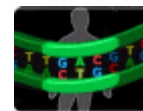




SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 110 – Ottobre 2018

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

Sommario

Oncologia

- Frammenti derivati dal tRNA come nuovi biomarcatori predittivi per il tumore alla mammella resistente al trastuzumab
- Ruolo prognostico del miR-425-3p esosomiale nella risposta alla chemioterapia basata sul platino in pazienti con cancro al polmone non a piccole cellule

Neurologia

- Profilo farmacogenetico e trattamento di depressione maggiore e/o disturbo bipolare: uno studio retrospettivo cross-sectional

Infettivologia

- Variazioni farmacogenetiche che influenzano l'insorgenza di neuropatia sensitiva nei pazienti Sudafricani trattati con terapia antiretrovirale a base di stavudina

Immunomodulazione

- Studio replicativo di polimorfismi associati alla risposta al metotressato in pazienti con artrite reumatoide

La metanalisi del mese

- Analisi della correlazione tra le varianti C667T e A1298C del gene metilentetraidrofolato reduttasi e la risposta alla chemioterapia a base di fluoropirimidine in pazienti affetti da carcinoma del colon-retto: uno studio di revisione sistematica e meta-analisi

ONCOLOGIA

FRAMMENTI DERIVATI DAL tRNA COME NUOVI BIOMARCATORI PREDITTIVI PER IL TUMORE ALLA MAMMELLA RESISTENTE AL TRASTUZUMAB

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano (HER2) è sovraespresso nel 20-25% dei tumori alla mammella umani; inoltre, questa amplificazione di HER-2 conferisce un fenotipo più aggressivo ed è associata a prognosi infausta. È stato dimostrato che il trastuzumab, un anticorpo monoclonale anti-HER2, migliora significativamente i risultati clinici nella gestione del cancro alla mammella precoce e avanzato. Nonostante il successo ottenuto con l'introduzione di questo farmaco, molti pazienti sviluppano una resistenza primaria o secondaria che inficia l'efficacia del trattamento. Al momento, fra i principali responsabili del fallimento terapeutico, sono stati dimostrati la deregolazione del *pathway* PI3K-AKT-mTOR o la perdita di PTEN, un accumulo di chinasi tronca attiva p95-HER-2, la sovraespressione di MUC4, o la co-espressione di altri recettori della famiglia HER, come HER3.

Gli RNA transfer (tRNA) sono una componente fondamentale del meccanismo di traduzione e diversi studi hanno dimostrato che i tRNA svolgono un ruolo nel modulare la proliferazione cellulare e la progressione del cancro. I metà tRNA (tRHs) e i piccoli frammenti di RNA derivati da tRNA (tRF) appartengono a una nuova classe di sncRNA che vengono generati attraverso una precisa scissione di tRNA. Recentemente, in numerosi studi è stato verificato che questi frammenti derivanti da tRNA svolgono ruoli importanti nei tumori umani. Gli inibitori e i mimici dei tRF possono alterare la stabilità dei trascritti oncogenici nelle cellule di cancro alla mammella spostando le loro 3'UTR dalla proteina legante l'RNA. Analizzandoli nel complesso, questi risultati attribuiscono un ruolo funzionale ai frammenti derivati dai tRNA nella progressione del cancro, e per questo motivo, in questo studio sono stati ricercati frammenti derivanti da tRNA correlati alla trastuzumab nei carcinomi mammari HER2 positivi, che potrebbero essere utili per comprendere i meccanismi di resistenza.

La coorte in esame era composta da 57 donne affette da tumore alla mammella HER2 positivo, trattate con trastuzumab, e il cui sangue è stato raccolto per le successive analisi di espressione. Le pazienti sono state suddivise in due sottogruppi in base al profilo di risposta al farmaco: sono state definite sensibili (28) coloro che non hanno presentato progressione al primo esame radiologico a 8-12 settimane, o entro 3 mesi dall'inizio della terapia per i metastatici, e le donne che non hanno avuto diagnosi di recidive durante o entro i 12 mesi dall'inizio della terapia neo-adiuvante. Le resistenti sono risultate 29. Per lo studio sono state utilizzate, inoltre, due linee cellulari di tumore alla mammella, sensibili al trastuzumab (SKBR3) e resistenti (JIMT-1), e una linea di cellule epiteliali sane della mammella (HBL-100), su cui sono stati valutati ciclo cellulare, apoptosi ed espressione.

Per l'analisi è stata utilizzata una tecnica di sequenziamento ad alto rendimento per determinare l'espressione differenziale dei frammenti derivati da tRNA nelle linee cellulari epiteliali mammarie normali, sensibili e resistenti al trastuzumab. Per analizzare i frammenti derivati da tRNA differenzialmente espressi nelle cellule è stata realizzata una heatmap, dalla quale sono emersi diversi frammenti significativamente deregolati nelle cellule tumorali positive HER2 (SKBR3 e JIMT-1) rispetto alla linea cellulare epiteliale (HBL-100). In totale, 36 frammenti derivati da tRNA sono risultati sovraespressi e 21 sottoespressi. Fra i più significativi, ne sono stati selezionati 5 fra gli up-regolati (tRF-30-JZOYJE22RR33, tRF-27-ZDXPHO53KSN, tRF-26-XIP2801MK8E, tRF-29-IYEVFMD0SR1Z, tRF-22-8B8871K92) e 1 tRF down-regolato (tRF-30-SERXPIN2NYDR). In seguito sono stati verificati i livelli di espressione dei tRF deregolati nelle linee cellulari HBL-100, SKBR3 e JIMT-1 mediante qRT-PCR. I risultati hanno validato solo tRF-30-JZOYJE22RR33, tRF-27-ZDXPHO53KSN e tRF-26-XIP2801MK8E (per i sovraespressi) e il tRF-30-SERXPIN2NYDR (sottoespresso) in entrambe le linee di cellule positive HER2 (rispetto a HBL-100). Per determinare l'associazione tra l'espressione dei tRF deregolati e le risposte dei pazienti al trastuzumab, è stata eseguita la qRT-PCR anche nei campioni di siero delle pazienti sensibili e resistenti al trastuzumab. I risultati hanno mostrato che tRF-30-JZOYJE22RR33 e tRF-27-ZDXPHO53KSN (entrambi derivati da tRNA^{Cys-GCA}) sono significativamente sovraespressi nelle pazienti con resistenza primaria rispetto a quelle sensibili al trattamento. Inoltre, è stata eseguita un'analisi univariata per correlare i fattori prognostici collegabili alla sopravvivenza ed è emerso che i livelli di espressione elevati di tRF-30-JZOYJE22RR33 e tRF-27-ZDXPHO53KSN sono associati ad una PFS peggiore, dato poi confermato anche dalla multivariata. Pertanto, è stato dimostrato che le pazienti con alti livelli di espressione di tRF-30-JZOYJE22RR33 e tRF-27-ZDXPHO53KSN potrebbero ottenere un minor beneficio se trattate con terapia a base di trastuzumab.

In conclusione, in questo studio sono stati analizzati in modo esaustivo i frammenti derivati da tRNA nel carcinoma mammario sensibile e resistente al trastuzumab. Dalle analisi eseguite è emerso che due tRF, il tRF-30-JZOYE22RR33 e tRF-27-ZDXPHO53KSN, potrebbero essere impiegati come potenziali biomarcatori prognostici e di risposta terapeutica e come possibili bersagli di intervento per il carcinoma mammario resistente a trastuzumab

Parole chiave: tumore alla mammella; trastuzumab; resistenza; tRNA

Riferimento bibliografico

[Sun C](#) et al. *Cell Physiol Biochem* 2018, 49(2): 419-431

RUOLO PROGNOSTICO DEL MIR-425-3P ESOSOMIALE NELLA RISPOSTA ALLA CHEMIOTERAPIA BASATA SUL PLATINO IN PAZIENTI CON CANCRO AL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al polmone non a piccole cellule (NSCLC) rappresenta circa l'80% di tutti i casi di tumore ed è una delle principali cause di morte nel mondo. Gli schemi terapeutici basati sul platino sono uno dei principali trattamenti, ma l'eterogeneità clinica e biologica di questa malattia determina risposte cliniche molto variabili. Negli anni, sono stati identificati diversi biomarcatori prognostici, tuttavia i pazienti inclusi in gruppi prognostici simili, mostrano spesso outcome clinici eterogenei, indicando che gli attuali fattori prognostici non sono sufficienti. Gli esosomi sono piccole vescicole che contengono proteine e acidi nucleici, tra cui miRNA, che sono attivamente secreti da diversi tipi di cellule, incluse le cellule tumorali. Ad oggi, il significato clinico dei miRNA esosomiali circolanti nel NSCLC è ancora incerto.

Lo scopo di questo studio è stato proprio quello di valutare i miRNA contenuti negli esosomi in pazienti NSCLC.

L'analisi ha coinvolto un totale di 170 campioni sierici da pazienti con NSCLC in stadio avanzato; nessuno dei pazienti aveva ricevuto terapia prima del prelievo ematologico. In aggiunta, nell'analisi sono stati inclusi 203 tessuti di tumore al polmone. Tutti i pazienti erano stati trattati uniformemente con chemioterapia basata sul platino in prima linea.

Per analizzare i miRNA esosomiali, i pazienti, sulla base della sopravvivenza libera da progressione (PFS) sono stati suddivisi in NSCLC platino-resistenti (n=76, PFS≤6 mesi) e platino sensibili (n=94, PFS≥6 mesi). Per il profiling iniziale, sono stati utilizzati 10 sieri ottenuti da pazienti con NSCLC platino-resistenti e 10 platino sensibili. 80 miRNA sono risultati differenzialmente espressi (Fold change (FC) >2 o <0.5, p<0.01, resistenti vs sensibili). Sono stati quindi selezionati i 6 miRNA con FC maggiore, tra cui miR-425-3p, miR-1273h, e miR-4755-5p, che erano up-regolati, e miR-9-5p, miR-146a-5p, e miR-215-5p, che erano down-regolati. I livelli di espressione di questi 6 miRNA sono stati successivamente confermati in RT-PCR in 170 campioni sierici. Per essere certi di avere selezionato miRNA derivanti da esosomi rilasciati specificatamente dal tumore (e non da altre cellule), gli autori hanno comparato i 6 miRNA con quelli derivati da linee cellulari di NSCLC. Nello specifico, al fine di selezionare linee cellulari resistenti al cisplatino, è stata calcolata la sensibilità in vitro al cisplatino in 6 linee di NSCLC (H1299, H1975, A549/DDP, SPCA1, PC-9, A549), da cui è emerso che H1299, H1975 e A549/DDP avevano IC50 > 3 µg/mL e sono state pertanto ritenute resistenti. Comparando i livelli di miRNA esosomiali, gli autori hanno osservato che miR-425-3p era drammaticamente elevato nelle linee resistenti rispetto a quelle sensibili.

Correlando il miR-425-3p con le caratteristiche cliniche dei 170 pazienti, è stato inoltre osservato che elevati livelli indicavano progressione della malattia (p<0.0001), suggerendo una prognosi ridotta per i pazienti affetti da NSCLC. Mediante successive validazioni funzionali *in vitro*, gli autori hanno osservato che miR-425-3p, modulando AKT1, promuove l'attivazione di autofagia e determina una diminuzione della risposta terapeutica. Infine, è stato valutato se l'up-regolazione dell'attività autofagica promossa da miR-

425-5p correlasse con la responsività a chemioterapia basata sul platino. A tale scopo, 88 campioni di tessuto da pazienti NSCLC in stadio avanzato sono stati valutati in immunohistochimica per LC3-I e ATG5 (proteine coinvolte nell'autofagia); dalle analisi è emerso che LC3-I era significativamente associato con la PFS ($p=0.029$, Pearson's correlation $r=0.25$), mentre ATG5 era negativamente correlato con PFS ($p=0.042$, Pearson's correlation $r=0.23$). Questi dati suggeriscono che l'attività autofagica è coinvolta nella prognosi di pazienti affetti da NSCLC in stadio avanzato. Infine suddividendo i campioni in base ai livelli di espressione di LC3-I e ATG5, è stato osservato che bassi livelli di LC3-I ($p=0.0045$, Log-Rank test) e un'alta espressione di ATG5 ($p=0.037$) indicavano progressione della malattia. Risultati simili sono stati osservati per 115 pazienti con in NSCLC fase precoce.

Il lavoro sottolinea l'importanza di nuovi biomarcatori circolanti per monitorare la risposta terapeutica. Nell'era della medicina di precisione, infatti, la cosiddetta biopsia liquida rappresenta e potrà rappresentare uno strumento importante, non tanto per la diagnosi tumorale, ma soprattutto per il follow-up periodico del paziente.

Il miR-425-3p esosomiale potrebbe rappresentare un potenziale biomarcatore per migliorare la predizione della risposta clinica alla chemioterapia basata sul platino in pazienti affetti da NSCLC.

Parole chiave: NSCLC, chemioterapia basata sul platino, miR-425-5p esosomiale

Riferimento bibliografico

[Yuwen D](#) et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2018 Sep 18 [Epub ahead of print]

NEUROLOGIA

PROFILO FARMACOGENETICO E TRATTAMENTO DI DEPRESSIONE MAGGIORE E/O DISTURBO BIPOLARE: UNO STUDIO RETROSPETTIVO CROSS-SECTIONAL

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Gli antidepressivi rappresentano la terza classe di farmaci maggiormente prescritti. La scelta dello specifico regime di trattamento viene spesso effettuata in modalità "trial and error". Nonostante alcune caratteristiche cliniche quali durata di malattia, storia familiare e comorbidità con disturbi d'ansia possano essere d'aiuto nella scelta del regime terapeutico, molti pazienti non rispondono al trattamento e il tasso di remissione (assenza di sintomi) dopo un trattamento con antidepressivo di prima linea è stimato essere intorno al 28-47%. È stato stimato che fino al 42% della variabilità interindividuale nella risposta agli antidepressivi possa essere spiegato da fattori genetici. Molti antidepressivi sono metabolizzati tramite il sistema del citocromo CYP450 a livello epatico. In particolare, uno studio retrospettivo ha suggerito che i pazienti che presentano variazioni geniche in grado di conferire il fenotipo *poor metabolizer*, e ai quali sia stato prescritto un antidepressivo metabolizzato dalla *pathway* interessata da tali varianti, abbiano maggiori probabilità di avere necessità di avvalersi di un intervento sanitario o di presentare una domanda di invalidità. Utilizzare le informazioni sulle varianti geniche che influenzano il metabolismo degli antidepressivi potrebbe permettere di ridurre il tempo necessario per impostare il regime terapeutico ottimale per il singolo paziente.

Gli autori hanno condotto uno studio osservazionale retrospettivo tramite una collaborazione tra PatientsLikeMe (PLM: Cambridge, MA, USA) e Pathway Genomics (CA, USA). PLM è una piattaforma online che permette di connettere soggetti che presentano la stessa patologia o condizione. Tra Luglio e Dicembre

2016, i membri di PLM che avevano riportato una diagnosi di disturbo depressivo maggiore (DDM) o disturbo bipolare (DB) sono stati invitati a partecipare allo studio. I criteri di inclusione comprendevano: età pari ad almeno 18 anni, residenza negli Stati Uniti e assunzione di almeno un farmaco antidepressivo negli ultimi due anni, per almeno sei settimane. I criteri di esclusione comprendevano stato di gravidanza e assenza di una diagnosi di DDM o DB effettuata da un medico. I soggetti eleggibili per la partecipazione allo studio sono stati invitati a compilare un sondaggio volto alla raccolta di informazioni demografiche, cliniche e al grado di soddisfazione relativamente all'efficacia e agli effetti avversi associati al proprio trattamento con antidepressivi. A questo scopo, tra gli antidepressivi più comunemente assunti dalla popolazione target ne sono stati selezionati 26 da includere nel sondaggio. I partecipanti che hanno accettato di compilare il questionario hanno inoltre fornito un campione di saliva dal quale è stato estratto il DNA per la genotipizzazione delle varianti selezionate, localizzate a livello di geni importanti per il metabolismo (*CYP2B6*, *CYP3A4*, *CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP1A2*, *CYP3A5*, *UGT1A4*), il meccanismo d'azione (*DRD2*, *HTR2C*) o la tollerabilità dei farmaci antidepressivi (*POLG*, *HTR2A*, *HLA-A*, *HLA-B* e *SLC6A4*). I genotipi sono stati convertiti in un fenotipo di risposta, selezionato tra: "Usare come indicato dal medico", e "Può causare eventi avversi severi". L'obiettivo principale dello studio è stato quello di stabilire la percentuale di concordanza tra l'efficacia riportata dal paziente tramite il questionario e il fenotipo ottenuto tramite i dati genetici. L'analisi è stata effettuata per tutti i farmaci assunti da ogni paziente per un periodo di almeno sei settimane nei due anni precedenti l'arruolamento. Sono stati utilizzati il test del chi-quadrato di Pearson o il t-test a due code per analizzare variabili categoriche o quantitative, rispettivamente.

Lo studio ha incluso un totale di 352 soggetti che hanno completato il questionario e per i quali è stato possibile genotipizzare le varianti selezionate. L'età media dei partecipanti era 51 anni, il 76% dei soggetti era di sesso femminile e l'88% di origine Caucasica. La maggior parte dei soggetti aveva una precedente diagnosi di DDM (82%), seguita da disturbo d'ansia generalizzato (63%) e DB (42%). Il 44% dei soggetti aveva due tra queste diagnosi. La maggior parte dei soggetti ha affermato di avere assunto tra due e cinque dei 26 farmaci oggetto dello studio, e ha valutato di essere moderatamente soddisfatta (36%) o alquanto insoddisfatta (22%) dell'attuale regime di trattamento. I farmaci maggiormente prescritti tra i partecipanti allo studio sono risultati essere bupropione, duloxetina, trazodone, venlafaxina e lamotrigina. Dal momento che la maggior parte dei soggetti era stata trattata con più di un farmaco, sono state analizzate 985 coppie soggetto-farmaco per la valutazione della concordanza tra efficacia riportata dal paziente e fenotipo determinato in base ai dati genetici.

Nel 64% dei soggetti con fenotipo "Usare come indicato dal medico" e nel 49% in quelli con fenotipo "Può causare eventi avversi severi" si è rilevata una concordanza tra efficacia riportata dal paziente e fenotipo. In generale, l'efficacia è risultata associata in maniera statisticamente significativa con il fenotipo determinato in base ai dati genetici ($p < 0,001$). Anche i farmaci considerati individualmente hanno mostrato simili trend, ma solo per l'escitalopram l'associazione è risultata significativa ($p = 0,049$). Al contrario, per quanto riguarda gli eventi avversi, l'associazione tra la percezione del paziente riportata nel questionario e il fenotipo correlato ai dati genetici non è risultata significativa ($p = 0,7$).

Tra i limiti principali dello studio vi sono i seguenti: 1) la maggior parte dei soggetti era costituita da donne di origine Caucasica, rendendo pertanto impossibile effettuare stratificazioni per origine o per sesso; 2) il tasso di risposta ridotto tra i pazienti invitati a partecipare allo studio potrebbe aver comportato la perdita di pazienti che hanno sperimentato sintomi particolarmente severi; 3) il disegno retrospettivo dello studio; 4) la valutazione della risposta e degli eventi avversi è stata effettuata soltanto tramite questionario compilato dal paziente; 5) mancavano informazioni riguardanti l'aderenza al trattamento, e 6) l'assunzione di più di un farmaco da parte della maggioranza dei pazienti potrebbe avere esercitato un importante effetto confondente sulla capacità del paziente di descrivere la propria esperienza con i singoli farmaci. Quest'ultimo punto ha anche limitato la possibilità di valutare le interazioni farmaco-farmaco. Dal momento che alcuni dei farmaci presi in considerazione esercitano un effetto di induzione o inibizione degli enzimi del CYP450, non è possibile escludere che possano avere influenzato l'efficacia o la tollerabilità degli altri farmaci assunti dal paziente.

In conclusione, lo studio suggerisce evidenze preliminari a supporto del ruolo di un pannello farmacogenetico come strumento di ausilio per lo psichiatra nella scelta del regime di trattamento nei pazienti affetti da DDM.

Parole chiave: antidepressivi, depressione maggiore, CYP450 e altri

Riferimento bibliografico

[Tonozzi TR](#) et al. *Pharmacogenomics* 2018, 19:1169-79

INFETTIVOLOGIA

VARIAZIONI FARMACOGENETICHE CHE INFLUENZANO L'INSORGENZA DI NEUROPATIA SENSITIVA NEI PAZIENTI SUD-AFRICANI TRATTATI CON TERAPIA ANTIRETROVIRALE A BASE DI STAVUDINA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'uso della terapia anti-retrovirale (ART) ha modificato la storia naturale dell'infezione da virus HIV rendendola una patologia cronica. Nonostante i benefici, una percentuale importante di soggetti sperimenta reazioni avverse. I pazienti Sud-Africani, ad esempio, sono soggetti ad una incidenza elevata di tossicità mitocondriale da stavudina (d4T), che include neuropatia sensitiva (NS), acidosi lattica e lipodistrofia (Menezes CN et al. *BMC Infect Dis* 2011, 11:244-54). La NS rappresenta la tossicità più frequente da d4T e si presenta come dolore bilaterale, formicolii e/o perdita di sensibilità con distribuzione a calza e guanto (Kamerman PR et al. *Curr Pain Headache Rep* 2012, 16:226-36). Considerate le percentuali di *switch* da tossicità, ed in linea con le raccomandazioni internazionali, la d4T è stata sostituita nel 2010 dal tenofovir nei regimi di prima linea. Fattori genetici potrebbero essere associati all'insorgenza di effetti avversi, in particolare i geni "ADME" (Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Escrezione) che possono influenzare la farmacocinetica del farmaco. Inoltre, varianti genetiche della via della sintesi della timidina possono influenzare la tossicità d4T-correlata.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare la relazione tra la presenza di varianti dei geni del metabolismo della d4T e della sintesi della timidina e l'insorgenza di neuropatia sensitiva in pazienti Sud-Africani esposti a d4T.

Tra il 2008 ed il 2009, sono stati raccolti 342 campioni ematici o salivari in pazienti esposti a d4T per almeno 6 mesi e che non presentavano neuropatia da altre cause (diabete, carenza di vitamina B12). La presenza di NS è stata valutata con il *Brief Neuropathy Screening Tool* (Cherry CL et al. *Neurology* 2005, 65(11): 1778-81). L'analisi è stata condotta su 263 campioni ancora disponibili (143 casi con NS e 120 controlli senza NS), valutando 26 SNP di 12 geni candidati, di cui 4 trasportatori (*SLC28A1* e *SLC20A3* che facilitano l'entrata nelle cellule, *ABCG2* e *ABCG5* che facilitano l'efflusso) e 8 geni della sintesi della timidina/fosforilazione d4T (*TK2*, *RRM1*, *RRM2*, *RRM2b*, *MTHFR*, *DHFR*, *SAMHD1*, *SLC19A1*).

Il confronto delle caratteristiche tra casi e controlli ha mostrato un'associazione significativa tra aumento dell'età e del peso e NS, come atteso (Wadley AL et al. *Mol Immunol* 2013, 55(3):197-9). La genotipizzazione è stata efficace in 243 campioni (134 casi e 109 controlli). Gli alleli rs8187758 del gene *SLC28A1* e rs8124728 del *SAMHD1* sono stati associati significativamente con l'insorgenza di NS (P=0.011 e 0.038) nell'analisi univariata. Nell'analisi multivariata l'rs8187758 del gene *SLC28A1* non era più significativo, mentre l'associazione risultava significativa per gli alleli rs8124728, rs1891643 e l'aplotipo GGA del *SAMHD1* (p= 0.013, 0.017 e 0.015). Inoltre, anche due SNP della sintesi della timidina, l'rs1801131 dell'*MTHFR* e l'rs16918482 del gene *RRM2B* sono stati associati alla NS (P=0.002). L'analisi degli odds ratio

derivati dalla regressione logistica ha individuato il genotipo recessivo rs1891643 del *SAMHD1* come possibile fattore di rischio per l'insorgenza di NS (OR=5.089) mentre gli altri genotipi significativi nell'analisi multivariata come possibili fattori protettivi (OR<1).

In questo studio è stata valutata l'associazione tra la presenza di varianti dei geni che influenzano la farmacogenetica della d4T e coinvolti nella sintesi di timidina e l'insorgenza di NS in una coorte di pazienti Sud-Africani trattati con regimi ART comprendenti d4T. L'analisi ha mostrato un'associazione tra le varianti dei geni *SLC28A1*, *SAMHD1*, *MTHFR* e *RRM2B* e l'insorgenza di NS. Sono ancora da chiarire gli effetti fenotipici-funzionali alla base delle associazioni osservate in questo studio, in particolare per il fattore di rischio rs1891643 del *SAMHD1*.

In conclusione, questo studio rivela una possibile influenza delle varianti dei geni che determinano il trasporto ed il metabolismo della d4T e la sintesi della timidina sull'insorgenza di neuropatia sensitiva d4T-correlata. Questi dati contribuiscono alla caratterizzazione delle varianti genetiche della popolazione Sud-Africana ed il ruolo nell'insorgenza di reazioni avverse da ART.

Parole chiave: infezione da HIV, *SLC28A1*, *SAMHD1*, *MTHFR*, *RRM2B*, stavudina

Riferimento bibliografico

[Moketla MB](#) et al. *PLoS One* 2018, 3(10):e0204111

IMMUNOMODULAZIONE

STUDIO REPLICATIVO DI POLIMORFISMI ASSOCIATI ALLA RISPOSTA AL METOTRESSATO IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE

A cura del Dott. Davide Selvestrel

Il metotressato (MTX), il più prescritto tra i farmaci anti-reumatici modificanti malattia (DMARD), in monoterapia è il farmaco di prima linea raccomandato per il trattamento della maggior parte dei pazienti affetti da artrite reumatoide (AR). Tuttavia, una frazione consistente di pazienti non mostra una diminuzione significativa in termini di attività di malattia dopo 6 mesi di terapia. Questa elevata variabilità interindividuale nella risposta alla monoterapia con MTX ha portato a ricercare biomarkers farmacogenetici in grado di predire quali pazienti potrebbero non trarre benefici dalla monoterapia con MTX. Più di 70 studi hanno investigato possibili polimorfismi in geni candidati come l'enzima diidrofolato reductasi (DHFR), target primario del MTX, che converte il diidrofolato in tetraidrofolato. Altri geni candidati studiati sono coinvolti nel trasporto del MTX, nella generazione dei suoi metaboliti attivi, nella formazione di MTX-poliglutamati, nel metabolismo dei folati, nella sintesi delle purine e nella pathway biosintetica dell'adenosina, il cui accumulo potrebbe essere alla base dell'effetto antiinfiammatorio del trattamento con MTX. Questo panorama è stato recentemente completato grazie al primo studio GWAS condotto su pazienti affetti da AR provenienti dall'India del Nord. Gli autori evidenziarono 7 polimorfismi di singolo nucleotide (SNPs) fortemente associati con la risposta al MTX, nessuno di loro situato in loci candidati, e molti altri SNPs localizzati su geni candidati.

L'obiettivo di questo studio è quello di validare 25 SNPs tra i più promettenti precedentemente associati con la risposta al MTX: 14 SNPs scelti da studi condotti su geni candidati e 11 scelti dal recente studio GWAS sopra citato.

Per questo studio sono stati inizialmente arruolati 956 pazienti di origine europea affetti da AR, in particolare: 269 pazienti di origine Spagnola, 103 di origine Slovena, 230 di origine Portoghese e 354 di origine Polacca. Tutti i pazienti hanno ricevuto MTX in monoterapia per 6 mesi ed è stato preso in considerazione il Disease Activity Score 28 (DAS28) sia all'inizio della terapia che dopo 6 mesi. La risposta al MTX è stata valutata in termini di cambiamento del DAS28 tra l'inizio della terapia ed a 6 mesi di follow-up come outcome primario. Inoltre i pazienti non rispondenti sono anche stati classificati in base ai criteri della European League Against Rheumatism (EULAR) che dividono i pazienti in 3 gruppi in base al cambiamento del DAS28 tra inizio della terapia e la valutazione successiva. Nello specifico: pazienti con buona risposta hanno $\Delta\text{DAS28} \geq 1.2$ e $\text{DAS28} \leq 3.2$; pazienti non rispondenti sono tutti quelli con $\Delta\text{DAS28} \leq 0.6$ oppure $\Delta\text{DAS28} > 0.6$ ma ≤ 1.2 e $\text{DAS28} > 5.1$; tutti i rimanenti vengono classificati come pazienti moderatamente rispondenti.

Pazienti con buona risposta e moderatamente rispondenti sono stati considerati tutti come buoni rispondenti; le informazioni sui DAS28 sono risultate incomplete per 41 pazienti che per questo motivo sono stati esclusi dalle analisi. Per l'analisi di associazione fra ΔDAS28 e criteri EULAR sono stati applicati rispettivamente modelli di regressione lineare e logistica.

I 915 pazienti analizzati erano prevalentemente di sesso femminile (81%) e DMARD naive, con un'età media di 53 anni all'inizio della terapia con MTX. Molti pazienti, data la severità della patologia, hanno ricevuto un trattamento concomitante con corticosteroidi o FANS (72.1% e 53.4% rispettivamente). Dopo 6 mesi di terapia solo il 27.3% dei pazienti ha mostrato una buona risposta in accordo con i criteri EULAR, mentre il 38.7% ha mostrato una risposta moderata e il 34% è risultato non rispondente.

Dopo aver genotipizzato tutti i pazienti ed aver eseguito gli opportuni controlli di qualità, uno SNP è stato scartato; dei 24 rimanenti, solo 2 geni candidati (rs2295553 e rs1801394) hanno mostrato un'associazione statistica con il ΔDAS28 . Solamente rs1801394 ha continuato a mantenere una correlazione significativa resistente con il post-test di Bonferroni ($P=0.0016$).

Questo polimorfismo mantiene una forte associazione ($P=0.004$) anche tenendo in considerazione i criteri EULAR, outcome secondario di risposta al MTX. L'allele minore (A) risulta essere associato con una bassa riduzione del DAS28 dopo trattamento con MTX se confrontato con l'allele maggiore (G). L'associazione tra rs1801394 con la risposta al MTX risulta indipendente da sesso, età, DAS28 all'esordio della malattia, fumo di sigaretta, sieropositività, uso concomitante di corticosteroidi e terapie farmacologiche precedenti.

Questo SNP causa la sostituzione di una isoleucina con una metionina in posizione 22 nell'enzima MTRR (5-metiltetraidrofolato-omocisteina metiltransferasi riduttasi). Esso è coinvolto nel trasferimento di un gruppo metile dall'acido 5-metil-tetraidrofolico all'omocisteina per formare L-metionina e acido tetraidrofolico. Questo passaggio del ciclo biosintetico dell'acido folico precede la produzione dell'S-adenosil-metionina, forma attiva dell' L-metionina, che è il donatore di metile in centinaia di reazioni biologiche di metilazione. In particolare l'allele A, associato con una scarsa risposta al MTX, è stato correlato con uno scarso livello plasmatico di omocisteina, e quindi ad una aumentata capacità di rigenerare metionina da parte delle cellule. Inoltre i pazienti presentanti l'allele A sembrano avere livelli più alti di folati nei globuli rossi se confrontati con i pazienti aventi genotipo G/G. La relazione tra MTRR e folati intracellulari può essere collegata all'associazione osservata in questo studio, secondo cui i pazienti aventi livelli più bassi di folati (nella forma poliglutamata) nei globuli rossi, durante il trattamento con MTX, presentavano una marcata riduzione del DAS28 dopo 6 mesi di terapia. Questa relazione indiretta sembra indicare che la presenza dell'allele A possa ridurre la risposta al MTX portando ad un incremento di folati intracellulari, è già noto infatti che una concomitante assunzione di integratori a base di acido folico e folinico possa interferire terapia con MTX.

Per quanto riguarda gli altri 23 polimorfismi analizzati, nessuno di essi ha mostrato un'associazione statisticamente significativa con i due *outcomes* presi in questione.

Lo SNP rs1801394 di MTRR è il solo ad avere una robusta associazione con la risposta al MTX, tra i 24 presi in considerazione, in grado di soddisfare tutti i requisiti imposti dalle analisi. Questa osservazione tuttavia, pur essendo confermata anche da molti altri studi presenti in letteratura, non è ad oggi completamente

certa e necessita di essere confermata. Per questa ragione ulteriori studi saranno necessari per la ricerca di biomarkers capaci di predire la risposta alla terapia con MTX.

Parole chiave: metotressato, artrite reumatoide, terapia personalizzata, MTRR, polimorfismo, DAS28

Riferimento bibliografico

[Lòpez-Rodríguez R](#) et al. *Sci Rep* 2018, 8(1): 7342

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DELLA CORRELAZIONE TRA LE VARIANTI C667T E A1298C DEL GENE METILENTETRAIDROFOLATO REDUTTASI E LA RISPOSTA ALLA CHEMIOTERAPIA A BASE DI FLUOROPIRIMIDINE IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA DEL COLON-RETTO: UNO STUDIO DI REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

Le fluoropirimidine, quali 5-fluorouracile (5-FU), capecitabina e tacefur, sono farmaci chemioterapici antineoplastici largamente impiegati per il trattamento farmacologico di un'ampia gamma di tumori solidi, tra cui il carcinoma del colon-retto. L'attivazione di tali molecole avviene dopo conversione a fluorodeossiuridina monofosfato (FdUMP), un metabolita che, legandosi a 5, 10-metilentetraidrofolato (5, 10-MTHF) e timidilato sintasi (TS), forma un complesso ternario in grado di inibire la sintesi del DNA. Ad oggi, tra i fattori noti per alterare la risposta clinica alle fluoropirimidine, spiccano alcuni polimorfismi localizzati su geni strettamente implicati nel metabolismo di attivazione di tali farmaci, tra cui il gene MTHFR. Nello specifico, MTHFR codifica per la metilentetraidrofolato reduttasi, un enzima che, convertendo in maniera irreversibile 5, 10-MTHF a 5-metiltetraidrofolato, svolge un ruolo chiave nel limitare la formazione dei sopraccitati complessi ternari citotossici. Ad oggi, le varianti C667T e A1298C risultano essere i polimorfismi funzionali più studiati del gene MTHFR. Dalla letteratura emerge come siano stati condotti numerosi studi clinici finalizzati all'analisi della correlazione tra tali varianti genetiche e la risposta clinica alle fluoropirimidine in pazienti affetti da tumore al colon-retto. Tuttavia, le evidenze di associazione farmacogenetica riportate in tali studi sono discordanti tra loro. Alla luce di ciò, è stata ivi condotta una revisione sistematica della letteratura seguita da meta-analisi finalizzata ad offrire una stima conclusiva riguardo alla correlazione tra le varianti MTHFR C667T, A1298C e la risposta clinica alle fluoropirimidine in pazienti affetti da carcinoma al colon-retto.

La revisione sistematica della letteratura è stata condotta nel mese di maggio 2017 utilizzando i databases elettronici PubMed, Embase e Web of Science. Sono stati definiti come eleggibili per la revisione sistematica tutti gli studi primari, scritti in lingua inglese, in cui i) fossero arruolati pazienti affetti da carcinoma al colon-retto e trattati con 5-FU, capecitabina o tacefur; ii) fossero riportati in maniera esaustiva i dati di associazione farmacogenetica tra le varianti MTHFR C667T, A1298C e la risposta clinica alle fluoropirimidine. Per ciascuno degli studi inclusi nella revisione sono stati estratti i dati relativi a i) etnia, sesso ed età dei pazienti arruolati; ii) disegno di studio; iii) outcomes clinici analizzati (risposta clinica completa/parziale/tumore stabile, sopravvivenza, grado di regressione tumorale, recidiva precoce); iv) regime chemioterapico assunto; v) tecnica di genotipizzazione impiegata e vi) distribuzione genotipica per le varianti MTHFR C667T e A1298C. La qualità degli studi primari è stata valutata tramite i criteri Newcastle-Ottawa Scale (NOS); nello specifico, sono stati considerati come studi di buona qualità quelli con un punteggio pari ad almeno 5 su 9 punti totali. La stima meta-analitica della correlazione tra le varianti MTHFR C667T, A1298C e la risposta clinica alle fluoropirimidine è stata espressa come ORs e relativi intervalli di confidenza al 95%, applicando i modelli di ereditarietà genetica recessivo, dominante ed

allelico. È stata utilizzata una meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, rispettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità tra gli studi inclusi ($I^2 \geq 25\%$). Inoltre, sono state condotte, ove possibile, analisi di sottogruppo sulla base dell'etnia dei pazienti, tipologia di disegno di studio applicato, *outcome* clinico analizzato, e regime chemioterapico seguito. È stata, infine, valutata, la presenza di bias di pubblicazione tramite test di Egger.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 295 studi, di cui 21 sono risultati essere effettivamente includibili nella meta-analisi sulla base dei criteri di inclusione/esclusione predefiniti dagli Autori. Nello specifico, si trattava di studi prospettici (33.3%) e retrospettivi pubblicati dal 1999 in avanti, in cui sono stati arruolati un totale di 2118 pazienti affetti da carcinoma al colon-retto ed in trattamento con fluoropirimidine, in associazione, o meno, ad altri trattamenti farmacologici. La variante C677T è stata analizzata in correlazione alla risposta clinica alle fluoropirimidine in tutti e 21 i suddetti studi, mentre lo SNP A1298C è stata investigato in solo 13 di questi lavori. Dalla meta-analisi non è emersa alcuna correlazione tra la variante MTHFR C667T e la risposta clinica alle fluoropirimidine in nessuno dei modelli genetici analizzati (modello allelico: OR 0.79, 95% CI 0.78-1.12). Al contrario, stratificando per tipologia di disegno di studio applicato (prospettico vs retrospettivo) è emersa un'associazione statisticamente significativa tra MTHFR C667T e l'efficacia delle fluoropirimidine unicamente nel sottogruppo degli studi con disegno retrospettivo (modello dominante: OR 0.69, 95% CI 0.53-0.90). Analogamente, nessuna associazione statisticamente significativa è emersa tra lo SNP A1298C e la risposta clinica a fluoropirimidine nei modelli genetici analizzati. Dopo meta-analisi stratificata per sottogruppi, è emersa una correlazione tra A1298C e l'efficacia delle fluoropirimidine unicamente nel sottogruppo di pazienti in terapia con 5-FU+acido folico/leucovorina (modello allelico: OR 0.63, 95% CI 0.41-0.97). Infine, non è emersa l'evidenza di potenziale bias di pubblicazione.

Dalla presente meta-analisi emerge come gli SNPs C667T e A1298C del gene MTHFR non fungano da fattori genetici predittivi della risposta clinica alle fluoropirimidine in pazienti affetti da carcinoma al colon-retto. Al contrario, tali varianti sembrano essere correlate alla risposta alle fluoropirimidine in specifici sottogruppi di pazienti (rispettivamente, pazienti arruolati in maniera retrospettiva e soggetti in trattamento con 5-FU+acido folico/leucovorina). Si evidenzia tuttavia come i risultati della presente meta-analisi non possano essere considerati conclusivi alla luce di alcune limitazioni intrinseche allo studio, quali sono: i) le stime meta-analitiche di associazione, risultate essere statisticamente significative in due specifici sottogruppi di pazienti, sono state ottenute su un campione esiguo di pazienti; ii) la ricerca bibliografica è stata condotta oltre un anno prima dalla data di pubblicazione del lavoro: non è quindi escludibile che altri studi primari siano stati pubblicati nel mentre; iii) la presente meta-analisi non è stata condotta seguendo le linee guida PRISMA (ad es non sono esplicitati i punteggi di valutazione della qualità ottenuti dai singoli studi); iv) non sono state identificate le fonti di eterogeneità riscontrata tra gli studi primari.

Le varianti C667T e A1298C del gene MTHFR non sono correlate in maniera statisticamente significativa alla risposta alle fluoropirimidine in pazienti affetti da carcinoma al colon-retto.

Parole chiave: MTHFR, carcinoma al colon-retto, fluoropirimidine

Riferimento bibliografico

[Zhong L. *Oncotarget* 2018, 9\(58\):31291-301](#)



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.
sif.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna) Dott. Davide Selvestrel (Università di Trieste)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

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

Contatti: webmaster@sifweb.org

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero

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

RICEZIONE NEWSLETTER

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