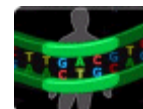




SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 128 – Maggio 2020

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

SOMMARIO

Neuropsichiatria

- Uno studio di genome-wide association identifica un gene associato alla risposta alla zonisamide nei pazienti con malattia di Parkinson

Gastroenterologia

- Il polimorfismo CYP2C19 non è associato con l'efficacia e la sicurezza del trattamento con talidomide delle malattie intestinali immuno-mediate
- La caratterizzazione massiva parallela di varianti geniche identifica gli alleli di NUDT15 associati alla tossicità da tiopurine

La metanalisi del mese

- Analisi della correlazione tra polimorfismi genetici e la tossicità indotta da chemioterapia a base di platino in pazienti affetti da tumore al polmone: una revisione sistematica e meta-analisi

NEUROPSICHIATRIA

UNO STUDIO DI GENOME-WIDE ASSOCIATION IDENTIFICA UN GENE ASSOCIATO ALLA RISPOSTA ALLA ZONISAMIDE NEI PAZIENTI CON MALATTIA DI PARKINSON

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

La malattia di Parkinson è un disturbo del movimento progressivo nel quale la perdita di neuroni dopaminergici a livello della *substantia nigra* determina sintomi motori quali tremore, bradicinesia, rigidità e instabilità posturale. La levodopa rappresenta il farmaco più efficace nella gestione della malattia. Tuttavia, la sua breve emivita e la progressiva perdita di neuroni dopaminergici fa sì che nel tempo gli effetti benefici della terapia si riducano. Questo fenomeno, definito come "*wearing-off*", solitamente si

verifica dopo diversi anni di trattamento con levodopa e può influenzare in maniera significativa la qualità della vita dei pazienti con malattia di Parkinson. Le strategie per la gestione del *wearing-off* includono: modifica di dose, modalità di somministrazione e formulazione della levodopa, co-somministrazione di altri farmaci quali inibitori delle monoamino ossidasi e delle catecol-O-metiltransferasi, o dopamino agonisti. La zonisamide è un farmaco antiepilettico che migliora i sintomi motori e riduce il *wearing-off* nei pazienti con malattia di Parkinson. Il farmaco sembra svolgere la sua azione tramite l'inibizione dei canali al sodio e canali al calcio tipo T e la regolazione della neurotrasmissione GABAergica. Inoltre, sembra avere un potenziale effetto contro lo stress ossidativo e la neurodegenerazione dopaminergica. Anche se sono state osservate differenze interindividuali nella risposta al trattamento con zonisamide, il ruolo della genetica nel determinare tali differenze è stato scarsamente investigato. Gli autori hanno condotto uno studio di *genome-wide association* (GWAS) che ha valutato l'associazione tra varianti geniche e la risposta al trattamento con zonisamide in pazienti di origine giapponese affetti da malattia di Parkinson.

Lo studio ha incluso pazienti con malattia di Parkinson, di origine giapponese, che hanno partecipato ad un trial multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, volto a determinare l'efficacia della zonisamide nel trattamento del *wearing-off*. I pazienti avevano un tempo medio nello stato "off" pari ad almeno due ore al giorno, erano stati trattati con levodopa e inibitori dell'enzima dopa decarbossilasi per almeno sei mesi consecutivi e avevano mostrato risposta alla levodopa durante i primi anni di trattamento. Il GWAS è stato condotto su 200 partecipanti che hanno ricevuto 25 o 50 mg di zonisamide al giorno e per i quali erano disponibili dati completi sui cambiamenti della fase "off" dalla *baseline* a 12 settimane di trattamento. La risposta alla zonisamide è stata definita come efficacia del farmaco nel determinare una riduzione pari ad almeno 1,5 ore della fase "off". I pazienti hanno registrato su un diario gli stati "on" e "off", e l'eventuale incidenza di discinesia ogni mezzora durante la fase di veglia. Il GWAS è stato effettuato utilizzando chip Illumina Infinium HumanOmniExpressExome-8_v1.2 BeadChip. L'associazione tra polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) e risposta alla zonisamide è stata valutata utilizzando Cochran–Armitage trend test e analisi di regressione logistica multivariata (includendo la dose giornaliera di zonisamide e il tempo in "off" alla *baseline* come covariate). È stata inoltre effettuata un'analisi *gene-based* utilizzando il software VEGAS2.

Tra i 200 pazienti inclusi, 67 hanno mostrato risposta alla zonisamide (riduzione pari ad almeno 1,5 ore al giorno del tempo in "off" alla settimana 12 rispetto alla *baseline*) e 133 sono stati definiti *non-responder*. Lo SNP rs16854023, localizzato nel gene mouse double minute 4 (*MDM4*), ha mostrato un'associazione con significatività *genome-wide* con la risposta alla zonisamide ($p = 4,85 \times 10^{-9}$). L'allele C è risultato associato con una minore risposta al farmaco (*odds ratio* = 0,13). I *carrier* dell'allele C hanno mostrato una riduzione media del tempo in "off" pari a 0,19 ore rispetto alle 1,42 ore dei *non-carrier*. Lo SNP non è risultato associato con il miglioramento dei sintomi motori misurato tramite la scala Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS). L'analisi *gene-based* ha confermato l'associazione del gene *MDM4* con la riduzione del tempo in "off" ($p = 2 \times 10^{-6}$).

Il gene *MDM4* codifica per la proteina MDMX, una ubiquitina ligasi che regola negativamente la proteina codificata dal gene oncosoppressore p53. Lo studio ha valutato per la prima volta con un approccio *hypothesis-free* il potenziale ruolo dei fattori genetici nell'efficacia della zonisamide nei confronti del *wearing-off* nei pazienti con malattia di Parkinson. I limiti dello studio comprendono la mancanza di un campione di validazione indipendente e la necessità di ulteriori analisi funzionali di follow-up.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra la variante rs16854023, localizzata nel gene *MDM4*, e l'efficacia della zonisamide nella riduzione del *wearing-off* nei pazienti con malattia di Parkinson.

Parole chiave: zonisamide, malattia di Parkinson, *MDM4*

Riferimento bibliografico

[Cha PC](#) et al. *J Hum Genet* 2020 May 1 [Epub ahead of print]

GASTROENTEROLOGIA**IL POLIMORFISMO CYP2C19 NON È ASSOCIATO CON L'EFFICACIA E LA SICUREZZA DEL TRATTAMENTO CON TALIDOMIDE DELLE MALATTIE INTESTINALI IMMUNO-MEDIATE**

A cura della Dott.ssa Elena Genova

La talidomide è un farmaco utilizzato principalmente per le sue proprietà immunomodulatorie e anti-fattore di necrosi tumorale alfa. Le proprietà immuno-regolatrici della talidomide lo rendono un farmaco adatto al trattamento di malattie infiammatorie come le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) e la malattia di Behcet. Ad oggi, l'efficacia della talidomide è stata riportata in molti studi inclusi due trial clinici randomizzati e controllati che confermano l'efficacia del farmaco nell'induzione e mantenimento della remissione clinica in bambini e adolescenti con MICI refrattaria. La talidomide, somministrata a basse dosi, è risultata essere efficace nell'induzione e mantenimento della remissione clinica, con effetti di guarigione della mucosa, anche in giovani adulti affetti dalla malattia di Crohn. Il farmaco è risultato inoltre utile anche nel trattamento della forma intestinale della malattia di Behcet's e viene somministrata quando i pazienti presentano prevalentemente sintomi gastrointestinali e ulcerazioni intestinali. Generalmente, la talidomide risulta utile in pazienti dipendenti/resistenti o intolleranti ai trattamenti routinari come corticosteroidi e/o immunomodulatori o biologici. Dal 2018 la talidomide è riconosciuta ufficialmente in Cina come trattamento secondario sia per la malattia di Crohn che per la colite ulcerosa. Tuttavia, il suo utilizzo risulta ostacolato dai suoi molti effetti avversi che possono portare all'interruzione della terapia rendendo fondamentale il costante monitoraggio dell'andamento della malattia e dell'incidenza di eventuali effetti avversi. La talidomide viene trasformata in 5-idrossitalidomide e cis-5'-idrossitalidomide dal citocromo P450 2C19 (CYP2C19). Ad oggi, riguardo la correlazione tra il genotipo CYP2C19 e l'efficacia del farmaco non c'è chiarezza e gli studi disponibili riguardano principalmente il mieloma multiplo con dati limitati riguardo le malattie intestinali immuno-associate. Inoltre, la correlazione tra il metabolismo della talidomide, la sua efficacia e lo sviluppo di effetti avversi rimane non chiaro.

Dunque, lo studio si prefissa di esplorare la correlazione tra polimorfismi del gene *CYP2C19*, efficacia e sicurezza del trattamento con talidomide in pazienti con malattie intestinali immuno-associate. L'analisi ha preso in considerazione pazienti con metabolismo veloce e lento per CYP2C19, trattati con talidomide ed analizzati considerando l'*outcome* di trattamento e l'incidenza degli effetti avversi.

Nello studio sono stati arruolati retrospettivamente 79 pazienti di cui 70 con malattia di Crohn, 3 con colite ulcerosa e 6 con la malattia di Behcet's, ricoverati tra il 2013 e il 2015 presso l'ospedale Sun-Yat sen di Guangzhou (Cina). I pazienti sono risultati tutti dipendenti/resistenti o intolleranti ai trattamenti convenzionali come corticosteroidi o tiopurine e dunque trattati con talidomide 50 mg/die con graduale aumento della dose fino a 150 mg/die o alla dose massima tollerata. Gli effetti avversi e l'efficacia del trattamento è stato altresì retrospettivamente indagato. Sono state analizzate due principali varianti del gene *CYP2C19* che corrispondono ad oltre il 90% degli alleli difettosi nella popolazione ovvero la transizione (+681, G to A) al codone 71 nell'esone 5 e la transizione (+636, G to A) nell'esone 4 risultando nelle varianti CYP2C19m1 e CYP2C19m2, rispettivamente.

Dei 79 pazienti, 38 pazienti sono risultati CYP2C19wt/wt, 23 pazienti CYP2C19wt/m1, 1 paziente CYP2C19wt/m2, 13 pazienti CYP2C19m1/m1, 4 pazienti CYP2C19m1/m2. Nessun paziente è risultato omozigote per la variante CYP2C19m2. Sono stati identificati 17 metabolizzatori lenti (CYP2C19m1/m1 e CYP2C19m1/m2) con un'incidenza del 21.5% rappresentativa della popolazione cinese contro un'incidenza del 78.5% dei metabolizzatori veloci che includono 38 omozigoti (CYP2C19wt/wt) e 24 eterozigoti (CYP2C19wt/m1 e CYP2C19wt/m2). Non sono state evidenziate differenze significative ($p=0.40$ e $p=0.34$)

relativamente a dose e durata del trattamento con talidomide tra metabolizzatori lenti e veloci. La frequenza dell'efficacia e degli effetti avversi nel fenotipo CYP2C19 veloce è risultata rispettivamente 33/61 (54.1%) e 30/61 (49.2%) mentre nel fenotipo CYP2C19 lento 12/17(70.5%) e 7/17(41.1%). Nessuna differenza è stata identificata analizzando l'associazione tra genotipi CYP2C19, *outcome* di trattamento e incidenza di effetti avversi ($p=0.28$ e $p=0.60$). Il 46.8% ovvero 37 dei 79 pazienti ha sviluppato come principali effetti avversi alla talidomide sonnolenza, neuropatia periferica e costipazione. Sette pazienti hanno interrotto il trattamento a causa dell'intolleranza degli effetti avversi e successivamente ripreso senza ulteriori problemi.

Gli autori dunque escludono dirette associazioni tra metabolizzatori lenti e veloci per il CYP2C19 e *outcome* di trattamento. La spiegazione potrebbe essere correlata alla bassa dose di farmaco somministrata (50-150 mg/die) in pazienti con malattie intestinali immuno-associate rispetto al trattamento del mieloma multiplo (200-400 mg/die). Inoltre, la combinazione con altri trattamenti come corticosteroidi e tiopurine potrebbero interferire con l'attività di CYP2C19 a causa di potenziali interazioni tra i vari farmaci. Gli autori escludono anche l'associazione tra sviluppo di effetti avversi e genotipo CYP2C19. Lo studio, come descritto dagli autori stessi, presenta delle limitazioni essendo retrospettivo e non-controllato, non monitorando le concentrazioni di talidomide durante il trattamento ma soprattutto a causa delle terapie concomitanti che potrebbero influenzare il metabolismo della talidomide. Inoltre, per confermare i risultati ottenuti lo studio dev'essere ripetuto in un campione più ampio di soggetti. Tuttavia, i dati raccolti non suggeriscono associazioni tra i polimorfismi più comuni del gene CYP2C19 l'efficacia e la comparsa di effetti avversi in pazienti con malattie intestinali immuno-associate.

I risultati ottenuti suggeriscono che il genotipo di CYP2C19 non sia associato né ad efficacia né alla comparsa di effetti avversi in pazienti affetti da malattie intestinali immuno-associate trattati con talidomide.

Parole chiave: CYP2C19 polimorfismo, talidomide, malattia di Crohn, colite ulcerosa, malattia intestinale di Behcet's

Riferimento bibliografico

[Feng R et al. J Dig Dis 2020, 21\(2\):98-103.](#)

LA CARATTERIZZAZIONE MASSIVA PARALLELA DI VARIANTI GENICHE IDENTIFICA GLI ALLELI DI *NUDT15* ASSOCIATI ALLA TOSSICITÀ DA TIOPURINE

A cura delle Dott.sse Stefania Braidotti e Raffaella Franca

Le tiopurine (mercaptopurina (MP), 6-tioguanina (TG) e azatioprina) sono antimetaboliti impiegati come agenti immunosoppressivi nel trattamento della leucemia linfoblastica acuta (LLA), dell'artrite reumatoide e delle malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI). Per esplicare il loro effetto citotossico, le tiopurine devono essere convertite nel nucleotide tioguanosina trifosfato (TGTP), il quale viene incorporato nel DNA andando a compromettere i meccanismi di riparazione del DNA ed inducendo quindi apoptosi. Variazioni polimorfiche nei geni che codificano per enzimi che metabolizzano le tiopurine possono influenzare direttamente la tossicità di questi farmaci e la loro efficacia. Un esempio è il gene tiopurina metiltransferasi, i cui polimorfismi riducono l'attività enzimatica e determinano un innalzamento dei livelli di TGTP con conseguente aumentata suscettibilità del paziente alla tossicità ematologica. Recentemente, alcune varianti nel gene *NUDT15* (che ne compromettono la funzione) sono state associate a tossicità da tiopurine nei pazienti con LLA e MICI, soprattutto di origine asiatica e ispanica. *NUDT15* funziona come un regolatore negativo del TGTP intracellulare perché inattiva il TGTP convertendolo a tioguanosina monofosfato (TGMP); pertanto, le varianti geniche con perdita di funzione di *NUDT15* possono portare ad un accumulo di TGTP e ad un'aumentata citotossicità. In seguito allo sviluppo di linee guida per il dosaggio

delle tiopurine basate sulla farmacogenetica di *NUDT15*, questo gene viene spesso sequenziato nei pazienti trattati con tiopurine e regolarmente emergono nuove varianti del gene, le cui conseguenze funzionali rimangono in gran parte non caratterizzate. Gli autori di questo lavoro hanno sviluppato quindi due saggi massivi paralleli che misurano rispettivamente l'abbondanza di proteine codificate dalle varianti di *NUDT15* e l'effetto delle stesse sulla citotossicità indotta dalle tiopurine, concentrandosi sulla caratterizzazione delle più dannose. Hanno valutato poi l'impatto predittivo del modello messo a punto su una coorte di pazienti affetti da LLA o MICI, in trattamento con tiopurine.

Inizialmente è stata costruita una libreria di mutagenesi comprensiva di 3.077 varianti missenso del gene *NUDT15* (99,3% di tutti i possibili cambiamenti noti nei 163 residui della proteina). Questa libreria di varianti è stata introdotta nella linea cellulare ingegnerizzata HEK293T, affinché ogni cellula transfettata contenesse un'unica variante di *NUDT15* fusa al gene *EGFP*. Poiché la maggior parte delle varianti di *NUDT15* conosciute finora induce una riduzione significativa della termostabilità della proteina, gli autori hanno scelto di misurare l'abbondanza proteica di *NUDT15* come *end-point* del primo saggio funzionale. Le cellule transfettate sono state quindi suddivise equamente in 4 gruppi, mediante *sorting* citofluorimetrico sulla base dell'intensità del segnale di fluorescenza emesso dall'*EGFP* presente nella porzione C-terminale di *NUDT15*. Proteine codificate da varianti che determinano bassa stabilità (come *EGFP-NUDT15 Arg139Cys*) hanno mostrato una riduzione del segnale fluorescente di tre volte rispetto a *EGFP-NUDT15 wild type* (WT). È stato quindi estratto il DNA genomico dalle cellule di ciascun gruppo ed eseguito un sequenziamento parallelo per quantificare la frequenza di ogni variante, da cui si è ricavato un punteggio (detto *score* di abbondanza della variante) che va da -0,05 a 1,38. Escludendo 154 varianti a causa della bassa qualità del sequenziamento, sono stati stimati 2.923 *score* di abbondanza (94,4% del totale), di cui 858 sono varianti a singolo nucleotide (su 903 possibili, 95,0%). In media, ogni variante è stata misurata 14 volte. In particolare, 735 varianti hanno mostrato uno *score* di abbondanza inferiore a quello della variante codificante *NUDT15 Arg139Cys* (clinicamente associata al rischio di tossicità da tiopurine), suggerendo quindi un loro possibile effetto sia sull'espressione della proteina che sul metabolismo delle tiopurine. Per validare i risultati ottenuti dal saggio *high-throughput* sono state selezionate 14 varianti con diverso *score*: questi *score* di abbondanza erano correlati con il segnale di *EGFP* delle cellule HEK293T transfettate singolarmente con le stesse varianti ($\rho = 0,98$, $P < 2,2 \times 10^{-16}$, test di correlazione di Spearman). Inoltre, le 14 proteine varianti sono state anche espresse e purificate in *Escherichia coli* e sottoposte a test di stabilità termica. I valori T_m sono stati normalizzati a quelli della proteina WT e sono risultati fortemente correlati agli *score* di abbondanza calcolati con il saggio *high-throughput* ($\rho = 0,85$, $P = 6,0 \times 10^{-5}$, test di correlazione di Spearman). Pertanto, lo screening *high-throughput* ha predetto con precisione la stabilità delle singole proteine varianti. Da questi primi risultati sono stati individuati 54 residui *hotspot* di *NUDT15*, ovvero aminoacidi che se modificati comportano la perdita completa della stabilità proteica rispetto al WT ($P < 0.01$ rispetto a tutte le varianti, Mann-Whitney-Wilcoxon test); la maggior parte di questi *hotspot* (68,5%) ricadono nelle strutture secondarie della proteina (α -eliche, β -foglietti).

È stato poi eseguito un secondo screening *high-throughput* parallelo per esaminare direttamente gli effetti delle varianti di *NUDT15* sulla citotossicità da tiopurine *in vitro*, indipendentemente dagli effetti sulla loro espressione. Le cellule esprimenti la libreria di varianti di *NUDT15* sono state trattate con TG 3 μM per 6 giorni, quindi raccolte per l'estrazione del DNA genomico. È stato eseguito un sequenziamento parallelo per identificare la frequenza di ciascuna variante, prima del trattamento farmacologico e nelle cellule sopravvissute all'esposizione al farmaco. Poiché le cellule che esprimono varianti di *NUDT15* con perdita di funzione sono più suscettibili all'apoptosi indotta da tiopurine, è stato stimato un punteggio per ciascuna variante (detto *score* di sensibilità al farmaco), in base alla sua diminuzione di frequenza dopo il trattamento farmacologico. Sono state valutate con successo 2.935 varianti (94,7% della libreria con una media di 14 osservazioni indipendenti per variante), tra cui 866 (95,9%) di tutte le possibili varianti a singolo nucleotide. Come validazione, sono state selezionate 9 varianti ed è stato testato individualmente il loro impatto sul metabolismo delle tiopurine nel modello cellulare HEK293T. In seguito all'esposizione al farmaco, le cellule portatrici di varianti con bassi *score* di sensibilità, avevano un accumulo di tionucleotidi nel DNA significativamente più elevato rispetto a quelle che esprimevano varianti con *score* di sensibilità elevate ($\rho = -0,72$, $P = 0,024$, test di correlazione di Spearman). Anche in seguito a questo saggio

funzionale, sono stati identificati 45 residui *hotspot* con maggiori probabilità di provocare un'aumentata sensibilità alle tiopurine rispetto a tutte le altre varianti ($P < 0,01$, test di Mann – Whitney – Wilcoxon). Anche in questo caso, la maggior parte degli *hotspot* ricadevano nelle strutture secondarie della proteina ed in particolare nel motivo NUDIX altamente conservato, direttamente coinvolto nel coordinamento del magnesio e delle molecole d'acqua e nell'idrolisi dei TGTP. Non tutti gli *hotspot* di sensibilità compromettevano anche la stabilità della proteina.

Infine, sono stati selezionati i punteggi più bassi rilevati tra i due *score* precedentemente calcolati, per ottenere uno *score* finale di attività di NUDT15. Gli autori hanno quindi definito le varianti inferiori a 0,45 come dannose (1.152 (40,5%) di tutte le 2.844 varianti considerate, 280 (31,0% di tutte le 903 varianti a singolo nucleotide). Applicando ai pazienti la classificazione delle varianti di NUDT15 basata sugli effetti funzionali, gli autori hanno provato a valutare se lo *score* calcolato per le varianti farmacogenetiche di NUDT15 fosse in grado di prevedere la tossicità *in vivo*. Nei 2.398 pazienti trattati con tiopurine, sono state identificate 10 varianti missenso di NUDT15, di cui 6 estremamente rare; 5 varianti erano associate a tossicità ematologica dovuta al trattamento con tiopurine (Lys33Glu, Arg34Thr, Val75Gly, Arg139Cys e Arg139His), mentre cinque non lo erano (Gln6Glu, Arg11Gln, Val18Ile, Ser83Tyr e Val93Ile). Lo *score* finale di attività è stato in media 0,20 per cinque varianti di tossicità (intervallo da 0,04 a 0,35), che è significativamente inferiore a quello delle varianti non legate alla tossicità (media di 0,74, compreso tra 0,46 e 0,98, $P = 0,0079$ dal test Mann – Whitney – Wilcoxon). Con 0,45 come soglia dello *score* di attività, è stata stimata sia la sensibilità che la specificità al 100% con un intervallo di confidenza al 95% (CI) dal 57 al 100%. Al contrario, i punteggi ottenuti dalle analisi *in silico* mediante algoritmi predittivi bioinformatici quali CADD (> 20) o REVEL ($> 0,5$) non hanno predetto con precisione l'effetto delle varianti sulla tossicità da tiopurine.

Gli autori di questo lavoro hanno ideato uno *screening* su larga scala attendibile per caratterizzare a livello funzionale le varianti del gene *NUDT15*, ma sono consci dei limiti riscontrabili nel loro modello. Innanzitutto, hanno impiegato la linea cellulare HEK293T di base resistente alle tiopurine, che potrebbe quindi aver mascherato gli effetti di varianti che influenzano in modo più moderato la sensibilità al farmaco. Inoltre, i risultati dei due saggi *high-throughput* non sono sempre stati coerenti tra loro, ad esempio la variante Arg139Cys ha mostrato una riduzione dell'85% nel saggio di abbondanza rispetto al WT, ma solo una riduzione del 13% per quanto riguarda la sensibilità al farmaco.

I risultati ottenuti dallo studio forniscono una caratterizzazione funzionale di tutte le possibili varianti farmacogenetiche missenso di *NUDT15*, importante gene metabolizzatore dei farmaci tiopurinici, migliorando notevolmente la capacità di implementare la medicina di precisione di questi farmaci guidata dalla genomica.

Parole chiave: tiopurine, NUDT15, farmacogenetica

Riferimento bibliografico

[Suiter CC](#) et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020, 117(10): 5394-01

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DELLA CORRELAZIONE TRA POLIMORFISMI GENETICI E LA TOSSICITÀ INDOTTA DA CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO IN PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE AL POLMONE: UNA REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

Il tumore al polmone è la seconda più comune diagnosi neoplastica sia nell'uomo che nella donna, e rappresenta una delle principali cause di morte a livello globale. Esistono due forme principali di tumore al polmone, quali sono quello a piccole cellule (SCLC), e quello non a piccole cellule (NSCLC). A fronte della difficoltà nell'aver una diagnosi precoce, molti pazienti ricevono una diagnosi di tumore al polmone solo quando è ormai in stadio avanzato. I chemioterapici a base di platino, come cisplatino, carboplatino e oxaliplatino, in combinazione con altri agenti citotossici, rappresentano i farmaci di prima linea per il carcinoma polmonare in stadio avanzato. Nonostante si dimostrino essere efficaci nel trattamento di tale condizione neoplastica, il loro uso è noto risultare in reazioni avverse gravi e permanenti, tra le quali si annoverano la tossicità ematologica, la nefrotossicità e la tossicità gastrointestinale. Dalla pratica clinica emerge una forte variabilità interindividuale in termini di rischio di sviluppare tali reazioni avverse, e alcune varianti genetiche sono riportate in letteratura come potenzialmente ad esse correlate. Tuttavia, essendo i risultati farmacogenetici fino ad ora ottenuti contrastanti tra loro, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di raccogliere tutte le evidenze ad oggi disponibili riguardo all'associazione tra varianti genetiche e le diverse tossicità indotte dai composti del platino in pazienti affetti da tumore al polmone e, ove possibile, di produrre delle stime meta-analitiche di tali correlazioni farmacogenetiche.

La ricerca bibliografica è stata condotta a giugno del 2019 utilizzando i databases di PubMed, Cochrane Library e ISI Web of Knowledge. Sono stati definiti come eleggibili tutti gli studi clinici in cui è stata riportata in maniera esplicita la correlazione tra polimorfismi genetici e l'insorgenza di tossicità severa di grado 3-4 (misurate tramite la scala CTCAE) in pazienti affetti da tumore al polmone. La meta-analisi dei dati di associazione farmacogenetica è stata effettuata a fronte dell'esistenza di almeno due studi riportanti la correlazione tra il medesimo SNP e una specifica tossicità. Per ciascuno studio sono stati estratti i dati relativi a: paese ed etnia dei partecipanti arruolati, dimensione campionaria, tipo di tumore al polmone, stadio della malattia, regime chemioterapico adottato, tossicità rilevate e criteri utilizzati per misurarle, gene/i e variante/i analizzati e metodo di genotipizzazione utilizzato. Le stime meta-analitiche sono state calcolate come OR e relativi intervalli di confidenza al 95%, applicando meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, rispettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità tra gli studi. Sono state condotte meta-analisi per sottogruppi sulla base del tipo di tossicità sperimentata (categorizzata come complessiva, gastrointestinale ed ematologica) e, infine, è stato stimato il rischio di bias di pubblicazione tramite i test di Begg ed Egger.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 1003 studi, di cui 20 sono risultati essere includibili nella presente revisione sistematica. Nello specifico, i geni investigati in almeno due di questi studi sono risultati essere 10, ossia ERCC1 ($N_{\text{studi}}=8$), XRCC1 ($N_{\text{studi}}=7$), ABCB1 ($N_{\text{studi}}=4$), ABCB2 ($N_{\text{studi}}=3$), GSTP1 ($N_{\text{studi}}=4$), MDM2 ($N_{\text{studi}}=6$), MTHFR ($N_{\text{studi}}=3$), XPD ($N_{\text{studi}}=4$), BAX ($N_{\text{studi}}=2$) e BCL2 ($N_{\text{studi}}=2$). Di questi geni, sono 16 gli SNPs ad essere stati meta-analizzati in correlazione con le differenti tossicità indotte dai composti del platino. Di tutte le varianti analizzate, solo 3 sono risultate essere correlate agli outcomes in studio. Nello specifico, i soggetti omozigoti mutati per il polimorfismo MTHFR rs1801133 (C677T) sono emersi essere a maggior rischio di sviluppare tossicità ematologica di grado 3-4 ($N_{\text{studi}}=2$, CC vs CT+TT: OR 1.68 95% CI 1.12-2.52, $p=0.001$). Al contrario, i soggetti omozigoti mutati per lo SNP MDM2 rs1470383 sono risultati avere una minore probabilità di sviluppare tossicità gastrointestinale ($N_{\text{studi}}=2$, CC vs TT+TC: OR 0.51 95% CI 0.29-2.43, $p=0.02$). Nessuna delle altre varianti è risultata essere correlata in maniera statisticamente significativa alle tossicità di grado 3-4, di qualunque tipologia, indotte da chemioterapici a base di platino.

Dalla presente meta-analisi, solo le varianti MTHFR rs1801133 e MDM2 rs1470383 emergono come potenzialmente correlate, rispettivamente, alla tossicità ematologica e a quella gastrointestinale indotte da composti del platino. Tuttavia, tali risultati non possono essere considerati come conclusivi in quanto ottenuti entrambi combinando tra loro unicamente due studi, peraltro di ridotta dimensione campionaria. Oltretutto, è importante sottolineare alcune limitazioni intrinseche al presente studio, quali sono: i) ben 48 articoli sono stati esclusi dalla presente revisione sistematica in quanto non riportavano in maniera esplicita

i dati di correlazione tra gli SNPs e gli *outcomes* in studio: questo può di certo aver impattato sui risultati meta-analitici ottenuti; ii) la ricerca è stata condotta a giugno del 2019, ed è quindi possibile che diversi altri studi, dopo quella data, siano stati pubblicati nell'ambito e non considerati nel presente lavoro; iii) non è stata valutata la qualità degli studi primari inclusi nella revisione sistematica: il lettore non ha quindi la percezione chiara di quale sia la bontà e la robustezza delle stime riportate dagli studi primari e, di riflesso, dei risultati quantitativi prodotti con la meta-analisi; iv) non è chiaro se siano state applicate delle restrizioni di lingua; v) alcuni fattori clinici, come sesso, età, abitudine al fumo, interazioni tra geni e interazioni geni-ambiente sono fattori noti per impattare sul rischio di sviluppare tossicità indotte da composti del platino: trattandosi di uno studio di meta-analisi basato su dati aggregati e non individuali, non è stato possibile correggere le stime meta-analitiche per tali fattori confondenti; vi) date le ridotte dimensioni campionarie su cui sono state calcolate le stime meta-analitiche, sarebbe stato utile valutare la robustezza delle stime quantitative ivi prodotte, escludendo la possibilità di aver ottenuto risultati falsi positivi o falsi negativi.

Le varianti MTHFR rs1801133 e MDM2 rs1470383 sono risultate essere correlate al rischio di sviluppare, rispettivamente, tossicità ematologica ed intestinale indotte da chemioterapici a base di platino somministrati a pazienti affetti da tumore al polmone. Tuttavia, tali risultati necessitano di essere validati da ulteriori studi.

Parole chiave: tumore al polmone, composti del platino, MTHFR, MDM2

Riferimento bibliografico

[Liu W](#) et al. *Front Oncol* 2020, 9:1573



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 questo numero:	Dott.ssa Stefania Braidotti (Università di Trieste) Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Elena Genova (Università di Trieste) 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.
