



## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 109 – Settembre 2018

---

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

---

#### Sommario

##### ⇒ Oncologia

- Valutazione dei meccanismi di resistenza e delle possibili implicazioni cliniche nei pazienti affetti da tumore del polmone EGFR p.T790M positivi ed in trattamento con osimertinib
- Associazione tra rash cutanei, risposta clinica e SNPs in pazienti con tumori testa-collo in trattamento con zalutumumab: risultati del trial DAHANCA 19
- L'alta espressione di miR-133b è associata ad una migliore efficacia di erlotinib come seconda o terza linea nei pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule

##### ⇒ Neurologia

- La variante funzionale rs334558 del gene GSK3B è associata alla remissione nei pazienti con disturbi depressivi
- Farmacoresistenza in bambini e adolescenti con gravi disturbi psichiatrici: anomalie funzionali del citocromo P450 2D6
- Studio di associazione tra varianti del gene Disrupted-In-Schizophrenia 1 e la discinesia tardiva

##### ⇒ Pneumologia

- Associazione tra il gene SLC26A9 e la risposta ad ivacaftor nella fibrosi cistica

##### ⇒ Immunologia

- Influenza delle varianti genetiche nel gene NKG2D nella risposta agli agenti anti-TNF in pazienti con artrite reumatoide

**ONCOLOGIA****VALUTAZIONE DEI MECCANISMI DI RESISTENZA E DELLE POSSIBILI IMPLICAZIONI CLINICHE NEI PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE DEL POLMONE EGFR P.T790M POSITIVI ED IN TRATTAMENTO CON OSIMERTINIB**

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

Da qualche anno è in commercio l'inibitore tirosin-chinasico di terza generazione (TKI), osimertinib, in grado di "colpire" il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) nei pazienti affetti da tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC), resistenti ai TKIs di prima/seconda generazione e portatori della mutazione di resistenza EGFR p.T790M.

Questi pazienti hanno dimostrato un alto tasso di risposta e una sopravvivenza mediana libera da progressione (PFS) di circa 10 mesi (Jänne PA et al. *N Engl J Med* 2015,372:1689-99). Inoltre, l'attività clinica ed il profilo di tossicità favorevole di osimertinib hanno portato questo farmaco ad essere ampiamente studiato, in particolare come strategia terapeutica per controllare e prevenire la resistenza nei pazienti NSCLC ed EGFR mutati (Oxnard GR et al. *J Clin Oncol* 2015,33:2509).

Il diffuso utilizzo di osimertinib ha portato nella pratica clinica al problema della resistenza acquisita. Sono stati descritti molti meccanismi responsabili dello sviluppo di tale resistenza, tra cui la mutazione EGFR p.C797S, l'amplificazione di MET, la trasformazione a tumore del polmone a piccole cellule (Ou SI et al. *Lung Cancer* 2016,98:59-61; Yu HA et al. *JAMA Oncol* 2015,1:982-4; Ahn S et al. *J Pathol Transl Med* 2016,50:258-63). La terapia standard che può essere effettuata dopo l'opzione del trattamento terapeutico con i TKIs è limitata alla chemioterapia, con il regime platino/pemetrexed stabilito dallo studio clinico IMPRESS, dove è stato raggiunto un tasso di risposta del 34% ed una PFS mediana di 5.4 mesi (Soria JC et al. *Lancet Oncol* 2015,16(8):990-8). Per poter migliorare questo risultato e al contempo superare la resistenza ad osimertinib, sono al momento in via di sviluppo una serie di trattamenti mirati, che richiedono sicuramente una maggior comprensione molecolare e clinica dei meccanismi che guidano la resistenza.

Le analisi genomiche condotte su DNA libero plasmatico sono state utilizzate per descrivere due meccanismi di resistenza, ossia la mutazione acquisita EGFR p.C797S e la perdita della mutazione EGFR p.T790M (Thress KS et al. *Nat Med* 2015,21(6):560-2).

Gli autori di questo studio hanno così arruolato un'ampia coorte di pazienti per comprendere maggiormente i fattori molecolari e clinici che potrebbero essere utili nel suggerire uno specifico meccanismo molecolare implicato nel processo di resistenza e, di conseguenza, uno specifico approccio terapeutico.

Per tale motivo, sono stati arruolati 143 pazienti affetti da NSCLC, EGFR p.T790M positivi e, quindi, trattati con osimertinib. Le analisi genomiche sono state condotte sia su tessuto biotico, utilizzando un sistema di sequenziamento massivo in parallelo (NGS), sia su plasma, per lo studio delle mutazioni driver (p.L858R e delezioni a carico dell'esone 19, ex19el) e di resistenza (p.T790M e p.C797S) a carico di EGFR, utilizzando i sistemi della digital droplet PCR o BEAMing. Inoltre, quando possibile, è stata effettuata l'ibridazione fluorescente in situ per la valutazione dell'amplificazione di MET.

L'outcome clinico dei pazienti trattati con osimertinib è stato valutato considerando il tempo intercorso dall'inizio fino alla sospensione del trattamento (TTD), sospensione avvenuta per una qualsiasi ragione. Gli autori hanno deciso di considerare il TTD piuttosto che la PFS in quanto la maggior parte dei pazienti aveva ricevuto la terapia come parte integrante del loro percorso di cura, rendendo così difficile valutare una progressione obiettiva tramite indagini radiografica.

Dei 143 pazienti arruolati, 41 (29%) hanno avuto una progressione di malattia durante il trattamento con osimertinib e sono stati sottoposti alle analisi genomiche per la valutazione dei meccanismi di resistenza. In

particolare, per 13 (32%) pazienti è stato osservato il mantenimento della mutazione p.T790M, mentre 28 (68%) avevano perso tale mutazione. La mutazione p.C797S era presente in 9 pazienti (22%) e per tutti in *cis* con il mantenimento della p.T790M.

In 19 (46%) pazienti, invece, non è stato osservato nessun meccanismo di resistenza a carico di EGFR; di questi, 17 (41%) avevano perso la p.T790M. Dei 28 pazienti che avevano perso la p.T790M, 13 (46%) avevano sviluppato altri meccanismi di resistenza: per 6 pazienti il tumore si era trasformato a piccole cellule, 4 pazienti avevano l'amplificazione di MET, 2 soggetti le mutazioni a carico di PIK3CA ed altri 3 mutazioni a carico di BRAF. C'erano anche i pazienti che avevano perso la p.T790M e che avevano sviluppato meccanismi di resistenza inaspettati, tra cui i riarrangiamenti a carico dei geni RET, FGFR3 e BRAF.

In molti casi, le analisi genotipiche condotte in maniera retrospettiva su campioni plasmatici seriali hanno offerto informazioni sulla cinetica della risposta di osimertinib e sull'eterogeneità del meccanismo di resistenza. Ad esempio, in un paziente il cui tumore si era trasformato a piccole cellule, i livelli plasmatici della p.T790M si erano ridotti durante il trattamento con osimertinib e, contemporaneamente, erano aumentati quelli della mutazione driver, con una precoce progressione dopo 6 settimane. In un paziente che aveva sviluppato la mutazione di resistenza p.C797S è stata osservata una risposta plasmatica iniziale e completa seguita successivamente dalla comparsa della p.T790M e di due varianti della p.C797S.

Da sottolineare come in alcuni casi, le analisi di genotipizzazione condotte su plasma avevano consentito di rilevare la presenza di meccanismi di resistenza che però non erano stati caratterizzati sulla biopsia: ad esempio, per un paziente le analisi condotte su plasma avevano consentito di rilevare la presenza della mutazione p.G12V a carico del gene KRAS, mutazione che però non era stata caratterizzata su tessuto; per un paziente, portatore dell'amplificazione di MET rilevata su biopsia, erano state caratterizzate su plasma sia la mutazione p.T790M sia il riarrangiamento di ALK; infine, per un altro paziente con un tumore a piccole cellule l'analisi su biopsia aveva rilevato la presenza della p.T790M, mentre su plasma della p.G724S.

In ogni caso, in generale, i pazienti per i quali era stata caratterizzata la perdita della p.T790M erano clinicamente simili a quelli che l'avevano mantenuta.

Successivamente, gli autori dello studio hanno suddiviso i pazienti sulla base del mantenimento o della perdita della p.T790M sulla biopsia, per valutare il tempo necessario allo sviluppo della resistenza ad osimertinib. I pazienti che avevano perso la p.T790M avevano un TTD di 6.1 mesi, inferiore a quello evidenziato per coloro che invece avevano mantenuto la p.T790M (TTD=15.2 mesi;  $p=0.01$ ). Per confermare i risultati ottenuti sullo sviluppo di una resistenza precoce nei pazienti che avevano perso la p.T790M, i ricercatori hanno anche analizzato in maniera prospettica i campioni di pazienti arruolati nello studio AURA (studio clinico di fase I/II con lo scopo di valutare dose, sicurezza ed efficacia di osimertinib). Su 157 pazienti per i quali erano stati raccolti i campioni plasmatici in seguito allo sviluppo di resistenza, per 110 è stata caratterizzata una mutazione driver EGFR su DNA plasmatico circolante. Fra questi pazienti, 52 (47%) avevano perso la mutazione p.T790M e 58 (53%) l'avevano mantenuta; 24 pazienti (22%) avevano sviluppato la p.C797S, mantenendo al tempo stesso la p.T790M. I pazienti che avevano perso la p.T790M avevano un TTD mediano di 5.5 mesi, inferiore a coloro che invece avevano mantenuto la mutazione di resistenza, sia in presenza che in assenza della p.C797S (TTD mediano = 12.4 mesi;  $p=0.006$ ). Suddividendo la popolazione in terzi, la perdita della p.T790M è stata osservata in 26 (68%) su 38 pazienti con un TTD di circa 5.5 mesi; viceversa, il mantenimento della p.T790M è stato osservato in 26 (72%) su 36 pazienti con un TTD di circa 13 mesi.

Gli autori dello studio hanno successivamente cercato di studiare strategie per poter "anticipare" la perdita della p.T790M, considerando caratteristiche valutate nella fase di pretrattamento. Su 19 pazienti per i quali non erano stati evidenziati meccanismi di resistenza a carico di EGFR sulle biopsie in seguito a progressione di malattia, per 16 erano disponibili biopsie effettuate prima della resistenza ad osimertinib. Tra 6 pazienti con una trasformazione del tumore a piccole cellule, in un individuo le analisi condotte sulla biopsia effettuata 8.5 mesi prima del trattamento con osimertinib avevano evidenziato la trasformazione istologica a piccole cellule; per altri due individui, invece, è stata caratterizzata la perdita di RB1 prima della terapia con osimertinib. Tra 4 pazienti con amplificazione di MET dopo il trattamento con osimertinib, 2 avevano

tale amplificazione anche prima della terapia e tra questi uno aveva anche la p.T790M (frequenza allelica, AF, 7%); tuttavia, in seguito al trattamento con osimertinib per 9 settimane, la p.T790M non è stata rilevata sulla rebiopsia, ma l'amplificazione di MET era presente nel 94% delle cellule. Inoltre, l'analisi condotta col sistema NGS aveva evidenziato la presenza del riarrangiamento di BRAF anche prima dell'inizio del trattamento con osimertinib, insieme alla p.T790M (AF 10%). In aggiunta, per due soggetti, in cui il trattamento con osimertinib aveva fallito precocemente ed avevano perso la p.T790M, le analisi avevano evidenziato la presenza della p.T790M sul plasma ma non sul tessuto biotipico prima del trattamento con osimertinib.

Data la limitata disponibilità delle biopsie pre-osimertinib e delle relative biopsie post-osimertinib, gli autori dello studio hanno genotipizzato i campioni plasmatici per valutare un eventuale modello di resistenza. Per 50 pazienti dello studio AURA erano disponibili le analisi effettuate su plasma sia prima della somministrazione di osimertinib sia in seguito allo sviluppo di resistenza. La AF relativa della p.T790M rispetto alle mutazioni driver di EGFR è stata calcolata come potenziale misura della prevalenza allelica della p.T790M. I risultati hanno evidenziato una correlazione fra la AF relativa della p.T790M pre e post-osimertinib ( $p < 0.001$ ). Tuttavia, quando questa associazione è stata studiata con un'analisi dicotomica, i pazienti che avevano perso la p.T790M avevano in realtà una AF relativa della p.T790M soltanto leggermente inferiore a quella valutata prima di osimertinib (29% vs 38%,  $p = 0.06$ ).

Successivamente, sono state condotte analisi di genotipizzazione su campioni plasmatici seriali per valutare se la risposta precoce su plasma potesse indicare un modello di resistenza. Per 19 pazienti erano disponibili i campioni plasmatici raccolti alla risposta precoce (dopo 1-3 settimane); inoltre erano disponibili campioni di DNA tumorale considerati prima del trattamento e in seguito allo sviluppo di resistenza. Nei campioni di plasma raccolti al momento dello sviluppo della resistenza, 8 pazienti avevano mantenuto la p.T790M mentre 11 l'avevano persa. Valutando i cambiamenti relativi delle concentrazioni plasmatiche delle mutazioni di EGFR dopo 1-3 settimane di trattamento con osimertinib è stata osservata una riduzione dei livelli della p.T790M, sia nei pazienti che avevano mantenuto la p.T790M sia in quelli che l'avevano persa. In particolare, è stata osservata una maggior riduzione dei livelli relativi delle mutazioni driver di EGFR nei pazienti che avevano mantenuto la p.T790M rispetto a coloro che, invece, l'avevano persa (riduzione: 100% vs 83%;  $p = 0.01$ ). È stata poi analizzata la risposta plasmatica in relazione ai livelli delle mutazioni driver e della p.T790M, trovando una differenza statisticamente significativa fra i pazienti che avrebbero perso la p.T790M e coloro che invece l'avrebbero mantenuta in seguito allo sviluppo di resistenza (16% vs 0%;  $p = 0.003$ ).

In conclusione, gli autori dello studio hanno messo in evidenza come l'eterogeneità tumorale sia un fenomeno in grado di influenzare l'andamento clinico dei pazienti in trattamento con osimertinib; inoltre, i risultati suggeriscono come nei pazienti p.T790M positivi la resistenza ad osimertinib possa essere guidata da due differenti modalità. Difatti, in alcuni soggetti la mutazione p.T790M rappresenta il meccanismo di resistenza predominante e questi individui tendono ad avere una risposta più duratura al trattamento. Invece, in altri soggetti viene rilevata la perdita della mutazione di resistenza p.T790M durante il trattamento con osimertinib, che sembra essere associata ad una resistenza precoce e ad un'ulteriore gamma di meccanismi di resistenza. Questi dati forniscono evidenze cliniche dell'eterogeneità che caratterizza la resistenza nel tumore NSCLC e la necessità di nuove strategie molecolari che possano prevenire questa resistenza e nuove combinazioni terapeutiche che possano superare meccanismi di resistenza concomitanti.

**Parole chiave:** EGFR, eterogeneità tumorale, resistenza terapeutica, osimertinib, NSCLC

#### Riferimento bibliografico

[Oxnard GR](#) et al. *JAMA Oncol* 2018 Aug 2 [Epub ahead of print].

## ASSOCIAZIONE TRA RASH CUTANEI, RISPOSTA CLINICA E SNPS IN PAZIENTI CON TUMORI TESTA-COLLO IN TRATTAMENTO CON ZALUTUMUMAB: RISULTATI DEL TRIAL DAHANCA 19

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Negli ultimi anni, gli inibitori di EGFR hanno avuto un ruolo centrale nel trattamento di molti tumori solidi, tra i quali cancro coloretale, tumore al polmone e carcinoma squamoso di testa e collo (HNSCC). La principale manifestazione clinica ai trattamenti anti EGFR è la tossicità cutanea (pelle secca o acne), la cui comparsa è stata associata all'efficacia. Recentemente è stato riportato che nel HNSCC gli anticorpi monoclonali contro EGFR, tra i quali zalutumumab, aumentano il controllo del tumore e la sopravvivenza in combinazione con radiazioni o chemioterapia; tuttavia, come spesso accade, nei pazienti trattati si osserva una variabilità interindividuale che potrebbe essere dovuta a polimorfismi a singolo nucleotide (SNP).

In questo studio sono stati analizzati 9 SNPs correlati con il *signaling* di EGFR, con la tossicità cutanea o l'*outcome* clinico a zalutumumab (EGFR (rs2227983 e rs2293347), EGF (rs4444903), AREG (rs13104811, rs9996584, rs11942466), CCND1 (rs9344)) or ADCC (FCGR2A (rs1801274), FCGR3A (rs396991)). Allo scopo di valutare eventuali associazioni tra SNPs, risposta al trattamento e tossicità, la presente analisi ha coinvolto un totale di 294 pazienti arruolati nell'ambito del trial di fase III DAHANCA 19.

I dati di tossicità cutanea erano disponibili per 287 individui; di questi, 272 (95%) hanno manifestato eventi avversi (AE) e 85 (30%) AE severi (grado 3 o grado 4). La tossicità severa comparsa entro le prime tre settimane di trattamento è risultata positivamente associata con l'OS in un'analisi univariata (83%vs 65%, dopo 5 anni (HR: 0.40, 95% CI: 0.19–0.82), mentre il dato perdeva significatività in analisi multivariata. Per quanto riguarda il genotipo, l'analisi multivariata ha mostrato che l'allele minore di due polimorfismi (rs9996584 e rs13104811), localizzati vicino al gene AREG, era associato con un aumentato rischio di tossicità (rs9996584 OR= 1.61, 95% CI: 1.01-2.54, p=0.043; rs13104811 OR= 1.56, 95% CI: 1.00-2.44, p=0.05). Inoltre, benché il dato non raggiungesse la significatività, lo SNP rs11942466, ugualmente localizzato vicino al gene AREG, mostrava un trend di associazione con la tossicità cutanea (OR=0.70, 95% CI: 0.40–1.21, p=0.7). Per quanto riguarda l'associazione genotipo-*outcome* clinico, in analisi univariata, lo SNP rs11942466 è risultato associato significativamente con OS (HR= 1.44, 95% CI: 1.02-2.03); nell'analisi multivariata, lo stesso SNP, oltre a mantenere la correlazione significativa con OS (HR= 1.5, 95% CI: 1.062-2.11), mostrava un'associazione anche con la sopravvivenza malattia specifica (DSS) (HR: 1.56, 95% CI: 1.02–2.38), e con il tempo di fallimento loco-regionale (LRF) (HR: 1.44, 95% CI: 1.01–2.04).

I dati ottenuti mostrano come i pazienti che hanno avuto episodi di tossicità severa sono gli stessi che hanno risposto meglio al trattamento. Questo è in accordo con l'ipotesi che la tossicità sia proprio la diretta conseguenza del fatto che il farmaco stia esplicando la sua azione. Inoltre gli autori hanno identificato polimorfismi del gene AREG che sono significativamente associati con l'*outcome* clinico, sia in termini di tossicità che di risposta. Da sottolineare è il fatto che AREG codifica per il ligando di EGFR ed è quindi ipotizzabile che i polimorfismi qui studiati, siano implicati nel meccanismo stesso di trasduzione del segnale.

In conclusione, questo studio ha mostrato che la tossicità cutanea è associata con una sopravvivenza globale più lunga in pazienti affetti da carcinoma squamoso di testa e collo e trattati con zalutumumab.

**Parole chiave:** carcinoma squamoso di testa e collo (HNSCC), zalutumumab, AREG

### Riferimento bibliografico

[Brøndum L](#) et al. *Acta Oncol* 2018, 57(9):1159-64

## L'ALTA ESPRESSIONE DI MIR-133B È ASSOCIATA AD UNA MIGLIORE EFFICACIA DI ERLOTINIB COME SECONDA O TERZA LINEA NEI PAZIENTI CON CARCINOMA POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) è il secondo tumore più comune al mondo ed è di gran lunga la principale causa di morte per cancro tra uomini e donne. Gli studi sulla caratterizzazione molecolare del NSCLC hanno mostrato l'importante ruolo svolto da alcuni specifici geni, fra cui quelli codificanti i membri della famiglia delle proteine ErbB [HER-1 (EGFR), HER-2/neu (ErbB-2), HER-3 (ErbB-3) e HER-4 (ErbB-4)]. In particolare, il NSCLC è uno dei cancri epiteliali generalmente caratterizzati da elevati livelli di espressione di EGFR e dei suoi ligandi, spesso contrassegnati da mutazioni attivanti presenti sugli esoni 18, 19 e 21 di EGFR. Di conseguenza, gli inibitori delle tirosin-chinasi (TKI) che hanno come bersaglio EGFR (gefitinib, erlotinib e afatinib) sono stati considerati farmaci efficaci per il trattamento del NSCLC. Tuttavia, fino al 15% dei pazienti con NSCLC EGFR *wild-type* (WT) può effettivamente rispondere agli inibitori di EGFR. È stato dimostrato che, in pazienti in progressione della malattia durante o immediatamente dopo 4 cicli di chemioterapia di prima linea a base di platino, o in quelli *non responder* alla terapia classica, erlotinib, in seconda/terza linea alla dose di 150 mg al giorno, ha mostrato un miglioramento significativo della sopravvivenza e della qualità della vita.

Tuttavia, l'identificazione alla diagnosi di quali pazienti con EGFR WT abbiano maggiori probabilità di beneficiare degli EGFR-TKI è ancora un'esigenza clinica insoddisfatta. Per questo, sono stati studiati anche i profili di espressione dei miRNA, poiché le alterazioni dell'espressione di questi piccoli RNA non codificanti sono risultate associate a cambiamenti patologici delle cellule tumorali. In particolare, diversi studi hanno dimostrato che i miRNA possono aiutare a migliorare la classificazione del NSCLC e possono anche predire la prognosi e la recidiva della malattia in questo tumore.

Per i motivi elencati precedentemente, in questo studio è stato studiato il potenziale di quattro miRNA il cui target è EGFR, per predire la risposta alla terapia di seconda e terza linea con erlotinib in pazienti con NSCLC, basandosi sul loro livello di espressione alla diagnosi nei campioni tumorali. Inoltre gli autori si sono focalizzati sul miR-133b, il miRNA risultato più promettente, esplorando il possibile ruolo che potrebbe svolgere nella sensibilità a erlotinib in linee cellulari di cancro al polmone.

In questo studio sono stati inclusi 32 pazienti con adenocarcinoma polmonare in stadio avanzato che hanno ricevuto erlotinib come terapia di seconda o terza linea da gennaio 2009 a dicembre 2014. Inoltre, sono state utilizzate due linee cellulari di NSCLC con EGFR WT, resistenti al trattamento con erlotinib: le H1299, con KRAS WT, e le A549 con KRAS mutato. È stato estratto l'RNA dai tessuti per analizzare l'espressione dei miRNA tramite assay. Nelle cellule, invece, è stato trasfettato il mimico del miR-133b -con un oligonucleotide di controllo- e poi sono state trattate con erlotinib per determinare le variazioni di vitalità, crescita cellulare ed espressione di proteine quali EGFR, pERK, ERK totale e GAPDH come controllo endogeno.

La sopravvivenza globale (OS) della coorte di pazienti è di 2.93 anni mentre la sopravvivenza libera da progressione (PFS) è di 0.29 anni. Le mutazioni di EGFR sono state valutate con successo in tutti i pazienti tranne uno: 26 pazienti (81,2%) hanno EGFR WT mentre 5 pazienti (15,7%) hanno EGFR mutato. I pazienti con stabilizzazione della malattia in seguito al trattamento con erlotinib per almeno 6 mesi sono stati considerati *responder*. Secondo questa classificazione, 8 pazienti (25%) sono risultati *responder* e 24 pazienti (75%) non hanno risposto. La PSF dei *responder* si è dimostrata più lunga rispetto ai pazienti *non responder*. Sono stati selezionati quattro miRNA, coinvolti nella regolazione dell'espressione di EGFR e con il fold maggiore: i miR-7, -21, -133b e -146. I livelli di espressione del miR-7 nei soggetti *responder* erano significativamente inferiori rispetto ai pazienti *non responder*, mentre quelli del miR-21 erano simili tra le due coorti. Al contrario, i livelli di espressione dei miR-133b e miR-146a erano significativamente più alti nei pazienti *responder* rispetto ai pazienti *non responder*. Secondo l'analisi della curva ROC, è emerso che i pazienti che hanno risposto efficacemente a erlotinib hanno un livello di miR-133b superiore agli altri, e, infatti, il miR-133b ha mostrato la più alta espressione differenziale tra *responder* e *non responder* e ha raggiunto i valori più significativi tra i miRNA analizzati (ed è stato scelto quindi per ulteriori indagini).

La stratificazione dei pazienti basata sul livello di espressione di miR-133b in campioni di NSCLC ha rivelato che i pazienti con maggiore espressione di questo miRNA hanno una PFS media più lunga, analizzata mediante curva di Kaplan-Meier.

In seguito alla trasfezione del miRNA in due linee cellulari (A549 e H1299), gli autori del *paper* hanno osservato che l'aumento dell'espressione del miR-133b non ha influenzato la sensibilità a erlotinib. Per gli esperimenti successivi è stata utilizzata una dose clinicamente rilevante di erlotinib (2  $\mu$ M), paragonabile a quella riscontrata nel plasma dei pazienti dopo somministrazione di erlotinib. La trasfezione del mimic ha diminuito significativamente la crescita cellulare in entrambe le linee cellulari, e il trattamento combinato del miR-133b mimic e di erlotinib ha ridotto la crescita cellulare allo stesso modo del mimic da solo in entrambe le linee cellulari. In particolare, gli effetti sulla crescita cellulare sono stati rilevati solo dopo 72 ore di trattamento. L'espressione dell'EGFR di superficie è stata trovata aumentata nella linea cellulare A549 dopo 72 ore dalla trasfezione con mimic mentre è rimasta inalterata nella linea cellulare H1299. Al contrario, l'espressione di EGFR totale è risultata diminuita nella linea cellulare A549 dopo 72 ore dalla trasfezione, mentre era aumentata nelle H1299. Nessuna variazione è stata trovata nei livelli di ERK totale e ERK fosforilato nella linea cellulare A549, mentre la fosforilazione di ERK è risultata diminuita nelle H1299.

I dati presentati in questo studio e quelli presenti in letteratura supportano la stessa teoria che attribuisce un ruolo di onco-soppressore del miR-133b nel NSCLC, infatti, i livelli di espressione del miR-133b nel tessuto NSCLC sono stati trovati significativamente inferiori rispetto al tessuto non neoplastico. Inoltre, è stato osservato che il miR-133b sia coinvolto nella riduzione della crescita, della sopravvivenza, della migrazione e dell'invasione delle cellule NSCLC. Per questo motivo, sta emergendo l'idea di considerare l'alta espressione di miR-133b nel NSCLC come un fattore prognostico. Dai risultati emersi da questo studio, è possibile osservare che i pazienti nella coorte con maggiore espressione di miR-133b hanno avuto una PFS migliore, mentre non sono state riscontrate differenze nella sopravvivenza globale.

La principale limitazione di questo studio è rappresentata dal ridotto numero di pazienti formanti la coorte, mentre un possibile punto di forza è costituito dal potenziale traslazionale. Infatti, solo altri tre studi hanno studiato l'espressione dei miRNA in relazione alla risposta agli inibitori tirosin-chinasici rivolti contro EGFR e solo uno di questi era su pazienti con NSCLC con EGFR WT. Determinare i livelli di espressione del miR-133b nei tumori potrebbe aiutare ad identificare i pazienti affetti da NSCLC che potrebbero trarre beneficio dalla terapia di seconda e terza linea con erlotinib. Inoltre, approcci di terapia genica volti ad aumentare i livelli di miR-133b nei tumori potrebbero essere promettenti per inibire la crescita delle cellule tumorali polmonari. Sono necessari studi in modelli preclinici per dimostrare il potenziale terapeutico del mimico di miR-133b e sono necessari ulteriori studi su più grandi coorti di pazienti per validare il valore predittivo di miR-133b riguardante la risposta a erlotinib.

In conclusione, dai risultati di questo studio si evince che livelli più elevati di miR-133b nei pazienti con NSCLC sono associati ad un aumentato tempo di sopravvivenza senza progressione. La determinazione dei livelli di espressione di miR-133b a priori nei tumori aiuta a identificare i pazienti con NSCLC con una prognosi migliore e chi beneficeranno maggiormente dalla terapia di seconda e terza linea con erlotinib

**Parole chiave:** NSCLC, miR-133b, erlotinib, EGFR-TKI

#### Riferimento bibliografico

[Bisagni A](#) et al. *PLoS One* 2018, 13(4):e0196350

**NEUROLOGIA****LA VARIANTE FUNZIONALE RS334558 DEL GENE GSK3B È ASSOCIATA ALLA REMISSIONE NEI PAZIENTI CON DISORDINI DEPRESSIVI**

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

I disturbi depressivi rappresentano la terza causa di disabilità al mondo. I fattori genetici contribuiscono al fenotipo, che si manifesta con numerosi tipi e sottotipi di malattia. Tuttavia, l'ereditarietà del disturbo depressivo maggiore (MDD) è solo del 30-40% suggerendo che altri fattori (ad es. ambientali, epigenetici, ecc) giocano verosimilmente un ruolo importante nell'eziologia della depressione. Uno dei geni candidati usati negli studi farmacogenetici in psichiatria è l'AKT1, un gene implicato nella patogenesi dei disturbi psichiatrici e nella risposta ai farmaci, attraverso il *pathway* di AKT/GSK3. Nel presente studio sono stati investigati i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) rs1130214 e rs3730358 di questo gene, a causa dell'associazione dell'aplotipo TC a bassi livelli di proteina di AKT1, che suggerisce un'alterata espressione o processamento dell'mRNA. Inoltre, lo SNP rs3730358 sembra essere associato alla depressione ad inizio tardivo. Un altro gene candidato è il GSK3B, uno dei maggiori regolatori di *pathways* multipli molecolari, inclusi i *pathways* WNT e AKT/GSK3. Il gene GSK3B è direttamente o indirettamente inibito dagli antipsicotici, dal litio e dagli antidepressivi. La variante rs334558, trovata nel promotore del GSK3B, è nota per essere funzionale, poiché determina il livello di espressione del GSK3B, probabilmente regolando il fattore di trascrizione che si lega al promotore. In particolare, l'allele T è associato ad una maggiore resistenza trascrizionale rispetto all'allele C. Nel presente studio, gli Autori hanno investigato l'associazione dello SNP funzionale rs334558 alla remissione dopo trattamento farmacologico antidepressivo. Gli altri SNPs e fenotipi non hanno mostrato alcuna associazione significativa.

Sono stati reclutati 222 pazienti e 127 soggetti sani di controllo, tutti di ascendenza Europea. I pazienti sono stati diagnosticati in base ai criteri diagnostici dell'International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision (ICD-10) come segue: episodio depressivo 44,4%, disturbo depressivo ricorrente 34,4%, disturbo bipolare 15,3%, e distimia 2,9%. Dati demografici: età 18-70 anni, età media di 49,93 ±10,76; 177 femmine e 45 maschi; grado d'istruzione (università 43,8%, professionale 44,4%, scuola superiore 11,8%); stato occupazionale (occupati 68,4%, disoccupati o pensionati 31,6%); stato civile (coniugati 53,2%, vedovi 19,3%, divorziati 17%, single 10,5%).

A tutti i pazienti è stata somministrata, per non meno di 28 giorni, una terapia con antidepressivi alle dosi medie terapeutiche raccomandate; SSRI (escitalopram, fluoxetina, paroxetina, fluvoxamina, sertralina, citalopram) al 57,9% dei pazienti, triciclici (clomipramina, pipofezina) al 20,0%, inibitori della ricaptazione della serotonina-noradrenalina (duloxetina, venlafaxina) al 7,1%, antidepressivi specifici noradrenergici e serotonergici (mirtazapina, mianserina) al 2,7% e agomelatina al 12,3% dei pazienti. La remissione dei sintomi è stata definita tramite il punteggio della Hamilton Depression Rating scale a 17 items (HDRS-17) al 28° giorno (punteggio ≤7).

Gli SNPs rs334558 del gene GSK3B e rs1130214 e rs3730358 del gene AKT1 sono stati genotipizzati tramite PCR usando tecnologia con fluorogenico 5'-exonucleasi TaqMan e real-time PCR system "StepOne-Plus" (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Nessuno degli SNP testati è risultato associato alla depressione quando genotipi e alleli sono stati confrontati tra pazienti e controlli. L'associazione è risultata significativa solo per lo SNP rs334558, costituito dagli alleli T e C, quando il gruppo dei *remitters* è stato confrontato ai *non-remitters*, per le classi farmacologiche considerate nel loro insieme. L'allele T era associato alla remissione dopo i 28 giorni di trattamento. In particolare, genotipi ed alleli erano differenti tra i *remitters* e i *non-remitters*,  $p = 0.049$  e  $p = 0.015$ , rispettivamente (odds ratio [OR] genotipo T/T = 2,49, 95% CI: 0,98-6,30; OR allele T = 2,19, 95% [CI]: 1,01-4,75).

E' stata inoltre studiata separatamente l'eventuale associazione per il gruppo in terapia con SSRI, la classe di farmaci più utilizzata nel gruppo dei pazienti. Il confronto tra *remitters* e *non-remitters* ha dato risultati significativi,  $p=0,039$ , solo quando sono stati confrontati gli alleli, ma non i genotipi (OR genotipo T/T =3,05, 95% CI: 0,83-11,22; OR allele T =2,37, 95% CI: 0,82-6,86). Analogamente all'analisi effettuata per le classi di farmaci prese nel loro insieme, anche per il gruppo SSRI la remissione è risultata associata all'allele T.

Per quanto riguarda lo SNP rs334558, gli studi della letteratura offrono risultati contrastanti: alcuni riportano un'associazione tra fenotipi neurologici e psichiatrici (quali la malattia di Parkinson e di Alzheimer, disturbi bipolari, schizofrenia, resistenza alla terapia in caso di MDD e disturbo bipolare) e l'allele attivante T, mentre altri studi identificano l'allele C come potenzialmente patogenico nella malattia di Alzheimer e nella sclerosi multipla. Il presente studio mostra l'associazione della remissione, a seguito di terapia antidepressiva farmacologica, con l'allele T di rs334558; tuttavia, uno studio precedente ha riportato questo allele associato alla resistenza agli antidepressivi e altri studi riportano l'associazione di questo allele con la scarsa risposta al litio. La depressione resistente al trattamento è un fenomeno complesso e non completamente chiarito, con molteplici fattori molecolari che probabilmente contribuiscono al suo sviluppo. Differenti meccanismi genetici ed epigenetici potrebbero modulare l'influenza di rs334558 sulla risposta ai farmaci. In particolare, il differente pattern genetico nelle popolazioni potrebbe spiegare il cambio di direzione dell'associazione sopra menzionata, dipendendo sostanzialmente dal tipo di popolazione esaminata. Infatti, la frequenza dell'allele di questa variante funzionale cambia in misura considerevole in differenti popolazioni: la frequenza dell'allele T va dal 67,1% nelle popolazioni di ascendenza Europea al 5,9% nelle popolazioni di ascendenza Africana. E' quindi possibile che nel gruppo di pazienti considerato nel presente studio, il differente risultato in presenza dell'allele T, cioè la remissione dopo il trattamento farmacologico, sia dovuto ad un differente background genetico e/o epigenetico.

L'allele T del polimorfismo funzionale rs334558 del gene GSK3B è associato alla remissione della sintomatologia nei pazienti affetti da depressione a seguito di terapia farmacologica. (L'associazione si mantiene anche considerando solo i pazienti in terapia con SSRI).

**Parole chiave:** disordini depressivi, studio di associazione, AKT1, GSK3B, biomarker genetico

#### Riferimento bibliografico

[Levchenko A](#) et al. *Pharmgenomics Pers Med* 2018, 11:121-6

---

## FARMACORESISTENZA IN BAMBINI E ADOLESCENTI CON GRAVI DISTURBI PSICHIATRICI: ANOMALIE FUNZIONALI DEL CITOCROMO P450 2D6

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

I disturbi psichiatrici gravi nei bambini e negli adolescenti rappresentano un serio problema di salute pubblica. Alcuni pazienti sviluppano farmacoresistenza e l'assenza di risposta al trattamento farmacologico comporta inevitabilmente un aumento del rischio di reazioni avverse e di ospedalizzazione prolungata. Per questo motivo è cruciale la personalizzazione della terapia con farmaci psicotropi, al fine di migliorare l'aderenza al trattamento e la prognosi a lungo termine. Una delle azioni che è possibile intraprendere per personalizzare il trattamento con alcuni farmaci antipsicotici è eseguire un'analisi farmacogenetica del CYP2D6. Sebbene tale isoforma enzimatica rappresenti solo il 2% di tutti gli enzimi della superfamiglia CYP450, essa è coinvolta nel metabolismo di circa il 20% dei farmaci, compresi i farmaci psicotropi. Molti studi hanno dimostrato che alcuni polimorfismi del gene CYP2D6 sono associati ai fenotipi di metabolizzatore lento (PM) e ultrarapido (UM). La diminuzione o assenza di funzione del CYP2D6 nei PM e l'aumento di funzione negli UM può causare farmacoresistenza e eventi avversi anche gravi sia nei bambini sia negli adolescenti (Butwick A et al. *Eur J Pediatr* 2014,173:1639–42; Gassó P et al. *Pharmacogenomics J*

2014,14:457-62). La frequenza del fenotipo PM è circa il 3-10% e del fenotipo UM di circa l'1% nella popolazione Caucasica (Hicks JK et al. *Clin Pharmacol Ther* 2015,98:127–34).

Questo studio descrive i casi clinici di 9 pazienti (quattro femmine e cinque maschi con un'età media di 14 anni) ricoverati presso il Reparto di Neuropsichiatria Infantile dell'Ospedale di Nizza (Francia). Cinque pazienti presentavano schizofrenia a esordio infantile, uno aveva anche una diagnosi di disturbo dello spettro autistico. Un paziente era affetto da un disturbo dello spettro autistico con comportamento aggressivo e un altro un disturbo post-traumatico da stress con personalità borderline; due presentavano disabilità intellettiva associata ad un grave disturbo comportamentale (marcata aggressività). Tutti i pazienti avevano una storia di fallimento terapeutico e sono stati classificati come farmacoresistenti sulla base delle linee guida dell'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) che definiscono la farmacoresistenza come mancanza di un miglioramento soddisfacente nonostante l'uso di dosi adeguate di almeno due agenti antipsicotici/antidepressivi diversi, prescritti per una durata adeguata con una verificata aderenza al trattamento (EMA/CHMP/40072/2010; EMA/CHMP/185423/2010). Nei casi clinici descritti in questo studio la farmacoresistenza è stata rilevata dopo somministrazione di terapia con 3-9 farmaci psicotropi che comprendevano 3-7 antipsicotici di cui 2-5 molecole metabolizzate dal CYP2D6 e 1-3 inibitori del CYP2D6.

Una volta ottenuto il consenso informato, i pazienti sono stati genotipizzati per l'identificazione delle varianti di perdita di funzione (CYP2D6-\*3, rs35742686; -\*4, rs3892097; -\*6, rs5030655; -\*41, rs28371725) mediante saggio di discriminazione allelica TaqMan e della delezione CYP2D6-\*5 e la ripetizione CYP2D6\*2xN tramite PCR quantitativa secondo i metodi di Ref (Steen VM et al. *Pharmacogenetics* 1995,5(4):215-23). Sulla base dello screening effettuato, cinque pazienti su nove (55,6%) presentavano una disfunzione del CYP2D6. La duplicazione genica associata al fenotipo di UM è stata trovata in 3/9 pazienti e 2 di questi pazienti (2/3) hanno manifestato reazioni avverse di grado severo, come epatotossicità e aumento di peso. Due soggetti sono stati classificati come PM in quanto portatori del genotipo CYP2D6-\*4/\*41 e \*3/\*4. Uno di questi pazienti (con genotipo CYP2D6-\*4/\*41) ha sviluppato reazioni avverse gravi come sindrome extrapiramidale, galattorea, aumento di peso e costipazione.

In letteratura la resistenza al trattamento è stata correlata al fenotipo UM e l'insorgenza di eventi avversi al PM (McGrane IR & Loveland JG *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2016,26:395–9), ma da questo studio è emerso che reazioni avverse di grado severo si sono manifestate sia nei PM sia negli UM. A causa delle ridotte dimensioni del campione, dei regimi politerapici e della complessità dei disturbi psichiatrici infantili è difficile trarre conclusioni chiare da questo studio.

Inoltre, vanno presi in considerazione diversi fattori di confondimento. Oltre a essere substrato del CYP2D6, antipsicotici (es. risperidone) e antidepressivi (es. fluoxetina) sono inibitori della stessa isoforma enzimatica o di altri CYP. La farmacocinetica e la farmacodinamica dei farmaci psicotropi non sono state del tutto chiarite e altri enzimi (CYP1A2, 3A4/5, 2C9, 2C19) così come proteine trasportatrici e recettori potrebbero influenzare la risposta terapeutica. I livelli di espressione dei CYP si modificano con l'età e quindi il contributo relativo delle disfunzioni enzimatiche può essere molto diverso nei bambini e negli adulti. Molto importante è anche considerare le interazioni farmacologiche che potrebbero essere correlate alla farmacoresistenza e/o agli effetti collaterali (Zanger UM & Schwab M *Pharmacol Ther* 2013,138:103–41). Tuttavia, è stato dimostrato che i portatori dei fenotipi UM e PM del CYP2D6 subiscono un aumento della durata dell'ospedalizzazione rispetto ai pazienti *wild type* con metabolismo normale (Chou WH et al. *J Clin Psychopharmacol* 2000,20:246–51). Nella pratica clinica, i pazienti UM farmacoresistenti potrebbero trarre beneficio dall'aumento del dosaggio di farmaci psicotropi metabolizzati dal CYP2D6. Nel caso di reazioni avverse o di farmacoresistenza correlate al fenotipo di PM, le opzioni di trattamento dovrebbero considerare farmaci psicotropi non metabolizzati dal CYP2D6, ad esempio l'olanzapina e la clozapina che sono metabolizzate dal CYP1A2 (Spina E & de Leon J *J Neural Transm (Vienna)* 2015,122:5–28).

L'analisi farmacogenetica del CYP2D6 deve essere presa in considerazione per il trattamento di bambini e adolescenti con gravi disturbi psichiatrici che si rivelano essere farmacoresistenti. L'introduzione di tali analisi potrebbe contribuire a migliorare il profilo di efficacia e/o sicurezza di molti farmaci psicotropi.

**Parole chiave:** neuropsichiatria infantile, farmacoresistenza, CYP2D6

### Riferimento bibliografico

[Thümmler S](#) et al. *Front Psychiatry* 2018, 9:2

## STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA VARIANTI DEL GENE DISRUPTED-IN-SCHIZOPHRENIA 1 E LA DISCINESIA TARDIVA

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La discinesia tardiva è un disturbo del movimento che interessa fino al 20% dei pazienti trattati cronicamente con antipsicotici. I sintomi della discinesia tardiva comprendono movimenti ipercinetici involontari a livello della bocca, della lingua e delle mani. La discinesia tardiva riduce la *compliance* al trattamento e peggiora la qualità della vita dei pazienti. La patofisiologia non è perfettamente chiara, sebbene la causa sottostante sembri essere il blocco a lungo termine dei recettori dopaminergici D2. Gli antipsicotici di seconda generazione sembrano essere associati ad un minore rischio di sviluppare discinesia tardiva ed è stato ipotizzato che la causa sottostante possa essere una più rapida dissociazione dai recettori D2. Inoltre, è stato ipotizzato che nello sviluppo della discinesia tardiva possano giocare un ruolo l'ipersensibilità dei recettori D2 e un danno ai neuroni GABA-ergici, mentre i recettori 5-HT2 potrebbero esercitare un ruolo protettivo modulando l'attività motoria tramite interazioni con i recettori dopaminergici. L'ipotesi che nello sviluppo della discinesia tardiva entrino in gioco fenomeni di neurodegenerazione è supportata dalla natura generalmente irreversibile di questo disturbo, sebbene il trattamento con clozapina possa essere in grado di migliorare i sintomi. Inoltre, sulla base dell'osservazione della familiarità della discinesia tardiva, è stato ipotizzato che nel suo sviluppo possano giocare un ruolo anche fattori genetici. Tra i possibili geni candidati, diversi studi hanno analizzato il ruolo di geni che codificano per recettori ed enzimi quali *DRD3*, *DRD2*, *HTR2A*, *SOD2*, *COMT* e *CYP2D6*. È stato suggerito che varianti a livello del gene *Disrupted in Schizophrenia 1 (DISC1)*, che codifica per una proteina *scaffold* che interagisce con molte altre proteine coinvolte nel neurosviluppo, possano giocare un ruolo nella predisposizione allo sviluppo della schizofrenia. *DISC1* interagisce direttamente con il recettore dopaminergico D2. Sulla base di queste evidenze, gli autori dello studio hanno ipotizzato che varianti a livello del gene *DISC1* possano giocare un ruolo nel rischio di sviluppare discinesia tardiva, inducendo alterazioni della trasmissione dopaminergica.

Lo studio ha incluso 193 pazienti affetti da schizofrenia o disturbo schizoaffettivo in accordo con i criteri del DSM-III-R o DSM-IV, reclutati presso: Centre for Addition and Mental Health di Toronto (n = 112); Case Western Reserve University di Cleveland (n = 68); Hillside Hospital di Glen Oaks (n = 48); e University of California di Irvine (n = 12). I criteri di esclusione comprendevano: diabete di tipo II e storia clinica positiva per trauma cranico con perdita di coscienza o epilessia. La diagnosi di discinesia tardiva è stata effettuata in accordo con i criteri di Schooler e Kane, utilizzando la *Abnormal Involuntary Movement Scale (AIMS)* o la *Hillside Simpson Dyskinesia Scale*. Lo studio ha previsto la genotipizzazione su DNA genomico mediante metodo TaqMan di 9 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) localizzati nel gene *DISC1* e precedentemente associati a patologie psichiatriche (rs2492367, rs3738398, rs1322784, rs11122359, rs821597 e rs701158) o SNP esonici non sinonimi (rs3738401, rs667528 e rs821616). Inoltre, allo scopo di valutare le possibili interazioni tra SNP a livello del gene *DISC1* e a livello dei geni *DRD2* o *SLC18A2*, sono stati genotipizzati gli SNP funzionali rs363224 (*SLC18A1*), rs6277 e rs1800497 (*DRD2*), precedentemente associati con la discinesia tardiva. L'associazione degli SNP con la diagnosi di discinesia tardiva è stata analizzata utilizzando il test di Fisher, mentre l'associazione con gli *score* AIMS valutati come tratto quantitativo è stata analizzata utilizzando il test ANOVA. Inoltre, è stata effettuata un'analisi di regressione logistica inserendo la discinesia tardiva come *outcome*, i genotipi come predittori e l'età e il sesso come covariate. Inoltre, è stato esplorato il ruolo delle potenziali SNP-SNP *interaction* tra gli SNP del gene *DISC1* e quelli dei geni *SLC18A2* e *DRD2*

tramite un modello ANCOVA a due vie. La correzione per test multipli è stata effettuata secondo un modello di Bonferroni modificato (tenendo conto della correlazione tra coppie di SNP).

L'analisi di *gene-gene interaction* ha mostrato un'interazione tra lo SNP rs363224 (*SLC18A2*) e lo SNP rs11122359 (*DISC1*) nel modulare la severità della discinesia tardiva ( $p = 0,002$ ). Nello specifico, i pazienti *carrier* di almeno una copia dell'allele G per lo SNP rs11122359 e *carrier* del genotipo CC per lo SNP rs363224 hanno mostrato *score* AIMS più alti rispetto ai *carrier* dell'allele A ( $N = 21; 9,00 \pm 7,64$  vs  $N=100; 6,03 \pm 7,30$ ). Al contrario, tra i *carrier* del genotipo AA per lo SNP rs11122359, i *carrier* CC dello SNP *SLC18A2* hanno mostrato *score* più bassi rispetto ai *carrier* dell'allele A ( $N = 3; 0,00 \pm 0,00$  vs  $N=15; 7,747 \pm 8,57$ ). Tuttavia, singolarmente, nessuno SNP del gene *DISC1* è risultato associato con l'occorrenza di discinesia tardiva o con la sua severità.

Tra i limiti dello studio vi sono la dimensione del campione limitata, la scelta di genotipizzare soltanto 9 SNP del gene *DISC1* (rappresentativi del 38% delle varianti comuni identificate a livello di questo gene) e la mancanza di informazioni dettagliate in merito alla durata di trattamento dei pazienti con antipsicotici.

In conclusione, lo studio non supporta l'ipotesi che singole varianti a livello del gene *DISC1* possano giocare un ruolo nello sviluppo della discinesia tardiva in pazienti trattati con antipsicotici.

**Parole chiave:** antipsicotici, discinesia tardiva, *DISC1*

#### Riferimento bibliografico

[Lu JY et al. Neurosci Lett 2018, 686:17-22](#)

## PNEUMOLOGIA

### ASSOCIAZIONE TRA IL GENE *SLC26A9* E LA RISPOSTA AD IVACAFTOR NELLA FIBROSI CISTICA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La fibrosi cistica (FC) è una patologia genetica grave autosomica recessiva, causata da mutazioni del gene *CFTR* che codifica per il canale del cloruro espresso nelle cellule epiteliali di tutto il corpo. In passato il trattamento era solo sintomatico, tuttavia negli ultimi anni sono state sviluppate terapie mirate a regolare la funzione del canale mutato, come l'ivacaftor. Il gene *SLC26A9* è stato recentemente associato con la modulazione della risposta respiratoria alle terapie mirate al *CFTR*. In particolare, nei pazienti portatori della mutazione *CFTR-G551D* il polimorfismo rs7512462 di *SLC26A9* è stato associato con la variabilità nella risposta ad ivacaftor (Strug LJ *et al. Hum Mol Genet* 2016,25:4590–600).

Scopo di questo studio è stato quello di valutare se le varianti del gene *SLC26A9* contribuiscano alla variabilità del fenotipo dei pazienti affetti da FC e influenzino la risposta al trattamento.

Lo studio è stato condotto sui 4.840 pazienti arruolati nel *French CF Modifier Gene Study* tra il 2004 ed il 2017 in 38 centri per la cura della FC in Francia (*Vaincre la Mucoviscidose and Ined 2017*). Sono stati presi in considerazione solo i portatori di mutazioni severe del *CFTR*, escludendo i pazienti con funzione pancreatica nella norma. Di questi, 119 erano portatori di una mutazione per cui il trattamento con ivacaftor è approvato in Europa (*G551D, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N e S549R*), ed il farmaco era prescritto in 81. Per valutare l'influenza del polimorfismo sulla risposta respiratoria ad ivacaftor, sono stati inclusi 30 pazienti di età superiore a 6 anni con valore di FEV<sub>1</sub> percentuale del predetto (FEV<sub>1pp</sub>) tra 40 e 90% misurato nei 3 mesi precedenti l'inizio del trattamento. La risposta è stata valutata misurando la variazione del FEV<sub>1pp</sub> dopo una media di 15-75 giorni dall'inizio del trattamento (risposta

precoce) e dopo un anno (risposta a lungo termine). In assenza del trattamento, l'effetto del polimorfismo rs7512462 sulla funzione respiratoria non è risultato statisticamente significativo. I pazienti hanno mostrato un miglioramento del FEV<sub>1pp</sub> sia precoce che a lungo termine. Nei pazienti portatori di almeno un allele G551D e dell'allele C del polimorfismo rs7512462, la risposta al trattamento era inferiore sia a breve che a lungo termine ( $p=0.0007$  e  $0.006$ ). Inoltre, altre varianti hanno mostrato un'associazione simile, in particolare gli SNP rs4077468 e rs4077469.

In questo studio è stata valutata l'associazione tra la risposta ad ivacaftor misurata tramite la modulazione della funzione polmonare e la presenza delle varianti del gene *SLC26A9*, in pazienti con FC. In particolare, la presenza dell'allele C dello SNP rs7512462 insieme alla mutazione G551D del *CFTR* è stato associato con una riduzione di FEV<sub>1pp</sub>, al contrario di quanto rilevato nel lavoro di Strug et al (Strug LJ et al. *Hum Mol Genet* 2016,25:4590–600). Questa differenza può essere spiegata dalla diversa origine etnica delle popolazioni arruolate nei due studi, alla base di una possibile variabilità nella risposta farmacogenetica al farmaco. Nei due studi, comunque, le percentuali di variabilità giustificate dalla presenza del rs7512462 e del G551D erano simili (28% nel lavoro di Strug et al 2016 e 22% nel lavoro qui riportato).

*SLC26A9* è coinvolto nel trasporto del cloruro, ed è stato dimostrato interagire con *CFTR* con conseguenze non note (Loriol C et al. *Cell Physiol Biochem* 2008,22:15–30; Bertrand CA et al. *J Gen Physiol* 2009,133:421–38). I meccanismi per cui la presenza delle varianti *SLC26A9* determina una diversa risposta al trattamento non sono noti, ma è probabile che abbiano un impatto sull'interazione con il *CFTR* con mutazione *G551D*.

In conclusione, questo studio mostra come la variabilità nella risposta polmonare all'ivacaftor può essere legata alla presenza di varianti del gene *SLC26A9*. Sono necessari ulteriori studi per confermare questi dati e per comprenderne i meccanismi alla base.

Limiti dello studio sono rappresentati dal ridotto numero di pazienti dovuto in particolare alla rarità delle mutazioni target del *CFTR* ed alla mancanza di dati al basale in molti pazienti eleggibili.

**Parole chiave:** fibrosi cistica, *SLC26A9*, ivacaftor

#### Riferimento bibliografico

[Corvol H](#) et al. *Front Pharmacol* 2018, 9:828

## IMMUNOLOGIA

### INFLUENZA DELLE VARIANTI GENETICHE NEL GENE *NKG2D* NELLA RISPOSTA AGLI AGENTI ANTI-TNF IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE

A cura delle Dott.sse Debora Curci e Raffaella Franca

L'introduzione nella pratica clinica dei farmaci biologici anti-TNF $\alpha$ , ha determinato un miglioramento nel trattamento dell'artrite reumatoide (AR). Un ruolo importante nella patogenesi dell'AR è svolto dalle cellule T e dalle Natural Killer (NK). Un *signalling* alterato da parte di recettori presenti sulle superfici di queste linee cellulari può portare a funzioni alterate e contribuire al decorso della patologia. Tra una vasta gamma di recettori, un ruolo importante nel bilanciamento delle risposte effettrici, T e NK mediate, è esercitato dal recettore D presente sulla superficie delle cellule NK (*NKG2D*).

Alterazioni nella via di segnalazione di *NKG2D* possono innescare una risposta immunitaria esacerbata e promuovere reazioni autoimmuni. L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare il ruolo di varianti

geniche a carico del gene *NKG2D* come possibili *markers* di risposta nel trattamento con farmaci anti-TNF $\alpha$  (7% infliximab, 33% adalimumab, 54% etanercept e 6% certolizumab pegol) in pazienti affetti da AR.

Lo studio è stato condotto su 280 pazienti adulti (età media =  $51.6 \pm 12.3$ ) affetti da AR in trattamento con farmaci biologici anti-TNF $\alpha$ . L'attività della malattia è stata valutata utilizzando il punteggio DAS28 basato su quattro componenti: il numero di articolazioni gonfie, i livelli di Proteina C reattiva (CRP) e della velocità di sedimentazione eritrocitaria (ESR) e la valutazione della salute generale espressa sulla scala analogica visiva (VAS). L'attività della malattia è stata interpretata come bassa (DAS28 < 3.2), moderata (3.2 < DAS28 < 5.1) o alta (DAS28 > 5.1) mentre la risposta clinica è stata valutata, alla 12° e 24° settimana, in base ai criteri della European League against Rheumatism (EULAR).

La scelta delle varianti geniche all'interno del gene *NKG2D* si è basata sulle evidenze già presenti in letteratura. In particolare sono state analizzate le seguenti varianti nel gene *NKG2D*: rs1049174 (C > G): a livello del 3'UTR; rs2255336 (A > G) a livello dell'esone 4 e rs1154831 (C > A) a livello intronico.

Il DNA genomico è stato isolato da sangue periferico attraverso l'utilizzo di un kit commerciale (Maxwell 16 Blood DNA Purification Kit; Promega Corp., Madison, WI, USA). La genotipizzazione è stata eseguita successivamente mediante metodica Taqman. È stata osservata un'associazione statisticamente significativa tra lo SNP rs1049174 e la risposta a 12 settimane di trattamento con agenti anti-TNF. L'allele C è stato associato ad una mancata risposta clinica (odds ratio (OR) = 2.39, intervallo di confidenza (CI) = 1.07-6.05,  $p = 0,031$ ). Una risposta buona/moderata è stata osservata più frequentemente nei pazienti portatori del genotipo eterozigote (CG) rispetto ai pazienti con genotipi omozigoti (OR = 4.76, CI = 1.54-20.00,  $p = 0.002$ ).

Anche lo SNP rs2255336 è risultato essere associato in maniera significativa con l'esito clinico alla 12a settimana di terapia. Una mancanza di risposta è stata osservata più frequentemente tra i pazienti portatori del genotipo GG rispetto ai pazienti con genotipo AA o AG (OR = 6.88, CI = 1.62-61.80, valore  $p = 0.003$ ).

Non ci sono state invece differenze significative tra il polimorfismo rs1154831 e la risposta al trattamento con inibitori del TNF.

In totale, sono stati identificati sette aplotipi, ma solo i quattro più frequenti (CGC, GAC, CGA, GGC) che rappresentavano il 96,9% delle osservazioni totali (48%, 17%, 16.3% e 15.6%, rispettivamente) sono stati presi in considerazione per ulteriori analisi. È stata osservata un'associazione significativa tra il GAC e l'esito clinico alla 12a settimana di trattamento con anti-TNF: una frequenza ridotta è stata evidenziata tra i pazienti non-responder (OR = 0.08, CI = 0.00-0.52, valore  $p = 0.001$ ). La presenza dell'aplotipo GGC correlava invece con un migliore risposta a 12 settimane (OR = 3.54, CI = 1.28-11.33, valore  $p = 0.008$ ). Nessuna associazione è stata rilevata tra gli SNP nel gene *NKG2D* e la risposta agli anti-TNF a 24 settimane.

Possiamo concludere affermando che entrambi i polimorfismi rs225336 e rs1049174 sono risultati essere significativamente associati con una miglior risposta agli anti-TNF. Pazienti *non responder* presentano più frequentemente un genotipo rs2255336 GG o rs1049174 CC ( $p$  value = 0.003;  $p$  value = 0.004 rispettivamente). Inoltre, i pazienti portatori del genotipo eterozigote rs2255336 o rs1049174 hanno ottenuto migliori risposte cliniche a 12 settimane rispetto ai pazienti con genotipi omozigoti ( $p$  value = 0.010 e  $p$  value = 0.002, rispettivamente). I risultati ottenuti indicano un ruolo di *NKG2D* nella risposta agli anti-TNF nei pazienti con AR.

**Parole chiave:** *NKG2D*, polimorfismo, farmaci anti-TNF, artrite reumatoide (AR)

#### Riferimento bibliografico

[Iwaszko M](#) et al. *Genes* 2018, 9(2): E64



## 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@sigr.it](mailto:sif.informazione@sigr.it); [sif.farmacologia@sigr.it](mailto:sif.farmacologia@sigr.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](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php)

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Debora Curci (Università di Trieste) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) 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](mailto:webmaster@sifweb.org)

### DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet [www.sifweb.org](http://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](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@sigr.it](mailto:sif.farmacologia@sigr.it) con oggetto: CANCELLA.