



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 125 – Febbraio 2020

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

Sommario

Infettivologia

- Farmacocinetica di popolazione e farmacogenetica di etambutolo in pazienti adulti con infezione da tubercolosi e HIV

Neuropsichiatria

- Effetti del polimorfismo CYP2C19*2 sull'efficacia e la sicurezza di fenazepam in pazienti con disturbo d'ansia e comorbidità con disturbo da uso di alcool
- Studio di validazione dei microRNA precedentemente associati con la risposta agli antidepressivi in pazienti adulti trattati con venlafaxina

Immunomodulazione

- Il ruolo del complesso CRL4-Cereblon nell'embriopatia da talidomide: un'indagine traslazionale

La metanalisi del mese

- Uno studio di revisione sistematica e meta-analisi relativo alla correlazione tra lo SNP OPRM1 rs1799971 e la risposta a naltrexone in pazienti affetti da disturbo da uso di alcool

INFETTIVOLOGIA

FARMACOCINETICA DI POPOLAZIONE E FARMACOGENETICA DI ETAMBUOLO IN PAZIENTI ADULTI CON INFEZIONE DA TUBERCOLOSI E HIV

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Si stima che circa un terzo della popolazione mondiale sia infetto da *Mycobacterium tuberculosis*. La tubercolosi (TB) è la causa di morte più comune tra le persone con infezione da HIV e nel 2017 il 27% delle incidenze di tubercolosi si sono verificate in soggetti con infezione da HIV. L'etambutolo (EMB) in

combinazione con rifampicina, isoniazide e pirazinamide è usato come terapia di prima linea per la tubercolosi. L'EMB inibisce la crescita batterica e offre protezione contro lo sviluppo di resistenza ai farmaci anti-TB di prima linea. L'EMB viene eliminato principalmente per via renale, con un'emivita di circa 4 ore negli adulti. Esso viene metabolizzato dall'alcool deidrogenasi in un intermedio aldeidico, che viene ulteriormente ossidato in un metabolita dicarbossilico. Dopo somministrazione orale, dal 50 al 70% della dose di EMB viene escreta immodificata nelle urine, il 12-19% viene escreta come metaboliti. L'EMB ha dimostrato di inibire gli enzimi del citocromo P450 (CYP) in vitro, in particolare del CYP1A2 e del CYP2E1; tuttavia le conoscenze sull'influenza dei polimorfismi del CYP sulla farmacocinetica (PK) dell'EMB nell'uomo sono limitate. I profili di esposizione di EMB in pazienti affetti da TB sono stati precedentemente descritti, sebbene solo alcuni di questi coinvolgono pazienti TB-HIV-coinfetti e non sono stati condotti studi di PK su farmaci anti-TB in pazienti ruandesi. Inoltre, nessun lavoro precedente ha indagato i potenziali effetti del polimorfismo del CYP sull'esposizione a EMB. Il presente studio mirava a caratterizzare la PK di popolazione di EMB in pazienti adulti con coinfezione TB-HIV, e a valutare l'impatto dei genotipi del CYP sulla PK di EMB.

Lo studio clinico osservazionale è stato condotto in quattro siti in Ruanda in pazienti con coinfezione da HIV e TB. I pazienti sono stati monitorati prima, durante e dopo l'inizio del trattamento intensivo per la TB. Su 105 pazienti reclutati, 80 hanno completato lo studio e 63 sono stati inclusi nell'analisi. EMB (550, 825 o 1.100 mg) è stato somministrato quotidianamente durante 2 mesi come parte della terapia iniziale di TB di prima linea. Per ogni paziente, il numero di compresse (una combinazione a dose fissa di EMB insieme a rifampicina, isoniazide e pirazinamide a 275/150/75/400 mg) è stato adeguato per raggiungere una dose target di 15 a 20 mg/kg per EMB. Dei 63 partecipanti inclusi nell'analisi, ad 8 sono stati somministrati streptomina in aggiunta ai quattro farmaci primari. I pazienti erano naïve al trattamento per l'HIV (braccio A) o in trattamento per l'HIV (braccio B) quando è iniziata la terapia per la TB. Il trattamento per l'HIV per i pazienti nel braccio A è iniziato tra le 2 e le 8 settimane dopo l'inizio del trattamento con TB. I pazienti inclusi nello studio hanno ricevuto la terapia per l'HIV e la TB, in accordo con le attuali linee guida ruandesi per la gestione della coinfezione. I campioni sono stati prelevati prima e dopo 1, 2, 3, 4, 6 e 8 ore (AUC₀₋₈) dopo l'inizio dell'arruolamento, seguiti da un campione sparso una volta alla settimana durante il monitoraggio del paziente. Il plasma è stato raccolto dopo la centrifugazione dei campioni e conservato a -30 ° C per 1 settimana prima di essere trasferito a -80 ° C. I campioni di plasma sono stati trasportati a Göteborg, in Svezia, in ghiaccio secco per la quantificazione. La genotipizzazione di CYP1A2 (739 T> G, 163 C> A e 2159 G> A), CYP2A6 (1436 G> T, 1093 G> A e 48 T> G), CYP2B6 (516 G> T e 983 T> C), CYP3A4 (392 A> G) e CYP3A5 (6986 A> G) è stata eseguita mediante PCR. Le concentrazioni di EMB nel plasma sono state quantificate usando un metodo in HPLC-MS/MS. I dati sono stati analizzati utilizzando la modellazione non lineare ad effetti misti in NONMEM versione 7.4 (Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA). La libreria Xpose versione 4.6.1 (Dipartimento di Bioscienze farmaceutiche, Università di Uppsala, Uppsala, Svezia) in R versione 3.4.1 (2017; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) è stata utilizzata per la diagnostica dei modelli. Pearl-speak-NONMEM (PsN) versione 4.8.0 (Dipartimento di Bioscienze Farmaceutiche, Università di Uppsala, Uppsala, Svezia) è stata utilizzata per l'automazione e la diagnostica dei modelli.

Dei 63 pazienti coinfetti HIV-TB, 56 sono stati genotipizzati per polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) del CYP2E1. La PK di EMB nella popolazione studiata è stata ben descritta da un modello a un compartimento con assorbimento di primo ordine, inclusi quattro compartimenti di transito ed eliminazione di primo ordine. È stato osservato che solo una covariata influenzava la PK dell'EMB: CYP1A2 2159 G>A, in cui i pazienti con mutazione G/A avevano una F (biodisponibilità relativa) ridotta del 45% rispetto ai portatori wild-type G/G (P <0.01). L'aggiunta della covariata ha ridotto la variabilità interindividuale (IIV) in F dal 57% al 34%. Inoltre, la clearance (CL) e la F del genotipo 163 C>A e 1436 G>T sono risultati statisticamente significativi. Tuttavia, entrambi sono stati eliminati nell'analisi covariata.

Nel modello finale, CL/F, il volume relativo di distribuzione (V/F), la costante del tasso di assorbimento (ka) e il tempo medio di transito (MTT) sono stati stimati in 77 litri/ora, 76 litri, 0.3 ore⁻¹ e 1.2 h, rispettivamente. IIV è stato applicato a CL/F, V/F, MTT e F. L'AUC₀₋₈ per i portatori G/G e G/A erano 10,8 ± 7,6 h · mg/litro e 6,3 ± 5,5 h · mg/litro, rispettivamente. Nella popolazione studiata, il 59% dei pazienti

presentava basse concentrazioni massime ($C_{max} < 2$ mg/litro) di EMB. Per quanto riguarda il polimorfismo del *CYP1A2* 2159 G>A, il 53% (27 su 51 pazienti) portatori di G/G e l'83% (10 su 12 pazienti) portatori di G/A avevano una C_{max} al di sotto della soglia raccomandata. Le simulazioni di dosi più elevate di EMB hanno mostrato che l'aumento della dose da 15 a 20 mg/kg di peso corporeo a 30 e 50 mg/kg per i portatori G/G e G/A, rispettivamente, comporterebbe un'esposizione adeguata all'EMB nella maggior parte dei pazienti.

Gli autori hanno caratterizzato la PK di popolazione di EMB in pazienti adulti con coinfezione TB-HIV. Inoltre, hanno per la prima volta, valutato i possibili effetti dei polimorfismi del *CYP* sull'esposizione al farmaco. Una riduzione del 45% di F è stata riscontrata nei portatori di *CYP1A2* G2159 G/A rispetto ai G/G. L'effetto significativo del *CYP1A2* sulla biodisponibilità dell'EMB nel modello è stato inaspettato poiché l'EMB è eliminato principalmente attraverso l'escrezione renale. I risultati suggeriscono un aumento di circa il 50% del metabolismo epatico tra i portatori di G/A. È stato riportato che EMB mostra una biodisponibilità orale assoluta, ma sorprendentemente variabile, di circa l'85%, indicando un basso grado di effetto di primo passaggio, pertanto una tale differenza nella capacità metabolica sembra improbabile. Inoltre, i portatori del genotipo *wild-type* sono comunemente metabolizzatori estensivi, il che contraddice la loro maggiore esposizione a EMB. Studi in vivo hanno osservato l'effetto inibitore su *CYP1A2* dell'isoniazide e su *CYP1A2* e *CYP2E1* dell'EMB, dimostrando un'interazione tra EMB e i *CYP*. Un'ipotesi alternativa potrebbe essere l'inibizione specifica della variante del genotipo G/G da parte dell'isoniazide con conseguente minore esposizione all'EMB in portatori G/A non inibiti. È stato inoltre trovato un modello a compartimento unico per descrivere in modo più adeguato l'esposizione sistemica all'EMB negli adulti con coinfezione da HIV-TB ruandesi. Le concentrazioni plasmatiche sono state osservate per una durata di 8 ore dopo la somministrazione. Il CL/F stimato è simile al valore di clearance (90 litri/h) di EMB in volontari sani, mentre è il doppio di quello riportato in pazienti con TB sudafricani (40 litri/h). Questa differenza evidenzia l'importanza degli studi di popolazione. Infine, la simulazione ha indicato che un aumento della dose dai 15-20 mg/kg attualmente utilizzati a 30 mg/kg e 50 mg/kg per i portatori G/G e G/A del *CYP1A2* G2159, rispettivamente, comporterebbe un miglioramento significativo dell'esposizione di EMB. Vi sono alcune limitazioni da evidenziare: l'intervallo di tempo per il prelievo di sangue era relativamente breve e durante la conduzione dello studio clinico non sono stati registrati dati sulla risposta al trattamento. Sono necessari ulteriori studi per studiare il potenziale coinvolgimento del *CYP* nel metabolismo EMB.

Il polimorfismo del *CYP1A2* influenza significativamente l'esposizione all'EMB. Le simulazioni hanno rivelato che una dose aumentata a 30 e 50 mg/kg nei pazienti G/G e G/A, rispettivamente, migliorerebbe l'esposizione al farmaco.

Parole chiave: coinfezione HIV-tubercolosi, etambutolo, *CYP1A2*

Riferimento bibliografico

[Sundell J](#) et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2020, 64(2) pii:e01583-19.

NEUROPSICHIATRIA

EFFETTI DEL POLIMORFISMO *CYP2C19**2 SULL'EFFICACIA E LA SICUREZZA DI FENAZEPAM IN PAZIENTI CON DISTURBO D'ANSIA E COMORBIDITÀ CON DISTURBO DA USO DI ALCOL

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La dipendenza da alcool si presenta spesso in comorbidity con diverse forme di disturbi d'ansia. Il trattamento di questi pazienti rappresenta una sfida, dal momento che un disturbo può peggiorare il decorso dell'altro. Una recente meta-analisi ha confermato che le benzodiazepine (BDZ) sono altamente

efficaci nel trattamento della sindrome da astinenza da alcool. La terapia con BDZ è efficace per i disturbi d'ansia nei pazienti nella fase precoce post-astinenza della dipendenza da alcool (*alcohol withdrawal syndrome*, AWS). Tuttavia, dovrebbe essere considerato il rischio di dipendenza da BDZ più elevato in questi pazienti rispetto alla popolazione generale. Il fenazepam è una BDZ utilizzata soprattutto in alcuni paesi quali Federazione Russa, Bielorussia e Lituania. Gli isoenzimi del sistema citocromo P450 (CYP450) coinvolti nel metabolismo del fenazepam comprendono *CYP3A4*, *CYP2B6*, *CYP2C19*, *CYP2A6*, *CYP2C9* e *CYP2E1*. Gli autori dello studio hanno investigato il ruolo di varianti del gene *CYP2C19* sull'efficacia e la sicurezza del fenazepam in un campione di pazienti di origine russa con dipendenza da alcool e comorbidità con disturbo d'ansia.

Lo studio ha incluso 175 pazienti maschi di origine russa (età media $37,16 \pm 7,84$ anni) con disturbo da uso di alcool in trattamento ambulatoriale presso il Moscow Research and Practical Centre on Addictions del Moscow Department of Healthcare. Nello specifico, i partecipanti presentavano una diagnosi principale di Disturbo delle reazioni adattative e comorbidità con Disturbo mentale e comportamentale causato da uso di alcool, AWS stadio 1, non complicata, in terapia con fenazepam per 5 giorni. I criteri di esclusione comprendevano: presenza di altri disturbi psichiatrici, disturbi somatici (ad eccezione di epatite alcolica e encefalopatia tossica), trattamento con altri farmaci psicotropi eccetto fenazepam, valori di clearance della creatinina < 50 ml/min, concentrazione di creatinina nel plasma $\geq 1,5$ mg/dl, peso inferiore a 60 Kg o superiore a 100 Kg, età ≥ 75 anni, presenza di controindicazioni all'utilizzo di fenazepam. Per valutare l'efficacia di fenazepam, sono state utilizzate la *Scale of Pathological Inclination to Alcohol* (SoPA), la *Pennsylvanian Alcohol Craving Scale* (PACS) e la *Hospital Anxiety and Depression Scale* (HADS). La valutazione dello stato d'ansia è stata effettuata utilizzando la *Hamilton Anxiety Rating Scale* (HAM-A) e la *Visual Analogue Scale* (VAS), mentre il profilo di sicurezza utilizzando la *UKU Side-Effect Rating Scale*. I pazienti sono stati valutati ai giorni 1, 3 e 5 della terapia con fenazepam. Per ogni paziente sono state genotipizzate su DNA genomico le varianti *CYP2C19*2* (rs4244285) e rs2248560 (*CYP2C19*17*). I gruppi sono stati confrontati utilizzando test non parametrici (test di Kruskal-Wallis e test di Duncan).

Per quanto riguarda l'allele *CYP2C19*2*, il 50,3% dei pazienti presentava genotipo **1/*1* (assenza della variante), il 39,4% genotipo **1/*2* e il 10,3% genotipo **2/*2*. Per l'allele *CYP2C19*17*, il 60% dei pazienti presentava genotipo **1/*1*, il 34,9% genotipo **1/*17* e il 5,1% genotipo **17*17*. All'inizio dello studio, non c'era differenza tra i genotipi relativi all'allele *CYP2C19*2* per nessuna delle scale utilizzate. Al giorno 3, è stata riscontrata una differenza significativa per gran parte degli strumenti utilizzati inclusi SoPA ($p = 0,04$), PACS ($p < 0,01$), VAS ($p < 0,01$), CGI ($p < 0,01$) e HAM-A ($p = 0,02$) ma non per la HADS ($p = 0,13$). Al giorno 5 è stata riscontrata una differenza significativa tra i genotipi della variante *CYP2C19*2* per le scale SoPA ($p = 0,02$), HAM-A ($p < 0,01$) e UKU ($p < 0,01$). La dinamica di variazione degli *score* UKU nel tempo è risultata diversa tra i pazienti in base al genotipo della variante *CYP2C19*2* ($p < 0,001$). In particolare, i genotipi *CYP2C19*1/*2* e *CYP2C19*2/*2* sono risultati associati ad un aumento più rapido degli *score* UKU rispetto ai pazienti omozigoti per l'allele *wild-type*. Questa osservazione potrebbe essere correlata ad una ridotta attività dell'isoenzima CYP2C19 nei carrier dell'allele **2* e una conseguente ridotta biotrasformazione ed eliminazione del fenazepam, con un conseguente accumulo del farmaco. Al contrario, non sono state riscontrate differenze tra i genotipi relativamente al profilo di efficacia. La variante *CYP2C19*17* è risultata associata alla variazione degli *score* HADS e UKU tra il giorno 1 e il giorno 3. Questa variante sembra quindi essere più importante nell'influenzare il profilo di efficacia del farmaco.

Lo studio presenta alcune limitazioni. In particolare, non sono state genotipizzate altre varianti del gene *CYP2C19* che possono avere un ruolo nel determinare un'attività ridotta o accelerata dell'enzima. Inoltre, non sono state genotipizzate varianti localizzate in geni che codificano per altri isoenzimi del CYP450 responsabili del metabolismo del fenazepam.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra la variante *CYP2C19*17* e l'efficacia, e la variante *CYP2C19*2* e la sicurezza del fenazepam nei pazienti con dipendenza da alcool e comorbidità con ansia.

Parole chiave: fenazepam, disturbo d'ansia, dipendenza da alcool, *CYP2C19*

Riferimento bibliografico

[Zastrozhin MS](#) et al., *Pharmacogenomics* 2020, 21(2):111-23

STUDIO DI VALIDAZIONE DEI microRNA PRECEDENTEMENTE ASSOCIATI CON LA RISPOSTA AGLI ANTIDEPRESSIVI IN PAZIENTI ADULTI TRATTATI CON VENLAFAXINA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La depressione che insorge dopo i 50-60 anni (*late-life onset depression*, LLD) è distinta dalle forme dell'età giovane-adulta. I soggetti che ne sono affetti presentano maggiori co-morbidità, a causa delle modifiche neurodegenerative e cerebrovascolari alla base (Naismith et al. *Prog Neurobiol* 2012,98:99–143). In più del 50% dei casi i pazienti presentano una ricaduta o non raggiungono la remissione, e la persistenza della sintomatologia è associata a sua volta con un progressivo decadimento cognitivo e un aumentato rischio di demenza e ictus (Deng et al. *Depress Anxiety* 2018,35:658–67; Klap et al. *Am J Geriatr Psychiatry* 2003,11:517–24; Whyte et al. *J Clin Psychiatry* 2004,65:1634–41). Pertanto, è importante identificare *biomarker* che possano chiarirne i meccanismi biologici e guidare la scelta della terapia più appropriata per il singolo paziente. Negli ultimi anni è stato dimostrato il potenziale dei microRNA (miRNA) come *biomarker* diagnostici per la depressione (Lopez et al. *Curr Opin Psychiatry* 2018,31:7–16; Tavakilizadeh et al. *J Cell Biochem* 2018,119:3783–97). Il ruolo nella fisio-patologia e nell'*outcome* della depressione maggiore è stato sottolineato in diversi studi. I livelli periferici di miR-1202, che regola l'espressione del recettore metabotropico-4 del glutammato, come anche dei miRNA 1461/b-5p, 425-3p e 24-3p, sono stati associati con la risposta agli antidepressivi (Lopez et al. *Nat Med* 2014,20:764–8; Lopez et al. *Neuropsychopharmacology* 2017,42:2043–51). La maggior parte degli studi sono stati condotti su pazienti giovani, mentre mancano dati negli adulti d'età più avanzata.

Scopo dello studio è stato quello di replicare le associazioni riscontrate in precedenza per i miR-1202, 135a-5p, 16-5p, 146a-5p, 425-3p e 24-3p in una coorte di adulti trattati con venlafaxina.

Sono stati inclusi soggetti adulti affetti da depressione maggiore di età ≥ 60 anni ($n=311$) arruolati nello studio di Fase 1 IRL-GREY (*Incomplete Response in Late-Life Depression: Getting to Remission*). Al basale i pazienti risultavano moderatamente depressi (*score* MADRS ≥ 15) e non presentavano alterazioni cognitive (MMSE < 24). I pazienti sono stati trattati con venlafaxina (37,5 mg/die, fino a 300 mg/die) e sono stati valutati per circa 12 settimane. Il tasso di remissione è stato pari al 51.1%. Per l'analisi dei livelli di espressione dei miRNA (effettuata al basale, T0, ed alla fine del trattamento, T12) sono stati selezionati i migliori 100 pazienti in remissione e i peggiori 100 non in remissione (sulla base dei cambiamenti percentuali dello *score* MADRS). Il campione finale comprendeva una percentuale maggiore di donne (64,1%), individui moderatamente depressi al basale, con un tempo medio alla remissione pari a 9,9 settimane. La concentrazione dei miRNA è stata valutata nei *buffy coat* raccolti da campioni di sangue periferico dei pazienti. Non è stata riscontrata una differenza significativa nei livelli di espressione dei miRNA a T0 e T12. Era presente tuttavia un *trend* di livelli di espressione più elevati al basale per miR-135a-5p e 146a-5p. I pazienti in remissione mostravano livelli ridotti di tutti i miRNA post-trattamento, in particolare del miR-1202, 425-3p e 24-3p, rispetto ai pazienti non in remissione. Tuttavia questa differenza non è risultata statisticamente significativa.

L'espressione al basale non è stata correlata con la risposta al trattamento, anche se i livelli di miR-135a-5p al T0 mostravano un *trend* di associazione con la remissione (OR 1,8; 1,0-3,3; $p = 0,037$, p aggiustato = 0,17) e con il tempo alla remissione. In particolare, i pazienti con livelli di espressione più elevati hanno raggiunto la remissione più velocemente (HR 1,8; 1,2-2,7; $p = 0,009$, p aggiustato = 0,063).

Questi dati mostrano un'associazione tra i livelli di miR-135a-5p e la risposta al trattamento, in accordo con quanto riportato in letteratura (Issler et al. *Neuron* 2014,83:344–60; Gheysarzadeh et al. *J Res Med Sci* 2018,23:69; Fiori et al. *Int J Neuropsychopharmacol* 2017,20:619–23). Il miR-135a-5p regola la trascrizione del trasportatore della serotonina (SERT) e del recettore 5-HT1A, tra i target principali degli antidepressivi.

Il numero ridotto di soggetti rappresenta uno dei principali limiti, e studi futuri dovranno includere un campione più ampio per poter incrementare la potenza dell'analisi ed individuare associazioni significative. Inoltre, i criteri di inclusione prevedevano l'arruolamento di pazienti con sintomi meno gravi, e questo può aver condizionato i risultati. Questi pazienti inoltre sono spesso sottoposti a politerapia, che può avere effetti sull'espressione dei miRNA (Almenar-Pérez et al. *Pharmaceutics* 2019,11(3):126).

I livelli di miR-135a-5p sono associati alla remissione indotta da venlafaxina in pazienti adulti affetti da LLD. Non è stata riscontrata alcuna associazione tra gli altri miRNA in studio e la remissione. Pertanto, nei pazienti adulti di età più avanzata l'espressione di miRNA correlata alla risposta alla terapia può essere differente rispetto a quella degli adulti più giovani. Sono necessari ulteriori studi per valutare il contributo dei miRNA alla risposta agli antidepressivi nella LLD.

Parole chiave: depressione, *miRNA*, venlafaxina

Riferimento bibliografico

[Marshé VS](#) et al. *Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2020,100:109867.

IMMUNOMODULAZIONE

IL RUOLO DEL COMPLESSO CRL4-CEREBLON NELL'EMBRIOPATIA DA TALIDOMIDE: UN'INDAGINE TRASLAZIONALE

A cura delle Dott.ssa Letizia Pugnetti

La talidomide ed i suoi derivati, lenalidomide e pomalidomide, sono farmaci immunomodulatori (IMiDs), anti angiogenici e anti infiammatori. L'embriopatia indotta da talidomide (TE) è la conseguenza di un'esposizione dell'embrione a questo farmaco ed è caratterizzata principalmente da malformazioni dello sviluppo degli arti. La talidomide lega e inattiva cereblon (CRBN), una proteina che fa parte del complesso E3-ubiquitin ligasi (CRL4) che media la degradazione via proteasoma delle proteine bersaglio. Il complesso CRL4^{CRBN} comprende il regolatore di cullins-1 (ROC1), cullin-4 (Cul4) e damaged DNA binding protein 1 (DDB1). Tuttavia, il ruolo di questo complesso nella TE non è ancora del tutto compreso: infatti non tutti gli embrioni esposti alla talidomide sviluppano TE. Recentemente è emerso che gli IMiDs causano una modifica allosterica del complesso CRL4^{CRBN}, che porta all'ubiquitinazione e alla degradazione di Ikaros (IKZF1) e Aiolos (IKZF3), due fattori di trascrizione importanti per la proliferazione delle cellule mieloidi. L'obiettivo di questo lavoro è quello di studiare la sequenza dei geni CRBN, CUL4A, DDB1, IKZF1 e IKZF3 in 35 pazienti brasiliani affetti da TE che presentano anomalie nella lunghezza degli arti, al fine di investigare il potenziale ruolo di CRL4^{CRBN} nella variabilità e suscettibilità alla TE.

Dalle analisi di sequenziamento sono state identificate 145 varianti geniche, di cui solo il 7.5% sono localizzate a livello di regioni codificanti; inoltre 24 di queste si trovano a livello delle isole CpG. CRBN e IKZF1 presentano il più alto numero di varianti a livello della regione del 3'UTR. La maggior parte delle varianti non codificanti sono rare e sembrerebbero avere un ruolo nel meccanismo di regolazione dell'espressione genica e proteica. In particolare, la variante rs138961957 (NM_001008895; c.1392 G > T) del gene CUL4A è risultata la più deleteria per i meccanismi regolatori dei geni esaminati, dimostrando il suo potenziale ruolo nella suscettibilità alla TE. Inoltre non sono state identificate varianti a livello del sito di legame delle IMiDs. Sebbene le analisi indicassero che la talidomide potesse avere un effetto sulla metilazione delle isole CpG del complesso CRL4, dalle analisi epigenetiche condotte non è emersa alcuna metilazione nella regione del promotore del gene CRBN. Inoltre per determinare se le varianti identificate potessero avere un effetto clinico, è stata eseguita un'analisi statistica correlandole con lo spettro delle

anomalie congenite nei pazienti con TE. Dallo studio è emerso che vi è un elevato numero di mutazioni associate alle anomalie dello sviluppo degli arti superiori. La variante rs1045433 (NM_016302, c.*1123 A > G) nel 3'UTR di CRBN, è risultata associata in maniera statisticamente significativa ad anomalie longitudinali pre-assiali dell'arto superiore, in questo studio, ma non è stata associata alla risposta al trattamento con talidomide in pazienti con mieloma multiplo in studi precedenti. Per approfondire il ruolo del complesso CRL4^{CRBN} durante lo sviluppo embrionale, dall'analisi di arricchimento con Gene Ontology (GO) e Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) *pathways* sono stati identificati come i più rappresentativi i processi biologici associati alla riparazione del DNA e all'ubiquitinazione; inoltre da un'analisi di interazioni proteina-proteina (PPI) sono emersi 199 target di questo complesso. Tuttavia dall'analisi GO e KEGG non è emerso alcun processo biologico associata all'"embriogenesi" o allo "sviluppo".

I geni del complesso E3 ubiquitin ligasi CRL4^{CRBN} ed i fattori di trascrizione IKZF1 e IKZF3 sono ben conservati, specialmente a livello delle regioni codificanti. Le varianti geniche identificate potrebbero agire attraverso diversi meccanismi regolatori, che potrebbero influenzare l'assemblaggio del complesso CRL4^{CRBN} e la sua capacità di legare talidomide. Lo SNP rs138961957 del gene CUL4A potrebbe avere un ruolo nella suscettibilità alla TE. Saranno necessari ulteriori studi per valutare ulteriori geni associati alla TE, ma anche come elemento cruciale nella terapia e nello sviluppo di strategie farmacogenomiche.

Parole chiave: embriopatia, talidomide, IMiDs, E3 ubiquitin ligasi, varianti geniche

Riferimento bibliografico

[Kowalski TW et al. Sci Rep 2020, 10\(1\):851](#)

LA METANALISI DEL MESE

UNO STUDIO DI REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI RELATIVO ALLA CORRELAZIONE TRA LO SNP OPRM1 RS1799971 E LA RISPOSTA A NALTREXONE IN PAZIENTI AFFETTI DA DISTURBO DA USO DI ALCOL

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il disturbo da uso di alcol (DUA) è un disordine debilitante ad elevata prevalenza per il quale, ad oggi, è disponibile un numero ridotto di terapie farmacologiche efficaci. Il naltrexone idrocloride, un antagonista dei recettori degli oppioidi μ (MORs), è stato approvato nel 1994 dalla *U. S. Food and Drug Administration* per il trattamento del DUA e rappresenta, ancora oggi, la terapia farmacologica di prima linea per tale disturbo. Il meccanismo d'azione tramite il quale il naltrexone risulta essere efficace nel DUA è ancora poco chiaro. Si ipotizza, tuttavia, che, alla luce del fatto che il consumo di alcool risulti in un aumento dell'attività oppioide endogena, il naltrexone sia in grado di alleviare il *reward* indotto dall'alcol bloccando i MORs e riducendo il rilascio di dopamina nel fascio mediale e nel nucleo accumbens. Ciò, nell'uomo, risulta in un ridotto *craving* e in un minor rischio di ricaduta nell'uso eccessivo di alcol. Studi clinici randomizzati su larga scala e diverse meta-analisi hanno confermato l'efficacia di tale farmaco per il trattamento del DUA; tuttavia, dalla pratica clinica emerge una forte variabilità interindividuale in termini di risposta clinica al naltrexone. Diverse varianti genetiche sono state studiate come potenziali fattori predittivi del rischio di non beneficiare del trattamento con tale farmaco. Tra questi, si annovera la variante rs1799971, un polimorfismo a singolo nucleotide del gene OPRM1, codificante per MOR, che risulta nella sostituzione di un'asparagina (Asn) con un acido aspartico (Asp) in posizione 40. Nello specifico, MOR codificato dall'allele minore Asp40 è risultato legarsi in maniera migliore alla β -endorfina rispetto a MOR codificato dall'allele Asn40. Inoltre, alcune evidenze in letteratura hanno dimostrato che i portatori dell'allele minore Asp40 sembrano rispondere meglio al naltrexone rispetto ai soggetti omozigoti *wild-type*. Alla luce del fatto che studi successivi non hanno validato tale associazione farmacogenetica, alcune meta-analisi sono state

condotte per produrre delle stime aggregate riguardo alla correlazione tra rs1799971 e la risposta al naltrexone in pazienti affetti da DUA. Poiché tali meta-analisi hanno mostrato risultati contrastanti e, oltretutto, non hanno incluso nelle loro analisi i dati di associazione farmacogenetica riportati da grossi studi clinici randomizzati (RCTs) condotti nell'ambito, con il presente studio è stata effettuata una revisione sistematica della letteratura, seguita da meta-analisi, finalizzata a produrre una stima meta-analitica dell'associazione tra rs1799971 e la risposta al naltrexone in pazienti affetti da DUA arruolati esclusivamente in RCTs.

La ricerca bibliografica è stata condotta a febbraio del 2019 utilizzando i *databases* di PubMed e di ClinicalTrials.gov. Sono stati definiti eleggibili gli RCTs in cui: i) i pazienti arruolati avessero almeno 18 anni di età e mostrassero un consumo problematico di alcol (abuso di alcol o DUA); ii) il focus dello studio fosse il consumo di alcol piuttosto che la disintossicazione dallo stesso; iii) venissero mostrate delle misure quantitative del consumo di alcol; iv) i pazienti fossero randomizzati al trattamento con naltrexone o placebo; v) venisse investigata la correlazione tra rs1799971 e il consumo di alcol. Gli *outcomes* di interesse sono stati: i) la % di pazienti che sono ricaduti nell'abuso di alcol durante tutto il periodo dello studio; ii) la % di individui in astinenza da alcool durante lo studio; iii) la % dei giorni di sovrautilizzo di alcol (definito nella maggior parte degli studi come il consumo di almeno 4 *drinks* a giorno); iv) la % dei giorni di astinenza; v) il numero medio di *drinks* consumati in un giorno. Gli Autori di ciascuno studio eleggibile sono stati contattati per avere eventuali dati non pubblicati riguardo agli *outcomes* sopra citati. La qualità degli studi clinici inclusi è stata valutata tramite *Cochrane Risk of Bias tool*. Le stime di associazione farmacogenetica sono state ricalcolate per ciascun *outcome* binario tramite regressione logistica e sono state espresse come OR (95% CI). Per gli *outcomes* continui (ad es. % dei giorni di astinenza, media dei drink a giorno; % dei giorni di sovrautilizzo di alcol) le stime di associazione sono state calcolate tramite Cohen's *d* e sono state espresse come differenza delle differenze delle medie standardizzate. È stata applicata una meta-analisi ad effetti random e l'eventuale presenza di errori di tipo I (falsi positivi) è stata controllata correggendo tramite *False Discovery Rate* (FDR). Mediante il test di Egger è stato verificato l'effetto dei piccoli studi.

La ricerca bibliografica ha prodotto 86 risultati di cui 7 eleggibili per la presente meta-analisi. Gli studi inclusi hanno arruolato un totale di 1256 soggetti, di cui 659 randomizzati a naltrexone e 597 a placebo. In 6 studi la dose di naltrexone somministrata è stata di 50mg/die e, nella maggior parte di essi (4 RCTs su 7), la durata del trattamento è stata di 12 settimane. Dalle meta-analisi condotte non è emersa alcuna correlazione statisticamente significativa tra la variante rs1799971 e: i) la ricaduta nell'uso di alcool (OR 0.92, 95% CI 0.52-1.64, $p=0.97$, $I^2=0.0\%$); ii) l'astinenza completa (OR 1.40, 95% CI 0.72-2.74, $p=0.33$, $I^2=0.0\%$); iii) la % dei giorni di sovrautilizzo di alcool ($d=-0.08$, 95% CI -0.24 - 0.08, $p=0.31$, $I^2=39.4\%$); iv) la % dei giorni di astinenza ($d=0.05$, 95% CI -0.11 - 0.21, $p=0.53$, $I^2=0.0\%$). Per quanto riguarda, invece, la correlazione tra rs1799971 e il numero dei *drinks* bevuti al giorno, è emersa una correlazione statisticamente significativa ($d=-0.18$, 95% CI -0.32 - -0.03, $p=0.021$, $I^2=39.4\%$) che, tuttavia, non si è mantenuta tale dopo correzione per FDR (FDR $p=0.10$). Il test di Egger ha prodotto dei *p values* >0.05 per ciascun *outcome* analizzato.

Il presente lavoro costituisce, ad oggi, l'unico studio di meta-analisi pubblicato in letteratura in cui sono stati inclusi unicamente gli RCTs finalizzati ad indagare la correlazione tra la variante rs1799971 e la risposta a naltrexone. Oltretutto, in due dei 7 RCTs eleggibili, la randomizzazione al trattamento con naltrexone o placebo è stata guidata dal genotipo di rs1799971. Sono due le meta-analisi pubblicate in precedenza nell'ambito: in entrambe, gli studi inclusi erano unicamente di natura osservazionale e i risultati da esse riportati sono stati discordanti tra loro. Nello specifico, la prima meta-analisi pubblicata in ordine cronologico ha riportato una correlazione statisticamente significativa tra la variante in studio e la risposta a naltrexone in pazienti affetti da DUA, mentre nella seconda, non si è evinta alcuna correlazione statisticamente significativa. I risultati ottenuti nel presente lavoro sono in linea con quelli ottenuti nella seconda meta-analisi e suggeriscono come la variante rs1799971 non sia predittiva della risposta a naltrexone in pazienti affetti da DUA. Tuttavia, non si può tuttora escludere che i risultati ivi ottenuti non siano dei falsi negativi, potenzialmente dovuti ad una scarsa potenza statistica dello studio. La conduzione

di una *trial sequential meta-analysis* sarebbe stata utile in tale contesto per chiarire se la numerosità di soggetti inclusi nella presente meta-analisi fosse sufficiente per ottenere delle stime di associazione farmacogenetica robuste e conclusive.

La variante OPRM1 rs1799971 non è risultata essere predittiva della risposta a naltrexone in pazienti affetti da disturbo da uso di alcol.

Parole chiave: disturbo da uso di alcol, naltrexone, OPRM1

Riferimento bibliografico

[Hartwell EE](#) et al. *Addiction* 2020 Jan 21 [Epub ahead of print]



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

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 questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Cagnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Letizia Pugnetti (Università di Trieste)
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.