



Newsletter Numero 120 – Settembre 2019

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

Sommario

Neuropsichiatria

- Studio di associazione genome-wide sull'aumento di peso indotto da antipsicotici in pazienti europei e africani-americani
- Un metodo quantitativo UPLC-MS/MS per la misurazione della dexmedetomidina dal plasma di pazienti pediatrici: correlazione con polimorfismi genetici
- I test genetici per CYP2D6 e CYP2C19 consentono risultati migliori nei trattamenti con antidepressivi e antipsicotici

Immunomodulazione

- Associazione tra variante del gene BCL2, regolazione dell'espressione del BCL2 e risposta ad adalimumab in pazienti con idrosadenite suppurativa

La metanalisi del mese

- Analisi dell'associazione tra polimorfismi genetici e l'insorgenza di osteonecrosi in pazienti in terapia con steroidi: uno studio di meta-analisi

NEUROPSICHIATRIA

STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE* SULL'AUMENTO DI PESO INDOTTO DA ANTIPSIKOTICI IN PAZIENTI EUROPEI E AFRICANI-AMERICANI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La schizofrenia è un disturbo psichiatrico fortemente invalidante, caratterizzato da una prevalenza dell'1%. I farmaci antipsicotici utilizzati nel trattamento della schizofrenia possono indurre importanti effetti avversi, tra i quali vi sono aumento di peso, diabete di tipo 2 e disturbi cardiovascolari. L'aumento di peso indotto da antipsicotici è una delle principali ragioni alla base della non aderenza e dell'interruzione del

trattamento con questi farmaci. Il rischio di aumento di peso varia in base all'antipsicotico e sembra avere una importante componente ereditaria. Studi precedenti supportano il ruolo di varianti localizzate a livello di diversi geni, tra i quali il gene associato all'obesità *FTO* e geni che codificano per il recettore serotoninergico *HTR2C*, leptina, recettore per la leptina, neuropeptide Y, recettore per l'orexina e recettore 4 per la melanocortina.

Gli autori hanno condotto uno studio di *genome-wide association* (GWA) sull'aumento di peso indotto da antipsicotici in pazienti con schizofrenia o disturbo schizoaffettivo, di origine africana-americana o europea. Lo studio ha incluso un campione di *discovery* e uno di replicazione. Il campione di *discovery* comprendeva 201 pazienti con una diagnosi di schizofrenia o disturbo schizoaffettivo in accordo con i criteri del DSM-III, DSV-IV o DSM-IV-TR, reclutati presso quattro siti (Charite University Medicine di Berlino, Case Western Reserve University di Cleveland, Hillside Hospital di Glen Oaks e Centre for Addiction and Mental Health di Toronto). Tra i criteri di esclusione vi erano gravidanza, presenza di un disturbo cerebrale organico o di trauma cranico severo, condizioni mediche non stabili, storia di dipendenza da sostanze, presenza di ritardo mentale o diagnosi di un disturbo della personalità. È stato considerato un aumento di peso significativo un aumento pari ad almeno il 7% rispetto al *baseline*. Lo studio ha incluso anche un campione di replicazione comprendente bambini e adolescenti (range: 4-17 anni) di origine europea, con una diagnosi di disturbo dello spettro autistico in accordo con i criteri del DSM-IV, trattati per 8 settimane con risperidone. Il campione di *discovery* è stato genotipizzato utilizzando array Illumina Omni2.5, quello di replicazione utilizzando l'Infinium PsychArray.

In aggiunta ai parametri normalmente utilizzati per il controllo di qualità dei dati di GWA, le analisi sono state corrette per sito di reclutamento, tipo di farmaco (clozapina e olanzapina sono stati considerati farmaci ad alto rischio di indurre aumento di peso, gli altri come farmaci a medio/basso rischio), durata dello studio e prime due componenti della *principal component analysis*. L'*outcome* primario dello studio è stata la variazione percentuale del peso corporeo. Inoltre, è stato utilizzato come *outcome* secondario binario l'aumento di peso (definito come un aumento pari ad almeno il 7% rispetto al *baseline*). Le analisi sono state condotte nel sottocampione di partecipanti con origine europea ($n = 144$) e nell'intero campione. Inoltre, gli autori hanno valutato l'associazione tra l'aumento di peso indotto da antipsicotici e un *polygenic risk score* realizzato utilizzando le *summary statistics* di un precedente GWAS sul BMI. Infine, gli autori hanno utilizzato vari tool per valutare *in silico* l'effetto funzionale dei *top hits* individuati.

Tra i 201 partecipanti, 60 (29,9%) hanno mostrato un aumento di peso superiore al 7% rispetto al *baseline*. Nel campione combinato (analisi trans-etnica) è stata osservata un'associazione significativa tra la variante intronica e potenzialmente funzionale rs1525085 ($\beta = 0,41$, $p = 3,15E-09$), localizzata nel gene diacylglycerol kinase beta (*DGKB*) e l'aumento percentuale di peso. Questo risultato sembra guidato in particolare dal campione di partecipanti di origine africana-americana ($\beta = 0,58$, $p = 5,73E-05$) ma la variante ha mostrato una significatività nominale anche nel campione dei partecipanti di origine europea ($\beta = 0,27$, $p = 0,002$). Nella meta-analisi dei due campioni, lo SNP non ha raggiunto la soglia di significatività *genome-wide* ma è risultata la variante più significativa ($Z = 4,79$, $p = 1,68E-06$).

Nel sottocampione di origine europea, nessuna variante ha raggiunto la soglia di significatività *genome-wide*. I *top hits* sono stati individuati a livello dei geni *STC2* (rs7720513, $\beta = 0,41$, $p = 1,26E-06$) e *CIDEA* (rs62097526, $\beta = 0,39$, $p = 3,59E-06$). Gli autori non hanno rilevato un'associazione significativa tra un *polygenic risk score* che includeva varianti associate al BMI e l'aumento di peso indotto da antipsicotici. Tuttavia, tra i *top hits* è stata osservata una over-rappresentazione di geni precedentemente associati all'obesità (*RGS7*, *SDK1* e *MAGI2*) e al BMI (*AKAP6*, *MAGI2*). Nessuno dei *top hits* è risultato associato in maniera significativa con l'aumento di peso indotto da antipsicotici nel campione di replicazione, ma alcune varianti hanno mostrato la stessa direzione d'effetto (e.g. rs1546733, localizzata nel gene *CBLB*, $p = 6,08E-06$ e rs2192883, localizzata nel gene *MAGI2*, $p = 1,52E-05$).

Il gene *DGKB* è un candidato plausibile, dal punto di vista biologico, per un coinvolgimento nell'aumento di peso indotto da antipsicotici. Il gene codifica per una proteina che fosforila il diacilglicerolo in acido fosfatidico. Alcune varianti localizzate in questo gene sono state precedentemente associate con la clearance dell'insulina e con il rischio di diabete di tipo 2.

Tra i limiti dello studio vi sono la dimensione ridotta del campione e l'utilizzo di un campione di replicazione con caratteristiche molto diverse rispetto al campione di *discovery* (ad esempio età, diagnosi e tipo di antipsicotico utilizzato).

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra la variante rs1525085, localizzata nel gene DGKB, e l'aumento di peso indotto da antipsicotici in pazienti con diagnosi di schizofrenia o disturbo schizoaffettivo.

Parole chiave: antipsicotici, schizofrenia, DGKB

Riferimento bibliografico

[Maciukiewicz M](#) et al. *Schizophr Res* 2019 Aug 22 [Epub ahead of print]

UN METODO QUANTITATIVO UPLC-MS/MS PER LA MISURAZIONE DELLA DEXMETETOMIDINA DAL PLASMA DI PAZIENTI PEDIATRICI: CORRELAZIONE CON POLIMORFISMI GENETICI

A cura delle Dott.sse Martina Franzin e Marianna Lucafò

La dexmedetomidina, agonista selettivo del recettore α_2 adrenergico, esplica la sua azione simpaticolitica, analgesica e sedativa a livello centrale senza causare depressione respiratoria e con minor prevalenza di effetti emodinamici e cognitivi. Nonostante queste sue proprietà la rendano un farmaco sempre più usato in pediatria per diverse indicazioni, il suo ruolo nell'anestesia è limitato dato che la capacità di raggiungere la sedazione non è coerente tra tutti i pazienti. La determinazione della concentrazione di dexmedetomidina nel plasma di pazienti in seguito a trattamento con uguale dosaggio del farmaco ha evidenziato infatti variabilità interindividuale sotto il profilo farmacocinetico, anche se non è ancora noto se ciò possa dipendere da differenze nell'assorbimento, nella distribuzione, nel metabolismo o nell'eliminazione del farmaco.

Data l'influenza anche di fattori genetici, lo studio di polimorfismi presenti nei geni codificanti per enzimi metabolici potrebbe aiutare a spiegare la variabilità nella risposta alla dexmedetomidina. In particolare, l'espressione dell'enzima citocromo P450 2A6 (*CYP2A6*), avente un ruolo principale nel metabolismo epatico del farmaco, sembra essere regolata da diversi polimorfismi. Nonostante studi precedenti abbiano dimostrato che variazioni geniche non siano determinanti nella *clearance* della dexmedetomidina, l'investigazione dell'influenza del gene *CYP2A6* sull'efficacia di questo farmaco richiede un'analisi più approfondita soprattutto tenendo in considerazione che campioni raccolti in modo inadeguato e politerapie possono avere un impatto significativo sul risultato.

La cromatografia liquida ad alta prestazione associata alla spettrometria massa tandem (UPLC MS/MS) è considerata la tecnica analitica d'elezione per la determinazione di farmaci nel plasma di pazienti pediatrici data la sua alta sensibilità, robustezza e grande capacità di campionamento.

Di conseguenza, questo studio si propone di analizzare la correlazione tra polimorfismi candidati presenti nel gene *CYP2A6* e le concentrazioni di dexmedetomidina nel plasma mediante l'utilizzo di un metodo specifico e sensibile all'interno di una coorte di pazienti pediatrici.

Lo studio è stato condotto su 260 pazienti pediatrici di età compresa tra i 4 ed i 72 mesi che avevano in programma interventi chirurgici sotto anestesia arruolati presso la clinica Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Cina. Lo schema terapeutico richiedeva l'assunzione intranasale di $3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ di dexmedetomidina per la sedazione preoperatoria.

I campioni di sangue sono stati raccolti prima e dopo 60 minuti dalla somministrazione del farmaco e processati per ottenere il plasma per le analisi farmacocinetiche.

Per quanto riguarda la determinazione della concentrazione di dexmedetomidina mediante analisi UPLC MS/MS, 10 μL del campione processato sono stati iniettati nel sistema cromatografico *Ultimate 3000 RSLC system* associato al sistema di massa *TSQ Quantum Ultra triple-quadrupole*. L'analita è stato separato

eluendo secondo gradiente con la fase mobile A (acqua e 1% di acido formico) e B (acetonitrile) nella colonna *Acquity BEH C18* ad un flusso di 0,3 mL·min⁻¹. Nell'analisi è stato utilizzato un isotopo della dexmedetomidina stabile (medetomidine-d3) come standard interno.

Per quanto riguarda l'analisi farmacogenetica, il DNA totale è stato estratto mediante il metodo di estrazione fenolo-cloroformio. Gli SNPs del gene *CYP2A6* (rs56113850, rs373949046, rs7250713, rs7248240 e rs835309) sono stati analizzati mediante la piattaforma *MassArrayiPLEX*.

La preparazione del campione è uno step fondamentale per la messa a punto di un metodo UHPLC-MS/MS con una buona accuratezza. Gli autori hanno sperimentato diversi metodi di preparazione del campione e diversi solventi per l'estrazione dell'analita. L'estrazione liquido-liquido con etile acetato è risultata la preparazione con una più alta percentuale di recupero della dexmedetomidina in grado di minimizzare maggiormente l'effetto matrice. In particolare, le percentuali della resa di estrazione alle concentrazioni di 0,1, 2 e 7 ng/mL sono rispettivamente 80, 82 ed 86 % e l'effetto matrice alle medesime concentrazioni corrisponde a 100, 98 e 101 %. Inoltre, gli autori hanno valutato la stabilità dell'analita in plasma in diverse condizioni di stoccaggio ed hanno concluso che la dexmedetomidina è stabile per 4 ore a 20°C, per 15 ore a 15°C e per almeno 38 giorni a -80°C. La stabilità del farmaco non risulta inoltre essere influenzata da tre cicli di scongelamento del campione plasmatico. Dopo aver ottimizzato i parametri per l'UPLC-MS/MS, gli autori hanno determinato la concentrazione plasmatica della dexmedetomidina 60 minuti dopo la somministrazione del farmaco. Somministrando lo stesso dosaggio, le concentrazioni dell'analita, quantificate nel plasma dei pazienti pediatrici, si aggiravano tra 0,120-1,104 ng/mL, dato che ha confermato la significativa variabilità nei livelli plasmatici del farmaco. L'analisi farmacogenetica ha evidenziato per la prima volta una correlazione tra lo SNP rs835309 del gene *CYP2A6* con le concentrazioni plasmatiche. In particolare, è stato riscontrato in pazienti pediatrici con l'allele T di *CYP2A6* (rs835309) bassi livelli di farmaco nel plasma (TT+TG vs GG, *p-value* =0,025). Le medie delle concentrazioni del gruppo TT+TG (n=72) e del gruppo GG (n=185) erano rispettivamente 0,40±0,13 ng/mL e 0,46±0,16 ng/mL.

Questo studio ha permesso di ottimizzare un metodo sensibile per il dosaggio della dexmedetomidina. Inoltre, gli autori hanno identificato per la prima volta un'associazione significativa tra il polimorfismo rs835309 del gene *CYP2A6* ed una bassa concentrazione plasmatica di dexmedetomidina nei pazienti pediatrici.

Parole chiave: dexmedetomidina; UPLC MS/MS, farmacogenetica, polimorfismo, *CYP2A6*

Riferimento bibliografico

[Guan Y](#) et al. *BiomedChromatogr* 2019 Aug 16:e4683 [Epub ahead of print]

I TEST GENETICI PER *CYP2D6* E *CYP2C19* CONSENTONO RISULTATI MIGLIORI NEI TRATTAMENTI CON ANTIDEPRESSIVI E ANTIPSICOTICI

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

I polimorfismi nei geni che codificano per il *CYP2D6* e il *CYP2C19* possono determinare alterazioni del metabolismo della maggior parte dei farmaci psicotropi e quindi aumentano le probabilità di non risposta o reazioni avverse al farmaco. Le prime linee guida che raccomandano variazioni della dose basate sui fenotipi del *CYP450* sono state pubblicate a partire dal 2013. Tali raccomandazioni suggeriscono che i metabolizzatori lenti (PM) del *CYP2D6* che assumono aloperidolo dovrebbero ridurre la dose del 50% o scegliere un farmaco alternativo e che i metabolizzatori ultra-rapidi (UM) del *CYP2C19* dovrebbero evitare l'amitriptilina. Inoltre i PM del *CYP2D6* che assumono aloperidolo hanno un rischio maggiore di sintomi extrapiramidali e, tra questi, coloro che assumono risperidone hanno un aumentato rischio di allungamento dell'intervallo QT e/o parkinsonismo. Pochi studi, però, hanno esaminato l'esito clinico dopo che a medici e pazienti sono state fornite informazioni sui genotipi *CYP2D6* e *CYP2C19* dei pazienti. Pertanto, gli autori

hanno condotto uno studio per valutare l'implementazione dei test farmacogenetici nella pratica clinica, determinarne l'utilità, seguendo i pazienti prima e dopo la comunicazione degli esiti dell'analisi, e valutando le opinioni dei medici e dei pazienti.

I dati dei pazienti arruolati sono stati raccolti in modo prospettico per tre mesi, in tre incontri: prima dell'inizio della terapia e dopo 6 e 12 settimane di terapia. I pazienti erano per lo più malati cronici e avevano già assunto antipsicotici e antidepressivi, ai quali risultavano resistenti. Per i primi 45 pazienti sono stati determinati sei alleli del *CYP2D6* (*3, *4, *5, *10, *17, *41) e sono state determinate le variazioni del numero di copie nel gene; inoltre sono stati determinati tre alleli del *CYP2C19* (*2, *3 e *17). Le analisi genetiche sono state eseguite usando saggi TaqMan®. Per la restante parte di pazienti (n = 35), la genotipizzazione è stata ampliata per valutare nove alleli (*2, *3, *4, *5, *6, *10, *17, *29, *41) e varianti del numero di copie del *CYP2D6*. Sono stati anche raccolti i dati relativi ai farmaci assunti dai pazienti, al momento dello studio e in precedenza, all'anamnesi, alle attuali condizioni mediche e all'anamnesi familiare. Dopo l'analisi genetica, ai medici è stato fornito un breve rapporto di due pagine che colloca i farmaci comunemente prescritti (18 antidepressivi e 10 antipsicotici) in uno dei tre contenitori con codice colore: rosso, giallo e verde. I farmaci nel cestino rosso sono quelli principalmente metabolizzati dal *CYP2D6* o dal *CYP2C19*, che dovrebbero essere evitati a causa del genotipo del paziente, quelli nel cestino verde possono essere assunti in dosaggi standard e i farmaci nel cestino giallo dovrebbero essere assunti con più cautela e monitoraggio frequente.

Le opinioni dei medici in merito allo stato clinico dei loro pazienti, dopo aver ricevuto le informazioni genetiche per *CYP2D6* e *CYP2C19*, sono state valutate utilizzando il questionario di follow-up sulla farmacogenetica in psichiatria (PIP-FQ). Nel sondaggio, i medici sono stati interrogati sulla soddisfazione del test farmacogenetico, sul miglioramento dello stato clinico dei loro pazienti e sul futuro della farmacogenetica in psichiatria. Il PIP-FQ è stato inviato ai medici via fax o e-mail 6–8 settimane dopo aver ricevuto il risultato dell'analisi di farmacogenetica. Inoltre, all'ingresso nello studio, in tutti i pazienti è stata valutata la tossicità della terapia usando una scala UKU per la valutazione degli effetti collaterali modificata. I metabolizzatori non normali potrebbero sviluppare più effetti collaterali rispetto ai normali (NM). Il punteggio minimo era 0 e il punteggio più alto 33. Infine, è stato assegnato un punteggio di attività al *CYP2D6* basato sul genotipo. A ciascun allele è stato assegnato un valore compreso tra 0 e 2 in base al livello di attività e la somma dei due alleli equivaleva al punteggio di attività del *CYP2D6*. Successivamente, questo punteggio è stato modificato sulla base dell'inibizione del *CYP2D6*: gli autori hanno moltiplicato il punteggio di attività dell'enzima di 0,5 per l'inibizione debole e 0 per l'inibizione forte. Il punteggio dell'attività moltiplicato per il fattore inibitorio ha fornito il punteggio complessivo dell'attività. Poiché non esistono linee guida comparabili per il *CYP2C19*, nessuna metodologia simile è stata applicata per questa analisi.

Il campione raccolto consisteva di 80 pazienti con un'età media di 43 anni a cui sono state diagnosticate schizofrenia o disturbo schizoaffettivo (n = 43), depressione o ansia (n = 32) e altri disturbi psichiatrici (n = 5). I partecipanti sono stati trattati con una varietà di farmaci e, nella maggior parte dei casi, hanno assunto più di un antipsicotico o antidepressivo. La maggior parte dei pazienti era NM sia per *CYP2D6* (n = 66, 82%) che per *CYP2C19* (n = 54, 67,5%). Il 23% (n = 14) dei medici ha riferito che i loro pazienti avevano un risultato migliore dopo i test di farmacogenetica. Il 41% (n = 25) dei medici non ha riportato variazioni nei risultati dei pazienti. La scala UKU per gli effetti avversi della terapia è stata completata da 77 partecipanti e aveva un punteggio mediano di 4. Non vi era alcuna differenza statisticamente significativa tra i punteggi UKU e i vari tipi di metabolizzatori sia per *CYP2D6* che per *CYP2C19*. Confrontando il numero di trattamenti precedenti tra pazienti NM e pazienti non NM, sia per *CYP2D6* che per *CYP2C19*, non è emersa nessuna differenza statisticamente significativa.

Lo scopo di questo studio era valutare l'esito del trattamento dopo che sia il paziente che il medico avevano ricevuto il risultato del test genetico per *CYP2D6* e *CYP2C19*. Quasi un quarto dei medici ha riferito di credere che il proprio paziente fosse migliorato dopo aver preso in considerazione le raccomandazioni sul trattamento. Più specificamente, dei 39 pazienti che sono stati valutati in modo prospettico, 14 hanno beneficiato dei test di farmacogenetica e nessun paziente ha avuto un esito peggiore dopo le modifiche del

trattamento basate sul genotipo. Ciò è coerente con i risultati di uno studio precedente che ha mostrato che l'80% dei medici riteneva che i test di farmacogenetica sarebbero diventati uno standard comune nel trattamento dei farmaci psichiatrici (Walden et al. *Psychiatry Res* 2015, 229 (3):913-18). Inoltre, ulteriori studi, con una popolazione più ampia e bene caratterizzata, sono necessari per comprendere meglio gli effetti delle varianti del CYP2D6 e la loro correlazione con la comparsa di eventi avversi.

A seguito dell'analisi farmacogenetica, quasi uno psichiatra su quattro ha riportato un certo grado di miglioramento clinico e nessun medico ha dichiarato che le condizioni cliniche del paziente sono peggiorate.

Parole chiave: malattie psichiatriche, psicofarmaci, *CYP2D6*, *CYP2C19*

Riferimento bibliografico

[Walden LM](#) et al. *Psychiatry Res* 2019, 279:111-115

IMMUNOMODULAZIONE

ASSOCIAZIONE TRA VARIANTE DEL GENE *BCL2*, REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE DEL *BCL2* E RISPOSTA AD ADALIMUMAB IN PAZIENTI CON IDROSADENITE SUPPURATIVA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'idrosadenite suppurativa (HS) è una patologia cronica cutanea con una prevalenza tra lo 0.5 ed il 4%, causata dall'occlusione dei follicoli, alla base della formazione di comedoni, noduli dolorosi, ascessi e cicatrici (Saunte DML and Jemec GBE *J Am Med Assoc* 2017, 318(20):2019–32; De Vita and McGonagle *J Allergy Clin Immunol* 2018, 141(5):1953). Fattori di rischio acquisiti e costitutivi includono il fumo, l'obesità, le infezioni e la storia familiare. Fattori genetici, inoltre, hanno un ruolo importante nella patogenesi della malattia, con una possibile penetranza del 100% come tratto autosomico dominante (Saleh Al-Ali et al. *Exp Dermatol* 2010,19(9):851-3). Adalimumab rappresenta l'unico trattamento approvato da EMA e FDA per le forme moderate-gravi, con un tasso di risposta globale tra il 42 ed il 50% (Kimball et al. *N Engl J Med* 2016a, 375(5):422–34). Considerata la ridotta conoscenza dell'eziopatogenesi dell'HS e della risposta differenziale agli anti-TNF, scopo di questo studio è stato quello di identificare possibili varianti genetiche associate alla risposta all'adalimumab.

L'analisi è stata condotta su soggetti arruolati in 2 studi di fase 3 controllati con placebo (PIONEER I e II), il cui *endpoint* primario era la % di pazienti che ottenevano una risposta clinica (*Hidradenitis Suppurative Clinical Response*, HiSCR) a 12 settimane, definita come riduzione di almeno il 50% della conta di ascessi e noduli infiammatori (AN.COUNT) rispetto al basale. Con adalimumab è stata raggiunta una HiSCR del 41,8% (29,8% con placebo) nello studio PIONEER I, e del 58,9% (36,8% con placebo) nel PIONEER II. Per aumentare il potere statistico dell'analisi GWAS, è stato calcolato il cambiamento rispetto al basale (*Fold Change*) della componente principale dell'HiSCR, tramite il rapporto $\text{AN.COUNT}_{12 \text{ settimane}} / \text{AN.COUNT}_{\text{basale}}$ normalizzato (Log_2FC).

Entrambi gli studi prevedevano 3 periodi, in cui pazienti inizialmente in trattamento con il placebo venivano successivamente trattati con il farmaco. Il periodo 1 (24 settimane) prevedeva una randomizzazione 1:1 ad adalimumab 40 mg a settimana o placebo. Nel PIONEER I, i pazienti inizialmente trattati con placebo venivano trattati nel periodo 2 con il farmaco, mentre nel PIONEER II il gruppo trattato con placebo continuava il trattamento fino alla settimana 36 per essere poi trattato con adalimumab nel periodo 3 (fase di estensione in aperto). Un sottogruppo, utilizzato per l'analisi di validazione, dopo 12 settimane di

trattamento veniva sottoposto a *wash-out* con successivo ri-trattamento a base di adalimumab e misurazione del valore di AN.COUNT a 4, 8, 12, 18, 24, 36 e 48 settimane dalla ripresa del farmaco.

Complessivamente, 445 pazienti arruolati nei 2 studi hanno dato il consenso ad essere sottoposti al prelievo per la genotipizzazione. Dall'analisi è emersa un'associazione significativa con la risposta ad adalimumab a 12 settimane per 5 SNP del cromosoma 18, localizzati sul secondo introne del gene *BCL2*, relativamente comuni in afroamericani e asiatici. Un'associazione significativa è stata riscontrata anche ad una valutazione intermedia ($p=0.0003$ e 0.037 rispettivamente a 4 e 8 settimane). Inoltre, nei pazienti ri-trattati dopo un periodo di *wash-out* è stata riscontrata un'associazione significativa tra la risposta ed il genotipo *rs59532114* ($p=0.00017$ alla settimana 12 e 0.038 alla settimana 72). I portatori dell'allele minore presentavano una risposta inadeguata rispetto agli altri pazienti, con un aumento del valore AN.COUNT rispetto al basale.

Considerata la posizione degli SNP, è stata effettuata un'analisi di espressione per valutare l'impatto delle varianti sull'espressione dei geni *BCL2*, *PHLPP1*, *KDSR*, *VPS4B* e *SERPINB5*. In particolare, l'*rs59532114* rappresenta un eQTL per il gene *BLCL2* negli afroamericani e nei cinesi Han nei dati raccolti nel progetto *Genotype-Tissue Expression* (GTEx). Dal progetto *Rare genetic variants in health and disease* è emerso inoltre che l'*rs67645778*, in LD con l'*rs59532114*, rappresenta un eQTL per il gene *BLCL2*. Al fine di confermare l'effetto sull'espressione del *BCL2*, è stato condotto uno studio su 72 linee cellulare linfoblastoidi (LCL) con genotipo *rs59532114* noto, omozigoti per l'allele maggiore ($n=18$) o minore ($n=18$) o eterozigoti ($n=34$). Lo studio ha mostrato un'alta espressione del *BCL2* negli omozigoti per l'allele minore rispetto agli omozigoti per l'allele maggiore ($p=5.75E-04$). L'espressione degli altri geni non era associata con lo status allelico. È stato inoltre rilevato che l'aumento dell'attività trascrizionale possa essere specifico per tipo cellulare. Per valutare i meccanismi con cui l'adalimumab può influenzare l'espressione del *BCL2* nell'HS, è stato infine condotto uno studio su cellule *knockdown* per *TNF* e *BCL2*. L'assenza del gene *TNF- α* ha determinato una riduzione significativa dell'espressione del *BCL2* (e non viceversa), pertanto l'adalimumab potrebbe ridurre i livelli di *BCL2* in parte attraverso l'effetto sul *TNF- α* .

Questo studio è il più ampio GWAS su pazienti con HS, condotto con l'obiettivo di valutare l'associazione tra la presenza di varianti geniche e la risposta all'adalimumab. È stato identificato in particolare un locus singolo nel gene *BCL2* con potenziale ruolo nella fisiopatologia della risposta all'adalimumab nell'HS. *BCL2* agisce come proteina regolatoria anti-apoptotica che blocca la morte cellulare e regola l'omeostasi della cute dei follicoli (Abe and Tanaka *J. Dev. Biol.* 2017;5(4):12). In precedenza, in pazienti affetti da psoriasi è stato dimostrato che gli anti-TNF regolano l'espressione del *BCL2* (Kokolakis 2012) e di recente il gene è stato associato con l'irsutismo in soggetti giapponesi (Endo et al *Sci Rep.* 2018 Jun 12;8(1):8974).

In conclusione, questo studio fornisce evidenze di un legame tra varianti geniche e risposta all'adalimumab e del ruolo della soppressione di fattori anti-apoptotici, come *BCL2*, nel trattamento dell'HS.

Limite dello studio è rappresentato dalle dimensioni del campione, pur derivando dai 2 più ampi studi condotti sull'HS.

Parole chiave: idrosadenite suppurativa, *BCL2*, adalimumab

Riferimento bibliografico

[Liu M](#) et al. *J Invest Dermatol* 2019 Aug 26 [Epub ahead of print]

ANALISI DELL'ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI GENETICI E L'INSORGENZA DI OSTEONECROSI IN PAZIENTI IN TERAPIA CON STEROIDI: UNO STUDIO DI META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

L'osteonecrosi della testa del femore indotta da steroidi (SONFH) è una reazione avversa che si manifesta nel 9-40% dei pazienti in trattamento con glucocorticoidi. Ad oggi, non sono noti i meccanismi patofisiologici sottesi all'insorgenza di SONFH. A tale proposito, si ipotizza che disordini del metabolismo lipidico, un'anomala microcircolazione e alterazioni dell'osteogenesi siano co-responsabili del verificarsi della necrosi del tessuto osso a livello della testa femorale e della disfunzione articolare che ne consegue. L'utilizzo a lungo termine o massivo di steroidi è ormai riconosciuto essere un importante fattore scatenante SONFH. Tuttavia, il fatto che non tutti i soggetti in terapia con glucocorticoidi manifestino tale reazione avversa ha supportato l'ipotesi che la componente genetica individuale possa modulare il rischio di sviluppare SONFH. In letteratura sono presenti alcune meta-analisi in cui è stata analizzata la correlazione tra polimorfismi genetici e il verificarsi di SONFH in pazienti in trattamento con glucocorticoidi. Tra le varianti più frequentemente investigate si annoverano SNPs a carico dei geni PAI-1 (rs1799768), ABCB1 (rs1045642, rs2032582, G2677T/A), ApoB (rs693, rs1042031) e MTHFR (rs1801133). Tuttavia, si evidenzia come in tali lavori si evinca una forte eterogeneità tra gli studi primari, non spiegata dai fattori clinici ivi analizzati. Alla luce di ciò, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di condurre una revisione sistematica della letteratura, seguita da una meta-analisi aggiornata, in cui è stato valutato l'impatto di variabili cliniche, come il tipo di steroide assunto, la dose cumulativa di farmaco, la malattia primaria e la durata del trattamento, sulla correlazione tra i polimorfismi genetici e SONFH in pazienti trattati con glucocorticoidi.

La ricerca bibliografica è stata condotta in data 29 luglio 2018 utilizzando i databases di PubMed, Embase, Cochrane Library e alcuni datasets pubblici cinesi tra cui il China National Knowledge Infrastructure e il China Biology Medicine Database. Sono stati definiti includibili tutti gli studi in cui venisse analizzata la correlazione tra varianti genetiche e l'insorgenza di SONFH in pazienti in terapia con glucocorticoidi e per i quali fossero riportate in maniera esplicita le distribuzioni genotipiche per i due gruppi a confronto. Al contrario, sono stati esclusi tutti i lavori primari in cui: i) il disegno di studio non fosse caso-controllo o di coorte; ii) il gruppo dei casi includesse pazienti affetti da osteonecrosi della testa del femore con eziologia diversa dall'uso di steroidi; iii) il gruppo di controllo includesse soggetti affetti da osteonecrosi della testa del femore non dovuta alla somministrazione di steroidi o soggetti sani non in terapia con glucocorticoidi; iv) studi non riportanti in maniera esplicita le frequenze alleliche per i due gruppi a confronto o gli effect sizes ottenuti. Per ciascuno studio eleggibile, sono stati estratti i dati relativi a: dimensione campionaria, età dei soggetti, malattia primaria, tipo di steroide utilizzato, la sua dose cumulativa, la durata del trattamento e i geni analizzati. La qualità degli studi primari è stata valutata tramite la Newcastle-Ottawa Scale (NOS). La meta-analisi di associazione genetica è stata condotta utilizzando i modelli genetici allelico, dominante, recessivo, eterozigote e omozigote. Sono stati calcolati gli OR e relativi intervalli di confidenza (95% IC) per ciascuna associazione genetica analizzata. In caso di presenza di eterogeneità tra gli studi ($I^2 \geq 50\%$) è stata utilizzata una tecnica di meta-analisi ad effetti random, al contrario è stata applicata una meta-analisi ad effetti fissi. È stato, inoltre, utilizzato un modello di regressione logistica multilivello a effetti misti per variabili quali il tipo di steroide, malattia primaria, dose di steroidi, durata della terapia e SNP analizzato. Infine, è stata condotta una meta-analisi dose-risposta sulla base dei dosaggi cumulativi di steroidi assunti.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 592 studi, di cui 30 sono risultati essere eleggibili per la presente meta-analisi. Le varianti genetiche meta-analizzabili, ossia quelle valutate in almeno 3 studi primari, sono risultate essere ABCB1 rs1045642, ABCB1 rs2032582, ApoB rs693, ApoB rs1042031, MTHFR rs1801133 e PAI-1 rs1799768. Dalla meta-analisi è emerso che: i) l'essere portatori dell'allele minore per ABCB1 rs1045642 risulta in un minor rischio di sviluppare SONFH (modello allelico: OR 0.74, 95% IC: 0.55–1.00; $P=0.046$; $I^2=50.20\%$); ii) ApoB rs693 (nei modelli dominante, recessivo, omozigote ed eterozigote) e ApoB

rs1042031 (nel modello dominante) conferiscono un rischio maggiore di manifestare SONFH (rs693, modello dominante: OR 2.99, 95% IC 1.71–5.21, $P < 0.001$, $I^2 = 31.40\%$; rs1042031, modello dominante: OR 2.90, 95% IC 1.49–5.66, $P = 0.002$, $I^2 = 50.30\%$). Nessuna delle rimanenti varianti è risultata essere correlata a SONFH. Dall'analisi condotta utilizzando un modello di regressione logistica multilivello a effetti misti si è evinto che: i) per la variante ABCB1 rs1045642, l'essere portatori dell'allele mutato o omozigoti mutati risulta in un rischio più basso di sviluppare SONFH, indipendentemente dalla dose e dalla durata del trattamento. Al contrario, tale significatività statistica si mantiene unicamente nei pazienti utilizzatori di prednisone e metilprednisone/prednisone; ii) per ApoB rs693, l'essere portatori dell'allele mutato conferisce un maggior rischio di manifestare SONFH, indipendentemente dalla durata del trattamento, dal tipo di steroide assunto e dalla malattia primaria; iii) per ApoB rs1042031 si conferma la correlazione con un aumentato rischio di SONFH e tale risultato si mantiene tale per tutte le variabili analizzate nella regressione logistica multilivello, ad eccezione che per il tipo di steroide assunto (la significatività statistica si evince solo nel sottogruppo di utilizzatori di prednisone; iv) PAI-1 rs1799768 è riportato avere una funzione protettiva nei confronti di SONFH, qualsiasi sia la variabile analizzata, ad eccezione del tipo di steroide analizzato (nello specifico, la significatività statistica si mantiene nel sottogruppo di utilizzatori di prednisone). Per le rimanenti varianti genetiche, si conferma l'assenza di correlazione con l'outcome d'interesse. Dalla meta-analisi dose-risposta si è evinto, inoltre, che per la variante ABCB1 rs1045642 esiste una correlazione tra la dose cumulativa ed il manifestarsi di SONFH: nello specifico, i portatori dell'allele minore mostrano una riduzione del rischio di SONFH all'aumentare della dose.

Il presente studio rappresenta, ad oggi, la meta-analisi più aggiornata e dettagliata condotta nell'ambito. Le tre varianti ABCB1 rs1045642, ApoB rs693 e ApoB rs1042031 sono emerse essere correlate all'outcome in studio, sia nella meta-analisi preliminare che in quella basata su un modello di regressione logistica multilivello a effetti misti. Tuttavia, si sottolinea come per ABCB1 rs1045642 e ApoB rs1042031 la correlazione con SONFH non sia sempre statisticamente significativa una volta categorizzato in base al tipo di steroide assunto e alla malattia primaria da cui erano affetti i pazienti. Tali evidenze suggeriscono come variabili cliniche, *in primis* il tipo di steroide assunto, possano finemente impattare sul rischio di sviluppare SONFH a seconda del genotipo. I risultati ivi ottenuti devono, tuttavia, essere interpretati alla luce di alcune limitazioni intrinseche al lavoro, quali sono: i) la ricerca bibliografica è stata effettuata a luglio 2018, il che comporta che altri studi primari potrebbero essere stati pubblicati nel mentre; ii) non è riportato esplicitamente il numero di studi primari su cui è stata condotta ciascuna meta-analisi nei diversi modelli genetici; tuttavia, gli Autori dichiarano che la numerosità degli studi primari per ciascuna meta-analisi è ridotta; iii) la presente meta-analisi non si è basata su dati individuali.

Le varianti ABCB1 rs1045642, ApoB rs693 e ApoB rs1042031 sono correlate al rischio di manifestare osteonecrosi della testa del femore in seguito al trattamento con steroidi. Per la variante ABCB1 rs1045642 è inoltre emerso come, nei portatori dell'allele minore, si verifichi una riduzione del rischio di sviluppare osteonecrosi all'aumentare della dose di steroidi assunti.

Parole chiave: osteonecrosi, steroidi, ABCB1, ApoB

Riferimento bibliografico

[Yang J](#) et al. *Biosci Rep* 2019; 39(5) pii: BSR20190024



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)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Carginin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Martina Franzin (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)

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.
