

**Newsletter Numero 107 – Giugno 2018**

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

Sommario**⇒ Oncologia**

- Un polimorfismo genetico di SLC3A1, mediante modulazione di un miRNA, è associato con l'outcome clinico alla chemioterapia basata sul platino in pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule
- Il DNA tumorale circolante come utile biomarcatore per predire le pseudo-progressioni nei pazienti con melanoma metastatico in trattamento con dei checkpoint immunitari
- L'espressione di CRBN, IKZF1 e IKZF3 non predice la sensibilità alla lenalidomide e mu-tazioni nella pathway di cereblon sono rare nel mieloma multiplo

⇒ Immunomodulazione

- Associazione tra i polimorfismi dei geni per fattori di crescita VEGFA ed EGF e risposta all'acitretina nella psoriasi
- Cambiamenti nell'espressione del miR-5196 come un potenziale biomarcatore per la terapia con anti-TNF- α nei pazienti con artrite reumatoide e spondilite anchilosante

⇒ Cardiovascolare

- Approccio farmacogenomico per la scelta della terapia antiaggregante nei pazienti con sin-drome coronarica acuta: il trial PHARMCLO

⇒ Neurologia

- Associazione degli aplotipi del recettore per la serotonina 2A con il disturbo ossessivo-compulsivo e la risposta al trattamento nei pazienti iraniani: uno studio genetico e farmaco-genetico
- Ruolo del gene OPRM1 ed effectiveness di un piano di trattamento personalizzato nei pa-zienti con disturbo da uso di oppioidi da prescrizione

⇒ Oftalmologia

- Associazione di varianti genetiche con la risposta alla terapia anti-fattore di crescita dell'en-dotelio vascolare nella degenerazione maculare legata all'età

⇒ La metanalisi del mese

- Analisi dell'associazione tra i polimorfismi del gene P2RY12 e l'insorgenza di effetti avversi indotti da clopidogrel in pazienti affetti da coronaropatie: uno studio di revisione sistematica e meta-analisi

ONCOLOGIA**UN POLIMORFISMO GENETICO DI SLC31A1, MEDIANTE MODULAZIONE DI UN miRNA, È ASSOCIATO CON L'OUTCOME CLINICO ALLA CHEMIOTERAPIA BASATA SUL PLATINO IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al polmone è tra le tipologie più comuni sia tra gli uomini che tra le donne ed è tra le principali cause di morte tumore-correlata. Il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) rappresenta circa l'80% di tutti i casi e la maggior parte di questi vengono diagnosticati quando sono già in stadio avanzato. Ad oggi, la prima linea di terapia per il NSCLC avanzato rimane la chemioterapia basata sul platino. Nonostante gli sforzi per migliorare l'efficacia terapeutica, questo tipo di chemioterapia porta ai pazienti benefici modesti e effetti avversi severi. Dal punto di vista meccanicistico, la risposta clinica dipende principalmente dall'accumulo intracellulare del platino e dalla sua inattivazione citosolica, da una deregolazione dei sistemi di riparo del DNA o da un'aumentata tolleranza al danno dello stesso. È quindi chiaro che alterazioni a carico della sequenza del DNA - come i polimorfismi - codificanti per enzimi coinvolti in questi pathway possono avere ripercussioni sull'esito clinico. Recentemente è emerso il ruolo di SLC31A1 come trasportatore di membrana per l'intake del platino e che ridotti livelli di SLC31A1 sono associati con ridotte concentrazioni di platino e risposte tumorali. Date le suddette premesse, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare se la presenza di polimorfismi sul gene codificante per SLC31A1 sono associati con la risposta alla chemioterapia basata sul platino.

In questo studio sono stati arruolati 1004 pazienti cinesi affetti da NSCLC in trattamento con cisplatino o carboplatino per un minimo di 2 ed un massimo di 6 cicli (n=49 pazienti erano stati trattati con altri regimi terapeutici basati sul platino). Sono stati analizzati 8 polimorfismi (rs4979223, rs4978536, rs2233914, rs10817464, rs10981699, rs10817465, rs10513202, rs10759637).

Inizialmente è stata valutata l'associazione tra la distribuzione genotipica e la tossicità; i pazienti in studio sono stati suddivisi in due gruppi in base alla severità degli eventi avversi (grado 0-2 vs grado 3-4). Cinque polimorfismi (rs4979223, rs4978536, rs2233914, rs10817464, rs10759637) hanno mostrato correlazioni significative con la tossicità. In particolare, il genotipo in eterozigosi (AC) per gli SNP rs4979223 e rs10759637 è risultato significativamente associato con trombocitopenia severa, comparato con i genotipi in omozigosi (rispettivamente OR=2.60, 95% CI 1.20-5.64, p=0.015; OR=2.69, 95% CI 1.24-5.83, p=0.012). Per quanto riguarda lo SNP rs4978536, la presenza di almeno un allele minore (AG+GG) era significativamente correlata trombocitopenia severa (OR=2.59, 95% CI 1.23-5.47, p=0.012). Analogamente, il polimorfismo rs10817464 è risultato associato con trombocitopenia severa, leucopenia, tossicità ematologica e tossicità globale. Al contrario, l'allele wild-type AA di rs2233914 era correlato con una tossicità globale di grado 0-2 (R=0.59, 95% CI 0.36-0.95, p=0.029). Analizzando gli aplotipi dei cinque SNPs, gli autori hanno predetto 4 aplotipi comuni identificando l'aplotipo CGGGC (rs4979223 C, rs4978536 G, rs2233914 G, rs10817464 G, rs10759637 C) come associato significativamente con tossicità severa (leucopenia, trombocitopenia, e tossicità globale).

Per quanto riguarda l'overall survival (OS), il test log-rank ha mostrato un'associazione con rs4979223 (p=0.006), rs2233914 (p=0.016) e rs10759637 (p=0.010). Nello specifico, per lo SNP rs10759637, il tempo mediano di OS era significativamente più breve per i pazienti con genotipo eterozigote AC rispetto a quelli con genotipo AA o CC (17.7 vs 20.2 mesi, p=0.004). Mediante regressione di Cox, è stato osservato che rs10759637 AC era associato con un rischio aumentato di progressione tumorale (HR=1.24, 95%CI 1.07-

1.44). Risultati analoghi sono stati ottenuti per il polimorfismo rs4979223 (log-rank $p=0.002$; HR=1.25, 95%CI 1.08-1.45).

Per giustificare l'associazione SNP-outcome clinico, gli autori hanno ipotizzato un coinvolgimento di un miRNA –hsa-miR29- che lega specifici siti di legame sulla 3'UTR di SLC31A1. In particolare, la presenza dello SNP rs10759637 potrebbe alterare la struttura secondaria locale dell'mRNA a livello dei siti del miR-29abc, interferendo quindi con la regolazione dell'espressione di SLC31A1. Tale ipotesi è stata confermata mediante il saggio della luciferasi sulla linea cellulare 16HBE. In accordo con questi risultati, gli autori hanno osservato che, in campioni di cancro ai polmoni, il genotipo AC era correlato con una minore espressione di SLC31A1.

Questo studio unisce un'analisi di tipo esplorativo su una vasta coorte di pazienti affetti da NSCLC e una conferma funzionale dell'ipotetico ruolo del polimorfismo su modello cellulare. Dal punto di vista del potere statistico, l'analisi risulta essere robusta; va sottolineato inoltre che i 1004 individui erano unicamente di etnia asiatica e che quindi saranno certamente necessarie ulteriori indagini per confermare questo importante dato anche in etnie differenti.

In conclusione, questo studio ha rivelato che il polimorfismo di SLC31A1 rs10759637 è associato con la tossicità e l'*outcome* clinico in pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule, in trattamento con chemioterapia basata sul platino. Questo SNP potrebbe modulare l'interazione hsa-miR-29/3'UTR e favorire una down-regolazione di SLC31A1.

Parole chiave: Tumore al polmone non a piccole cellule, chemioterapia basata sul platino, miR-29

Riferimento bibliografico

[Sun C](#) et al. *Oncotarget* 2018, 9(35):23860-77

IL DNA TUMORALE CIRCOLANTE COME UTILE BIOMARCATORE PER PREDIRE LE PSEUDO-PROGRESSIONI NEI PAZIENTI CON MELANOMA METASTATICO IN TRATTAMENTO CON DEI CHECKPOINT IMMUNITARI

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

Nei pazienti affetti da melanoma metastatico il trattamento standard è rappresentato dall'utilizzo di inibitori diretti contro la proteina PD-1, anche in combinazione con ipilimumab, un anticorpo monoclonale diretto contro la proteina CTLA-4 (Robert C et al. *N Engl J Med* 2015, 372(26):2521-32; Weber JS et al. *Lancet Oncol* 2015, 16(4):375-84; Larkin J et al. *N Engl J Med* 2015, 373(1):23-34). Recentemente, sono stati pubblicati i risultati di uno studio che hanno messo in luce come il DNA tumorale circolante (ctDNA), analizzato prima dell'inizio o comunque entro 8 settimane dall'inizio del trattamento, possa essere un utile biomarcatore predittivo di risposta ai farmaci immunoterapici nei pazienti con melanoma e sottoposti al trattamento con immunoterapici (Lee JH et al. *Ann Oncol* 2017, 28(5):1130-6). Un piccolo sottogruppo di pazienti trattati con l'immunoterapia (10%) subiscono un modello atipico di risposta definito pseudo-progressione (Hodi FS et al. *J Clin Oncol* 2014, 32(15)(suppl):9002). Lesioni nuove o in crescita appaiono dopo l'inizio della terapia, imitando così la progressione del tumore, seguito da un'eventuale diminuzione del carico tumorale totale. Gli standard di risposta tradizionali applicati al momento dell'aumento iniziale nel carico tumorale possono falsamente designare questo come un fallimento del trattamento, portando anche al termine inappropriato della terapia. Solo l'imaging di follow-up (almeno dopo 4 settimane) può aiutare a distinguere i pazienti con pseudo-progressione dai pazienti con vera progressione. Sia il RECIST 1.1 sia i criteri WHO si sono rivelati inadeguati per la valutazione della risposta all'immunoterapia. Per tale motivo, i criteri di risposta relativi all'immunologia (immune-related Response Criteria - irRC) sono stati proposti come modalità per valutare la risposta del tumore agli immunoterapici in generale, tenendo conto della possibilità di una pseudo-progressione (Wolchok JD et al. *Clin Cancer Res* 2009, 15(23):7412-20).

Per questo motivo, gli autori di questo studio hanno valutato se i cambiamenti dei livelli di ctDNA prima dell'inizio e precocemente durante il trattamento immunoterapico possano essere un utile strumento per differenziare le pseudo-progressioni dalle vere progressioni nei pazienti affetti da melanoma.

Nello studio sono stati inclusi 125 pazienti affetti da melanoma allo stadio IV, BRAF o NRAS positivi e trattati con farmaci immunoterapici (pembrolizumab o nivolumab) in monoterapia o in terapia combinata con ipilimumab. La risposta obiettiva ai trattamenti è stata valutata in maniera retrospettiva tramite CT o MRI ogni 12 settimane dall'inizio della terapia, usando i criteri RECIST 1.1. Nello studio sono stati inclusi tutti i pazienti che alla prima rivalutazione strumentale hanno mostrato progressione di malattia. La risposta obiettiva è stata, inoltre, valutata utilizzando anche i criteri irRC, considerando la pseudo-progressione in presenza di un aumento di più del 25% del carico tumorale alla prima rivalutazione strumentale (12esima settimana di trattamento) ma non confermata come progressione di malattia alla seconda rivalutazione.

I campioni di sangue sono stati raccolti prospettivamente prima dell'inizio della terapia e ad intervalli regolari durante il trattamento; il ctDNA è stato estratto con il QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen), mentre le mutazioni a carico dei geni BRAF (p.V600E, p.V600K/R e p.L597R) e NRAS (p.Q61L/K/R) sono state valutate utilizzando il sistema della digital droplet PCR (ddPCR). Sulla base del profilo molecolare risultante dalle analisi condotte sul ctDNA, i pazienti sono stati classificati come pazienti con un "*profilo di ctDNA favorevole*" quando: 1) ctDNA non quantificabile sia prima dell'inizio del trattamento che durante la terapia e 2) ctDNA quantificabile prima dell'inizio del trattamento, ma che si riduceva o non era quantificabile in corso di terapia. Inoltre, i pazienti con ctDNA quantificabile prima dell'inizio del trattamento che restava stabile o aumentava in corso di terapia sono stati definiti come pazienti con un "*profilo di ctDNA non favorevole*". Infine, i pazienti sono stati anche classificati, in base ai livelli misurati di lattato deidrogenasi (LDH) nel sangue, come pazienti con un profilo "favorevole" o "non favorevole".

Dei 125 pazienti arruolati, per 96 è stato possibile raccogliere i campioni plasmatici sia prima dell'inizio della terapia sia nel corso del trattamento; inoltre, per tutti i 96 pazienti erano disponibili le indagini di imaging di follow-up (≥ 1). Secondo i criteri RECIST 1.1 di risposta alla 12esima settimana di trattamento, 3 pazienti avevano ottenuto una risposta completa e 57 una risposta parziale; mentre 10 pazienti erano in stabilità di malattia e 29 in progressione di malattia.

In particolare, dei 29 pazienti in progressione di malattia, 20 avevano una reale progressione, mentre per 9 vi era una pseudo-progressione. Inoltre, 11 su 29 pazienti sono stati classificati come pazienti con un "*profilo di ctDNA favorevole*". Per 2 di questi 11 pazienti, non era stato quantificato il ctDNA prima dell'inizio della terapia; 5 pazienti, invece, avevano livelli di ctDNA quantificabili prima dell'inizio della terapia, che non sono più stati quantificabili dopo 6 settimane; infine, 4 pazienti avevano livelli di ctDNA quantificabili prima dell'inizio della terapia, che si sono però ridotti dopo 12 settimane.

Per questi 29 pazienti, dal punto di vista molecolare, le indagini condotte sul plasma utilizzando il sistema ddPCR hanno evidenziato per 12 pazienti la presenza della mutazione BRAF p.V600E, per 5 la mutazione BRAF p.V600K o R, per 1 la mutazione BRAF p.L597R e, infine, per 11 la mutazione NRAS p.Q61L o K o R.

Il 100% dei pazienti in pseudo-progressione (n=9) aveva un "*profilo di ctDNA favorevole*": per 2 pazienti il ctDNA non è stato rilevato prima dell'inizio della terapia; 4 pazienti avevano livelli di ctDNA quantificabili prima dell'inizio della terapia, che non sono più stati quantificabili; infine, 3 pazienti avevano livelli di ctDNA quantificabili prima dell'inizio della terapia, che si sono però ridotti dopo 12 settimane.

Per questi 9 pazienti, dal punto di vista molecolare, le indagini condotte sul plasma utilizzando il sistema ddPCR hanno evidenziato per 3 pazienti la presenza della mutazione BRAF p.V600E, per 3 la mutazione BRAF p.V600K o R, per 1 la mutazione BRAF p.L597R e, infine, per 2 la mutazione NRAS p.Q61L o K o R.

Il 90% (n=18) dei pazienti in vera progressione aveva un "*profilo di ctDNA non favorevole*": 15 pazienti avevano livelli di ctDNA quantificabili prima dell'inizio della terapia, che sono rimasti stabili dopo 6 o 12 settimane; mentre 3 pazienti avevano livelli di ctDNA quantificabili prima dell'inizio della terapia, che sono aumentati dopo 6 o 12 settimane. Per questi 18 pazienti, dal punto di vista molecolare, le indagini condotte sul plasma utilizzando il sistema ddPCR hanno evidenziato per 3 pazienti la presenza della mutazione BRAF p.V600E, per 1 la mutazione BRAF p.V600K o R e, infine, per 8 la mutazione NRAS p.Q61L o K o R.

Il profilo ctDNA possedeva una sensibilità del 90% (CI 95%: 68%-99%) e una specificità del 100% (CI 95%: 66%-100%) di predire la pseudo-progressione. Viceversa, il profilo LDH possedeva una sensibilità (60%; CI 95%: 36%-81%) ed una specificità (89%; CI 95%: 52%-100%) inferiore di predire la pseudo-progressione. Il profilo ctDNA possedeva un valore predittivo maggiore rispetto al profilo LDH, sia in senso positivo (100% vs 92%) sia in senso negativo (82% vs 50%).

Nei pazienti con progressione della malattia, un "profilo di ctDNA non favorevole" era legato a una sopravvivenza a 1 anno migliore rispetto ai pazienti con "profilo di ctDNA non favorevole" (82% vs 39%; HR: 4.8; p=0.02).

In conclusione, nonostante lo studio presenti diversi limiti metodologici (come ad esempio la natura retrospettiva delle analisi delle risposte radiologiche, la valutazione precoce delle risposte tramite imaging per tutti i pazienti alla 12esima settimana di trattamento e la mancanza di rivalutazioni in imaging più frequenti da poter paragonare ai risultati molecolari su ctDNA), i dati forniti da questo studio hanno messo in luce l'importanza di analizzare e monitorare il ctDNA in pazienti affetti da melanoma metastatico ed in trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari. Difatti, in questi pazienti il monitoraggio longitudinale del ctDNA potrebbe essere un utile biomarcatore per predire i fenomeni di pseudo-progressione, distinguendoli dalle vere progressioni di malattia.

Parole chiave: DNA tumorale circolante, melanoma, pseudo-progressioni, ddPCR

Riferimento bibliografico

[Lee JH](#) et al. *JAMA Oncol* 2018, 4(5):717-21

L'ESPRESSIONE DI CRBN, IKZF1 E IKZF3 NON PREDICE LA SENSIBILITÀ ALLA LENALIDOMIDE E MUTAZIONI NELLA PATHWAY DI CEREBLON SONO RARE NEL MIELOMA MULTIPLIO

A cura delle Dott.sse Letizia Pugnetti e Marianna Lucafò

I farmaci immunomodulatori (IMiDs) talidomide, e i suoi analoghi lenalidomide e pomalidomide, giocano un ruolo centrale nel trattamento del mieloma multiplo (MM). Recentemente è stato dimostrato il possibile meccanismo d'azione di questi farmaci, che agirebbero attraverso il legame con cereblon (CRBN), una proteina che fa parte del complesso E3-ubiquitin ligasi. L'interazione fra farmaco e tale proteina sembrerebbe alterare l'affinità di CRBN per due fattori di trascrizione, Ikaros (IKZF1) e Aiolos (IKZF3), importanti per la generazione, maturazione e migrazione delle plasmacellule, causando la loro degradazione.

In questo lavoro, gli autori hanno voluto indagare sul ruolo di CRBN, IKZF1 e IKZF3 come potenziali marcatori di risposta alla lenalidomide. In dettaglio, è stata valutata l'espressione di CRBN, IKZF1 e IKZF3 mediante immunoistochimica (ICH), su 23 campioni di midollo osseo fissati e inclusi in paraffina (FFPE) di pazienti affetti da MM prima dell'inizio della terapia con lenalidomide, e su 7 campioni di pazienti trattati con lenalidomide ottenuti in seguito a ricaduta.

Per la misurazione dei livelli di espressione delle proteine nei campioni è stato assegnato un punteggio, definito H-score, utilizzando la seguente formula: $H\ score = [1x(\%cell\ 1+) + 2x(\%cell\ 2+) + 3x(\%cell\ 3+)]$, dove 1+, 2+ e 3+ indicano rispettivamente un segnale debole, intermedio o alto.

Per quanto riguarda i livelli di espressione basale di CRBN, su 23 biopsie di pazienti raccolte prima del trattamento, 17 presentavano alti livelli di CRBN (H score > 200) mentre 6 mostravano livelli più bassi (H score < 200). Da notare che fra i 5 pazienti definiti refrattari al trattamento, solo 1 mostrava bassi livelli di CRBN.

L'analisi svolta sui 7 campioni ottenuti in seguito a trattamento ha rivelato che, in 5 dei 7 pazienti che presentavano una resistenza acquisita agli IMiDs, i livelli di CRBN diminuivano anche se non in modo statisticamente significativo, fenomeno che ha portato gli autori a descrivere il decremento di espressione

della proteina come una possibile conseguenza e non la causa della resistenza al farmaco. Inoltre, dalle analisi di IHC è emersa una diffusa positività per IKZF1 e IKZF3 nelle plasmacellule di tutti i pazienti affetti da MM, indipendentemente dalla risposta al farmaco, suggerendo che IKZF1 e IKZF3 non sono dei marcatori predittivi di risposta.

Dai dati, inoltre, è emerso che IKZF1 è espresso sia nelle cellule maligne che in quelle del microambiente tumorale, in particolare nelle cellule stromali, mentre CRBN e IKZF3 sembrano essere principalmente localizzati a livello delle cellule tumorali. L'espressione di nessuna di queste molecole nei campioni di ICH di midollo risultava essere correlato con la risposta clinica.

Per escludere che mutazioni a carico di CRBN e di altri 11 geni candidati (tra cui IKZF1, IKZF3, CUL4A e IRF4) possano avere un ruolo nella risposta alla lenalidomide, il DNA di 28 pazienti (21 pre-trattamento e 7 post-trattamento ricaduti) è stato utilizzato per analisi di sequenziamento mediante tecnologia di Next Generation Sequencing (NGS). Nei 21 campioni raccolti prima dell'inizio della terapia sono state rilevate 16 mutazioni, di cui 13 erano missenso (61,9%), una era nonsense (4,7%) e due erano situate in siti donatori o accettori di splicing (9,5%).

Non sono state rilevate mutazioni né a carico di CRBN né dei suoi target molecolari, suggerendo che la resistenza agli IMiDs non è causata da eventi genetici diretti dei membri della pathway di CRBN. È stata osservata invece un'elevata frequenza di mutazioni a carico del gene KRAS (8/21 pazienti - 38,1%) e ATM (3/21 - 14,3%) mentre un singolo paziente presentava tre diverse mutazioni a carico del gene UTX. Per ciò che riguarda i 7 campioni di pazienti trattati con lenalidomide e ricaduti è emerso che 4 pazienti non hanno presentato mutazioni sia nei campioni pre- che post-trattamento mentre in 3 pazienti è emerso pattern di mutazioni differenti tra i campioni pre e post-terapia. In particolare 2 dei 7 pazienti hanno mostrato segni di evoluzione clonale al momento della ricidiva: nel primo paziente, l'espansione clonale con nuove mutazioni nei geni NRAS e TP53 è comparsa al momento della ricaduta, mentre il secondo paziente ha acquisito una nuova mutazione nel gene ATM al momento della ricaduta suggerendo che la resistenza alla terapia potrebbe essere associata al fenomeno di evoluzione clonale.

I livelli di espressione di CRBN e dei suoi target, IKZF1 e IKZF3 non sembrerebbero predire la risposta alla lenalidomide. Il ruolo di CRBN come biomarcatore risulta essere quindi ancora incerto e richiede ulteriori studi in coorti più ampie e lo sviluppo di metodiche standardizzate per la valutazione della sua quantificazione.

Parola chiave: IMiDs, lenalidomide, cereblon, risposta terapeutica, mieloma

Riferimento bibliografico

[Dimopoulos K](#) et al. *Leuk Lymphoma* 2018 May 2:1-9 [Epub ahead of print]

IMMUNOMODULAZIONE

ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI DEI GENI PER FATTORI DI CRESCITA VEGFA ED EGF E RISPOSTA ALL'ACITRETINA NELLA PSORIASI

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La psoriasi è una patologia cutanea infiammatoria immuno-mediata che coinvolge circa il 2% della popolazione. L'acitretina, un analogo della famiglia dei retinoidi, è ampiamente utilizzato per il trattamento della forma volgare moderata-severa (Navarini AA & Trueb RM. *Psoriasis Rev Ther* 2010, 67:153–65; Carretero G et al. *Dermatology and Venereology Actas Dermosifiliogr* 2013, 104:598–616) ed il suo meccanismo d'azione principale sembra essere la regolazione della differenziazione, proliferazione e

apoptosi dei cheratinociti (Berbis P. *Ann Dermatol Venereol* 2010, 137:S97–S103). Inoltre, è stato dimostrato che gli analoghi dei retinoidi regolano l'espressione di EGF e VEGF nei cheratinociti epidermici (Young HS et al. *J Invest Dermatol* 2006, 126: 453–9; Giltaire S et al. *Br J Dermatol* 2009, 160:505–13). Il VEGF è un fattore angiogenetico associato con diverse patologie e che sembra essere coinvolto nella patogenesi della psoriasi (Chiarini A et al. *Int J Mol Med* 2006, 18:17–25). Topi transgenici per il VEGF mostrano un'inflammatione cutanea severa, aumento dei vasi nel derma, aumento della permeabilità vascolare e lesioni simil-psoriasiche (Detmar M et al. *J Invest Dermatol* 1998, 111:1–6; Detmar MJ *Dermatol Sci* 2000, 24:S78–84). L'EGF aumenta invece l'infiltrazione di cellule e l'espressione di chemochine nei cheratinociti (Mascia F et al. *Am J Pathol* 2003, 163:303–12). È stato riscontrato un aumento dei livelli di questo fattore di crescita e della capacità di legame di 2 volte nelle lesioni psoriasiche e di 10 volte nel siero (Nanney LB et al. *J Invest Dermatol* 1986, 86:260–5; King LE et al. *J Invest Dermatol* 1990, 94:164s–170s; Anderson KS et al. *Br J Dermatol* 2010, 163:1085–9), con una correlazione con la gravità della patologia (Flisiak I et al. *Clin Exp Dermatol* 2014, 39:461–7). Pertanto, queste due vie di segnalazione potrebbero essere chiave nei processi infiammatori e proliferativi della psoriasi. Diversi SNP del gene *VEGFA*, tra cui rs833061 (T > C), rs3025033 (A > G), rs10434 (G > A), rs2010963 (C > G) ed rs1570360 (G > A), sono stati associati con il rischio di psoriasi (Young HS et al. *J Invest Dermatol* 2004, 122:209–15; Barile S et al. *Exp Dermatol* 2006, 15:368–76; Zablorna M et al. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013, 27(3):319–23; Qi M et al. *DNA Cell Biol* 2014, 33:234–44).

Il polimorfismo rs833061 (T > C) del *VEGFA* è stato associato con la risposta terapeutica (Stefanaki I et al. *Dermatology* 2008, 217(3):201–2). Non sono disponibili invece studi relativi all'associazione tra polimorfismi dell'*EGF* e rischio di psoriasi.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza di polimorfismi dei geni dei fattori di crescita *VEGFA* ed *EGF* sul rischio di insorgenza e la risposta al trattamento in pazienti Cinesi Han affetti da psoriasi volgare.

Sono stati arruolati pazienti di età ≥ 18 anni, con diagnosi di psoriasi volgare, non in trattamento nelle ultime 8 settimane. I pazienti arruolati non dovevano essere affetti da altre patologie cutanee, da dislipidemia o disfunzioni epatiche e renali. Le donne non dovevano essere in stato di gravidanza o allattamento e non avrebbero dovuto programmare una gravidanza per i 3 anni successivi. I pazienti arruolati e affetti da forma moderata-grave sono stati trattati con acitetrina 30 mg/die e calcipotriolo unguento ogni giorno. Una visita di *follow-up* è stata effettuata dopo 8 settimane. La severità della psoriasi è stata valutata dall'indice PASI e BSA, definendo una forma moderata-grave in caso di punteggio superiore a 10. La risposta al trattamento è stata definita come un miglioramento del PASI superiore al 50% (PASI50) rispetto al basale. Anche il PASI75 può essere utilizzato per valutare l'efficacia terapeutica. Per l'analisi farmacogenetica sono stati selezionati gli SNP rs4444903(G > A) e rs2237051 (A > G) del gene *EGF* e gli SNP rs833061 (T > C) e rs10434 (G > A) del *VEGFA*.

Dall'agosto 2012 all'agosto 2014 sono stati arruolati 131 pazienti affetti da acne volgare (80 maschi e 51 femmine) di età media pari a 40 anni e 176 controlli per età e sesso (104 femmine e 72 maschi) di età media pari a 44 anni. Per nessuno degli SNP studiati è stata trovata associazione con il rischio di psoriasi. Dei 131 pazienti, 17 sono stati eliminati dallo studio mentre 112 hanno completato le 8 settimane di trattamento con significativo miglioramento (PASI pre versus PASI post 15.53 ± 3.90 versus 10.10 ± 8.90 , $p < 0.001$). Il 51,78% ha risposto bene ottenendo il PASI50 ed il 28,57% il PASI75. Non è stata riscontrata differenza significativa nella distribuzione degli SNP tra i *responders* ed i non *responders*. Sono stati osservati diversi eventi avversi, tra i quali cheilite e secchezza delle fauci nell'83,93% dei 112 partecipanti, ma nessuno degli SNP è stato associato con una maggiore frequenza. L'eritema è stato osservato in 7 pazienti e l'allele rs2237051G dell'*EGF* ha mostrato una frequenza più elevata ($p = 0.015$).

La psoriasi è una patologia complessa per la quale son stati individuati oltre 80 loci di suscettibilità. I geni *VEGF* ed *EGF* giocano un ruolo importante nella proliferazione dei cheratinociti e nelle difese antimicrobiche nella psoriasi (Anderson KS et al. *Br J Dermatol* 2010, 163:1085–9; Gambichler T et al. *Int Arch Allergy Immunol* 2008, 147:17–24; Johnston A et al. *J Invest Dermatol* 2011, 131:329–37). Studi

precedenti dimostrano un'influenza degli SNP rs2010963 (C > G) e rs833061 (T > C) del *VEGF* nella suscettibilità alla psoriasi negli asiatici (Qi M et al. *DNA Cell Biol* 2014, 33:234–44; Lee YH & Song GG. *Genet Mol Res* 2015, 14(4):14396–405). La risposta all'acitretina varia dal 26 al 54% (Ormerod AD et al. *Br J Dermatol* 2010, 162:952–63).

La combinazione tra acitretina orale e calcipotriolo topico è comune nelle forme moderate-severe. In questo studio è stato osservato che l'efficacia varia significativamente tra i pazienti e un ruolo della farmacogenetica è possibile. Tuttavia non è stata trovata un'associazione significativa con gli SNP studiati. Questo studio mostra un'associazione tra l'allele rs2237051G dell'*EGF* ed il rischio di eritema in pazienti con psoriasi trattati con acitretina e calcipotriolo per 8 settimane. Considerato che il numero di pazienti con eritema è molto basso, sono necessari ulteriori studi per confermare questo dato.

Questo studio dimostra che l'allele rs2237051G dell'*EGF* è associato con un aumento del rischio di eritema durante il trattamento della psoriasi.

Parole chiave: psoriasi, *VEGFA*, *EGF*, acitretina

Riferimento bibliografico

[Chen W](#) et al. *Per Med* 2018, 15(3):181-8.

CAMBIAMENTI NELL'ESPRESSIONE DEL MIR-5196 COME UN POTENZIALE BIOMARCATORE PER LA TERAPIA CON ANTI-TNF-A NEI PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE E SPONDILITE ANCHILOSANTE

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Le patologie reumatiche, fra cui l'artrite reumatoide (RA), la sclerosi sistemica (SSc) o la spondilite anchilosante (AS), sono malattie croniche autoimmuni caratterizzate da dolore e infiammazione delle articolazioni. Questa classe di patologie tende ad essere progressiva in termine di disabilità, perciò, durante l'ultima decade, l'impatto economico delle malattie reumatiche è diventato significativamente degno di nota. Sfortunatamente, non esistono cure per queste e il trattamento convenzionale che prevede l'impiego di farmaci anti-reumatici (cDMARD) e/o anti-infiammatori non steroidei (NSAID), è spesso associato ad un elevato numero di effetti collaterali. Il fattore di necrosi tumorale α (TNF- α) gioca un ruolo fondamentale nella patogenesi e nella distruzione tissutale della RA, per cui lo sviluppo di una terapia anti-TNF- α può rappresentare una pietra miliare nella cura della RA. Basandosi su evidenze cliniche e sperimentali, il blocco del TNF- α con anticorpi causa una down-regolazione dell'interleuchina-1 (IL-1), del fattore stimolante le colonie di macrofagi e granulociti, le IL-6 e 8, e molte altre molecole attive. Questi fattori concorrono alla distruzione delle articolazioni nei pazienti affetti da RA. Inoltre, in maniera analoga, è stato osservato che i pazienti con AS vanno incontro ad un miglioramento nei livelli di dolore, nelle abilità funzionali e nei marker dell'infiammazione - come la proteina C reattiva (CRP) - in seguito alla somministrazione di anti-TNF- α . Purtroppo, però, l'alto costo del trattamento e la diminuzione di efficacia rappresenta una problematica importante per i pazienti affetti da RA o AS e fa sì che non possa essere considerata valida per tutti i malati. Per cui, è nata la forte esigenza di identificare dei biomarcatori che permettano di predire il successo farmacologico non solo in coloro che soffrono di RA, ma anche per tutti quelli affetti da patologie reumatiche come AS. L'espressione dei miRNA può essere alterata in condizioni di stress fisio-patologico, malattie o trattamento farmacologico. Perciò, l'identificazione di miRNA che possano essere impiegati come biomarcatori permettendo una diagnosi precoce e la predizione della risposta all'impiego di anti-TNF- α , rappresenta un topic di notevole interesse per coloro che si occupano di queste patologie. L'obiettivo dei ricercatori è stato quindi quello di analizzare l'espressione del miR-5196, che precedentemente è stato dimostrato essere iperespresso nei pazienti con SSc rispetto ai controlli (Ciechomska M et al, *Eur J Clin*

Invest., 2017, Aug;47(8):555-564), come possibile biomarcatore predittivo per l'esito positivo del trattamento dei pazienti RA e AS con anti-TNF- α .

Per questo studio sono stati arruolati 10 pazienti con RA, 13 con AS, e sono stati usati 15 donatori sani (HC) come controllo. È stato estratto l'RNA circolante dai membri della coorte ed è stato retrotrascritto a cDNA con la sonda singola per il miR-5196; i campioni sono stati normalizzati con il let-7a come endogeno e confrontando i Ct dei pazienti con quelli dei controlli.

Dalle analisi effettuate, è risultato che il livello del miR-5196 nei pazienti affetti da RA e AS è incrementato di 4.72 e di 4.41 volte rispettivamente, rispetto agli HC. Inoltre, i pazienti RA che hanno utilizzato l'anti-TNF- α per 6 mesi, hanno avuto una significativa diminuzione dei livelli di questo miRNA nel siero, che si sono mantenuti comunque superiori a quelli dei controlli. Questo permette di ipotizzare che l'espressione del miR-5196 circolante dei pazienti affetti da malattie reumatiche sia significativamente elevata, ma che possa diminuire in seguito al trattamento con anti-TNF- α . Inoltre, nei pazienti con RA trattati è emersa anche una significativa riduzione della media di DAS28 (Score dell'Attività della Malattia, che impiega anche l'attività della CRP), non accompagnata, però, da una riduzione rilevante della CRP - così come avviene nei pazienti con AS.

In più, sono stati calcolati i delta Ct del miRNA e della CRP prima e dopo il trattamento in modo da determinare quale, in relazione con il DAS28, predice meglio l'outcome dei pazienti con RA o AS. Dai risultati ottenuti, è stato possibile constatare che i livelli di miR-5196 possono essere impiegati come validi biomarcatori predittivi per la risposta al trattamento con anti-TNF- α dei pazienti.

I cambiamenti nei livelli di espressione del miR-5196 possono essere utilizzati come utili biomarcatori predittivi della risposta al trattamento con anti-TNF- α nei pazienti affetti da RA e AS.

Lo studio presenta come limitazione principale il numero esiguo di campioni utilizzati per l'analisi; inoltre non sono state eseguite validazioni dell'effettiva efficacia prognostica del miRNA studiato in una coorte maggiore di pazienti affetti da RA o AS.

Parole chiave: miR-5196, biomarcatori, artrite reumatoide, spondilite anchilosante, anti-TNF- α

Riferimento bibliografico

[Ciechomska M](#) et al. *Arch Immunol Ther Exp* 2018 Maggio

CARDIOVASCOLARE

APPROCCIO FARMACOGENOMICO PER LA SCELTA DELLA TERAPIA ANTIAGGREGANTE NEI PAZIENTI CON SINDROME CORONARICA ACUTA: IL TRIAL PHARMCLO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

La doppia terapia antiaggregante con aspirina e antagonisti del recettore PY12 rappresenta il *gold standard* nella cura della sindrome coronarica acuta (SCA). Le più recenti Linee Guida (ESC 2017, AHA/ACC 2018) suggeriscono il trattamento in prima linea con prasugrel o ticagrelor e l'utilizzo del clopidogrel soltanto quando questi farmaci sono controindicati o non disponibili. Prasugrel e ticagrelor sono superiori al clopidogrel nella prevenzione di eventi ischemici ma sono associati a un maggiore rischio di complicanze emorragiche.

Esiste un'ampia variabilità nella risposta al clopidogrel che dipende da vari fattori, tra i quali i polimorfismi nei geni codificanti per il trasportatore e/o enzimi coinvolti nel metabolismo del farmaco (*Curr Genet Med Rep.* 2016 Sep;4(3):119-129). Uno dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) potenzialmente associato a

resistenza è lo SNP C3435T nel gene ABCB1 che codifica per la glicoproteina P, trasportatore coinvolto nell'assorbimento intestinale del clopidogrel (*Anatol J Cardiol.* 2016 Apr;16(4):303-4).

I polimorfismi che influenzano maggiormente la risposta terapeutica al clopidogrel sono gli SNP CYP2C19-*2 e -*3 nel gene che codifica per l'isoforma enzimatica primariamente coinvolta nella conversione in forma attiva del profarmaco clopidogrel. La presenza degli alleli *2 e *3 (*denominati Loss of Function, LoF*) è associata ai fenotipi di metabolizzatore intermedio (IM) e metabolizzatore lento (PM). Un'altra variante, CYP2C19*17 identifica invece i fenotipi di metabolizzatore rapido (in eterozigosi) e ultrarapido (in omozigosi). I pazienti IM e PM non sono in grado di metabolizzare (quindi di convertire in forma attiva) il farmaco in maniera efficiente e sono maggiormente suscettibili di eventi tromboembolici rispetto ai metabolizzatori normali. Al contrario, i metabolizzatori ultrarapidi potrebbero andare incontro più facilmente dei wild type a fenomeni emorragici (*Clin Pharmacol Ther.* 2011;89(2):229-33). Lo screening farmacogenetico delle varianti CYP2C19 sopradescritte è stato suggerito come strumento utile a migliorare gli outcomes clinici in pazienti con SCA.

In questo trial molto recente, pazienti ospedalizzati con SCA sono stati randomizzati a un braccio destinato a un trattamento farmacologico standard indicato come "standard of care-arm", in cui la scelta dell'antagonista del recettore P2Y12 è stata compiuta solo sulla base delle caratteristiche clinico-anamnestiche del paziente, oppure al braccio "pharmacogenomic arm", in cui la terapia antiaggregante è stata impostata considerando anche i risultati dell'analisi farmacogenetica (*up-front*) dei polimorfismi C3435T-ABCB1, CYP2C19*2 e CYP2C19*17.

Lo screening farmacogenetico è stato eseguito utilizzando un sistema "ST Q3" che fornisce i dati al letto del paziente in circa 70 minuti (*Clin Chim Acta* 2015; 451:240-6).

Lo studio è stato condotto su 888 pazienti (448 nel braccio farmacogenomico e 440 nel braccio di cura standard) che sono stati seguiti con un follow-up di 12 mesi. L'endpoint primario era un composito di morte cardiovascolare, infarto miocardico non fatale, ictus non fatale e sanguinamento maggiore, definito secondo i criteri del *Bleeding Academic Research Consortium*. L'endpoint secondario comprendeva l'endpoint primario in associazione alla valutazione di definitiva o probabile trombosi da stent.

La genotipizzazione dei pazienti del braccio farmacogenomico ha rivelato che il 47,1% era eterozigote e il 26,4% omozigote per C3435T-ABCB1; il 29,2% eterozigote e il 4,3% omozigote per CYP2C19*2; il 31,3% eterozigote e il 7,8% omozigote per CYP2C19*17.

Gli antagonisti del recettore P2Y12 utilizzati durante la fase acuta e per i 12 mesi di follow-up nel braccio farmacogenomico erano clopidogrel nel 43,3% dei pazienti, prasugrel nel 7,6% e ticagrelor nel 42,6%; nel braccio standard di cura erano utilizzati clopidogrel 50,7%, prasugrel 8,4% e ticagrelor 32,7%. La differenza nella distribuzione dei trattamenti tra i 2 bracci era statisticamente significativa ($p=0,02$). Il 6,8% dei pazienti nel braccio farmacogenomico e il 5,6% nel braccio standard di cura hanno cambiato farmaco antiaggregante almeno una volta. Alla dimissione, il 6,5% dei pazienti nel braccio farmacogenomico e il 8,2% di quelli nel braccio di terapia standard non stavano ricevendo alcun antagonista del recettore P2Y12, principalmente a causa di diagnosi errate, angiogrammi coronarici normali o l'uso concomitante di anticoagulanti orali.

L'endpoint primario si è verificato in 71 pazienti (15,9%) nel braccio farmacogenomico e in 114 (25,9%) nel braccio standard di cura (HR: 0,58, IC del 95%: da 0,43 a 0,78; $p<0,001$). Nei pazienti trattati con clopidogrel questo endpoint si è verificato in 48 pazienti afferenti al braccio farmacogenomico (24,7%) rispetto ai 79 (35,4%) afferenti al braccio di trattamento standard. La trombosi da stent (definita o probabile) è stata osservata in soli 8 pazienti (3 afferenti al braccio farmacogenomico e 5 al braccio di trattamento standard). Nello specifico l'endpoint primario ischemico si è manifestato in 58 pazienti (13%) del braccio farmacogenomico e in 94 (21,4%) del braccio di cura standard (HR: 0,57; 95% IC: da 0,41 a 0,8; $p<0,001$). L'endpoint primario del sanguinamento maggiore è stato rilevato in 19 pazienti (4,2%) del braccio farmacogenomico e in 30 (6,8%) del braccio di cura standard (HR: 0,62; 95% IC: da 0,35 a 1,1; $p=0,1$).

La frequenza, in termini di numero di eventi, di natura ischemica ed emorragica era nettamente più bassa nei pazienti del gruppo farmacogenomico rispetto ai pazienti trattati con terapia standard: 85 rispetto a 136 (HR: 0,61; 95% IC: da 0,4 a 0,8; $p<0,001$).

Data la prematura interruzione dello studio da parte di uno dei centri arruolatori, a causa di problematiche riguardanti la certificazione del sistema di genotipizzazione rapida ST Q3, il numero dei pazienti arruolati è stato pari solo al 25% del numero programmato. Pertanto, è possibile che le differenze osservate tra i due gruppi possano essere state sottostimate. Un numero di studi clinici randomizzati con protocolli di studio basati sulla genotipizzazione del citocromo CYP2C19 sono tuttora in corso e forniranno presto risultati che possano contribuire a decidere se l'analisi farmacogenetica del CYP2C19 "up-front" si debba definitivamente traslare nella pratica clinica (*Expert Rev Clin Pharmacol* 2018;11:151-64).

Il test farmacogenetico del CYP2C19 per la personalizzazione della terapia con clopidogrel nei pazienti con sindrome coronarica acuta naïve al trattamento antiaggregante riduce il rischio di complicanze sia di natura ischemica sia emorragica.

Parole chiave: Sindrome coronarica acuta, Clopidogrel, Farmacogenomica

Riferimento bibliografico

[Notarangelo FM](#) et al. *J Am Coll Cardiol* 2018, 71:1869-77

NEUROLOGIA

ASSOCIAZIONE DEGLI ALOTIPI DEL RECETTORE PER LA SEROTONINA 2A CON IL DISTURBO OSSESSIVO-COMPULSIVO E LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO NEI PAZIENTI IRANIANI: UNO STUDIO GENETICO E FARMACOGENETICO

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

Il disturbo ossessivo-compulsivo (OCD) è una patologia cronica invalidante caratterizzata da pensieri, credenze, impulsi, immagini o ossessioni ricorrenti e intrusivi, che causano ansia, accompagnati da azioni o comportamenti ripetitivi (compulsioni) che il soggetto ritiene diano sollievo alla tensione. Le persone con OCD, pur essendo spesso consapevoli che le loro ossessioni e compulsioni sono irrazionali ed eccessive, non sono in grado di fermarle. La scala più diffusa per valutare il tipo di sintomi e la gravità dell'OCD è la *Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale* (Y-BOCS). La prevalenza dell'OCD è stimata tra 1,5% e 3% nella popolazione mondiale ed è indipendente dall'etnia e dai gruppi culturali. Tale disturbo influenza in maniera significativa la qualità di vita dei pazienti, interferendo, in misura moderata o grave, con la socializzazione, le relazioni familiari, l'autostima e la capacità di studio o lavorativa. Le tendenze suicide dei pazienti OCD sono state sottostimate; viene riportata una percentuale di suicidalità (pensieri suicidi, tentativi e suicidi completi) tra il 20% e il 46% dei pazienti. Diversi studi eziologici confermano che l'OCD è un disturbo familiare ed ereditabile, quindi con una base genetica, e suggeriscono un impatto dei fattori genetici sulla risposta alle terapie farmacologiche. Sulla base della comprovata efficacia clinica degli SSRI nel trattamento dell'OCD, diversi studi hanno esaminato i geni coinvolti nel sistema serotoninergico. In particolare, il gene per il recettore della serotonina 2A, un recettore critico nel *pathway* serotoninergico, è stato associato a disturbi comportamentali quali l'OCD, disturbi del comportamento alimentare, schizofrenia, alcolismo, depressione e comportamenti suicidari. Gli SNPs più studiati del gene per il recettore 5-HT_{2A} (*HTR2A*) nell'OCD sono rs6311 (1438G/A) and rs6313 (102C/T). Tuttavia, solo pochi studi hanno testato eventuali associazioni delle varianti alleliche di *HTR2A* e la risposta ai farmaci nell'OCD. Lo scopo del presente studio è investigare eventuali associazioni tra i polimorfismi rs6311 e rs6313 di *HTR2A* e le caratteristiche cliniche dell'OCD, e il ruolo di tali SNPs nell'efficacia della terapia con SSRI in pazienti Iraniani affetti da OCD.

Lo studio ha reclutato 293 pazienti con OCD e 245 volontari sani. La diagnosi di OCD è stata posta seguendo i criteri del DSM-IV-TR. La tipologia e la gravità dei sintomi ossessivi e compulsivi sono state valutate utilizzando la Y-BOCS. L'età dei pazienti variava da 18 a 65 anni. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con una gravità del punteggio totale alla Y-BOCS <9, coloro che avevano sintomi da meno di un anno, i pazienti con anamnesi familiare positiva per disturbi psicotici, ritardo mentale, gravi patologie neurologiche e altri disturbi dell'Asse I del DSM-IV-TR (eccetto depressione e ansia) e i soggetti che erano in terapia con antidepressivi.

La farmacoterapia consisteva nel trattamento con fluvoxamina (100-300 mg) per 12 settimane. Di tutti i pazienti che hanno partecipato allo studio, 131 hanno completato il percorso di trattamento farmacologico e inclusi pertanto nello studio farmacogenetico. Il punteggio Y-BOCS è stato valutato all'inizio del trattamento e confrontato con quello ottenuto dopo 12 settimane di terapia con fluvoxamina; i pazienti sono stati divisi in due gruppi, gruppo A (*responders*), costituito dai pazienti che hanno presentato una riduzione >25% del punteggio Y-BOCS dopo farmacoterapia e gruppo B (*non-responders*), costituito dai soggetti con riduzione del punteggio <25%. I pazienti "refrattari" erano coloro che in passato avevano provato diversi *trial* con SSRI senza un'adeguata risposta.

La genotipizzazione degli SNPs sopra citati è stata effettuata tramite PCR usando la *Taq DNA polymerase 2x Master Mix*.

I risultati dello studio non hanno evidenziato alcuna associazione tra gli SNPs esaminati e l'OCD.

L'analisi della distribuzione del genotipo tra i pazienti in relazione alla presenza della storia familiare di disturbi psichiatrici non ha evidenziato associazioni tra rs6311 e la forma familiare di OCD. Tuttavia, l'analisi ha rivelato un'associazione di rs6313 con la presenza di una storia familiare positiva per disturbi psichiatrici nella popolazione femminile ($P=0,005$).

L'analisi dell'associazione degli aplotipi di *HTR2A* con l'OCD ha mostrato differenze significative nelle frequenze degli aplotipi tra i pazienti con OCD e i soggetti di controllo. I pazienti con OCD avevano una frequenza minore dell'aplotipo GC ed una frequenza maggiore dell'aplotipo AC rispetto ai controlli ($P=0,047$ e $P=0,029$, rispettivamente).

Il confronto della distribuzione genotipica nei diversi gruppi di risposta al trattamento (*responders*, *non-responders* e pazienti refrattari) non ha mostrato differenze significative per gli SNPs esaminati. Tuttavia, due aplotipi di *HTR2A* sono risultati associati con la risposta al trattamento con fluvoxamina nei pazienti con OCD: il gruppo *responders* mostrava una frequenza maggiore dell'aplotipo AC ed una frequenza minore dell'aplotipo AT rispetto al gruppo dei *non-responders* ($P=0,0001$ e $P=0,004$, rispettivamente).

I risultati del presente studio non mostrano associazioni significative di rs6311 o rs6313 con l'OCD, ma i loro aplotipi risultano associati all'OCD e alla risposta al trattamento. Inoltre, rs6313 è associato alla forma familiare di OCD nella popolazione femminile. Precedenti meta-analisi hanno mostrato che l'allele A di rs6311 o l'allele T di rs6313 sono associati in misura significativa all'OCD; tuttavia altri studi non confermano tali associazioni.

I risultati del presente studio evidenziano inoltre un'associazione degli aplotipi di *HTR2A* con la risposta al trattamento con fluvoxamina nei pazienti con OCD. Precedenti studi di farmacogenetica sui polimorfismi di *HTR2A* e la risposta al trattamento con SSRI hanno mostrato risultati inconcludenti, suggerendo la necessità di ulteriori studi su campioni di popolazione più ampi ed omogenei per verificare gli effetti di questi due SNPs sulla risposta al trattamento.

Questo è il primo studio che ha valutato il ruolo di *HTR2A* nella suscettibilità all'OCD e nella risposta al trattamento. L'ulteriore forza di questo lavoro consiste nell'aver somministrato un singolo farmaco che ha evitato l'influenza di eventuali fattori confondenti correlati al trattamento con differenti SSRI. Le limitazioni dello studio risiedono invece nel campione di popolazione relativamente piccolo e nel fatto che non sono stati considerati fattori ambientali che potrebbero aver influito (positivamente o negativamente) sulla risposta al trattamento.

Aplotipi di *HTR2A* sono associati al disturbo ossessivo-compulsivo e alla risposta al trattamento con fluvoxamina nei pazienti Iraniani. Inoltre, rs6313 è associato alla forma familiare di disturbo ossessivo-compulsivo nella popolazione femminile.

Parole chiave: storia familiare, fluvoxamina, risposta al trattamento, rs6311, rs6313.

Riferimento bibliografico

[Sina M](#) et al. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2018, 14:1199-209.

RUOLO DEL GENE *OPRM1* ED *EFFECTIVENESS* DI UN PIANO DI TRATTAMENTO PERSONALIZZATO NEI PAZIENTI CON DISTURBO DA USO DI OPIOIDI DA PRESCRIZIONE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Nelle ultime due decadi si è assistito ad un progressivo incremento dell'utilizzo degli oppioidi per il trattamento del dolore cronico non oncologico (CNCP). E' stato stimato che lo 0,2-3% dei pazienti con una storia precedente di abuso di sostanze manifesti dipendenza, ma si ritiene che soltanto una piccola percentuale dei casi di disturbo da uso di oppioidi da prescrizione venga descritta in letteratura, e che la percentuale descritta non rifletta quella osservata nella reale pratica clinica. I dati relativi agli effetti avversi correlati all'utilizzo a lungo termine degli oppioidi sono scarsi. Per quanto riguarda i fattori predisponenti lo sviluppo della dipendenza da sostanze, si ritiene che questi possano essere classificati in tre gruppi principali: 1) fattori ambientali, 2) fattori correlati alla sostanza, e 3) fattori genetici (che rappresentano il 40-60%, a seconda degli studi considerati). E' noto che esista un'ampia variabilità nella risposta agli oppioidi per il trattamento del dolore, e che circa il 10-30% dei pazienti sperimenti una perdita di efficacia o la comparsa di effetti avversi. Il gene Opioid receptor mu 1 (*OPRM1*) rappresenta il target principale degli oppioidi. Il polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) maggiormente studiato a livello di questo gene è A118G (rs21799971), che comporta la perdita di un sito di N-glicosilazione nella regione extracellulare del recettore. I *carrier* dell'allele G sembrano richiedere dosi più alte di morfina o fentanil per raggiungere l'analgesia. Altri geni studiati in questo contesto sono quelli che codificano per altri recettori (*OPRD1*) o trasportatori (*ABCB1*) degli oppioidi, degradazione delle catecolamine (*COMT*) o desensibilizzazione dei recettori accoppiati a proteina G (*ARBB2*). Gli autori hanno condotto uno studio al fine di 1) valutare l'efficacia di un piano di trattamento personalizzato (ITP) nei pazienti con disturbo da uso di oppioidi da prescrizione, 2) analizzare il profilo di sicurezza dei farmaci per il trattamento del dolore nei pazienti ambulatoriali delle *Pain Unit*, e 3) valutare i fattori genetici che predispongono alla risposta all'IPT.

Questo studio osservazionale prospettico ha incluso 87 pazienti con dolore cronico non oncologico, reclutati da Maggio 2013 a Dicembre 2015 presso la *Pain Unit* dell'Alicante General Hospital. I criteri di inclusione comprendevano: età superiore ai 18 anni, utilizzo a lungo termine degli oppioidi (> 6 mesi), un profilo clinico che indicava una possibile predisposizione allo sviluppo di dipendenza e una diagnosi di disturbo da uso di oppioidi da prescrizione, in accordo con i criteri del DSM-V. I criteri di esclusione comprendevano dolore oncologico o altri disturbi psichiatrici.

Il piano di trattamento di tutti i pazienti comprendeva sei visite (*baseline*, 1 settimana, 2 settimana, 1 mese, 3 mesi e 6 mesi). E' stata prevista una rotazione degli oppioidi (tramadolo/buprenorfina), la progressiva sospensione degli oppioidi a rilascio rapido, riduzione della dose e revisione farmacologica per la valutazione dei sintomi di astinenza. Tutte le visite hanno incluso un monitoraggio da parte di uno specialista psichiatra. Alla fine dello studio i pazienti sono stati considerati come *non-responder* se 1) il paziente aveva abbandonato il piano di trattamento, 2) il paziente soddisfaceva ancora i criteri di disturbo da uso di oppioidi da prescrizione del DSM-V, 3) persisteva un utilizzo anomalo degli oppioidi, o 4) il paziente non aveva raggiunto una riduzione pari ad almeno il 30% della dose equivalente di morfina giornaliera (MEDD). I restanti pazienti sono stati classificati come *responder*. All'interno del gruppo dei *responder*, sono stati classificati come *high responder* i pazienti che presentavano una riduzione della

MEDD pari ad almeno il 50% rispetto al *baseline*. L'intensità del dolore è stata misurata utilizzando la *visual analog scale* (VAS), una scala nella quale il paziente indica il suo stato in un range che va da 0 (assenza di dolore) a 100 (dolore massimo). La qualità di vita è stata valutata utilizzando la *VAS-EuroQol Scale*, nella quale il paziente indica il proprio stato in un range che va da 0 (peggior stato di salute possibile) a 100 (migliore stato di salute immaginabile). La presenza di una sindrome da astinenza da oppioidi è stata valutata utilizzando la *opiate withdrawal scale*, un questionario che restituisce un punteggio da 0 a 96 in base alla presenza e severità di 32 segni e sintomi. Per ogni paziente sono state raccolte informazioni che riguardavano la storia del dolore, l'utilizzo di analgesici (oppioidi o altri) e la manifestazione di reazioni avverse da farmaco. La dose dei diversi oppioidi che i pazienti potevano assumere è stata convertita in MEDD orali.

I seguenti SNP sono stati genotipizzati su DNA genomico estratto da saliva con metodo TaqMan: *OPRM1* (A118G, rs1799971), *OPRD1* (T921C, rs2234918), *COMT* (G472A, rs4680), *ABCB1* (C3435T, rs1045642) e *ARRB2* (C8622T, rs1045280). Per via del numero ridotto di pazienti inclusi nello studio, il confronto è avvenuto tra *carrier* e *non-carrier* della variante allelica (modello dominante). L'associazione dei genotipi con la risposta è stata analizzata utilizzando un modello di regressione logistica con e senza correzione per altri fattori (età, sesso e MEDD). I risultati sono stati corretti per test multipli secondo Bonferroni.

Su 1887 pazienti con dolore cronico, trattati nel lungo periodo con oppioidi e afferiti alla *Pain Unit*, un totale di 87 pazienti ha presentato una diagnosi di dipendenza da oppioidi da prescrizione. Il 64% dei pazienti è stato classificato come *responder* e il 30% come *non-responder* (per il 6% le informazioni non sono state disponibili). Nel gruppo dei *responder*, il 52% dei pazienti ha raggiunto una riduzione della MEDD pari ad almeno il 50% ed è stato classificato come *high responder*.

La MEDD al *baseline* è stata in media di 167 ± 179 mg/die. Gli oppioidi maggiormente assunti sono stati fentanil (37%) e ossicodone (18%). Dopo sei mesi di ITP, la MEDD è stata ridotta a 87 ± 104 mg/die. La MEDD al *baseline* è risultata simile tra *responder* e *non-responder*, ma è stata inferiore in maniera significativa nei *responder* all'ultima visita (50 ± 69 vs 176 ± 121 mg/die, $p < 0,001$). I *responder* all'ultima visita hanno mostrato un maggiore utilizzo di farmaci non oppioidi o della buprenorfina rispetto ai *non-responder* (82% vs 29%, $p < 0,001$) e una riduzione dell'utilizzo del fentanil del 25%. Le ADR più comunemente riportate sono state secchezza delle fauci (66% dei pazienti), disturbi del sonno (53%), costipazione (51%) e depressione (50%). Non sono state rilevate differenze significative nella distribuzione delle ADR tra *responder* e *non-responder*, ma gli *high-responder* all'ultima visita hanno presentato un numero minore di ADR (costipazione, sonnolenza, depressione, nausea, vomito, disturbi della sessualità e numero totale di ADR) rispetto al resto dei *responder*.

I pazienti *carrier* dell'allele G dello SNP A118G (rs1799971), localizzato nel gene *OPRM1*, hanno mostrato una MEDD superiore rispetto ai *carrier* dell'allele A ($p = 0,018$). Nessun altro SNP è risultato associato alla MEDD. Risultati simili sono stati ottenuti analizzando l'effetto dello SNP A118G secondo modelli genetici differenti: nel modello recessivo, i pazienti *carrier* del genotipo G/G hanno avuto bisogno di una MEDD superiore rispetto al gruppo di pazienti con genotipo A/G o A/A ($p = 0,032$). Tuttavia, l'allele 118G non è risultato associato ad una predisposizione alla risposta al piano di trattamento personalizzato.

Lo studio ha quindi suggerito l'utilità del piano di trattamento personalizzato nei pazienti con disturbo da uso di oppioidi da prescrizione, supporta un'associazione tra lo SNP A118G (rs1799971) del gene *OPRM1* e la dose di oppioidi richiesta dai pazienti al *baseline*, ma non un ruolo dello SNP nel predisporre alla risposta al piano di trattamento. Tra i limiti dello studio vi sono la dimensione limitata del campione e la scelta di genotipizzare singoli SNP su geni candidati.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra l'allele G dello SNP A118G (rs1799971) del gene *OPRM1* e la dose equivalente di morfina giornaliera richiesta nei pazienti con dolore cronico non oncologico e disturbo da uso di oppioidi da prescrizione.

Parole chiave: oppioidi, disturbo da uso di oppioidi da prescrizione, *OPRM1*

Riferimento bibliografico

[Muriel J et al. Ann NY Acad Sci 2018 May 20 \[Epub ahead of print\].](#)

OFTALMOLOGIA**ASSOCIAZIONE DI VARIANTI GENETICHE CON LA RISPOSTA ALLA TERAPIA ANTI-FATTORE DI CRESCITA DELL'ENDOTELIO VASCOLARE NELLA DEGENERAZIONE MACULARE LEGATA ALL'ETÀ**

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

La degenerazione maculare senile avanzata (AMD) è una delle principali cause di cecità negli anziani. Il tipo di AMD più grave è l'AMD neovascolare (nAMD), responsabile della perdita della maggior parte dell'acuità visiva (VA). Attualmente, il trattamento più efficace per la nAMD è l'iniezione intravitreale di anticorpi anti-fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF). Sebbene questo trattamento abbia portato a notevoli miglioramenti della VA, per molti pazienti con nAMD è stato osservato un alto grado di variabilità nella risposta al trattamento: circa il 10% dei pazienti mostra una diminuzione della VA di almeno 15 lettere (circa 3 righe) di punteggio Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), nonostante il trattamento. L'identificazione precoce dei pazienti con scarsa risposta alla terapia è fondamentale per l'ottimizzazione del trattamento. I pazienti classificati come "non responders" sono coloro in cui non viene osservato alcun miglioramento della VA dopo le iniezioni di anti-VEGF. Inoltre, per la nAMD sono attualmente in fase di sviluppo delle terapie alternative con un'azione potenzialmente più lunga. Pertanto, stabilire quali fattori siano coinvolti nella variabilità della risposta al trattamento potrebbe aiutare nella stratificazione dei pazienti per il miglior regime di trattamento/opzione terapeutica.

Usando le risorse dell'International AMD Genomics Consortium (IAMDGC) e di altre coorti nAMD trattate con terapia anti-VEGF, è stato eseguito uno studio multicentrico di associazione genomica per valutare il ruolo di varianti genetiche comuni sulla risposta al trattamento con anti-VEGF in pazienti con nAMD; inoltre, gli autori hanno valutato l'associazione tra varianti rare in grado di alterare la proteina e la risposta al trattamento.

I dati retrospettivi (*replication cohort*), raccolti in diverse cliniche, comprendevano: informazioni su sesso, età alla prima iniezione e VA al basale prima del trattamento con anti-VEGF e dopo 3 iniezioni mensili (entro 2 settimane). La VA è stata rilevata in lettere ETDRS o con grafico Snellen ed è stata trasformata in logMAR per l'analisi. I campioni di DNA dei pazienti inclusi nella coorte prospettica (*discovery cohort*) sono stati genotipizzati con un array HumanCoreExome modificato su misura (Illumina) dallo IAMDGC presso il Center for Inherited Disease Research, Baltimora, Maryland. Sono state eseguite analisi di associazione a variante singola del genoma utilizzando la variazione di VA come variabile dipendente e VA al basale e età alla prima iniezione come covariate, tramite un modello di regressione lineare quantitativa (test Wald lineare). La meta-analisi è stata eseguita con METAL sulla base delle stime della dimensione dell'effetto e degli errori standard. I polimorfismi a singolo nucleotide selezionati erano: rs241692 (FHIT), rs12138564 (CCT3), rs13002976 (LOC105373426), rs242939 (CRHR1) e rs2237435 (INHBA).

Nello studio sono stati inclusi 2058 pazienti con nAMD che hanno ricevuto terapia anti-VEGF. Nella coorte prospettica, 678 pazienti di 5 diverse coorti sono stati genotipizzati con esome array dallo IAMDGC22 e utilizzati per l'analisi di associazione genome-wide su varianti comuni e rare. Nella fase di replicazione, 1380 individui di 6 diverse coorti sono stati genotipizzati per varianti comuni identificate nello studio prospettico. La variazione media della VA dopo la dose di carico di 3 iniezioni mensili per tutti i pazienti inclusi nello studio era 0.101 logMAR, che corrispondeva a un guadagno di 5.1 secondo il punteggio ETDRS (cioè

guadagno di una linea) e la variazione media variava per coorte. L'età e la VA al basale sono risultati essere i fattori maggiormente in grado di influenzare il cambiamento della VA dopo il trattamento anti-VEGF, sia nella popolazione totale che nelle singole coorti. Sono state identificate 111 varianti con una significatività $p < 10 \times 10^{-5}$; le varianti principali erano rs12138564, rs13002976, rs241692, rs2237435 e rs242939. Nella fase di replicazione, queste varianti sono state analizzate in 6 coorti indipendenti di pazienti con nAMD trattati con terapia anti-VEGF, che comprendeva un totale di 1380 pazienti. I risultati della coorte prospettica e di replicazione sono stati combinati in una meta-analisi complessiva di 11 coorti, che comprendeva 2058 pazienti con nAMD. L'associazione del polimorfismo a singolo nucleotide rs12138564 (gene *CCT3*) con la risposta al trattamento funzionale è risultata statisticamente significativa, mostrando un'associazione positiva dell'allele minore con l'esito del trattamento ($\beta = 0,034$; $p = 1,38 \times 10^{-5}$): Il genotipo GT ha mostrato un maggiore miglioramento della VA dopo trattamento con anti-VEGF, rispetto al genotipo GG di riferimento ($p = .008$); il genotipo TT ha mostrato il miglioramento maggiore ($p = .002$). Per quanto riguarda lo studio GWAS, nessuna di 47 varianti precedentemente associata a AMD, è risultata essere associata a variazione della VA. Due geni associati alla risposta al trattamento sono stati identificati nell'analisi organizzata per gene ($p < 3,38 \times 10^{-6}$): *C10orf88* ($p = 4,22 \times 10^{-7}$) e *UNC93B1* ($p = 6,09 \times 10^{-7}$); i portatori di varianti rare in questi geni hanno mostrato una risposta VA peggiore rispetto ai non portatori. Per *C10orf88*, sono state incluse 3 varianti rare in grado di alterare la proteina; due portano ad un cambiamento di amminoacido (c.412G> A; p.Glu138Lys e c.827T> C; p.Ile276Thr) e una determina l'introduzione di un codone di stop (c.1258C> T; p.Gln420*). Le varianti p.Glu138Lys e p.Ile276Thr hanno mostrato individualmente un'associazione con una peggiore risposta al trattamento. Per *UNC93B1* sono state incluse 2 varianti: c.385C> A; p.Leu129Ile e c.626C> T; p.Pro209Leu. Entrambe le varianti hanno mostrato un'associazione con una peggiore risposta al trattamento.

Gli autori hanno svolto uno studio di farmacogenetica multicentrico su pazienti con nAMD ed eseguito sia GWAS di varianti comuni sia un'analisi basata sui geni per l'effetto cumulativo di varianti rare. È stato inoltre valutato il ruolo della variazione genetica sul cambiamento della VA dopo la dose di carico di 3 iniezioni mensili. È stata identificata l'associazione tra la variante rs12138564 (gene *CCT3*) e la risposta al trattamento. Inoltre, nessuno dei marcatori genetici precedentemente identificati è risultato determinante della risposta al trattamento. Due geni sono stati associati alla risposta funzionale primaria a livello dell'intero genoma: *C10orf88* e *UNC93B1*. La funzione di *C10orf88* non è ancora definita e pertanto il legame biologico con la risposta al trattamento nella nAMD non è chiaro. È stato suggerito che varianti comuni in *C10orf88* sono associate a livelli di vitamina D, sebbene non si possa escludere che l'effetto possa essere guidato dal gene adiacente, *ACADSB*. Inoltre, *C10orf88* è espresso a bassi livelli nella retina e nell'epitelio pigmentato della retina/coroide. *UNC93B1* è coinvolto nella risposta immunitaria innata e adattativa regolando la segnalazione del recettore toll-like. Pertanto, questi risultati indicano il potenziale ruolo della componente immunitaria nella risposta al trattamento della nAMD.

Gli autori suggeriscono un contributo limitato delle varianti genetiche nella variabilità alla risposta al trattamento della nAMD. Inoltre, le varianti rare nei geni *C10orf88* e *UNC93B1* sono state associate a una peggiore risposta alla terapia anti-VEGF.

Parole chiave: degenerazione maculare senile avanzata neovascolare, anti-VEGF, *C10orf88*, *UNC93B1*

Riferimento bibliografico

[Lorés-Motta L](#) et al. *JAMA Ophthalmol* 2018 May 31 [Epub ahead of print]

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DELL'ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI DEL GENE P2RY12 E L'INSORGENZA DI EFFETTI AVVERSI INDOTTI DA CLOPIDOGREL IN PAZIENTI AFFETTI DA CORONAROPATIE: UNO STUDIO DI REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Clopidogrel è un farmaco anti-aggregante piastrinico appartenente alla classe farmacologica delle tienopiridine. È un profarmaco e, una volta assorbito a livello intestinale, viene metabolizzato a livello epatico dal citocromo CYP2C19 e trasformato nel suo metabolita attivo. Questo, agisce come inibitore irreversibile del recettore purinergico P2RY12, una proteina nota per svolgere un ruolo chiave nell'aggregazione piastrinica ADP-dipendente. Per la sua azione antiaggregante piastrinica, clopidogrel viene largamente utilizzato nella prevenzione di eventi cardiovascolari tromboembolici, incluse le coronaropatie (CAD, "coronary artery disease"). Dalla pratica clinica emerge, tuttavia, come il 4-30% dei pazienti affetti da CAD non manifesti un'adeguata inibizione dell'aggregazione piastrinica, a sua volta risultante in un aumento dei tassi di incidenza di eventi avversi cardiovascolari. Tra i fattori genetici, investigati come potenzialmente imputabili della variabilità nella risposta a clopidogrel, si annoverano i polimorfismi del gene CYP2C19, risultati essere fortemente responsabili del manifestarsi di eventi avversi cardiovascolari in pazienti di etnia asiatica. D'altra parte, alcuni polimorfismi a carico del gene P2RY12 sono risultati essere altrettanto correlati ad un'alterata risposta a clopidogrel in pazienti affetti da CAD. Alla luce di evidenze contrastanti a riguardo, è stata ivi condotta una revisione sistematica della letteratura, seguita da meta-analisi, finalizzata a sintetizzare in maniera quantitativa le evidenze oggi disponibili riguardo all'associazione tra i polimorfismi del gene P2RY12 e l'insorgenza di eventi avversi indotti da clopidogrel in pazienti affetti da coronaropatie.

La revisione sistematica della letteratura è stata condotta ad Aprile del 2017 utilizzando i databases elettronici PubMed, Cochrane Library, EMBASE, Web of Science, clinicaltrials.gov, China Science and Technology Journal Database, China National Knowledge Infrastructure e Wan Fang Data. Sono stati definiti come includibili gli studi in cui i) fossero riportati in maniera esaustiva i dati di associazione genetica tra polimorfismi del gene P2RY12 ed il manifestarsi di eventi avversi indotti da clopidogrel in pazienti affetti da CAD; ii) la qualità degli studi fosse buona. Sono stati esclusi, invece, dalla revisione i) tutti gli studi primari riportanti dati genetici e clinici insufficienti per l'analisi, ii) abstracts congressuali, revisioni, editoriali, lettere e case-reports. Per valutare l'efficacia di clopidogrel sono stati analizzati come endpoints primari gli eventi ischemici compositi (compresi quelli cardiovascolari e cerebrovascolari). Come endpoints secondari sono stati valutati, invece, gli eventi cardiovascolari indipendenti, quali mortalità (cardiovascolare o da altra causa), infarto miocardico non-fatale, trombosi dello stent, angina instabile e rivascolarizzazione del vaso target. La qualità degli studi primari è stata valutata utilizzando i criteri della Newcastle Ottawa-scale (NOS); nello specifico, sono stati definiti come studi di buona qualità i lavori primari con un punteggio della scala NOS ≥ 6 . La stima meta-analitica dell'associazione tra le varianti di P2RY12 e gli outcomes clinici di interesse è stata espressa come risk ratio (RR) e relativo intervallo di confidenza al 95%. È stata applicata una meta-analisi ad effetti fissi per l'analisi dell'associazione genetica con gli outcomes secondari. Nel caso, invece, dello studio della correlazione genetica con gli outcomes primari è stata utilizzata una meta-analisi ad effetti random per presenza di eterogeneità tra gli studi ($I^2 > 50\%$). Per ciascun outcome sono state condotte, dove possibile, delle analisi per sottogruppi sulla base della variante genetica studiata, dimensione campionaria dello studio, etnia dei pazienti arruolati e durata del follow-up. È stata, infine, valutata l'esistenza di potenziale bias di pubblicazione tramite funnel plots e Harbord test.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 2967 studi, di cui 10 sono risultati essere eleggibili per la meta-analisi (NB: dei 2957 studi non includibili, 7 sono stati esclusi per insufficienti dati genetici/clinici e 2 per scarsa qualità metodologica). Nello specifico, si tratta di studi di coorte in cui sono stati arruolati un totale di 10810 pazienti, di età media compresa tra i 58 e i 66 anni, trattati con una dose di mantenimento di clopidogrel di 75mg/die e in cui le varianti genetiche di P2RY12 analizzate sono state: rs2046934 ($N_{\text{studi}}=4$), rs6809699 ($N_{\text{studi}}=4$), rs6785930 ($N_{\text{studi}}=6$), rs6798347, rs10935842, rs6787801, rs6801273 ($N_{\text{studi}}=2$). Gli

outcomes clinici analizzati sono stati: eventi ischemici ($N_{\text{studi}}=9$), rivascolarizzazione del vaso target ($N_{\text{studi}}=6$), mortalità ed infarto del miocardio ($N_{\text{studi}}=5$), trombosi dello stent ($N_{\text{studi}}=3$) e angina instabile ($N_{\text{studi}}=4$). Dalla meta-analisi, è emerso come l'essere portatore di almeno un allele mutato per le varianti in studio (rs2046934, rs6809699, rs6785930) sia correlato ad un maggior rischio di manifestarsi di eventi ischemici compositi rispetto ai portatori degli alleli wild-type ($N_{\text{eventi}}=434$ su 3268 carriers [13.3%] vs. $N_{\text{eventi}}=646$ su 6133 non-carriers [10.5%], RR 1.39, 95% CI 1.14-1.69, $P=0.001$, $I^2=53\%$). Dall'analisi per sottogruppo, condotta sulla base delle varianti genetiche analizzate, è emersa una correlazione statisticamente significativa tra la variante rs6809699 ed il rischio di eventi ischemici compositi (RR 1.56, 95% CI 1.11-2.20, $P=0.01$, $I^2=49\%$). Non è, invece, risultata essere significativa l'associazione tra gli SNPs rs2046934 o rs6785930 e il rischio di eventi ischemici. Quando l'analisi è stata stratificata per etnia, è emersa un'associazione significativa tra l'essere portatori di almeno un allele mutato per le varianti in studio e l'insorgenza di eventi ischemici nei pazienti asiatici (RR 1.71, 95% CI 1.38-2.11, $P<0.00001$, $I^2=0\%$) ma non in quelli caucasici ($P=0.36$). Si evince, inoltre, una correlazione statisticamente significativa tra le varianti in studio e il verificarsi di trombosi dello stent (RR 2.67, 95% CI 1.03-6.91, $P=0.04$, $I^2=0\%$), infarto del miocardio (RR 1.60, 95% CI 1.06-2.42, $P=0.03$, $I^2=0\%$) ed angina instabile (RR 1.72, 95% CI 1.37-2.16, $P<0.00001$, $I^2=0\%$). I funnel plots e il test di Harbord indicano l'esistenza di bias di pubblicazione.

P2RY12 è un recettore per l'ADP espresso a livello delle piastrine, noto per svolgere un ruolo chiave nell'attivazione piastrinica. Il legame di P2RY12 con ADP, rilasciata dai granuli densi delle piastrine attivate, risulta, infatti, nell'aggregazione e secrezione piastrinica. Inoltre, P2RY12 sembra potenziare la risposta piastrinica iniziata da altri attivatori, quali il trombossano e la trombina. Il ruolo funzionale delle varianti P2RY12 rs2046934, rs6809699 e rs6785930 non è ad oggi noto. Si ipotizza che tali polimorfismi possano alterare la struttura molecolare del recettore, perturbando così l'attivazione e l'aggregazione piastrinica, o modificare il livello di espressione di P2RY12 a livello delle cellule muscolari lisce vasali. Nel presente studio si riporta, per la prima volta in letteratura, la stima meta-analitica dell'associazione tra alcuni polimorfismi del gene P2RY12 e l'insorgenza di eventi cardiovascolari in pazienti trattati con clopidogrel ed affetti da CAD, evidenziando come l'essere portatori di almeno un allele mutato per rs2046934, rs6809699 e rs6785930 sia correlato ad un aumentato rischio di eventi ischemici compositi, trombosi dello stent, infarto del miocardio e angina instabile. Tuttavia, i risultati della presente meta-analisi devono essere interpretati alla luce delle seguenti limitazioni. In primis, nelle analisi per sottogruppi, effettuate sulla base di alcune variabili di interesse (etnia dei pazienti, dimensione campionaria etc.), se in un singolo studio primario è stata valutata più di una variante genetica di P2RY12, tale studio è stato inserito nella medesima meta-analisi per sottogruppo tante volte quante sono stati gli SNPs valutati: tale pratica consiste in un errore metodologico sicuramente risultante in una sovrastima dell'associazione genetica ottenuta. Sarebbe, quindi, stato opportuno condurre analisi genetiche di associazione per ogni singolo SNP, stratificando, se possibile, per la variabile di interesse. In secondo luogo, a fronte della rilevazione di esistenza di bias di pubblicazione, la non inclusione di 7 studi primari per insufficienti dati genetici/clinici, potrebbe aver impattato sulle stime meta-analitiche ivi riscontrate: l'aver contattato gli Autori degli studi primari in oggetto per ottenere i dati di interesse avrebbe permesso di i) aumentare la potenza statistica della meta-analisi e, plausibilmente, di ii) ridurre il rischio di bias di pubblicazione. In terzo luogo, si evince una forte eterogeneità tra gli studi inclusi, le cui cause sono state, solo in parte, spiegate da analisi per sottogruppi. Infine, gli Autori del presente studio presentano le stime meta-analitiche di associazione ottenute in parte con meta-analisi ad effetti fissi (in caso di assenza di eterogeneità) ed in parte con meta-analisi ad effetti random (per presenza di eterogeneità tra gli studi): da un punto di vista metodologico, sarebbe stato consigliabile presentare tutte le stime di associazione calcolate con meta-analisi ad effetti random per migliorarne la comparazione e ridurre la probabilità di sovrastime statistiche ottenibili con l'applicazione di meta-analisi ad effetti fissi. Alla luce di tali debolezze dello studio, i risultati della presente meta-analisi non possono essere considerati conclusivi.

L'allele mutato per la variante P2RY12 rs6809699 è risultato essere statisticamente associato ad un aumentato rischio di insorgenza di eventi ischemici compositi in pazienti affetti da coronaropatie ed in trattamento con clopidogrel.

Parole chiave: coronaropatie, clopidogrel, P2RY12

Riferimento bibliografico

[Li JL](#) et al. *Gene* 2018 May 30 [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 Coordinatore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) 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 Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Letizia Pugnetti (Università di Trieste)

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.