



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 117 – Maggio 2019

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

Sommario

Oncologia

- I polimorfismi CDA e MTHFR sono associati all'esito clinico della chemioterapia a base di capecitabina in pazienti con carcinoma gastroenterico
- Espressione di AR-V7 e AR-FL e outcome clinico: studio traslazionale in pazienti con carcinoma della prostata resistente alla castrazione

Neuropsichiatria

- Predizione guidata dalla farmacogenomica della risposta al trattamento con antidepressivi: un approccio di machine learning con replicazione multi-trial

Gastroenterologia

- ZNF133 è associato alla risposta al trattamento con infliximab in pazienti con malattie infiammatorie intestinali

La metanalisi del mese

- La delezione del gene BIM predice una scarsa risposta agli inibitori delle tirosin-chinasi di EGFR nel carcinoma polmonare non a piccole cellule: una meta-analisi aggiornata

ONCOLOGIA

I POLIMORFISMI CDA E MTHFR SONO ASSOCIATI ALL'ESITO CLINICO DELLA CHEMIOTERAPIA A BASE DI CAPECITABINA IN PAZIENTI CON CARCINOMA GASTROENTERICO

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

La capecitabina è un pro-farmaco orale dell'anti-metabolita 5-fluorouracile ed è stato registrato per il trattamento del carcinoma colon-rettale e gastrico avanzato. Sebbene l'introduzione della capecitabina da sola o in combinazione con altri chemioterapici abbia migliorato la prognosi e abbia consentito alcuni

aggiustamenti della terapia, in una frazione significativa di pazienti con tumore gastroenterico il trattamento risulta inefficaci con esiti anche fatali per i pazienti.

La capecitabina è attivata a 5-fluorouracile mediante l'azione degli enzimi carbossilesterasi (CES), citidina deaminasi (CDA) e timidina fosforilasi (TYMP); i polimorfismi dei geni codificanti per questi enzimi potrebbero essere associati ad efficacia e tossicità. Inoltre, il catabolismo del 5-fluorouracile è controllato principalmente dalla diidropirimidina deidrogenasi (DPD) nel fegato. Le varianti del gene *DPYD* (che codifica per DPD) sono state associate all'esito della terapia e, in base alla presenza di determinate varianti del gene, è stata raccomandata la riduzione della dose di fluoropirimidine. CDA è l'enzima che attiva la capecitabina in 5-fluorouracile e la sua elevata attività nelle cellule tumorali è stata associata ad una maggiore sensibilità al farmaco. È stato inoltre suggerito un potenziale ruolo del CDA nella tossicità grave e potenzialmente letale indotta da capecitabina. Il metabolismo del folato gioca un ruolo chiave nell'influenzare l'attività antitumorale delle fluoropirimidine. Il 5-fluorouracile esercita la sua attività antitumorale attraverso l'inserimento dei suoi metaboliti nell'RNA e nel DNA e mediante l'inibizione della timidilato sintasi (TS). Quest'ultimo meccanismo dipende dalle concentrazioni cellulari di 5,10-metilenetetraidrofolato (5,10-MTHF). La metilenetetraidrofolato reduttasi (MTHFR) è un enzima importante nella via metabolica dei folati. I polimorfismi dei geni che codificano per gli enzimi CDA e MTHFR sono strettamente correlati all'efficacia delle fluoropirimidine (capecitabina e 5-fluorouracile) nel trattamento dei tumori gastroenterici. L'impatto dei polimorfismi di questi geni candidati sull'attività e sul metabolismo del farmaco, e successivamente sull'esito del trattamento, è in gran parte poco chiaro. Pertanto, gli autori hanno valutato gli effetti di polimorfismi dei geni *CDA* e *MTHFR* sulla sopravvivenza in una coorte di 322 pazienti cinesi con carcinoma colon-rettale e gastrico in chemioterapia a base di capecitabina, per definire sottogruppi specifici con maggiori probabilità di beneficiare della terapia.

La coorte comprendeva pazienti con nuova diagnosi di carcinoma gastrico e colon-rettale, non trattato, in terapia con schema XELOX standard di prima scelta (oxaliplatino 130 mg/m² per via endovenosa il giorno 1, seguito da capecitabina 1000 mg/m² per due volte al giorno nei giorni 1-14, con cicli ripetuti ogni 21 giorni) o con capecitabina (1250 mg/m² due volte al giorno dal giorno 1-14, con cicli di 21 giorni) da gennaio 2015 a dicembre 2017. I campioni di sangue per la genotipizzazione sono stati raccolti in provette contenenti EDTA e congelati a -80 °C. I pazienti senza follow-up e quelli che hanno ricevuto solo cure palliative sono stati esclusi. I dati clinici e demografici raccolti erano: età, sesso, posizione del tumore primitivo, stadiazione, classificazione generale del tumore, classificazione del tumore istologico, differenziazione del tumore, regime di chemioterapia e storia familiare di cancro. Durante il trattamento, sono state valutate le seguenti variabili: numero totale di cicli per paziente, data e tipo di risposta e progressione, ciascun ciclo di chemioterapia, trasfusione di globuli rossi e piastrine e tossicità ematologica (anemia, neutropenia febbrile, diminuzione della conta dei neutrofili, riduzione della conta piastrinica e diminuzione dei globuli bianchi) ed extraematologica (sindrome mano-piede (HFS), diarrea, vomito, affaticamento, stomatite ed epatotossicità). La sopravvivenza libera da progressione (PFS) è stata definita come l'intervallo di tempo dall'inizio della chemioterapia di prima linea alla prima progressione della malattia o morte per qualsiasi causa, se la progressione della malattia non si verifica. I pazienti vivi senza progressione sono stati considerati fino all'ultimo follow-up. I campioni di DNA sono stati estratti da sangue utilizzando il kit QIAamp DNA Blood Midi o Maxi (Qiagen, Amburgo, Germania). La genotipizzazione è stata eseguita utilizzando il metodo SNaPshot Multiplex (Applied Biosystems, Grand Isla NY, USA). PRIMERS (<http://frodo.wi.mit.edu/>) è stato utilizzato per progettare i primers. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software statistico SPSS. La significatività statistica è stata fissata a $P < 0,05$.

Un totale di 322 pazienti cinesi (206 maschi e 116 femmine) che hanno ricevuto la chemioterapia a base di capecitabina per tumori del colon-retto e gastrico sono stati inclusi nel presente studio. L'età media alla diagnosi era 56,4 anni (range 31-78 anni). Per la variante *CDA* rs2072671 (79 A>C), sono state osservate differenze nella curva di sopravvivenza: la PFS mediana era di 24,8 mesi (IC 95% 0,4-49,1) per i pazienti con genotipo CC e di 55,6 (IC 95% 46,8-64,4) e 51,6 mesi (IC 95% 48,2-55,0) nei genotipi AC e AA, rispettivamente (log-rank; $P = 0,008$). Inoltre, considerando il polimorfismo *CDA* rs602950 (92 C>T), i pazienti CC avevano una PFS più breve rispetto ai pazienti con genotipo CT o TT (log-rank test, $P = 0,002$).

Una PFS significativamente migliore è stata riportata nei pazienti con genotipo AG o GG, rispetto al genotipo AA (log-rank test, $P = 0,002$), per quanto riguarda la variante *CDA* rs532545 (451 A>G). Inoltre, è risultato che i pazienti con l'allele A del polimorfismo *CDA* rs2072671 (79 A>C), T del rs602950 (92 C>T) e G del rs532545 (451 A>G) avevano una PFS migliore dei pazienti non-A (log-rank test, $P = 0,002$), non-T (log-rank test, $P = 0,001$) o non-G (log-rank test, $P = 0,001$), rispettivamente.

I pazienti portatori del genotipo *MTHFR* rs1801131 (1298 A>C) CC hanno mostrato una PFS significativamente più breve rispetto ai portatori dell'allele A (log-rank test, $P = 0,002$): la PFS mediana stimata per i pazienti che avevano il genotipo AA, AC o CC era di 58,2 (IC 95% 50,0-66,5), 34,4 (IC 95% 29,5-39,3) e 18,0 (IC 95% 10,9- 25,0) mesi, rispettivamente. Inoltre, i pazienti portatori dell'allele non-A hanno mostrato una PFS significativamente più breve rispetto ai pazienti con allele A (log-rank test, $P < 0,001$). I pazienti con cancro del colon e con con genotipo CC avevano una PFS più breve rispetto al genotipo AA o AC (log-rank test, $P = 0,004$). Le pazienti di sesso femminile con genotipo CC presentavano anche una PFS più breve a confronto con l'allele A (log-rank test, $P = 0,021$). I pazienti anziani (> 65 anni) con genotipo CC di mostravano una PFS sfavorevole (log-rank test, $P = 0,005$); tuttavia, questa tendenza non è stata confermata nei pazienti con carcinoma rettale (log-rank test, $P = 0,52$), maschi (log-rank test, $P = 0,085$) e più giovani (log-rank test, $P = 0,069$).

Per quanto riguarda l'insorgenza di effetti indesiderati, l'epatotossicità di grado 3 o 4 indotta dalla chemioterapia era meno frequente nel genotipo *CDA* rs532545 (451 A>G) AA rispetto al genotipo AG o GG ($P = 0,035$; OR = 0,20, IC 95% 0,045-0,90); il genotipo AA è inoltre risultato predittore indipendente di tossicità ematologica di grado 3-4 ($P = 0,039$; OR = 0,21, IC 95% 0,045-0,93).

L'analisi di regressione multivariata di Cox ha mostrato che nei pazienti non-A del polimorfismo *CDA* rs2072671 (79 A>C) la PFS è più breve rispetto ai pazienti con allele A ($P = 0,001$; HR = 8,67, 95% CI 2,36-31,89). I portatori dell'allele T ($P < 0,001$) o G ($P < 0,001$) dei polimorfismi *CDA* rs602950 (92 C>T) e rs532545 (451 A>G), rispettivamente, avevano entrambi una PFS migliore rispetto ai pazienti con allele non-T o non-G. Inoltre, rispetto all'allele A della variante *MTHFR* rs1801131 (1298 A>C), il rischio relativo dei non-A era 4,90 per la PFS ($P < 0,001$; HR = 4,9, IC 95% 1,88-12,78).

La variante *CDA* 79 A>C è stata associata ad attività enzimatica alterata e in grado di influenzare l'esposizione a farmaci metabolizzati dal CDA; inoltre, allele A è stato correlato ad una risposta tumorale significativamente più alta rispetto all'allele C, nei pazienti con carcinoma coloretale metastatico. La sindrome mani-piedi di grado 2-3 è stata associata agli SNP *CDA* 451 A> G, 79 A> C e 1172 G> A; in aggiunta, le varianti 451 e 92 sono anche state associate ad un aumentato di rischio di diarrea.

Per quanto riguarda invece il polimorfismo *MTHFR* 1298 A>C, solo uno studio, condotto nel sud della Cina, riporta un'associazione con la risposta al 5-fluorouracile in pazienti con cancro colon-rettale e solo tre studi hanno confermato questa correlazione in Asia. Dunque, il ruolo di questo gene resta ancora poco chiaro.

In aggiunta, questo studio suggerisce che gli SNP dei geni *CDA* e *MTHFR* coinvolti nella farmacogenetica della chemioterapia a base di capecitabina possono avere un ruolo significativo nel predire il fallimento della terapia nei pazienti cinesi con tumore colon-rettale e gastrico. I risultati ottenuti potrebbero essere alla base di un sistema di trattamento personalizzato e ottimizzato basato su test genetici predittivi e prognostici.

I polimorfismi *CDA* rs2072671, rs602950 e rs532545 e *MTHFR* rs1801131 sono associati alla risposta ed agli effetti tossici del trattamento a base di capecitabina.

Parole chiave: carcinoma gastroenterico, capecitabina, *CDA*, *MTHFR*

Riferimento bibliografico

[Liu D](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2019 83(5):939-949.

ESPRESSIONE DI AR-V7 E AR-FL E OUTCOME CLINICO: STUDIO TRASLAZIONALE IN PAZIENTI CON CARCINOMA DELLA PROSTATA RESISTENTE ALLA CASTRAZIONE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il recettore per gli androgeni (AR) è il principale responsabile della crescita e progressione del carcinoma prostatico, e alterazioni della via di segnalazione possono portare a persistente attivazione del segnale (Hornberg E et al. *PLoS One* 2011, 6:e19059; Del Re M et al. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018, 125:51-9). Pertanto, rimane un *target* importante per lo sviluppo di terapie specifiche per questa neoplasia. Abiraterone ed enzalutamide sono diventati i capisaldi del trattamento del carcinoma della prostata resistente alla castrazione (CRPC), ma non tutti i pazienti hanno una risposta adeguata ed è utile individuare *biomarker* predittivi di una ridotta efficacia. La variante di *splicing* 7 dell'AR (AR-V7) può rappresentare un *marker* di resistenza alla terapia ormonale (Welti J et al. *Eur Urol* 2016, 70:599-608; Antonarakis ES et al. *N Engl J Med.* 2014, 371:1028-38) e, di recente, anche l'iperespressione dell'AR *full length* (AR-FL) ha mostrato di convertire il fenotipo castrazione sensibile in un fenotipo castrazione-resistente (Chen CD et al. *Nat Med* 2004, 10:33-9; Efsthathiou E et al. *J Clin Oncol* 2012, 30:637-43).

Scopo di questo studio retrospettivo traslaazionale è stato quello di valutare se, oltre all'AR-V7, anche l'espressione di AR-FL in RNA esosomiale possa essere predittivo di resistenza alla terapia ormonale.

Sono stati arruolati pazienti con CRPC metastatico trattati con terapia anti-androgenica (enzalutamide o abiraterone). Pazienti già trattati in precedenza con uno tra i due farmaci sono stati esclusi. I campioni ematici sono stati raccolti al basale, prima dell'inizio della terapia anti-androgenica. Un totale di 73 pazienti sono risultati eleggibili. L'AR-FL è stato individuato in tutti i soggetti (*range* 90-21.500 copie/ml, mediana 700 copie/ml). Il 22% inoltre è risultato AR-V7+ (*range* 80-700 copie/ml, mediana 310 copie/ml) prima di iniziare abiraterone o enzalutamide. Nella coorte di pazienti in cui la terapia anti-androgenica rappresentava una prima linea, il valore di AR-FL mostrava un *range* di 90-8.700 copie/ml (mediana 570 copie/ml) e il valore di AR-V7 un *range* di 80-500 copie/ml (mediana 175 copie/ml). Nella coorte di pazienti trattati in seconda linea, il *range* di AR-FL era pari a 100-21.500 copie/ml (mediana 700 copie/ml) e il *range* di AR-V7 era pari a 90-700 copie/ml (mediana 360 copie/ml). Confrontando l'espressione esosomiale dell'AR-FL nella popolazione globale stratificata sulla base della positività dell'AR-V7, è stato trovato un livello di espressione significativamente più elevato nei pazienti AR-V7+ rispetto agli AR-V7- (6.700 versus 460 copie/ml, $p<0.0001$), sia in prima che in seconda linea (1.000 versus 460 copie/ml in prima linea; 8.700 versus 380 copie/ml in seconda linea; $p=0.0003$). Il livello di AR-FL nei pazienti AR-V7+ era significativamente più elevato in prima linea rispetto alla seconda (8.700 versus 1.000; $p<0.0001$). Sia la PFS (mediana 20 versus 4 mesi; $p<0.0001$) che l'OS (mediana non raggiunta versus 9 mesi; $p<0.0001$) sono risultate più lunghe nei pazienti AR-V7-, con entrambi i farmaci (PFS nel gruppo abiraterone 22 mesi versus 3,5, $p<0.0001$; OS nel gruppo abiraterone non raggiunta versus 9 mesi, $p<0.0001$; PFS nel gruppo enzalutamide 16 versus 4 mesi, $p<0.005$; OS nel gruppo enzalutamide mediana non raggiunta versus 6.5 mesi, $p<0.005$). Per valutare il ruolo dell'AR-FL indipendentemente dallo status AR-V7, i pazienti sono stati divisi sulla base dell'espressione dell'AR-FL. Nei pazienti con ≤ 400 copie/ml la PFS era di 22 mesi, nei pazienti con espressione intermedia (401-899 copie/ml) di 18 mesi e di 4 mesi nei pazienti con espressione elevata (≥ 900 copie/ml; $p=0.014$). L'OS non è stata raggiunta nei gruppi con espressione bassa e intermedia mentre era di 13 mesi nel gruppo a più alta espressione ($p<0.0001$). All'analisi univariata, nessuno dei fattori noti per progressione, come lo *score* di *Gleason*, l'età, la presenza di metastasi e la localizzazione, i valori di LDH, è stato correlato con una peggiore PFS.

Lo studio mostra che l'espressione di AR-FL e AR-V7 è associata con la risposta ad abiraterone o enzalutamide in pazienti affetti da CRPC. Diversi studi hanno valutato l'espressione di AR come *biomarker* predittivo di resistenza alla terapia ormonale (Koivisto P et al. *Cancer Res* 1997, 57:314-9; Podolak J et al. *Oncotarget* 2017, 8:71447-55; Brown RS et al. *J Pathol* 2002, 198:237-44). Questo studio suggerisce che l'AR-FL gioca un ruolo importante nella resistenza ormonale e può aiutare a stratificare i pazienti sulla base della probabilità di risposta ad abiraterone/enzalutamide. Sulla base dei risultati ottenuti, è possibile

individuare *responder* e non *responder* sulla base di un valore basso o alto di espressione, ma anche una popolazione intermedia che potrebbe beneficiare del trattamento qualora AR-V7+ e non candidabile alla chemioterapia. I dati ottenuti dimostrano comunque che il più alto impatto sulla risposta alla terapia è dato dalla variante AR-V7.

In conclusione, questo studio suggerisce che la resistenza alla terapia anti-androgenica può essere predetta dalla valutazione dello status dell'AR-FL e AR-V7. Qualora validati in studi clinici prospettici, entrambi i *biomarker* potrebbero supportare una decisione clinica più razionale.

Parole chiave: carcinoma della prostata, AR-V7, AR-FL, terapia anti-androgenica

Riferimento bibliografico

[Helin TA](#) et al. *Br J Clin Pharmacol* 2019 Apr 1 [Epub ahead of print]-

NEUROPSICHIATRIA

PREDIZIONE GUIDATA DALLA FARMACOGENOMICA DELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON ANTIDEPRESSIVI: UN APPROCCIO DI MACHINE LEARNING CON REPLICAZIONE MULTI-TRIAL

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il disturbo depressivo maggiore (DDM) è la principale causa di disabilità correlata a patologie croniche. Gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) sono i farmaci di prima linea nel trattamento del DDM. Tuttavia, soltanto due terzi dei pazienti rispondono alla terapia con SSRI e sono necessarie alcune settimane di trattamento prima di ottenere una risposta terapeutica ottimale. Pertanto, sarebbe di grande rilevanza l'individuazione di marker in grado di indicare quali pazienti hanno una maggiore probabilità di rispondere alla terapia con SSRI prima di intraprendere il trattamento. I primi studi che hanno applicato approcci di *machine learning* alla valutazione della risposta agli antidepressivi includevano soltanto predittori clinici e sociodemografici. In tempi più recenti, alcuni studi hanno implementato dati ottenuti mediante studi di genomica e/o metabolomica, con un conseguente aumento della performance predittiva dei modelli misurata tramite la *receiver operating curve* (AUC). Gli autori del presente lavoro hanno utilizzato un approccio di *machine learning* per studiare la capacità di alcuni polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) localizzati in geni implicati nella farmacodinamica degli SSRI, unitamente ai dati clinici, nel predire la risposta a tali farmaci. In particolare, gli autori hanno a) utilizzato metodi di apprendimento non supervisionato per creare dei gruppi omogenei di pazienti con DDM reclutati tramite il trial Pharmacogenomics Research Network Antidepressant Medication Pharmacogenomic Study (PGRN-AMPS); b) predetto la remissione/risposta dopo trattamento con citalopram/escitalopram utilizzando metodi di apprendimento supervisionato, considerando i dati clinici e farmacogenomici del trial PGRN-AMPS; e c) validato i cluster e i modelli così ottenuti utilizzando i dataset relativi alle coorti indipendenti Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression (STAR*D) e International SSRI Pharmacogenomics Consortium (ISPC).

Gli autori hanno selezionato sei SNP localizzati all'interno o in prossimità dei seguenti geni: *TSPAN5* (rs10516436), *ERICH3* (rs696692), *DEFB1* (rs5743467, rs2741130, rs2702877) e *AHR* (rs17137566). Questi SNP erano stati associati ai livelli plasmatici di serotonina e chinurenina nello studio PGRN-AMPS. I due metaboliti erano risultati quelli maggiormente associati con la risposta agli SSRI a 8 settimane. Lavori successivi hanno mostrato che il *knockdown* dell'espressione di *TSPAN5* e *ERICH3* in linee cellulari derivate da precursori neuronali è associato ad una riduzione del rilascio di serotonina nel terreno di coltura. Inoltre,

il gene *DEFB1* codifica per una proteina espressa nella mucosa gastrointestinale e coinvolta nella regolazione dell'infiammazione e della biosintesi della chinurenina.

La fase di generazione dei modelli di machine learning ha incluso i pazienti reclutati tramite il trial PGRN-AMPS, uno studio che ha valutato la risposta a 8 settimane in pazienti affetti da DDM in accordo con i criteri del DSM-IV, in trattamento con citalopram/escitalopram. Per la replicazione sono stati utilizzati i dataset dello studio STAR*D (un trial clinico che ha valutato la risposta a 12 settimane in pazienti affetti da DDM in trattamento con citalopram) e ISPC (uno studio che ha valutato la riduzione della severità dei sintomi depressivi dopo 4 e 8 settimane di trattamento con citalopram/escitalopram). Lo studio ha utilizzato i dati relativi a 398 pazienti caucasici trattati con citalopram (PGRN-AMPS), 467 con citalopram (STAR*D) e 165 con citalopram/escitalopram (ISPC). Per tutti e tre i trial, la remissione è stata definita come uno score ≤ 5 alla Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS-C) o uno score ≤ 7 alla Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). La risposta è stata definita come una riduzione $\geq 50\%$ negli score QIDS-C o HDRS alla settimana 4 o 8 rispetto al *baseline*. Nei tre dataset, il 60-66% dei pazienti è stato classificato come *responder* e il 37-50% ha mostrato una remissione alla settimana 8. Tutte le analisi sono state stratificate in base al sesso.

Sono stati utilizzati algoritmi di apprendimento non supervisionato con *Gaussian mixture model* per individuare dei cluster di pazienti in base ai loro punteggi alle scale QIDS-C e HDRS al *baseline* e alle settimane 4 e 8. I test di Kolmogorov-Smirnov e del Chi Quadrato sono stati utilizzati per identificare fattori clinici e sociodemografici associati con i cluster di severità della depressione. Nella seconda fase, è stato costruito un modello per la predizione della remissione/risposta utilizzando algoritmi di *random forest*.

Nella prima fase l'algoritmo ha individuato tre cluster di pazienti in base alla severità dei sintomi depressivi, sia nel dataset di *discovery* che in quelli di replicazione. Gli autori non hanno trovato un'associazione significativa tra questi cluster e i fattori clinici e sociodemografici valutati. Pertanto, i modelli di *machine learning* sviluppati nella fase successiva hanno incluso solamente i dati relativi ai genotipi degli SNP selezionati e alla severità dei sintomi depressivi al *baseline*. Nel dataset di *discovery* PGRN-AMPS il modello costruito utilizzando dati farmacogenomici e la severità dei sintomi depressivi al *baseline* ha mostrato AUC del 73-88% e del 86% nella predizione della risposta e della remissione, rispettivamente.

L'aggiunta al modello dei dati relativi al fenotipo metabolizzatore del *CYP2C19* non ha comportato un miglioramento della capacità predittiva. Nel dataset di replicazione STAR*D, l'accuratezza è risultata del 66% in uomini e donne per la predizione della risposta, del 75% negli uomini e del 65% nelle donne per la predizione della remissione. Nello studio ISPC, l'accuratezza è risultata del 77% negli uomini e del 75% nelle donne per la predizione della risposta e del 77% negli uomini e 74% nelle donne per la predizione della remissione.

Un'accuratezza intorno al 70% rappresenta un miglioramento rispetto al precedente lavoro degli stessi autori che aveva mostrato un'accuratezza del 54% per un modello di predizione della risposta agli SSRI costruito utilizzando soltanto predittori clinici e sociodemografici.

Tra i limiti dello studio vi sono la mancanza di informazioni relativamente ad alcuni fattori che in studi precedenti sono risultati associati ad una ridotta probabilità di risposta agli antidepressivi, quali comorbidità con disturbi d'ansia e stato socioeconomico. Inoltre, non sono stati presi in considerazione fattori quali il BMI o la comorbidità con patologie mediche che potrebbero avere influenzato le interazioni tra il trattamento con SSRI e il profilo genomico.

In conclusione, lo studio suggerisce che approcci di machine learning che integrino la valutazione della severità dei sintomi depressivi al *baseline* con i genotipi di SNP funzionali implicati nella farmacodinamica degli SSRI possano essere d'aiuto per migliorare la capacità di individuare i pazienti che hanno una maggiore probabilità di rispondere al trattamento.

Parole chiave: SSRI, disturbo depressivo maggiore, *TSPAN5*, *ERICH3*, *DEFB1*, *AHR*.

Riferimento bibliografico

[Athreya AP](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2019 Apr 23 [Epub ahead of print].

GASTROENETROLOGIA

ZNF133 È ASSOCIATO ALLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON INFLIXIMAB IN PAZIENTI CON MALATTIE INFIAMMATORIE INTESTINALI

A cura della Dott.ssa Curci Debora

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) sono patologie multifattoriali complesse caratterizzate da flogosi cronica del tratto gastrointestinale e da una squilibrata risposta immunitaria. Il TNF è una delle citochine maggiormente implicate nella patogenesi delle MICI ed è considerata un importante target per il trattamento di tali patologie. L'infliximab (IFX) è un anticorpo monoclonale chimerico diretto contro il TNF, ampiamente utilizzato nella pratica clinica; tuttavia il 13-30% dei pazienti va incontro ad una perdita di risposta durante la fase di induzione (*Primary Non Response*, PNR) e il 23-46% dei pazienti perdono la risposta durante la fase di mantenimento (*Loss Of Response*, LOR). Considerando gli alti costi della terapia ed i considerevoli effetti avversi, l'identificazione di marcatori di risposta è considerato un obiettivo necessario per sviluppare terapie più efficaci e personalizzate nelle MICI.

Nonostante diversi studi abbiano identificato alcune varianti geniche come possibili cause di perdita di risposta nel trattamento con gli anti-TNF, nessuno studio è stato ancora condotto sulla popolazione asiatica.

Questo studio si propone quindi di valutare l'effetto di nuove varianti genetiche sulla risposta clinica in pazienti coreani affetti da MICI in trattamento con IFX con l'obiettivo di identificare dei nuovi possibili marcatori di risposta.

Lo studio è stato condotto su 139 pazienti adulti affetti da MICI in trattamento con IFX reclutati tra il giugno 2002 e l'agosto 2015 presso la clinica gastroenterologica di Seul. Lo schema terapeutico prevedeva l'assunzione di 5 mg/kg di IFX a 0, 2 e 6 settimane per la fase di induzione e la somministrazione del farmaco ogni 8 settimane per la fase di mantenimento. I pazienti sono stati classificati secondo la risposta all'IFX in: risposta primaria vs. PNR e risposta secondaria (a lungo termine) vs LOR. La risposta primaria è stata valutata a 14 settimane dopo la fase di induzione ed è stata definita come riduzione dell'indice di attività, miglioramento della fistola anale nei pazienti affetti da Crohn (CD) e riduzione del sanguinamento rettale nei pazienti con colite ulcerosa (CU). Il PNR è stato definito se il paziente non soddisfaceva questi criteri di risposta primaria; mentre il LOR è stato definito come riacutizzazione della malattia, aggiunta di nuovi trattamenti farmacologici (corticosteroidi o farmaci immunosoppressivi), aumento del dosaggio (5 mg/kg a 10 mg/kg) o avvicinamento delle infusioni e presenza di recidiva in endoscopia in pazienti a cui era stato somministrato l'IFX per più di 6 mesi.

Il DNA genomico è stato isolato utilizzando un kit commerciale della Qiagen (QIAamp DNA Kit; Qiagen, Valencia, CA, USA). Il sequenziamento è stato eseguito mediante Illumina HiSeq2500 (Illumina, San Diego, CA, USA) e l'allineamento rispetto al genoma di riferimento (hg19 *human*) è stato eseguito utilizzando il software *Burrows-Wheeler Aligner*. Sono state identificate le varianti a singolo nucleotide (SNV) e successivamente attraverso l'applicazione di filtri aggiuntivi (profondità minima di lettura; numero minimo di letture alternative), il numero di campioni è stato ridotto a 135. I 135 pazienti sono stati caratterizzati in base alla risposta all'IFX in 21 pazienti non responder (PNR: 15,6 %) e 114 pazienti responder primari (84,4 %). Di questi 114 pazienti, 10 sono stati esclusi a causa di reazioni avverse che hanno impedito la valutazione della risposta a lungo termine. Valutando la risposta a lungo termine; dei 104 pazienti responder primari, 63 hanno mantenuto la risposta anche durante il mantenimento (60,6 %) e 41 hanno perso la risposta nel tempo (LOR: 39,4 %). Dall'analisi è emerso che cinque varianti candidate (rs145751680, rs34069439, rs117642371, rs2228273 e rs34099160) erano associate con la PNR ($p < 5 \times 10^{-6}$). Per convalidare le cinque varianti genetiche candidate associate al PNR, sono stati utilizzati dati di

sequenziamento dell'intero esoma di 77 pazienti tedeschi con CD trattati con IFX o adalimumab. Delle cinque varianti, solo rs34069439, rs2228273 e rs34099160 erano disponibili nel set di dati di convalida. In particolare, è emerso che il polimorfismo nel gene ZNF133 (rs2228273) è associato in maniera statisticamente significativa con la perdita di risposta primaria all'IFX ($p = 0,042$). Il valore P combinato delle coorti di analisi e convalida era di $6,67 \times 10^{-7}$; inoltre ZNF133 è risultato anche significativamente associato con il PNR nel *gene based test* (*combined* $P = 6,49 \times 10^{-7}$). L'rs34099160 è stato escluso da ulteriori analisi, poiché è emersa una forte correlazione con l'rs2228273 ($R^2 = 1.0$). Sulla base di questi risultati, è stata condotta un'analisi multivariata dei fattori di rischio clinici e genetici per il PNR nei pazienti in trattamento con IFX. Nell'analisi di regressione multivariata, la presenza del polimorfismo rs2228273 ($P = 2,10 \times 10^{-5}$) e l'uso concomitante di azatioprina/mercaptipurina ($P = 0,031$; odds ratio (OR) = 4,78), assieme ad un basso peso corporeo (<50 kg; $P = 0,013$; OR = 5,26) alla prima infusione di IFX, sono risultati essere associati alla PNR. Per identificare i fattori di rischio clinici e genetici associati a LOR, è stata valutata la perdita di risposta nei pazienti a cui è stato somministrato IFX per più di 6 mesi. I pazienti con un'elevata attività di malattia alla prima infusione di IFX avevano più probabilità di avere LOR nell'analisi univariata. Analizzando le associazioni genetiche, solo la variante rs9144 è risultata essere significativamente associata alla risposta ($P = 4,60 \times 10^{-6}$). Dall'analisi multivariata la presenza dell'rs9144 ($P = 0,002$; OR = 3,79) e un alto indice di attività di malattia alla prima infusione di IFX ($P = 0,017$; OR = 1,01) sono risultati essere indipendentemente associati con LOR nei pazienti con CD.

Questo studio ha permesso di identificare possibili marcatori clinici e genetici associati alla risposta all'IFX attraverso l'utilizzo di dati di sequenziamento dell'intero esoma di pazienti con MICI. Tali scoperte possono quindi contribuire all'identificazioni di biomarker utili a massimizzare l'efficacia della terapia con IFX.

Parole chiave: malattie infiammatorie croniche intestinali, infliximab, risposta primaria, *whole exome sequencing*, varianti geniche

Riferimento bibliografico

[Jung ES](#) et al. *J Gastroenterol Hepatol* 2019 Mar 9 [Epub ahead of print].

LA METANALISI DEL MESE

LA DELEZIONE DEL GENE BIM PREDICE UNA SCARSA RISPOSTA AGLI INIBITORI DELLE TIROSIN-CHINASI DI EGFR NEL CARCINOMA POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE: UNA META-ANALISI AGGIORNATA

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Gli inibitori delle tirosin-chinasi di EGFR (EGFR-TKIs), come gefitinib, erlotinib e afatinib, sono farmaci largamente impiegati per la terapia del carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) presentante mutazioni del gene EGFR. Nonostante i tassi di risposta a tali farmaci, usati come terapia di prima linea, siano elevati, una consistente proporzione di pazienti con NSCLC mutato per EGFR manifesta una resistenza intrinseca o acquisita al trattamento. Un ruolo chiave nella farmacodinamica degli EGFR-TKIs è svolto dalla proteina pro-apoptotica BIM, nota anche come proteina B-cell lymphoma-2-like, appartenente alla famiglia delle BCL-2. L'attivazione di BIM è, infatti, essenziale per mediare l'apoptosi indotta dagli EGFR-TKIs nel NSCLC, in quanto il suo dominio BH3 è risultato legarsi alle proteine anti-apoptotiche bcl-2 (bax, bak), inibendone l'attività. Nel 2012 è stata identificata in pazienti asiatici una delezione nell'introne 2 del gene BIM, risultante nella generazione di isoforme mancanti il dominio BH3 della proteina e riconosciute essere responsabili dell'insorgenza di resistenza intrinseca agli EGFR-TKIs *in vitro*. Sono stati condotti numerosi studi nell'uomo finalizzati ad analizzare la correlazione tra la delezione intronica di BIM e la risposta agli

EGFR-TKIs in pazienti affetti da NSCLC. Essendo, però, i risultati di tali studi contrastanti tra di loro, l'obiettivo del presente studio è stato quello di condurre una revisione sistematica della letteratura, seguita da meta-analisi, finalizzata ad offrire una stima conclusiva dell'associazione tra la delezione del gene BIM e la risposta clinica agli inibitori delle tirosin-chinasi di EGFR in pazienti affetti da NSCLC.

La ricerca bibliografica è stata condotta ad ottobre 2018 utilizzando i databases PubMed ed Embase. Sono stati definiti eleggibili tutti gli studi in cui: i) venisse valutata l'associazione tra la delezione di BIM e la risposta agli EGFR-TKIs in pazienti affetti da NSCLC; ii) fossero disponibili i dati relativi all'associazione farmacogenetica in studio e si avesse accesso all'intero documento pubblicato. Sono stati estratti, per ciascun studio eleggibile, i dati relativi a: primo autore ed anno di pubblicazione, paese d'origine dei pazienti arruolati, disegno dello studio, numerosità campionaria, frequenza della delezione, stadio clinico del tumore, tipo di EGFR-TKI utilizzato e linea di trattamento. Gli outcomes primari valutati sono stati il tasso di risposta oggettivo (ORR), il tasso di controllo della malattia (DCR) e la sopravvivenza globale (OS). Come outcome secondario è stata, invece, valutata la sopravvivenza libera da progressione (PFS). La stima meta-analitica dell'associazione tra la delezione di BIM e ORR o DCR è stata espressa come OR e relativo intervallo di confidenza (IC 95%), applicando una meta-analisi ad effetti fissi. La correlazione tra la delezione e la sopravvivenza, espressa come OS o PFS, è stata calcolata come HR e relativo IC 95% utilizzando una meta-analisi ad effetti random. È stata effettuata un'analisi di sensibilità al fine di stimare la robustezza delle stime meta-analitiche ottenute. Per esplorare le eventuali fonti di eterogeneità tra gli studi è stata condotta una meta-regressione. Infine, il bias di pubblicazione è stata valutato tramite funnel plot e funnel plot di Begg.

Dei 345 studi emersi dalla ricerca bibliografica, 14 sono stati inclusi nella sintesi qualitativa. Tredici studi su 14 sono stati condotti su pazienti di etnia asiatica, mentre nel rimanente studio sono stati arruolati pazienti latino americani. Gefitinib, erlotinib e afatinib sono stati i farmaci investigati, rispettivamente, in 13, 11 e 2 studi. La PFS è stata analizzata come outcome in tutti i 14 i lavori, ORR è stata valutata in 8, DCR in 7 ed OS in 6. Dalla meta-analisi è emerso come la delezione del gene BIM sia correlata in maniera statisticamente significativa a ORR ($N_{\text{studi}}=8$, $N_{\text{pazienti}}=1012$; OR 0.49, 95% CI 0.34-0.70, $P<0.001$, $I^2=33\%$), DCR ($N_{\text{studi}}=7$, $N_{\text{pazienti}}=972$; OR 0.50, 95% CI 0.30-0.84, $P=0.009$, $I^2=0\%$), OS ($N_{\text{studi}}=6$, $N_{\text{pazienti}}=655$; OR 1.65, 95% CI 1.48-1.83, $P<0.00001$, $I^2=82\%$) e PFS ($N_{\text{studi}}=14$, $N_{\text{pazienti}}=2114$; OR 1.66, 95% CI 1.27-2.17, $P<0.00001$, $I^2=79\%$). Tuttavia, è emersa eterogeneità tra gli studi nelle meta-analisi di associazione della delezione con OS e PFS. Stratificando in base al paese di arruolamento dei pazienti (Corea del Sud + Taiwan vs altri paesi), la significatività statistica della stima di associazione tra la delezione di BIM e OS si è mantenuta nelle due sotto-analisi e l'eterogeneità è scesa allo 0% in entrambi i sottogruppi. Al contrario, per quanto riguarda l'eterogeneità tra gli studi evidenziatasi nella meta-analisi per PFS, a fronte della conduzione di analisi per sottogruppi e meta-regressione, nessuna variabile analizzata è risultata essere causa di tale eterogeneità. Infine, non sono emerse evidenze di bias di pubblicazione in nessuna delle meta-analisi condotte, ad eccezione di quella in cui l'outcome studiato era PFS.

Dalla presente meta-analisi si evince come l'essere portatori della delezione del gene BIM sia predittivo di una scarsa risposta al trattamento con EGFR-TKIs (espressa come ORR e DCR) nonché di una peggiore sopravvivenza (espressa come OS e PFS) rispetto ai soggetti wild-type. Tale evidenza supporta quindi l'ipotesi che la delezione influenzi la risposta clinica agli EGFR-TKIs e che possa contribuire alla resistenza al trattamento con tali farmaci. Nonostante tale meta-analisi rappresenti, ad oggi, lo studio più esaustivo condotto nell'ambito, i risultati ivi ottenuti devono essere interpretati alla luce dei seguenti limiti: i) è emersa la possibile presenza di publication bias nella meta-analisi per il PFS; inoltre, la causa dell'eterogeneità tra gli studi ivi emersa non è stata identificata né tramite analisi per sottogruppi, né mediante meta-regressione: alla luce di ciò la stima meta-analitica ottenuta per la correlazione tra la delezione e PFS non può considerarsi conclusiva; ii) non sono state seguite pedissequamente le linee guida PRISMA nella conduzione della presente revisione sistematica (non è stato registrato il protocollo metodologico a priori della conduzione dello studio; non è stata valutata la qualità degli studi primari inclusi

nella revisione). Al fine di determinare se le evidenze farmacogenetiche riportate nel presente studio fossero conclusive, sarebbe stato interessante condurre un'analisi sequenziale degli studi.

La delezione del gene BIM è predittiva della risposta clinica agli inibitori delle tirosin-chinasi di EGFR e della sopravvivenza globale in pazienti affetti da NSCLC.

Parole chiave: NSCLC, inibitori delle tirosin-chinasi di EGFR, BIM

Riferimento bibliografico

Su W et al. *Medicine (Baltimore)* 2019, 98(10):e14568.



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF. È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311. sif.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore Coordinatore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Carginin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Debora Curci (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF
<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: casalesif@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.
