



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 124 – Gennaio 2020

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

Sommario

Neuropsichiatria

- La modulazione genetica-epigenetica del gene *CRTC1* indotta da farmaci psicotropi è associata con l'aumento di peso in uno studio prospettico di pazienti con disturbi psichiatrici
- Il polimorfismo genetico *SOD2* (rs4880) non ha alcun impatto sulla risposta al trattamento antidepressivo e sui biomarcatori infiammatori nei pazienti depressi

Gastroenterologia

- Associazione tra *HLA-DQA1*05* e sviluppo di anticorpi anti-infliximab e anti-adalimumab in pazienti con malattia di Crohn

La metanalisi del mese

- Analisi del ruolo di varianti dei geni *ENOSF1* e *TYMS* come predittori della tossicità indotta da fluoropirimidine: uno studio di meta-analisi di dati individuali

NEUROPSICHIATRIA

LA MODULAZIONE GENETICA-EPIGENETICA DEL GENE *CRTC1* INDOTTA DA FARMACI PSICOTROPI È ASSOCIATA CON L'AUMENTO DI PESO IN UNO STUDIO PROSPETTICO DI PAZIENTI CON DISTURBI PSICHIATRICI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

I disturbi metabolici come l'obesità o la dislipidemia derivano da una complessa interazione tra fattori genetici e ambientali. I meccanismi epigenetici rappresentano un importante collegamento tra questi due fattori. I pazienti affetti da schizofrenia, disturbo bipolare o disturbo depressivo maggiore hanno un'aspettativa di vita di 10-15 anni minore rispetto alla popolazione generale, e questa differenza è in gran

parte correlata alla comorbidità con disturbi cardiometabolici. L'utilizzo di farmaci psicotropi come antipsicotici, stabilizzanti dell'umore e alcuni antidepressivi possono aumentare il rischio di disordini metabolici, inclusi obesità e dislipidemia. Gli effetti metabolici indotti da farmaci psicotropi derivano da un aumento dell'appetito mediato da diversi meccanismi quali, ad esempio, la modifica della trascrizione di alcuni ormoni coinvolti nell'omeostasi energetica. Alcuni studi hanno evidenziato un'associazione tra variazioni epigenetiche e l'assunzione di antipsicotici atipici o stabilizzanti dell'umore. Tuttavia, non è noto se queste variazioni siano tessuto-specifiche o reversibili, e vi è una scarsità di studi condotti in un *setting* longitudinale. Il peggioramento della condizione metabolica può svilupparsi precocemente durante il trattamento con farmaci psicotropi, per poi iniziare un processo che comporta lo sviluppo di disturbi cardiometabolici nel lungo termine. È stato suggerito che un aumento di peso del 5% durante il primo mese di trattamento predica un aumento di peso più rilevante e la sindrome metabolica nel lungo termine. Negli ultimi anni, gli studi farmacogenetici dell'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi hanno investigato geni candidati quali quelli che codificano per recettori dopaminergici e serotoninergici, geni coinvolti nelle pathway del metabolismo e dell'omeostasi dell'appetito. Il gene CREB-regulated transcription coactivator 1 (*CRTC1*) sembra essere un candidato interessante in quanto i topi privi di questo gene sviluppano sia obesità e altre complicanze metaboliche, sia endofenotipi correlati ai disturbi dell'umore. Nell'uomo, una mutazione missenso del gene *CRTC1* è stata associata con il *body mass index* (BMI) nella popolazione generale e in pazienti trattati con farmaci psicotropi che inducono aumento di peso.

Gli autori dello studio hanno investigato l'effetto di farmaci psicotropi sulla modulazione epigenetica del gene *CRTC1* e l'associazione tra questa modulazione e il rischio di aumento di peso e/o varianti genetiche di *CRTC1*. A questo scopo, i livelli di metilazione di 76 sonde nel gene *CRTC1* sono stati misurati su DNA genomico estratto da campioni di sangue in pazienti psichiatrici prima dell'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi e a un mese dall'inizio del trattamento.

I pazienti sono stati reclutati nel contesto dello studio PsyMetab del Dipartimento di Psichiatria dell'Ospedale Universitario di Losanna. Sono stati inclusi pazienti che iniziavano ad assumere farmaci psicotropi associati a potenziale rischio di indurre disturbi metabolici (antipsicotici, stabilizzanti dell'umore e alcuni antidepressivi). I pazienti con aumento di peso $\geq 5\%$ durante il primo mese di trattamento sono stati considerati casi e abbinati per età, sesso, BMI al baseline e livello di istruzione a pazienti il cui peso è rimasto stabile (controlli: aumento tra 0 e 2,5%). Le analisi di metilazione sono state condotte su 39 casi e 39 controlli così selezionati.

I profili di metilazione sono stati valutati utilizzando i chip Infinium Methylation EPIC BeadChip (Illumina) all'inizio e a un mese dal trattamento. Il t-test per dati appaiati è stato utilizzato per confrontare i livelli di metilazione al baseline e dopo il primo mese di trattamento. I risultati sono stati corretti per test multipli in base al metodo del *false discovery rate* (FDR). Inoltre, sono stati utilizzati modelli lineari multivariati e modelli lineari generalizzati *mixed effect* per valutare le differenze tra i due gruppi considerando delle covariate. Inoltre, nel campione di 78 pazienti e in un campione indipendente di 131 pazienti che iniziavano un trattamento con farmaci psicotropi in grado di indurre disturbi metabolici, per i quali non erano disponibili dati di metilazione, è stata genotipizzata la variante cis-meQTL rs4808844A>G tramite chip Illumina 200K CardioMetaboChip ed è stata valutata l'associazione tra questa variante e i parametri metabolici.

I disturbi psicotici rappresentano la diagnosi più comune (45%), e la quetiapina il farmaco maggiormente prescritto (23,3%). Circa metà dei pazienti riceveva farmaci associati a un rischio moderato di aumento di peso (litio, mirtazapina, quetiapina o risperidone, 54%), mentre un terzo farmaci associati ad alto rischio di aumento di peso (clozapina, olanzapina o valproato, 30%). Un terzo dei pazienti era già sovrappeso al *baseline* e questa prevalenza è cresciuta in maniera significativa durante il primo mese di trattamento (31 vs 36%, $p = 0,04$). Durante il primo mese di trattamento, si sono registrati aumenti significativi nei livelli di metilazione di cinque sonde localizzate nel gene *CRTC1*: cg21310814, cg07015183, cg02961385, cg17006757 e cg22536770 (FDR $p = 0,004, 0,004, 0,02, 0,048$ e $0,048$, rispettivamente). Inoltre, i livelli di metilazione delle cinque sonde sono risultati associati con la durata di trattamento ($p = 0,02$).

Stratificando i pazienti in casi e controlli, per tre sonde i livelli sono rimasti invariati nei pazienti il cui peso è rimasto stabile, e sono variati solo nei pazienti con aumento importante del peso (cg07015183, cg12034943

e cg17006757, $p = 0.02$ per tutte e tre). La metilazione della sonda cg12034943 non è risultata associata con altri parametri metabolici (BMI, colesterolo totale, livelli di LDL, HDL, trigliceridi). I livelli di metilazione durante il primo mese di trattamento variavano in maniera differenziale in base all'assetto genetico della variante rs4808844 A>G. In particolare, non si è registrata una variazione nei pazienti con genotipo AA, mentre i livelli si sono ridotti in maniera significativa nei pazienti *carrier* dell'allele G ($p = 0,006$). Integrando questo SNP nei modelli multivariati si è osservato un *trend* per interazione tra la variante genica e i livelli di metilazione della sonda cg12034943 sull'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi ($p = 0,051$). Tuttavia, nel campione indipendente è stato osservato soltanto un *trend* per l'associazione tra la variante rs4808844A>G e l'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi ($p = 0,1$).

Lo studio presenta alcune limitazioni: non è stato possibile valutare se i farmaci psicotropi abbiano indotto un aumento di peso tramite modificazioni della metilazione o se possa essere stato l'aumento di peso indotto da farmaci psicotropi a indurre variazioni dei livelli di metilazione. Inoltre, la metilazione del gene *CRTC1* a livello periferico potrebbe non essere correlata alla metilazione a livello del cervello e, in particolare, delle aree coinvolte nella regolazione dell'appetito.

Lo studio suggerisce un'associazione tra i livelli di metilazione del gene *CRTC1* e l'aumento di peso durante il primo mese di trattamento con farmaci psicotropi.

Parole chiave: farmaci psicotropi, schizofrenia, disturbo bipolare, disturbo depressivo maggiore, *CRTC1*

Riferimento bibliografico

[Delacréta A et al. Clin Epigenetics 2019,11\(1\):198](#)

IL POLIMORFISMO GENETICO SOD2 (RS4880) NON HA ALCUN IMPATTO SULLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO ANTIDEPRESSIVO E SUI BIOMARCATORI INFIAMMATORI NEI PAZIENTI DEPRESSI

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Il disturbo depressivo maggiore (MDD) è un'importante causa di disabilità in tutto il mondo e colpisce circa 350 milioni di individui. Tuttavia, solo un terzo dei pazienti con MDD raggiunge la remissione completa con un trattamento antidepressivo di prima linea (AD). Pertanto, sarebbe utile identificare i fattori, inclusi i biomarcatori, che possono prevedere la risposta al trattamento dell'AD. Diverse indagini cliniche e studi preclinici suggeriscono che i processi infiammatori sono correlati e potrebbero essere coinvolti nell'insorgenza e/o nella progressione della MDD, e quindi le proteine infiammatorie potrebbero essere utilizzate come biomarcatori. Infatti, l'interleuchina-6 (IL-6) e il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-alfa) mostrano livelli plasmatici più elevati nei pazienti depressi rispetto ai controlli. Allo stesso modo, i livelli plasmatici di proteina C-reattiva (CRP) sono più elevati nei pazienti depressi rispetto ai volontari sani (Howren MB et al. *Psychosom Med* 2009,71(2):171–86). Nei pazienti che rispondono al trattamento con farmaci antidepressivi è stata riportata una riduzione dei livelli plasmatici di IL-6, TNF-alfa e CRP (O'Brien SM et al. *Br J Psychiatry* 2006, 188(05):449–52). Inoltre, in pazienti brasiliani con ipercolesterolemia, che presentano una componente infiammatoria osservata nella MDD, l'impatto del polimorfismo genetico superossido dismutasi 2 (SOD2 rs4480) è stato associato alla risposta alla rosuvastatina. I pazienti SOD2 Ala-carrier hanno avuto una risposta migliore alla rosuvastatina sui parametri lipidici e infiammatori rispetto ai portatori di genotipo Val/Val. Negli Ala-carrier è stata osservata una maggiore riduzione dei livelli plasmatici di IL-6, TNF-alfa e CRP. Nei portatori di genotipo Val/Val, la produzione di citochine pro-infiammatorie IL-6 e TNF-alfa è aumentata mentre quella delle citochine anti-infiammatorie IL-10 è stata ridotta (Duarte T et al. *Pharmacogenomics J* 2016,16(6):501–6). Quindi, l'obiettivo primario degli autori è stato valutare l'associazione del polimorfismo rs4880 con la risposta e la remissione al trattamento antidepressivo in pazienti con un episodio depressivo maggiore (MDE). L'obiettivo secondario è stato valutare in questi pazienti l'associazione del polimorfismo rs4880 con i parametri antinfiammatori prima e dopo il trattamento antidepressivo.

Lo studio prospettico (6 mesi) e multicentrico ha compreso 624 pazienti affetti da MDE in un contesto di MDD (DSM-IV-TR) (coorte METADAP), trattati con antidepressivi in monoterapia. La maggior parte dei pazienti è stata trattata con inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) o inibitori della ricaptazione della serotonina e norepinefrina (SNRI). Sono stati valutati per i sintomi della depressione all'inizio del trattamento (M0) e dopo un mese (M1), tre mesi (M3) e sei mesi (M6). Il DNA dai linfociti è stato estratto da 1 mL di campione (kit Puregene, Gentra systems, Minneapolis, USA). La genotipizzazione è stata eseguita con un saggio di TaqMan (Applied Biosystems, Courtaboeuf, Francia). La discriminazione allelica è stata eseguita con il sistema Real-Time PCR QuantStudio 7 Flex (Applied Biosystems). Sono stati ottenuti tre gruppi di genotipi: *wild-type* omozigote (Val/Val), eterozigote (Val/Ala) e variante omozigote (Ala/Ala). Per valutare l'MDE è stata utilizzata la scala HDRS-17. Il punteggio è compreso tra 0 e 52. Più alto è il punteggio, più grave è l'MDE. I rispondenti sono stati definiti da una riduzione del punteggio HDRS di almeno il 50% dal basale al follow-up. I remittenti sono stati definiti come pazienti con un punteggio HDRS inferiore o uguale a 7. I livelli plasmatici di citochine proinfiammatorie (IL-1B, IL-6, TNF-Alpha) e antinfiammatorie (IL-10) sono stati valutati con protocollo ELISA (V-Plex Pro-inflammatory Panel 1 Human – MasoScale Discovery, Gaithersburg, MD, USA). R 3.4.4 è il programma utilizzato per l'analisi statistica e il livello di significatività è stato impostato su un valore p di 0,05.

Sono stati analizzati 484 pazienti, principalmente donne (68,6%; n = 332). La loro età media era di 45,4 anni. Il punteggio medio della scala Hamilton Depression Rating (HDRS) al basale era 24,8. Il 73,8% (n = 353) pazienti presentava una MDD ricorrente e l'età media dell'insorgenza della MDD era di 35,1 anni. 440 pazienti (90,9%) erano caucasici. Al basale, il gruppo di Ala-carrier comprendeva 361 (74,6%) pazienti e il gruppo Val/Val ne comprendeva 123 (25,4%). I pazienti Ala-carrier erano significativamente più anziani rispetto ai Val/Val. Centotredici pazienti (23,3%) hanno abbandonato prematuramente lo studio dopo 1 mese, 213 (44,0%) dopo 3 mesi e 278 (57,4%) dopo 6 mesi di trattamento. Le ragioni principali per l'abbandono sono state la modifica della monoterapia con AD, l'uso di farmaci non autorizzati o la perdita del follow-up. A causa dell'abbandono, i punteggi HDRS erano disponibili, rispettivamente, per 283 pazienti Ala-carrier e 88 pazienti Val/Val dopo 1 mese, 211 e 60 dopo 3 mesi e 161 e 45 pazienti dopo 6 mesi. I punteggi di HDRS, i tassi di risposta e di remissione non erano significativamente differenti tra Ala-carrier e pazienti Val/Val. Di conseguenza, non vi era alcuna differenza significativa per la CRP plasmatica, le citochine proinfiammatorie (IL-1B, IL-6, TNF-Alpha) e le citochine antiinfiammatorie (IL-10) tra Ala-carrier e pazienti Val/Val.

Poiché il disturbo depressivo maggiore è associato ad anomalie dello stress infiammatorio e ossidativo, il metabolismo degli anioni superossido potrebbe essere coinvolto nella non risposta ai farmaci antidepressivi. Poiché gli anioni di superossido sono metabolizzati dalla SOD2 nei mitocondri, gli autori hanno deciso di esplorare l'associazione del polimorfismo SOD2 rs4880 e la risposta al trattamento antidepressivo nei pazienti con MDD. Nonostante il polimorfismo genetico funzionale SOD2 rs4880 sia responsabile di una riduzione del 40% dell'attività enzimatica e sia stato associato alla risposta antinfiammatoria della rosuvastatina, in queste analisi non è stata trovata alcuna associazione tra questo polimorfismo e la risposta al trattamento farmacologico antidepressivo, o con i livelli di citochine plasmatiche e CRP dopo la terapia. I principali punti di forza dello studio sono stati la grande dimensione del campione, il follow-up a lungo termine (6 mesi) e l'omogeneità in termini di diagnosi. Lo studio ha presentato alcune limitazioni: si trattava di uno studio non randomizzato e il trattamento veniva scelto dallo psichiatra in base alla sua valutazione clinica e alla propria esperienza. Ulteriori studi dovrebbero concentrarsi sull'associazione tra altri polimorfismi coinvolti nei percorsi di stress ossidativo e la risposta ai farmaci antidepressivi.

Il polimorfismo SOD2 rs4880 non è stato associato né alla risposta antidepressiva né ai livelli di citochine e CRP, in pazienti con disturbo depressivo maggiore.

Parole chiave: disturbo depressivo maggiore, antidepressivi, SOD2

Riferimento bibliografico

[Ait Tayeb AEK](#) et al. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2020 Jan 6 [Epub ahead of print]

GASTROENTEROLOGIA**ASSOCIAZIONE TRA HLA-DQA1*05 E SVILUPPO DI ANTICORPI ANTI-INFLIXIMAB E ANTI-ADALIMUMAB IN PAZIENTI CON MALATTIA DI CROHN**

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Gli anti-TNF sono i biologici più utilizzati per il trattamento di malattie auto-immuni, il cui uso ripetuto induce spesso la formazione di anticorpi anti-farmaco con conseguente fallimento terapeutico (Kennedy NA et al. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2019,1253:1–13). La possibilità di identificare pazienti con aumentato rischio di sviluppare i suddetti anticorpi può influenzare la scelta del trattamento e l'uso di strategie preventive. La comprensione dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'immunogenicità è ancora limitata. Alcuni studi suggeriscono un'aumentata suscettibilità correlate alle varianti *FCGR3A* (Romero-Cara P et al. *Int J Med Sci* 2018,15:10–5) e *HLA-DRB1* (Billiet T et al. *Gut* 2015,64:1344–5; Liu M et al. *PLoS One* 2018,13:e0195325), tuttavia non confermate. Scopo dello studio è stato quello di individuare fattori genetici associati con lo sviluppo di anticorpi contro le terapie anti-TNF.

Lo studio PANTS (*Personalising Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease*), multicentrico, prospettico, osservazionale, è stato condotto su 1.610 pazienti affetti da malattia di Crohn *naïve* al trattamento con anti-TNF con l'obiettivo di valutare il tasso di fallimento della terapia a base di infliximab (originator o biosimilare) e adalimumab. Ha arruolato pazienti di età ≥ 6 anni con malattia attiva a livello del colon e/o del piccolo intestino, seguiti inizialmente per un anno. Successivamente è stato richiesto ai pazienti di continuare il *follow-up* per ulteriori 2 anni. Ad ogni visita sono stati valutati i livelli sierici dei farmaci e degli anticorpi anti-farmaco, disponibili per 1.240 soggetti.

Entro i primi 12 mesi, il 44% dei pazienti ha sviluppato anticorpi anti-farmaco ed il 62% entro 36 mesi. Il tasso di immunogenicità è risultato superiore per infliximab (n=742) rispetto adalimumab (n=498) con HR pari a 3.21 (95% IC 2.61-3.95). È stata individuata un'associazione significativa tra il tempo di sviluppo di anticorpi e il polimorfismo *rs2097432* sul cromosoma 6 (HR=1.70; 95% IC 1.48-1.94), corrispondente alla regione del complesso maggiore di istocompatibilità. I dati sono stati replicati in una coorte indipendente di 178 pazienti con malattia infiammatoria intestinale (HR=1.69; 95% IC 1.26-2.28). La variante *rs12721026* sul cromosoma 11 ha mostrato un'associazione significativa (HR=0.46; 95% IC 0.33-0.63), tuttavia non confermata nella coorte indipendente (HR=0.85; 95% IC 0.49-1.44). Tra gli alleli HLA, solo l'*HLA-DQA1*05* ha raggiunto la significatività (HR=1.90; 95% IC 1.60-2.25) ed è stata confermata nella coorte indipendente (HR=2.00; 95% IC 1.35-2.98; HR del *subset* con Crohn 2.26; 95% IC 1.33-3.84; HR del *subset* con colite ulcerosa 2.02; 95% IC 1.08-3.79). L'effetto era simile per i due farmaci (HR=1.89; 95% IC 1.32-2.70 nel gruppo adalimumab; HR=1.92; 95% IC 1.57-2.33 nel gruppo infliximab), e per originator e biosimilare di infliximab. Il tasso più elevato di immunogenicità (92% ad un anno) è stato riscontrato in pazienti trattati con infliximab e portatori dell'allele *HLA-DQA1*05*, mentre il più basso (10% ad un anno) nei pazienti non portatori dell'allele trattati con adalimumab in combinazione. Inoltre, i portatori del *HLA-DQA1*05* presentavano il titolo anticorpale più elevato e il più basso tasso di persistenza ma solo in caso di trattamento con adalimumab in monoterapia.

Questo studio rappresenta il primo ad aver riscontrato un'associazione significativa per l'immunogenicità agli anti-TNF, in un'ampia coorte prospettica trattata con infliximab e adalimumab per malattia di Crohn,

dimostrando un rischio raddoppiato nei portatori dell'allele *HLA-DQA1*05*. Sulla base di questi dati, i pazienti a rischio dovrebbero essere trattati con immunomodulatori, mentre in caso questi ultimi siano controindicati o non tollerati, dovrebbe essere evitato l'uso di anti-TNF, in particolare di infliximab. Nel caso l'associazione risultasse significativa anche per altre terapie a base di anticorpi, i soggetti portatori dovrebbero essere candidati al trattamento con medicinali non biologici. L'esatto meccanismo con cui gli alleli HLA favoriscono l'incremento di immunogenicità non è noto. Questi dati potrebbero supportare lo sviluppo di anti-TNF di nuova generazione disegnati per minimizzare l'immunogenicità mediata dall'*HLA-DQA1*05*. Studi precedenti, infatti, hanno dimostrato che è possibile eliminare potenziali epitopi immunogeni con lo scopo di produrre farmaci biologici più sicuri (De Groot AS et al. *Dev Biol (Basel)* 2005,122:171–94; Sathish JG et al. *Nat Rev Drug Discov* 2013,12:306–24).

In conclusione, questo studio riporta la prima associazione significativa *genome-wide* per lo sviluppo di anticorpi contro farmaci biologici. I portatori dell'allele *HLA-DQA1*05* presentano un tasso raddoppiato di sviluppo di anticorpi anti-TNF, sia per infliximab che per adalimumab, indipendentemente dall'uso di immunomodulatori. Il test genetico pre-trattamento può consentire di personalizzare la terapia, minimizzando il rischio di immunogenicità e la necessità di utilizzare terapie di combinazione.

Limiti dello studio sono rappresentati dal breve *follow-up* in pazienti che non hanno continuato lo studio oltre il primo anno, il minor numero di visite in pazienti trattati con adalimumab con possibile sottostima dell'immunogenicità in questo sottogruppo, l'arruolamento esclusivo di pazienti con Crohn di origine Europea. Sarà necessario effettuare ulteriori studi in altre popolazioni e per altri farmaci biologici.

Parole chiave: malattia di Crohn, *HLA-DQA1*05*, infliximab e adalimumab

Riferimento bibliografico

[Sazonovs A](#) et al. *Gastroenterology* 2020,158:189–99

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DEL RUOLO DI VARIANTI DEI GENI *ENOSF1* E *TYMS* COME PREDITTORI DELLA TOSSICITÀ INDOTTA DA FLUOROPIRIMIDINE: UNO STUDIO DI META-ANALISI DI DATI INDIVIDUALI

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Capecitabina (Cp) e 5-fluorouracile (5-FU) sono due farmaci fluoropirimidinici largamente impiegati in pratica clinica come farmaci chemioterapici antitumorali. Diversi enzimi sono implicati nella conversione di tali farmaci a 5-fluoro-deossiuridina monofosfato, il metabolita attivo noto per risultare nell'inibizione dell'enzima timidilato sintasi e, quindi, in una ridotta sintesi *de novo* del DNA. A fronte di una comprovata efficacia, si sottolinea, tuttavia, come il profilo di tossicità di Cp e 5-FU rappresenti, ad oggi, un importante limite nel loro impiego clinico. Tali molecole risultano differire tra loro in termini di reazioni avverse farmaco-indotte. Nello specifico, i pazienti trattati con 5-FU manifestano più frequentemente stomatiti e neutropenia rispetto ai pazienti in trattamento con Cp; al contrario, i pazienti in terapia con Cp sembrano essere più soggetti allo sviluppo della sindrome mani-piedi. Diversi sono stati gli sforzi fatti al fine di identificare eventuali fattori genetici predittivi della tossicità indotta da fluoropirimidine. Nonostante alcune varianti del gene *DPYD* si siano dimostrate essere clinicamente utili al fine di prevedere la comparsa di reazioni avverse a tali farmaci, ulteriori studi sono stati condotti per identificare nuove varianti genetiche potenzialmente coinvolte nel modulare la risposta clinica alle fluoropirimidine. Tra queste, spiccano alcuni polimorfismi a carico dei geni *TYMS* e *ENOSF1*, localizzati sul cromosoma 18. Più nel dettaglio, le varianti

TYMS rs45445694 e TYMS rs11280056 sono emerse essere associate alla tossicità globale da fluoropirimidine. Analogamente lo SNP ENOSF1 rs2612091 è stato riportato essere correlato alla tossicità globale di Cp, nonché alla sua tossicità a livello gastrointestinale e alla comparsa della sindrome mani-piedi. Al fine di validare tali correlazioni farmacogenetiche, nel presente studio è stata condotta un'analisi di associazione tra le varianti rs45445694, rs11280056, rs2612091 e la tossicità indotta da fluoropirimidine in una coorte di pazienti oncologici trattati con 5-FU o Cp. Inoltre, al fine di produrre una stima meta-analitica aggiornata riguardo al ruolo delle varianti in studio come fattori genetici predittivi della tossicità indotta da fluoropirimidine, è stata ivi condotta una revisione sistematica della letteratura, seguita da una meta-analisi di dati individuali relativi ai pazienti arruolati nella sopraccitata coorte e ai soggetti inclusi in studi precedentemente pubblicati in letteratura.

Per il presente studio farmacogenetico sono stati arruolati 547 pazienti (sesso femminile: 40%), di cui 403 in terapia con 5-FU e 144 con Cp. Il DNA germinale di ciascun paziente arruolato è stato estratto da sangue intero tramite kit commerciale. La genotipizzazione per le varianti ENOSF1 rs2612091, TYMS rs45445694 e TYMS rs11280056 è avvenuta, rispettivamente, tramite Real-Time PCR, PCR-RFLP e sequenziamento Sanger. Per quanto riguarda invece la meta-analisi, è stata ivi condotta una revisione sistematica della letteratura in data 11 aprile 2019 sui databases di Pubmed ed Embase. Sono stati definiti includibili tutti gli studi in cui venisse investigata la correlazione tra le varianti rs45445694, rs11280056, rs2612091 e la tossicità indotta da pirimidine. Gli Autori di ciascuno studio eligibile sono stati contattati per avere i dati clinici e genetici a livello individuale dei soggetti arruolati in ciascuna coorte eleggibile. Per ogni coorte inclusa nella meta-analisi (tra cui quella arruolata *ad hoc* per il presente studio) è stata inizialmente calcolato l'OR (95% CI) di associazione farmacogenetica tra gli SNPs di interesse e la tossicità severa da fluoropirimidine (grado ≥ 3) tramite regressione logistica multivariata. È stata poi condotta una meta-analisi ad effetti random al fine di ottenere le stime meta-analitiche di associazione tra le singole varianti e l'*outcome* in studio nel modello genetico additivo. Inoltre, è stato analizzato l'effetto sia degli aplotipi che della combinazione degli alleli a rischio per ciascuna variante tramite la costruzione di *scores* genetici sulla tossicità indotta da fluoropirimidine. Il *threshold* di significatività statistica è stato posto pari a 0.05. È stata, infine, valutata l'esistenza di publication bias tramite Funnel plot ed Egger's test.

Dalla regressione logistica multivariata non è emersa nessuna correlazione statisticamente significativa tra le varianti in studio e la tossicità severa da fluoropirimidine (grado ≥ 3) nella coorte arruolata *ad hoc* per il presente studio ($p < 0.05$). Dalla ricerca bibliografica sono emersi 86 risultati, di cui solo 3 eleggibili per la presente meta-analisi. Combinando le stime di associazione farmacogenetica di questi studi con quelle ottenute nella coorte qui arruolata, solo la variante TYMS rs11280056 è risultata essere predittiva, in maniera statisticamente significativa, della tossicità globale severa indotta da fluoropirimidine (OR 1.21, 95% CI 1.03-1.42, $p = 0.0211$). Inoltre, tutte e 3 le varianti in studio sono risultate essere predittive della comparsa della sindrome mani-piedi di grado severo (rs45445694: OR 1.50, 95% CI 1.21-1.86; rs11280056: OR 1.42, 95% CI 1.12-1.79; rs2612091: OR 1.64, 95% CI 1.33-2.03) ma non del manifestarsi delle altre tossicità analizzate, quali quella gastrointestinale ed ematologica ($p < 0.05$). Sono stati identificati 8 possibili aplotipi basati sulle 3 varianti in studio e, dall'analisi della correlazione tra questi e lo sviluppo della sindrome mani-piedi di grado severo è emerso che: i) l'aplotipo più frequente, contenente tutti e 3 gli alleli di rischio, è risultato essere predittivo, in maniera statisticamente significativa, di un aumentato rischio di sviluppo di tale tossicità; ii) il secondo aplotipo più frequente, non contenente nessun allele a rischio, nonché l'aplotipo contenente solo l'allele a rischio per la variante TYMS rs11280056 sono risultati essere associati ad una ridotta probabilità di manifestare la sindrome mani-piedi; iii) gli aplotipi composti dall'allele a rischio per TYMS rs11280056 e per TYMS rs45445694 o ENOSF1 rs2612091 sono risultati essere associati ad un maggior rischio di sviluppo dell'*outcome* in analisi. Infine, dall'analisi di regressione multivariata in cui è stata valutata l'associazione tra gli *scores* genetici calcolati per le 3 varianti e il rischio di sviluppo della sindrome mani-piedi, si è evinto un significativo aumento del rischio di sviluppo di tale tossicità all'aumentare dello score genetico (OR 1.32, 95% CI 1.18-1.49, $p < 0.0001$).

Il presente studio costituisce la prima meta-analisi pubblicata in letteratura finalizzata ad investigare il ruolo delle varianti TYMS rs45445694, TYMS rs11280056 e ENOSF1 rs2612091 come fattori genetici predittivi della tossicità indotta da fluoropirimidine, in particolare da Cp e 5-FU. Nonostante i risultati qui riportati siano incoraggianti, essi devono essere interpretati alla luce delle seguenti limitazioni: i) la dimensione campionaria su cui sono state calcolate le stime di associazione farmacogenetica è ridotta (tot pazienti: N=1912): è possibile, quindi, che i risultati qui ottenuti possano essere dei falsi positivi o falsi negativi; alla luce di ciò, strumenti statistici come, ad esempio, la "trial sequential analysis" o il "false positive report probability" sarebbero stati utili per valutare se le stime meta-analitiche fossero, rispettivamente, conclusive e robuste; ii) nonostante siano stati effettuati più confronti genetici, il *threshold* di significatività statistica non è stato corretto per test multipli: se così fosse stato fatto, quasi nessuna delle associazioni riportate come statisticamente significative ($p < 0.05$) si sarebbe mantenuta tale; iii) si evince qualche carenza in termini di trasparenza riguardo al protocollo utilizzato per la conduzione della revisione sistematica seguita da meta-analisi. Alla luce di quanto riportato sopra, tali risultati meta-analitici necessitano di essere validati da studi successivi al fine di poter essere considerati conclusivi.

Le varianti TYMS rs45445694, TYMS rs11280056 e ENOSF1 rs2612091 potrebbero costituire dei potenziali fattori genetici predittivi della tossicità indotta da fluoropirimidine, in particolare della comparsa della sindrome mani-piedi indotta da 5-fluorouracile e capecitabina.

Parole chiave: tossicità, fluoropirimidine, TYMS, ENOSF1

Riferimento bibliografico

[Hamzic S](#) et al. *Pharmacol Res* 2019,152:104594



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

https://www.sifweb.org/la_societ%C3%A0#Gruppi_di_lavoro

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	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino)

questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)

Archivio SIF-Farmacogenetica

Edicola Virtuale SIF

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.