



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 105 – Aprile 2018

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Il monitoraggio dei cambiamenti precoci del DNA tumorale circolante può rappresentare uno strumento utile per predire la risposta al trattamento con inibitori delle chinasi ciclino-dipendente (CDK) 4/6 in pazienti affette da tumore alla mammella
- L'immunoclassificazione caratterizzata dall'espressione di CD8 e di PD-L1 è associata all'esito clinico dei pazienti con cancro gastrico
- miR-377 contribuisce alla resistenza al cisplatino agendo su XIAP nell'osteosarcoma
- Il miRNA-630 favorisce un outcome clinico migliore alla chemioterapia basata sul cisplatino nel cancro al polmone non a piccole cellule
- Farmacoepigenetica nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica: coinvolgimento dei poli-morfismi di miRNA nell'epatotossicità

⇒ Immunomodulazione

- Identificazione dell'associazione tra HLA-DRB1 ed immunogenicità di adalimumab

⇒ Neurologia

- Analisi dell'associazione dei polimorfismi di MIR124-1 e del suo gene target RGS4 con la depressione maggiore e la risposta agli antidepressivi
- Studio di farmacogenetica sull'enzima dopamina β -idrossilasi nel trattamento con doxazosina della dipendenza da cocaina

⇒ La metanalisi del mese

- Studio dell'associazione tra due polimorfismi del gene SCN1A e la resistenza al trattamento con farmaci anti-epilettici bloccanti dei canali del sodio

ONCOLOGIA

IL MONITORAGGIO DEI CAMBIAMENTI PRECOCI DEL DNA TUMORALE CIRCOLANTE PUÒ RAPPRESENTARE UNO STRUMENTO UTILE PER PREDIRE LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON INIBITORI DELLE CHINASI CICLINO-DIPENDENTE (CDK) 4/6 IN PAZIENTI AFFETTE DA TUMORE ALLA MAMMELLA

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

L'oncologia sta attraversando un momento di grande trasformazione trainata dai progressi scientifici e dai grandi risultati ottenuti dalla biologia molecolare, grazie alla quale è possibile caratterizzare le alterazioni genomiche a partire dal DNA rilasciato in circolo dalle cellule tumorali in seguito a fenomeni quali necrosi o apoptosi. I livelli del DNA tumorale circolante (ctDNA) tendono a fluttuare durante un trattamento e possono essere correlati con la risposta del tumore alla terapia, offrendo uno strumento di monitoraggio non invasivo dello stato della patologia neoplastica, sia nelle fasi precoci sia metastatiche, alternativo alla biopsia tissutale, considerata ad oggi la metodica standard (Murtaza M et al. *Nature* 2013,497(7447):108-12; Garcia-Murillas I et al. *Sci Transl Med* 2015,7(302):302ra133). Infatti, in letteratura vari studi riportano come il ctDNA possa fornire un quadro dell'evoluzione nel tempo dei cloni della massa tumorale in pazienti che presentano metastasi multiple (Murtaza M et al. *Nat Commun* 2015,6:8760). Inoltre, sono riportati anche i primi risultati di studi che suggeriscono l'utilità del monitoraggio dinamico dei livelli del ctDNA nelle fasi precoci del trattamento per poter predire la risposta alla terapia prima che questa possa essere accertata tramite le convenzionali indagini cliniche macroscopiche. In aggiunta, le variazioni precoci dei livelli del ctDNA potrebbero consentire di individuare in tempo reale una terapia personalizzata, evitando che il paziente venga sottoposto ad un trattamento che risulterebbe inefficace oppure consentendo lo switch ad un nuovo trattamento quando il paziente risulta resistente alla terapia in atto.

Tuttavia, i dati forniti dai grandi studi di fase III non consentono ad oggi di affermare la robustezza della validità clinica delle analisi condotte a partire dal ctDNA per monitorare la risposta di una patologia neoplastica ad un trattamento *targeted therapy* (Marchetti A et al. *J Thorac Oncol* 2015,10(10):1437-43; Schreuer M et al. *J Transl Med* 2016,14:95). Il dinamismo del ctDNA e la sua potenziale utilità nel prevedere la risposta a lungo termine ad un trattamento si basano principalmente su due assunzioni. Secondo la prima assunzione, la riduzione dei livelli del ctDNA corrisponde ad un'efficacia nel trattamento in atto sulla massa tumorale e gli effetti a breve termine della terapia possono predire l'esito clinico a lungo termine. La seconda assunzione afferma che la valutazione precoce dei livelli del ctDNA può fornire un'istantanea della risposta del tumore al trattamento. In questo contesto, l'eterogeneità genetica intra-tumorale rappresenta una delle maggiori sfide per il mondo scientifico, soprattutto in relazione alla risposta alla quale il tumore può andare incontro in seguito ad un trattamento di *targeted therapy*. Ad esempio, nel tumore alla mammella, mutazioni a carico del gene che codifica per il recettore degli estrogeni, *ESR1*, determinano l'attivazione costitutiva del recettore stesso (Toy W et al. *Nat Genet* 2013,45(12):1439-45). Tali mutazioni possono albergare nei subcloni tumorali di circa un terzo dei pazienti affetti da tumore alla mammella, che sono diventati resistenti alla terapia con inibitori delle aromatasi (Jeselsohn R et al. *Clin Cancer Res* 2014,20(7):1757-1767; Spoerke JM et al. *Nat Commun* 2016,7:11579). Tuttavia, ad oggi non sappiamo in quale misura gli effetti dei subcloni resistenti possono influenzare la risposta alla terapia. Studi *in vitro* hanno dimostrato la capacità dell'antiestrogeno fulvestrant di agire contro i tumori *ESR1* positivi, anche se le dosi necessarie affinché possa essere inibita l'attività del recettore mutato sono maggiori rispetto a quelle richieste per inibire l'attività del recettore wild-type (Toy W, et al. *Nat Genet.* 2013 Dec;45(12):1439-45).

Gli inibitori delle chinasi ciclico-dipendente (CDK) 4/6 vengono utilizzati per il trattamento del tumore alla mammella metastatico o localmente avanzato positivo al recettore ormonale e negativo al recettore di tipo 2 del fattore di crescita epidermico umano (HR+/HER2-). La combinazione di palbociclib, un inibitore CDK 4/6, con una terapia endocrina (letrozolo o fulvestrant) ha dimostrato di prolungare significativamente la sopravvivenza libera da progressione (PFS) rispetto alla sola terapia endocrina o alla terapia endocrina con placebo (Finn RS et al. *Lancet Oncol* 2015,16(1):25-35; Finn RS et al. *N Engl J Med* 2016,375(20):1925-1936; Cristofanilli M et al. *Lancet Oncol* 2016,17(4):425-439). Lo studio clinico di fase III PALOMA-3 ha valutato palbociclib in combinazione con fulvestrant rispetto a placebo con fulvestrant in 521 donne con carcinoma mammario metastatico HR+/HER2-, indipendentemente dallo stato di menopausa, la cui malattia è

progredita durante o dopo una precedente terapia endocrina. La combinazione di palbociclib più fulvestrant ha dimostrato un miglioramento importante nella PFS rispetto a fulvestrant più placebo, con una PFS mediana di 9,5 mesi nel braccio trattato con palbociclib rispetto a 4,6 mesi nelle donne trattate con placebo più fulvestrant (Cristofanilli M et al. *Lancet Oncol* 2016,17(4):425-439). Tuttavia, non ci sono ad oggi biomarcatori predittivi della risposta a questi farmaci.

Gli autori di questo studio hanno, pertanto, valutato se il monitoraggio dei cambiamenti precoci dei livelli del ctDNA possa essere un utile strumento clinico per predire precocemente la risposta del tumore alla mammella al trattamento con gli inibitori CDK 4/6. Inoltre, hanno valutato il ruolo svolto dall'eterogeneità tumorale.

Nel loro studio, i ricercatori hanno utilizzato campioni di plasma prelevati da pazienti che avevano partecipato allo studio di fase III PALOMA-3. In particolare, sono stati raccolti sequenzialmente campioni di plasma al basale, al 15° giorno del ciclo 1 e al momento della progressione per valutare se le variazioni precoci dei livelli di ctDNA potevano essere predittive della PFS nelle pazienti trattate con palbociclib. L'estrazione del ctDNA è stata eseguita con uno specifico kit commerciale, mentre le mutazioni a carico dei geni PIK3CA e ESR1 sono state ricercate utilizzando il sistema della digital droplet PCR (ddPCR). Il rapporto del DNA circolante (CDR) è stato definito come il rapporto fra l'abbondanza delle mutazioni (copie mutanti/ml) durante il trattamento e l'abbondanza di tali mutazioni al basale. Il CDR₁₅ rappresentava il rapporto fra il giorno 15 e il basale.

Monitoraggio dinamico delle variazioni precoci dei livelli delle mutazioni a carico del gene PIK3CA valutate su ctDNA plasmatico. Su 521 donne arruolate nello studio, i ricercatori hanno potuto estrarre il ctDNA da 455 campioni plasmatici basali, i quali sono stati successivamente analizzati per ricercare mutazioni hotspot negli esoni 9 e 20 del gene PIK3CA (E542K, E545K, H1047R e H1047L). Quest'analisi ha identificato 100 casi (22,1%) con una mutazione di PIK3CA. Soltanto per 73 pazienti erano disponibili i campioni di plasma prelevati al 15esimo giorno di trattamento, nei quali è stata osservata una riduzione statisticamente significativa nei livelli di ctDNA, in termini di copie/ml, sia in presenza di mutazioni a carico di PIK3CA (variazione relativa mediana 0.542; $p < 0.0001$) sia in assenza (variazione relativa mediana 0.076; $p < 0.0001$). Le analisi hanno evidenziato come le pazienti assegnate a palbociclib più fulvestrant avevano un PIK3CA CDR₁₅ più basso rispetto a quello delle pazienti assegnate a fulvestrant più placebo ($p < 0,0001$), indice di una riduzione maggiore dell'abbondanza di ctDNA. Tutti le pazienti trattate con palbociclib (52/73) avevano un CDR₁₅ < 1 , indice di un calo del ctDNA. Pertanto, questi dati hanno dimostrato che gli effetti antiproliferativi di palbociclib si traducono in una rapida diminuzione dei livelli di ctDNA entro il 15esimo giorno di trattamento e che la valutazione del CDR₁₅ di PIK3CA ha anticipato il miglioramento della PFS osservato con palbociclib nello studio PALOMA-3.

Monitoraggio dinamico delle variazioni precoci dei livelli delle mutazioni a carico del gene ESR1 valutate su ctDNA plasmatico. I ricercatori hanno potuto estrarre il ctDNA da 445 campioni plasmatici basali, i quali sono stati successivamente analizzati per ricercare le mutazioni più comuni nel gene ESR1 (E380Q, S463P, L536R, Y537S, Y537C, Y537N, and D538G). Quest'analisi ha identificato 114 casi (25,6%) con una mutazione di ESR1. Soltanto per 65 pazienti erano disponibili i campioni di plasma prelevati al 15esimo giorno di trattamento, nei quali è stata osservata una riduzione statisticamente significativa nei livelli di ctDNA, in termini di copie/ml, sia in presenza di mutazioni a carico di ESR1 (variazione relativa mediana 0,022; $p < 0,0001$) sia in assenza (variazione relativa mediana 0,21; $p < 0,0001$). Come visto per PIK3CA, le analisi hanno evidenziato come le pazienti assegnate a palbociclib più fulvestrant avevano un ESR1 CDR₁₅ più basso rispetto a quello delle pazienti assegnate a fulvestrant più placebo ($p < 0,034$). Tuttavia, nel braccio fulvestrant più placebo, le pazienti ESR1 positive avevano un calo sostanzialmente maggiore dei livelli del ctDNA rispetto al calo evidenziato per le pazienti PIK3CA positive (ESR1 CDR₁₅ 0,044 vs PIK3CA CDR₁₅ 0,82; $p < 0,0001$), indice di una diversa risposta.

Monitoraggio dinamico delle variazioni precoci dei livelli delle mutazioni a carico del gene PIK3CA valutate su ctDNA plasmatico: utile strumento per predire la risposta a palbociclib. Successivamente, i

ricercatori hanno esaminato se il rapporto CDR_{15} potesse essere un valido strumento per prevedere la risposta a lungo termine delle pazienti al trattamento con palbociclib. Le analisi hanno mostrato che la variazione relativa dei livelli delle mutazioni a carico del gene PIK3CA, valutate sul ctDNA dopo il 15esimo giorno di trattamento, è un forte fattore predittivo di PFS. Infatti, le pazienti con CDR_{15} di PIK3CA sopra il valore mediano di 0,034 hanno mostrato di avere una PFS inferiore rispetto a quelle con CDR_{15} di PIK3CA sotto il valore mediano (HR 3,94; $p = 0,0013$). Inoltre, le pazienti con un CDR_{15} elevato hanno mostrato una PFS mediana di 4,1 mesi contro gli 11,2 mesi nelle pazienti con un CDR_{15} basso (HR 4,92; $p = 0,0002$). Viceversa, la variazione relativa dei livelli delle mutazioni a carico del gene ESR1, valutate su ctDNA dopo il 15esimo giorno di trattamento, non è risultata un forte fattore predittivo di PFS. Di conseguenza, il monitoraggio dinamico delle variazioni precoci dei livelli delle mutazioni a carico del gene PIK3CA valutate su ctDNA plasmatico possono essere un utile strumento per predire la risposta a lungo termine al trattamento di palbociclib in associazione con fulvestrant.

I subcloni tumorali ESR1 positivi non riflettono l'esito clinico in seguito al trattamento con fulvestrant.

Alcuni studi hanno dimostrato la capacità del fulvestrant ad agire contro i tumori ESR1 positivi (Jeselson R et al. *Nat Rev Clin Oncol* 2015, 12(10):573-83). Pertanto, in questo studio è stato analizzato anche l'effetto delle mutazioni a carico del gene ESR1, valutate su 151 campioni plasmatici basali, durante il trattamento con fulvestrant e placebo. Le pazienti ESR1 positive avevano una PFS significativamente peggiore rispetto alle pazienti ESR1 negative (HR 1,58; $p = 0,04$). Inoltre, tra le pazienti ESR1 positive, 35 erano anche PIK3CA positive. Tuttavia, la somma della frazione allelica delle mutazioni di ESR1 è risultata inferiore rispetto a quella delle mutazioni di PIK3CA nel 77,1 % delle pazienti ESR1 e PIK3CA positive, suggerendo, pertanto, che le mutazioni ESR1 fossero prevalentemente presenti in subcloni tumorali.

Il monitoraggio dinamico delle variazioni precoci dei subcloni può predire le recidive. I risultati di questo studio suggeriscono che le mutazioni ESR1 possono albergare nei subcloni tumorali, inizialmente sensibili al trattamento con palbociclib e fulvestrant. I ricercatori hanno poi valutato se il monitoraggio dei cambiamenti precoci del ctDNA può prevedere le recidive. Dei 113 campioni valutati per il CDR_{15} , positivi per mutazioni a carico del gene ESR1 o PIK3CA o entrambi, 59 avevano anche a disposizione il prelievo effettuato a fine trattamento. Ad eccezione di un campione risultato PIK3CA positivo al prelievo basale, per tutti gli altri campioni la mutazione rilevata al basale è stata caratterizzata anche al prelievo di fine trattamento. Viceversa, per 8 pazienti su 31 (25,8%) ESR1 positive al basale la mutazione ESR1 non è stata rilevata a fine trattamento, una percentuale significativamente maggiore rispetto alle mutazioni PIK3CA ($p = 0,005$).

Un'ulteriore valutazione ha considerato se un'analisi precoce potesse predire la perdita dei cloni ESR1 positivi in caso di recidiva. Su 9 pazienti ESR1 positive con mutazioni ESR1 non rilevabile al prelievo del 15esimo giorno di trattamento, 5 (55,6%) erano ESR1 negative anche al prelievo effettuato alla fine del trattamento ($p = 0,027$), suggerendo che la valutazione dinamica dell'evoluzione precoce clonale può essere utile la composizione clonale in caso di progressione di malattia.

In conclusione, lo studio ha vigorosamente messo in evidenza l'utilità clinica delle analisi effettuate su ctDNA plasmatico in pazienti affette da tumore alla mammella, dimostrando come già al 15esimo giorno di trattamento i cambiamenti dei livelli delle mutazioni di PIK3CA su ctDNA siano in grado di predire la risposta alla terapia con palbociclib e fulvestrant. Inoltre, le mutazioni a carico del gene ESR1, che albergano nelle cellule tumorali resistenti ad una precedente terapia ormonale, si sono rivelate essere presenti essenzialmente in subcloni tumorali; tuttavia, il monitoraggio dei livelli di tali mutazioni su ctDNA non ha un forte valore predittivo di PFS.

I risultati di questo studio dimostrano che il ctDNA può essere un biomcatore informativo clinicamente rilevante nel monitoraggio delle pazienti affette da tumore alla mammella e sottoposte a trattamento con gli inibitori CDK 4/6. Difatti, la valutazione dei cambiamenti precoci delle alterazioni geniche su ctDNA ha anticipato il miglioramento della PFS.

Parole chiave: DNA tumorale circolante, biomarcatori predittivi, inibitori CDK4/6, tumore mammario

Riferimento bibliografico

[O'Leary B](#) et al. *Nat Commun* 2018, 9(1):896.

L'IMMUNOCCLASSIFICAZIONE CARATTERIZZATA DALL'ESPRESSIONE DI CD8 E DI PD-L1 È ASSOCIATA ALL'ESITO CLINICO DEI PAZIENTI CON CANCRO GASTRICO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il carcinoma gastrico (GC) è il quinto tumore più comune al mondo ed è una delle principali cause di morte per cancro, in particolare in Asia orientale. Sebbene ci siano diverse opzioni di trattamento, tra cui chirurgia, chemioterapia, radioterapia e terapia mirata, la prognosi dei pazienti con GC è ancora insoddisfacente. Lo sviluppo di inibitori del checkpoint immunitario, come quelli diretti verso CTLA-4, PD-1 e PD-L1, possono offrire nuove speranze per il trattamento di questo carcinoma. Tuttavia, il tasso di risposta a questi farmaci è piuttosto basso (circa il 20-40%), quindi l'identificazione di biomarcatori per selezionare meglio i pazienti potenzialmente in grado di rispondere alla terapia è un obiettivo importante.

Gli attuali sistemi di classificazione per GC includono classificazioni clinico-patologiche convenzionali (principalmente classificazioni WHO e Lauren) e classificazione molecolare (definita dal Cancer Genome Atlas (TCGA) nel 2013). Tuttavia, meno del 10% di queste può predire la prognosi dei pazienti e difficilmente può fornire una guida per il trattamento. L'associazione di biomarcatori molecolari con gli esiti clinici è ancora indefinita; inoltre, con lo sviluppo dell'immunoterapia, c'è una chiara necessità di una classificazione di GC più raffinata e che comprenda i marcatori immunitari, per aiutare lo sviluppo di queste terapie e in definitiva migliorare la sopravvivenza da questa malattia.

In questo studio, sono stati valutati sia i fattori immunitari attivatori che inibitori nel microambiente tumorale (*tumor microenvironment*, TME), con l'obiettivo di identificare i marcatori immunitari per una nuova immunoclassificazione (IMC) che potrebbe predire meglio la prognosi e fornire una guida per la selezione della terapia.

Per l'ammissibilità è stato valutato l'Electronic Medical Record (EMR) di 454 pazienti GC trattati tra il 2009 e il 2013. Sono stati inclusi 147 pazienti con GC di stadio II o III documentato con un'età di insorgenza compresa tra 18 e 80 anni, senza gravi malattie cardiache/renali/disordini metabolici/epilessia/metastasi cerebrali/deficit immunitario. Tutti i pazienti avevano ricevuto chemioterapia convenzionale dopo gastrectomia D2. Sono stati ottenuti campioni FFPE (fissi in formalina e inclusi in paraffina) di questi pazienti.

L'estrazione del DNA è stata effettuata utilizzando il kit per DNA genomico di Purelink™ (Invitrogen, USA). La PCR e l'elettroforesi su gel sono state utilizzate per separare i sottogruppi sulla base della positività ad EBV. I tessuti FFPE sono stati tagliati in sezioni da 3-5 µm per ematossilina ed eosina (H&E) e colorazione immunohistochimica (IHC) di CD3, CD8 e PD-L1. L'IMC di GC è stato stabilito sulla base del numero di cellule T citotossiche (cellule T CD8+) e del livello di espressione di PD-L1 nell'area di infiltrazione tumorale (TI). La quantità mediana di cellule T CD8+ (24) è stata utilizzata per classificare l'infiltrazione citotossica delle cellule T (alta/bassa). Per quanto riguarda la valutazione dell'espressione di PD-L1, il valore soglia dell'IRS per definire l'IRS-high (alta espressione di PD-L1) e IRS-low (bassa espressione di PD-L1) è stato 3. Per IMC, sono stati identificati due gruppi: i pazienti con elevata infiltrazione di CD8+ e bassa/alta espressione di PD-L1 sono stati classificati nel gruppo SIR (Strong Immune Reaction), mentre quelli con ridotta infiltrazione di CD8 sono stati classificati nel gruppo WIR (Weak Immune Reaction).

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando SPSS versione 13.0 e MedCalc® versione 11.4.2.0, considerando il livello di significatività statistica $P < 0,05$.

Un totale di 147 pazienti sono stati arruolati in questo studio retrospettivo, tra cui 35 EBV positivi (+) e 112 EBV negativi (-). L'analisi di Kaplan-Meier ha mostrato che i pazienti con EBV- avevano una sopravvivenza

globale (OS) migliore rispetto ai pazienti EBV+ (HR = 2,37, IC 95%, 1,03-5,41, p = 0,011). I campioni EBV+ hanno mostrato un numero maggiore di cellule T CD3 + (media delle cellule T CD3: 153 [EBV+] vs 115 [EBV-]; OR = 2,91, IC 95% 1,27-6,68, p = 0,012) nel TME. Inoltre, l'analisi separata ha mostrato che la positività per EBV tendeva ad essere associata a più cellule T CD3 + nell'area marginale invasiva (IM) (media delle cellule T CD3: 105 [EBV+] vs 75 [EBV-]; OR = 2,80, IC 95% 1,21-6,46, p = 0,016). Tuttavia, nessuna differenza significativa nel numero di cellule T CD8 + è stata rilevata tra i pazienti EBV+ ed EBV- (media delle cellule T CD8 +: 94 [EBV+] vs 74 [EBV-]; OR = 1,75, IC 95% 0,80 -3,82, p = 0,16). È importante sottolineare che l'infezione da EBV era anche significativamente correlata con l'alto livello di espressione di PD-L1 nell'area TI (valore medio IRS: 2,4 [EBV +] vs 1,7 [EBV-]; OR = 2,57, IC 95% 1,13-5,82, p = 0,024), che può essere responsabile della distinzione prognostica tra i pazienti EBV+ ed EBV-.

Cinque pazienti sono stati eliminati per la mancanza di dati di espressione CD8 o PD-L1. In totale, 38 pazienti su 142 (26,8%) erano nel gruppo SIR e 104 (70,7%) nel gruppo WIR. Non ci sono state differenze significative nell'età di esordio, sesso, storia di alcolismo, stadio di TNM, posizione del tumore, stato di EBV o scelta per la chemioterapia tra questi due gruppi (p < 0,05). Tuttavia, i tumori del piloro (n = 99) hanno mostrato un'espressione di PD-L1 relativamente più bassa rispetto ai tumori in altre sedi (gruppo IRS: 20,2% vs 39,1%, r = 0,18, χ^2 p = 0,027).

L'analisi univariata per l'OS utilizzando il metodo Kaplan-Meier ha mostrato che i pazienti con WIR vivevano significativamente meno rispetto ai pazienti con SIR (HR = 3,37; IC 95%, 1,63-6,97; p = 0,015). L'analisi stratificata ha mostrato che il sottogruppo con alto numero di cellule T CD8 + e alta espressione di PD-L1 nei pazienti con WIR presentava la peggiore prognosi (p = 0,015), implicando che l'espressione di PD-L1 era significativamente correlata alla sopravvivenza. Inoltre, l'analisi di regressione di cox ha mostrato che genere maschile (HR = 3,88; IC 95%, 1,68-8,98; p = 0,002), stadio III (HR = 8,56; IC 95%, 1,05-69,74; p = 0,046), infezione da EBV (HR = 2,36, IC 95%, 1,03-5,37, p = 0,044) e regimi di trattamento non FOLFOX (HR = 2,94, IC 95%, 1,04-8,33, p = 0,043) erano anche associati a minor OS.

Precedenti studi hanno dimostrato che le cellule T CD3 + e CD8 + erano associate a una sopravvivenza migliorata nel cancro gastrico, mentre l'espressione di PD-L1 era solitamente associata a una prognosi sfavorevole del paziente. La co-localizzazione della risposta infiammatoria con l'espressione di PD-L1 nei tumori supporta un meccanismo di resistenza adattativa suggerito per classificare i tumori. In questo studio, i pazienti con SIR avevano un alto numero di cellule T CD8 + e bassa espressione di PD-L1 che indicava uno stato di forte attività immunitaria. Questi pazienti possono avere una migliore capacità di combattere le cellule tumorali. Al contrario, i pazienti WIR avevano un numero inferiore di cellule T CD8 + o cellule T CD8 + nulle che caratterizzavano l'elevata espressione di PD-L1 nella zona infiltrante del tumore. Pertanto, l'IMC potrebbe essere utilizzato per identificare pazienti GC con prognosi diversa in base al livello di TME. Gli agenti anti-PD-1 funzionano attraverso il legame a PD-1 su cellule T reattive ai tumori e inibiscono l'interazione tra PD-1 e PD-L1, stimolando così la risposta antitumorale delle cellule T. I risultati mostrano che i pazienti WIR hanno potenzialmente più bersagli farmacologici per PD-1/PD-L1 e più cellule T citotossiche per eliminare le cellule tumorali, confermate dall'alta espressione di PD-L1 e dagli alti livelli di CD8. Inoltre, i pazienti in questo sottogruppo hanno mostrato minore sopravvivenza, sottolineando la necessità di migliorare le opzioni di trattamento. L'IMC riportato potrebbe avere una futura applicazione clinica nel predire le risposte alla terapia del checkpoint immunitario.

Infine, i risultati hanno mostrato che i pazienti EBV+ hanno una sopravvivenza più breve rispetto ai pazienti EBV-. Secondo diversi studi, la relazione tra infezione da EBV e prognosi dei pazienti è controversa. Inoltre, è stato dimostrato che l'infezione da EBV è correlata ad una maggiore infiltrazione di cellule T CD8 + e cellule dendritiche mature; questi fattori possono parzialmente contribuire all'immunità antitumorale. Mentre l'infezione da EBV è risultata essere uno dei meccanismi intrinseci per la regolazione di PD-L1 ed è stata associata ad una maggiore espressione di questo fattore. Pertanto, l'infezione da EBV in GC può innescare un impatto sia positivo che negativo sulla progressione del cancro che può causare un'influenza complessa sullo stato immunitario del paziente e sulla prognosi. Ciò potrebbe in parte spiegare il ruolo controverso dell'infezione da EBV in GC.

Gli autori hanno confermato l'impatto dell'infezione da EBV sull'espressione di PD-L1 nella TME e sulla sopravvivenza dei pazienti con GC. Inoltre, hanno fornito una nuova immunoclassificazione di GC e valutato l'influenza di questa sulla prognosi dei pazienti.

Parole chiave: carcinoma gastrico, FOLFOX, EBV, PDL-1, CD8

Riferimento bibliografico

[Wang W](#) et al. *Oncotarget* 2018, 9(15): 12164-73

MIR-377 CONTRIBUISCE ALLA RESISTENZA AL CISPLATINO AGENDO SU XIAP NELL'OSTEOSARCOMA

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

L'osteosarcoma (OS) è una patologia aggressiva e altamente letale che affligge bambini ed adolescenti. Il cisplatino è uno dei chemioterapici prevalentemente utilizzato anche se un numero non trascurabile di pazienti ha una bassa risposta a questo trattamento, e questo si traduce con il fallimento della terapia o con la recidiva. Non esiste un singolo meccanismo che possa spiegare totalmente lo sviluppo della resistenza al cisplatino, ma sono state raccolte numerose evidenze che dimostrano l'importanza cruciale svolta dai miRNA nell'insorgenza di farmacoresistenza. In numerosi studi è stato dimostrato un ruolo contesto-dipendente svolto dal miR-377 nella progressione di diversi tumori: nella maggior parte di questi, il miR-377 agisce come un oncosoppressore, ma, nello studio condotto da Liu e colleghi, è emerso che questo piccolo RNA può avere un'attività pro-tumorigenica nel cancro al colon-retto (Liu WY et al. *J Cell Biochem* 2018, 119(2):2124-34). Un recente lavoro realizzato da Wang e collaboratori ha mostrato inoltre che una sovraespressione del miR-377 nelle cellule di OS inibisce la proliferazione e l'invasione cellulare agendo a livello di CDK6 (Wang L et al. *Tumour Biol* 2015, 36(5):3911-7). In seguito a queste premesse, l'attenzione dei ricercatori che hanno svolto questo studio si è focalizzata sul potenziale ruolo del miR-377 nelle cellule di OS resistenti al cisplatino.

Per realizzare questo studio sono stati arruolati 42 pazienti, 21 dei quali definiti scarsamente responsivi al trattamento (con un livello di necrosi tumorale <90% e indicati, in seguito, come chemioresistenti) e 21 responsivi - considerati poi come il gruppo di controllo. Entrambe le classi sono state trattate con un regime chemioterapico a base di metotressato/doxorubicina e cisplatino. In aggiunta, sono stati condotti esperimenti *in vitro* su linee cellulari di OS, le MG-63 (e il derivato resistente MG-63/CDDP) e le Saos-2 (e rispettivamente resistenti Saos-2/CDDP). Mediante analisi *in silico* (www.microna.org) gli autori hanno trovato che il gene XIAP risulta essere fra i principali target del miR-377, perciò, in queste cellule, sono stati trasfettati il miR-377 (concentrazione finale di 150 nmol/L), il plasmide di iperespressione pcDNA3.1-XIAP e il plasmide per la luciferasi pmiRGLO-XIAP (1 µg/ml entrambi). È stato estratto l'RNA totale con il trizol, e 1 µg di questo è stato retrotrascritto a cDNA; la vitalità cellulare è stata invece misurata mediante il kit CCK-8 trattando le cellule con concentrazioni crescenti di cisplatino per 72h. L'apoptosi è stata determinata utilizzando il kit Annexin V-FITC/PI e l'espressione proteica è stata valutata con il western blot. Per il saggio della luciferasi è stata clonata la 3'UTR di XIAP a valle del gene della luciferasi Firefly nel plasmide pmiRGLO e per introdurre la mutazione è stato utilizzato il kit QuickChange Site-Directed Mutagenesis. Le cellule Saos-2/CDDP sono state trattate con il miR-377 o il miR-NC (di controllo) insieme al plasmide *wild-type* (pmiRGLO-XIAP-WT) o alla versione mutata (pmiRGLO-XIAP-mut).

Analizzando l'espressione del miR-377 nei tessuti e nelle cellule di OS chemioresistenti è emerso che, rispetto ai controlli, il miRNA presenta un'espressione inferiore nei resistenti. Per dimostrare l'influenza del miRNA sulla risposta alla terapia, miR-377 è stato iper-espresso nelle cellule resistenti ed è stata analizzata la vitalità cellulare in seguito a trattamento con cisplatino in differenti dosaggi. Effettivamente, in questi esperimenti è stato osservato un significativo incremento della risposta al cisplatino nelle linee cellulari MG-63/CDDP e Saos-2/CDDP, e l'espressione del miRNA ha comportato una riattivazione della morte

cellulare per apoptosi in quest'ultima linea di OS. L'analisi in western blot ha confermato il fenomeno dell'apoptosi dipendente dalla caspasi-3 nelle cellule trasfettate con il miR-377. Dal saggio della luciferasi è emerso che la presenza del miR-377 riduce l'attività della luciferasi presente sul costrutto trasfettato nelle cellule Saos-2/CDDP in cui è stato clonato il plasmide WT, ma non ha la stessa attività quando nelle cellule è stato co-trasfettato il plasmide mutato. Questo esperimento conferma che XIAP è un target per il miR-377 nell'OS. Infine, i ricercatori hanno testato l'effettivo coinvolgimento dell'interazione miR-377/XIAP con la regolazione della resistenza al cisplatino nelle cellule di OS. Dalla co-trasfezione con il plasmide contenente la 3'UTR di XIAP o il plasmide vuoto e il miR-377 è stato dimostrato il ripristino dell'attività di XIAP. L'overespressione di XIAP è correlata ad una diminuzione dei livelli di PARP e una ridotta scissione delle caspasi-3, provocando un ritardo nell'apoptosi e suggerendo quindi che questo gene è implicato nello sviluppo di resistenza nei pazienti affetti da OS.

Un'espressione ridotta del miR-377 contribuisce all'insorgenza di resistenza al cisplatino nei pazienti con OS, attraverso un aumento degli effetti anti-apoptotici di XIAP. Perciò, il miR-377 potrebbe avere un potenziale valore terapeutico nell'affrontare la chemioresistenza nell'OS.

Parole chiave: Osteosarcoma, miR-377, chemioresistenza, cisplatino, XIAP

Riferimento bibliografico

[Liu XG](#) et al. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018, 22(5): 1249-57.

IL MIRNA-630 FAVORISCE UN *OUTCOME* CLINICO MIGLIORE ALLA CHEMIOTERAPIA BASATA SUL CISPLATINO NEL CANCRO AL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

I *microRNA* (*miRNA*) costituiscono una classe di piccoli RNA non codificanti, in grado di modulare l'espressione genica a livello post-trascrizionale. Tra questi, miR-630 gioca un ruolo importante nella progressione tumorale, agendo come oncogene ad esempio nel carcinoma coloretale, gastrico ed ovarico, oppure come oncosoppressore nel carcinoma ovarico ed esofageo. Scopo di questo lavoro è stato quello di esaminare il ruolo di miR-630, e del gene target Bcl-2, nella chemioresistenza e nella prognosi dei pazienti con cancro del polmone non a piccole cellule (NSCLC) dopo trattamento con chemioterapia basata sul cisplatino.

In questo studio sono stati raccolte 114 biopsie tumorali provenienti da pazienti con NSCLC che avevano avuto recidive e per questo trattati con chemioterapia basata sul cisplatino. Il valore medio di espressione di miR-630 misurato nei 114 casi è stato impiegato come cut-off per suddividere i pazienti in due sottogruppi (con elevati livelli di miR-630 o con bassi livelli). L'espressione di bcl2 è stata valutata mediante immunohistochimica (IHC).

Bassi livelli di espressione di miR-630 sono risultati maggiormente associati con stadi avanzati rispetto a stadi precoci (57.7% in stadio II e III vs 37.2% in stadio I, $p=0.034$); la bassa espressione del miRNA era inoltre correlata con elevati livelli di Bcl2 (68.4% vs 31.6%, $p=0.005$). Successivamente è stata analizzata l'associazione con la sopravvivenza. Le analisi di Kaplan-Meier hanno mostrato come i pazienti con bassi livelli di miR-630 ed elevati di Bcl2 avevano una minore overall survival (OS) e sopravvivenza libera da recidiva (RFS), rispetto a pazienti con alti livelli di miR-630 e bassi di Bcl2 ($p=0.024$ per OS e $p=0.027$ per RFS). La regressione di Cox ha inoltre indicato che l'espressione di miR-630 e Bcl2 avevano un significato prognostico per OS e RFS (bassi livelli di miR-630 per OS, HR=1.65 95%CI 1.02-2.64, $p=0.037$; per RFS, HR=1.90 95%CI 1.06-3.42, $p=0.031$; elevati livelli di Bcl2, per OS, HR=2.68, 95%CI 1.62-4.36, $p<0.001$; per RFS, HR=2.84 95%CI 1.51-5.33, $p=0.001$). Gli autori hanno quindi analizzato se tali livelli di espressione potevano essere correlati con la risposta chemioterapica. Su 114 pazienti arruolati, sono stati valutati 74

soggetti di cui si avevano i dati necessari. I pazienti con basso miR-630 e elevato Bcl2 mostravano una scarsa risposta alla chemioterapia basata sul cisplatino rispetto a quelli con alto miR-630 e basso Bcl2 (miR-630: 67.4% vs 30.3%, $p=0.003$; Bcl2: 67.4% vs 29%, $p=0.001$). Questi risultati suggeriscono che i bassi livelli di miR-630 e l'elevata espressione di Bcl2 possono predire una risposta sfavorevole alla chemioterapia in pazienti affetti NSCLC.

Per validare ulteriormente questi risultati, gli autori hanno analizzato il miR-630 in 6 linee cellulari di NSCLC (H23, A549, H1299, TL4 e CL1-0), ed eseguito il saggio MTT per il cisplatino. In generale, l'espressione di miR-630 era negativamente associata con il valore di IC50 per il cisplatino. Infine, trasfezioni di inibitori e mimic del miR-630 hanno permesso di osservare che una diminuita espressione del miR, conferiva alle cellule resistenza al cisplatino e promuoveva la formazione di colonie. Questo meccanismo sembra coinvolgere la modulazione del target Bcl2 anche *in vitro*, a supporto dell'ipotesi iniziale che vede un potenziale network di regolazione epigenetica miR-630/Bcl2.

Il lavoro nel complesso risulta ben strutturato, essendo costituito da una prima parte basata sul paziente ed una fase successiva di validazione dei risultati mediante l'utilizzo di modelli *in vitro*. Non è tuttavia ben chiara la scelta *a priori* di Bcl2 come target da validare, data la pleora di bersagli che un singolo miRNA può avere.

In conclusione, questo studio ha mostrato per la prima volta come i pazienti affetti da NSCLC, con bassa espressione di miR-630 ed elevati livelli di Bcl2 mostrano una scarsa risposta alla chemioterapia basata sul cisplatino.

Parole chiave: NSCLC, chemioterapia basata sul platino, miR-630

Riferimento bibliografico

[Chen MJ](#) et al. *Oncotarget* 2018, 9(17):13758-67.

FARMACOEPIGENETICA NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA: COINVOLGIMENTO DEI POLIMORFISMI DI MIRNA NELL'EPATOTOSSICITÀ

A cura delle Dott.sse Oksana Montecchini e Marianna Lucafò

La leucemia linfoblastica acuta è il tumore più comune dell'età infantile e riguarda circa il 30% dei pazienti oncologici pediatrici. Nonostante il successo delle terapie odierne che portano fino al 90% di sopravvivenza, gli effetti di tossicità che colpiscono circa il 66,5% dei pazienti pediatrici, sono ancora causa di rischio di mortalità.

La più comune tossicità farmaco-dipendente registrata è legata all'epatotossicità, che si manifesta per la maggior parte dei casi come un innalzamento dei livelli di aspartato aminotransferasi (AST) e alanina aminotransferasi (ALT) con conseguente morte epatocitaria. La fase di trattamento in cui l'epatotossicità può svilupparsi dipende dal tipo di farmaco utilizzato; i casi di tossicità epatica registrati sembrano, infatti, essere legati all'assunzione di asparaginasi (Asp) nel corso della prima fase di induzione e metotrexato (MTX) nella fase di consolidamento. Recentemente l'attenzione verte sempre più a studi di farmacoepigenetica che prevedono lo studio di miRNA e noncoding RNA la cui espressione viene associata all'espressione di geni che promuovono l'efficacia o meno di un farmaco. È nota, infatti, la presenza di variazioni genetiche di alcuni miRNA, in grado di modificarne la funzione o i livelli in termini di espressione, risultando poi in variazioni di espressione dei loro geni target. Si può ipotizzare che varianti in miRNA i cui target sono geni legati all'attività di Asp o MTX nelle fasi di induzione o consolidamento rispettivamente, possano di fatto essere causa dell'insorgere di tossicità epatica indotta da farmaco. Nel presente studio sono stati quindi analizzati tutti gli SNPs di miRNA che possono essere associati ad epatotossicità in pazienti pediatrici affetti da leucemia linfoblastica acuta di tipo B (B-LLA) trattati in maniera omogenea.

Lo studio di tipo retrospettivo è stato condotto su 179 pazienti pediatriche spagnoli affetti da B-LLA ricoverati presso le unità oncologiche pediatriche di tre diversi centri in Spagna, il cui consenso era stato ottenuto prima dell'arruolamento nello studio.

Tutti i pazienti sono stati trattati secondo il protocollo standard spagnolo LAL-SHOP 94/99/2005. Nella fase di induzione sono state somministrate 10 dosi a 5000-15000 μm^2 di Asp (assieme a vincristina, daunorubicina, prednisone, ciclofosfamide mentre per i pazienti ad alto rischio, al giorno +15, MTX a singola dose di 3 g/m^2). Nella fase di consolidamento, invece, i pazienti venivano trattati con tre somministrazioni di MTX ad alte dosi (ciascuna a 3 o 5 g/m^2) assieme a 6-mercaptapurina e 4 dosi di citarabina. I dati di tossicità epatica sono stati raccolti sulla base delle misure enzimatiche (AST e ALT) effettuate una volta a settimana nella fase di induzione e obbligatoriamente prima della somministrazione di MTX nella fase di consolidamento. L'epatotossicità è stata, quindi, classificata secondo gli standard della società di ematologia e oncologia spagnola e adattata secondo i criteri WHO. È stata considerata epatotossicità di grado da 2 a 4 ($>2.6\times$ upper limit of normal [ULN]) e epatotossicità severa (di grado da 3 a 4).

Tenendo presente che i target dei miRNA non sono completamente definiti e che qualsiasi miRNA può essere coinvolto direttamente o indirettamente nella regolazione di geni implicati nello sviluppo di tossicità epatica, sono stati selezionati tutti i miRNA i cui SNPs erano stati descritti fino al tempo dello sviluppo di questo studio (2014). Su un totale di 1910 SNPs in 969 miRNA, sono stati selezionati gli SNPs a minor frequenza allelica (>0.01 nella popolazione europea/caucasica) e per la selezione degli SNP sono stati utilizzati: miBase, miRNA SNIPER, dbSNP database e dati di letteratura. L'analisi di genotipizzazione, fatta su DNA estratto da sangue periferico o midollare, è stata eseguita mediante saggio Illumina GoldenGate Genotyping su piattaforma Veracode ed i dati sono stati analizzati con GenomeStudio (Illumina, Inc) escludendo gli SNPs che mostravano una trasmissione allelica di tipo non mendeliano.

Per ogni SNP la frequenza di distribuzione è stata testata per l'equilibrio di Hardy-Weinberg utilizzando lo standard χ^2 test, mentre l'associazione tra polimorfismi e epatotossicità è stata valutata attraverso χ^2 o Fisher test e tutti i risultati sono stati aggiustati utilizzando la correzione per i falsi positivi (FDR). Infine per determinare le variazioni nelle strutture secondarie dei miRNA è stato utilizzato lo strumento informatico RNAfold, in grado di calcolare la minor energia libera di ogni struttura secondaria e variazioni in essa.

Dei 179 pazienti arruolati per lo studio, solo per 168 erano disponibili i dati di tossicità epatica, di cui 55 risultavano avere un aumento nei livelli di transaminasi (grado tossicità ≥ 2) e 29 di livello severo (grado ≥ 3) durante la fase di induzione; mentre per la fase di consolidamento 49 risultavano avere una tossicità di grado ≥ 2 e 19 di grado severo (≥ 3).

In parallelo sono stati analizzati con successo 160 polimorfismi in 154 miRNA. Su 158 pazienti nella fase di induzione, sono stati individuati tre SNPs fortemente associati alla tossicità epatica di grado ≥ 2 e localizzati in miR-4707, miR-3689d2 e miR-300; mentre per la tossicità di grado severo (≥ 3) due sono gli SNPs associati e localizzati rispettivamente su miR-5197 e miR3936. Nessuno di questi però dava risultati significativi a seguito delle correzioni FDR. In merito al consolidamento sono stati identificati 3 SNPs associati alla tossicità di grado ≥ 2 (localizzati su miR-1208, miR-3615 e miR-3144) e 8 SNPs per la tossicità di grado severo (≥ 3), localizzati su miR-1208, miR-4745, miR-4467, miR-5189, miR-1908, miR-5197 e miR-4472-1. Di questi, a seguito della correzione FDR, solo uno è risultato essere significativo, l'rs2648841 in miR-1208 associato ad epatotossicità di livello ≥ 2 , nel quale si osserva un calo del rischio di tossicità di circa 0.1 con un p-value di 0.0004 e con un p-value di 0.001 per pazienti con tossicità severa (≥ 3). Lo SNP consiste in una variazione GT + TT e la presenza dell'allele T sembra determinare un cambio conformazionale nella struttura secondaria che riduce la stabilità del miRNA maturo con conseguente incremento nell'espressione dei suoi target. I dati ottenuti mediante analisi con il database miRWalk ha permesso di individuare i potenziali mRNA target del miR-1208, che sembrerebbe essere coinvolto nella *pathway* del MTX. In particolare, tra i possibili target del miR-1208 vi sono geni implicati nella farmacodinamica (*DHFR*, *MTHFR*, *MTR*) e nella farmacocinetica (*SLCO1A2* e *SLC46A1*) del MTX. L'effetto che l'allele T ha sull'epatotossicità viene quindi spiegata dagli autori esaminando quali siano le possibili conseguenze dovute all'aumento di espressione di questi geni. A seguito dell'incremento in termini di espressione dei geni coinvolti nella *pathway* della farmacodinamica, si potrebbe osservare infatti un calo dell'apoptosi epatocitaria. Diverso il caso dei geni

coinvolti nella farmacocinetica del farmaco, il cui ruolo è strettamente legato al trasporto del MTX dal plasma al fegato, che non sembrerebbero essere implicati nel meccanismo che porta a tossicità epatica nella coorte presa in esame, in quanto i livelli del MTX non sono risultati essere associati all'aumento di transaminasi. E' da tenere presente però, che il miR-1208 è coinvolto anche nelle *pathways* della 6-mercaptopurina, regolando geni quali *TPMT*, *ABCC5* e *NT5C2* ed un aumento nei livelli di espressione di questi geni determina rispettivamente una maggior inattivazione del farmaco, una diminuzione dei livelli di metaboliti a livello epatocitario e inattivazione, spiegando ulteriormente il ruolo di protezione di rs2648841.

L'rs2648841 in miR-1208 è significativamente associato ad epatotossicità nella fase di consolidamento, probabilmente per il coinvolgimento in una maggiore espressione di *DHFR*, *MTHFR*, *MTR*. Potrebbe essere interessante validare l'effetto di questo SNP anche in altre coorti.

Parole chiave: chemioterapia; leucemia linfoblastica acuta pediatrica; epatotossicità; metotrexato, miRNA; SNPs

Riferimento Bibliografico

[Gutierrez-Camino A et al. Epigenomics 2018, 10\(4\):409-17.](#)

IMMUNOMODULAZIONE

IDENTIFICAZIONE DELL'ASSOCIAZIONE TRA HLA-DRB1 ED IMMUNOGENICITÀ DI ADALIMUMAB

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'artrite reumatoide (RA) e l'idrosadenite suppurativa (HS) sono disturbi autoimmuni mediati in parte dall'iperespressione del TNF- α (Nazary M et al. Eur J Pharmacol 2011, 672(1-3):1-8; Van Der Zee HH et al. Br J Dermatol 2011, 164:1292-8). L'adalimumab, anticorpo monoclonale ricombinante umano, lega il TNF- α impedendo il legame tra ligando-recettore con conseguente neutralizzazione della funzione biologica. Il farmaco è stato utilizzato per diversi anni nei pazienti affetti da RA e da altre patologie autoimmuni, e recentemente ha ottenuto l'indicazione per l'HS (Kimball AB et al. N Engl J Med 2016,375(5):422-3). Sebbene sia un anticorpo completamente umano, possiede una certa immunogenicità ed alcuni pazienti sviluppano anticorpi anti-adalimumab (AAA) che possono ridurre l'effetto terapeutico (Thomas SS et al. BioDrugs 2015, 29:241-58; Radstake TRDJ et al. Ann Rheum Dis 2009, 68:1739-45; Bartelds GM et al. Ann Rheum Dis 2007, 66(7):921-6; Bartelds GM et al. Ann Rheum Dis 2006, 65:1249-50). Diverse strategie sono state utilizzate per ridurre la formazione di AAA, tra cui l'uso concomitante di metotrexato o una frequenza più alta di somministrazione (settimanale invece che a settimane alterne). Tuttavia, il ruolo di fattori legati al paziente non è stato ancora chiarito. La formazione di anticorpi anti-farmaco è stata associata con la presenza di alcuni alleli HLA (Jawa V et al. Clin Immunol 2013, 149(3):534-55). Gli alleli HLA-DRB1 sono stati associati ad esempio con la formazione di anticorpi anti-interferone- β e anti-infliximab (Schaefferbeke T et al. Rheumatol 2015, 55(2):210-20; Thomas SS et al. BioDrugs 2015, 29:241-58; Burmester GR et al. Rheumatol 2015, 55(1):49-55).

Scopo di questo studio è stato quello di valutare la relazione tra alcune varianti HLA e la formazione di anticorpi AAA.

Sono stati arruolati pazienti provenienti da 4 diversi studi clinici, CONCERTO e MUSICA per soggetti affetti da RA trattati con 40 mg a settimane alterne per 24 settimane e metotrexato per os, e PIONEER I e II per soggetti affetti da HS trattati con 40 mg/settimana o a settimane alterne per 36 settimane. I prelievi per la

misurazione di adalimumab e delle concentrazioni di AAA sono stati ottenuti al basale e alle settimane 2 (solo CONCERTO), 4, 8, 12, 16, 20, 24/26 nei pazienti con RA, e al basale e alle settimane 4, 12, 16, 24 e 36 nei pazienti con HS. I soggetti AAA+ con concentrazioni ≥ 100 ng/ml e adalimumab plasmatico non rilevabile sono stati selezionati per la tipizzazione HLA. Un totale di 365 soggetti affetti da RA (17 AAA+ e 348 controlli negativi) e 269 affetti da HS (20 AAA+ e 249 controlli negativi) sono stati inclusi nell'analisi HLA.

All'analisi con test esatto di Fisher, i portatori degli alleli HLA-DRB1*01 e *07 erano meno prevalenti tra i pazienti AAA+ rispetto ai negativi (OR = 0.259, P = 0.012 e OR = 0.281, P = 0.018 rispettivamente). I portatori degli alleli HLA-DRB1*03 e *11 erano invece più prevalenti tra i pazienti AAA+ rispetto ai negativi (OR = 2.519, P = 0.006 e OR = 2.24, P = 0.019 rispettivamente). Infine, i portatori dell'allele HLA-DQB1*05 erano meno prevalenti nei pazienti AAA+ rispetto ai negativi (OR = 0.4, P = 0.012).

In questo studio è stata valutata l'associazione tra la presenza di varianti HLA e la formazione di anticorpi AAA in pazienti affetti da RA e HS trattati con adalimumab. I risultati suggeriscono che i portatori degli alleli HLA-DRB1*01 e HLA-DQB1*05 possono essere protetti dalla formazione degli AAA mentre i portatori dell'HLA-DRB1*03 sono più a rischio. Questi dati sono in accordo con quelli riportati di recente per infliximab ed interferone- β (Schaefferbeke T et al. *Rheumatol* 2015, 55(2):210-20; Hoffmann S et al. *Am J Hum Genet* 2008, 83:219-27; Buck D et al. *Arch Neurol* 2011, 68:480-7; Link J et al. *PLoS One* 2014, 9(3): e90479).

In soggetti in trattamento con adalimumab, specifici alleli HLA sono associati con un rischio ridotto o aumentato di formazione di anticorpi anti-farmaco. Questi dati supportano ulteriormente la possibilità di una risposta variabile nei singoli pazienti trattati con anti-TNF.

Parole chiave: artrite reumatoide, idrosadenite suppurativa, HLA, adalimumab

Riferimento bibliografico

Liu M et al. *PLoS One* 2018, 13(4): e0195325.

NEUROLOGIA

ANALISI DELL'ASSOCIAZIONE DEI POLIMORFISMI DI *MIR124-1* E DEL SUO GENE TARGET *RGS4* CON LA DEPRESSIONE MAGGIORE E LA RISPOSTA AGLI ANTIDEPRESSIVI

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'eziologia del disturbo depressivo maggiore (MDD) e il meccanismo degli antidepressivi non sono ancora ben noti. I microRNA (miRNA) sono piccoli RNA *noncoding single-stranded* che regolano l'espressione dell'mRNA *target* attraverso il legame a siti di complementarietà *antisense* nelle regioni 3'*untranslated* (3'UTRs). I miRNA giocano un ruolo fondamentale nel neurosviluppo, regolando negativamente l'espressione genica. Disfunzioni del miRNA e dei loro *target* potrebbero avere un ruolo anche nel MDD. Il miR-124 regola geni chiave per il MDD, come, ad esempio, il *regulator of G protein signaling 4 (RGS4)*. La disregolazione dell'espressione del miR-124 è stata dimostrata *postmortem* nel tessuto cerebrale dei pazienti depressi. Inoltre, i livelli di espressione del miR-124 nelle cellule mononucleate del sangue di pazienti depressi sono significativamente più alti dei controlli e downregolati dopo 8 settimane di trattamento.

Uno SNP funzionale rs531564 (g.9.903.189C.G) localizzato nella regione pri-miRNA del gene *MIR124-1* causa differenti livelli di espressione del miR-124 maturo. Il gene *RGS4*, uno dei geni *target* del miR-124, è

ampiamente distribuito ed espresso in molte regioni cerebrali e regola le cascate del *signaling* post-recettore dei recettori *G-protein-coupled*, comprendenti recettori adrenergici, muscarinici, oppioidi, serotonergici e dopaminergici. L'espressione del gene *RGS4* è downregolata nell'amigdala dei soggetti con MDD e upregolata nel cervello di pazienti con MDD che hanno ricevuto in vita antidepressivi agenti sul sistema monoaminergico. Il polimorfismo rs10759, localizzato nella regione 3'UTRs del gene *RGS4* sembra aumentare il rischio di schizofrenia alterando il legame del miRNA-124 al suo *target*. Lo SNP rs951436, un altro polimorfismo di *RGS4*, è stato associato alla riduzione di volume di specifiche regioni cerebrali coinvolte nel movimento, nel tono dell'umore e nei processi cognitivi. Pertanto, lo scopo del presente studio è valutare se questi SNPs (rs531564 del gene *MIR124-1* e SNPs rs10759 e rs951436 del suo gene *target RGS4*) siano associati al MDD e all'efficacia del trattamento con antidepressivi in una popolazione Cinese.

La popolazione consisteva di 225 pazienti ambulatoriali diagnosticati secondo i criteri del DSM-IV. Criteri di inclusione: etnia Han, età 18-65 anni e punteggi della *Hamilton Rating Scale for Depression 17-item* (HAMD-17) ≥ 18 . Criteri di esclusione: altre patologie dell'Asse I del DSM-IV, gravi patologie internistiche correlabili eziologicamente all'episodio depressivo, grave rischio suicidario, donne in stato di gravidanza o in allattamento. Il gruppo di controllo era costituito da 436 soggetti normali della stessa etnia con anamnesi psichiatrica negativa. Solo 103 pazienti hanno completato lo studio. I pazienti sono stati trattati con paroxetina (N=24), duloxetina (N=13), agomelatina (N=8), venlafaxina (N=13) e bupropione (N=45) in monoterapia, previo un adeguato periodo di *washout*. In aggiunta, erano consentiti solo farmaci per l'insonnia: zolpidem (N=1), zopiclone (N=4) o clonazepam (N=1). I sintomi clinici dei pazienti sono stati valutati al *baseline* (settimana 0), e alle settimane 2, 4, 6 e 8 tramite la HAMD-17, la *Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale* (MADRS) e la *Clinical Global Impression (CGI) scale*. I *responders* sono stati definiti i pazienti con una riduzione del 50% del punteggio Hamilton di base alla fine della settimana 8, mentre i *remitters* i pazienti con un punteggio della HAMD-17 ≤ 7 . I tre polimorfismi sono stati genotipizzati con *TaqMan assays* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

L'analisi dei dati ha rivelato una differenza significativa nella distribuzione dei pazienti per genere: MDD (82 maschi e 143 femmine) e i controlli sani (152 maschi e 284 femmine, $p=0,000$). L'età media dei *remitters* era significativamente maggiore dei *non-remitters* ($t=2,334$, $p=0,022$).

L'analisi delle interazioni gene-gene ha rivelato che l'azione combinata dei tre SNPs potrebbe aumentare il rischio di MDD; le potenziali interazioni gene-gene tra *MIR124-1* e *RGS4* potrebbero quindi avere un ruolo nella patogenesi del MDD. Dall'analisi dell'associazione di rs951436 con la risposta e lo stato di remissione dei pazienti è emersa un'associazione nelle frequenze genotipiche di rs951436 tra i gruppi *responder* e *non-responders* e tra i gruppi *remitter* e *non-remitter*, ma la significatività non è stata confermata dopo correzione di Bonferroni. I portatori eterozigoti di rs951436 avevano una probabilità 3 volte maggiore di raggiungere la remissione clinica completa (OR =3,00, 95% CI =1,33-6,76, $p=0,007$, correzione $p=0,021$) e 3,21 volte maggiore probabilità di raggiungere una risposta clinica (OR =3,21, 95% CI =1,13-9,14, $p=0,022$, correzione $p=0,066$) rispetto agli omozigoti per rs951436 (AA+CC) dopo le 8 settimane di trattamento. Non è emersa nessuna associazione nelle frequenze genotipiche degli altri due SNPs. Dall'analisi dell'associazione di rs951436 con le variazioni del punteggio HAMD-17 è emerso che gli omozigoti AA+CC di rs951436 mostravano una risposta peggiore agli antidepressivi e una minore percentuale di riduzione dei punteggi HAM-D alle 8 settimane, rispetto agli eterozigoti AC, e associazioni significative alle settimane 6 (AA+CC vs AC) e 8 (AA+CC vs AC) dopo aggiustamento per età e genere. Tuttavia la significatività spariva dopo la correzione di Bonferroni.

Lo SNP rs531564, in quanto variante funzionale nel gene *MIR124-1* può influire sui livelli di espressione del miR-124 maturo e quindi essere coinvolto nei meccanismi di neuroplasticità e *neurosignaling*. Diversamente dalle aspettative, dal presente studio non è emersa nessuna associazione di rs531564 con il MDD e con l'efficacia degli antidepressivi nelle frequenze alleliche e genotipiche. Tuttavia, potrebbero esserci dei falsi negativi a causa del limite derivante dalle dimensioni del campione. Questo studio ha invece mostrato che l'eterozigosi (AC) di rs951436 potrebbe essere predittiva di una migliore risposta agli antidepressivi. Studi recenti hanno dimostrato che bassi livelli di espressione di *RGS4* possono causare

compromissione della memoria e che l'*overexpression* può sopprimere sia l'attività comportamentale sia i livelli di fosfo-ERK.

In questo studio vi sono diverse limitazioni. Il campione considerato è relativamente piccolo, soprattutto quello riguardante i pazienti trattati col farmaco. Inoltre, nello studio non sono stati considerati alcuni fattori che possono avere influenzato la risposta agli antidepressivi, come, ad esempio, il dosaggio ed il tipo di antidepressivo, i farmaci per l'insonnia, la distinzione tra primo episodio o ricomparsa, il *body mass index*, ecc. Infine, gli SNPs selezionati in questo studio non forniscono una copertura completa dei geni *MIR124-1* e *RGS4*, suggerendo, per il futuro, la necessità di esaminare altri polimorfismi.

In conclusione, il presente studio suggerisce un effetto di interazione tra polimorfismi di *MIR124-1* e *RGS4* sullo sviluppo del disturbo depressivo maggiore e fornisce evidenze preliminari di un possibile ruolo predittivo dei polimorfismi del gene *RGS4* nella risposta agli antidepressivi nella popolazione Cinese.

Parole chiave: polimorfismi, *MIR124-1*, *regulator of G protein signaling 4*, depressione, antidepressivi, interazione gene-gene

Riferimento bibliografico

[Zeng](#) et al. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2018, 14: 715-23.

STUDIO DI FARMACOGENETICA SULL'ENZIMA DOPAMINA B-IDROSSILASI NEL TRATTAMENTO CON DOXAZOSINA DELLA DIPENDENZA DA COCAINA

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il disturbo da uso di cocaina (CUD) rappresenta un significativo problema medico e sociale. Nel 2014, il numero di persone che assumevano cocaina negli Stati Uniti è stato stimato in 1,5 milioni (lo 0,6% della popolazione), e l'utilizzo di cocaina è stato stimato essere responsabile di un terzo dei casi di visite al dipartimento di emergenza dovute all'utilizzo di sostanze. Attualmente non esistono farmaci approvati dall'FDA per il trattamento del CUD. La cocaina aumenta i livelli di neurotrasmettitori catecolaminergici legandosi ai loro trasportatori e bloccandone il *reuptake* da parte delle sinapsi nel sistema nervoso centrale. Anche se la dopamina è il principale neurotrasmettitore coinvolto nel mediare gli effetti cronici legati all'assunzione di cocaina, anche la noradrenalina esercita un ruolo critico nel mediare gli effetti farmacologici e comportamentali indotti da questa sostanza. La dopamina è convertita in noradrenalina dall'enzima limitante dopamina β -idrossilasi (DBH). È stato stimato che un polimorfismo funzionale nella regione del promotore del gene *DBH* possa influenzare fino al 52% della variabilità nei livelli dell'enzima DBH. L'allele T è associato ad una riduzione dei livelli dell'enzima e ad una ridotta trasformazione della dopamina in noradrenalina. I bassi livelli di noradrenalina possono influenzare gli effetti adrenergici della cocaina mediati da questo trasmettitore, tra i quali quelli legati a *reward*, *craving* e astinenza. I pazienti che presentano questa variante del gene potrebbero essere maggiormente sensibili al blocco post-sinaptico dei recettori α -adrenergici per via dei loro più bassi livelli di enzima e dei conseguenti più bassi livelli di noradrenalina, oltre che della potenziale maggiore sensibilità dei recettori noradrenergici. La capacità massima di legame dei recettori adrenergici può essere modulata da molteplici fattori ma, in particolare, dalla disponibilità del ligando. In uno studio precedente, gli autori hanno mostrato che i pazienti con l'assetto genetico della variante C-1021T (rs1611115) del gene *DBH* associata a livelli maggiori o normali di noradrenalina, mostrano un consumo minore di cocaina. Nel presente studio gli autori hanno ipotizzato che i soggetti portatori dell'allele T di questa variante, che presentano livelli minori di noradrenalina, potrebbero mostrare una maggiore risposta alla doxazosina, che esercita un blocco post-sinaptico dei recettori α 1-adrenergici. La doxazosina è un antagonista α 1-adrenergico approvato per il trattamento dell'ipertensione e dell'iperplasia prostatica benigna, per il quale sono state mostrate evidenze preliminari promettenti per il trattamento del CUD.

Gli autori hanno condotto uno studio farmacogenetico in doppio cieco, randomizzato e controllato con placebo, della durata di 12 settimane. Lo studio ha coinvolto 76 pazienti con diagnosi di dipendenza da cocaina in accordo con i criteri del DMS IV. I criteri di esclusione comprendevano: diagnosi di altre dipendenze da sostanze o da alcool, condizioni mediche rilevanti o non stabili che richiedessero un trattamento farmacologico, storia di psicosi, schizofrenia o disturbo bipolare, tentativi di suicidio, gravidanza e incapacità di offrire il consenso. I partecipanti sono stati randomizzati al gruppo placebo (n = 29, 16 con genotipo CC vs 13 CT/TT) o doxazosina 8 mg/die (n = 47, 33 CC vs 14 CT/TT). I pazienti hanno effettuato tre visite di controllo a settimana, con esame tossicologico delle urine, per 12 settimane. Il *craving* per la cocaina è stato testato ogni settimana tramite la Cocaine Selective Severity Assessment Visual Analog Scale, che assegna un punteggio da 0 (nessun desiderio di assumere la sostanza) a 7 (desiderio non controllabile). Inoltre, i partecipanti allo studio hanno effettuato una seduta alla settimana di psicoterapia cognitivo-comportamentale.

La variante C-1012T del gene *DBH* è stata genotipizzata su sangue genomico tramite metodo TaqMan. Le caratteristiche demografiche dei partecipanti che differivano per genotipo e gruppo di trattamento sono state confrontate utilizzando il testo del chi-quadrato o un modello lineare generalizzato. La percentuale di test tossicologici positivi per cocaina è stata calcolata utilizzando la seguente formula: numero di test positivi / numero totale di test delle urine in ognuno dei blocchi di due settimane dei quali si componevano le 12 settimane del trial. La percentuale di test dalla settimana 3 alla 12 è stata confrontata tra i gruppi utilizzando un test ANOVA per misure ripetute, inserendo la percentuale relativa alle prime due settimane (*baseline*) come covariata. Sono stati confrontati i gruppi relativi a trattamento (doxazosina vs placebo), genotipi del gene *DBH* (CC vs CT/TT) e tempo (ogni blocco di 2 settimane) e sono state analizzate le interazioni tra questi tre fattori.

I gruppi di studio non differivano per severità della dipendenza, numero di giorni di assunzione di cocaina nel mese precedente, durata della dipendenza e tasso di *dropout* dallo studio.

La percentuale di test delle urine positivi per cocaina è risultata inferiore nel gruppo di pazienti trattati con doxazosina rispetto al gruppo trattato con placebo ($p = 0,002$). Il trattamento con doxazosina ha ridotto del 15% la percentuale di test positivi rispetto al *baseline* e del 25% rispetto al gruppo placebo.

Il trattamento con doxazosina è stato associato ad una maggiore percentuale di riduzione del numero di test delle urine positivi per cocaina nel gruppo con genotipo CT/TT rispetto al gruppo CC ($p = 0,007$), con una riduzione del 40,7% rispetto al *baseline* nel gruppo CT/TT. La dose di doxazosina utilizzata nello studio non ha esercitato effetti sulla pressione arteriosa prima o dopo il trattamento. L'unico evento avverso verificatosi nel corso dello studio è stato un caso di rash durante la prima settimana di trattamento, successivamente attribuito a trattamento con metronidazolo. Il partecipante è stato escluso dallo studio.

I limiti dello studio comprendono la dimensione del campione limitata, una maggiore presenza di partecipanti di origine Africana nel gruppo con genotipo CC, della quale è stato tenuto conto nelle analisi, e l'assenza di partecipanti con dipendenza da alcool, che rappresenta una comorbidità frequente dei pazienti con CUD in un *real-world setting*.

In conclusione, lo studio ha fornito evidenze preliminari relative ad una maggiore efficacia della doxazosina nella riduzione dei test delle urine positivi per cocaina nei pazienti con disturbo da uso di cocaina con genotipi C-1012T CT/TT del gene *DBH* rispetto al genotipo CC.

Parole chiave: doxazosina, disturbo da uso di cocaina, *DBH*

Riferimento bibliografico

[Zhang X](#) et al. *Addict Biol* 2018 Mar 2 [Epub ahead of print],

LA METANALISI DEL MESE

STUDIO DELL'ASSOCIAZIONE TRA DUE POLIMORFISMI DEL GENE SCN1A E LA RESISTENZA AL TRATTAMENTO CON FARMACI ANTI-EPILETTICI BLOCCANTI DEI CANALI DEL SODIO

A cura della Dott.ssa Sarah Cargin

L'epilessia è un disturbo neurologico cronico caratterizzato dal manifestarsi di episodi di attività neuronale sincronizzata anormale. Nonostante ad oggi si disponga di un'ampia gamma di farmaci efficaci nel controllo delle crisi epilettiche, un terzo circa dei pazienti risulta non rispondere a tali terapie farmacologiche. Nell'ultima decade sono stati condotti numerosi studi farmacogenetici mirati a stabilire la correlazione tra la variabilità genetica individuale e la risposta clinica agli antiepilettici. Tra i geni candidati più studiati in tale contesto si annoverano quelli codificanti per i canali del sodio voltaggio-dipendenti, noti per svolgere un ruolo chiave nel modulare i potenziali di azione ad alta frequenza a livello neuronale e per essere il target farmacologico di molti farmaci antiepilettici, tra cui carbamazepina, oxcarbamazepina, fenitoina, lamotrigina e topiramato. Nello specifico, tali farmaci, legandosi alla subunità α dei canali del sodio voltaggio-dipendenti di tipo 1, agiscono bloccando l'attività del canale e stabilizzando, così, le membrane neuronali ipereccitate. Oltre una ventina di studi farmacogenetici sono stati condotti al fine di valutare la correlazione tra la resistenza ai farmaci antiepilettici e alcune varianti del gene SCN1A, codificante per la subunità α dei canali del sodio voltaggio-dipendenti di tipo 1. Di queste varianti genetiche, le più studiate sono state rs2298771 e rs3812718, note per impattare, rispettivamente, sulla funzionalità del canale e sulla sua espressione. Alla luce di evidenze farmacogenetiche contrastanti in tale contesto, l'obiettivo del presente studio di meta-analisi è stato quello di quantificare l'associazione tra i polimorfismi SCN1A rs2298771 G>A, rs3812718 G>A e la resistenza a farmaci antiepilettici bloccanti i canali del sodio in pazienti affetti da epilessia.

La ricerca bibliografica è stata condotta nel mese di ottobre 2017 utilizzando i motori di ricerca PubMed, Embase, Cochrane Library e MEDLINE. Sono stati considerati eleggibili gli studi pubblicati in lingua inglese in cui i) venisse valutata la correlazione tra le varianti SCN1A rs2298771,rs3812718 e la resistenza al trattamento monoterapico con carbamazepina, oxcarbamazepina, fenitoina, lamotrigina, topiramato, zonisamide e lacosamide; ii) fossero riportate in maniera esplicita le distribuzioni genotipiche per le varianti di interesse sia nei soggetti *responder* che *non-responder* alla terapia. Al contrario, sono stati esclusi dalla meta-analisi i) gli studi primari in cui sono stati arruolati pazienti epilettici affetti da altre comorbidità maggiori, ii) lavori in duplicato, iii) pubblicazioni in cui le distribuzioni genotipiche non rispettassero l'equilibrio di Hardy Weinberg nel gruppo di controllo, iv) reviews, abstract congressuali, commenti ed editoriali nonché v) lavori riportanti in maniera incompleta i dati di associazione genetica. Di ciascuno studio, sono stati estratti i dati relativi a i) nazionalità ed età dei pazienti inclusi, ii) criterio utilizzato per definire la risposta al trattamento, iii) tipo clinico di epilessia, iv) farmaco somministrato e v) distribuzione genotipica nei pazienti resistenti e responsivi al trattamento farmacologico. La stima meta-analitica dell'associazione tra i polimorfismi in studio e la resistenza ai farmaci antiepilettici, espressa come OR e relativi intervalli 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. L'associazione genetica è stata stimata nei modelli genetici dominante (AA+AG vs GG), recessivo (AA vs AG+GG), omozigote (AA vs GG), eterozigote (AG vs GG) e allelico (A vs G). 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. L'eventuale presenza di *bias* di pubblicazione è stata stimata mediante test di Egger e Begg.

Delle 480 pubblicazioni emerse dalla ricerca bibliografica, 8 studi sono stati inclusi nella meta-analisi. In ciascuno di questi lavori è stata stimata la correlazione tra lo SNP rs3812718 e la resistenza ai farmaci

antiepilettici ($N_{\text{pazienti}}=1064$), mentre solo in 4 di questi è stato analizzato il polimorfismo rs2298771 ($N_{\text{pazienti}}=795$). Dalla meta-analisi non emerge una correlazione statisticamente significativa tra lo SNP rs3812718 e la resistenza alla terapia con farmaci antiepilettici in tutti i modelli genetici analizzati (A vs G: OR 0.98, 95% CI 0.86-1.11, $P=0.73$, $I^2=0\%$). Al contrario, i portatori dell'allele A per la variante SCN1A rs2298771 sono risultati avere un rischio più basso di essere resistenti ai farmaci antiepilettici rispetto ai portatori dell'allele G (A vs G: OR 0.76, 95% CI 0.61-0.95, $P=0.02$, $I^2=33\%$; AA vs AG+GG: OR 0.71, 95% CI 0.54-0.94, $P=0.02$, $I^2=34\%$). La robustezza dei risultati di associazione genetica ivi ottenuti è stata confermata da un'analisi di sensibilità. Infine, non è emerso un significativo bias di pubblicazione ($p>0.05$).

I risultati della presente meta-analisi suggeriscono come il polimorfismo SCN1A rs2298771 sia statisticamente correlato alla resistenza ai farmaci antiepilettici che agiscono bloccando i canali del sodio di tipo 1. Nello specifico, la variante esonica rs2298771 (c.3184A>G/p. Thr1067Ala), che consiste nella sostituzione di una treonina con un'alanina in posizione 1067, è nota risultare in un'alterazione strutturale e funzionale dei canali del sodio voltaggio-dipendenti. Tale alterazione sembra impattare sull'interazione farmaco-target terapeutico, influenzando, così, la risposta clinica ai farmaci antiepilettici. Si sottolinea, tuttavia, come i risultati della presente meta-analisi debbano essere interpretati alla luce delle seguenti limitazioni: i) la dimensione campionaria su cui è stata calcolata la stima meta-analitica di associazione genetica per la variante SCN1A rs2298771 è ridotta ($N_{\text{studi}}=4$; $N_{\text{pazienti}}=795$); ii) essendo più della metà degli studi ivi inclusi condotti su pazienti di etnia asiatica, i risultati di associazione genetica potrebbero non essere rappresentativi di gruppi etnici diversi da quello asiatico; iii) definire come eleggibili gli studi pubblicati unicamente in lingua inglese può avere introdotto un bias di lingua; iv) non è stato possibile valutare l'impatto di variabili cliniche, quali sesso, età, tipo/durata/severità dell'epilessia, sulla stima complessiva dell'associazione genetica; v) non è stato possibile analizzare l'impatto dell'aplotipo di SCN1A, delle interazioni gene-gene e gene-ambiente sulla risposta clinica ai farmaci anti-epilettici. Alla luce di tali limitazioni, i risultati della presente meta-analisi non possono essere considerati come conclusivi e necessitano di essere replicati in ampie coorti multiethniche di pazienti epilettici, omogenei per trattamento farmacologico.

L'allele A della variante SCN1A rs2298771 è risultato essere correlato ad un ridotto rischio di resistenza ai farmaci antiepilettici bloccanti dei canali del sodio voltaggio-dipendenti.

Parole chiave: epilessia , SCN1A, bloccanti dei canali del sodio

Riferimento bibliografico

[Bao Y](#) et al. *Neurol Sci* 2018 Mar 26 [Epub ahead of print].



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

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

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

SIF – FARMACOGENETICA**Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia**

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Oksana Montecchini (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Eleonora Rofi (Università di Pisa) 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.
