

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 103 – Febbraio 2018**

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

Sommario**⇒ Oncologia**

- Varianti genetiche predittive di ricaduta in *cancer stem cells* di pazienti trattati con prostatectomia radicale per cancro alla prostata

⇒ Infettivologia

- Attività del CYP2D6 e rischio di ricorrenza della malaria da *Plasmodium vivax* in Amazzonia: uno studio prospettico di coorte
- I miRNA circolanti miR-210 e miR-22 predicono la risposta virologica alla terapia con interferone-alfa in pazienti affetti da CHB

⇒ Neurologia

- L'umore depresso è ridotto dalla MDMA nelle donne che abusano di più droghe, incluso l'ecstasy, omozigoti per l'allele *l* del trasportatore per la serotonina
- Farmacogenetica dell'insulino-resistenza indotta da risperidone in bambini e adolescenti con disturbi dello spettro autistico

⇒ Endocrinologia

- Alterazioni nei microRNA circolanti in risposta al trattamento con teriparatide o denosumab nell'osteoporosi postmenopausale

⇒ Immunomodulazione

- Farmacogenetica del diabete mellito post-trapianto nei bambini con trapianto renale trattati con tacrolimus

⇒ La metanalisi del mese

- Studio dell'associazione tra il polimorfismo MTHFR C677T e la risposta a metotrexato nei pazienti affetti da artrite reumatoide: una revisione sistematica della letteratura e meta-analisi

ONCOLOGIA**VARIANTI GENETICHE PREDITTIVE DI RICADUTA IN *CANCER STEM CELLS* DI PAZIENTI TRATTATI CON PROSTATECTOMIA RADICALE PER CANCRO ALLA PROSTATA**

A cura della Dott.ssa Elena Genova

Il cancro alla prostata è uno dei tumori più frequenti negli uomini. La terapia varia in base alla gravità del tumore ma la maggior parte delle volte si opta per prostatectomia radicale, radio terapia, terapia endocrina o chemioterapia con il farmaco docetaxel. Tuttavia, dopo poco tempo molti pazienti inizialmente responsivi sviluppano resistenza con ricaduta ed acutizzazione dell'aggressività del cancro. Dunque, l'identificazione di biomarcatori predittivi è di fondamentale importanza per i clinici al fine della diagnosi, del monitoraggio e della terapia. La resistenza ai farmaci e la ricaduta nel cancro alla prostata si può imputare in parte alle *cancer stem cells* (CSCs) anche se ad oggi l'argomento rimane controverso. Le CSCs sono un sotto-gruppo della popolazione di cellule cancerose con spiccate qualità proliferative e rigenerative e sono legate allo sviluppo, alla progressione ed alla resistenza ai farmaci contro il cancro.

Lo scopo di questo lavoro è individuare nuove varianti genetiche imputate nella resistenza, ricaduta ed acutizzazione dell'aggressività del cancro alla prostata impiegando un modello di CSCs isolate da biopsie di cancro alla prostata di pazienti mediante analisi dei marcatori tumorali CD44+ e CD133+.

Le CSCs isolate e messe in coltura sono risultate capaci di differenziare in modo eterogeneo in cellule di cancro e hanno dimostrato capacità d'induzione e di sviluppo di tumori in topi immunodeficienti. Le CSCs di cancro alla prostata sono risultate anche più resistenti a chemioterapia e radioterapia. Tutti questi risultati hanno suggerito agli autori un collegamento tra CSCs e ricaduta di malattia. In particolare, in questo studio sono stati selezionati 10 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) potenzialmente collegati allo sviluppo di resistenza alle terapie ed alla ricaduta. Dato che non è ancora stato identificato un biomarcatore unico e specifico di CSCs di cancro alla prostata, sono stati analizzati geni marcatori generalmente presenti in cellule staminali inclusi tumor-associated calcium signal transducer 2 (TACSTD2), prominin 1 (PROM1, anche chiamato CD133), integrin subunit alpha 2 (ITGA2), POU class 5 homeobox 1 (POU5F1, anche chiamato OCT4), enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit (EZH2), prostate stem cell antigen (PSCA), e CD44.

Lo studio di SNPs è stato condotto su 320 pazienti, con cancro alla prostata trattati con prostatectomia radicale, arruolati presso l'ospedale universitario di Taiwan e all'ospedale universitario di Kaohsiung. Al fine di predire l'effetto degli SNPs in termini di funzionalità dei marcatori genetici e grado di rischio, è stato utilizzato il metodo Functional Analysis and Selection Tool for Single Nucleotide Polymorphism (FASTSNP). In particolare, gli SNPs con grado di rischio minore di 2 e con frequenza dell'allele meno comune inferiore a 0,02 nella scala HapMap della popolazione cinese sono stati esclusi portando ad identificare 10 potenziali polimorfismi funzionali per l'analisi. Le caratteristiche clinico patologiche dei 320 pazienti arruolati sono state analizzate e messe in relazione al fattore BCR (biochemical recurrence) che esprime l'aumento di concentrazione nel sangue dell'antigene prostatico specifico strettamente collegato alla ricomparsa del cancro.

Da questa analisi è emerso che il 36.3% dei pazienti presenta BCR durante il follow-up di 26 mesi mentre la sopravvivenza BCR-free si posiziona a 53 mesi. Successivamente, è stata analizzata la correlazione tra BCR e marcatori di staminalità precedentemente selezionati ovvero *TACSTD2*, *PROM1*, *ITGA2*, *POU5F1*, *EZH2*, *PSCA* e *CD44* risultando significativa, dopo analisi di regressione multivariata Cox, solo la variante *POU5F1* rs2394882 (fattore di rischio 0.37, P= 0.005). Questi risultati, sommati alle caratteristiche cliniche dei pazienti, suggeriscono che questa variante possa rappresentare un fattore prognostico di ricaduta. Inoltre, gli autori hanno individuato un'associazione tra elevata espressione di *POU5F1* ed aumento di aggressività

del cancro ed alto rischio di ricaduta (regressione multivariata Cox $P=0.014$). In particolare, è stato individuato che gli individui omozigoti per l'allele protettivo A della variante rs2394882 presentano minore espressione di *POU5F1* e dunque ridotta probabilità di sviluppare resistenza ai farmaci e ricaduta rispetto ai pazienti con allele di rischio C ($P=0.027$).

In questo lavoro è stato individuato il biomarcatore genetico rs2394882 nel gene marker di CSCs *POU5F1* come indice di ricaduta di malattia. Inoltre è stata associata l'elevata espressione di *POU5F1* con un aumento nell'aggressività e resistenza ai farmaci del cancro alla prostata. Se i risultati verranno confermati, la genotipizzazione di questo SNP potrebbe risultare utile per l'ottimizzazione del trattamento al fine di aumentare la sopravvivenza di pazienti con cancro alla prostata.

Parole chiave: cancer stem cells, CSCs, cancro alla prostata, polimorfismo a singolo nucleotide, genotipo

Riferimento bibliografico

[Lin VC](#) et al. *Int J Med Sci* 2017, 14(12):1301-6.

INFETTIVOLOGIA

ATTIVITÀ DEL CYP2D6 E RISCHIO DI RICORRENZA DELLA MALARIA DA *PLASMODIUM VIVAX* IN AMAZZONIA: UNO STUDIO PROSPETTICO DI COORTE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La malaria rappresenta un'infezione a diffusione globale e milioni di dosi di anti-malarici vengono somministrate ogni giorno (*WHO. World Malaria Report. Geneva: World Health Organization; 2016*). Questi farmaci presentano un'elevata variabilità inter-individuale in termini di efficacia e sicurezza che può essere determinata dalla presenza di polimorfismi che ne influenzano la farmacocinetica e/o la farmacodinamica (Gil JP *Pharmacogenomics* 2013,14:707–10; Luzzatto L, Seneca E *Br J Haematol* 2014,164:469–80; Dandara C et al. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2014,10:769–85; Marcsisin SR et al. *Pharmacol Ther* 2016,161:1–10; Elewa H, Wilby JJ *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2017,42:745–56). Per il trattamento della malaria da *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), diffusa in particolare in Amazzonia, l'OMS raccomanda il trattamento con cloroquina/primachina in prima linea in adulti e bambini. La primachina è l'unico farmaco disponibile per la prevenzione della ricaduta della malaria da *P. vivax*. La carenza di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) è tradizionalmente correlata con una ridotta suscettibilità alla malattia (Santana MS et al. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2013,107:301–6); inoltre, alcune evidenze descrivono un aumento del rischio di ricaduta da *P. vivax* in pazienti in trattamento con cloroquina/primachina e portatori di genotipi *CYP2D6* codificanti isoforme con ridotta o nulla funzionalità (Bennett JW et al. *N Engl J Med* 2013,369:1381–2; Ingram RJ et al. *Malar J* 2014,13:488). Studi in vitro ed in vivo (Pybus BS et al. *Malar J* 2013,12:212; Potter BM et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2015,59:2380–7) indicano che la via del *CYP2D6* è responsabile dell'attivazione epatica della primachina. Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza di polimorfismi e *copy number variation* del *CYP2D6* sul rischio di ricorrenza della malaria da *P. vivax* in pazienti brasiliani dell'Amazzonia dopo completamento della terapia di combinazione a base di cloroquina/primachina.

Sono stati arruolati un totale di 213 pazienti con diagnosi di malaria da *P. vivax* e trattati con lo schema raccomandato a base di cloroquina (150 mg/die per 3 giorni) e primachina (15 mg/die per 7 giorni). Sono stati genotipizzati 190 pazienti (di cui 44 con malaria ricorrente) per i polimorfismi del *CYP2D6* e seguiti per un periodo di 6 mesi post-trattamento con visite mensili. La ricorrenza è stata definita come la presenza di

uno o più episodi di malaria tra i giorni 28 e 180 dall'episodio iniziale. La maggior parte dei pazienti (77.3%) ha presentato un solo episodio di ricorrenza, per lo più tra il giorno 60 e 180 dopo il primo episodio (media di 104 giorni). La distribuzione degli alleli del *CYP2D6* è risultata significativamente diversa nei pazienti con e senza ricorrenza ($p < 0.001$), in particolare per il *CYP2D6*2*. L'incidenza di ricorrenza è stata del 32.4% nei pazienti con indice di attività del *CYP2D6* ≤ 1 e del 20.9% nei pazienti con attività del *CYP2D6* ≥ 1.5 (RR = 1.55; $p = 0.075$). Dopo aggiustamento per età e sesso è stata riscontrata una differenza significativa tra i gruppi con una più alta incidenza di ricorrenza nei pazienti con attività ≤ 1.5 (RR = 1.89; $p = 0.049$).

I risultati di questo studio mostrano un aumento del rischio di ricaduta di malaria da *P. vivax* nei pazienti trattati con cloroquina/primachina con nulla o ridotta attività metabolica del *CYP2D6*. Questi dati sono in accordo con la necessità di conversione *CYP2D6*-dipendente di primachina nei metaboliti attivi e con i case report presenti in letteratura (Bennett JW et al. *N Engl J Med.* 2013;369:1381–2. Ingram RJ et al. *Malar J.* 2014;13:488). Le strategie per ottenere una cura radicale devono quindi tenere in considerazione la presenza nella popolazione di metabolizzatori intermedi e lenti. L'utilizzo di regimi terapeutici che non richiedono farmaci metabolizzati dal *CYP2D6* potrebbe ridurre i tassi di ricorrenza in circa il 10% della popolazione.

In conclusione, questo studio mostra un'associazione tra la presenza di polimorfismi del gene *CYP2D6* ed il rischio di ricorrenza della malaria da *P. vivax* dopo il trattamento con cloroquina e primachina, risultato della ridotta conversione di primachina nei suoi metaboliti attivi.

Limiti dello studio sono rappresentati dal mancato controllo dell'aderenza al trattamento o dell'uso di altri farmaci o integratori che possano ridurre l'attività enzimatica.

Parole chiave: malaria, *CYP2D6*, cloroquina/primachina

Riferimento bibliografico

[Brasil LW](#) et al. *Malar J* 2018, 17(1):57.

I miRNA CIRCOLANTI miR-210 E miR-22 PREDICONO LA RISPOSTA VIROLOGICA ALLA TERAPIA CON INTERFERONE-ALFA IN PAZIENTI AFFETTI DA CHB

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

L'epatite B è il maggior problema mondiale a livello sanitario. L'infezione provocata dal virus dell'epatite B (HBV) può causare patologie al fegato con diversi gradi di severità, fra cui uno stadio di HBV asintomatico, epatite B cronica (CHB), cirrosi del fegato, insufficienza epatica o carcinoma epatocellulare. Secondo le stime fornite dalla WHO, al mondo sono presenti 248 milioni di persone affette da epatite B e 887.000 morti a causa della malattia nel 2015. Le infezioni CHB sono correntemente trattate con 2 tipologie di antivirali: l'interferone α (IFN- α)/ pegylato interferone α (Peg-IFN- α) e gli analoghi nucleosidici. Nonostante il successo di queste terapie, IFN- α ha permesso di ottenere un esito clinico favorevole solo in una frazione dei pazienti CHB, nei quali causa tuttavia trombocitopenia e leucopenia. Per evitare lo sviluppo di eventi avversi e complicazioni mediate da IFN- α , è consigliato pre-identificare i pazienti CHB che potrebbero beneficiare da questo tipo di terapia. È stato riconosciuto che i fattori virali e dell'ospite, fra cui anche i livelli basali nel siero dell'alanina aminotrasferasi (ALT), i livelli basali del DNA HBV, il genotipo HBV, il sesso dei pazienti e la dinamica del titolo degli antigeni di superficie possono influenzare la risposta dei pazienti CHB trattati con IFN- α . Considerando il siero, i miRNA circolanti possono essere considerati dei buoni biomarkers grazie al fatto che hanno una notevole stabilità in condizioni estreme, una relativa conservazione della sequenza, e sono semplici da misurare.

In studi precedenti, gli autori di questo articolo hanno proposto un modello predittivo contenente 11 miRNA identificati mediante screening con microarray di 959 miRNA nel plasma di 94 pazienti CHB in trattamento con IFN- α . Lo studio in oggetto, invece, ha come obiettivo l'ampliamento delle conoscenze precedentemente acquisite attraverso un'ulteriore validazione dell'efficacia predittiva dei miRNA nel plasma, e la costruzione di un modello di scoring che possa migliorare la personalizzazione del trattamento dei pazienti CHB.

Per questo studio retrospettivo sono stati arruolati 112 pazienti affetti da CHB trattati con IFN- α . Lo schema di somministrazione seguito è stato: Peg-IFN- α -2a (81 pazienti) e Peg-IFN- α -2b (31 pazienti). Fra questi, 98 erano HBeAG-positivi (87,5%, antigene e dell'epatite B), e 14 negativi (12,5%). I pazienti sono poi stati suddivisi in 2 gruppi, uno di training (75 pazienti) e uno di validazione (37). I miRNA sono stati estratti dal sangue fresco, centrifugato immediatamente dopo il prelievo ematico; è stata poi eseguita una retrotrascrizione ed i valori di espressione di 9 miRNA sono stati analizzati mediante qPCR. I miRNA analizzati, provenienti dal precedente studio organizzato dagli autori di questo paper, sono hsa-let-7a, hsa-let-7f, hsa-miR-22, hsa-miR-30a, hsa-miR-106b, hsa-miR-638, hsa-miR-1224-5p, hsa-miR-1281 e hsa-miR-1290. Inoltre, sono stati analizzati anche i valori di espressione di hsa-miR-99a, hsa-miR-122, hsa-miR-199a, hsa-miR-210, hsa-miR-1260a e hsa-miR-4284 che sono stati associati con la replicazione dell'HBV, il ciclo cellulare o l'immunità antivirale.

I pazienti sono stati classificati in base al raggiungimento, o meno, della risposta virologica tempestiva (rispettivamente EVR, 37, o N-EVR, 38), ed è stato dimostrato che i livelli di ALT sono significativamente maggiori nei pazienti appartenenti al gruppo EVR, sia nei training, sia nella coorte di validazione ($P=0,0065$ e $P<0,0001$ rispettivamente). Sono poi stati analizzati i livelli di espressione dei 15 miRNA, confrontando i due gruppi EVR e N-EVR nella fase di training. È emerso che 8 miRNA (miR-22, miR-106b, miR-210, miR-638, miR-1224, miR-1260a, miR-1281, e miR-4284) hanno livelli di espressione molto maggiori nel gruppo EVR ($P<0,05$) e, in particolare i miRNA miR-22, miR-210, miR-1224, miR-1260a e miR-4284 mostrano la maggior significatività ($P<0,0001$). Questi miRNA sono stati inoltre valutati in base alla loro abbondanza nel plasma, al fine di ridurre l'eventuale presenza di falsi positivi, perciò, sono stati esclusi dalle ulteriori analisi il miR-1224 e il miR-4284. È stato realizzato un modello di regressione comprendente sia i livelli di ALT sia quelli dell'espressione dei miRNA ed è stato ottenuto come risultato, poi confermato nel set di validazione, che miR-22, miR-210 e ALT forniscono un'importante accuratezza di predizione della risposta al trattamento.

In questo paper è stata realizzata una semplificazione e un miglioramento del modello basato sul valore predittivo dei miRNA esaminando l'espressione di 15 miRNA circolanti in pazienti affetti da CHB. Inoltre, i miR-22 e miR-210 sono fortemente associati con la risposta virologica sostenuta nei pazienti con CHB. È stato inoltre riportato che questi due miRNA giocano un ruolo chiave nell'infezione da HBV e nella risposta immunitaria, anche se il meccanismo molecolare non è stato ancora del tutto chiarito.

L'esito clinico del trattamento con IFN- α dei pazienti affetti da CHB è associato ai livelli di espressione di miR-22, miR-210 e i livelli di ALT. Un modello così composto può aiutare a determinare l'outcome del trattamento con IFN- α a priori, permettendo di selezionare quale strategia terapeutica si possa rivelare più efficace.

Parole chiave: IFN- α , miR-210 e miR-22 circolanti, CHB

Riferimento bibliografico

[Li J](#) et al. *Sci Rep* 2017, 7(1):15658.

L'UMORE DEPRESSO E' RIDOTTO DALLA MDMA NELLE DONNE CHE ABUSANO DI PIU' DROGHE, INCLUSO L'ECSTASY, OMOZIGOTI PER L'ALLELE / DEL TRASPORTATORE PER LA SEROTONINA

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta e della Prof.ssa Patrizia Romualdi

La 3,4-metilenediossimetamfetamina (MDMA), nota come *ecstasy*, esercita i suoi effetti principali sul circuito della serotonina (5-HT), a livello del sistema nervoso centrale. Nonostante vi siano evidenze di una sua azione agonista diretta su specifici recettori 5-HT, il principale bersaglio della MDMA è il trasportatore della serotonina (SERT, 5-HTT). In acuto la MDMA causa la ricaptazione del trasportatore determinando in tal modo un aumento della 5-HT sinaptica. La MDMA influenza il tono dell'umore, aumentando sia gli stati affettivi positivi (ad es. energia, eccitazione, euforia) sia quelli negativi (ad es. confusione, ansia). Il trasportatore della serotonina ha un ruolo in questi fenomeni, poiché gli effetti della MDMA sul tono dell'umore e sullo stato di coscienza sono contrastati bloccando 5-HTT. Il gene *SLC6A4* codifica per il trasportatore della serotonina; un polimorfismo nella regione promotrice di questo gene, 5-HTTLPR, influenza la sua attività trascrizionale e regola l'espressione e la densità di 5-HTT nell'encefalo. 5-HTTLPR è un polimorfismo che determina due varianti alleliche denominate alleli *long* (*l*) e *short* (*s*). Il sottogruppo *long* ha una maggiore densità di 5-HTT e approssimativamente una capacità doppia di captare 5-HT rispetto ai portatori dell'allele *short*. Nei soggetti sani, l'allele *s* è associato ad un'espressione e funzionalità di 5-HTT più basse e a maggiori livelli di ansia e di tono dell'umore negativo.

Lo scopo del presente studio è indagare se gli effetti sul tono dell'umore indotti dalla MDMA differiscono tra i consumatori di *ecstasy* portatori dell'allele *s* e coloro che invece sono omozigoti per l'allele *l*. L'ipotesi è che i consumatori di *ecstasy* portatori dell'allele *s* del genotipo del SERT dopo somministrazione acuta avranno a disposizione meno 5-HT via SERT e di conseguenza sperimenteranno effetti sul tono dell'umore meno pronunciati, rispetto ai portatori omozigoti dell'allele *l* che hanno una maggiore efficacia nel trasportare la serotonina.

Poiché gli studi controllati verso placebo che hanno investigato gli effetti della MDMA sul tono dell'umore si riferiscono a campioni di popolazione troppo piccoli per rilevare effetti a livello genotipico nel presente lavoro sono stati raggruppati, per l'analisi, dati provenienti da quattro studi con placebo. Criteri di inclusione: età 18-40 anni, nessuna assunzione di farmaci, assenza di storia psichiatrica, stato di buona salute, un minimo di tre esperienze di assunzione di *ecstasy*, normale peso corporeo, BMI (*body mass index*) tra 18 e 28 kg/m². Criteri di esclusione: storia di abuso di sostanze (oltre alla MDMA) o dipendenza, (per le donne, gravidanza o allattamento, non uso di contraccezione), uso eccessivo di alcool (>20 assunzioni di bevande alcoliche la settimana), ipertensione. Sia i partecipanti sia gli sperimentatori erano in cieco rispetto al trattamento. Il campione globale comprendeva 72 utilizzatori di più droghe, incluso l'*ecstasy*, che si sono ridotti a 63. La prevalenza del consumo di altre sostanze nella vita dei partecipanti allo studio era: 87% per la cannabis, 19% per le amfetamine, 32% per la cocaina, 46% per i funghi allucinogeni, 3% per l' LSD e 16% per altre sostanze (ketamina, GHB, metilfenidato e *salvia divinorum*). Ai soggetti è stato richiesto di astenersi dall'uso di sostanze da una settimana prima del test fino alla fine dello studio e di non assumere bevande con caffeina o alcool 24 ore prima del test. Prima della sessione sperimentale i partecipanti sono stati controllati per verificare un eventuale uso di sostanze di abuso (THC, oppiacei, cocaina, amfetamine, metamfetamine) e sottoposti all'etilometro. I soggetti sono stati sottoposti a prelievo ematico per determinare il genotipo 5-HTTLPR e quindi sono stati trattati con MDMA; dopo 90 minuti è stato effettuato un secondo prelievo ematico e gli è stato somministrato il questionario sul tono dell'umore. Il trattamento consisteva nella somministrazione orale di capsule di placebo o MDMA (75 mg), in condizioni di doppio cieco. La dose di 75 mg è stata scelta in quanto precedenti ricerche hanno mostrato che tale dose è in grado di provocare effetti sul tono dell'umore e sul comportamento. Il *Profile of Mood States* (POMS) è un questionario che si autosomministra, composto da 72 *items*, che rappresenta otto stati del tono dell'umore: ansia, depressione, rabbia, energia, stanchezza, confusione, cordialità ed euforia. È stato determinato il genotipo bi-allelico di 5-HTTLPR. Data la distribuzione dei genotipi tra i partecipanti, gli alleli sono stati raggruppati nella maniera seguente: il gruppo *l* (omozigoti per l'allele *l*) e il gruppo *s*

(omozigoti o eterozigoti per l'allele s : s/l e s/s). La concentrazione di MDMA è stata determinata tramite gas-cromatografia associata a spettrometria di massa.

L'analisi dei dati ha mostrato un effetto del trattamento su tutte le scale degli aspetti positivi del tono dell'umore: sotto l'effetto della MDMA, i soggetti si sentivano più energici ($F_{1,59}=18,21$, $p<0,001$), più amichevoli ($F_{1,59}=6,01$, $p=0,02$), più euforici ($F_{1,59}=20,71$, $p<0,001$), più svegli ($F_{1,59}=16,33$, $p<0,001$) e riferivano un tono dell'umore più positivo ($F_{1,59}=15,77$, $p<0,001$).

E' stato inoltre rilevato un effetto del trattamento con *ecstasy* su 2 scale relative ad aspetti negativi del tono dell'umore: sotto l'effetto della MDMA i soggetti riportavano maggiori livelli di ansia ($F_{1,59}=31,82$, $p<0,001$) e di confusione ($F_{1,59}=12,41$, $p=0,001$). E' emerso anche un effetto del genotipo sull'ansia, maggiore nel gruppo l rispetto al gruppo s ($F_{1,59}=7,29$, $p=0,009$). Vi era inoltre un effetto di interazione del sesso e genotipo sulla depressione ($F_{1,59}=5,56$, $p=0,02$). Il pattern di risposta nei maschi di entrambi i gruppi di genotipi era l'esatto opposto di quello delle femmine di entrambi i gruppi. La differenza tra il tono dell'umore depresso dopo MDMA e placebo di entrambi i gruppi genotipici di femmine era statisticamente significativa ($F_{1,39}=4,76$, $p=0,04$); per i maschi tale differenza si avvicinava alla significatività ($F_{1,39}=3,78$, $p=0,059$). La depressione nelle femmine del gruppo con placebo differiva in misura significativa tra il gruppo l e il gruppo s ($F_{1,20}=5,07$, $p=0,04$). I dati sembrano indicare che la MDMA riduca il tono depresso in misura maggiore nelle femmine del gruppo l rispetto al gruppo s , mentre l'opposto (sebbene in misura non statisticamente significativa) avviene nei maschi.

Solo i valori della scala dell'ansia erano correlati significativamente con le concentrazioni di MDMA ($r_{56}=0,26$, $p=0,05$).

I dati del presente studio mostrano che la MDMA, in accordo con i dati della letteratura, induce un livello di tono dell'umore positivo ed aumenta le sensazioni di ansia e confusione. L'effetto principale del genotipo è dimostrato dall'osservazione che soggetti del gruppo l sperimentavano maggiore ansia rispetto al gruppo s , indipendentemente dal sesso o dal trattamento. In generale, tuttavia, il genotipo non sembra influenzare gli effetti della MDMA, eccetto che per la depressione che era attenuata nelle femmine del gruppo l .

Precedenti studi hanno mostrato che gli effetti della MDMA sull'empatia emozionale sono correlati positivamente con le concentrazioni ematiche di MDMA. Nel presente studio, i livelli di ansia correlano positivamente alle concentrazioni ematiche di MDMA, in accordo con uno studio precedente in cui è stato dimostrato che l'ansia è presente quando la dose di MDMA è più alta. Gli altri livelli del tono dell'umore non erano correlati alle concentrazioni di MDMA, indicando che una singola dose fissa della sostanza induce nei consumatori lo stesso effetto sul tono dell'umore. Tuttavia, poiché nel presente studio è stata utilizzata solo una dose di MDMA, è possibile che la variazione delle concentrazioni di MDMA sia più bassa rispetto a condizioni in cui si utilizzano dosi multiple. I presenti dati, pertanto, non permettono di escludere la possibilità che le concentrazioni di MDMA siano associate ad altri aspetti del tono dell'umore, oltre all'ansia.

In conclusione, il presente studio mostra che una singola somministrazione di MDMA/*ecstasy* induce un livello di ansia (auto-valutata) maggiore nei portatori dell'allele l del polimorfismo 5-HTTLPR e livelli di depressione più bassi nelle femmine portatrici dell'allele l , indicando che la riduzione della depressione correlata alla MDMA è dipendente dal sesso, oltre che dal genotipo.

Parole chiave: MDMA, dipendenza, 5-HTTLPR, trasportatore della serotonina, farmacogenetica

Riferimento bibliografico

[Kuypers KPC](#) et al. *Sci Rep* 2018, 8(1): 1061.

FARMACOGENETICA DELL'INSULINO-RESISTENZA INDOTTA DA RISPERIDONE IN BAMBINI E ADOLESCENTI CON DISTURBI DELLO SPETTRO AUTISTICO

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

I disturbi dello spettro autistico (ASD) rappresentano un gruppo complesso di disordini del neurosviluppo che si manifestano con deficit nella comunicazione e nell'interazione sociale e con comportamenti ripetitivi. Il risperidone è un antipsicotico di seconda generazione, approvato per il trattamento dei disturbi del comportamento nei bambini e adolescenti con ASD. Nonostante i vantaggi che caratterizzano gli antipsicotici atipici come il risperidone rispetto ai farmaci di prima generazione, questo farmaco può indurre effetti avversi quali iperprolattinemia, iperuricemia, aumento di peso e dislipidemia. Inoltre, il risperidone può aumentare il rischio di diabete mellito di tipo 2 ed è in grado di alterare l'omeostasi glicemica. Le *pathway* fisiologiche che sottendono l'azione del risperidone sono complesse e coinvolgono multiple molecole.

Nel fegato, il risperidone viene estesamente metabolizzato dagli enzimi del sistema del citocromo P-450 (CYP), in particolare dall'isoforma 2D6 (CYP2D6) nel metabolita attivo 9-idrossirisperidone. Il *locus* che codifica per l'isoforma CYP2D6 è altamente polimorfico e alcune delle oltre cento varianti descritte sono in grado di alterare la funzionalità dell'enzima. L'assetto genetico del CYP2D6 potrebbe in parte spiegare l'elevata variabilità interindividuale che si osserva nella risposta clinica e nei livelli ematici di risperidone e 9-idrossirisperidone. Uno studio precedente ha riportato un'associazione tra l'allele CYP2D6*10 (c.100 C>T) e i parametri metabolici in bambini e adolescenti trattati con risperidone. E' stato inoltre suggerito che l'efficacia della terapia con risperidone possa anche essere influenzata da varianti nei geni che codificano per il trasportatore di membrana glicoproteina-P (ABCB1), che gioca un ruolo importante nella farmacocinetica di numerosi farmaci, del gene DRD2 (per il quale il risperidone rappresenta un antagonista e che è stato associato con alterazioni della secrezione insulinica in modelli animali) e di geni coinvolti nella regolazione dell'omeostasi glucosio-insulinica quali geni che codificano per leptina (LEP), grelina (GHRL) e fattore neurotrofico cerebrale (BDNF). L'identificazione di varianti geniche in grado di predisporre i pazienti con ASD in trattamento con risperidone allo sviluppo di insulino-resistenza potrebbe aiutare a identificare i pazienti a maggiore rischio di effetti avversi severi. Gli autori hanno valutato l'associazione tra varianti a livello dei geni CYP2D6, ABCB1, DRD2, LEP, GRHL e BDNF e lo sviluppo di insulino-resistenza in pazienti bambini e adolescenti in trattamento con risperidone.

Lo studio ha incluso 89 pazienti (81 maschi e 9 femmine) di età compresa tra 3 e 20 anni, reclutati presso lo Yuwaprasart Waithayopahum Child Psychiatric Hospital, Samut Prakan, Thailandia. Tutti i pazienti avevano una diagnosi di ASD in accordo con i criteri del DSM-IV, erano in trattamento con risperidone da più di 4 settimane e avevano una misurazione della glicemia a digiuno. I criteri di esclusione erano: 1) storia nota di patologie cardiovascolari, diabete, malattie epatiche, renali o altre condizioni fisiche severe; 2) trattamento concomitante con farmaci in grado di influenzare i livelli ematici di glucosio o insulina; 3) scarsa *compliance* o necessità di modificare il regime terapeutico. A tutti i partecipanti allo studio è stato effettuato un prelievo di sangue a digiuno, utilizzato per la genotipizzazione su DNA genomico delle varianti geniche selezionate, per la determinazione dei livelli ematici di risperidone e per le analisi biochimiche.

Le varianti dei geni candidati da genotipizzare sono state scelte sulla base delle evidenze riportate in letteratura circa il loro potenziale coinvolgimento nell'insulino-resistenza indotta da risperidone e in base a una frequenza dell'allele minore superiore al 5% nella popolazione Chinese Han. Sono state quindi selezionate le seguenti varianti, genotipizzate con real-time PCR con metodo TaqMan: ABCB1 (rs2032582, rs1045642); DRD2 (rs4436578, rs1800497), BDNF (rs6265), LEP (rs7799039, rs27647), CYP2D6*4 (rs3892097), CYP2D6*10 (rs1065852) e CYP2D6*41 (rs28371725). Inoltre, sono state analizzate le *copy number variation* (CNV) del gene CYP2D6 (delezione: CYP2D6*5) utilizzando i saggi TaqMan Copy Number Assays. Sulla base del genotipo delle varianti del gene CYP2D6 analizzate, i pazienti sono stati classificati come metabolizzatori lenti, intermedi o estesi.

I livelli ematici di risperidone e 9-idrossirisperidone sono stati misurati mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS/MS). Sono stati inoltre misurati i livelli ematici di glucosio e insulina e

l'insulino-resistenza è stata stimata utilizzando l'HOMA-IR. I pazienti che presentavano un HOMA-IR $\geq 2,6$ sono stati considerati insulino-resistenti. L'associazione tra varianti genetiche e l'insulino-resistenza è stata analizzata utilizzando il test del Chi-quadro, mentre l'effetto combinato delle possibili variabili (genere, età, livelli ematici di farmaco, durata del trattamento, trattamento combinato con altri farmaci, indice di massa corporea e genotipi dei geni candidati) sugli effetti avversi metabolici è stato analizzato tramite la costruzione di un modello di regressione logistica multipla.

Il 5% dei pazienti presentava iperglicemia, mentre una condizione di insulino-resistenza è stata rilevata nel 16% dei pazienti. Non è stata evidenziata un'associazione significativa tra insulino-resistenza e fenotipo del gene *CYP2D6*, varianti dei geni *ABCB1*, *DRD2* *GHRL*, o livelli ematici di risperidone o del suo metabolita.

Lo studio ha invece mostrato un'associazione significativa tra il polimorfismo rs7799039 (-2548 G>A) del gene *LEP* e l'insulino-resistenza. In particolare, i pazienti con genotipo AG o GG hanno mostrato una frequenza significativamente ridotta di insulino-resistenza rispetto ai pazienti con genotipo AA (*odds ratio*: 2,69, $p = 0,01$). Inoltre, è stato evidenziato un *trend* per un'associazione tra insulino-resistenza e la variante rs6265 (Val66Met, 196 G>A) del gene *BDNF* (*odds ratio*: 7,14, $p = 0,058$).

Nel modello di regressione nel quale è stato valutato il contributo delle diverse variabili cliniche, la variante rs7799039 (-2548 G>A) del gene *LEP* ha mostrato un *trend* di associazione con l'insulino-resistenza (*odds ratio*: 3,51, $p = 0,056$), mentre la variante rs6265 (Val66Met, 196 G>A) del gene *BDNF* è risultata associata in maniera significativa (*odds ratio*: 13,74, $p = 0,025$).

Questo studio ha valutato il contributo di alcune varianti genetiche nello sviluppo di insulino-resistenza in bambini e adolescenti con ASD in trattamento con risperidone. I risultati suggeriscono che il gene *BDNF* possa giocare un ruolo nello sviluppo di insulino-resistenza, in accordo con studi precedenti che avevano mostrato un'associazione tra lo stesso polimorfismo analizzato da questo studio e un aumentato rapporto trigliceridi/HDL in un campione di pazienti affetti da disturbo bipolare dopo tre mesi di trattamento con risperidone. Tra i limiti dello studio vi sono la numerosità campionaria ridotta, la mancanza di una correzione per test multipli, la scelta di singoli polimorfismi sulla base della loro plausibilità biologica, la mancanza di un *cut-off* dell'HOMA-IR che sia universalmente accettato per porre diagnosi di insulino-resistenza in pazienti bambini e adolescenti e la mancanza di dati relativi ai parametri metabolici prima dell'inizio del trattamento con risperidone.

In conclusione, lo studio suggerisce una potenziale associazione tra la variante Val66Met del gene *BDNF* e l'insulino-resistenza in pazienti bambini e adolescenti affetti da ASD in trattamento con risperidone.

Parole chiave: risperidone, disturbi dello spettro autistico, insulino-resistenza, *BDNF*

Riferimento bibliografico

[Sukasem C](#) et al. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2018, Jan 25 [Epub ahead of print].

ENDOCRINOLOGIA

ALTERAZIONI NEI microRNA CIRCOLANTI IN RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON TERIPARATIDE O DENOSUMAB NELL'OSTEOPOROSI POSTMENOPAUSALE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

I miRNA, piccoli RNA non codificanti, regolano importanti processi biologici e sono implicati nella patofisiologia di diverse malattie incluse cancro, disordini autoimmuni, infiammazione e diabete. Diversi

studi hanno dimostrato un ruolo dei miRNA nella differenziazione e nella funzione degli osteoclasti e osteoblasti, mediante la regolazione di specifici geni chiave del metabolismo osseo. Sono infatti state dimostrate associazioni di alcuni miRNA circolanti con la densità minerale ossea (BMD) o con le fratture in età postmenopausale ed è stato suggerito che i livelli di questi biomarcatori circolanti potrebbero riflettere processi del metabolismo osseo a livello tissutale.

Per chiarire questo aspetto, in questo lavoro sono state analizzate le differenze di espressione dei miRNA in donne in menopausa con massa ossea ridotta, in trattamento con due dei più potenti agenti anti-osteoporotici, denosumab (Dmab) e teriparatide (TPTD). Nello studio sono state arruolate un totale di 60 donne in menopausa (età media 65.8 mesi, range 54-85), di cui 30 trattate con Dmab e 30 con TPTD. Per ogni paziente, il siero è stato raccolto prima del trattamento (*baseline*, BS) e dopo 3 e 12 mesi. In base alla letteratura disponibile sono stati selezionati 16 miRNA associati con il metabolismo osseo.

Per quanto riguarda il gruppo di pazienti trattate con con TPTD, dopo 3 mesi sono state osservate alterazioni per 6 miRNA rispetto alla BS; in particolare, miR-23a-3p, miR-124-3p erano aumentati mentre miR-24-2-5p, miR-33-3p, miR222-5p e miR-503 erano diminuiti. Solo il miR-33-3p raggiungeva, tuttavia, una significatività statistica ($p=0.03$). A 12 mesi, due miRNA mostravano differenze nei livelli di espressione, ma solamente il miR133 era significativamente down- regolato rispetto a BS ($p=0.04$).

I livelli di BMD a 12 mesi erano significativamente e inversamente correlati con l'espressione di miR-124-3p a 3 mesi ($p=0.008$) e a 12 mesi ($p=0.0076$). Inoltre sono state osservate correlazioni tra i livelli dei miRNA e i valori dei marcatori ossei P1NP e β -CTX. In particolare, miR-24-3p a 3 mesi era significativamente e inversamente correlato con i valori di P1NP a 3 e 12 mesi (rispettivamente, $p=0.012$ e $p=0.027$) e con β -CTX a 12 mesi ($p=0.044$). Al contrario, miR-27a-3p a 3 mesi era positivamente correlato con β -CTX allo stesso time-point ($p=0.043$).

Per quanto riguarda il gruppo in trattamento con Dmab, è stata osservata una significativa correlazione negativa tra alterazioni di β -CTX e miRNA implicati nella osteoclastogenesi (miR-21-5p, -222) e nell'osteoblastogenesi (miR-23a-3p).

Dato il basso numero di casi coinvolti, questo studio è sicuramente da considerarsi come un'analisi pilota e i dati qui presentati vanno interpretati come di tipo esplorativo. Gli stessi autori evidenziano la necessità di futuri studi indipendenti e con coorti più ampie per confermare l'utilità di specifici miRNA circolanti nel monitoraggio della risposta al trattamento. Va sottolineato infine che questo lavoro non presenta alcuno tipo di validazione o analisi funzionali in vitro.

In conclusione, in questo studio sono stati osservati alterazioni significative nei livelli di miRNA circolanti che regolano la differenziazione degli osteoclasti e degli osteoblasti e la risposta al trattamento con agenti anti-osteoporotici.

Parole chiave: osteoporosi postmenopausale, teriparatide e denosumab, miRNA circolanti

Riferimento bibliografico

[Anastasilakis AD](#) et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2017 Dec 22 [Epub ahead of print].

IMMUNOMODULAZIONE

FARMACOGENETICA DEL DIABETE MELLITO POST-TRAPIANTO NEI BAMBINI CON TRAPIANTO RENALE TRATTATI CON TACROLIMUS

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

La terapia immunosoppressiva, in particolare con inibitori della calcineurina (tacrolimus e ciclosporina), è essenziale per prevenire il rigetto acuto post-trapianto renale nei pazienti pediatrici. Il tacrolimus è caratterizzato da uno stretto indice terapeutico e da un'ampia variabilità farmacocinetica interindividuale che influisce sul metabolismo e sul trasporto del farmaco. Questa variabilità è, almeno in parte, legata ai polimorfismi genetici dei geni del citocromo P450 3A (in particolare al *CYP3A5*) e del gene *ABCB1* che codifica per il trasportatore MDR1, noto anche come glicoproteina P.

La somministrazione di tacrolimus è associata a diversi eventi avversi, come nefrotossicità, neurotossicità, disturbi gastrointestinali e disturbi glicemici. I pazienti trattati con questo farmaco hanno un rischio più elevato di sviluppare il diabete mellito post-trapianto (PTDM) rispetto ai pazienti trattati con ciclosporina. Il PTDM aumenta la mortalità, la morbilità e il rischio di infezioni, eventi cardiovascolari e sindrome metabolica. I fattori di rischio per il PTDM sono suddivisi in due categorie: fattori di rischio modificabili (obesità, sindrome metabolica, infezioni virali, farmaci immunosoppressivi, episodi di rigetto) e fattori di rischio non modificabili (età, etnia, causa della malattia renale allo stadio terminale, sesso, HLA, caratteristiche dei donatori e fattori di rischio genetici).

L'obiettivo di questo lavoro è la valutazione dei potenziali fattori non genetici associati alla PTDM in bambini trattati con tacrolimus dopo trapianto renale. Inoltre, sono state testate varianti dei geni *CYP3A5*, *ABCB1*, P450 ossidoreduttasi (*POR*), recettore alfa attivato dai proliferatori dei perossisomi (*PPARα*) e del recettore della vitamina D (*VDR*), che influenzano la disposizione e/o l'effetto del tacrolimus.

Questo studio retrospettivo multicentrico comprendeva bambini (di età pari o inferiore a 18 anni) che avevano ricevuto un trapianto renale tra il 1990 e il 2014 in cinque unità francesi di Nefrologia Pediatrica (Parigi: Robert Debré e Trousseau, Lione, Montpellier e Marsiglia). In questi centri, il regime immunosoppressivo iniziale comprendeva anticorpi anti-linfociti o anticorpi monoclonali, tacrolimus o ciclosporina, micofenolato mofetile (MMF) o azatioprina e corticosteroidi. Tutti i pazienti sono stati monitorati con aggiustamenti della dose di tacrolimus utilizzati come clinicamente necessari durante il follow-up. La concentrazione target di tacrolimus raccomandata nei pazienti con trapianto è compresa tra 10 e 20 ng/mL nei primi mesi dopo il trapianto e successivamente tra 5 e 15 ng/mL. Il gruppo di controllo era costituito da pazienti pediatrici trapiantati senza PTDM e da pazienti con PTDM non trattati con tacrolimus. Il DNA genomico è stato isolato dai campioni di sangue periferico utilizzando QIASymphony (Qiagen, Courtaboeuf, Francia) e quantificato con Nanodrop. La genotipizzazione è stata eseguita mediante discriminazione allelica con metodica PCR real-time (TaqMan Applied Biosystems, Abi Prism 7900HT, ThermoFisher, San Jose, CA, USA). Tutti i pazienti sono stati genotipizzati per i seguenti polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) utilizzando kit di genotipizzazione Applied Biosystems secondo le istruzioni del produttore: *POR* rs1057868 (C__8890131_30), *PPARα* rs4253728 (C__31052401_10) *CYP3A5* rs776746 (C__2620180930), *VDR* rs2228570 (C__1206004520) e rs731236 (C__2404008_10) e *ABCB1* rs1045642 (C__7586657_20).

Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando SP24 IBM SPSS. Un punteggio di rischio farmacogenetico è stato costruito per valutare la potenziale relazione tra il rischio di PTDM e il livello di esposizione al tacrolimus. Il punteggio si basa sugli effetti combinati delle varianti farmacogenetiche di *POR* e *ABCB1* note per influenzare il metabolismo del farmaco: la variante di *POR**28 è associata ad un alto tasso di metabolizzazione del tacrolimus rispetto all'allele *POR**1 wild-type; la variante *ABCB1* T è associata ad un elevato assorbimento di tacrolimus, rispetto all'allele wild-type *ABCB1* C. Pertanto, un punteggio di 0 (basso rischio) è stato attribuito a pazienti portatori di un allele *POR**1 (genotipo *POR**1/*1 o *1/*28) e *ABCB1* TT mutato, in quanto sono richieste basse dosi per ottenere concentrazioni terapeutiche di tacrolimus; un punteggio di 2 (alto rischio) è stato attribuito ai pazienti *POR**28/*28 portatori di un allele wild-type di *ABCB1* (genotipo CC/CT), poiché sono richieste alte dosi per ottenere concentrazioni terapeutiche di farmaco; un punteggio intermedio di 1 è stato attribuito a pazienti con genotipi "intermedi" (portatori di un allele *POR**1*1 e un allele *ABCB1* C e pazienti con *28/*28 e *ABCB1* TT), in quanto sono richieste dosi intermedie per raggiungere concentrazioni terapeutiche di tacrolimus. Un valore p <0,05 è stato considerato statisticamente significativo.

Sono stati inclusi in totale 98 bambini con trapianto renale: l'età al momento del trapianto era di $11,8 \pm 4,2$ anni e il rapporto maschi/femmine era 0,96. Diciotto pazienti hanno sviluppato PTDM nei primi 4 anni di introduzione post-tacrolimus; gli 80 pazienti senza PTDM sono stati inclusi nel gruppo di controllo. Il PTDM si è verificato $2,5 \pm 3,7$ anni dopo il trapianto; 12 pazienti (12,2%) hanno sviluppato PTDM nel primo anno dopo l'introduzione di tacrolimus. Il ritardo tra l'inizio di tacrolimus e PTDM è stato di $0,8 \pm 1,3$ anni nei pazienti che hanno ricevuto solo tacrolimus e $0,7 \pm 1,2$ anni nei pazienti che sono passati da ciclosporina a tacrolimus. Due pazienti trattati con tacrolimus a rilascio prolungato hanno sviluppato PTDM dopo 1,1 e 2,9 anni di tacrolimus rispettivamente. I pazienti che hanno sviluppato PTDM hanno ricevuto insulina ($n = 15$, 83,3%) e/o repaglinide antidiabetica orale ($n=4$, 22,2%) e 8 su 18 (44,4%) sono passati da tacrolimus a ciclosporina dopo lo sviluppo di PTDM. La dose di tacrolimus al momento della diagnosi di diabete è stata registrata per 15 pazienti che hanno sviluppato PTDM ed era $0,25 \pm 0,12$ mg/Kg/die, che corrisponde alle dosi raccomandate nei bambini con trapianto renale. Tra gli 8 pazienti passati da tacrolimus a ciclosporina a causa di PTDM, solo 3 pazienti hanno interrotto il trattamento antidiabetico dopo 1 ($n=2$) e 2 mesi ($n=1$). Gli altri pazienti hanno ricevuto insulina/farmaci orali fino alla fine del periodo di osservazione. Nessuno dei sei SNPs testati nei geni *POR* e *ABCB1* erano significativamente associati al PTDM. L'analisi multivariata non ha trovato alcuna associazione tra il rischio di PTDM e SNPs, dosi iniziali di tacrolimus, precedente somministrazione di ciclosporina, rigetto acuto prima dell'introduzione di tacrolimus e numero di rigetti acuti nei trattati con tacrolimus. Per quanto riguarda il rischio di PTDM, 15 bambini hanno avuto un punteggio di 0 e nessuno ha sviluppato PTDM, 15 su 76 con un punteggio di 1 hanno sviluppato PTDM, 3 su 7 con punteggio di 2 hanno sviluppato PTDM. È stata osservata una differenza significativa nell'insorgenza di PTDM tra questi tre gruppi genotipici, in base al tempo ($\chi^2=6,3$, $p=0,043$). La stima del rischio è stata calcolata e confrontata con i pazienti con punteggio 0. È stato riscontrato che i pazienti con punteggio 1 erano ad un rischio più elevato di 7,8 (0,44-137,9) per lo sviluppo di PTDM. Inoltre, i pazienti con punteggio 2 avevano un rischio più elevato di sviluppare PTDM rispetto ai pazienti con un punteggio 0 (OR=24,1 [1,04-559,01]). Nell'analisi multivariata (che includeva il punteggio individuale, le dosi iniziali di tacrolimus, la precedente somministrazione di ciclosporina e il rigetto acuto verificatesi prima del trattamento o durante il trattamento con tacrolimus) il punteggio di farmacogenetica era l'unico fattore di rischio significativamente associato al PTDM. La percentuale cumulativa di pazienti che hanno sviluppato PTDM era maggiore nei pazienti portatori di *POR*28/*28+ABCB1 CC/CT* ($p=0,012$).

Gli autori hanno sviluppato un punteggio genetico basato sull'impatto delle varianti di *POR* e *ABCB1* sull'omeostasi del glucosio e sulla disposizione di tacrolimus, poiché l'elevata esposizione al tacrolimus è un fattore di rischio per il PTDM nei dati degli adulti. Di conseguenza, è stata valutata l'associazione tra *POR*28* e *ABCB1 C3435T* è stato dimostrato che i bambini trattati con tacrolimus portatori di *POR*28/*28* e con i genotipi *ABCB1 CC/CT* hanno un rischio più elevato di sviluppare PTDM rispetto ai non portatori, e dunque tali genotipi richiedono dosi più elevate di farmaco.

Questo studio ha dei limiti: il numero di pazienti PTDM identificati tra il 1990 e il 2014 è limitato, in quanto è una complicanza rara e il numero di bambini con trapianti renali è limitato. Tuttavia, è stata utilizzata una definizione di PTDM basata sul requisito di un trattamento antidiabetico deciso dallo specialista di riferimento, che ha consentito di studiare solo i casi confermati. Anche il trattamento con corticosteroidi può avere avuto un impatto, poiché è noto che questi farmaci aumentano la resistenza all'insulina. I dati individuali sulle dosi cumulative precise di corticosteroidi non erano disponibili, in quanto lo studio era retrospettivo. Tuttavia, dopo il trapianto, il trattamento con corticosteroidi era standardizzato.

In conclusione, in questo studio esplorativo condotto su bambini con trapianto renale, è stato dimostrato che il PTDM si verifica prima dell'inizio della somministrazione di tacrolimus nei pazienti più grandi di età. Inoltre, è stato osservato che i pazienti portatori delle varianti *POR*28* e *ABCB1 CC/CT* presentano un rischio più elevato di PTDM. Sono necessari ulteriori studi per confermare questa osservazione.

In questo studio, le varianti del gene *POR* e *ABCB1* sono state identificate come fattori di rischio di PTDM nei bambini con trapianto renale. Le caratteristiche del paziente, i parametri clinici e biologici del trapianto,

precedentemente associati al PTDM negli adulti, non sono risultati fattori di rischio aggiuntivi nella popolazione pediatrica.

Parole chiave: PTDM, tacrolimus, *POR*, *ABCB1*

Riferimento bibliografico

[Lancia P](#) et al. *Pediatr Nephrol* 2018 [Epub ahead of print].

LA METANALISI DEL MESE

STUDIO DELL'ASSOCIAZIONE TRA IL POLIMORFISMO MTHFR C677T E LA RISPOSTA A METOTREXATO NEI PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE: UNA REVISIONE SISTEMATICA DELLA LETTERATURA E META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

L'artrite reumatoide è una poliartrite infiammatoria cronica a patogenesi autoimmunitaria che colpisce lo 0,5% circa della popolazione mondiale. La prognosi sfavorevole di questa malattia è stata significativamente migliorata dallo sviluppo di molecole appartenenti alla classe dei "farmaci antireumatici modificanti la malattia" (DMARD), atti a rallentare la progressione della malattia. Tra questi, il farmaco più largamente utilizzato in pratica clinica è il metotrexato, un antagonista dell'acido folico che mostra effetti antiproliferativi e anti-infiammatori grazie alla sua capacità di interferire con l'attività di diversi enzimi implicati nella sintesi dei folati. Tra gli enzimi inibiti dal metotrexato si annovera la metilentetraidrofoloreduttasi (MTHFR), responsabile della trasformazione del 5-10 metilentetraidrofolato (THF) in 5 metil-THF, la più abbondante forma circolante di acido folico che serve come donatore di metili per la rimetilazione della omocisteina a metionina. Il gene MTHFR, codificante per tale enzima, è localizzato sul cromosoma 1 (1p36.6) ed è noto svolgere un ruolo chiave nel mantenimento dell'equilibrio tra sintesi, riparazione e metilazione del DNA. Dalla letteratura emerge come polimorfismi a carico di questo gene sembrino modulare la variabilità individuale in termini di risposta clinica al metotrexato. Tra le varianti genetiche più studiate di MTHFR si riporta lo SNP MTHFR C677T, un polimorfismo missenso risultante in una ridotta attività dell'enzima MTHFR e quindi in un'alterata sintesi dei folati. Ad oggi, sono state condotte ben 7 meta-analisi finalizzate a quantificare la correlazione tra lo SNP MTHFR C677T e la risposta clinica a metotrexato in pazienti affetti da artrite reumatoide. Tuttavia, i risultati ottenuti da tali meta-analisi sono discordanti tra loro e dall'ultima meta-analisi, prodotta nel 2014, sono stati pubblicati almeno altri 10 studi primari in cui è stata stimata l'associazione tra MTHFR C677T e la risposta clinica a metotrexato in pazienti affetti da artrite reumatoide. Alla luce di quanto detto, l'obiettivo del presente studio è stato quello di condurre una meta-analisi aggiornata atta a stimare quantitativamente l'associazione tra la variante MTHFR C677T e la risposta a metotrexato, in termini di efficacia e di tossicità, nei pazienti affetti da artrite reumatoide.

La ricerca bibliografica è stata condotta sui databases elettronici di PubMed, Embase e Cochrane. Sono stati definiti come eleggibili gli studi che avessero indagato la correlazione tra lo SNP MTHFR C677T e la risposta a metotrexato in pazienti affetti da artrite reumatoide e che riportassero in maniera completa i relativi dati di distribuzione genotipica per la variante in oggetto. Sono stati, invece, esclusi dalla revisione i) studi che includessero pazienti arruolati in studi successivi; ii) case-reports, abstracts di conferenze o revisioni della letteratura. I lavori eleggibili sono stati caratterizzati per i) anno di pubblicazione, ii) paese di arruolamento, dimensione campionaria, etnia, sesso ed età dei pazienti arruolati, iii) regime terapeutico, iv) integrazione di folati, v) metodo di misurazione della risposta e/o insorgenza di tossicità farmaco-indotte. La stima meta-

analitica dell'associazione genetica tra MTHFR C677T e la risposta a metotrexato, espressa come OR e relativo intervallo di confidenza, è stata valutata mediante meta-analisi ad effetti fissi o random, a seconda, rispettivamente, dell'assenza o presenza di eterogeneità tra gli studi inclusi. Nella presente meta-analisi, l'associazione genetica è stata stimata nei modelli genetici dominante (TT+TC vs CC), recessivo (TT vs TC+CC), omozigote (TT vs CC) ed eterozigote (TC vs CC). Al fine di determinare le variabili potenzialmente responsabili dell'esistenza di eterogeneità tra gli studi primari, sono state condotte analisi per sottogruppi sulla base de: i) l'etnia dei pazienti arruolati, ii) l'eventuale somministrazione di integrazione di folati, iii) l'assunzione di metotrexato in monoterapia o in combinazione con altri farmaci e iv) il metodo di misurazione dell'efficacia e della sicurezza della terapia. Per valutare l'impatto di ogni singolo studio primario sulla stima meta-analitica complessiva, sono state effettuate delle analisi di sensibilità omettendo sequenzialmente dalla meta-analisi uno studio primario per volta. È stata, infine, valutata la possibile esistenza di *publication bias* tramite l'impiego del test di Egger e di Begg.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 116 articoli, di cui 32 sono stati considerati eleggibili per la meta-analisi. Di questi 32 studi, in 16 ($N_{\text{pazienti}}=2373$) è stata valutata l'associazione genetica tra MTHFR C677T e l'efficacia del metotrexato, mentre in 25 lavori ($N_{\text{pazienti}}=4063$) è stata stimata la correlazione genetica con l'insorgenza di tossicità indotta dal farmaco. Dalla meta-analisi non è emersa, in nessuno dei modelli genetici analizzati, una correlazione statisticamente significativa tra la variante MTHFR C677T e l'efficacia clinica del metotrexato nei pazienti affetti da artrite reumatoide ($p>0.05$). Analogamente, nessun trend di associazione si è evinto, in tale contesto, effettuando delle analisi per sottogruppi. Al contrario, MTHFR C677T è risultato essere correlato, in maniera statisticamente significativa, all'insorgenza di tossicità indotte da metotrexato nei modelli genetici omozigote (TT vs CC: OR 1.61, 95% CI 1.03-2.50, $P=0.037$, $I^2=56.7\%$), dominante (TT+TC vs CC: OR 1.36, 95% CI 1.02-1.80, $P=0.033$, $I^2=69.4\%$) e recessivo (TT vs TC+CC: OR 1.49, 95% CI 1.18-1.87, $P=0.001$, $I^2=6.3\%$). Effettuando analisi per sottogruppi finalizzate a chiarire le fonti di eterogeneità tra gli studi, è emerso come, stratificando per etnia, l'associazione tra MTHFR C677T e tossicità metotrexato-indotta si riconfermi essere statisticamente significativa nei sottogruppi di pazienti di etnia caucasica (TT vs TC+CC: OR 1.55, 95% CI 1.14-2.10, $P=0.006$, $I^2=22.4\%$; TT vs CC: OR 1.77, 95% CI 1.26-2.47, $P=0.001$, $I^2=43.8\%$) ed asiatica (TT vs TC+CC: OR 1.66, 95% CI 1.12-2.47, $P=0.012$, $I^2=0\%$) ma non nelle popolazioni latino-americane e di etnia mista. In egual maniera, effettuando l'analisi per sottogruppi sulla base del regime terapeutico utilizzato (metotrexato in monoterapia vs metotrexato in politerapia), MTHFR C677T è emerso essere un fattore predittivo della tossicità da metotrexato sia nel sottogruppo di pazienti in monoterapia con il farmaco (TT+TC vs CC: OR 1.50, 95% CI 1.01-2.23, $P=0.044$, $I^2=43.8\%$) che in quello dei pazienti sottoposti ad un regime politerapico a base di metotrexato (TT vs TC+CC: OR 1.57, 95% CI 1.21-2.05, $P=0.001$, $I^2=24.4\%$). Infine, si evince una correlazione statisticamente significativa tra lo SNP MTHFR C677T e la tossicità da metotrexato nel sottogruppo di pazienti con integrazione completa di acido folico (TT vs CC: OR 2.54, 95% CI 1.36-4.75, $P=0.003$, $I^2=56.4\%$; TT+TC vs CC: OR 1.57, 95% CI 1.05-2.36, $P=0.030$, $I^2=70.4\%$; TT vs TC+CC: OR 1.82, 95% CI 1.33-2.48, $P<0.001$, $I^2=6.0\%$; TC vs CC: OR 1.66, 95% CI 1.01-2.71, $P=0.044$, $I^2=71.6\%$) ma non nei pazienti con integrazione parziale di folati. Dall'analisi di sensibilità emerge una forte robustezza delle stime meta-analitiche ivi ottenute. Inoltre, nel contesto della meta-analisi dell'associazione genetica con la tossicità da metotrexato, non si evince l'esistenza di *publication bias* se non nel modello genetico recessivo (test di Begg: $P=0.038$; test di Egger: $P=0.022$).

Nonostante la variante MTHFR C677T sia nota per risultare in una riduzione dell'attività enzimatica della metilentetraidrofolatoreduttasi pari al 70% negli omozigoti mutati e al 40% negli eterozigoti, dalla presente meta-analisi non emerge una correlazione statisticamente significativa tra la variante MTHFR C677T e l'efficacia di metotrexato nei pazienti affetti da artrite reumatoide. Tale evidenza trova una possibile spiegazione nel fatto che altre varianti in *linkage disequilibrium* con quella in studio (ad esempio MTHFR A1298C) possano contribuire a modulare il rischio individuale di non rispondere al metotrexato in maniera più consistente del solo polimorfismo MTHFR C677T. Inoltre, essendo noti alcuni fattori clinici capaci di influenzare la risposta al metotrexato, come sesso, età e abitudine al fumo, è plausibile ipotizzare che tali variabili cliniche possano altrettanto contribuire nel determinare il rischio di non-risposta al farmaco. Tuttavia, non è stato ivi possibile effettuare un'esaustiva meta-analisi per sottogruppi, sulla base delle

sudette caratteristiche cliniche, al fine di chiarirne il ruolo nel modulare l'efficacia del metotrexato nella popolazione in studio. Al contrario, è emersa dalla presente meta-analisi una correlazione statisticamente significativa tra la variante MTHFR C677T e la tossicità indotta da metotrexato nei pazienti affetti da artrite reumatoide. Tali risultati devono però essere interpretati alla luce di alcune limitazioni intrinseche allo studio, quali sono: i) l'impossibilità di condurre meta-analisi stratificate sulla base delle diverse tipologie di tossicità indotte da metotrexato (mielodepressione, alterazioni del quadro ematico e disturbi del tratto gastroenterico); ii) forte eterogeneità riscontrata tra gli studi primari sia in termini di scale utilizzate per la misurazione delle tossicità farmaco-indotte (tra cui DAS28, DAS44, EULAR, ACR20, ACR50) che in termini di tempistiche riportate per la misurazione dell'insorgenza di effetti avversi (i tempi di misurazione variano da un minimo di 4 settimane ad un massimo di 12 mesi dall'inizio del trattamento). Si evidenzia, inoltre, come il potere statistico della presente meta-analisi sia limitato al fine di determinare in maniera conclusiva il ruolo di MTHFR C677T come fattore genetico predittivo della risposta a metotrexato in pazienti affetti da artrite reumatoide.

La variante MTHFR C677T è emersa essere un potenziale fattore genetico predittivo della tossicità indotta da metotrexato nei pazienti affetti da artrite reumatoide.

Parole chiave: MTHFR, metotrexato, artrite reumatoide

Riferimento bibliografico

[Shao W](#) et al. *Genet Test Mol Biomarkers* 2017, 21(5):275-85.



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 Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale)
- Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna)
- Dott.ssa Elena Genova (Università di Trieste)
- Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania)
- Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
- Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)
- Prof.ssa Patrizia Romualdi (Università di Bologna)
- Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF
<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>
Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

RICEZIONE NEWSLETTER

La Società dichiara che i dati personali comunicati dall'utente sono trattati in conformità alle disposizioni del D. Lgs. 196/2003 ed alla normativa comunitaria secondo quanto indicato specificamente nell'informativa privacy reperibile sul sito internet della Società all'indirizzo: https://sif-website.s3.amazonaws.com/uploads/attachment/file/240/Informativa_Privacy_SIF_Generica.pdf che l'utente, con la sottoscrizione del presente Contratto, dichiara di aver compiutamente visionato, compreso e accettato. Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.