stato volto ad esaminare il profilo di espressione di miR-125b nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica; con lo scopo di valutare il significato clinico di miR-125b nella prognosi e nella predizione dell'outcome clinico alla chemioterapia secondo il protocollo BFM.

Nello studio sono stati arruolati 125 bambini con LLA di nuova diagnosi in trattamento secondo il protocollo BFM e 64 bambini privi di qualsiasi malattia ematologica (coorte di controllo). L'analisi dei livelli di espressione del miR-125b è stata svolta su un totale di 272 campioni di midollo osseo (MO): per 83 pazienti (su 125) erano disponibili anche campioni di MO prelevati al giorno 33 dopo la fase di induzione prevista dal protocollo BFM.

L'analisi dei livelli di espressione ha evidenziato che miR-125b era significativamente down-regolato nei pazienti affetti da LLA rispetto al gruppo di controllo ( $p < 0.004$ ). Il valore discriminante di tale miRNA è risultato ulteriormente enfatizzato dall'analisi ROC (AUC: 0.628; 95%CI 0.548-0.707;  $P = 0.004$ ) e nella regressione logistica multivariata (OR: 0.507; 95%CI 0.305-0.842;  $P = 0.009$ ). Inoltre, comparando i livelli di miR-125b nei pazienti per cui erano disponibili i campioni al giorno 33 post induzione, si osservava un aumento significativo nell'83% dei pazienti ( $P < 0.001$ ). I livelli di miR-125b in questi pazienti erano, a loro volta, significativamente più elevati anche rispetto a quelli della coorte di controllo ( $P < 0.001$ ).

Il valore clinico di miR-125b nella chemioterapia BFM è stato valutato mediante le curve di Kaplan-Meier e di regressione di Cox. Le curve di sopravvivenza hanno evidenziato che ridotti livelli di espressione alla diagnosi erano associati con un tempo minore di DFS e OS ( $P = 0.005$  e  $P = 0.013$ , rispettivamente), rispetto ai pazienti con livelli elevati di miR-125b; analogamente, la regressione di Cox ha confermato che pazienti con una bassa espressione di miR-125b alla diagnosi avevano un rischio maggiore di recidiva (HR: 4.253; 95%CI 1.41-12.82;  $P = 0.010$ ) e morte (HR=3.072; 95%CI 1.21-7.81;  $P = 0.018$ ). A seguito dell'induzione BFM, al giorno 33 sono stati quantificati i livelli di miR-125b; da questa analisi è stato osservato che gli individui con un incremento di miR-125b presentavano DFS e OS più corte ( $P = 0.016$ , rispettivamente), rischio maggiore di recidiva e morte (HR=4.218; 95%CI 1.17-15.16;  $P = 0.027$ ). Gli autori hanno quindi valutato il rapporto "livelli di miR-125b al giorno 33/alla diagnosi", osservando che a rapporti più alti corrispondevano, ancora una volta, DFS e OS più corte ( $P = 0.015$  e  $P = 0.004$ , rispettivamente), rischio maggiore di recidiva nel breve periodo e morte (HR=4.3; 95%CI 1.19-15.44;  $P = 0.025$ ) (HR=6.79; 95%CI 1.52-30.37;  $P = 0.012$ ).

Infine, il dato di espressione di miR-125b è stato combinato con i biomarcatori clinici attualmente impiegati osservando una migliore stratificazione dei pazienti rispetto alla risposta clinica e alla resistenza al trattamento BFM.

Questo studio, mostra un esempio di come i miRNA possono essere impiegati in clinica nella stratificazione dei pazienti. La combinazione del parametro di espressione con i marker clinici già impiegati sembra essere molto promettente per un futuro non troppo lontano.

I risultati preliminari meritano sicuramente di essere validati in una coorte più ampia ed indipendente, benché, come noto, i pazienti pediatrici sono di difficile arruolamento.

In conclusione, questo studio ha evidenziato che il miR-125b migliora la prognosi dei pazienti pediatrici affetti da LLA in trattamento BFM.

**Parole chiave:** leucemia linfoblastica acuta pediatrica, chemioterapia BFM, miR-125b

#### Riferimento bibliografico

[Piatopoulou D](#) et al. *Br J Cancer* 2017, 117(6):801-12.

## **ASSOCIAZIONE DEI POLIMORFISMI DI GSTM1, GSTT1 E GSTP1 (ILE105VAL) CON LA RISPOSTA CLINICA DEI PAZIENTI MALESI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA DOPO TRATTAMENTO CON IMATINIB MESILATO**

*A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini*

La leucemia mieloide cronica (CML) rappresenta il 20% di tutti i casi di leucemia. L'aumento delle conoscenze e lo sviluppo tecnologico riguardante la comprensione dell'anormale attività della proteina BCR-ABL ha permesso la realizzazione di terapie target come gli inibitori delle tirosin-chinasi (TKI) per la CML con cromosoma Ph+. Imatinib mesilato (IM) è stato il primo farmaco diretto ad un target ad essere utilizzato e rappresenta tuttora il gold standard nella terapia di questa patologia. Nonostante il notevole successo, più del 33% dei pazienti va incontro allo sviluppo di resistenza. Fra le possibili cause sono state riscontrate mutazioni e amplificazioni del gene BCR-ABL e variabilità farmacocinetiche. È stato inoltre più volte confermato che alterazioni in geni coinvolti nel trasporto, nel binding e nel metabolismo di IM possono influenzare la farmacocinetica del farmaco. I polimorfismi sui geni codificanti gli enzimi del metabolismo dei farmaci possono variare la loro attività enzimatica, giocando un ruolo importante nella variabilità della farmacocinetica, intervenendo quindi anche a livello di risposta al trattamento, resistenza o insorgenza di tossicità. Le glutatione S-trasferasi (GST) sono un'importante super famiglia di enzimi metabolici di fase II, che sono ubiquitarie, multifunzionali e in grado di intervenire nei processi di detossificazione e protezione delle macromolecole dagli attacchi dei reattivi elettrofili. Delle 8 classi, le più studiate sono le GSTM, GSTT e GSTP e numerose loro variazioni alleliche. In particolare, per la GSTP1 sono stati riportati due polimorfismi: Ile105Val (A>G) e Ala114Val (C>T). Variazioni a livello genetico possono portare ad una diminuzione della concentrazione di enzima intracellulare, alla formazione di proteine disfunzionali o ad un'alterazione della struttura dell'enzima. I polimorfismi che riducono l'attività delle GST sono associati con un incremento del rischio di sviluppare tumore o farmaco resistenza. Gli Autori di questo studio hanno testato l'ipotesi che i polimorfismi su GSTM1, GSTT1 e GSTP1 possano avere un ruolo nella risposta clinica alla terapia con IM nei pazienti affetti da CML.

Sono stati arruolati 278 pazienti con CML (132 rispondenti al trattamento con IM e 146 resistenti al farmaco), presentanti il cromosoma Ph+, trattati con IM 400mg al giorno da almeno 12 mesi e non affetti da mutazioni e amplificazioni del gene BCR-ABL. Sono stati raccolti campioni di sangue periferico da cui è stato estratto il DNA genomico, poi amplificato mediante multiple-PCR che ha permesso l'individuazione degli alleli negativi sia di GSTM1 che di GSTT1 contemporaneamente. Per i polimorfismi sulla GSTP1 è stata invece utilizzata la PCR-RFLP.

I risultati dello studio mostrano che la delezione del genotipo GSTT1 (genotipo nullo) è associata allo sviluppo di farmacoresistenza (OR: 1.664, 95%CI: 1.011-2.739, P=0.045). Inoltre i portatori del genotipo GSTP1 105 Ile/Val e 105Val/Val presentano un rischio maggiore di farmacoresistenza rispetto ai portatori del genotipo GSTP1 Ile/Ile (Ile/Val: OR=1.951, 1.186-3.209, P=0.009; Val/Val: OR: 3.540, 95%CI: 1.305-9.606, P=0.013). Successivamente, sono stati analizzati i polimorfismi in combinazione fra loro. I risultati hanno mostrato che la combinazione del genotipo nullo di GSTT1 con GSTP1 Ile/Val oppure di GSTT1 con GSTP1 Val/Val è associata ad un rischio maggiore di sviluppare resistenza al trattamento con IM (OR: 4.126 e 5.803, rispettivamente). Infine, la combinazione del genotipo nullo di GSTM1 con GSTP1 Ile/Ile è associata a rischio minore di farmacoresistenza (OR:0.449, 95%CI: 0.220-0.917, P=0.028).

I risultati di questo studio mostrano che polimorfismi a livello dei geni codificanti per GSTT1, GSTM1 e GSTP1, possono spiegare, almeno in parte, la variabilità della risposta clinica al trattamento con IM in pazienti affetti da CML. Pertanto, le variazioni polimorfiche nei geni della super famiglia delle GST potrebbero essere di potenziale utilità nel predire l'esito clinico del trattamento con imatinib mesilato nei pazienti con CML. Tuttavia, a causa del duplice ruolo svolto dalla famiglia delle GST, di attivazione e detossificazione, non è tuttora chiaro quale sia lo specifico meccanismo mediante il quale le GST possano modificare la risposta al trattamento con IM. Inoltre, sono necessari ulteriori studi al fine di confermare questi risultati in pazienti CML di differente origine etnica.

In conclusione, il presente studio condotto su pazienti malesi affetti da leucemia mieloide cronica evidenzia che polimorfismi dei geni GSTP1 e GSTT1, analizzati singolarmente o in combinazione, possono essere associati al rischio di resistenza al trattamento con imatinib mesilato .

**Parole chiave:** GSTM1, GSTT1, GSTP1. CML, imatinib

#### Riferimento bibliografico

[Makhtar SM](#) et al. *J Genet* 2017, 96(4):633-9.

### IL SEQUENZIAMENTO DELL'ESOMA IDENTIFICA I FATTORI DI RISCHIO GENETICO PER LE COMPLICAZIONI ASSOCIATE ALL'ASPARAGINASI NELLA LEUCEMIA LINFOLASTICA ACUTA PEDIATRICA

A cura della Dott.ssa Raffaella Franca

La leucemia linfoblastica acuta (LLA) è il tumore più comune nei bambini e rappresenta il 25% di tutte le malattie infantili. Grazie ai protocolli polichemioterapici adattati al rischio del paziente, i tassi di sopravvivenza alla malattia sono notevolmente migliorati nel corso degli ultimi anni, ma non tutti i bambini trattati riescono a guarire e alcuni di loro sviluppano delle tossicità gravi a breve o lungo termine dovute al trattamento farmacologico che comportano l'interruzione o la sospensione della cura o che possono essere addirittura fatali. L'asparaginasi (ASN-asi), introdotta come componente principale della terapia della LLA fin dal 1970, è un enzima che catalizza l'idrolisi dell'amminoacido asparagina in acido aspartico e ammoniaca. Le cellule leucemiche non hanno a disposizione quantità sufficienti di asparagina nel loro interno per sostenere il loro ritmo di crescita sostenuto e dipendono perciò da fonti extracellulari di questo aminoacido: il consumo dell'asparagina da parte dell'ASNasi riduce pertanto la capacità di biosintesi proteica nelle cellule tumorali e ne promuove la morte cellulare. Infatti, nella LLA pediatrica, gli esiti più sfavorevoli della terapia sono stati associati alla sospensione del trattamento e alla mancata somministrazione di tutti i cicli previsti di ASN-asi. Dal momento che l'ASNasi viene estratta principalmente dai ceppi batterici *Escherichia coli* (*E.coli*) ed *Erwinia chrysanthemi*, questo farmaco è in grado di indurre delle reazioni immunitarie nel paziente (soprattutto reazioni allergiche, pancreatiti ed eventi trombotici). L'ASN-asi derivata dall' *E. coli* è più efficace rispetto all'ASN-asi da *Erwinia*, ma anche più tossica per il paziente in termini di ipersensibilità del paziente: infatti fino al 30% dei pazienti trattati con ASN-asi da *E.coli* sperimentano una reazione di ipersensibilità. In letteratura, questa reazione è associata in varia misura alla riduzione dell'attività enzimatica del farmaco a causa della comparsa di anticorpi neutralizzanti e può essere influenzata dalla preparazione di ASN-asi impiegata, dalla dose o dall'uso concomitante di altri farmaci. La pancreatite, evidenziata da sintomi clinici come l'aumento delle amilasi e/o delle lipasi sieriche oltre tre volte i valori di norma, compare in circa il 2-18% dei pazienti che ricevono ASN-asi. La patogenesi di questo effetto collaterale non è stata ancora chiarita del tutto, ma sembra essere conseguenza di una predisposizione individuale. Tra i fattori di rischio rientrano l'età più avanzata del paziente e l'intensità del trattamento, mentre non sembra esserci un contributo della formulazione di ASN-asi utilizzata. La trombosi, definita come tromboembolia venosa e/o arteriosa, ha una incidenza maggiore nei pazienti oncologici pediatrici (circa il 5% secondo studi recenti) ed è riportata sia con per l'ASN-asi da *E. coli* che con quella da *Erwinia*. La trombosi da ASN-asi è dovuta principalmente alle interferenze del farmaco con la sintesi epatica delle proteine della coagulazione; tra i fattori di rischio per questo effetto collaterale compaiono alcuni relativi alla malattia, altri al trattamento (come la dose e la durata dell'esposizione all'ASN-asi) e al paziente (come l'età più avanzata, il sesso femminile, il gruppo sanguigno non O, l'obesità, lo stato protrombotico ereditato ed il catetere venoso centrale). L'identificazione a priori dei pazienti ad alto rischio di reazioni allergiche, pancreatite o trombosi da ASN-asi potrebbe quindi migliorare l'*outcome* di questi pazienti, facendoli trattare prospetticamente con formulazioni alternative di ASN-asi o regimi terapeutici diversi.

In questo contesto, si colloca lo studio di associazione *exome-wide* di Abaji e collaboratori, volto all'identificazione di marcatori genetici associati alle tossicità ASN-asi dipendenti mediante un approccio "hypothesis-free".

Sono stati impiegati due coorti di pazienti pediatriche affetti da LLA: la prima coorte (QcALL dall'inglese "Quebec Childhood ALL cohort) consisteva in 302 bambini di origine europea (54% maschi, 80% minori di 10 anni, 224 DNA estratti) arruolati tra gennaio 1998 e luglio 2005 presso l'ospedale universitario canadese di Sainte-Justine (SJUHC) a Montreal e trattati con i protocolli del Dana Farber Cancer Institute (DFCI 87-01 (5,6%), 91-01 (18,2%), 95-01 (39,4%) e 00-01 (36,8%)); la coorte di replicazione consisteva in 282 bambini con caratteristiche simili trattati secondo i protocolli DFCI 95-01 (33,7%) e 00-01 (66,3%). L'ASN-asi somministrata derivava da *E. coli* in almeno il 90% dei casi e in tutti i protocolli veniva somministrata per 20-30 settimane consecutive durante la fase di consolidamento; nei protocolli DFCI 95-01 e 00-01, una singola dose veniva somministrata anche durante l'induzione della remissione. Le tossicità ASN-dipendenti sono state raccolte mediante un'analisi retrospettiva delle cartelle cliniche definendo le reazioni di ipersensibilità sulla base di manifestazioni locali o sistemiche (arrossamenti, eritema, eruzione cutanea, orticaria, febbre, dispnea, broncospasmo sintomatico, edema o angioedema), la pancreatite come l'aumento degli enzimi pancreatici oltre tre volte i valori di norma e la trombosi come comparsa dei sintomi clinici confermati da indagini radiologiche dopo esposizione al farmaco. L'incidenza di questi effetti avversi è stata coerente con la letteratura: nella coorte QcALL 15,9% pazienti hanno sviluppato allergie (n=48 di cui 40 di loro con gravi reazioni sistemiche); 5% pancreatite (12 gravi e 3 lievi a moderati) e 3,3% trombosi; nella coorte di validazione 20,9% pazienti hanno sviluppato allergie (n=59 di cui 39 sistemiche) e 7,4% pancreatite (n=21 con 14 gravi; dati sulla trombosi non disponibili). Il sequenziamento degli esoni è stato fatto mediante una piattaforma Agilent (SureSelect Human All Exon 50Mb kit) e Life Technologies SOLiD System (coverage medio per paziente ~35X). I 115 polimorfismi germinali a singolo nucleotide (SNPs) più significativi per le tossicità da ASN-asi sono stati poi selezionati per frequenza allelica (>5%, n=83) e per funzione pertinente del gene (n=32). Sono stati quindi genotipizzati e validati in entrambe le coorti le 3 varianti più significative per l'associazione con l'allergia (rs9656982 nel gene *SLC7A13*, rs3809849 in *MYBBP1A* e rs75714066 in *YTHDC2*), le 3 con la pancreatite (rs72755233 in *ADAMTS17*, rs3809849 in *MYBBP1A* e rs9908032 in *SPECC1*) e le 6 con la trombosi (rs6584356 in *PKD2L1*, rs3742717 in *RIN3*, rs34708521 in *SPEF2*, rs7926933 in *MPEG1*, rs11556218 in *IL16* and rs62619938 in *SLC39A12*). Il rischio di effetti avversi è risultato ulteriormente aumentato considerando un effetto combinato degli SNPs di interesse per ciascuna tossicità studiata ( $p \leq 0.002$ ), suggerendo quindi delle interazioni sinergiche tra gli SNP identificati. È interessante notare che lo SNP rs3809849 nel gene *MYBBP1A* è stato associato all'allergia ( $p=0,0006$ ), alla pancreatite ( $p=0,002$ ), alla trombosi ( $p=0,02$ ), ma anche alla sopravvivenza senza eventi ( $p=0,02$ ) e alla sopravvivenza complessiva ( $p=0,003$ ). Questo gene codifica per la MYB Binding Protein 1°, una proteina coinvolta in molti processi cellulari e attiva come corepressore del fattore di trascrizione NF- $\kappa$ B. Recentemente è stato sottolineato il ruolo chiave di NF- $\kappa$ B nello sviluppo della pancreatite acuta. Inoltre, gli SNPs rs11556218 in *IL16* e rs34708521 in *SPEF2* sono stati entrambi associati a trombosi ( $p=0,01$  e  $p=0,03$ , rispettivamente) ma anche alla pancreatite ( $p=0,02$ ). L'associazione degli SNP nei geni *MYBBP1A*, *SPEF2* e *IL16* con pancreatite sono stati replicati nella coorte di convalida ( $p \leq 0.05$ ) così come in coorte combinata ( $p=0,0003$ ,  $p=0,008$  e  $p=0,02$ , rispettivamente). La combinazione sinergica dei loci predittivi ha presentato la potenza più elevata nel predire lo sviluppo di pancreatite in entrambe le coorti e soprattutto nella coorte combinata ( $p=1 \times 10^{-8}$ ).

In conclusione, il presente lavoro dimostra che gli studi di associazione *exome-wide* rappresentano una valida strategia "hypothesis-free" per identificare i marcatori genetici associati all'insorgenza di tossicità da ASN-asi nei bambini affetti da LLA. I risultati relativi alle varianti geniche significativamente associate a pancreatite sono stati confermati nella coorte indipendente di convalida mentre non è stato possibile replicare i risultati relativi alla trombosi a causa di limitazioni logistiche.

**Parole chiave:** leucemia linfoblastica acuta, asparaginasi, studio di associazione *exome-wide*, farmacogenetica, sequenziamento esoma

#### Riferimento bibliografico

[Abaji R](#) et al. *Oncotarget* 2017, 8(27):43752-67.

## NEUROLOGIA

### IMPATTO DI POLIMORFISMI DEL GENE *BDNF* SULLA SUICIDALITÀ NEL DISTURBO DEPRESSIVO MAGGIORE RESISTENTE AL TRATTAMENTO: STUDIO EUROPEO MULTICENTRICO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il suicidio rappresenta l'1,5% delle morti in tutto il mondo. Il comportamento suicidario si riferisce al verificarsi di tentativi di suicidio che vanno dalla morte suicida, ai tentativi di suicidio altamente letali ma falliti, ai tentativi di suicidio di bassa letalità. Esso è fortemente legato a disturbi psichiatrici, in particolare disturbi dell'umore e abuso di sostanze. I pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore (MDD) hanno un rischio di vita per il suicidio pari al 6-15%. La MDD costituisce un grave problema clinico con una prevalenza media del 16%.

È stato osservato il contributo genetico al comportamento suicidario, con una stima dell'ereditabilità della morte suicida di circa il 43%. I fattori neurotrofici, come il fattore neurotrofico cerebrale (BDNF), si ipotizzano essere marcatori della suicidalità e livelli alterati di BDNF possono svolgere un ruolo nella patogenesi del comportamento suicidale, con conseguenti cambiamenti a lungo termine nel cervello che possono portare a deficit neuropsicologici. In un'ampia meta-analisi basata su 12 studi, il polimorfismo *BDNF* Val66Met (rs6265) è risultato avere un effetto statisticamente significativo sul rischio di suicidio: l'allele Met e i portatori dell'allele Met sono stati associati ad una storia di tentativo di suicidio (Zai CC et al. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012, 30:1–6). Inoltre, diversi studi in letteratura riportano l'assenza di associazione significativa tra comportamento suicidario (in termini di suicidio completato, ideazione suicida, tentativo di suicidio) e fenotipo del BDNF (Eisen RB et al. *Syst Rev.* 2015, 4:187).

Lo scopo principale dello studio è stato quello di verificare l'associazione tra 9 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) del gene *BDNF* e il rischio di suicidio e/o tentativi di suicidio; l'obiettivo secondario è stato studiare possibili associazioni tra questi SNPs e i fenotipi di risposta al trattamento.

La raccolta dei campioni è stata eseguita nel contesto del progetto multicentrico europeo "Patterns of treatment resistance and switching strategies in unipolar affective disorder" (Schosser et al., *Eur Neuropsychopharmacol.* 2012, 22:453–468). Sono stati reclutati 250 pazienti con MDD diagnosticata utilizzando la versione Mini-International Neuropsychiatric Interview 5.0.0 (MINI) modificata per lo studio della depressione resistente. La Hamilton Rating Scale per la Depressione (HAM-D) è stata somministrata a tutti i pazienti alla fine dell'ultimo trattamento antidepressivo per l'episodio corrente. La risposta del trattamento è stata definita come HAM-D  $\leq$  17 e remissione come HAM-D  $\leq$  7. La suicidalità è stata valutata utilizzando la sezione MINI sulla suicidalità e HAM-D-3: 0 = assente, 1 = sente che la vita non vale la pena di essere vissuta, 2 = vuole morire o ha pensieri di possibile morte, 3 = idee o gesti suicidi, 4 = tentativo di suicidio (qualsiasi tentativo serio). Il MINI definisce il rischio suicida come presenza di almeno uno dei seguenti elementi correlati al suicidio: nel mese trascorso aver pensato che sarebbe meglio essere morti o desiderare di morire (C1), volersi danneggiare (C2), pensare al suicidio (C3), avere un piano di suicidio (C4), tentare di suicidarsi (C5), aver tentato di suicidarsi almeno una volta nella vita (C6a) e rischio di suicidio (C6c).

È stata eseguita l'analisi di genotipizzazione dei seguenti SNPs del gene *BDNF*: rs11030096, rs925946, rs10501087, rs6265, rs12273363, rs908867, rs1491850 e rs1491851. Infine sono state svolte le valutazioni statistiche considerando il valore  $P=0.05$  come soglia per la significatività.

Sono stati arruolati 250 pazienti con MDD (72,8% femmine e 27,2% maschi) con età media di  $50,97 \pm 15,2$  anni. Il 97,2% erano Caucasici. Il valore medio riportato di HAM-D-17 è stato  $17,33 \pm 7,81$ .

Il rischio di suicidio (sì/no, dove la percentuale di sì è risultata pari al 59,1%) non è risultato associato con nessuna condizione genotipica o allelica degli SNPs testati. È stata osservata una associazione tra lo SNP rs908867 e rischio di suicidio nei soggetti maschi MDD ( $n = 68$ ). Gli aplotipi a tre marcatori contenenti questo SNP hanno mostrato valori  $P$  individuali significativi anche dopo una correzione multipla del test [false discovery rate, FDR  $P \leq .036$ ], ma i valori  $P$  globali non sono risultati significativi. Due differenti aplotipi a 3 marcatori, GCG di rs925946-rs10501087-rs6265 e CGT di rs10501087-rs6265-rs12273363, hanno mostrato un  $P$ -value significativo individuale ( $P = .003$  in entrambi i casi [FDR  $P = .009$ ]) e globali ( $P = .0068$  e  $P = .014$  [FDR  $P = .014$  e FDR  $P = .018$ ]).

Indagando sulla storia dei tentativi di suicidio (sì/no, dove la percentuale di sì è risultata pari al 29,8%), non sono stati individuati associazioni con gli SNPs testati. Lo stesso vale per le analisi specifiche di genere.

Il 42,8% dei 250 casi MDD sono stati definiti *responders* ( $n = 107$ ), mentre il 57,2% *non-responders* ( $n = 143$ ). Il 13,6% ( $n = 34$ ) dei pazienti sono stati definiti remittenti, mentre il 86,4% ( $n = 216$ ) non-remittenti. Per quanto riguarda il rischio di suicidio, non è stata trovata alcuna associazione con i polimorfismi studiati. Nei pazienti remittenti ( $n = 34$ ) gli SNPs rs10501087 e rs6265 hanno mostrato un'associazione significativa con rischio di suicidio ( $P = .009$  [FDR  $P = .024$ ] per rs10501087 e  $P = .003$  [FDR  $P = .016$ ] per rs6265), anche considerandone gli aplotipi. È importante evidenziare che i pazienti MDD senza rischio di suicidio erano fuori dall'Hardy-Weinberg equilibrium per entrambi gli SNPs ( $P = .015$  [FDR  $P = .031$ ] per rs10501087 e  $P = .0039$  [FDR  $P = .016$ ] per rs6265).

Né i singoli marcatori *BDNF* né gli aplotipi sono stati trovati associati al rischio di suicidio. Nelle analisi specifiche di genere, una correlazione non pienamente significativa per l'associazione tra lo SNP rs908867 e rischio di suicidio nei maschi è stata osservata. Nessun dato significativo è stato riportato tra SNPs del gene *BDNF* e la storia di tentativi di suicidio.

Analizzando i fenotipi di risposta al trattamento, nessuna associazione con il rischio di suicidio è stata trovata nei *responders*, nei *non-responders* e nei non-remittenti. Per quanto riguarda i remittenti, il polimorfismo funzionale Val66Met (rs6265) e lo SNP rs10501087 hanno mostrato un'associazione genotipica e aplotipica significativa con il rischio di suicidio. Tuttavia, questa constatazione dovrebbe essere interpretata con cautela, in quanto la dimensione del campione in questo sottogruppo è limitata (34 soggetti). Pertanto, la conferma in campioni più grandi è essenziale. Per quanto riguarda la storia della vita personale dei tentativi di suicidio e dei fenotipi di risposta al trattamento, non è stata individuata nessuna associazione con i singoli polimorfismi né con gli aplotipi.

Lo studio in corso ha diverse limitazioni: il rischio di suicidio e la storia del tentativo di suicidio sono stati definiti solo da elementi della scala MINI e HAM-D-17 e il campione di casi MDD è ridotto. Pertanto, è possibile che i risultati riportati siano falsi positivi e repliche in popolazioni più grandi sono essenziali.

Né i singoli polimorfismi del gene *BDNF* né gli aplotipi sono stati associati al rischio di suicidio e alla storia di tentativi di suicidio. Analizzando i fenotipi di risposta al trattamento, il polimorfismo funzionale Val66Met e la variante rs10501087 hanno mostrato un'associazione genotipica e aplotipica significativa con il rischio di suicidio nei rimettenti.

**Parole chiave:** disturbo depressivo maggiore, *BDNF*

#### Riferimento bibliografico

Schosser A et al. *Int J Neuropsychopharmacol* 2017, 20(10):782-7.

## I POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE *ABCB1* E *ABCC1* IN PAZIENTI TRATTATI CON CLOZAPINA

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

La clozapina (CZ) ha, nel trattamento dei disturbi schizofrenici refrattari, un'efficacia superiore rispetto agli antipsicotici tipici e atipici e, nel trattamento dei giovani con schizofrenia, un'efficacia maggiore rispetto ad altri antipsicotici. La norclozapina (NCZ) è il principale metabolita della CZ e il rapporto CZ:NCZ in un singolo paziente è indicativo della velocità del metabolismo del farmaco. Anche la NCZ può avere un'attività terapeutica e tossica. I livelli di CZ sono influenzati significativamente da diversi fattori: dosaggio, *compliance*, fumo (che induce il metabolismo della CZ a NCZ), genere ed età. Vi è una forte diminuzione del metabolismo della CZ nei pazienti che hanno più di 55 anni e le concentrazioni di CZ nei maschi, rispetto alle femmine, sono inferiori del 40%. Nonostante siano fattori importanti, la dose, il genere, l'età, il fumo, il peso corporeo, la concentrazione sierica di CZ e il rapporto CZ:NCZ rendono ragione solo del 48% delle variazioni dei livelli sierici di CZ tra i pazienti. E' probabile che circa il 50% delle restanti variazioni siano dovute a fattori genetici.

Le proteine ABC sono responsabili del trasporto di diverse molecole lipofile, inclusi i farmaci, attraverso le membrane extracellulari ed intracellulari. *ABCB1* e *ABCC1* sono proteine associate alle membrane. *ABCB1*, anche nota come glicoproteina-P 1 o *multidrug resistance protein 1*, è coinvolta nella captazione/efflusso di molti farmaci. E' stato riportato che varianti genetiche della struttura del gene *ABCB1*, o mutazioni acquisite (come nelle cellule tumorali), influenzano le risposte cellulari a molti farmaci, causando per esempio *multidrug resistance* nel cancro. I polimorfismi dei trasportatori ABC possono anche predisporre i soggetti a reazioni avverse ai farmaci. La proteina *ABCC1*, che è localizzata in sede intracellulare sul lato basolaterale della membrana, gioca un ruolo nella *multidrug resistance* delle cellule tumorali a causa della sua capacità di trasportare molti farmaci chemioterapici fuori dalle cellule.

La CZ è associata a reazioni avverse significative, quali aumento di peso, diabete, ipotensione e soppressione del midollo osseo. Studi in letteratura suggeriscono che il metabolismo della CZ e l'incidenza degli effetti avversi siano correlati alla variazione della funzione delle proteine ABC. E' stata riportata una pericolosa agranulocitosi indotta da CZ in gemelli monozigoti con una variante allelica di *ABCC1*. I trasportatori ABC hanno anche un ruolo a livello della barriera emato-encefalica e possono influenzare l'ingresso dei farmaci, inclusa la CZ, nel sistema nervoso centrale. Precedenti studi hanno associato variazioni del genotipo *ABCB1* all'alterazione della farmacocinetica della CZ nei pazienti psicotici e alla risposta al trattamento con CZ. Lo scopo del presente studio è investigare l'impatto dei polimorfismi genetici *ABCB1* rs1045642 e *ABCC1* rs212090 su parametri clinici, laboratoriali e demografici di pazienti trattati con CZ.

I dati clinici sono stati raccolti da 187 pazienti in terapia con CZ; 137 hanno dato il consenso all'indagine genetica. E' stata investigata l'associazione tra gli SNPs di *ABCB1* e *ABCC1* e diversi parametri clinici: cambiamenti del peso e del *body mass index* (BMI) nel primo anno di trattamento con CZ, pressione arteriosa (BP), dose giornaliera di CZ, livelli sierici di CZ e NCZ, rapporto CZ:NCZ, globuli bianchi, glicemia a digiuno e random, HbA1c, colesterolo totale, LDL, HDL, rapporto colesterolo totale:HDL, trigliceridi e prolattina. Sono stati registrati, come fattori potenzialmente confondenti, lo status di fumatore, l'uso di antipsicotici prima del trattamento con CZ, età, genere, etnia, storia di diabete e co-somministrazione di SSRI. Per l'analisi sono stati considerati i parametri registrati a 3 e 12 mesi dall'inizio del trattamento con CZ. Sono stati genotipizzati *ABCB1* (rs1045642) e *ABCC1* (rs212090), che in letteratura sono stati associati all'efficacia clinica della CZ, tramite analisi dei prodotti della PCR su un *Agilent Bioanalyzer* (*Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA*).

I pazienti appartenevano ad etnie diverse: 64% Caucasici, 13% Asiatici, 10% Isole del Pacifico, 13% altro. Le femmine erano 45 (33%), gli uomini 92 (67%) con un'età media di 39,7 ( $\pm 12,6$ ) e 38,1 ( $\pm 10,8$ ), rispettivamente. Quaranta pazienti (29%) erano in terapia con antipsicotici prima dell'inizio del trattamento con CZ, 9 (6%) erano in co-somministrazione con SSRI. I fumatori erano 55 (40%). Vi era una differenza

significativa nella dose di CZ (mg/die) tra femmine 304 ( $\pm 151$ ) e maschi 392 ( $\pm 180$ ) ( $p < 0,001$ ). L'influenza dell'età è stata osservata solo su BP diastolica ( $p = 0,035$ ), glicemia a digiuno ( $p = 0,049$ ) e LDL ( $p = 0,038$ ).

Il BMI negli omozigoti *ABCB1* (T) e *ABCC1* (A) era più basso dei valori rilevati nei *noncarriers*, anche se la differenza non era statisticamente significativa. Dopo la correzione per età, l'associazione tra BMI e presenza degli SNPs è risultata significativa per *ABCB1* e con tendenza alla significatività per *ABCC1* (0,009 per *ABCB1* e 0,054 per *ABCC1*) nei maschi, ma non nelle femmine. Lo *status* di fumatore e la co-somministrazione di farmaci antidiabetici erano cofattori che influenzavano le differenze del BMI tra i pazienti portatori di *ABCB1* e i non portatori.

I cambiamenti del BMI ( $\Delta$ BMI) 3 mesi dopo l'inizio della terapia con CZ erano di  $+0,3 \text{ kg/m}^2 \pm 1,8$  e dopo 12 mesi  $+0,9 \text{ kg/m}^2 \pm 3,9$  (la significatività del  $\Delta$ BMI tra i 3 e i 12 mesi era  $< 0,001$ ). Entrambi i polimorfismi erano associati ad una maggiore differenza nel  $\Delta$ BMI, sebbene la differenza non fosse significativa. Dopo la correzione per età, è emerso che i pazienti maschi non portatori avevano un  $\Delta$ BMI significativamente inferiore ( $-0,54 \pm 2,86$ ) rispetto ai portatori di *ABCB1* ( $0,39 \pm 1,07$ ) ( $p = 0,026$ , a 3 mesi dall'inizio della CZ) e un  $\Delta$ BMI inferiore ( $-0,038 \pm 4,1$ ) rispetto ai maschi portatori di *ABCC1* ( $1,98 \pm 5,5$ ;  $p = 0,022$ , a 12 mesi dall'inizio della CZ). Il genotipo *ABCB1*, in associazione allo *status* di fumatore, influenzava i cambiamenti del BMI.

Per quanto concerne la BP all'inizio del trattamento, sono state osservate differenze significative della BP diastolica tra i portatori e i non portatori dei polimorfismi esaminati (*ABCB1*  $F = 6,713$ ,  $p = 0,002$  e *ABCC1*  $F = 3,042$ ,  $p = 0,051$ ).

Non vi erano associazioni significative tra gli SNPs di *ABCB1* e *ABCC1* e le concentrazioni plasmatiche di CZ, NCZ o del rapporto CZ:NCZ. La condizione di omozigosi per entrambi gli SNPs (*ABCB1 + ABCC1*) era associata in misura significativa ad un aumento delle concentrazioni plasmatiche di CZ e NCZ ( $p = 0,054$  e  $0,010$ , rispettivamente) rispetto ai non portatori di *ABCB1* e *ABCC1*.

I meccanismi attraverso i quali la CZ induce un aumento di peso non sono stati ancora del tutto chiariti. I portatori maschi dell'allele T (*ABCB1*) e dell'allele A (*ABCC1*) mostrano un aumento significativo del BMI a 3 e 12 mesi dall'inizio della CZ rispetto ai non portatori. È interessante notare che i portatori di questi alleli hanno i BMI più bassi all'inizio della terapia con CZ, che suggerisce un possibile ruolo dei trasportatori ABC nel controllo fisiologico del peso corporeo e nella risposta al trattamento farmacologico.

I polimorfismi *ABCB1* sono stati associati in precedenza all'ipertensione attraverso un'azione sul trasporto renale tubulare del sodio. Nel presente studio è stata rilevata una BP più alta nei portatori degli SNPs *ABCB1* e *ABCC1*. Nonostante non sia stata osservata alcuna influenza degli SNPs *ABCB1* e *ABCC1* sulle concentrazioni plasmatiche di CZ, NCZ e rapporto CZ:NCZ, i portatori omozigoti per gli SNPs (TT + AA) avevano livelli significativamente maggiori di CZ e NCZ rispetto ai non portatori. La principale limitazione dello studio risiede nel piccolo campione di pazienti genotipizzati.

In conclusione, il presente studio mostra che gli SNPs *ABCB1* rs1045642 e *ABCC1* rs212090 possono influire sul peso corporeo, sulla pressione arteriosa e sulle concentrazioni plasmatiche di clozapina e nortclozapina in pazienti trattati con clozapina. Questi polimorfismi potrebbero essere potenziali *markers* predittivi dell'aumento di peso indotto da clozapina e delle conseguenti complicanze cardiovascolari.

**Parole chiave:** trasportatori ABC, aumento di peso, pressione arteriosa, rs1045642, rs212090

#### Riferimento bibliografico

[Piatkov I](#) et al. *Pharmgenomics Pers Med* 2017; 10: 235-42

## EFFICACIA DI UN TEST FARMACOGENETICO PROSPETTICO NEL TRATTAMENTO DEL DISTURBO DEPRESSIVO MAGGIORE: RISULTATI DI UN TRIAL CLINICO RANDOMIZZATO IN DOPPIO CIECO

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il disturbo depressivo maggiore rappresenta una tra le cause più importanti di disabilità. Nonostante il crescente numero di opzioni farmacologiche a disposizione, i tassi di risposta e remissione non sono ottimali. È stato stimato che le variazioni genetiche possano spiegare fino al 40% della variabilità nella risposta agli antidepressivi. Tuttavia, gli studi di associazione *genome-wide* sono stati perlopiù inefficaci nell'identificare singole varianti implicate. Tra i risultati replicati da più di uno studio vi sono geni appartenenti alla famiglia del citocromo P450 (*CYP2D6* e *CYP2C19*), al sistema di neurotrasmissione serotoninergica (*SLC6A4*, *HTR2C* e *HTR2A*) e il trasportatore *ABCB1*. Di recente il *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) ha pubblicato delle linee guida per la selezione e/o il dosaggio degli antidepressivi triciclici e degli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) e nella scheda tecnica di alcuni antidepressivi sono state riportate indicazioni farmacogenetiche sia negli USA sia in Europa.

Neuropharmagen® è una piattaforma basata sulla farmacogenomica sviluppata da AB-Biotics SA (Barcellona, Spagna) con l'obiettivo di assistere il clinico nella scelta del farmaco o del dosaggio per pazienti affetti da patologie psichiatriche. L'efficacia di questo test è stata valutata in precedenza tramite uno studio retrospettivo condotto in un campione che ha incluso 182 pazienti affetti da varie patologie psichiatriche (tra le quali depressione maggiore, disturbi d'ansia, schizofrenia e disturbo bipolare). Questo studio aveva suggerito che i pazienti ai quali il trattamento era stato prescritto in accordo con le indicazioni del test mostrassero *odds* di miglioramento 3,86 volte superiori rispetto ai pazienti per i quali non era stata seguita l'indicazione del test.

Gli autori del presente studio hanno realizzato un trial clinico prospettico, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco per valutare l'utilità clinica della piattaforma Neuropharmagen®. Lo scopo dello studio è stato quello di valutare l'utilità delle informazioni farmacogenetiche nella scelta del trattamento per i pazienti affetti da depressione maggiore in condizioni cliniche *real-world*. L'utilità clinica del test è stata analizzata in termini di miglioramento dei sintomi depressivi e tollerabilità del trattamento.

Il campione ha incluso 316 pazienti arruolati presso 18 ospedali in Spagna da Luglio 2014 a Giugno 2015. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a un prelievo di saliva per l'estrazione del DNA. I criteri di inclusione comprendevano: età superiore ai 18 anni; diagnosi di disturbo depressivo maggiore in accordo con i criteri del DSM-IV-TR; punteggio alla scala Clinical Global Impression-Severity (CGI-S)  $\geq 4$  sia allo *screening* sia alla visita per la randomizzazione; pazienti che in base al giudizio clinico richiedevano una prescrizione *de novo* o la sostituzione o l'aggiunta di un antidepressivo al proprio regime terapeutico. Sono stati inclusi anche pazienti con comorbidità psichiatriche secondarie e altre condizioni mediche. I criteri di esclusione comprendevano stato di gravidanza o allattamento, trattamento con chinidina, cinacalcet e/o terbinafina (farmaci inibitori del *CYP2D6*).

Durante la visita di screening, per ogni paziente sono state collezionate informazioni sociodemografiche, diagnosi, durata dell'episodio depressivo, trattamenti attuali, storia di trattamenti per la depressione maggiore e *score* CGI-S. La visita di randomizzazione (*baseline*) e le visite di *follow-up* alle settimane 6 e 12 sono state condotte in singolo cieco. Durante queste visite sono state registrate le informazioni relative a cambiamenti o sospensione di farmaci antidepressivi e relative motivazioni. Inoltre, sono state somministrate le seguenti scale: 17-item Hamilton Depression Rating Scale (HDRS-17), Frequency, Intensity and Burden of Side Effects Ratings (FISBER), scala CGI-S, Sheeran Disability Inventory (SDI) e Treatment Satisfaction with Medicines Questionnaire (SATMED-Q). Alle settimane 4, 8 e 12 sono state condotte delle interviste telefoniche in doppio cieco per raccogliere lo score Patient Global Impression of Improvement (PGI-I) (*outcome* primario).

La genotipizzazione su DNA genomico estratto da saliva è stata effettuata utilizzando *array custom*. Il report Neuropharmagen® ha incluso informazioni su 50 farmaci (antidepressivi, antipsicotici, stabilizzanti dell'umore e altri farmaci) e integrava tre elementi: a) dati di farmacogenetica derivati dall'analisi di polimorfismi localizzati su geni associati con efficacia, metabolismo o effetti avversi dei farmaci psicotropi (*ABCB1*, *AKT1*, *BDNF*, *CACNG2*, *CES1*, *COMT*, *CRHR1*, *CYP1A2*, *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *DDIT4*, *DRD3*, *EPHX1*, *FCHSD1*, *GRIK2*, *GRIK4*, *HLA-A*, *HTR1A*, *HTR2A*, *HTR2C*, *LPHN3*, *NEFM*, *OPRM1*, *RGS4*,

RPTOR, SLC6A4, UGT2B15); 2) informazioni sulle interazioni farmacologiche relative a farmaci psicotropi e farmaci concomitanti; e c) dati sull'influenza di specifiche condizioni cliniche e stili di vita. Per ogni farmaco il report offre raccomandazioni basate su: informazioni riportate nelle schede tecniche sulla base di decisioni dell'FDA, linee guida sulla farmacogenetica pubblicate e studi clinici selezionati.

I pazienti sono stati randomizzati al gruppo di trattamento assistito dalla farmacogenetica o al gruppo di controllo (standard di cura). In entrambi i casi, lo psichiatra poteva decidere il regime terapeutico che riteneva migliore per ciascun paziente. Le classi di farmaci più prescritte sono state inibitori della ricaptazione della serotonina-noradrenalina (45,8% dei pazienti), SSRI (44,5%) e antidepressivi triciclici (8,4%). Come *outcome* primario dello studio è stata considerata l'efficacia delle informazioni farmacogenetiche nel guidare la scelta del regime di trattamento per la depressione maggiore, considerando la proporzione di pazienti che mostravano una risposta mantenuta ad un *follow-up* di 12 settimane. La risposta è stata definita come uno *score* PGI-I  $\leq 2$  in un'intervista telefonica (condotta in doppio cieco). La risposta mantenuta è stata definita come uno *score* di PGI-I  $\leq 2$  in almeno due interviste consecutive e fino al termine dello studio.

E' stata definita una popolazione *per-protocol* escludendo i soggetti randomizzati al gruppo con test farmacogenetico per i quali lo psichiatra dichiarava di non aver seguito le indicazioni del test nella scelta del regime di trattamento. E' stata effettuata una correzione per test multipli considerando quattro *outcome* (risposta mantenuta, risposta alla settimana 12, intera popolazione e popolazione *per-protocol*).

Gli autori non hanno osservato differenze tra i gruppi nell'*outcome* "risposta mantenuta" alle settimane 4 e 8. Il numero di *responder* alla fine dello studio è risultato superiore con significatività nominale nel gruppo nel quale il trattamento era assistito dalla farmacogenetica rispetto al gruppo di controllo (47,8% vs 36,1%,  $p = 0,0476$ , odds ratio = 1,62). Risultati simili sono stati ottenuti dall'analisi *per-protocol*. All'interno del gruppo con trattamento assistito dalla farmacogenetica, ma non all'interno del gruppo di controllo, è stato evidenziato un aumento progressivo del tasso di risposta nelle tre interviste telefoniche dalla settimana 4 alla 12 ( $p = 0,0009$ ).

Per quanto riguarda la tollerabilità del trattamento, il gruppo nel quale il trattamento era guidato dalla farmacogenetica ha mostrato una maggiore percentuale di pazienti con *score* FISBER Burden  $\leq 2$  (nessuna necessità di effettuare modifiche nel regime terapeutico per gestire effetti avversi) a sei (66,7% vs 50,0%,  $p = 0,0294$ , OR = 2,00) e a 12 settimane (68,5% vs 51,4%,  $p = 0,0260$ , OR = 2,06).

Gli autori hanno realizzato il primo trial clinico multicentrico, prospettico, randomizzato in doppio cieco per valutare l'utilità delle informazioni farmacogenetiche provviste dalla piattaforma Neuropharmagen® nel guidare la scelta del trattamento per la depressione maggiore. Lo studio suggerisce che avere a disposizione informazioni farmacogenetiche durante la scelta del regime terapeutico potrebbe avere un impatto sul miglioramento clinico dei pazienti con depressione maggiore e sulla riduzione degli effetti avversi rispetto allo standard di cura. Tuttavia, le percentuali di pazienti con risposta mantenuta a 12 settimane sono risultate simili nei due gruppi.

Tra i limiti dello studio ci sono il fatto che non si sia trattato di uno studio indipendente ma di uno che ha visto la collaborazione del personale della AB-Biotics (che ha sviluppato la piattaforma Neuropharmagen®) e l'utilizzo della scala PGI-I come *outcome* principale. Saranno necessari studi di replicazione indipendenti per valutare il potenziale delle informazioni farmacogenetiche come aiuto nella scelta del regime terapeutico per il miglioramento dell'efficacia e della tollerabilità dei farmaci antidepressivi.

In conclusione, lo studio suggerisce che le informazioni farmacogenetiche possano migliorare l'efficacia e la tollerabilità del trattamento dei pazienti affetti da depressione maggiore.

**Parole chiave:** antidepressivi, disturbo depressivo maggiore, CYP2D6

#### Riferimento bibliografico

[Pérez V](#) et al. *BMC Psychiatry* 2017, 17(1): 250.

## LA METANALISI DEL MESE

### STUDIO DELL'ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI C677T E A1298C DEL GENE MTHFR E LA TOSSICITÀ INDOTTA DA METOTREXATO IN PAZIENTI PEDIATRICI ONCOLOGICI: UNA META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il metotrexato (MTX) è un antagonista della sintesi dell'acido folico largamente impiegato in pratica clinica per il trattamento, in età adulta e pediatrica, di un'ampia gamma di tumori, tra cui la leucemia linfoblastica acuta e i linfomi. Nonostante la sua ormai comprovata efficacia clinica, si evidenzia, con l'aumentare del dosaggio, l'insorgenza di gravi tossicità farmaco-indotte, tra cui mielosoppressione, mucositi orali, epatotossicità, tossicità renale e neurotossicità acuta o cronica. Numerosi studi sono stati finalizzati ad identificare biomarcatori predittivi dell'insorgenza di tossicità indotta da MTX. Nello specifico, polimorfismi a carico di geni implicati nei meccanismi di sintesi e degradazione dei folati sono emersi come potenziali modulatori della farmacodinamica di MTX. In particolare, SNPs del gene MTHFR, codificante per la metilentetraidrofolato-reduttasi, enzima chiave nell'omeostasi e metabolismo dei folati, sono riportati come correlati all'efficacia e alla tossicità del MTX. Tra questi si evidenziano le varianti funzionali C677T e A1298C, risultanti in una ridotta attività funzionale dell'enzima MTHFR. Ad oggi, al fine di riassumere in maniera qualitativa/quantitativa le evidenze in letteratura riguardo all'impatto di tali varianti sul rischio di insorgenza di tossicità del MTX, sono state condotte 3 revisioni sistematiche/meta-analisi, di cui però solo una focalizzata sulla farmacogenetica del MTX in pazienti pediatrici. Tuttavia, tali lavori hanno incluso studi pubblicati fino al 2012 e, a fronte della pubblicazione di nuovi lavori a riguardo, si rende necessario un aggiornamento delle stime di associazione genetica da essi riportate. Alla luce di quanto detto, l'obiettivo del presente studio è stato quello di effettuare una meta-analisi dell'effetto delle varianti C677T e A1298C del gene MTHFR sull'insorgenza di tossicità indotta da MTX in pazienti di età pediatrica affetti da leucemia linfoblastica acuta, linfoma e osteosarcoma.

Il presente studio di revisione sistematica e meta-analisi è stato condotto secondo le linee guida PRISMA. La ricerca bibliografica è stata effettuata sui databases di PubMed, EMBASE, Cochrane Library, Web of Science e ClinicalTrials.gov. Sono stati inclusi tutti gli studi in lingua inglese riportanti dati sufficienti ai fini del calcolo della stima dell'associazione (RR, 95% IC) tra le varianti MTHFR C677T e/o A1298C e l'insorgenza di tossicità indotta da MTX in pazienti pediatrici affetti da leucemia linfoblastica acuta, linfoma e osteosarcoma. La valutazione della qualità degli studi inclusi nella meta-analisi è stata effettuata utilizzando la *Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale*. Quando possibile, è stata effettuata una meta-analisi ad effetti fissi o random, a seconda, rispettivamente, dell'assenza o presenza di eterogeneità ( $I^2 \geq 50\%$ ). Sono state poi effettuate delle meta-analisi per sottogruppi sulla base del tipo specifico di tossicità manifestatasi (tossicità ematologica e tossicità non-ematologica, come epatotossicità e mucositi) e l'etnia dei pazienti.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 1082 risultati e, dopo esclusione dei duplicati (n=520) e degli studi non eleggibili sulla base della lettura del titolo e dell'abstract (n=432), i rimanenti 130 studi sono stati screenati per testo intero. Di questi, 14 studi sono stati inclusi nella meta-analisi. Nello specifico, 8 studi hanno analizzato la correlazione tra la tossicità da MTX ed entrambe le varianti del gene MTHFR mentre 6 si sono focalizzati unicamente sullo SNP C677T. I pazienti inclusi erano di etnia caucasica in 6 studi, asiatica in 5 studi, africana in 1 e di etnia mista nei rimanenti due. I pazienti pediatrici inclusi negli studi risultavano essere affetti da leucemia linfoblastica acuta in 9 studi, linfoma di non Hodgkin in 1, osteosarcoma in 1 e linfoma o leucemia linfoblastica acuta nei rimanenti 3. I lavori sono risultati avere una buona qualità secondo i criteri riportati dalla *Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale* (punteggio massimo ottenibile per ogni singolo studio: 9; range di punteggio degli studi ivi inclusi: 7-9). Dalla meta-analisi di 7 studi, è emersa una correlazione statisticamente significativa tra la variabile MTHFR C677T e l'insorgenza di epatotossicità ( $G \geq 2$ ) unicamente

nel modello genetico dominante (CC vs CT/TT: RR 0.82, 95% CI 0.67-0.99, P=0.04). Stratificando per etnia, tale correlazione è risultata essere statisticamente significativa nel sottogruppo dei pazienti asiatici nel modello genetico recessivo (n=4 studi; CC/CT vs TT: RR 0.72, 95% CI 0.52-0.99, P=0.04). Inoltre, tale variante è emersa come associata al rischio di i) tossicità ematologica di grado 3-4 (n=7 studi; CC vs CT/TT: RR 0.65, 95% CI 0.44-0.97, P=0.03) e ii) mucositi di grado  $\geq 3$  (n=2 studi; CC vs CT/TT: RR 0.18, 95% CI 0.4-0.87, P=0.03; CC/CT vs TT: RR 0.10, 95% CI 0.03-0.32, P $\leq$ 0.0001; CC vs TT: RR 0.10, 95% CI 0.02-0.50, P $\leq$ 0.0001). Per quanto riguarda lo SNP A1298C non si riportano correlazioni statisticamente significative tra la suddetta variante e l'insorgenza di epatotossicità, mucositi o tossicità ematologica. Non è stato, inoltre, possibile fare meta-analisi per sottogruppi data la scarsa numerosità degli studi includibili negli stessi.

A differenza dei regimi chemioterapici antitumorali impiegati in pazienti di età adulta, nei pazienti pediatrici oncologici si utilizzano dosaggi elevati di MTX (1 g/m<sup>2</sup>), risultanti in un maggiore rischio di insorgenza di tossicità gravi, ematologiche e non. Il presente studio di meta-analisi offre un aggiornamento delle stime di associazione tra le varianti MTHFR C677T e A1298C e l'insorgenza di tossicità indotte da MTX in pazienti pediatrici di differenti etnie. Dai risultati ivi riportati emerge come la genotipizzazione per la variante MTHFR C677T possa rappresentare un utile strumento predittivo del rischio di sviluppo di tossicità MTX-indotte in soggetti pediatrici. Si evidenziano tuttavia alcuni limiti dello studio: i) il numero degli studi inclusi e le relative dimensioni campionarie sono ridotte; ii) nonostante la meta-analisi includa studi con pazienti di differente etnie, non è possibile trarre evidenze solide nel sottogruppo di pazienti di etnia africana data la ridottissima dimensione del campione (n=40 pazienti); iii) si sottolinea una forte eterogeneità tra gli studi in termini di dosaggio di MTX utilizzato, durata della terapia e chemioterapici antitumorali impiegati in combinazione con MTX: tali fattori sono noti modulatori del rischio di insorgenza di tossicità indotta da MTX.

La variante MTHFR C677T è un fattore potenzialmente predittivo dell'insorgenza di epatotossicità e mucositi indotte da metotrexato in pazienti pediatrici oncologici.

Alla luce dei limiti intrinseci alla presente meta-analisi, si rendono necessari ulteriori studi farmacogenetici di dimensione campionaria idonea al fine di confermare i risultati ottenuti nel presente lavoro.

**Parole chiave:** MTHFR, metotrexato, patologie oncologiche

#### Riferimento bibliografico

[Zhu C](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2017 Jul 11 [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](mailto:sif.informazione@segr.it); [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it).

#### SIF – FARMACOGENETICA

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

---

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

[http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen.php](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php)

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) 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](mailto:webmaster@sifweb.org)

---

#### DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

---

#### RICEZIONE NEWSLETTER

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