



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 108 – Luglio 2018

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

Sommario

⇒ **Oncologia**

- Analisi delle varianti genetiche in gene coinvolti nel pathway dei folati in una coorte prospettica di pazienti affetti da cancro coloretale
- Ruolo delle mutazioni emergenti di RAS come potenziali drivers dello sviluppo della resistenza acquisita nei pazienti affetti da tumore del colon-retto metastatico, chemio refrattari ed in trattamento con panitumumab
- Il meccanismo d'azione del lncRNA-HOTAIR sulla farmacoresistenza mediata dalla modulazione del pathway di Wnt nel tumore al polmone non a piccole cellule
- La mutazione ribosomiale RPL10 R98S guida la traduzione di BCL-2 nella leucemia linfoblastica acuta di tipo T

⇒ **Neurologia**

- Il polimorfismo COMT Val 108/158 Met e la risposta alla terapia con aripiprazolo nei pazienti con schizofrenia acuta
- Associazione tra varianti del gene Dysbindin-1 e risposta cognitiva al trattamento con farmaci antipsicotici
- Valutazione farmacogenetica del gene DISP1 nel trattamento del disturbo ossessivo-compulsivo

⇒ **La metanalisi del mese**

- Meta-analisi della correlazione tra polimorfismi genetici e gli esiti del trattamento con me-totrexato in pazienti affetti da artrite idiopatica giovanile

ONCOLOGIA

ANALISI DELLE VARIANTI GENETICHE IN GENE COINVOLTI NEL PATHWAY DEI FOLATI IN UNA COORTE PROSPETTICA DI PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO COLORETTALE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro coloretale (CRC) rappresenta la seconda causa di morte nonostante incidenza e mortalità siano diminuite nello scorso decennio. La chemioterapia più frequentemente impiegata è quella basata sul 5-FU, che ha come target la timidilato sintasi (TYMS), che fa parte del *pathway* del metabolismo dei folati. Esiste tuttavia un'ampia differenza interindividuale nell'efficacia e nella tollerabilità, che potrebbe essere riconducibile a variazioni genetiche nei geni che sono coinvolti in questo *pathway*.

Date le suddette premesse, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare le eventuali interazioni tra varianti genetiche e risposta clinica a regimi chemioterapici basati sul 5-FU, in termini di sopravvivenza globale (OS) e sopravvivenza libera da malattia (DFS).

Nello studio sono stati coinvolti un totale di 1739 pazienti affetti da CRC, con più di 30 anni; le informazioni di follow-up su OS e DFS sono state raccolte a 3 e 5 anni dopo la diagnosi. Sono stati analizzati 397 tagSNPs e 50 SNPs candidati in 48 geni del *pathway* dei folati.

Durante i 5 anni di follow-up, 585 pazienti su 1739 sono deceduti, di cui 420 per la malattia.

Per quanto riguarda l'OS, sono state identificate associazioni significative con il genotipo di tre SNP candidati e un tagSNP. Nello specifico, gli autori hanno osservato correlazioni inverse significative tra con MTHFR rs1801133 (CC vs CT o TT: HR=0.81, 95%CI 0.67-0.97; p=0.02), TYMS rs1001761 (CC vs CT o TT: HR=0.82, 95%CI 0.68-0.99; p=0.04), TYMS rs2847149 (GG vs GA o AA: HR=0.82, 95%CI 0.68-0.99; p=0.04); uno SNP del gene PON1 (rs3917538) era significativamente correlato con OS dopo aggiustamento FDR (HR=2.02, 95%CI 1.46-2.809; p<0.01). Per quanto riguarda la DFS, è stata osservata una significativa associazione con SLC44A4 rs2736428 (HR=0.80, 95%CI 0.66-0.98); non sono state osservate associazioni dopo aggiustamento FDR.

Nell'analisi stratificata in base alla chemioterapia sono emerse correlazioni *gene wide* significative con TYMS (p=0.04) e PON1 (p<0.01) ed OS, e con MAT2B (p=0.04) e UMPS (p=0.02) e DFS.

Lo studio rappresenta l'analisi più vasta condotta fino ad oggi sui geni del *pathway* dei folati in relazione al cancro coloretale e alla risposta alla terapia.

Sebbene lo studio sia stato condotto su 1739 pazienti e nonostante i risultati siano stati aggiustati mediante FDR, lo studio presenta alcuni limiti, tra cui la possibilità di risultati falsi positivi.

Il numero di casi arruolati nell'analisi rappresenta una coorte ampia che offre un buon potere statistico, ma non sono presenti coorti di validazione e i risultati, perciò, necessitano di altri studi indipendenti. Probabilmente a causa della mole di dati, è da sottolineare che gli autori hanno scelto di presentare solo una parte dei risultati che hanno ritenuto più importanti, e il lavoro non sempre appare chiaro in tutti i passaggi.

Variazioni genetiche in geni del *pathway* dei folati sembrano essere associate con la prognosi di cancro coloretale

Parole chiave: CRC, chemioterapia basata sul 5-FU, metabolismo dei folati

Riferimento bibliografico

[Ose J et al. Cancer Med 2018 May 29 \[Epub ahead of print\].](#)

RUOLO DELLE MUTAZIONI EMERGENTI DI RAS COME POTENZIALI DRIVERS DELLO SVILUPPO DELLA RESISTENZA ACQUISITA NEI PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE DEL COLON-RETTO METASTATICO, CHEMIO REFRATTARI ED IN TRATTAMENTO CON PANITUMUMAB

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

Negli ultimi anni, la ricerca ha focalizzato la massima attenzione nello sviluppo di terapie a bersaglio molecolare (*target therapy*), specialmente nel campo oncologico. Il tumore del colon-retto metastatico (mCRC) rappresenta la quarta causa di morte per neoplasia nel mondo (Fitzmaurice C et al. *JAMA Oncol*

2015,1(4):505-27). Per i pazienti affetti da CRC, i trattamenti chemioterapici a base di irinotecano e oxaliplatino in combinazione con farmaci a bersaglio molecolare hanno dimostrato di essere in grado di migliorare la sopravvivenza globale (OS) (Douillard JY et al. *J Clin Oncol* 2010,28(31):4697-705).

Tuttavia, c'è un gruppo di pazienti refrattari alla chemioterapia che può comunque ricevere una terza linea di trattamento. In particolare, cetuximab e panitumumab, anticorpi monoclonali diretti contro il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR), hanno mostrato benefici clinici nei pazienti mai trattati prima, chemio refrattari e RAS wild-type (Karapetis CS et al. *N Engl J Med* 2008, 359(17):1757-65; Van Cutsem E et al. *Ann Oncol* 2008,19(1):92-8).

Lo studio di fase III ASPECCT 20080763 è stato il primo a comparare in maniera prospettica l'efficacia e la sicurezza di panitumumab verso cetuximab nel trattamento dei pazienti affetti da mCRC e chemio refrattari. Le principali analisi hanno dimostrato che panitumumab non è inferiore a cetuximab in termini di OS nei pazienti KRAS *wild-type* (10.4 mesi vs 10 mesi, $p=0.0007$) e che i due farmaci presentano profili di sicurezza simili (Price TJ et al. *Lancet Oncol* 2014,15(6):569-79).

Convenzionalmente, le analisi genetiche eseguite su tessuto per valutare la presenza di specifiche alterazioni nei pazienti affetti da mCRC vengono eseguite prima dell'inizio del trattamento chemioterapico. Lo studio ASPECCT, invece, ha fornito l'opportunità di valutare l'effetto della selezione degli inibitori di EGFR per quei tumori divenuti resistenti alla chemioterapia.

Quando è stato condotto lo studio ASPECCT, la caratterizzazione dello stato molecolare del gene KRAS su tessuto prima dell'inizio di un trattamento con inibitori di EGFR rappresentava l'approccio standard. Dal momento in cui è stato condotto lo studio ASPECCT, è stata dimostrata l'importanza di effettuare il test di RAS, utilizzando inoltre tecnologie ad alta sensibilità per la rilevazione delle alterazioni su DNA tumorale circolante (ctDNA) a partire da campioni plasmatici (Perakis S et al. *BMC Med* 2017,15(1):75). Inoltre, è stato anche dimostrato come la presenza delle mutazioni somatiche a carico dei geni della famiglia RAS (valutate su campioni tissutali fissati in formalina ed inclusi in paraffina) siano fattori predittivi negativi per le terapie con inibitori di EGFR (Hecht JR et al. *Cancer Treat Rev* 2015,41(8):653-9). La caratterizzazione delle mutazioni di RAS durante la terapia con gli inibitori di EGFR è di fondamentale importanza come potenziale spiegazione dell'instaurazione di un processo di resistenza acquisita a tali farmaci. Le analisi condotte su ctDNA isolato dal plasma rappresentano sicuramente una metodica alternativa e con un grado di invasività inferiore rispetto alle analisi condotte su tessuto. Inoltre, tali analisi possono consentire di "scattare una fotografia" dello stato mutazionale globale del tumore e, quindi, approfondire l'eterogeneità ed il dinamismo clonale del tumore durante il trattamento (Siravegna G et al. *Nat Med* 2015,21(7):827). Il ctDNA potrebbe essere sicuramente utile anche per monitorare i residui di malattia e, quindi, predire possibili recidive (Tie J et al. *Sci Transl Med* 2016,8(346):346ra92). Nonostante il ctDNA possa rappresentare una fonte potenzialmente utile per la valutazione del profilo molecolare di RAS, sono ancora pochi i dati che abbiamo a disposizione per valutare in maniera critica la sua affidabilità o la sua utilità in termini di biomarcatore predittivo.

I recenti progressi nel campo delle tecniche di isolamento e di sequenziamento del ctDNA hanno consentito di valutare le mutazioni con alti livelli di sensibilità. Tuttavia, attualmente non ci sono ancora piattaforme clinicamente standardizzate per la caratterizzazione delle alterazioni su ctDNA, che possano pertanto giustificare un determinato cambiamento decisionale dal punto di vista clinico.

Le analisi esplorative che sono state condotte nello studio ASPECCT hanno visto l'utilizzo di tecnologie altamente sensibili, come il sequenziamento massivo in parallelo o Next Generation Sequencing (NGS). Queste piattaforme di ultima generazione hanno permesso di valutare lo stato mutazionale dei geni KRAS ed NRAS 1) al basale (prima dell'inizio del trattamento) e 2) dopo il trattamento (al follow-up di rivalutazione).

Gli autori di questo studio hanno, quindi, indagato il valore predittivo delle mutazioni emergenti di RAS come potenziali driver dello sviluppo di una resistenza acquisita nei pazienti affetti da mCRC e in trattamento con panitumumab. L'obiettivo primario dello studio è stato, pertanto, quello di valutare l'impatto della caratterizzazione delle mutazioni di RAS valutate su ctDNA sull'*outcome* clinico dei pazienti CRC chemio refrattari ed in trattamento con panitumumab. L'obiettivo secondario, invece, è stato quello di valutare l'andamento clinico dei pazienti risultati RAS positivi al basale.

Lo studio ASPECCT ha arruolato 1010 pazienti, prospetticamente valutati per la presenza di un adenocarcinoma metastatico al colon o al retto e con la conferma di uno stato mutazionale negativo per RAS (le analisi sono state condotte su campioni tissutali fissati in formalina ed inclusi in paraffina e usando il sistema *therascreen*[®] *KRAS assay*). I pazienti sono stati randomizzati (1:1) a ricevere o panitumumab (n=499) o cetuximab (n=500), fino a progressione di malattia, intolleranza o ritiro del consenso informato. Nello studio esplorativo, ai pazienti trattati con panitumumab sono stati raccolti campioni plasmatici al basale e al follow up di rivalutazione (dopo circa 30-33 giorni dall'ultima dose di panitumumab). Dai campioni plasmatici è stato estratto il ctDNA, successivamente analizzato utilizzando il sistema NGS Illumina e il pannello PlasmaSelect-R™ 64-gene, che include la caratterizzazione delle mutazioni a carico dei geni KRAS ed NRAS (esoni 2 [codoni 12/13], 3 [codoni 59/61] e 4 [codoni 117/146]). In particolare, è stata definita come una "*mutazione emergente di RAS*" una mutazione nei geni KRAS o NRAS non presente al basale ma comparsa dopo il trattamento.

Lo studio esplorativo ha visto la partecipazione di 238 pazienti (48%) trattati con panitumumab e per i quali è stato possibile ottenere i campioni plasmatici sia al basale sia dopo il trattamento. In particolare, 50 pazienti (21%) sono risultati RAS positivi al prelievo basale e, pertanto, sono stati esclusi dalle analisi condotte per la valutazione della *mutazione emergente di RAS*. Di conseguenza, 188 pazienti sono risultati RAS *wild-type* al basale e, quindi, i loro campioni plasmatici sono stati valutati anche dopo il trattamento. Dopo il trattamento, dei 188 pazienti risultati RAS *wild-type* al prelievo basale, è stato possibile analizzare il ctDNA di 164 pazienti, mentre per i restanti 24 ciò non è stato possibile a causa di una quantità insufficiente di ctDNA estratto. Su 164 pazienti, 111 sono risultati ancora RAS *wild-type* dopo il trattamento (*mutazione non emergente*), mentre per 53 è stata caratterizzata una mutazione di RAS (*mutazione emergente*).

Descrizione delle mutazioni di RAS al basale e dopo il trattamento

Il tasso di *mutazione emergente di RAS* è stato del 32.3% (n=53). Le mutazioni sono state caratterizzate in diversi esoni dei geni della famiglia RAS al basale e dopo il trattamento. In particolare, al basale, le mutazioni sono state caratterizzate a carico degli esoni 2 (12%), 3 (34%) e 4 (12%) di KRAS, così come degli esoni 2 (20%), 3 (18%) e 4 (4%) di NRAS. Dall'altra parte, dopo il trattamento, le *mutazioni emergenti* sono state caratterizzate a carico degli esoni 2 (25%), 3 (38%) e 4 (9%) di KRAS, così come degli esoni 2 (9%) e 3 (19%) di NRAS. Inoltre, per due pazienti al basale e per altri 12 dopo il trattamento sono state rilevate multiple mutazioni, suggerendo così la co-presenza di multipli cloni tumorali mutati.

Le analisi statistiche non hanno evidenziato nessuna differenza statisticamente significativa nei due gruppi di pazienti, ossia quelli con una *mutazione emergente* e quelli con una *mutazione non emergente*. In particolare, non è stata osservata nessuna differenza statisticamente significativa né in termini di OS (13.1 mesi vs 13.8 mesi; p=0.42) né di progressione libera da malattia (PFS) (6.4 mesi vs 4.9 mesi; p=0.56).

Inoltre, non è stata evidenziata nessuna differenza statisticamente significativa in termini di tasso di risposta obiettiva (ORR) (35% vs 32%). I tassi di risposte parziali erano essenzialmente simili nel gruppo di pazienti con una *mutazione emergente* e in quello con una *mutazione non emergente* (35% vs 32%). Similmente, anche i tassi di stabilità di malattia (SD) e di PD sono risultati comparabili (SD: 52% vs 48%; PD: 14% vs 20%).

Analisi dello stato mutazionale di RAS

Le analisi statistiche hanno evidenziato una differenza statisticamente significativa in termini di OS fra i pazienti risultati RAS *wild-type* e mutati al basale (13.7 mesi vs 7.9 mesi; p<0.01). I pazienti che erano RAS *wild-type* al basale hanno dimostrato una miglior ORR rispetto a coloro che erano RAS mutati (34% vs 8%). Il tasso di SD è risultato simile fra i pazienti RAS *wild-type* e quelli mutati (50% vs 48%); tuttavia, pochi pazienti con uno stato di RAS *wild-type* rispetto ai pazienti RAS mutati sono andati incontro ad una PD (16% vs 44%).

In conclusione, lo studio esplorativo condotto nell'ambito del trial clinico di fase III ASPECCT ha messo in luce come le analisi condotte su ctDNA in pazienti affetti da mCRC ed in trattamento con inibitori di EGFR possa essere una valida metodica alternativa alla valutazione delle mutazioni di RAS su tessuto.

Tuttavia, nonostante sia emerso come i pazienti RAS mutati al basale abbiano un *outcome* clinico peggiore rispetto ai pazienti RAS *wild-type*, non è stata evidenziata una correlazione significativa fra la presenza delle *mutazioni emergenti di RAS* dopo il trattamento e la risposta clinica o la sopravvivenza in questa coorte di pazienti. Pertanto, i risultati suggeriscono che attualmente è ancora prematuro prendere determinate decisioni cliniche a partire dalla valutazione delle *mutazioni emergenti di RAS* su ctDNA.

Parole chiave: DNA tumorale circolante, tumore del colon-retto, NGS

Riferimento bibliografico

[Kim TW](#) et al. *Clin Cancer Res* 2018 Jun 13 [Epub ahead of print].

IL MECCANISMO D'AZIONE DEL LNCRNA-HOTAIR SULLA FARMACORESISTENZA MEDIATA DALLA MODULAZIONE DEL PATHWAY DI WNT NEL TUMORE AL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il tumore al polmone è il cancro con la più alta mortalità mondiale ed è stato stimato che ci sono 1.2 milioni di nuovi casi e 1.1 milioni di morti all'anno a livello mondiale. Il tumore al polmone non a piccole cellule (NSCLC) rappresenta l'80% di tutti i tumori al polmone. Per i pazienti con tumore in stadio avanzato (stadio III o IV) che non possono essere operati, si utilizza la chemioterapia per prolungare la sopravvivenza globale (OS), utilizzando come trattamento iniziale, una combinazione fra composti a base di platino (cisplatino o carboplatino) e vinorelbina o taxani (paclitaxel o docetaxel). Tuttavia, la resistenza ai farmaci a base di platino è la principale causa di fallimento terapeutico, perciò, la comprensione di metodi che permettano di superare la farmacoresistenza migliorando l'outcome farmacologico rappresenta l'obiettivo principale di chi si occupa dello studio di questo tumore.

Per questo studio, sono stati arruolati 48 pazienti affetti da NSCLC e sono stati raccolti tessuti tumorali e non, selezionando le porzioni adiacenti al tumore. Tutti i pazienti sono stati trattati con chemioterapia a base di cisplatino con aggiunta di taxani. È stato estratto e retrotrascritto l'RNA per poter fare un'analisi quantitativa dei livelli di espressione del lncRNA-HOTAIR. Sono state inoltre coltivate cellule di adenocarcinoma umano al polmone ed è stata ricavata una sub-cultura di cellule resistenti al cisplatino. Su queste due linee cellulari è poi stata fatta una trasfezione, utilizzando il siRNA di HOTAIR e un siRNA negativo.

Dai risultati di espressione è emerso che i livelli del lncRNA-HOTAIR sono significativamente maggiori rispetto a quelli dei tessuti non tumorali adiacenti. Mediante analisi Kaplan-Meier, i ricercatori hanno osservato una bassa OS nei pazienti con alta espressione del lncRNA, se confrontati con coloro che ne hanno una bassa espressione (17 mesi vs 23). Dall'analisi dell'influenza del lncRNA-HOTAIR sul *pathway* di Wnt, eseguita mediante trasfezione con siRNA, è emerso che l'interferenza del si-HOTAIR diminuisce nettamente la sensibilità delle cellule al cisplatino, e l'IC₅₀ da 131.85 a 44.34. Inoltre, in seguito al silenziamento del lncRNA-HOTAIR, è stato ottenuto un decremento dei livelli di espressione delle proteine coinvolte nel processo di acquisizione di resistenza (MRP1 e MDR1) e l'attivazione del *pathway* di segnalazione di Wnt risulta significativamente inibita.

Studi recenti hanno dimostrato il coinvolgimento del lncRNA-HOTAIR come modulatore nell'assemblaggio di proteine ed enzimi specifici, in grado di regolare la combinazione con i geni target. Inoltre, è stato riportato che la cromatina di HOTAIR ricombinato promuove l'invasione delle cellule pancreatiche tumorali, inibisce la crescita cellulare, regola la progressione del ciclo delle cellule e induce apoptosi *in vitro*. Dagli esperimenti condotti in questo studio si deduce che l'espressione del lncRNA-HOTAIR nei tessuti di tumore al polmone dei pazienti in trattamento con chemioterapici è significativamente maggiore rispetto all'adiacente tessuto non tumorale e l'alto livello di espressione di questo lncRNA si associa con una minor prognosi. In aggiunta, è stato dimostrato che l'espressione di lncRNA-HOTAIR è maggiore nelle linee

cellulari resistenti al cisplatino. Utilizzando un siRNA, è stato notato un incremento di sensibilità delle cellule rispetto al farmaco, accompagnato da un abbassamento dell'attivazione del *pathway* di Wnt e degli indici di resistenza.

In conclusione, in questo studio è stato dimostrato che il lncRNA-HOTAIR svolge un ruolo chiave nello sviluppo e nella progressione del tumore NSCLC, e può essere considerato come un importante fattore per la prognosi clinica dei pazienti affetti da questo cancro.

Parole chiave: NSCLC, lncRNA-HOTAIR, cisplatino, farmacoresistenza

Riferimento bibliografico

[Guo F](#) et al. *Exp Ther Med* 2018,15(6):4885-9

LA MUTAZIONE RIBOSOMIALE RPL10 R98S GUIDA LA TRADUZIONE DI BCL-2 NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA DI TIPO T

A cura delle Dott.sse Oksana Montecchini e Raffaella Franca

La leucemia linfoblastica acuta di tipo T (T-LLA) è un tumore ematologico geneticamente complesso ed aggressivo. L'avvento di una terapia di tipo multichemioterapico ha notevolmente migliorato l'esito per questi pazienti, con tassi di sopravvivenza libera da eventi a lungo termine (EFS) superiori all'80% nei pazienti pediatrici. Le ricadute rimangono in ogni caso la più comune causa di morte, evidenziando quindi la necessità di implementare la terapia basandosi sulla conoscenza dei processi cellulari alterati nei blasti T dei pazienti e su trattamenti appositi ad essi mirati.

I ribosomi sono componenti intracellulari adibiti alla traduzione di proteine da mRNA. Allo stato attuale sono state descritte mutazioni in 4 proteine ribosomiali (RPL5, RPL10, RPL22 e RPL11) tra i pazienti T-LLA, con un'alta incidenza (8%) di una mutazione puntiforme *missense* sul residuo R98 della proteina ribosomiale 10 (RPL10 R98S). Il residuo R98 si trova alla base di un loop flessibile vicino al nucleo catalitico ribosomiale nella subunità 60S ed è indispensabile per l'assemblaggio ed il corretto funzionamento del ribosoma. Dati di letteratura hanno evidenziato che cellule linfoidee murine RPL10 R98S mutate presentano alterazioni nella formazione dei ribosomi ed una compromissione della proliferazione cellulare. In cellule di lievito, l'ipoproliferazione associata alla mutazione RPL10 R98S sembra essere determinata da difetti di assemblaggio del ribosoma. Non sono invece stati ancora chiariti i meccanismi di questo fenotipo ipoproliferativo nelle cellule di mammifero. Lo scopo di questo studio è perciò quello di caratterizzare il ruolo della mutazione RPL10 R98S nelle linee cellulari leucemiche e nei blasti dei pazienti. A tale proposito gli autori hanno descritto il fenotipo proliferativo associato alla presenza della mutazione ribosomiale RPL10 R98S e come la ipoproliferazione di queste cellule sia influenzata da una disfunzione nei mitocondri; come la sopravvivenza delle cellule leucemiche sia facilitata dalla traduzione di BCL-2 IRES mediata e come l'espressione elevata di BCL-2 nei blasti RPL10 R98S mutanti renda le cellule leucemiche sensibili all'inibitore ABT-199 (venetoclax); infine come ABT-199 sopprima la progressione tumorale in vivo nei topi. La linea cellulare Ba/F3 (DSMZ) è stata modificata come descritto in studi precedenti generando le linee Ba/F3 RPL10 wild type e RPL10 R98S mutato, nelle Jurkat (DSMZ) è stato introdotto RPL10 R98S mutato mediante la tecnica di CRISPR/Cas9 genome editing; è stata impiegata anche la linea cellulare murina Rpl10 R98S knock in (Rpl10^{ckⁱ R98S}). Sono state inoltre isolate le cellule mononucleate da midollo di pazienti T-LLA dopo consenso informato con cui sono stati realizzati dei modelli di xenotrapianto di leucemia umana nei topi NSG. Su ogni modello cellulare sono state effettuate analisi di proteomica, immunoblotting, citofluorimetria, qRT-PCR e analisi dual luciferase reporter per valutare l'attività di IRES (siti di inizio interni per i ribosomi).

La causa dell'ipoproliferazione sembra essere legata all'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) probabilmente originate dall'aumentata attività perossisomiale nelle cellule RPL10 R98S. Lo stress ossidativo

indotto dall'aumento di ROS all'interno della cellula promuove la disfunzione mitocondriale riducendo i livelli di ATP, processo che sembra stare alla base del difetto di proliferazione. Le cellule leucemiche, inoltre, in presenza di RPL10 R98S mutato, sono in grado di sopravvivere agli elevati livelli di stress ossidativo. Il profilo proteomico evidenzia, infatti, un'induzione del fattore antiapoptotico Bcl-2, confermato anche da analisi di immunoblotting, specifico per le cellule presentanti la mutazione. Contemporaneamente è stato dimostrato che BCL-2 è regolato dalla traduzione mediata da IRES indotta dallo stress ossidativo che si instaura nelle cellule. Mentre le cellule normali inducono la morte cellulare programmata a seguito di esposizione a H₂O₂, le cellule RPL10 R98S proteggono se stesse tramite una maggiore traduzione BCL-2 dipendente da IRES. L'espressione di BCL-2, quindi, facilita e migliora la sopravvivenza delle cellule leucemiche RPL10 R98S. Questo lavoro rappresenta la prima dimostrazione di ipoproliferazione indotta da una mutazione ribosomiale determinata dall'esteso stress ossidativo e dalla disfunzione mitocondriale. Questo difetto può essere recuperato dal trattamento antiossidante o eventualmente da mutazioni secondarie acquisite. Non si può comunque escludere che altri regolatori apoptotici, per i quali dati di espressione proteica non erano disponibili, possano essere coinvolti. Per indagare se l'elevata traduzione di BCL-2 IRES-mediata nelle cellule leucemiche RPL10 R98S possa rappresentare una potenziale nuova opportunità terapeutica, è stata testata l'efficacia dell'inibitore clinico BCL-2 approvato dalla FDA, ABT-199. La sensibilità selettiva di RPL10 R98S all'inibitore Bcl-2 clinicamente disponibile ABT-199 è stata supportata dalla soppressione della splenomegalia e dall'assenza di cellule leucemiche umane nel sangue dei topi xenotrapiantati con T-ALL da pazienti.

Questi risultati gettano le basi sulla funzione oncogenica delle mutazioni ribosomali nel cancro e forniscono un nuovo meccanismo per la sovra-regolazione della BCL-2 nella leucemia. Gli inibitori per BCL-2, inoltre, potrebbero rappresentare una nuova strategia terapeutica per pazienti T-LLA RPL10 R98S mutato.

Parole chiave: T-ALL, mutazione ribosomiale RPL10 R98S, venetoclax

Riferimento bibliografico

[Kampen KR](#) et al. *Leukemia* 2018 Jun 21 [Epub ahead of print].

NEUROLOGIA

IL POLIMORFISMO *COMT* Val 108/158 Met E LA RISPOSTA ALLA TERAPIA CON ARIPIPRAZOLO NEI PAZIENTI CON SCHIZOFRENIA ACUTA

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

Gli antipsicotici rivestono un ruolo di primaria importanza nel trattamento della schizofrenia; tuttavia, vi sono considerevoli differenze interindividuali nella risposta clinica. Studi farmacogenetici hanno mostrato associazioni tra la risposta alla terapia con antipsicotici e polimorfismi di diversi geni, tra cui il Val 108/158 Met (rs4680) nel gene *COMT*. Nei portatori dell'allele Val l'attività dell'enzima è 3-4 volte maggiore rispetto ai portatori dell'allele Met; questo SNP può pertanto influenzare la dinamica dei neurotrasmettitori e la risposta agli antipsicotici. Una recente meta-analisi ha rilevato un'associazione del genotipo Met/Met con una risposta favorevole agli antipsicotici; tuttavia, questa meta-analisi non includeva studi sull'aripiprazolo, che ha un profilo farmacologico unico in quanto agonista parziale dei recettori D2. L'acido omovanillico (HVA) e l'acido metossi-4-idrossi-fenilglicole (MHPG) sono i principali metaboliti della dopamina e della noradrenalina, rispettivamente. Nonostante sia difficile assumere che i livelli dei metaboliti plasmatici delle monoamine riflettano direttamente l'attività nel SNC, i livelli plasmatici di HVA sono considerati un possibile indicatore della risposta clinica ai farmaci antipsicotici. Inoltre, è stato dimostrato che, durante il

trattamento della schizofrenia, i livelli plasmatici di HVA correlano con il miglioramento dei sintomi positivi. Nel presente studio, gli Autori hanno investigato gli effetti del polimorfismo *COMT* Val 108/158 Met sulla risposta al trattamento con aripiprazolo e sui livelli plasmatici dei metaboliti delle monoamine nei pazienti con schizofrenia acuta.

I soggetti dello studio erano pazienti Giapponesi diagnosticati come schizofrenici in accordo ai criteri del *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV). I soggetti reclutati includevano pazienti *drug-naïve* e pazienti con un episodio ricorrente che non avevano ricevuto farmaci antipsicotici per almeno 2 settimane prima di entrare nello studio. Criteri di inclusione: pazienti che avevano un punteggio totale al *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS) di almeno 80 e un punteggio minimo di 4 su almeno 2 sottoscale di *item* psicotici (allucinazione, delusione, disorganizzazione concettuale e sospettosità). Criteri di esclusione: abuso di alcool/sostanze stupefacenti e/o presenza di patologie organiche del SNC. I pazienti hanno ricevuto 18 mg/die di aripiprazolo il giorno 1. Dal giorno 2 alla fine dello studio, i medici hanno regolato la dose di aripiprazolo sulla base dei sintomi clinici. Era consentita la contemporanea somministrazione di benzodiazepine e anticolinergici per gestire insonnia, agitazione e sintomi extrapiramidali. L'efficacia del trattamento è stata valutata utilizzando la PANSS, la *Clinical Global Impression* (CGI)-S (*Severity*) e la CGI-I (*Improvement*) Scale. I pazienti con un punteggio CGI-I di 1 o 2 o una riduzione del $\geq 30\%$ dal *baseline* del punteggio totale del PANSS sono stati definiti *responders*. Prelievi ematici sono stati eseguiti alla settimana 0 e 6 dalla somministrazione di aripiprazolo. Le concentrazioni plasmatiche dei metaboliti delle monoamine sono state analizzate tramite *high-performance liquid chromatography* con rilevazione elettrochimica. La genotipizzazione del genotipo Val 108/158 Met nel gene *COMT* è stata effettuata tramite PCR e *restriction fragment length polymorphism method*.

Sono stati reclutati 40 pazienti; 39 soggetti hanno completato lo studio. Tra i 40 pazienti, 16 (40,0%) erano *responders*. Alla fine dello studio, le dosi di aripiprazolo variavano da 9 a 30 mg/die (media \pm SD =24,33 \pm 6,33 mg/die). Ventinove (72,5%) pazienti hanno ricevuto benzodiazepine [Val/Val: n=18 (5-18,3 mg/die), Val/Met: n=9 (4,2-22,5 mg/die), Met/Met: n=2 (5 mg/die)] e 10 (25%) hanno ricevuto biperidene [(Val/Val: n=6 (2-3 mg/die), Val/Met: n=4 (1-4 mg/die), Met/Met: n=0)]. Nei *responders*, l'aripiprazolo riduceva i livelli plasmatici di HVA ($p=0,015$), mentre non modificava i livelli plasmatici di HVA ($p=0,418$) nei *non responders*. I livelli plasmatici di MHPG diminuivano sia nei *responders* ($p=0,001$) che nei *nonresponders* ($p=0,038$). Nel gruppo dei pazienti totali, 23 erano omozigoti per Val, 13 erano eterozigoti e 4 omozigoti per Met. Al *baseline*, non vi erano differenze significative nei punteggi PANSS, CGI-S e nei livelli dei metaboliti plasmatici delle monoamine rispetto al genotipo. La percentuale di *responders* all'aripiprazolo non differiva tra i 3 gruppi di genotipi ($p=0,157$). L'ANOVA per misure ripetute ha rilevato effetti significativi legati al tempo per i punteggi del PANSS totale ($p<0,001$), per il punteggio positivo ($p<0,001$) e negativo ($p<0,001$). Sono state osservate inoltre interazioni significative genotipo-tempo per i punteggi del PANSS totale ($p=0,009$) e della psicopatologia generale ($p=0,007$), con il genotipo Met/Met che mostrava il miglioramento maggiore.

Dai dati è infine emerso un effetto significativo correlato al tempo sui livelli plasmatici di MHPG ($p=0,009$), ma non sui livelli di HVA ($p=0,756$), né sulle interazioni tempo-genotipo sui livelli plasmatici di HVA e MHPG.

I presenti dati, che mostrano una relazione significativa tra il genotipo Met/Met ed un maggiore miglioramento del punteggio PANSS, sono in accordo con una recente meta-analisi che dimostra come i soggetti Met/Met mostrino un miglioramento significativamente maggiore agli antipsicotici rispetto ai portatori di VAL, anche se la meta-analisi non includeva l'aripiprazolo tra gli antipsicotici considerati per lo studio. La differenza nella risposta al trattamento tra i genotipi può essere parzialmente spiegata dall'attività enzimatica della *COMT*. L'attività dell'enzima dell'allele Val è 3-4 volte maggiore di quella dell'enzima Met. Se i soggetti con genotipo Met/Met hanno un'attività *COMT* più bassa, la dopamina non sarà sufficientemente metabolizzata, determinando quindi una neurotrasmissione iperdopaminergica. In tal caso, gli antipsicotici potrebbero inibire lo stato iperdopaminergico con l'antagonismo DRD2 nel sistema mesolimbico in misura più efficace nella fase acuta della schizofrenia, anche se nel presente studio non sono state osservate interazioni significative genotipo-tempo nel punteggio positivo del PANSS.

Inoltre, l'ipotesi della curva a U invertita della funzione della dopamina suggerisce che l'eccessiva attività della dopamina nella corteccia prefrontale compromette la *performance* della *working memory*, mentre una ipo-attività della dopamina determina una disfunzione cognitiva nei pazienti con schizofrenia. Gli antipsicotici atipici, compreso l'aripirazolo, hanno effetti inibitori sui recettori DRD2 e 5-HT2A che possono essere correlati ad una adeguata neurotrasmissione dopaminergica nella corteccia prefrontale. D'altra parte, invece, gli antipsicotici tipici inibiscono i recettori DRD2 ma non i 5-HT2A, meccanismo che potrebbe indurre una ipofunzione della dopamina. Inoltre, l'aripirazolo è un agonista parziale di DRD2 e potrebbe quindi anche essere in grado di stabilizzare la funzione della dopamina nella corteccia prefrontale. Queste considerazioni nel loro insieme possono indurre ad ipotizzare che la risposta favorevole all'aripirazolo nei pazienti con genotipo Met/Met sia dovuta ad una stabilizzazione della funzione della dopamina nella corteccia prefrontale che a sua volta determina un miglioramento delle funzioni cognitive.

In questo studio, il polimorfismo Val 108/158 Met non è associato a modificazioni dei livelli plasmatici dei metaboliti delle monoamine, suggerendo quindi che, dopo trattamento con aripirazolo nella schizofrenia, tale polimorfismo non sia correlato a cambiamenti dei livelli plasmatici di HVA e MHPG.

Limitazioni dello studio: il campione di pazienti era molto piccolo e nel gruppo vi erano solo 4 soggetti con genotipo Met/Met. Lo studio includeva pazienti sia al primo episodio di malattia sia con episodi ricorrenti; questi ultimi potrebbero essere stati sotto l'influenza degli effetti di precedenti trattamenti, quali ad es. un'*upregulation* dei recettori D2. Inoltre, questo studio si è focalizzato solo su un polimorfismo di *COMT* e non ha esaminato le interazioni gene-gene. Infine, lo studio non ha rilevato lo stato delle funzioni cognitive, quali la *working memory*, tramite test neuropsicologici dedicati.

Il polimorfismo Val 108/158 Met del gene *COMT* è associato alla variazione del punteggio della *Positive and Negative Syndrome Scale* dopo terapia con aripirazolo in pazienti schizofrenici Giapponesi; il miglioramento maggiore si osserva nei pazienti con genotipo Met/Met.

Parole chiave: schizofrenia, *COMT*, polimorfismo Val 108/158 Met (rs4680), aripirazolo, farmacogenetica

Riferimento bibliografico:

[Kaneko H](#) et al. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2018,14:1657-63

ASSOCIAZIONE TRA VARIANTI DEL GENE DYSBINDIN-1 E RISPOSTA COGNITIVA AL TRATTAMENTO CON FARMACI ANTIPSICOTICI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Gli antipsicotici rappresentano il trattamento di prima linea per la gestione della schizofrenia e di altri disturbi caratterizzati da psicosi. La risposta agli antipsicotici è altamente variabile. Sarebbe pertanto di grande importanza avere a disposizione *biomarker* affidabili, che consentano di adattare il trattamento ad ogni singolo paziente. In particolare, la risposta clinica risulta non ottimale e altamente variabile per quanto riguarda i sintomi negativi e cognitivi. Dal punto di vista farmacocinetico, è stato suggerito che varianti dei geni *CYP2D6*, *CYP3A4/5* e *ABCB1* possano esercitare un impatto sul metabolismo e la distribuzione dei farmaci antipsicotici, con un conseguente effetto sul range terapeutico. Dal punto di vista farmacodinamico, tutti i farmaci antipsicotici interagiscono con i recettori dopaminergici D2. Il gene *dystrobrevin binding protein 1 (DTNBP1)* codifica per la proteina *dysbindin-1 (Dys)*, che regola il riciclo dei recettori e può alterare la disponibilità dei recettori D2. È stato suggerito che varianti a livello del gene *DTNBP1* possano interferire con il sistema dopaminergico, alterando le funzioni cognitive in modelli animali e nell'uomo. Sulla base di queste evidenze, utilizzando un approccio traslazionale tramite modelli animali e uno studio clinico, gli autori hanno valutato il ruolo di varianti genetiche che comportano un'espressione ridotta della proteina Dys sulla risposta cognitiva in seguito a trattamento con antipsicotici.

La parte preclinica è stata condotta su topi maschi di età compresa tra 3 e 6 mesi mutanti eterozigoti (Dys+/-) o *wild-type* (Dys+/+). La risposta cognitiva è stata valutata mediante lo shifting attentivo utilizzando l'ID/ED Operon task in cieco rispetto al genotipo e al trattamento farmacologico. I topi sono stati trattati con risperidone (10 ml/kg di peso corporeo) o soluzione salina una volta al giorno per 14 giorni consecutivi prima dell'ID/ED Operon task. Dai campioni ottenuti dalla corteccia prefrontale è stato estratto l'RNA totale per la misurazione dei livelli di espressione dei geni *DNTBP1*, *DRD2*, *DRD1*, *SLC6A4*, *GRIN1*, *NMDA1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, *HTR2A* tramite metodo TaqMan. Per il D2 sono state valutate entrambe le isoforme *D2Short* (D2S) e *D2Long* (D2L). Inoltre, i recettori D2 sono stati *downregolati* utilizzando la tecnologia del miRNA *mimic* tramite vettore lentivirale, utilizzando un microRNA che regola il gene *DRD2*.

La parte clinica dello studio è stata condotta su: 1) 259 pazienti con schizofrenia in accordo con i criteri del DSM-IV-TR (utilizzando l'intervista clinica strutturata SCID-I/P) e 314 controlli sani reclutati presso la Fondazione Santa Lucia di Roma, e 2) 45 pazienti al primo episodio di psicosi, affetti da schizofrenia in accordo con i criteri del DSM-IV-TR, non trattati in precedenza con antipsicotici e reclutati presso l'Ospedale Bambino Gesù di Roma. Questa seconda coorte è stata reclutata per ridurre la possibilità che la durata di malattia o precedenti trattamenti potessero esercitare un effetto confondente. I pazienti del gruppo 2 sono stati trattati con un antipsicotico tra risperidone e aripirazolo per quattro settimane.

Sono stati inclusi solo pazienti Caucasiche, nati in Italia e che avessero frequentato le scuole in Italia. Nessuno dei pazienti aveva una diagnosi di disturbi dello spettro autistico. I controlli sani non avevano storia personale o familiare di disturbi psichiatrici (utilizzando le interviste SCID-I/NP e SCID-II) e avevano una vista normale (con o senza lenti). Nei pazienti con età < 18 anni i disturbi psichiatrici sono stati valutati utilizzando l'Intervista diagnostica per la valutazione dei disturbi psicopatologici in bambini e adolescenti K-SADS-PL. Il dosaggio di antipsicotici è stato convertito in milligrammi equivalenti di clorpromazina. La performance cognitiva è stata valutata utilizzando il *Wisconsin Card Sorting Test* (WCST). Per ogni soggetto sono stati genotipizzati su DNA genomico tre polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) formanti un aplotipo sul gene che codifica per Dys: rs2619538, rs3213207 e rs1047631.

Come campione di replicazione sono stati utilizzati i dati relativi alla prima fase dello studio *Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness* (CATIE) intrapreso dal *National Institute of Mental Health* (NIMH) per valutare l'*effectiveness* del trattamento con antipsicotici. Brevemente, in questo studio i pazienti con una diagnosi di schizofrenia, in accordo con i criteri del DSM-IV, sono stati randomizzati ad olanzapina, perfenazina, quetiapina o risperidone e seguiti fino a 18 mesi o fino all'interruzione del trattamento.

Infine, l'espressione del gene *DTNBP1* è stata valutata utilizzando dati di RNA-seq ottenuti su campioni di corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC) *post-mortem* di derivazione umana. L'espressione delle isoforme D2L e D2S è stata valutata mediante real-time PCR su 375 campioni di DLPFC ottenuti da soggetti di età > 16 anni. Un totale di 159 campioni derivavano da soggetti con una diagnosi di schizofrenia (101 trattati con antipsicotici).

I dati di RNA-Seq ottenuti su 594 campioni post-mortem di DLPFC di derivazione umana hanno mostrato che i *carrier* degli aplotipi Dys +/- e -/- mostravano un'espressione di Dys ridotta rispetto ai *carrier* dell'aplotipo +/+ ($p < 0,005$).

Nel campione di 259 pazienti con schizofrenia, in trattamento cronico con antipsicotici, i pazienti con aplotipi Dys +/- e -/- (associati nello studio post-mortem ad un'espressione ridotta della proteina Dys) hanno ottenuto una performance migliore al WCST rispetto ai pazienti *carrier* dell'aplotipo +/+. In particolare, i pazienti con aplotipo -/- hanno compiuto meno errori e hanno completato un maggior numero di categorie WCST rispetto ai pazienti con aplotipo +/+ ($p < 0,01$ per entrambi).

Anche nel campione di replicazione (studio CATIE) i pazienti con aplotipi -/- e +/- hanno mostrato una performance migliore rispetto ai pazienti con aplotipo +/+ (effetto del genotipo, $p < 0,04$).

Il risultato è stato replicato anche nel campione di pazienti al primo episodio di psicosi. Anche in questo campione, infatti, i pazienti *carrier* dell'aplotipo -/- hanno mostrato migliori performance al WCST rispetto ai *carrier* dell'aplotipo +/+ ($p < 0,05$).

Nella parte preclinica dello studio, i topi con livelli ridotti di Dys (Dys +/-) sono stati confrontati con i topi Dys +/+ utilizzando il test ID/ED Operon Task. Nei 14 giorni precedenti il test, i topi sono stati trattati con risperidone o soluzione salina. Il trattamento cronico con risperidone non solo ha ripristinato l'*impairment* cognitivo nei topi +/-, ma ha fatto ottenere loro una performance migliore rispetto ai topi +/+ trattati con risperidone o salina ($p < 0,005$). Il trattamento con risperidone non ha avuto alcun effetto nei topi +/+.

Nei topi +/- nei quali è stata effettuata l'inattivazione dei recettori D2 nella corteccia prefrontale mediante miRNA sintetico iniettato con vettore lentivirale, il trattamento con risperidone non ha permesso di ottenere un miglioramento della performance all'ID/ED Operon Task ($p < 0,0005$), a supporto dell'ipotesi che l'interazione *dysbindin*-antipsicotici dipenda dal funzionamento dei recettori D2 nella corteccia prefrontale.

Nei topi la riduzione dei livelli di Dys, il trattamento con risperidone e la loro interazione non sono stati associati ad una riduzione dell'espressione del gene *DRD2*. Tuttavia, il trattamento cronico con risperidone ha aumentato il rapporto D2S/D2L nella corteccia prefrontale dei topi +/- ma non di quelli -/- ($p < 0,05$).

Anche nel campione di tessuti *post-mortem* di derivazione umana, ottenuti da 101 pazienti affetti da schizofrenia, i carrier -/- hanno mostrato un rapporto D2S/D2L aumentato nella DLPFC soltanto in caso i pazienti fossero stati trattati con antipsicotici ($p < 0,05$). L'isoforma D2S rappresenta il principale autorecettore presinaptico D2, che esercita un feedback negativo sulla sintesi e sul rilascio di dopamina. Per dimostrare che lo shift D2S/D2L è correlato con il miglioramento delle funzioni esecutive osservate nel contesto di una espressione ridotta di Dys, gli autori hanno incrociato i mutanti +/- con topi D2L +/- (che hanno una espressione geneticamente ridotta dell'isoforma 2DL e upregolazione dell'isoforma 2DS). I topi Dys+/-D2L+/- hanno ottenuto performance migliori all'ID/ED Operon Task rispetto ai controlli *wild-type* e ai topi Dys+/- nella fase di *extradimensional set shifting* (EDS, $p < 0,05$). Al contrario, i topi D2L+/- hanno mostrato la stessa performance dei topi *wild-type*. Questi risultati suggeriscono che lo squilibrio nel rapporto D2S/D2L prodotto dal trattamento cronico con antipsicotici induca miglioramenti nello shifting attentivo nei topi con una riduzione genetica dei livelli di Dys.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra le varianti genetiche rs2619538, rs3213207 e rs1047631 del gene *DTNBP1*, associate con una ridotta espressione di Dys, e una migliore risposta dei sintomi cognitivi dopo trattamento con antipsicotici nei pazienti con schizofrenia. Il meccanismo proposto per spiegare questa interazione consiste in uno shift del rapporto delle isoforme D2S e D2L dei recettori dopaminergici D2.

Parole chiave: antipsicotici, schizofrenia, *DTNBP1* (Dys)

Riferimento bibliografico

[Scheggia D et al. Nat Commun 2018, 9\(1\):2265](#)

VALUTAZIONE FARMACOGENETICA DEL GENE *DISP1* NEL TRATTAMENTO DEL DISTURBO OSSESSIVO-COMPULSIVO

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il disturbo ossessivo compulsivo (DOC) è una patologia cronica debilitante, con una prevalenza del 2.3% nella popolazione generale, caratterizzata da ossessioni e compulsioni (Ruscio AM *Mol Psychiatry* 2010,15(1):53–63). Il trattamento prevede l'uso di antidepressivi e/o terapia cognitivo comportamentale, di limitata efficacia (Bandelow B et al. *World J Biol Psychiatry* 2008,9(4):248–312; Huppert and Roth *The Behavior Analyst Today* 2003,4(1):66–70; Öst LG et al. *Clin Psychol Rev* 2015,40:156–69). Sebbene gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) rappresentino i farmaci di prima scelta nel DOC, solo il 50% dei pazienti ottiene una risposta clinicamente significativa (Fineberg NA et al. *Psychiatry Res* 2015,227(1):114–25; Pallanti S et al. *Int J Neuropsychopharmacol* 2002,5(2):181–91). La variabilità genetica

può spiegare, almeno in parte, le differenze nella risposta individuale e guidare la scelta del farmaco più efficace e sicuro nel singolo paziente. Uno studio recente (Qin H et al. *Mol Psychiatry* 2016,21(2):270–6) ha esaminato la risposta agli antidepressivi in un campione di 804 pazienti con DOC (514 *responders* e 290 *non-responders*) trovando un'associazione con l'allele rs17162912 localizzato vicino al promoter del gene *DISP1* sul cromosoma 1q41-42.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'associazione tra il polimorfismo rs17162912 del gene *DISP1* e la risposta agli antidepressivi in un campione di pazienti affetti da DOC.

Sono stati arruolati un totale di 359 pazienti con diagnosi di DOC secondo i criteri del DSM-IV, trattati con antidepressivi (fino a 6), inclusi 5 SSRI (fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, paroxetina, citalopram) ed un SRI (clomipramina). Sono stati esclusi pazienti con altri disturbi metabolici o neurologici, schizofrenia, disturbo schizo-affettivo, disturbo bipolare o dipendenza da sostanze. Dati retrospettivi relativi alla risposta al trattamento erano disponibili per 128 pazienti, dei quali sono stati però esclusi pazienti non di origine Europea (N finale = 112, età media di 37.41 anni, 60% donne). Età media e sesso non differivano tra *responders* e *non-responders*. Le varianti del polimorfismo in studio non sono risultate associate con una diversa risposta agli antidepressivi.

Questo studio è il primo a valutare il polimorfismo rs17162912 del gene *DISP1* in un campione ben caratterizzato di pazienti con DOC. I risultati ottenuti non supportano un ruolo del gene *DISP1* nella risposta agli antidepressivi in pazienti con DOC, non essendo stato possibile replicare i risultati dello studio di Qin et al. (Qin H et al. *Mol Psychiatry* 2016,21(2):270–76). La definizione rigorosa di mancata risposta ha portato ad un numero molto piccolo di *non-responders* e ciò può aver influenzato la probabilità di individuare un effetto significativo.

In conclusione, questo studio non ha confermato l'associazione tra il polimorfismo rs17162912 del gene *DISP1* e la risposta al trattamento con antidepressivi in pazienti affetti da DOC. Studi prospettici più ampi sono necessari per valutare l'influenza delle variabili farmacogenetiche nella risposta al trattamento del DOC.

Limiti dello studio sono rappresentati dalle dimensioni del campione e dall'uso di valutazioni retrospettive.

Parole chiave: disturbo ossessivo compulsivo, *DISP1*, antidepressivi

Riferimento bibliografico

[Lisoway AJ](#) et al. *Hum Psychopharmacol* 2018,33(4):e2659.

LA METANALISI DEL MESE

META-ANALISI DELLA CORRELAZIONE TRA POLIMORFISMI GENETICI E GLI ESITI DEL TRATTAMENTO CON METOTREXATO IN PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE IDIOPATICA GIOVANILE

A cura della Dott.ssa Sarah Cargin

L'artrite idiopatica giovanile (AIG) è la forma di malattia reumatica più frequente nei soggetti di età inferiore ai 16 anni. È caratterizzata da un quadro di infiammazione cronica delle articolazioni e può risultare in alterazioni della crescita del soggetto, disabilità a lungo termine e deformità delle articolazioni. Ad oggi, il metotrexato (MTX) rappresenta il farmaco antireumatico modificante la malattia più utilizzato per il trattamento di AIG. MTX risulta essere efficace in circa il 70% dei pazienti affetti da AIG, mentre reazioni avverse associate all'uso del farmaco, come anomalie degli enzimi epatici, leucopenia, infezioni e

spossatezza si manifestano nel 30% circa dei pazienti. Si dimostra, quindi, di rilevante interesse clinico identificare fattori genetici predittivi dell'efficacia e della sicurezza di MTX che siano implementabili nella pratica clinica. Una recente revisione sistematica della letteratura ha evidenziato come siano stati condotti numerosi studi sulla farmacogenetica del MTX nei pazienti affetti da AIG, e come in tali lavori siano riportate evidenze di potenziali correlazioni tra SNPs, coinvolti principalmente nei meccanismi di trasporto cellulare di MTX e nel metabolismo dei folati, e la risposta a MTX. Tuttavia, ad oggi, non è stata ancora prodotta una meta-analisi delle stime di associazione tra tali varianti e la risposta a metotrexato nei pazienti affetti da AIG. Obiettivo del presente lavoro è stato quello di effettuare una revisione sistematica della letteratura sulla farmacogenetica di MTX nei pazienti affetti da AIG e di combinare in maniera quantitativa, tramite meta-analisi, le stime di correlazione tra i polimorfismi genetici analizzati e la risposta a MTX, intesa sia in termini di efficacia che di tossicità farmaco-indotta.

La ricerca bibliografica della letteratura è stata condotta a giugno del 2017 utilizzando i databases OVID MEDLINE e OVID EMBASE. Sono stati definiti includibili tutti gli studi, pubblicati in lingua inglese, in cui fossero riportati i dati di associazione tra polimorfismi genetici e l'efficacia/tossicità di MTX in pazienti affetti da AIG. Sono stati, al contrario, esclusi dalla revisione tutti gli editoriali, commenti, erratum, lettere, revisioni e meta-analisi, pubblicazioni in duplicato e abstracts congressuali. Per ciascun studio eleggibile per la meta-analisi sono stati estratti i dati relativi a: i) primo autore e anno di pubblicazione, ii) origine geografica, numerosità, età dei pazienti all'inizio della terapia e durata della malattia, iii) criterio clinico utilizzato per la valutazione della risposta e numero dei soggetti responsivi o meno a MTX, iv) durata della terapia e dose di MTX; v) numero di eventi avversi, v) frequenze genotipiche, OR e relativi intervalli di confidenza. La misura della stima di associazione tra le varianti genetiche e l'efficacia/tossicità di MTX è stata calcolata come odd ratio (OR) e relativi intervalli di confidenza al 95% utilizzando i modelli genetici recessivo, dominante ed allelico. Al fine combinare le stime di associazione genetica è stata applicata una meta-analisi ad effetti random (metodo Mantel-Haenszel). La stima di meta-analisi delle associazioni genetiche è stata effettuata quando fossero presenti almeno due studi in letteratura in cui fosse indagata la correlazione tra il medesimo SNP e l'*outcome* in studio.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 1243 studi, di cui 12 (N=1864 pazienti) sono stati definiti come includibili nella meta-analisi. Di questi 12 studi, 6 hanno valutato l'efficacia di MTX, 2 la tossicità mentre nei rimanenti 4 sono state indagati entrambi gli *outcomes* di risposta. L'età media dei pazienti affetti da AIG all'inizio del trattamento con MTX variava da un minimo di 6.9 anni ad un massimo di 10.7 anni. Per quanto riguarda l'analisi della correlazione tra polimorfismi genetici e l'efficacia a MTX, sono 32 gli SNPs analizzati nei 10 studi inclusi nella revisione sistematica. Dalla meta-analisi condotta su queste 32 varianti, gli SNPs MDR1/ABCB1 rs1045642 ($N_{\text{studi}}=2$; OR 2.21, 95% CI 1.23-3.97), MDR1/ABCB1 rs1128503 ($N_{\text{studi}}=2$; OR 2.23, 95% CI 1.35-3.69) e MTHFR C677T ($N_{\text{studi}}=2$; OR 0.40, 95% CI 0.19-0.84) sono risultati essere significativamente correlati all'efficacia di MTX nel modello genetico recessivo. Sono, invece, 11 le varianti genetiche analizzate in correlazione con la tossicità indotta da MTX negli studi inclusi nella revisione sistematica ($N_{\text{studi}}=6$). Di queste varianti, solo lo SNP MTHFR C677T è risultato essere significativamente associato alla tossicità indotta da MTX, sia nel modello allelico ($N_{\text{studi}}=5$; OR 1.54, 95% CI 1.07-2.22) che in quello dominante ($N_{\text{studi}}=4$; OR 1.70, 95% CI 1.08-2.68).

Il presente lavoro costituisce il primo studio di meta-analisi condotto nell'ambito della farmacogenetica del MTX nei pazienti affetti da AIG. L'evidenza più rilevante ivi riscontrata è rappresentata dalla correlazione tra la variante MTHFR C677T e la risposta a MTX, intesa sia in termini di efficacia che di tossicità farmaco-indotta. Tale evidenza è stata, infatti, ottenuta dall'analisi di aggregazione delle stime di associazione genetica riportate da 5 studi. Al contrario, per quanto riguarda le varianti MDR1/ABCB1 rs1045642 e rs1128503, si evidenzia che le stime di meta-analisi sono state calcolate sulla base dei dati riportati da soli due studi primari. Si sottolinea, inoltre, come i risultati ivi riportati debbano essere interpretati alla luce di alcune limitazioni dello studio, quali sono: i) le dimensioni campionarie su cui sono state ottenute le stime di meta-analisi sono limitate; ii) non è stata valutata la qualità degli studi primari inclusi nella revisione sistematica: il lettore non può avere, quindi, la percezione di quale possa essere la qualità dei risultati di

associazione farmacogenetica riportati negli studi primari, e, di riflesso, la qualità delle stime meta-analitiche ivi ottenute; iii) i pazienti arruolati nei singoli studi eleggibili risultano essere eterogenei tra loro in termini di caratteristiche cliniche, tra cui etnia, dose di MTX e durata della terapia, criterio clinico utilizzato per definire la risposta, tipologia di eventi avversi manifestatisi. Essendo quindi ridotta la numerosità degli studi inclusi nelle meta-analisi, per ciascun singolo SNP non è stato possibile fare ulteriori analisi per sottogruppi. Alla luce di tali limitazioni intrinseche allo studio di meta-analisi, i risultati ivi ottenuti non possono considerarsi come conclusivi.

La variante MTHFR C677T è risultata essere correlata all'efficacia e alla tossicità indotta da metotrexato in pazienti affetti artrite idiopatica giovanile.

Parole chiave: artrite idiopatica giovanile, metotrexato, MTHFR

Riferimento bibliografico

[Chen Y](#) et al. *Pharmacogenomics* 2018,19(6):529-38.



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 Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Oksana Montecchini (Università di Trieste)

Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)
Dott.ssa Eleonora Rofi (Università di Pisa)
Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

RICEZIONE NEWSLETTER

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