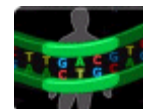




SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 101 – Dicembre 2017

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

Sommario

Oncologia

- Il DNA tumorale circolante con un carico mutazionale elevato rilevato tramite biopsia liquida è predittivo delle risposte ai farmaci immunoterapici in pazienti affetti da tumori solidi
- L'associazione delle variazioni genetiche nelle vie di riparazione del DNA con gravi tossicità nei pazienti affetti da NSCLC sottoposti a chemioterapia a base di platino
- Nuove varianti in NUDT15 e intolleranza alle tiopurine in pazienti pediatriche di diversa etnia affetti da leucemia linfoblastica acuta
- Correlazione tra instabilità dei microsatelliti, polimorfismi di ERCC1/XRCC1, caratteristiche cliniche e chemioterapia adiuvante FOLFOX in pazienti affetti da cancro coloretale

Neurologia

- Il locus genomico nde1 può influenzare il trattamento delle patologie psichiatriche attraverso le variazioni dell'espressione genica correlata al microRNA-484
- Geni pleiotropici in psichiatria: canali al calcio, gene correlato allo stress FKBP5 e resistenza al trattamento con antidepressivi

La metanalisi del mese

- Un polimorfismo del gene gstp1 predice l'insorgenza di tossicità indotta da chemioterapia e/o radioterapia in pazienti affetti da carcinoma alla mammella

ONCOLOGIA

IL DNA TUMORALE CIRCOLANTE CON UN CARICO MUTAZIONALE ELEVATO RILEVATO TRAMITE BIOPSIA LIQUIDA È PREDITTIVO DELLE RISPOSTE AI FARMACI IMMUNOTERAPICI IN PAZIENTI AFFETTI DA TUMORI SOLIDI

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

L'immunoterapia è la nuova frontiera che sta rivoluzionando il panorama del trattamento oncologico con un ambito di applicazione trasversale a varie neoplasie. Ad esempio, pembrolizumab, agente immunomodulatore in grado di bloccare la proteina PD-1, un recettore co-inibitorio espresso dai linfociti T attivati, ha prodotto risposte obiettive nel 45% di pazienti affetti da tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC) (Garon EB et al. *N Engl J Med* 2015, 372(21):2018-28). Attualmente, il farmaco è stato approvato per il trattamento in prima linea di pazienti NSCLC i cui tumori esprimono alti livelli di PD-L1 (*tumor proportion score* [TPS] \geq 50%) e che non hanno alterazioni a carico dei geni EGFR ed ALK. Contemporaneamente, anche altri inibitori dei checkpoint immunitari, come ipilimumab, nivolumab e atezolizumab, anticorpi monoclonali che agiscono bloccando l'attività, rispettivamente, delle proteine CTLA-4, PD-1 e PD-L1, hanno mostrato elevata efficacia clinica nei pazienti affetti da melanoma in stadio avanzato, da NSCLC, da tumore del rene, da tumore del colon-retto, così come nelle neoplasie ematologiche (Blumenthal GM et al. *Nat Rev Clin Oncol* 2017, 14(3):131-2; Goodman A et al. *Nat Rev Clin Oncol* 2017, 14(4):203-20). Tuttavia, non possono essere trascurate le reazioni avverse che questi farmaci possono causare, soprattutto immuno-correlate (tra cui, reazioni gastrointestinali, dermatologiche, epatiche, endocrine, o polmonari) (Ibrahim RA et al. *J Clin Oncol* 2011, 29). Inoltre, molti pazienti possono non rispondere alla terapia oppure possono sviluppare iperprogressione (Champiat S et al. *Clin Cancer Res* 2017, 23(8):1920-8; Kato S et al. *Clin Cancer Res* 2017, 23(15):4242-50).

Sussiste, pertanto, la necessità di trovare nuovi biomarcatori affidabili e predittivi, utilizzabili per il monitoraggio dell'efficacia del trattamento terapeutico con farmaci immunoterapici. È ormai noto che lo stato mutazionale del tumore, determinato utilizzando la tecnologia *next generation sequencing* (NGS) su campioni tissutali, correla con la risposta agli inibitori dei checkpoint immunitari (Campesato LF et al. *Oncotarget* 2015, 6(33):34221-7). Questo perché il sistema immunitario, una volta riattivato dagli inibitori dei checkpoint, riconosce le cellule tumorali che esprimono antigeni tumorali: molto probabilmente, maggiore è la quantità di antigeni che vengono presentati e maggiori sono le possibilità che il macchinario delle cellule T venga attivato per fronteggiare e distruggere le cellule tumorali. Tuttavia, non è sempre possibile ottenere biopsie tissutali sulle quali poter valutare lo stato mutazionale del tumore.

Per tale motivo, gli autori di questo studio hanno valutato l'utilità del DNA tumorale circolante (ctDNA) come alternativa non invasiva per caratterizzare il ctDNA con un carico mutazionale elevato e la risposta all'immunoterapia. A tal fine, gli autori hanno retrospettivamente analizzato il ctDNA estratto dal plasma di 69 pazienti affetti da neoplasie diverse e trattati con inibitori dei checkpoint immunitari, utilizzando la tecnologia NGS per la valutazione di un pannello di 54-70 geni. Le analisi di sopravvivenza in termini di sopravvivenza libera da progressione (PFS) e sopravvivenza globale (OS) sono state valutate in rapporto al numero mediano di alterazioni genetiche di significato incerto (variants of unknown significance, VUS) e al numero mediano di alterazioni totali del ctDNA, per paziente.

Dall'analisi condotta è emerso che 63 pazienti (91%) avevano almeno un'alterazione del ctDNA: il numero mediano di VUS per paziente era pari a 2, mentre il numero mediano di alterazioni totali del ctDNA era pari a 3. Complessivamente, per 20 pazienti (29%) sono state riscontrate più di 3 VUS nel ctDNA e 23 pazienti (33.3%) avevano almeno 6 alterazioni totali del ctDNA.

I tassi di risposta al trattamento immunoterapico sono risultati significativamente più alti nei pazienti per i quali erano state caratterizzate più di 3 VUS nel ctDNA rispetto ai pazienti che presentavano meno di 3 VUS (45% versus 15%, rispettivamente; $p = 0.014$). Risultati simili sono stati ottenuti per i pazienti che hanno mostrato almeno 6 alterazioni totali nel ctDNA rispetto a quelli che, invece, avevano una quantità di alterazioni totali nel ctDNA inferiore a 6 (40.9% versus 15.9%; $p = 0.025$).

La PFS mediana per l'intera popolazione dello studio era di 2.3 mesi (CI 95%, 0.7 – 5.0 mesi). Inoltre, la PFS nel gruppo di pazienti con più di 3 VUS è risultata significativamente superiore rispetto a quella dei pazienti con meno di 3 VUS (3.84 mesi versus 2.07 mesi; $p = 0.019$). Similmente, la PFS nella coorte di pazienti con almeno 6 alterazioni nel ctDNA è risultata significativamente migliore rispetto ai pazienti con una quantità minore di 6 alterazioni (2.85 mesi versus 2.19 mesi; $p = 0.025$).

Gli autori hanno anche effettuato un'interessante analisi *landmark* valutando la differenza in termini di PFS fra i pazienti che a 2 mesi dall'inizio della terapia avevano ottenuto una risposta clinica parziale o completa (*responders*; n=15) e coloro che, invece, erano in stabilità o in progressione di malattia (*nonresponders*; n=26). I *responders* con almeno 3 VUS, rispetto ai *nonresponders* con almeno 3 VUS, hanno mostrato un tasso significativamente più alto di PFS (23.2 mesi versus 2.3 mesi; p = 0.0004). Risultati simili sono stati osservati comparando i *responders* ed i *nonresponders* con almeno 6 alterazioni totali nel ctDNA (23.2 mesi versus 2.3 mesi; p = 0.0006).

Infine, l'OS mediana per l'intera popolazione dello studio era di 15.3 mesi (CI 95%, 10.6 – 23.9 mesi). Le analisi condotte hanno evidenziato che un carico mutazionale elevato è correlato in maniera statisticamente significativa ad un miglioramento della OS. Infatti, nei pazienti con un numero di VUS maggiore di 3 la sopravvivenza mediana non è stata raggiunta; viceversa, nei pazienti con meno di 3 VUS l'OS è risultata di 10.72 mesi (p = 0.042).

Similmente a quanto visto per la PFS, nello studio è stata effettuata un'analisi *landmark* valutando la differenza in termini di OS fra i pazienti che a 2 mesi dall'inizio della terapia avevano ottenuto una risposta clinica parziale o completa (*responders*; n=15) e coloro che, invece, erano in stabilità o in progressione di malattia (*nonresponders*; n=39). L'OS mediana non è stata raggiunta nel gruppo dei *responders* con almeno 3 VUS, rispetto ai *nonresponders* con almeno 3 VUS per i quali l'OS è stata di 15.34 mesi (p = 0.11). Risultati simili sono stati osservati comparando i *responders* ed i *nonresponders* con almeno 6 alterazioni totali nel ctDNA (OS non raggiunta versus 15.34 mesi; p = 0.02).

I risultati di questo studio dimostrano per la prima volta che i pazienti con un numero elevato di alterazioni genetiche, valutate su DNA tumorale circolante, hanno una risposta migliore alle terapie con gli inibitori dei checkpoint immunitari, raggiungendo una PFS mediana di quasi 2 anni.

Nonostante lo studio presenti diversi limiti metodologici (come ad esempio la natura retrospettiva dello studio stesso, la bassa numerosità del campione associata ad un'elevata eterogeneità, il ridotto numero di geni analizzati, così come la mancanza di un'analisi comparativa fra le informazioni ottenute su DNA circolante e DNA tissutale), i risultati ottenuti hanno messo in evidenza come l'analisi del ctDNA e, quindi, l'uso di una tecnica minimamente invasiva, sia uno strumento interessante per misurare il carico totale delle mutazioni e avere, pertanto, a disposizione un possibile biomarcatore predittivo di risposta che potrebbe contribuire ad ampliare la popolazione di pazienti in grado di beneficiare delle nuove terapie immunoterapiche.

Parole chiave: ctDNA, carico mutazionale, NGS, immunoterapia

Riferimento bibliografico

[Khagi Y](#) et al. *Clin Cancer Res* 2017, 23(19): 5729-36.

L'ASSOCIAZIONE DELLE VARIAZIONI GENETICHE NELLE VIE DI RIPARAZIONE DEL DNA CON GRAVI TOSSICITÀ NEI PAZIENTI AFFETTI DA NSCLC SOTTOPOSTI A CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) è il tipo di carcinoma polmonare più comune. Il cisplatino o il carboplatino in combinazione con un altro farmaco citotossico sono stati raccomandati dalle linee guida del National Comprehensive Cancer Network (NCCN) statunitense come chemioterapia di prima linea. L'insorgenza di tossicità grave varia a seconda del tipo di regime chemioterapico o di farmaci adiuvanti somministrati. Esiste un'ampia variabilità individuale nella gravità delle tossicità indotte dal platino e gli effetti tossici potrebbero avere una correlazione con la dose di farmaco somministrata.

L'assenza di tossicità potrebbe infatti suggerire un sottodosaggio e quindi risultati terapeutici insoddisfacenti. Pertanto, si ipotizza che identificare i biomarcatori in grado di predire una tossicità grave potrebbe permettere di regolare le dosi prima dell'inizio del trattamento.

È stato riportato che la capacità di riparazione del danno del DNA può influenzare la variabilità della tossicità, poiché la riparazione subottimale del DNA risulta nella rimozione di un minor numero di lesioni del DNA e nell'aumento della citotossicità nel platino. I geni candidati più comunemente associati alla tossicità includono *ERCC1*, *XPD*, *RRM1* e *XRCC1*. Tuttavia, la maggior parte degli studi sono condotti su un campione ridotto con un numero limitato di polimorfismi genetici.

Gli agenti a base di platino possono legarsi con il DNA per causare *intrastrand* e *interstrand cross-links*, che sono la causa principale dei loro effetti citotossici. Complessi percorsi di riparazione del DNA partecipano alla risoluzione dei *cross-link interstrand* del DNA, compresa la sintesi del DNA *translesion* (TLS), la via di anemia di Fanconi (FA) e la ricombinazione omologa (HR), regolando così la risposta cellulare al cisplatino. Studi recenti hanno rivelato nuovi ruoli nei meccanismi di riparazione di escissione di base (BER) e di riparazione di *mismatch* (MMR) nell'attivazione dei *cross-link interstrand* e quindi nella modulazione della citotossicità del cisplatino piuttosto che nella riparazione del danno. I geni coinvolti in questi percorsi sono altamente polimorfici; tuttavia, se i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) in tali percorsi influenzano la tossicità indotta dal platino nei pazienti con NSCLC rimane sconosciuto.

Gli autori hanno condotto un'analisi multicentrica, in due stadi (gruppo di casi e gruppo di controllo), per identificare i marcatori associati a tossicità grave indotta dal platino nei pazienti affetti da NSCLC. Gli obiettivi di questo studio erano i seguenti: convalidare gli SNPs precedentemente studiati in una coorte di pazienti con NSCLC e analizzare l'associazione di nuove variazioni nelle vie di riparazione del DNA.

Quattrocentotrentasette pazienti sono stati reclutati nel Xiangya Hospital e nel Hunan Province Tumor Hospital (Changsha, Hunan, Cina) dal 2012 al 2013. Settecentotantuno pazienti sono stati reclutati da altri ospedali (Shanghai Chest Hospital, Zhongshan Hospital and Changhai Hospital) dal 2005 al 2010, come coorte di controllo. Tutti i pazienti soddisfano i seguenti criteri: età tra 18 e 80 anni; NSCLC allo stadio IIIA, IIIB o IV; un buono stato di salute (Eastern Cooperative Oncology Group [ECOG] \leq 2) che può tollerare la chemioterapia; nessuna precedente storia di chirurgia, chemioterapia o radioterapia.

Tutti i pazienti hanno ricevuto regimi chemioterapici di prima linea a base di platino costituiti da cisplatino o carboplatino più un farmaco citotossico (gemcitabina, pemetrexed, paclitaxel, docetaxel o navelbina) per 2-6 cicli di trattamento. Le dosi di regimi chemioterapici nelle due coorti erano esattamente le stesse secondo le linee guida NCCN, incluso cisplatino ($75 \text{ mg} / \text{m}^2$) o carboplatino (AUC 5), che venivano entrambi somministrati il giorno 1 ogni 3 settimane, in combinazione con navelbine ($25 \text{ mg} / \text{m}^2$) nei giorni 1 e 8 ogni 3 settimane, gemcitabina ($1250 \text{ mg} / \text{m}^2$) nei giorni 1 e 8 ogni 3 settimane, paclitaxel ($175 \text{ mg} / \text{m}^2$) il giorno 1 ogni 3 settimane, docetaxel ($75 \text{ mg} / \text{m}^2$) il giorno 1 ogni 3 settimane o pemetrexed ($500 \text{ mg} / \text{m}^2$) il giorno 1 ogni 3 settimane.

Le tossicità sono state valutate e classificate in base ai Common Terminology Criteria for Adverse Events version 3.0 (CTCAE 3.0). I pazienti che hanno sofferto di grave tossicità sono stati definiti dal verificarsi di eventi avversi di grado 3 o 4. Lo studio si è concentrato sulla tossicità grave durante 2-6 cicli di chemioterapia di prima linea a base di platino. I più gravi sintomi di tossicità, tra cui leucocitopenia, neutropenia, trombocitopenia, anemia, nausea, vomito, nefrotossicità, neurotossicità e ototossicità, sono stati registrati per l'analisi dei dati.

La selezione di SNPs precedentemente studiati si basava sulle letterature pubblicate su PubMed e SpringerLink. Per la selezione di nuovi SNP con potenziale significato funzionale, è stato compilato un elenco di 54 geni candidati, coinvolti in 6 percorsi di riparazione del DNA, noti per rispondere alle lesioni dovute al platino. Il DNA genomico di tutti i soggetti è stato isolato da un campione di sangue periferico utilizzando un kit di DNA FlexiGene (Qiagen, Hilden, Germania) e conservato a -20°C fino al momento dell'uso. La genotipizzazione è stata condotta utilizzando il sistema MassARRAY (Sequenom, San Diego, CA). Infine sono state svolte le valutazioni statistiche e il valore $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

L'età media dei pazienti nella coorte di casi era minore di quella della coorte di controllo: $55,1 \pm 9,5$ anni nella coorte di casi rispetto a $57,6 \pm 9,8$ anni nella coorte di controllo. La percentuale di pazienti maschi era del 76,9% nella coorte di casi e del 71,4% nella coorte di controllo. Una percentuale relativamente alta di tumori a cellule squamose è stata osservata nella coorte di casi (42,3% vs 21,9%), mentre i tumori di tipo adenocarcinomatoso erano più comuni nella coorte di controllo (50,1% vs 64,3%). L'incidenza di tossicità ematologica grave, tossicità gastrointestinale e neutropenia nella coorte di casi era rispettivamente del 24,0%, 8,7% e 16,0%, abbastanza simile a quella della coorte di controllo (24,6%, 8,1% e 12,3%, rispettivamente). La leucocitopenia grave si è verificata più frequentemente nella coorte di controllo (16,8% vs 10,1%), mentre trombocitopenia grave (5,9% vs 3,2%) e anemia grave (7,3% vs 3,3%) erano più comuni nella coorte di casi.

Inizialmente sono stati testati i 24 SNPs identificati dalle pubblicazioni precedenti. 13 SNPs hanno raggiunto significatività statistica al livello $p < 0.05$. Tre SNPs (*RRM1* rs12806698, *XPC* rs2228000 e *XPF* rs1799801) hanno mostrato una forte associazione con la tossicità grave ($p < 0,01$). *RRM1* rs12806698 è stato associato ad un aumentato rischio di leucocitopenia grave (OR = 5.1, IC 95%: 2.1-12.2, $p = 0.0002$) e di neutropenia grave (OR = 2.6, IC 95%: 1.1-6.1, $p = 0.034$) e un ridotto rischio di tossicità gastrointestinale grave (OR = 0.38, IC 95%: 0.18-0.82, $p = 0.013$). *XPS* rs2228000 ha mostrato un ridotto rischio di tossicità ematologica grave (OR = 0.52, IC 95%: 0.32-0.82, $p = 0.005$), leucocitopenia (OR = 0.43, IC 95%: 0.23-0.83, $p = 0.011$) e neutropenia (OR = 0.56, 95% CI: 0.37-0.86, $p = 0.008$). *XPS* rs1799801 è stato associato ad un aumentato rischio di tossicità ematologica grave (OR = 1.6, IC 95%: 1.0-2.3, $p = 0.031$) e trombocitopenia (OR = 3.6, IC 95%: 1.5-8.4, $p = 0.004$). *ERCC1* rs3212986 ha mostrato un ridotto rischio di tossicità ematologica grave (OR = 0.33, IC 95%: 0.12-0.86, $p = 0.024$). Il rs11615 mostra un aumentato rischio di anemia grave (OR = 2.23, IC 95%: 1.04-4.8, $p = 0.039$). *XPS* rs1047768 e rs17655 sono risultati fattori di rischio rispettivamente per leucocitopenia grave e trombocitopenia (OR = 1.7, IC 95%: 1.021-2.8, $p = 0.041$ e OR = 2.165, IC 95%: 1.2-3.9, $p = 0.011$). *XPC* rs2228001 ha mostrato una relazione significativa con la leucocitopenia grave (OR = 2.2, IC 95%: 1.05-4.7, $p = 0.036$). Due SNPs nei geni *BER* hanno mostrato relazioni con tossicità grave: *APE1* rs1130409 è associato a un ridotto rischio di leucocitopenia grave (OR = 0.46, IC 95%: 0.24-0.88, $p = 0.019$) e neutropenia grave (OR = 0.56, IC 95%: 0.32-0.97, $p = 0.038$). Per il percorso HR, *MDM2* rs2279744 può ridurre il rischio di trombocitopenia grave (OR = 0.47, IC 95%: 0.26-0.87, $p = 0.015$). I polimorfismi rs1801320 e rs12593359 di *RAD51* sono risultati protettivi verso tossicità ematologica grave e leucocitopenia grave, rispettivamente (OR = 0.55, IC 95%: 0.33-0.92, $p = 0.024$ e OR = 0.43, IC 95%: 0.20-0.95, $p = 0.037$).

Considerando i nuovi SNPs selezionati, un totale di 15 varianti ha ottenuto la significatività statistica, e 4 di questi erano significativi a $p < 0,01$ (*hMLH1* rs1800734, *PMS2* rs1062372, *REV3L* rs462779 e *FANCC* rs4647554). L'associazione di *hMLH1* rs1800734 con un ridotto rischio di leucocitopenia grave è rimasta significativa dopo la correzione di Bonferroni (OR = 3.48, IC 95%: 1.7-7.0, $p = 0.0005$). *PMS2* rs1062372 ha mostrato un ridotto rischio di tossicità ematologica grave (OR = 0.45, IC 95%: 0.26-0.79, $p = 0.005$), leucocitopenia (OR = 0.37, IC 95%: 0.17-0.81, $p = 0.014$) e neutropenia (OR = 0.48, IC 95%: 0.25-0.91, $p = 0.025$). *FANCC* rs4647554 ha mostrato un aumentato rischio di tossicità ematologica grave (OR = 1.57, IC 95%: 1.1-2.2, $p = 0.009$) e un ridotto rischio di tossicità gastrointestinale grave (OR = 0.47, IC 95%: 0.24-0.94, $p = 0,031$). *REV3L* rs462779 è stato associato ad un ridotto rischio di trombocitopenia grave (OR = 0.40, IC 95%: 0.20-0.78, $p = 0.007$).

Tre SNPs (*XPC* rs2228000, *PMS2* rs1062372 e *FANCC* rs4647554), che hanno mostrato associazione significativa con più di un tipo di tossicità, sono stati selezionati per essere analizzati nella coorte di controllo: *XPS* rs2228000 era significativamente associato a tossicità gastrointestinale grave e il genotipo eterozigote di *XPC* rs2228000 ha un rischio ridotto di tossicità gastrointestinale grave (OR = 0.43, IC 95%: 0.23-0.79, $p = 0,007$). Quando le due coorti sono state combinate per dimostrare il livello generale di significatività, *XPC* rs2228000 mostrava un'associazione significativa con tossicità ematologica grave (OR = 0.68, IC 95%: 0.51-0.90, $p = 0.007$), tossicità gastrointestinale (OR = 0.57, 95 % CI: 0.37-0.87, $p = 0.009$) e leucopenia (OR = 0.63, IC 95%: 0.44-0.90, $p = 0.011$). *FANCC* rs4647554 ha mostrato un lieve aumento del rischio di anemia grave nella coorte di controllo (OR = 3.04, IC 95%: 1.01-9.2, $p = 0.049$) e tossicità ematologica grave nella coorte combinata (OR = 1.5, IC 95%: 1.03-2.2, $p = 0.034$).

Sebbene l'associazione significativa di *PMS2* rs1062372 non possa essere osservata nella coorte di controllo, il polimorfismo rs1062372 ha avuto la stessa tendenza verso una percentuale inferiore di tossicità grave.

Valutando la farmacogenetica nella terapia a base di platino, oltre alla via di riparazione del DNA, è necessario valutare anche i processi di trasporto molecolare e biotrasformazione e apoptosi.

Rispetto agli studi precedenti, i principali punti di forza di questo studio sono le dimensioni relativamente grandi del campione, la coorte di controllo utilizzata e il pannello completo di SNPs potenzialmente funzionali che possono influenzare l'espressione o la funzione della proteina.

La limitazione principale di questo lavoro è che tutti i pazienti hanno ricevuto la chemioterapia di combinazione. Diversi farmaci, non a base di platino, in regime di chemioterapia possono influenzare i profili di tossicità. Ulteriori studi dovrebbero concentrarsi sull'applicazione di meta-analisi per aumentare il potere statistico.

Variazioni genetiche nei geni di riparazione del DNA possono contribuire alla tossicità della chemioterapia a base di platino, ma precedenti studi di farmacogenetica sono stati contrastanti e inconcludenti. Qui, gli autori hanno eseguito un'analisi multicentrica a due stadi per esaminare l'associazione di 97 SNP in 54 geni provenienti da percorsi di riparazione del DNA. Essi hanno dimostrato che *XPC* rs2228000 conferiva una migliore tolleranza verso gravi tossicità.

Parole chiave: carcinoma polmonare non a piccole cellule, Platino, *RRM1*, *XPC*, *XPF*, *hMLH1*, *PMS2*, *REV3L*, *FANCC*

Riferimento bibliografico

[Zheng Y](#) et al. *Int J Cancer* 2017, 141(11): 2336-47

NUOVE VARIANTI IN *NUDT15* E INTOLLERANZA ALLE TIOPURINE IN PAZIENTI PEDIATRICI DI DIVERSA ETNIA AFFETTI DA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA

A cura della Dott.ssa Elena Genova

Un'esposizione prolungata al trattamento con le tiopurine (es. mercaptopurina) è essenziale nella terapia della leucemia linfoblastica acuta (LLA) al fine di tenere sotto controllo la patologia. Tuttavia, una terapia prolungata con questi farmaci risulta essere associata a frequenti casi di tossicità ematopoietiche in parte causate da polimorfismi genetici codificanti per importanti enzimi coinvolti nel metabolismo delle tiopurine come ad esempio *TPMT*. Recentemente, in aggiunta ai polimorfismi del gene *TPMT* sono state identificate varianti nel gene *NUDT15* come altra importante causa di mielosoppressione indotta da tiopurine in particolare nella popolazione asiatica e latino-americana. Dunque, in queste popolazioni, identificando preventivamente eventuali polimorfismi nel gene *NUDT15* risulta possibile evitare lo sviluppo di gravi tossicità. Tuttavia, in pazienti con LLA o malattie infiammatorie croniche intestinali in trattamento con tiopurine e di etnia Africana ed Europea la genotipizzazione del gene *NUDT15* ad oggi è considerata di limitata importanza dato che le varianti note di rischio sono state riportate raramente. Tuttavia alcuni pazienti di queste popolazioni, anche non presentando le varianti a rischio dei geni *NUDT15* e *TPMT*, sviluppano tossicità severe dopo trattamento con MP aprendo nuove possibilità di identificare altre varianti imputate.

Lo scopo di questo lavoro è descrivere tre nuove varianti codificanti del gene *NUDT15* (p.R34T, p.K35E, p.G17_V18del) individuate in cinque bambini con LLA di diversa etnia. In particolare i pazienti sono stati arruolati negli ospedali di Singapore, Taiwan ed al St. Jude Children's Research Hospital di Memphis (USA).

I pazienti con queste varianti presentano significativa tossicità e ridotta tolleranza alla MP durante i protocolli di trattamento. In particolare, *NUDT15* è un enzima con attività di difosfatasi nucleotidica che

permette, in condizioni fisiologiche, una riduzione della citotossicità della MP convertendo il metabolita tioguanina trifosfato in tioguanina monofosfato, riducendo in questo modo l'incorporazione di nucleotidi tioguaninici nel DNA con conseguente riduzione del danno da apoptosi. Tutte e tre le varianti identificate in questi pazienti pediatrici influenzano negativamente la stabilità della proteina e sono legate ad una completa o parziale perdita di attività dell'enzima NUDT15. In particolare in questo lavoro è stata identificata la variante missenso p.R34T in due pazienti di etnia est-Asiatica arruolati presso gli ospedali di Singapore e Taiwan. Entrambi i pazienti tolleravano dosi molto basse di MP (17.9 e 16.4 mg/m²/die, rispettivamente) rispetto a pazienti pediatrici eterozigoti per la nota variante di rischio p.R139C (33.1 ± 11.5 mg/m²/die). Anche la variante p.K35E è stata osservata in un paziente di origine asiatica arruolato presso l'ospedale di Singapore il quale presentava anche le note varianti di rischio p.V18_V19insGV e p.R139C. Infine, la delezione in frame p.G17_V18del è stata osservata in due pazienti del St. Jude Hospital di etnia e discendenza Europea e Africana. In particolare, la variante proteica p.G17_V18del determina una bassa termostabilità della proteina con perdita totale di attività catalitica predisponendo dunque i pazienti ad un elevato rischio di intolleranza alle tiopurine. Questa delezione è stata individuata solo nei due pazienti di origine Africana o Europea e risulta la prima variante di NUDT15 identificata in popolazioni non-Asiatiche e non-Ispaniche. In conclusione in questo lavoro sono state scoperte tre nuove varianti di NUDT15 associate ad un aumento di tossicità alla MP. In particolare, è stata identificata per la prima volta una variante del gene legata ad una marcata intolleranza alle tiopurine anche in popolazioni Africane e Europee.

In questo lavoro sono state identificate tre nuove varianti di rischio del gene NUDT15 in popolazioni di diversa etnia. In particolare è stata scoperta per la prima volta la delezione in frame p.G17_V18del in popolazioni non Asiatiche e non Ispaniche. L'identificazione di questi polimorfismi, preventivamente al trattamento con tiopurine, potrebbe aiutare ad evitare lo sviluppo di gravi tossicità grazie ad un adeguamento personalizzato della dose di farmaco mediante genotipizzazione di NUDT15 anche in popolazioni Europee e Africane.

Parole chiave: NUDT15, leucemia linfoblastica acuta, polimorfismo, mercaptopurina, tiopurine, pazienti pediatrici, etnia

Riferimento bibliografico

[Moriyama T](#) et al. *Blood* 2017, 130(10): 1209-12

CORRELAZIONE TRA INSTABILITÀ DEI MICROSATELLITI, POLIMORFISMI DI ERCC1/XRCC1, CARATTERISTICHE CLINICHE E CHEMIOTERAPIA ADIUVANTE FOLFOX IN PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO COLORETTALE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro coloretale (CRC) è il terzo tipo di tumore più comune e una delle principale cause di morte nel mondo. Dal punto di vista molecolare è una malattia eterogenea, con una serie di sottotipi specifici dal punto di vista delle caratteristiche genetiche e patologiche. Tra i biomarcatori molecolari più importanti vi sono l'instabilità dei microsatelliti (MSI) e le mutazioni germinali sui geni della riparazione *mismatch* (MMR), tra i quali (LH1, MSH2, MSH6 e PMS2). I pazienti in stadio II e III solitamente ricevono il trattamento adiuvante con fluorouracile o oxaliplatino, come FOLFOX; tuttavia i benefici di questi trattamenti in pazienti con MSI rimangono ad oggi controversi. Di conseguenza è necessario indentificare nuovi biomarcatori. L'oxaliplatino agisce formando degli addotti DNA-platino che inibiscono il sistema di riparazione del DNA e conducono la cellula ad apoptosi. Un'aumentata attività di riparazione può favorire la resistenza alla terapia e la progressione tumorale; alcuni studi hanno riportato che SNPs in geni coinvolti nel *pathway* della riparazione, come ERCC1 o XRCC1, possono predire l'*outcome* clinico di pazienti affetti da CRC, trattati con chemioterapia basata sul platino. Date le suddette premesse, con lo scopo di identificare possibili

correlazioni genotipo-risposta clinica, in questo studio sono stati analizzati i livelli di MSI, i polimorfismi ERCC1 c.C354T e XRCC1 c.G1196A in pazienti con CRC sottoposti a chemioterapia adiuvante. Sono stati analizzati un totale di 101 pazienti con CRC, di cui 41 trattati con regime mFOLFOX6 (Oxaliplatino + Leucovorin + 5-FU). I livelli di MSI sono stati analizzati in tutti i casi, su tessuto tumorale e sul corrispondente tessuto normale. Lo SNP ERCC1 c.C354T è stato valutato in 83 pazienti, mentre XRCC1 c.G1196A in 85. Riguardo ai livelli di MSI, sulla base della definizione di instabilità dei microsatelliti, 68 tumori erano MSS (ossia con microsatelliti stabili), 21 erano MSI-L (con instabilità in <30% dei loci analizzati), e 12 erano MSI-H (con instabilità in >30% dei loci analizzati); 16 tumori mostravano una scarsa differenziazione, 64 erano moderatamente differenziati e 10 ben differenziati. Una correlazione significativa è stata osservata tra distribuzione di MSI e differenziazione istopatologica ($p=0.038$), mentre nessuna con sesso, età, stadio tumorale, livelli CEA, sito tumorale ed espressione di Ki-67 e p53. Per quanto riguarda lo SNP XRCC1 c.G1196A, (Arg399Gln) 30 (35.29%) pazienti erano *wild-type* G/G, 47 (55.29%) G/A, e 8 (9.42%) avevano genotipo A/A; riguardo ad ERCC1 c.C354T (Asn118Asn), 26 (31.33%) soggetti avevano genotipo C/C, 51 (61.45%) C/T e 6 (7.22%) T/T. non sono state osservate correlazioni significative tra livelli di MSI e SNPs.

Gli autori successivamente hanno analizzato le associazioni con la risposta clinica. Sono stati analizzati i livelli di CEA (Antigene Carcino-Embrionario) prima della resezione chirurgica e dopo chemioterapia adiuvante. Dei 41 pazienti in regime mFOLFOX6, gli autori scelgono di analizzarne 12, in cui i livelli di CEA erano stati positivi almeno una volta. I pazienti sono stati suddivisi sulla base della sensibilità al 5-FU in poco sensibili, con MSI-H, mediamente sensibili, con MSI-L, e molto sensibili, con MSS; la sensibilità al platino è stata definita sulla base dei genotipi di XRCC1 c.G1196A ed ERCC1 c.C354T.

Dalle differenze nei livelli CEA, è stata osservata una maggior diminuzione nel gruppo di pazienti sensibili, rispetto a quelli scarsamente sensibili, definiti tali in base alla combinazione dei livelli di MSI, e dei genotipi di XRCC1 e ERCC1.

Lo studio non può essere considerato più di un'analisi preliminare, e necessita di ulteriori analisi indipendenti per confermare il risultato. Il numero di casi è veramente esiguo per una patologia come il cancro coloretale che rappresenta il 14% di tutti i tumori diagnosticati, con 678.000 nuovi casi l'anno nel mondo. L'analisi dell'*outcome* clinico è stata eseguita considerando solamente 12 casi e tale valutazione non può aspirare ad individuare alcun tipo di associazione statisticamente significativa; infatti in questo caso gli autori non riportano alcun test statistico, limitandosi ad osservare solamente un trend. Infine, la scelta di analizzare solamente due polimorfismi, di cui uno sinonimo, è senz'altro discutibile. Lo studio avrebbe certamente beneficiato di un maggior numero di SNP analizzati per poter valutare in modo più completo il contributo delle variazioni germinali di due geni così importanti come ERCC1 e XRCC1.

In conclusione, lo stato MSI, e i polimorfismi di ERCC1 and XRCC1 possono influenzare l'outcome clinico in pazienti affetti da cancro coloretale, trattati chemioterapia adiuvante mFOLFOX6.

Parole chiave: cancro coloretale, chemioterapia adiuvante mFOLFOX6, ERCC1, XRCC1, MSI

Riferimento bibliografico

[Zhang L](#) et al. *Cancer Genet* 2017, 218-219:51-57.

NEUROLOGIA

IL LOCUS GENOMICO *NDE1* PUO' INFLUENZARE IL TRATTAMENTO DELLE PATOLOGIE PSICHIATRICHE ATTRAVERSO LE VARIAZIONI DELL'ESPRESSIONE GENICA CORRELATA AL MICRORNA-484

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

I disordini poligenici, quali la schizofrenia, sono influenzati da numerosi fattori genetici eterogenei che interagiscono tra loro; pertanto, l'identificazione di un gene candidato può aiutare l'identificazione di altri. Questo approccio è stato utilizzato in un'ampia coorte familiare Finlandese, in cui il gene *DISC1* (*disrupted in schizophrenia 1*) era stato in precedenza associato alla schizofrenia e in cui è stata osservata un'associazione con quattro altri geni (*NDE1*, *NDEL1*, *PDE4B* e *PDE4D*) che codificano per le *protein binding partners* della proteina *DISC1*. L'idea che questi *partners* d'interazione di proteine del *DISC1* siano codificati da geni che mostrano interazione con la malattia mentale è chiamata *DISC1 network hypothesis*. Il ruolo del *DISC1 network* come fonte di rischio genetico per le malattie neuropsichiatriche è controversa, a causa dell'assenza di evidenze di un suo coinvolgimento in studi genetici di popolazione.

In una famiglia Scozzese con patologie psichiatriche maggiori sono stati dimostrati geni *DISC1* e *PDE4B* *disrupted* da aberrazioni cromosomiche. Inoltre, *NDE1* è implicato in maniera indipendente nelle patologie psichiatriche attraverso la sua presenza in 16p13.11, che è soggetto a duplicazione nella schizofrenia. L'importanza della proteina *NDE1* nel neurosviluppo è stata dimostrata in soggetti con perdita biallelica della funzione del gene *NDE1*, che determina grave microcefalia. Recentemente è stato dimostrato che l'espressione di miR-484 maturo, un microRNA che è codificato su un esone non tradotto di *NDE1*, determina alterazioni della proliferazione e differenziazione del progenitore neurale. Gli Autori hanno in precedenza studiato l'effetto delle variazioni genetiche del *DISC1 network* sull'espressione genica, in una piccola popolazione ed hanno osservato che sette dei geni affetti erano *target* di farmaci prescritti per patologie psichiatriche; questi dati suggeriscono l'ipotesi che le varianti del *DISC1 network*, attraverso la loro azione sull'espressione genica, possano alterare l'effetto di alcuni farmaci *target* di questi geni.

Lo scopo del presente studio è investigare il ruolo di questi geni nell'eziologia della schizofrenia in una popolazione Finlandese, utilizzando dati sull'espressione genica raccolti in famiglie in cui, in precedenza, era stata dimostrata un'associazione tra le varianti genetiche del *DISC1 network* e la schizofrenia. Lo studio ha inoltre analizzato l'utilizzo di psicofarmaci in queste famiglie.

E' stata considerata una coorte di 498 nuclei di famiglie Finlandesi (2756 soggetti, di cui 2059 erano stati in precedenza genotipizzati per i geni del *DISC1 network*); di questi, 931 sono stati classificati affetti da una patologia psichiatrica maggiore (diagnosticata secondo i criteri del DSM-IV). L'espressione genica è stata analizzata in un sottogruppo di 18 famiglie (64 soggetti) delle quali era disponibile l'RNA; tutti i 931 soggetti affetti sono stati considerati per studiare la terapia con psicofarmaci durante un periodo di 10 anni. I dati di espressione genica sono stati ottenuti usando l'*Illumina HumanHT-12 v4.0 Expression BeadChip*.

Dai dati dello studio è emerso che lo SNP *NDE1* rs2242549 è associato in misura significativa ai livelli di espressione genica di un gran numero di *probes*. In particolare, 3824 *probes*, rappresentanti 3314 distinti geni, hanno mostrato un'associazione con lo SNP *NDE1* rs2242549 ($p \leq 0,05$); di queste, 2908 *probes*, rappresentanti 2542 geni distinti, erano associati a un *false discovery rate* (FDR) $\leq 5\%$ e di questi 794 *probes* (719 geni) erano replicabili.

Utilizzando il *miRWalk database*, sono stati predetti 16027 geni *targets* per miR-484; di questi, 2588 sono stati predetti da almeno 6 o più tra 12 programmi di predizione indipendenti usati nel *database*. Un numero significativo di geni alterati sono stati predetti *target* del microRNA-484 ($p = 3,0 \times 10^{-8}$), localizzati su un esone non-codificante di *NDE1*.

Infine, è stata trovata un'associazione significativa tra il genotipo *NDE1* rs4781678 e l'interruzione precoce della terapia con l'antipsicotico levomepromazina (OR=4,13 per l'allele C; 95% CI=1,72-9,91; $p = 0,00090$). Quando analizzata in relazione al genere, l'associazione si è rivelata significativa anche con l'interruzione precoce dell'uso di diazepam e citalopram, entrambi farmaci metabolizzati da CYP2C19.

Nel presente studio è stato dimostrato che le variazioni nel *locus NDE1*, che codifica per le *protein binding partners* della proteina del *DISC1 network*, possono influire sia sui livelli di espressione genica sia sull'uso di psicofarmaci per le patologie psichiatriche maggiori. Gli Autori suggeriscono che questi dati siano legati tra loro attraverso il coinvolgimento del miR-484; questo microRNA è codificato nell'esone 5' non tradotto

della più lunga *splice* variante di *NDE1*. E' interessante notare che nel giro temporale superiore dei pazienti con schizofrenia è stato riscontrato un aumento del miR-484 di 1,4 volte.

Riguardo al meccanismo attraverso cui gli SNPs in *NDE1* possono influenzare l'espressione di miR-484, si segnala che sia miR-484 sia il suo promotore sono stati rilevati in un esone non tradotto di *NDE1* che è incluso in alcune, ma non in tutte, le varianti di *NDE1*. Pertanto, è molto probabile che qualsiasi evento che coinvolga l'espressione o l'*alternate splicing* di *NDE1* abbia anche un impatto sull'espressione di miR-484.

Quando il *DISC1 network* è stato studiato in relazione al trattamento, è stata osservata un'associazione con *NDE1*, correlata al genere, per farmaci metabolizzati da CYP2C19. Un effetto diretto di miR-484 sul *locus* di CYP2C19 rimane la spiegazione più semplice per queste osservazioni, anche se rimangono comunque possibili effetti indiretti. E' interessante notare che gli effetti genetici sui farmaci differiscono in maniera dipendente dalla classe di farmaci e dal genere. I maschi portatori degli alleli di rischio hanno una maggiore probabilità di interrompere l'utilizzo di SSRIs metabolizzati da CYP2C19, mentre le femmine portatrici degli alleli di rischio hanno un'aumentata probabilità d'interruzione dei farmaci non-SSRIs che sono metabolizzati da CYP2C19. Nonostante i meccanismi che determinano questi effetti rimangano poco chiari, è da notare che l'associazione originale tra il *locus NDE1* e la schizofrenia in queste famiglie era significativo solo nelle femmine. I dati, nel loro insieme, implicano che uno o più effetti genere-specifici agiscano come fattori modificanti insieme al *locus NDE1/miR-484*.

In conclusione, il presente studio mostra che varianti nel *locus NDE1* possono alterare il rischio di patologie psichiatriche, in parte attraverso modificazioni del miR-484, modificazioni che possono a loro volta alterare la risposta al trattamento di specifici psicofarmaci.

Parole chiave: schizofrenia, espressione genica, DISC1 network, NDE1, miR-484, farmacogenetica.

Riferimento bibliografico

[Bradshaw NJ](#) et al. *Open Biol* 2017, 7(11) pii: 170153

GENI PLEIOTROPICI IN PSICHIATRIA: CANALI AL CALCIO, GENE CORRELATO ALLO STRESS FKBP5 E RESISTENZA AL TRATTAMENTO CON ANTIDEPRESSIVI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il disturbo depressivo maggiore (DDM) è una condizione caratterizzata da un'elevata prevalenza e importanti ripercussioni socio-economiche, anche per via della mancanza di opzioni di trattamento personalizzate. E' stato stimato che i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) possano spiegare fino al 40% della variabilità nella risposta agli antidepressivi, suggerendo che alcune varianti geniche possano essere utilizzate come *marker* per sviluppare strategie di trattamento personalizzate. Le informazioni provenienti da studi su geni candidati e studi *genome-wide* possono essere utilizzate in modo complementare per chiarire il ruolo di SNP con un'elevata probabilità di associazione con il tratto e per studiare l'effetto congiunto di diversi SNP in un gene o in un set di geni.

Lo studio ha applicato queste strategie complementari per valutare il ruolo di otto geni che rappresentano possibili candidati in grado di modulare la risposta agli antidepressivi sulla base della letteratura e della loro funzione biologica: geni associati alla neurotrasmissione (*CACNA1C*, *CACNB2*, *ANK3*), a differenziazione neurale, plasticità sinaptica, adesione cellulare (*GRM7*, *TCF4*, *ITIH3*, *SYNE1*) e alle cascate di segnalazione dei glucocorticoidi (*FKBP5*). Oltre ad essere stati implicati nella predisposizione allo sviluppo di diverse patologie psichiatriche, alcuni di questi geni (in particolare *GRM7* e *FKBP5*) sono stati precedentemente implicati nel meccanismo d'azione degli antidepressivi e nella risposta a tali farmaci.

Gli autori hanno valutato il ruolo di questi geni nella risposta agli antidepressivi in quattro campioni differenti, utilizzando un approccio di geni candidati. Successivamente è stata effettuata un'analisi di

pathway su dati *genome-wide* per studiare le vie che potrebbero mediare il ruolo di questi *target* nel predisporre all'efficacia dei farmaci antidepressivi.

L'approccio di geni candidati è stato condotto su quattro campioni, descritti di seguito.

1) Campione Europeo 1: 357 pazienti con una diagnosi di DDM secondo il DSM-IV, trattati con antidepressivi in un *setting* naturalistico. I sintomi depressivi sono stati valutati utilizzando la *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS 21-*item*) dopo 4 settimane di trattamento.

2) Campione Europeo 2: 218 pazienti con un episodio di depressione maggiore in accordo con i criteri del DSM-IV-TR, di gravità moderata o severa in base allo *score* della Montgomery Asberg Depression Rating Scale (MADRS) > 22 al *baseline*. Dopo il fallimento (valutato in maniera retrospettiva) di un primo trattamento con antidepressivi, i pazienti hanno ricevuto un trattamento di sei settimane con venlafaxina e poi, in caso di non risposta, un trattamento di sei settimane con escitalopram. I sintomi depressivi sono stati valutati utilizzando la MADRS al *baseline* e ogni due settimane fino alla settimana 12.

3) Campione Italiano: 96 pazienti con diagnosi di DDM in assenza di psicosi (in accordo con i criteri del DSM-IV-TR), con uno *score* HDRS \geq 13 e trattati con antidepressivi in un *setting* naturalistico. I sintomi depressivi sono stati valutati con la scala HDRS al *baseline* e ogni settimana fino alla settimana 8.

4) Campione STAR*D: questo campione è stato utilizzato come campione di replicazione e per le analisi *multi-marker*. Sono stati inclusi pazienti con DDM e assenza di psicosi (in accordo con i criteri del DSM-IV). La severità è stata valutata utilizzando la scala *Quick Inventory of Depressive Symptomatology-Clinician Rated* (QIDS-C) al *baseline* e alle settimane 2, 5, 6, 9 e 12. Tutti i pazienti hanno ricevuto un trattamento con citalopram nel livello 1. In caso di non risposta, i pazienti sono stati incoraggiati a partecipare al livello 2 che prevedeva diverse opzioni di trattamento e la terapia cognitivo-comportamentale come opzione di psicoterapia.

In tutti i campioni alle settimane 4 o 6 sono state definite come risposta una riduzione pari ad almeno il 50% dello *score* HDRS-21 o MADRS, e come remissione uno *score* HDRS \leq 7 o uno *score* MADRS < 10. Nei campioni europei è stata valutata anche la resistenza al trattamento. Nel campione 1 sono state utilizzate due definizioni di resistenza al trattamento: 1) non risposta ad almeno due trattamenti adeguati consecutivi con antidepressivi somministrati nel corso dell'ultimo episodio; 2) non risposta ad almeno due trattamenti adeguati consecutivi con antidepressivi di classe diversa somministrati nel corso dell'ultimo episodio.

Nel campione Europeo 2 la resistenza al trattamento è stata definita come: 1) non risposta dopo trattamento con venlafaxina e 2) non remissione dopo trattamento con escitalopram.

Nel campione STAR*D la risposta e la remissione sono state valutate nel livello 1 e nel livello 2. La risposta è stata definita come una riduzione pari ad almeno il 50% dello *score* QIDS-C e la remissione come uno *score* QIDS-C \leq 5 all'*endpoint*.

Nei primi tre campioni l'effetto dei singoli SNP sul fenotipo è stato testato utilizzando un modello di regressione logistica. I marker con un *p-value* nominale < 0,05 sono stati ulteriormente testati tramite un modello di regressione lineare *mixed-effect* con misure ripetute. In questo modello è stata valutata l'evoluzione della severità della patologia nel singolo paziente nel tempo, utilizzando come fattori fissi l'interazione tempo x SNP e il punteggio di severità al *baseline*. Il campione STAR*D è stato utilizzato per l'analisi di replicazione dei singoli SNP associati nei tre campioni indipendenti e degli SNP in *linkage disequilibrium* con essi, includendo diverse covariate tra le quali età e severità dei sintomi depressivi al *baseline*. Inoltre, su questo campione è stata condotta un'analisi di *pathway*.

Alcuni SNP localizzati nei geni *CACNA1C*, *CACNB2*, *ANK3* e *FKBP5* sono risultati associati alla risposta, alla remissione o alla resistenza al trattamento in almeno due dei tre campioni di *discovery* analizzati.

Tra i risultati di maggior interesse, a livello del gene *FKBP5* il genotipo AA e l'allele A dello SNP rs3800373, i genotipi CC/CT e l'allele C dello SNP rs1360780 e il genotipo CC dello SNP rs9470080 hanno mostrato consistenza nell'associazione con migliori *outcome* di trattamento in almeno due dei tre campioni di *discovery*. Inoltre, uno SNP in alto *linkage disequilibrium* con rs9470080 (rs9368882) è risultato associato alla remissione nel campione di validazione STAR*2. A livello del gene *CACNA1C* l'allele G dello SNP rs1006737 e l'allele T dello SNP rs10848635 sono stati associati al rischio di non risposta e resistenza al trattamento. L'analisi di *pathway* ha valutato l'associazione tra la risposta/remissione e 950 *pathway* che

includevano i geni candidati *CACNA1C*, *CACNB2*, *ANK3* e *FKBP5*, ma nessuna è sopravvissuta alla correzione per test multipli.

Tra i limiti dello studio vi sono la dimensione del campione relativamente ridotta, in particolare per il campione italiano, l'eterogeneità in termini di trattamenti e altre variabili cliniche e la mancanza di dosaggi ematici degli antidepressivi per la valutazione dell'aderenza al trattamento.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra gli SNP rs3800373, rs1360780 e rs9470080, localizzati nel gene *FKBP5* e la risposta agli antidepressivi.

Parole chiave: antidepressivi, disturbo depressivo maggiore, *FKBP5*

Riferimento bibliografico

[Fabbri C](#) et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2018, 81:203

LA METANALISI DEL MESE

UN POLIMORFISMO DEL GENE *GSTP1* PREDICE L'INSORGENZA DI TOSSICITÀ INDOTTA DA CHEMIOTERAPIA E/O RADIOTERAPIA IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA ALLA MAMMELLA

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il carcinoma alla mammella rappresenta uno dei tumori più diffusi nelle donne a livello globale. Il trattamento farmacologico prevede la somministrazione di diverse classi di farmaci chemioterapici antitumorali, tra cui antracicline, tassani, derivati del fluoro e del platino, ciclofosfamide e gemcitabina. Tali farmaci, usati in associazione secondo specifici schemi terapeutici, vengono somministrati prima della resezione chirurgica (trattamento neo-adiuvante) e/o dopo l'intervento stesso (terapia adiuvante). In aggiunta alla terapia farmacologica, la radioterapia viene ad oggi comunemente somministrata dopo l'intervento chirurgico al fine di ridurre il rischio di recidiva del tumore. Dalla pratica clinica emerge, tuttavia, una forte variabilità individuale in termini di risposta ai trattamenti, siano essi farmacologici o non. Fattori come lo stadio clinico della malattia, il coinvolgimento linfonodale e l'espressione di recettori ormonali sono noti avere un forte impatto sugli *outcomes* di trattamento. Evidenze di letteratura suggeriscono come enzimi implicati nel metabolismo dei farmaci possano giocare un ruolo altrettanto rilevante nel modulare il rischio individuale di non rispondere alla terapia farmacologica o di manifestare tossicità farmaco-indotte. In tale contesto, si sottolinea un ruolo di rilievo delle glutatione S-transferasi (GSTs), una famiglia di isoenzimi metabolici di fase II che agiscono come detossificanti di agenti citotossici mediante coniugazione degli stessi con il glutatione. Nello specifico, il polimorfismo funzionale rs1695 del gene *GSTP1* (A313G), che determina una riduzione significativa dell'attività enzimatica, è riportato essere correlato ad un'alterazione della farmacocinetica della ciclofosfamide. A fronte di questa evidenza, numerosi studi in letteratura hanno investigato la correlazione tra la variante *GSTP1* rs1695 e diversi *outcomes* di trattamento, tra cui la sopravvivenza e la risposta clinica, in pazienti affetti da carcinoma alla mammella. Tuttavia, i risultati da essi riportati non sono conclusivi. Alla luce di quanto detto, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di condurre una meta-analisi finalizzata a stimare quantitativamente l'associazione tra la variante *GSTP1* rs1695 e la risposta clinica, la tossicità nonché la sopravvivenza dei pazienti affetti da carcinoma alla mammella sottoposti a chemioterapia antitumorale e/o radioterapia.

A tale scopo è stata condotta ad agosto del 2016 una ricerca sistematica della letteratura sui databases PubMed, EMBASE, Cochrane Library e China National Knowledge Infrastructure. Sono stati considerati eleggibili tutti gli studi i) che avessero incluso pazienti, affetti da carcinoma alla mammella, sottoposti a

chemioterapia antitumorale e/o radioterapia; ii) in cui venisse valutata l'associazione tra GSTP1 rs1695 e la risposta clinica (efficacia e tossicità) e/o sopravvivenza (stimata tramite *overall survival*, OS) dopo trattamento; iii) avessero riportato dati sufficienti al calcolo di odds ratio (OR) e/o hazard ratio (HR) accompagnati da relativi intervalli di confidenza (IC 95%). La risposta ai trattamenti è stata dicotomizzata sulla base dei criteri RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), definendo *responders* i pazienti riportati come completamente o parzialmente responsivi al trattamento ("*complete responders*" o "*partial responders*"); al contrario i soggetti con tumore stabile o in progressione dopo terapia sono stati classificati come *non-responders*. Sono state definite come tossicità tutti gli effetti avversi riscontrati in seguito ai trattamenti chemioterapici antitumorali e/o radioterapia. Sono stati estratti per ciascun studio eleggibile i dati relativi ad anno di pubblicazione, paese d'origine dei pazienti arruolati, numero di pazienti inclusi, metodo di genotipizzazione, follow-up mediano, protocollo di trattamento, esiti del trattamento e tossicità riscontrate. La qualità degli studi è stata valutata tramite i criteri della Newcastle-Ottawa Scale. Al fine di stimare la correlazione tra la variante GSTP1 rs1695 e gli *outcomes* di interesse è stata condotta una meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, rispettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità tra gli studi. Sono state poi condotte analisi per sottogruppi sulla base dell'etnia (Est asiatico, Sud asiatico, mix di etnie), della dimensione campionaria degli studi (<100 pazienti, ≥ 100 pazienti) e del protocollo terapeutico utilizzato (chemioterapia ± resezione chirurgica, radioterapia ± resezione chirurgica, chemioterapia ± radioterapia ± resezione chirurgica). È stato, infine, stimato il bias di pubblicazione tramite Funnel plot e test di Egger.

Dalla revisione sistematica della letteratura sono emersi 831 studi, di cui 31 sono risultati essere eleggibili per la meta-analisi. Il numero dei pazienti totali inclusi nei suddetti lavori ammonta a 7506 e la dimensione campionaria dei singoli studi varia da un minimo di 40 pazienti ad un massimo di 1034. Dei 31 studi inclusi, 15 hanno investigato l'analisi della correlazione tra GSTP1 rs1695 e la risposta ai trattamenti, 13 ne hanno studiato l'associazione con la sopravvivenza totale e 12 con l'insorgenza di tossicità. Dalla meta-analisi non emerge una correlazione statisticamente significativa tra lo SNP e la risposta tumorale in nessun modello genetico analizzato (modello dominante: OR 1.37, 95% IC 0,97-1,94, $P=0.074$, $P_{\text{eterogeneità}} <0.01$; modello recessivo: OR 1.05, 95% IC 0,70-1,57, $P=0.829$, $P_{\text{eterogeneità}} <0.01$; modello allelico: OR 1.26, 95% IC 0.93-1.70, $P=0.134$, $P_{\text{eterogeneità}} <0.01$). Tuttavia, stratificando per la dimensione campionaria degli studi primari, si evince un'associazione statisticamente significativa, nel modello dominante, tra la variante e la risposta tumorale nel sottogruppo di studi con dimensione campionaria superiore a 100 pazienti ($N_{\text{studi}}=14$; GA+GG vs AA: OR 1.45, 95% CI 1.02-2.06, $P=0.040$, $P_{\text{eterogeneità}} <0.01$). Si osserva, inoltre, una correlazione statisticamente significativa tra GSTP1 rs1695 e la sopravvivenza globale nel modello genetico dominante ($N_{\text{studi}}=3$; GA+GG vs AA: HR 1.74, 95% CI 1.32-2.30, $P<0.001$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.140$). In termini di tossicità, la variante è risultata essere correlata all'insorgenza di effetti avversi nel modello genetico recessivo ($N_{\text{studi}}=9$; GG vs AA+GA: OR 1.54, 95% IC 1.13-2.09, $P=0.06$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.330$) ed allelico ($N_{\text{studi}}=8$; G vs A: OR 1.35, 95% IC 1.07-1.71, $P=0.011$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.023$). Stratificando, però, per regime terapeutico, tale significatività si mantiene unicamente nel sottogruppo dei pazienti sottoposti a chemioterapia ± resezione chirurgica ($N_{\text{studi}}=9$; GG vs AA+GA: OR 1.72, 95% IC 1.17-2.54, $P=0.06$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.526$; $N_{\text{studi}}=8$; G vs A: OR 1.57, 95% IC 1.11-2.21, $P=0.010$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.013$) e non in quello costituito da pazienti sottoposti a radioterapia ± resezione chirurgica ($N_{\text{studi}}=3$; GG vs AA+GA: OR 1.12, 95% IC 0.47-2.67, $P=0.792$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.092$; $N_{\text{studi}}=3$; G vs A: OR 1.12, 95% IC 0.89-1.40, $P=0.346$, $P_{\text{eterogeneità}} =0.568$). Infine, si evince un bias di pubblicazione sia nell'ambito dell'analisi dell'associazione tra lo SNP e la risposta tumorale nel modello genetico recessivo ($p=0.034$) che nell'analisi di correlazione con l'insorgenza di tossicità nei modelli genetici dominante ($P=0.011$) e allelico ($P=0.008$).

I risultati riportati dalla presente meta-analisi suggeriscono come la variante GSTP1 rs1695 sembri modulare la probabilità di sopravvivenza dei pazienti affetti da carcinoma alla mammella nonché il rischio di insorgenza di tossicità indotte da trattamenti farmacologici o da radioterapia. Tuttavia, tali risultati devono essere interpretati alla luce di alcune limitazioni dello studio, quali i) la presenza di forte eterogeneità tra gli studi primari, le cui cause non sono state identificate dopo stratificazione per sottogruppi; ii) la presenza di *publication bias*, a sua volta risultante in una possibile sovrastima dell'effetto della variante sugli

outcomes di interesse; iii) l'esigua numerosità degli studi inclusi nella meta-analisi della correlazione tra la variante genetica e la sopravvivenza dei pazienti ($N_{\text{studi}}=3$). Alla luce di quanto detto, si suggerisce la conduzione di nuovi studi primari, di idonea dimensione campionaria, atti a validare i risultati di associazione ivi riportati. Si auspica, inoltre, per il futuro la conduzione di meta-analisi collaborative basate sull'uso dei dati individuali dei pazienti, atte a controllare, in maniera migliore rispetto alle meta-analisi tradizionali, fattori clinici noti per risultare in una forte eterogeneità tra gli studi primari.

La variante GSTP1 rs1695 è potenzialmente correlata alla sopravvivenza globale e all'insorgenza di tossicità indotte da chemioterapia antitumorale e/o radioterapia in pazienti affetti da carcinoma mammario.

Parole chiave: GSTP1, carcinoma alla mammella, chemioterapia, radioterapia

Riferimento bibliografico

[Ma J](#) et al. *Oncotarget* 2017, 8(42): 72939-49.

La redazione augura a tutti Buone Feste



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

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

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

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

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

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

Hanno contribuito a questo numero:

- Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino)
- Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna)
- Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale)
- Dott.ssa Elena Genova (Università di Trieste)
- Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
- Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)
- Dott.ssa Eleonora Rofi (Università di Pisa)

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.
