



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 106 – Maggio 2018

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Tumore del polmone a piccole cellule (SCLC): nivolumab in monoterapia o in associazione ad ipilimumab più efficace nei pazienti con un elevato carico mutazionale
- Livello di emoglobina e polimorfismi del gene XRCC1 per la selezione di pazienti con car-cinoma del retto localmente avanzato candidati per chemioradioterapia neoadiuvante con concomitante capecitabina in associazione a un regime a base di platino
- L'asse miR-3127-5p/p-STAT3 up-regola il PD-L1 inducendo chemioresistenza nel cancro al polmone non a piccole cellule
- Il miR-22 sierico come potenziale predittore di outcome clinico in pazienti di nuova diagnosi affetti da linfoma diffuso a grandi cellule B uniformemente trattati: uno studio pilota esplorativo

⇒ Immunomodulazione

- Confronto tra i polimorfismi di TPMT e NUDT15 in pazienti cinesi con malattia infiammatoria cronica intestinale
- Efficacia del secukinumab indipendentemente dallo status dell'HLA-Cw6 in pazienti con psoriasi a placche moderata-severa: studio SUPREME

⇒ Neurologia

- Polimorfismi della subunità alfa 5 del recettore colinergico nicotinico sono associati al successo della cessazione del fumo di sigaretta nelle donne
- Studio di associazione tra i polimorfismi del trasportatore della noradrenalina e la risposta al metilfenidato nei pazienti con ADHD

⇒ La metanalisi del mese

- Una delezione del gene BCL2L11 non è associata alla resistenza ad imatinib nei pazienti affetti da leucemia mieloide cronica: uno studio di meta-analisi

ONCOLOGIA**TUMORE DEL POLMONE A PICCOLE CELLULE (SCLC): NIVOLUMAB IN MONOTERAPIA O IN ASSOCIAZIONE AD IPILIMUMAB PIÙ EFFICACE NEI PAZIENTI CON UN ELEVATO CARICO MUTAZIONALE**

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

Il carcinoma a piccole cellule (SCLC) è responsabile del 10-15% di tutti i tumori polmonari (Alvarado-Luna G et al. *Transl Lung Cancer Res* 2016, 5(1):26-38) e, fra questi, il 75% si presenta con una malattia in stadio avanzato. La chemioterapia a base di platino rappresenta il trattamento di scelta; tuttavia, i pazienti che vanno incontro a progressione di malattia hanno una prognosi generalmente povera con ridotte opzioni terapeutiche (Alvarado-Luna G et al. *Transl Lung Cancer Res* 2016, 5(1):26-38). Nivolumab, un anticorpo monoclonale inibitore del recettore PD-1, ha dimostrato la sua efficacia nei pazienti affetti da SCLC e pretrattati, determinando risposte durature e aumentando la sopravvivenza, sia come monoterapia sia in associazione ad ipilimumab, un altro anticorpo monoclonale inibitore del CTLA-4 (Antonia SJ et al. *Lancet Oncol* 2016, 17(7):883-95). Nello studio di fase I/II CheckMate 032, il tasso stimato di sopravvivenza a due anni è stato del 14% con nivolumab in monoterapia (n=98) e del 26% con nivolumab in associazione ad ipilimumab (n=61) (Hellmann MD et al. *J Clin Oncol* 2017, 35 (suppl 15), [abstract 8503]). Questi risultati hanno portato all'inclusione di nivolumab da solo o in associazione ad ipilimumab nelle linee guida di pratica clinica del National Comprehensive Cancer Network, come terapia raccomandata in seconda linea o nelle linee successive per i pazienti con SCLC (National Comprehensive Cancer Network (2017). Clinical practice guidelines in Oncology. Small cell lung cancer. Version 1.2018). Fino ad oggi, gli studi condotti per l'identificazione di biomarcatori predittivi di risposta al trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari sono stati elusivi. Infatti, a differenza di ciò che è stato scoperto per altri tipi di tumore, come ad esempio per il tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC) (Reck M et al. *N Engl J Med* 2016, 375(19):1823-33), l'espressione sulle cellule tumorali della proteina PD-L1 in pazienti con SCLC non è comune (circa nel 18%) e la risposta al trattamento con nivolumab senza o con ipilimumab è stata osservata indipendentemente dall'espressione del PD-L1 (Antonia SJ et al. *Lancet Oncol* 2016, 17(7):883-95). Dato che la combinazione di nivolumab ed ipilimumab ha mostrato interessanti benefici per i pazienti con SCLC, anche se con effetti tossici maggiori rispetto al nivolumab in monoterapia, sembra essere opportuno indagare potenziali biomarcatori predittivi di risposta al trattamento monoterapico e/o combinatorio (Antonia SJ et al. *Lancet Oncol* 2016, 17(7):883-895).

Il tumore SCLC è caratterizzato da un alto carico mutazionale somatico, soprattutto perché questa neoplasia è strettamente correlata al fumo di sigaretta (Byers LA et al. *Cancer* 2015, 121(5):664-72); le alterazioni possono influenzare molti *pathways*, tra cui ad esempio quelli implicati nei meccanismi di riparazioni del DNA (Gazdar AF et al. *Nat Rev Cancer* 2017, 17(12):725-37). Vari studi hanno messo in luce come in diverse neoplasie, tra cui carcinoma uroteliale, melanoma, NSCLC, sia presente una correlazione tra l'elevato carico mutazionale e la migliore efficacia dei trattamenti con inibitori dei checkpoint immunitari (Carbone DP, et al. *N Engl J Med* 2017, 376(25):2415-26; Rosenberg JE, et al. *Lancet*. 2016, 387(10031):1909-20). Al contrario, questo tipo di correlazione non è stata indagata nei pazienti con SCLC o sottoposti a trattamento combinatorio con inibitori dei checkpoint immunitari.

Pertanto, gli autori di questo studio hanno effettuato un'indagine esplorativa prendendo in considerazione i pazienti affetti da SCLC e arruolati nel trial clinico di fase I/II CheckMate 032 (Antonia SJ et al. *Lancet Oncol* 2016, 17(7):883-95), con lo scopo di valutare l'impatto del carico mutazionale tumorale sui benefici clinici ottenuti con nivolumab sia in monoterapia sia associazione con ipilimumab. In particolare, sono stati presi in considerazione 401 pazienti, di cui 245 trattati soltanto con nivolumab e 156 con nivolumab ed ipilimumab.

Soltanto per 246 (61%) pazienti erano disponibili sia i campioni tissutali sia i campioni di sangue; da tali campioni è stato estratto il DNA germinale, che è stato analizzato utilizzando la tecnologia di sequenziamento dell'esoma (whole exome sequencing, WES). Tra questi 246 pazienti, il 53% (n=211; di cui 133 trattati con nivolumab e 78 trattati con nivolumab e ipilimumab) ha avuto un risultato soddisfacente dall'analisi WES e ciò ha consentito di valutare l'impatto del carico mutazionale tumorale sull'efficacia dei trattamenti. Questi pazienti sono stati quindi divisi in tre sottogruppi: pazienti con un *basso* carico mutazionale tumorale (da 0 a < 143 mutazioni), pazienti con un carico mutazionale *intermedio* (da 143 a 247 mutazioni) e, infine, pazienti con un *alto* carico mutazionale (≥ 248 mutazioni).

Associazione tra il carico mutazionale tumorale e gli *outcomes* clinici

Sia nel gruppo di pazienti trattati soltanto con nivolumab sia nel gruppo di pazienti trattati con l'associazione nivolumab ed ipilimumab, il tasso di risposta obiettiva (ORR) è risultata maggiore in quei pazienti che avevano un carico mutazionale elevato (21.3% vs 46.2%) rispetto a coloro che avevano un basso (4.8% vs 22.2%) o un intermedio (6.8% vs 16.0%) carico mutazionale. Interessante notare che i pazienti con un elevato carico mutazionale hanno mostrato una percentuale di ORR più che raddoppiata se trattati con la combinazione nivolumab ed ipilimumab rispetto al solo nivolumab (46.2% vs 21.3%).

Inoltre, il carico mutazionale è risultato più elevato nei pazienti che hanno ottenuto una risposta completa o parziale sia al trattamento con il solo nivolumab sia con nivolumab ed ipilimumab rispetto a coloro che, invece, hanno mostrato stabilità di malattia oppure sono andati incontro a progressione.

In entrambi i gruppi di trattamento, la sopravvivenza libera da malattia (PFS) ad un anno è risultata maggiore nel gruppo dei pazienti con un elevato carico mutazionale (PFS: 21.2% nei trattati con nivolumab e 30.0% nei trattati con nivolumab ed ipilimumab) rispetto a coloro che presentavano un carico mutazionale basso (PFS: non raggiunto nei trattati con nivolumab e 6.2% nei trattati con nivolumab ed ipilimumab) o intermedio (PFS: 3.1% nei trattati con nivolumab e 8.0% nei trattati con nivolumab ed ipilimumab). Risultati simili sono stati osservati anche per la sopravvivenza globale (OS). Infatti, in entrambi i gruppi di trattamento, l'OS ad un anno è risultata maggiore nel gruppo dei pazienti con un elevato carico mutazionale (OS: 35.2% nei trattati con nivolumab e 62.4% nei trattati con nivolumab ed ipilimumab) rispetto a coloro che presentavano un carico mutazionale basso (OS: 22.1% nei trattati con nivolumab e 23.4% nei trattati con nivolumab ed ipilimumab) o intermedio (OS: 26.1% nei trattati con nivolumab e 19.6% nei trattati con nivolumab ed ipilimumab). Da tali risultati è emerso come nei pazienti con un elevato carico mutazionale, sia la PFS sia l'OS ad un anno erano maggiori in presenza di un trattamento combinatorio.

I dati forniti da questo studio esplorativo hanno messo in luce le potenzialità di eseguire le analisi molecolari in pazienti affetti da SCLC per valutarne il carico mutazionale tumorale da utilizzare come biomarcatore per predire la risposta al trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari. Difatti, l'efficacia clinica di nivolumab sia in monoterapia sia in combinazione con ipilimumab aumenta nei pazienti con un elevato carico mutazionale. Inoltre, in questo sottogruppo, si ha un netto miglioramento dell'ORR, della PFS e dell'OS, le quali sono risultate all'incirca raddoppiate con la combinazione rispetto alla monoterapia.

Parole chiave: carico mutazionale tumorale, biomarcatore predittivo, NGS, immunoterapia, SCLC

Riferimento bibliografico

[Hellmann MD](#) et al. *Cancer Cell* 2018, 33(5):853-61.

LIVELLO DI EMOGLOBINA E POLIMORFISMI DEL GENE XRCC1 PER LA SELEZIONE DI PAZIENTI CON CARCINOMA DEL RETTO LOCALMENTE AVANZATO CANDIDATI PER CHEMIORADIOTERAPIA NEOADIUVANTE CON CONCOMITANTE CAPECITABINA IN ASSOCIAZIONE A UN REGIME A BASE DI PLATINO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il carcinoma del retto localmente avanzato (LARC) rimane ad oggi una sfida multidisciplinare. È stato dimostrato che la chemioradioterapia neoadiuvante preoperatoria può indurre una risposta significativa del tumore primario con conseguente approccio chirurgico più facile e meno debilitante e, nel 10-20% dei casi, ad una completa scomparsa delle cellule tumorali all'esame patologico. La risposta patologica completa (pCR) dopo terapia neoadiuvante è riconosciuta come uno dei più importanti fattori prognostici; inoltre, la pCR consentirebbe potenzialmente di evitare l'intervento chirurgico in pazienti selezionati, dunque sono state tentate strategie per potenziare i regimi chemioterapici nella speranza di aumentarne il tasso. L'aggiunta di oxaliplatino alla chemioradioterapia standard a base di fluoropirimidina è stata studiata in sei grandi studi (ACCORD-12, STAR-01, NSABP-R04, CAO/ARO/AIO-04, PETTAC- 6 e FOWARC), nei quali è stato registrata una maggiore tossicità. In alcuni di questi studi (FOWARC e CAO/ARO/AIO-04), è stato documentato un aumento significativo del tasso di pCR. Lo studio NSABP R-04 ha confrontato l'efficacia e la sicurezza della capecitabina orale, rispetto al fluorouracile infusione e ha dimostrato un'efficacia e una tossicità simili, con il beneficio di poter evitare la somministrazione per infusione. Su questa base, gli autori hanno deciso di valutare se, aggiungendo il cisplatino alla capecitabina, più la radioterapia (CisCape RT), il tasso di pCR aumenta. CisCape RT è stato utilizzato come opzione preferita nella gestione del LARC presso l'Unità di Oncologia dell'Ospedale Universitario di Roma Tor Vergata per pazienti idonei fino a raggiungere un campione di circa 50 pazienti. Sono stati anche studiati potenziali predittori biochimici e molecolari dell'efficacia del trattamento.

I criteri di inclusione erano: diagnosi istologica di adenocarcinoma, posizione del bordo distale del tumore entro 12 cm dal margine anale, età maggiore di 18 anni, stato di prestazione di Karnofsky (KPS) \geq 80 e cancro allo stadio II (T3-4N0) o III (T1-4N1-2), senza evidenza di diffusione metastatica e suscettibili di radicalità chirurgica, anche senza trattamento preoperatorio. Tutti i pazienti inclusi hanno ricevuto il trattamento neoadiuvante CisCape RT seguito da un intervento chirurgico di escissione mesorettale totale (TME) circa 8 settimane dopo la fine del trattamento pre-operatorio. Sia la resezione anteriore dello sfintere che la resezione addominoperineale sono state eseguite insieme alla TME. Circa 8 settimane dopo l'intervento, sono stati somministrati 8 cicli di trattamento FOLFOX adiuvante standard, quando non controindicato. Sono stati registrati tutti i dati demografici, clinici, procedure operative e istopatologia.

Il DNA è stato estratto dal materiale del tumore chirurgico secondo la procedura standard. Sono stati analizzati, mediante PCR standard e pirosequenziamento, i seguenti polimorfismi: *GSTP1* A313G (rs1695), *XRCC1* G28152A (rs25487), *ERCC1* T19007C (rs3212986), *UGT1A1**28 (rs8175347), *ABCB1* C3435T (rs1045642), *MTHFR* A1298C (rs1801131). L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando SPSS versione 13.0 e MedCalc® versione 9.5.0.0, considerando il livello di significatività statistica $p < 0,05$.

Nello studio sono stati inclusi 51 pazienti, 35 maschi e 16 femmine, età media 63 anni (range 41-77). Lo stadio clinico di riferimento era III per 33 pazienti e II per 18. La chirurgia radicale è stata eseguita nel 92% dei pazienti, il tempo medio trascorso dalla radio-chemioterapia neoadiuvante (CRT) all'inizio dell'intervento chirurgico è stato di 68 giorni (range 44-120); 3 pazienti sono stati sottoposti a chirurgia palliativa a causa della progressione. La pCR (AJCC grado 0) è stata documentata in 7 casi su 51 (14%). Rispetto alla fase di pre-trattamento, è stata osservato un downstaging clinico T e N nel 41 e nel 38% dei pazienti, rispettivamente. Il tumore primario è risultato ridotto in 40 pazienti (79%); il grado di regressione AJCC era 0, 1, 2 e 3 nel 14, 20, 55 e 11% dei pazienti, rispettivamente.

Nell'intera coorte, il tasso di sopravvivenza libera da malattia (DFS) a 3 anni era dell'80%, il tasso di sopravvivenza globale (OS) era dell'86%. C'era una forte associazione tra regressione del tumore secondo i criteri AJCC e sia DFS che OS. I tassi DFS a 3 anni erano 100, 79 e 33% per grado AJCC 0-1, 2 e 3, rispettivamente ($p=0,0047$). I tassi di OS a 3 anni erano 100, 89, e 33% per il grado AJCC 0-1, 2 e 3, rispettivamente ($p=0,0047$). Data la buona prognosi associata al grado AJCC 0-1, è stata eseguita un'analisi di regressione logistica (comprendente le seguenti variabili, registrate pre-trattamento: età, distanza dal limite anale, livelli di Hb, grading, sottotipo istologico mucinoso e sesso) per valutare potenziali predittori di

questo tipo di risposta. Il livello di Hb pre-trattamento era l'unico fattore predittivo indipendente (OR=0,52; $p=0,027$), che indicava una probabilità maggiore del 48% di avere una pCR o quasi completa. Dicotomizzando i pazienti in base al livello di Hb basale c'era un aumento quasi triplo del tasso di risposta di grado AJCC 0-1: 50% per Hb>14 g/dL contro il 19% per Hb<14 g/dL (OR= 0,23; $p=0,037$).

L'effetto sulla risposta tumorale delle varianti genetiche è stato valutato in 21 pazienti. La regressione tumorale di grado AJCC 0-1 (codificato come 1) rispetto al grado 2-3 (codificato come 0) è stato impostata come variabile dipendente. Gli omozigoti mutati e gli eterozigoti sono stati codificati come 1, gli omozigoti wild-type sono stati codificati come 0. Secondo l'analisi di regressione logistica, una maggiore probabilità di ottenere una risposta di grado 0-1 era associata al genotipo GG della variante *XRCC1* rs25487 (70 vs 18%, OR 25,8; $p=0,049$). Lo stesso genotipo era anche associato a livelli basali di Hb più alti (14,3 vs 13,9 g/dL).

Nel presente studio è stato dimostrato un tasso di regressione tumorale rilevante con il trattamento CisCape RT. Inoltre, è stato confermato che la pCR è un forte predittore di esito clinico a lungo termine, con nessuna recidiva osservata nei 17 pazienti che hanno avuto una regressione di grado AJCC 0 o 1 dopo 58 mesi di follow-up. È risultato anche che i livelli basali di Hb e i polimorfismi del gene *XRCC1* possono essere fattori predittivi significativi della risposta al trattamento. Dunque, questo studio conferma che l'outcome clinico a lungo termine (DFS o OS) è simile per le regressioni di grado 0 e 1 (100% a 3 anni), giustificando così l'uso combinato della pCR della risposta quasi completa.

Sebbene il regime CisCape RT possa portare un notevole carico di tossicità e solo i pazienti idonei dovrebbero essere considerati candidati per questo regime, c'è un sottogruppo di pazienti che sembrano beneficiare dall'implementazione del cisplatino nella strategia neoadiuvante. È stata infatti trovata una correlazione significativa tra alto livello di Hb al basale e la possibilità di avere una pCR.

Nello studio farmacogenomico è stata osservata un'associazione significativa tra il genotipo GG del locus *XRCC1* G28152A rs25487 e il tasso di pCR o risposta quasi completa. Inoltre questo genotipo era associato a livelli basali di Hb più elevati. Il gene *XRCC1* codifica per una proteina coinvolta nella riparazione delle escissioni di base. Il G28152A è un polimorfismo non sinonimo e il risultato funzionale di questa sostituzione non è ancora chiaro, tuttavia è stata ipotizzata una ridotta efficacia dell'attività di riparazione del DNA in cellule normali. È possibile che il genotipo GG identifichi i pazienti con un sistema di riparazione più efficiente e meno vulnerabile agli stress ambientali diretti alle cellule mieloidi, come la radiazione di fondo o il fumo. Questo spiegherebbe il livello basale di Hb più alto associato ad una risposta CRT più alta. Inoltre, i pazienti con genotipo GG potrebbero essere più protetti da mielotossicità e da altre tossicità durante CRT, e quindi con la possibilità di ricevere dosi più elevate di terapia.

Lo studio è limitato dal disegno monocentrico e dalla piccola dimensione del campione, specialmente per la sottoanalisi farmacogenetica. Tuttavia, fornisce suggerimenti su possibili fattori di stratificazione per futuri studi di fase III nei pazienti con LARC.

Nei pazienti con LARC trattati con CisCape RT, i livelli basali di Hb e il genotipo GG del polimorfismo *XRCC1* rs25487 risultano significativamente associati alla risposta di grado AJCC 0-1.

Parole chiave: carcinoma del retto localmente avanzato, CisCape RT, *XRCC1*

Riferimento bibliografico

[Formica V](#) et al. *Med Oncol* 2018, 35(6):83

L'ASSE MIR-3127-5P/P-STAT3 UP-REGOLA IL PD-L1 INDUCENDO CHEMIORESISTENZA NEL CANCRO AL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Tra le neoplasie maligne del polmone, il cancro non a piccole cellule (NSCLC) è la forma più frequente, rappresentando oltre l'85% dei casi. Il gene che codifica per il recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR) costituisce il gene *driver* più comune per questa patologia, in aggiunta anche alla mutazione che provoca la fusione di EML4 con ALK. Il principale trattamento farmacologico per il NSCLC avanzato consiste nell'impiego di chemioterapia, in associazione con inibitori tirosin-chinasici (TKI) nel caso siano presenti mutazioni *driver*. Nonostante il mancato reclutamento del sistema immunitario e l'incremento di PD1/PD-L1 siano accompagnati da farmacoresistenza nel tumore al polmone, normalmente questa è indotta dalle citochine, soprattutto IFN- γ . La complessità dell'espressione di PD-L1 ha creato numerose difficoltà per la determinazione delle specifiche cellule che la esprimono e che contribuiscono al mancato arruolamento della sorveglianza immunitaria, con una notevole importanza per la stratificazione dei pazienti per l'immunoterapia. In questo studio, gli autori hanno voluto analizzare la correlazione fra il miR-3127-5p (che in un loro studio precedente aveva dimostrato capacità anti-proliferative anti-migrazione e anti-motilità nelle cellule di NSCLC); il meccanismo specifico con cui avviene la modulazione fra i due e l'efficacia di un anticorpo monoclonale rivolto a PD-L1 per impedire l'attivazione del sistema immunitario e la resistenza farmacologica indotte dall'up-regolazione di PD-L1.

Sono stati arruolati 64 pazienti affetti da NSCLC, da cui è stato ottenuto sia il tessuto tumorale che la sua controparte sana. Coloro che avevano l'adenocarcinoma polmonare hanno ricevuto inibitori di EGFR (se presentavano la mutazione sul gene) o una terapia a base di cisplatino, mentre i pazienti affetti da carcinoma a cellule squamose polmonari sono stati trattati con terapia a base di cisplatino. Coloro che hanno sviluppato recidiva entro i 3 mesi dall'inizio del primo ciclo di terapia, sono stati definiti chemioresistenti, gli altri sono stati considerati sensibili. In parallelo, gli esperimenti sono stati condotti anche su due linee cellulari di NSCLC, le A549 e le NCI-H1299. Sono stati estratti gli RNA dai tessuti deparaffinati e dalle cellule e sono stati condotti saggi di *deep sequencing* su RNA e DNA e real-time quantitativa di PD-L1. Sono stati inoltre condotte analisi di western blot, l'infezione con lentivirus con l'aggiunta di miRNA mimic e inhibitor, trasfezioni con i plasmidi della luciferasi, immunofluorescenza, analisi citometrica e saggi di vitalità.

Dalle analisi eseguite è emerso che l'espressione del PD-L1 viene indotta dal miR-3127-5p esogeno, mentre viene soppressa nelle linee cellulari in cui è stato silenziato il miRNA. Analizzando il tessuto tumorale dei pazienti, è emerso che PD-L1 è significativamente iperespresso nei pazienti resistenti, un andamento confermato anche dalle cellule resistenti al farmaco quando confrontate con le analoghe sensibili. Gli autori ne hanno dedotto che l'up-regolazione di PD-L1 induce un mancato intervento del sistema immunitario che provoca l'insorgenza di farmacoresistenza. È stato inoltre dimostrato che il miR-3127-5p promuove la fosforilazione di STAT3 attraverso la soppressione dell'autofagia e questo evento fa sì che venga indotta l'espressione di PD-L1.

In conclusione, il miR-3127-5p promuove l'iperespressione di PD-L1 che, mediante modulazione dell'espressione pSTAT3, determina l'insorgenza di farmacoresistenza nei pazienti affetti da NSCLC in trattamento chemioterapico. Come conseguenza, PD-L1 causa il mancato arruolamento del sistema immunitario con un meccanismo che è possibile convertire mediante l'impiego di un anticorpo monoclonale.

Parole chiave: NSCLC, farmacoresistenza, cisplatino, miR-3127-5p, PD-L1

Riferimento bibliografico

[Tang D](#) et al. *J Cell Mol Med* 2018 May 4 [Epub ahead of print]

IL MIR-22 SIERICO COME POTENZIALE PREDITTORE DI OUTCOME CLINICO IN PAZIENTI DI NUOVA DIAGNOSI AFFETTI DA LINFOMA DIFFUSO A GRANDI CELLULE B UNIFORMEMENTE TRATTATI: UNO STUDIO PILOTA ESPLORATIVO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il linfoma diffuso a grande cellule B (DLBCL), il più comune linfoma non-Hodgkin di alto grado, comprende un gruppo di tumori eterogeneo con un decorso clinico piuttosto aggressivo.

Attualmente, l'immunoterapia con rituximab, ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina, prednisone (R-CHOP) rappresenta la prima linea di trattamento; tuttavia il 40% dei pazienti mostra fallimento terapeutico precoce o recidiva dopo una risposta iniziale e, ad oggi, non è possibile stratificare i pazienti per la mancanza di predittori efficaci.

Recentemente, i fluidi biologici hanno attratto l'interesse della ricerca per la quantità di informazioni che contengono, tra cui DNA e miRNA circolanti (cMiRNA). Questi ultimi, in particolare, stanno diventando molto importanti per via del loro ruolo chiave come messaggeri nella comunicazione intercellulare.

Viste le premesse, e la necessità crescente di identificare nuovi biomarcatori nel DLBCL, questo studio ha avuto diversi obiettivi: nello specifico, i) valutare le differenze nell'espressione di cMiRNA alla diagnosi e dopo trattamento R-CHOP; ii) valutare la correlazione tra cMiRNA e risposta alla terapia; iii) identificare specifiche *signature* di cMiRNA correlate con la risposta clinica in termini di PFS; iv) analizzare la correlazione tra cMiRNA e altri variabili cliniche.

Per fare questo sono stati arruolati un totale di 36 pazienti, affetti da DLBCL di nuova diagnosi e trattati uniformemente con 6 cicli R-CHOP di 21 giorni. Dei 36 pazienti, per 32 è stato possibile raccogliere il siero alla diagnosi e al termine della terapia e valutare la risposta clinica; in particolare, 27 su 32 avevano risposto al trattamento (responsivi), mentre 5 erano stati considerati non responsivi. Per il *profiling* iniziale di miRNA sierici sono stati coinvolti 4 pazienti (3 responsivi e 1 non). Tuttavia dato il numero limitato di campioni, in questa prima fase gli autori, piuttosto che valutare le differenze tra i pazienti responsivi e non, si sono concentrati sui miRNA modulati significativamente dal trattamento. I risultati hanno mostrato che 31 cMiRNA erano deregolati in seguito alla terapia R-CHOP, nel gruppo dei soggetti responsivi. Per comparare i livelli di cMiRNA sierici con quei tissutali, associati alla risposta alla terapia, è stato preso in considerazione il database TCGA contenente i dati di 47 casi DLBCL. Le curve Kaplan-Meier e il test log-rank hanno rivelato una *signature* di 13 miRNA con potenziale valore prognostico. In particolare 3 cMiRNA (miR-22, miR-30-c-2-3p, e miR-155-5p) erano correlati con la recidiva tumorale; un'altra *signature* di 10 miRNA era risultata correlata con la overall survival. Dal momento che il miR-22 era risultato significativo sia dal profilo globale di cMiRNA che dalle analisi sul database TCGA, l'espressione di miR-22 è stata validata in singola sonda in una coorte di 16 casi, pre e post trattamento, confermando una up-regolazione a seguito della terapia (2.9 folds, $p \leq 0.001$). Questi dati indicano che il miR-22 sierico è un biomarcatore non invasivo di potenziale interesse per predire l'outcome clinico in pazienti affetti da DLBCL.

Successivamente gli autori hanno valutato come il miR-22 influenzava l'outcome clinico. In particolare, è stato osservato che pazienti con alti livelli alla diagnosi del miR-22, mostravano un outcome clinico peggiore in termini di PFS e avevano un rischio più elevato di recidiva. I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi considerando il livello mediano di espressione del miR-22 come cut-off, ed è stata analizzata l'associazione con la PFS ($p < 0.07$). Mediante il test log-rank è stato poi possibile osservare che il valore mediano del miR-22 era l'unico marcatore indipendente associato alla probabilità di PFS nella coorte analizzata (HR:5.19, 95%CI; 1.38-19.56; $p = 0.015$).

Per quanto riguarda le variabili cliniche, non sono state osservate ulteriori associazioni.

Infine, utilizzando i 47 casi di DLBCL presenti nel database TCGA è stata eseguita un'integrazione tra il miR-22 ed i suoi target (sperimentalmente validati e presenti in miRTarbase) con correlazione negativa. Da questa analisi sono emersi 5 potenziali target (CDK6, CDKN1A, LONP2, TFRV, ZNF460), che sono coinvolti in diversi importanti *pathway*, tra cui quello di p53.

Lo studio ha coinvolto un numero molto piccolo di pazienti e per questo, come evidenziato dagli stessi autori, presenta il limite del basso potere statistico; va inoltre sottolineato che non ci sono validazioni in termini di target predetti e che quindi la parte relativa ai geni potenzialmente modulati dal miR-22 è puramente speculativa. L'analisi dunque vuole essere di tipo esplorativo e gettare le basi per futuri studi più approfonditi

Questo studio per la prima volta è stato dimostrato che il mir-22 sierico è associato con la sopravvivenza e viene modulato dal trattamento con R-CHOP

Parole chiave: DLBCL, immunoterapia R-CHOP, miR-22 sierico

Riferimento bibliografico

[Marchesi F](#) et al *J Exp Clin Cancer Res* 2018, 37(1):95.

IMMUNOMODULAZIONE

CONFRONTO TRA I POLIMORFISMI DI TPMT E NUDT15 IN PAZIENTI CINESI CON MALATTIA INFIAMMATORIA CRONICA INTESTINALE

A cura dei Dott. Davide Selvestrel e Marianna Lucafò

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) sono patologie croniche, infiammatorie, idiopatiche, che colpiscono totalmente o in parte il tratto gastrointestinale. La patogenesi delle MICI è ancora sconosciuta anche se possibilmente correlabile con fattori genetici e ambientali, così come anche da disfunzioni immunitarie intestinali. Tra le MICI, le più rappresentative sono la rettocolite ulcerosa (RCU) e la malattia di Crohn (MC).

L'obiettivo principale del trattamento delle MICI è quello di indurre e mantenere la remissione della patologia, evitando complicazioni. La strategia terapeutica può prevedere l'utilizzo di 5-aminosalicilati, steroidi, immunomodulatori e farmaci biologici. Per quanto riguarda gli immunomodulatori, l'azatioprina (AZA) gioca un ruolo fondamentale nel mantenimento della remissione anche se gli effetti avversi, in particolare la leucopenia, ne limitano seriamente l'utilizzo. L'enzima tiopurina S-metiltransferasi (TPMT) è essenziale per la normale biotrasformazione dell'AZA, ed una riduzione della sua attività è stata riportata essere un fattore di rischio predittivo della leucopenia indotta dall'AZA nella popolazione caucasica.

In alcuni individui con normale attività di TPMT tuttavia, si riscontrano ugualmente dei casi di leucopenia. In particolare, nella popolazione asiatica, anche se la percentuale di soggetti con varianti del gene TPMT è molto bassa (1% - 3%), l'incidenza di leucopenia indotta dall'AZA è maggiore rispetto alla popolazione caucasica.

Recenti studi hanno dimostrato che nella popolazione asiatica una variante dell'enzima NUDT15 risulta essere un miglior predittore della leucopenia indotta dall'AZA rispetto all'enzima TPMT. NUDT15 è un membro della famiglia delle Nudix idrolasi, enzimi che degradano l'8-o-dGTP a 8-o-dGMP e proteggono il DNA dai mismatch. Inoltre, NUDT15 è coinvolto nell'idrolisi della 6-tioguanina trifosfato (6-TGTP) in 6-tioguanina monofosfato (6-TGMP), riducendo di conseguenza i livelli dei metaboliti attivi dell'AZA e prevenendo la leucopenia indotta dall'AZA stessa.

La variante di NUDT15 R139C, rs116855232, è più frequente in pazienti cinesi (mutation rate: 22.5%) ed è stata associata alla leucopenia indotta dall'AZA.

In questo studio gli autori hanno voluto confermare il ruolo della variante R139C, verificando in particolare che l'incidenza di NUDT15 aberrante risulti essere maggiore rispetto a quella di TPMT*3C; lo stesso

NUDT15 potrebbe diventare un marker farmacogenetico importante per la predizione della leucopenia indotta dall'AZA, in particolare nella popolazione cinese.

Per questo studio sono stati arruolati 219 pazienti asiatici affetti da MICI (160 uomini e 59 donne) dei quali 39 erano affetti da UC, 176 da CD e 4 da MICI indeterminata. Ad ogni paziente sono stati prelevati 2-3 mL di sangue periferico dai cui è stato estratto il DNA per la genotipizzazione.

I pazienti sono stati trattati con una dose iniziale di AZA di 0.5-1.5 mg/kg/die. Ai pazienti non riscontranti effetti avversi è stata in seguito aumentata la dose di AZA di 0.5mg/kg/die ogni 2 mesi fino ad un massimo di 2mg/kg/die. Ai pazienti che invece hanno sviluppato leucopenia (conta dei globuli bianchi $< 3.5 \times 10^9$ /L o neutrofili $< 1.5 \times 10^9$ /L) o altri effetti avversi di natura severa, l'AZA è stata somministrata in maniera discontinua. Le varianti del gene NUDT15 (c.415C>T rs116855232) e di TPMT*3C (p.Tyr240Cys, c.719A>G, rs1142345) sono state genotipizzate mediante pyrosequencing e poi validate attraverso sequenziamento Sanger.

Su 64 pazienti che presentavano NUDT15 con genotipo C/C (80%) e 16 C/T (20%), trattati con AZA, non sono state trovate differenze statisticamente significative tra sesso, età, stadio della malattia, dose iniziale, durata della terapia e trattamenti concomitanti. Otto dei 16 pazienti con genotipo C/T (20%) e solo 11/64 (11.7%) con NUDT15 C/C hanno sviluppato leucopenia in seguito a trattamento con AZA ($P=0.006$). I pazienti con NUDT15 variante quindi presentano un rischio aumentato di andare incontro a leucopenia AZA-indotta.

Per quanto riguarda le varianti di TPMT, il 98.75% dei pazienti presenta il gene in omozigosi per l'allele wild-type e di questi, 18 (22.8%) hanno sviluppato leucopenia AZA-indotta. Un solo paziente ha mostrato TPMT in eterozigosi (A/G) e ha sviluppato leucopenia, dato che non è risultato essere significativo ($P=0.071$).

Sulla base dei risultati ottenuti, gli autori ritengono che TPMT non sia un efficiente predittore di leucopenia AZA-indotta tanto quanto NUDT15.

Inoltre in questo studio è emerso che la leucopenia AZA-indotta correla negativamente con l'uso di corticosteroidi e con il sesso femminile: una percentuale minore di donne rispetto agli uomini ha sviluppato leucopenia in seguito a trattamento con AZA ($P=0.039$, OR= 0.146, 95% CI: 0.023-0.909, RR= 0.527, PF=124); anche il co-trattamento con glucocorticoidi riduce il rischio di leucopenia AZA-indotta ($P=0.023$, OR=0.201, 95%CI: 0.050-0.798, RR=0.437, PF= 0.253).

Questo studio prospettico ha un valore clinico molto elevato in quanto i risultati, se confermati, permetterebbero una personalizzazione della terapia con AZA in pazienti cinesi affetti da MICI. È il primo studio inoltre in cui viene descritto che l'utilizzo combinato di glucocorticoidi e AZA diminuisce il rischio di sviluppare leucopenia AZA-indotta. Questo potrebbe derivare dalla capacità degli steroidi di incrementare l'ematopoiesi nel midollo osseo e di promuovere il numero di neutrofili circolanti, riducendo invece quelli infiltrati nel sito d'infiammazione.

Questo studio ha tuttavia alcune limitazioni, in quanto nessun paziente arruolato presentava NUDT15 in omozigosi per la variante T/T. Recenti studi hanno inoltre individuato delle ulteriori varianti di NUDT15 che comprendono: Arg139His, Val18Ile e pVal18_Val19insGlyVal. Queste varianti possono presentarsi anche combinate tra di loro ma in questo studio nessuna di queste è stata presa in considerazione.

La percentuale di pazienti cinesi affetti da MICI con NUDT15 variante è significativamente più alta di quelli presentanti varianti di TPMT. Il polimorfismo di NUDT15 è risultato essere un miglior predittore di leucopenia AZA-indotta rispetto al polimorfismo di TPMT nella popolazione cinese. L'uso combinato di corticosteroidi riduce il rischio di leucopenia AZA-indotta e i soggetti di sesso maschile hanno un rischio maggiore di sviluppare la stessa condizione rispetto a quelli di sesso femminile.

Parole chiave: NUDT15, TPMT, azatioprina, leucopenia, MICI, terapia personalizzata

Riferimento bibliografico

[Wang HH](#) et al. *World J Gastroenterol* 2018, 24(8):941-8

EFFICACIA DEL SECUKINUMAB INDIPENTEMENTE DALLO STATUS DELL'HLA-CW6 IN PAZIENTI CON PSORIASI A PLACCHE MODERATA-SEVERA: STUDIO SUPREME

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La psoriasi cronica a placche rappresenta la forma più comune di psoriasi, caratterizzata da un aumento della proliferazione dei cheratineociti, iperplasia dell'epidermide, infiltrati infiammatori del derma e marcata dilatazione dei vasi della regione delle papille dermiche, che portano alla formazione delle placche tipiche (Alwan W & Nestle FO *Clin Exp Rheumatol* 2015, 33:S2-6; Krueger JG & Bowcock A *Ann Rheum Dis* 2005, 64 Suppl 2:ii30-6; Martin DA et al. *J Invest Dermatol* 2013, 133:17-26). La patogenesi è legata ad un'interazione complessa tra fattori genetici, ambientali e immunologici. La comprensione dei fattori genetici è importante per predire la risposta al trattamento e per la scoperta di nuovi *target* (Burlando M et al. *Acta Derm Venereol* 2016, 96: 858-9; Caldarola G et al. *Pharmacogenet Genomics* 2016, 26: 423-7). Diversi studi hanno individuato fattori genetici correlati alla predisposizione all'insorgenza della patologia e una recente metanalisi ha identificato 52 diversi loci di suscettibilità alla psoriasi (PSORS; Mabuchi T et al. *J Dermatol* 2014, 41:697-704; Nair RP et al. *Am J Hum Genet* 2000, 66:1833-44; Tsoi LC et al. *Nat Commun* 2017, 8:15382). La presenza dell'HLA-Cw6 è stata associata con una forma più severa e ad esordio precoce di psoriasi, con un rischio di 10 volte superiore nei pazienti caucasici (Gudjonsson JE et al. *J Invest Dermatol* 2002, 118:362-5). Studi recenti hanno dimostrato che i farmaci biologici approvati non sono efficaci in tutti i pazienti e varianti del genoma sono state associate ad una risposta clinica diversa o ad effetti avversi (Galluzzo M et al. *Dermatology (Basel, Switzerland)* 2016, 232:230-6; Ovejero-Benito MC et al. *Pharmacogenomics* 2017, 18:631-8; Prieto-Perez R et al. *Pharmacogenomics* 2017, 18:157-64; Talamonti M et al. *Br J Dermatol* 2013, 169:458-63; Talamonti M et al. *J Am Acad Dermatol* 2016, 74:374-5). Ad esempio, l'ustekinumab, anticorpo monoclonale anti-IL-12 e IL-13, ha mostrato una risposta superiore e più rapida nei portatori dell'HLA-Cw6 con psoriasi moderata-severa (Talamonti M et al. *Br J Dermatol* 2013, 169:458-63, Chiu HY et al. *Br J Dermatol* 2014, 171:1181-8). Lo studio SUPREME è uno studio di fase 3, multicentrico, prospettico, di 24 settimane con un periodo di estensione di 72 settimane, condotto per valutare il profilo di efficacia e sicurezza di secukinumab 300 mg/settimana per le prime 5 settimane, seguito da un trattamento di mantenimento di 300 mg/mese in pazienti affetti da psoriasi a placche cronica moderata-severa, stratificato per status dell'HLA-Cw6.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza dell'HLA-Cw6 sulla risposta al trattamento con secukinumab in pazienti affetti da psoriasi a placche moderata-severa.

Sono stati arruolati pazienti di età ≥ 18 anni, con diagnosi di psoriasi a placche moderata-severa da almeno 6 mesi. Obiettivo primario era la valutazione del tasso di risposta a 16 settimane in pazienti Cw6-negativi e Cw6-positivi.

Dei 434 pazienti arruolati, 185 erano Cw6-positivi (42.6%) e 246 Cw6-negativi (56.7%). Il Cw6 non era valutabile in 3 pazienti. Il 92.6% dei pazienti (n=402) ha completato le 24 settimane previste dallo studio e la causa principale di interruzione era rappresentata dall'insorgenza di reazioni avverse (globale = 3.7%; Cw6-positivi = 3.8%; Cw6-negativi = 3.7%) e dalla mancanza di efficacia (globale 1.6%; Cw6-positivi = 0.5%; Cw6-negativi = 2.4%). L'età media globale era di 45.2 anni, ma i pazienti Cw6-positivi erano significativamente più giovani rispetto ai negativi (42.7 versus 47.2; $p = 0.0004$). Nessuna differenza è stata osservata per quanto riguarda il sesso, mentre peso, BMI e circonferenza vita erano significativamente più elevati nei pazienti negativi rispetto ai positivi (83.97 versus 76.67 kg, $p = 0.0002$; 28.33 versus 25.89 kg/m², $p \leq 0.0001$; 99.33 versus 92.61 cm, $p = 0.0007$). L'obiettivo primario era stato raggiunto nell'80.4% dei pazienti positivi (n = 148) e nel 79.7% dei negativi (n = 196) ($p = 0.2932$). La sicurezza del farmaco non è risultata diversa tra i due gruppi.

Questo studio dimostra che l'efficacia di secukinumab nei pazienti con psoriasi a placche moderata-severa è indipendente dallo status HLA-Cw6, in contrasto rispetto a quanto riportato in altri studi (Talamonti M et al. *Br J Dermatol* 2013, 169:458-63; Talamonti M et al. *J Am Acad Dermatol* 2016, 74:374-5; Chiu HY et al. *Br*

J Dermatol 2014, 171:1181-8; Li K et al. *J Invest Dermatol* 2016, 136:2364-71; van Vugt LJ et al. *Br J Dermatol* 2018, 178: 86-94). Uno studio retrospettivo condotto su un numero limitato di pazienti stratificati per HLA-Cw6 e trattati con secukinumab, non ha mostrato differenze significative nell'efficacia sulla base della positività o negatività dell'allele (Anzengruber F et al. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018). Non sono state riscontrate differenze in termini di sicurezza tra i due gruppi.

In conclusione, questo studio dimostra che l'efficacia e la sicurezza del secukinumab in pazienti con psoriasi a placche moderata-severa non dipendono dalla presenza dell'allele HLA-Cw6.

Parole chiave: psoriasi a placche, HLA-Cw6, secukinumab

Riferimento bibliografico

[Costanzo A](#) et al. *Br J Dermatol* 2018 Apr 28 [Epub ahead of print]

NEUROLOGIA

POLIMORFISMI DELLA SUBUNITA' ALFA 5 DEL RECETTORE COLINERGICO NICOTINICO SONO ASSOCIATI AL SUCCESSO DELLA CESSAZIONE DEL FUMO DI SIGARETTA NELLE DONNE

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

Il fumo di sigaretta rappresenta un grave problema di salute pubblica che contribuisce all'aumento di rischio di decessi per patologie oncologiche e cardiovascolari. E' stato dimostrato che, nonostante la tossicità del fumo sia correlata a molteplici componenti delle sigarette, la nicotina è responsabile dello sviluppo di dipendenza. I trattamenti farmacologici disponibili per smettere di fumare sono: la *nicotine replacement therapy* (NRT), il bupropione (un inibitore della ricaptazione della noradrenalina e dopamina e antagonista della nicotina) e la vareniclina (un agonista parziale del recettore nicotinic dell'acetilcolina - nAChR). Negli ultimi anni sono stati identificati diversi *loci* coinvolti nella patogenesi della dipendenza da nicotina (ND), principalmente sui cromosomi 8 e 15, che comprendono geni che codificano per le varie subunità del nAChR. Questi recettori sono espressi nel SNC e si ritiene abbiano un ruolo nel mediare gli effetti di dipendenza della nicotina. Da alcuni studi è emersa inoltre l'associazione di polimorfismi di geni che codificano per le subunità dei recettori nicotinici (*CHRNA2*, *CHRNA3*, *CHRNA5*, *CHRN3*) con il numero di sigarette fumate, la ND e il rischio di sviluppare neoplasie polmonari. Lo scopo del presente studio è valutare se polimorfismi di *CHRNA2*, *CHRNA3*, *CHRNA5* e *CHRN3* siano associati al livello di dipendenza e alla risposta alle terapie per la cessazione del fumo.

Per lo studio sono stati reclutati 1049 pazienti fumatori sottoposti ad una visita medica iniziale e a 4 visite di *follow-up* per 12 settimane. In ciascuna visita sono stati valutati dati clinici e il valore del monossido di carbonio espiratorio. Per la terapia farmacologica è stato somministrato bupropione più NRT per i pazienti che fumavano meno di un pacchetto di sigarette/die, vareniclina per coloro che fumavano più di un pacchetto di sigarette/die o che non rispondevano con successo alla precedente terapia con bupropione e/o NRT. La co-somministrazione di bupropione e vareniclina è stata prescritta per i pazienti che non riuscivano a smettere di fumare dopo 2 o 3 mesi dall'assunzione di vareniclina da sola o per i pazienti che avevano cessato il fumo ma che presentavano sintomi di astinenza moderati o intensi. L'astinenza continua (CA) è stata valutata dopo 6 mesi dall'inizio della terapia. I pazienti sono stati classificati come "gruppo di successo" (pazienti che hanno completato i 6 mesi di CA, confermato dai valori di monossido di carbonio espirato < 4 ppm), "gruppo di ricadute" (pazienti che non hanno completato i 6 mesi di CA), e "gruppo

resistente" (pazienti che non hanno mai raggiunto la CA). Allo scopo di valutare il comportamento legato al fumo sono state utilizzate le seguenti scale: la *Fagerström Test for Nicotine Dependence* (FTND) e la *Issa Situational Smoking Score* (Issa score). La genotipizzazione di *CHRNA2* rs2472553 (c.674C > T), *CHRNA3* rs1051730 (c.645C > T), *CHRNA5* rs16969968 (c.1192G > A), *CHRNA5* rs2036527 (g.78559273G > A) e *CHRN3* rs6474413 (g.42695921G > A) è stata realizzata tramite PCR seguita da *high resolution melting analysis*.

I pazienti avevano un'età media di 54,0±15,0 anni e il 54,7% erano femmine. I soggetti appartenevano a diversi gruppi etnici (l'etnia è stata auto-dichiarata dal paziente). I genotipi GA e AA per i polimorfismi *CHRNA5* rs2036527 e rs16969968 sono risultati associati ad una maggiore percentuale di successo del trattamento per la cessazione del fumo nel gruppo femminile (n=389, n=391; P=0,03, P=0,01, rispettivamente). La frequenza di successo in base al genotipo non era differente tra i diversi gruppi di farmacoterapia. Non sono state osservate associazioni dei polimorfismi *CHRNA2* rs2472553, *CHRNA3* rs1051730 e *CHRN3* rs6474413 all'esito del trattamento. I genotipi GA o AA per *CHRNA5* rs16969968 e rs2036527 erano associati ad un OR maggiore per il successo nelle donne (OR=1,63; 95% CI=1,04-2,54; P=0,03; OR=1,59; 95% CI=1,02-2,48; P=0,04, rispettivamente).

Non sono state osservate differenze significative del punteggio FTND rispetto ai polimorfismi *CHRNA2* rs2472553, *CHRNA3* rs1051730, *CHRNA5* rs16969968, *CHRNA5* rs2036527 e *CHRN3* rs6474413 nel gruppo totale di pazienti (n=899).

Il risultato principale di questo studio è l'associazione dei genotipi GA e AA dei polimorfismi *CHRNA5* rs16969968 e rs2036527 all'aumento di percentuale di successo del trattamento per la cessazione del fumo nelle donne. Tale dato è in accordo con precedenti evidenze sperimentali che mostrano come i portatori dell'allele A possano esprimere sottotipi del nAChR composti da subunità $\alpha 5$ con una funzionalità ridotta. Altri studi hanno dimostrato che soggetti con genotipo AA per rs16969968 hanno un tasso di astinenza più alto nel trattamento con NRT e che l'allele A è associato ad un miglioramento nel controllo cognitivo. Pertanto, l'associazione di rs16969968 al successo della terapia, nel presente studio, potrebbe essere spiegato dalla ridotta funzionalità della subunità $\alpha 5$, dalla maggiore tollerabilità della NRT e della varenicline e dal miglioramento del controllo cognitivo.

Limitazioni dello studio. La maggior parte dei pazienti inclusi nello studio era classificata come moderatamente o altamente dipendente; questo dato può avere influenzato l'analisi di associazione tra i genotipi e il punteggio FTND. Inoltre, l'etnia dei pazienti è stata auto-dichiarata, quindi non verificata geneticamente. Infine, nello studio non sono stati considerati diversi altri fattori rilevanti, quali, ad esempio, la funzionalità del recettore, la motivazione a smettere di fumare e altri fattori biopsicosociali.

I polimorfismi *CHRNA5* rs16969968 e rs2036527 sono associati ad una maggiore percentuale di successo del trattamento per la cessazione del fumo di sigaretta nelle donne.

Parole chiave: polimorfismi, *CHRNA5*, dipendenza da nicotina, cessazione del fumo

Riferimento bibliografico

[Tomaz PRX](#) et al. *BMC Med Genet* 2018, 19:55

STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI DEL TRASPORTATORE DELLA NORADRENALINA E LA RISPOSTA AL METILFENIDATO NEI PAZIENTI CON ADHD

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività (ADHD) è uno dei disturbi del neurosviluppo più frequenti. Nonostante diversi studi supportino l'ipotesi che il disturbo riconosca una componente genetica, gli studi di

associazione *genome-wide* (GWAS) non hanno permesso di evidenziare loci specifici associati al disturbo, mentre alcuni studi condotti su geni candidati hanno suggerito un effetto piccolo ma significativo per alcuni polimorfismi localizzati a livello dei geni del sistema monoaminergico. Altri studi si sono concentrati sull'identificazione di fattori genetici in grado di predisporre alla risposta al metilfenidato, che risulta efficace soltanto nel 65-70% dei pazienti. Dal momento che il metilfenidato compete con il trasporto della dopamina e della noradrenalina, gli studi si sono focalizzati sui trasportatori delle due catecolamine.

In particolare, gli studi che hanno avuto ad oggetto i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) localizzati nel gene che codifica per il trasportatore della noradrenalina (*NET*, *SLC6A2*) hanno prodotto risultati contrastanti. Il primo studio farmacogenetico eseguito sul gene *NET* ha mostrato un'associazione tra l'allele G dello SNP rs5569 e un miglioramento degli score che valutano iperattività/impulsività (ma non in quelli che valutano l'attenzione) in pazienti di etnia Cinese Han affetti da ADHD. Altri due studi condotti su campioni di pazienti di origine Coreana supportano un'associazione tra il genotipo GG dello stesso SNP e la risposta al metilfenidato, ma altri studi (tra i quali uno studio in doppio cieco, controllato con placebo, condotto su pazienti di origine americana) non hanno trovato un'associazione significativa. Altri due studi hanno suggerito un'associazione tra l'allele T della variante rs28386840 (localizzata nella regione promotore del gene) e la risposta al farmaco. Uno degli studi ha mostrato che la variante era associata al miglioramento del *Clinical Global Impression-Improvement score*, mentre il secondo ha trovato un'associazione tra l'allele T e la riduzione del numero di errori durante il *continuous performance test*.

Sulla base di queste evidenze, gli autori hanno condotto uno studio prospettico che ha valutato l'associazione tra alcune varianti del gene *NET* e la risposta al metilfenidato in un campione di pazienti di origine ungherese affetti da ADHD.

I criteri di esclusione comprendevano IQ < 80, condizioni mediche o neurologiche severe, disturbi pervasivi dello sviluppo. Il criterio di inclusione era diagnosi di ADHD, in accordo con i criteri del DSM-IV, posta da due diversi neuropsichiatri infantili. Lo studio ha arruolato 122 pazienti (età media: 9,6 anni \pm 2,6; 88,5% maschi). I pazienti sono stati identificati come *non-responder* nel caso mostrassero una riduzione < 10% nel *total score* della *ADHD rating scale* (ADHD-RS) dopo due mesi di trattamento (tutti i *non-responder* hanno interrotto il trattamento dopo 3 mesi). I *responder* mostravano una riduzione pari ad almeno il 25% alla ADHD-RS dopo due mesi di trattamento e un punteggio non superiore a 2 (nessun sintomo o sintomi minimi) nella sottoscala *Severity of Illness* della *Clinical Global Impression scale* (CGI-S) dopo 5 mesi di trattamento. In accordo con questi criteri, 90 pazienti sono stati classificati come *responder* e 32 come *non-responder*. I pazienti hanno ricevuto 10-30 mg di metilfenidato, in base al peso corporeo, in due dosi giornaliere. I pazienti non assumevano altre sostanze psicoattive.

Allo scopo di valutare anche il ruolo degli SNP nella predisposizione allo sviluppo di ADHD, lo studio ha incluso due campioni di controlli sani: 1) 400 giovani adulti sani, senza storia di disturbi psichiatrici, e 2) un gruppo di 86 bambini di 6-7 anni nei quali la presenza di disturbi psichiatrici, e in particolare di sintomi di ADHD, era stata esclusa nel contesto di un precedente studio longitudinale. Pazienti e controlli erano di origine caucasica e non presentavano relazioni di parentela.

Gli SNP rs28386840, rs2242446, rs3785143, rs3785157, rs5569 e rs7194256 sono stati genotipizzati con metodo TaqMan su DNA genomico ottenuto da un prelievo di saliva. La correzione per test multipli è stata effettuata utilizzando il metodo del *False Discovery Rate* (FDR). Oltre all'analisi categorica (*responder vs non-responder*), è stata effettuata un'analisi quantitativa nella quale l'effetto del metilfenidato è stato valutato calcolando la differenza nello score della scala ADHD-RS *Inattention and Hyperactivity/Impulsivity* rispetto al primo mese.

Nell'analisi *case-control* gli autori non hanno evidenziato associazioni significative tra gli SNP e la diagnosi di ADHD. Nell'analisi farmacogenetica quantitativa, lo studio ha evidenziato un'associazione tra l'allele T dello SNP rs3785143 e punteggi più bassi nella valutazione dei sintomi di inattenzione (CC: 16,28 \pm 4,67, vs CT o TT: 13,88 \pm 5,15, $p = 0,01$). Lo SNP rs2242446, localizzato nella regione promotore, ha mostrato un *trend* di associazione con gli stessi sintomi, con punteggi minori per i *carrier* dell'allele C (CC o CT: 15,10 \pm 4,92, vs TT: 16,55 \pm 4,68, $p = 0,055$). Tuttavia, i risultati non rimangono significativi dopo correzione per test multipli.

L'analisi aplotipica effettuata utilizzando i 6 SNP ha mostrato un'associazione tra ridotti sintomi di inattenzione e l'aplotipo T-C-T-C-G-C (rispetto al più frequente aplotipo A-T-C-C-G-C, $p = 0,003$), suggerendo che gli SNP localizzati nella regione 5' esercitino un maggiore impatto su questi sintomi.

Nell'analisi categorica (90 *responder* vs 32 *non-responder*), gli autori hanno evidenziato soltanto *trend* di associazione nel range $0,5 < p < 0,1$ tra gli SNP rs28386840, rs5569 e la risposta al metilfenidato. Nell'analisi quantitativa, l'analisi della varianza con misure ripetute ha mostrato un'interazione tra rs28386840 e l'effetto del farmaco nel ridurre lo *score* Iperattività/Impulsività ($p = 0,041$). L'analisi aplotipica effettuata utilizzando gli SNP della regione 5' (rs28386840, rs2242446 e rs3785143) ha mostrato un'associazione tra l'aplotipo T-C-T e il miglioramento dei sintomi di inattenzione ($p = 0,02$) rispetto al più frequente aplotipo A-T-C.

I limiti dello studio includono la dimensione del campione ridotta e la mancanza di informazioni utili per condurre analisi in sottogruppi maggiormente omogenei di pazienti con ADHD.

Lo studio suggerisce un'associazione nominale tra lo SNP rs28386840 del gene NET che codifica per il trasportatore della noradrenalina, e la risposta al metilfenidato nei pazienti con ADHD.

Parole chiave: metilfenidato, ADHD, NET

Riferimento bibliografico

[Angyal N](#) et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2018, 84(Pt A):122-8

LA METANALISI DEL MESE

UNA DELEZIONE DEL GENE BCL2L11 NON È ASSOCIATA ALLA RESISTENZA AD IMATINIB NEI PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA: UNO STUDIO DI META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

La leucemia mieloide cronica (LMC) è una neoplasia ematologica che colpisce ogni anno 1 soggetto su 100000 nella popolazione generale. Tale patologia è contraddistinta da un'alterazione citogenetica dovuta ad una traslocazione reciproca dei cromosomi 9 e 22, con conseguente formazione della proteina di fusione BCR-ABL. Sulla base del numero di cellule immature (blasti) presenti nel sangue e nel midollo osseo, si identificano tre fasi cliniche nel decorso della patologia, quali sono: la fase cronica (percentuale blasti < 10%), quella di accelerazione (percentuale blasti compresa tra il 10 e il 20%) e una terminale, definita fase blastica (percentuale blasti > 20%). La maggior parte dei pazienti riceve la diagnosi di LMC nella fase cronica della malattia. Imatinib, un inibitore della tirosin chinasi, costituisce il farmaco di prima linea per il trattamento farmacologico della LMC nella fase cronica. Tuttavia, il 20% circa dei pazienti non risponde a tale farmaco ed una proporzione ancora maggiore di soggetti risulta manifestare tossicità farmaco-indotte. Nel 2012 è stata identificata una delezione nell'introne 2 del gene BCL2L11 (noto anche con il nome di gene BIM), codificante per una proteina BH3-only. Tale polimorfismo ha una frequenza del 12.3% nei soggetti di origine asiatica e i pazienti affetti da LMC, portatori della delezione, sono risultati avere un rischio maggiore di non rispondere agli inibitori delle tirosin-chinasi rispetto ai portatori della variante wild-type. Dalla letteratura si evincono, tuttavia, evidenze contrastanti riguardo al ruolo farmacogenetico della delezione del gene BCL2L11 come fattore predittivo della risposta agli inibitori delle tirosin chinasi in pazienti affetti da LMC. L'obiettivo del presente studio è stato quello di quantificare, con un approccio meta-analitico, la correlazione tra la delezione del gene BCL2L11 e la risposta terapeutica ad imatinib in pazienti affetti da leucemia mieloide cronica.

La presente revisione sistematica è stata condotta in accordo con le linee guida PRISMA. La ricerca bibliografica è stata effettuata nel mese di maggio 2017 sui databases PubMed, Embase, Web of Science, Chinese Biomedical Database e China National Knowledge Infrastructure. Sono stati definiti eleggibili tutti gli studi prospettici o retrospettivi in cui: i) fossero riportati in maniera esaustiva i dati inerenti alla correlazione tra la delezione del gene BCL2L11 e l'efficacia degli inibitori delle tirosin chinasi in pazienti affetti da LMC; ii) la risposta agli inibitori delle tirosin chinasi fosse valutata secondo criteri clinici riconosciuti da linee guida internazionali. Non sono state utilizzate restrizioni di lingua nell'inclusione degli studi primari. Di ciascuno studio eleggibile sono stati estratti i dati relativi a: dimensione campionaria e paese d'origine dei pazienti arruolati, tipologia e dose del farmaco somministrato, numero di soggetti responsivi e non responsivi al trattamento, disegno di studio (prospettico o retrospettivo, multicentrico o di singolo centro) e outcome clinico analizzato. La qualità degli studi primari è stata valutata utilizzando i criteri della Newcastle-Ottawa Scale (NOS). La stima meta-analitica della correlazione tra la delezione del gene BCL2L11 e la risposta agli inibitori delle tirosin-chinasi, espressa come odd ratio (OR) e relativo intervallo di confidenza al 95% (95% CI), è stata calcolata mediante meta-analisi ad effetti fissi o random, a seconda, rispettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità tra gli studi.

Delle 165 pubblicazioni emerse dalla ricerca bibliografica, 6 sono state incluse nella presente revisione sistematica ($N_{\text{pazienti}}=760$ di origine asiatica). In ciascuno di questi studi primari è stata stimata la correlazione tra la delezione del gene BCL2L11 e la risposta ad imatinib (o imatinib seguito da nilotinib; $N_{\text{studi}}=1$) valutata secondo i criteri European LeukemiaNet (ELN). L'analisi della qualità degli studi primari ha evidenziato una scarsa qualità metodologica nella conduzione degli studi inclusi nella revisione sistematica. Dalla meta-analisi non è emersa una correlazione statisticamente significativa tra la delezione del gene BCL2L11 e il tasso di resistenza agli inibitori della tirosin chinasi (OR 1.24, 95% CI 0.79-1.95, $I^2=34\%$, $P=0.15$). Non si evince, inoltre, l'esistenza di bias di pubblicazione.

Il gene BCL2L11 codifica per una proteina BH3-only appartenente alla famiglia di proteine Bcl-2 (B-cell lymphoma 2). Da evidenze di letteratura si evince come imatinib sembri svolgere la sua attività antineoplastica tramite attivazione della proteina BH3-only, nota per indurre apoptosi delle cellule BCR-ABL1 positive nella LMC. La delezione di 2903 bp a livello dell'introne 2 del gene BCL2L11 risulta in uno splicing preferenziale dell'esone 3 rispetto all'esone 4. Essendo l'attività pro-apoptotica di BH3 dovuta principalmente ad un dominio codificato dall'esone 4, si rende plausibile una ridotta efficacia di imatinib nei soggetti portatori di tale delezione. Dalla presente meta-analisi, non si evince, tuttavia, una correlazione statisticamente significativa tra tale delezione del gene BCL2L11 e la risposta agli inibitori delle tirosin chinasi in pazienti asiatici affetti da leucemia mieloide cronica.

Limiti dello studio: i) la qualità metodologica degli studi inclusi nella presente meta-analisi è mediamente bassa; ii) la dimensione campionaria su cui è stata effettuata la stima meta-analitica è ridotta ($N=760$); iii) non è stato possibile condurre meta-analisi per sottogruppi a causa del ridotto numero di studi primari inclusi nella revisione sistematica. Alla luce di tali limitazioni, i risultati della presente meta-analisi non possono considerarsi conclusivi. Ulteriori studi, possibilmente multicentrici, di natura prospettica e di idonea dimensione campionaria, si rendono quindi necessari al fine di escludere definitivamente un possibile ruolo della delezione del gene BCL2L11 nell'efficacia di imatinib in pazienti asiatici affetti da leucemia mieloide cronica.

La delezione del gene BCL2L11 non è correlata alla risposta ad imatinib in pazienti di etnia asiatica affetti da leucemia mieloide cronica.

Parole chiave: leucemia mieloide cronica, imatinib, BCL2L11

Riferimento bibliografico

[Xu J et al. *Oncotarget* 2017, 8\(58\):99041-8](#)



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 Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (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) Dott. Davide Selvestrel (Università di Trieste)

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.