



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 131 – Settembre 2020

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

SOMMARIO

Neuropsichiatria

- Il fenotipo del CYP2D6 influenza la tollerabilità dell'aripirazolo nei pazienti pediatrici con disturbi dell'umore

Gastroenterologia

- Farmacogenetica dei livelli sierici minimi di anti-TNF nelle malattie infiammatorie croniche intestinali pediatriche

Oncologia

- Il ruolo dell'interazione tra IL6 e CRIM1 nello sviluppo di neutropenia da tiopurine in pazienti leucemici con genotipo di TPMT e NUDT15 wild type

La metanalisi del mese

- Associazione tra polimorfismi genetici e la risposta clinica a farmaci antidepressivi in pazienti affetti da depressione maggiore: una meta-analisi "a rete"

NEUROPSICHIATRIA

IL FENOTIPO DEL CYP2D6 INFLUENZA LA TOLLERABILITÀ DELL'ARIPIRAZOLO NEI PAZIENTI PEDIATRICI CON DISTURBI DELL'UMORE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Circa il 30-50% dei pazienti pediatrici con disturbi dell'umore non risponde alla terapia con farmaci antipsicotici o manifesta degli effetti avversi quali effetti metabolici, neurologici o gastrointestinali. Avere a disposizione strumenti che consentano di selezionare il farmaco e il dosaggio più sicuro ed efficace sarebbe di grande utilità per attuare un approccio di medicina di precisione nei bambini e adolescenti con disturbi dell'umore. L'aripirazolo è un agonista parziale dei recettori D2 e 5-HT_{1A} e un antagonista dei recettori 5-HT_{2A}. Pur presentando un buon profilo di sicurezza, il rischio di interruzione del trattamento e di sviluppo di effetti avversi aumentano con l'aumentare della concentrazione plasmatica del farmaco. L'aripirazolo viene metabolizzato da multipli enzimi che fanno parte della famiglia del citocromo P450 (CYP), tra i quali il CYP2D6 e, in minor misura, il CYP3A4. Il gene che codifica per l'enzima CYP2D6 è altamente polimorfico e variazioni a livello di questo gene possono aumentare o ridurre l'attività dell'enzima. Ad esempio, le varianti *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5* e *CYP2D6*6* sono associate ad una funzionalità enzimatica assente, mentre le varianti *CYP2D6*9*, *CYP2D6*10* e *CYP2D6*41* comportano un'attività enzimatica ridotta. In base all'assetto genotipico del gene *CYP2D6*, i pazienti possono essere classificati come metabolizzatori lenti, metabolizzatori intermedi, metabolizzatori estesi o metabolizzatori ultrarapidi. La Food and Drug Administration (FDA) ha inserito nella scheda tecnica dell'aripirazolo alcune raccomandazioni da attuare sulla base al fenotipo del gene *CYP2D6*. In particolare, è consigliabile ridurre il dosaggio di aripirazolo nei pazienti metabolizzatori lenti o in quelli che assumono contemporaneamente farmaci inibitori del *CYP2D6*. L'assunzione concomitante di farmaci inibitori del *CYP2D6*, quali ad esempio gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI), è comune nei pazienti pediatrici con disturbi dell'umore o disturbi d'ansia e può comportare una fenocconversione (ad esempio, comportare una riduzione dell'attività dell'enzima in un paziente che sarebbe stato un metabolizzatore esteso). I metabolizzatori lenti del *CYP2D6* (anche quelli che lo sono diventati in seguito a fenocconversione) presentano un maggior rischio di effetti avversi e richiedono un dosaggio inferiore, mentre i metabolizzatori ultrarapidi potrebbero richiedere un dosaggio superiore per ottenere una risposta terapeutica. Gli autori dello studio hanno analizzato in maniera retrospettiva le cartelle cliniche elettroniche di un campione di pazienti pediatrici con disturbi dell'umore per valutare l'effetto del fenotipo metabolizzatore del *CYP2D6* sulla tollerabilità dell'aripirazolo.

Sono stati estratti i dati delle cartelle cliniche elettroniche dei pazienti eleggibili seguiti presso il Cincinnati Children's Hospital Medical Center che avessero eseguito la genotipizzazione del *CYP2D6* e che avessero effettuato una visita di *follow-up* tra il 2009 e il 2017. I criteri di inclusione comprendevano: aver effettuato la genotipizzazione del *CYP2D6*, età ≥ 18 anni, terapia con aripirazolo e diagnosi di un disturbo dell'umore. Sono stati esclusi pazienti con livelli dell'ormone tireostimolante $> 5,5$ mIU/L, diagnosi di una lesione cerebrale traumatica, disturbi da uso di sostanze, disabilità intellettiva o anomalie cerebrali congenite. La genotipizzazione è stata eseguita su DNA genomico utilizzando *array* TaqMan in grado di valutare 20 varianti del *CYP2D6*: *2A, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10, *11, *14, *15, *17, *18, *19, *20, *40, *41, *42 e *44.

Ad ogni variante del *CYP2D6* è stato assegnato un punteggio (0 = assenza di funzione, 0,25 o 0,5 = funzione ridotta, 1: funzione normale) e i punteggi sono stati sommati per calcolare lo *score* di attività del *CYP2D6* sulla base del quale sono stati assegnati i seguenti fenotipi: 0 = metabolizzatore lento, 0,25-1 = metabolizzatore intermedio, 1,25-2,25 = metabolizzatore esteso e $>2,25$ = metabolizzatore ultrarapido. È stato poi calcolato lo status di fenocconversione moltiplicando lo *score* di attività per 0 nel caso di assunzione concomitante di un inibitore forte del *CYP2D6* (es. fluoxetina o bupropione) e per 0,5 nel caso di assunzione di un inibitore moderato (es. duloxetina, fluvoxamina o sertralina). Sono state determinate le cause di interruzione dell'assunzione del farmaco (effetti avversi, inefficacia o altre ragioni). 77 pazienti (27,8%) che hanno sospeso il farmaco per motivi sconosciuti sono stati esclusi dall'analisi relativa all'interruzione dell'assunzione del farmaco.

Lo studio ha incluso 277 pazienti. Il 57% erano metabolizzatori estesi, il 37% metabolizzatori intermedi, il 5% metabolizzatori lenti e l'1,4% metabolizzatori ultrarapidi. Un totale di 200 pazienti (72,2%) assumeva

farmaci inibitori del CYP2D6. In seguito alla fenocconversione, il campione presentava un 27% di metabolizzatori estesi, 24% intermedi, 48% lenti e < 1% ultrarapidi. Il dosaggio massimo di aripiprazolo è risultato in media simile tra i quattro gruppi.

I metabolizzatori lenti hanno mostrato una maggiore frequenza di interruzione del trattamento con aripiprazolo in seguito ad effetti avversi rispetto ai pazienti con altri fenotipi del CYP2D6 (67% per i metabolizzatori lenti, 51% per gli intermedi, 57% per gli estesi, $p = 0,024$), ma non in seguito a mancanza di efficacia ($p = 0,26$).

La variazione di percentile di BMI durante il trattamento con aripiprazolo è risultata essere associata con la durata di trattamento ($p = 0,001$), il fenotipo del CYP2D6 prima della fenocconversione ($p = 0,038$) e il numero di farmaci concomitanti metabolizzati dal CYP2D6 ($p = 0,044$), ma non con il fenotipo del CYP2D6 dopo la fenocconversione (probabilmente per la parziale sovrapposizione tra questa variabile e il numero di farmaci concomitanti metabolizzati dal CYP2D6).

I limiti dello studio comprendono un numero ridotto di pazienti per il fenotipo metabolizzatore ultrarapido ($n = 4$), il disegno retrospettivo, la possibilità che per alcuni pazienti non fossero documentati gli effetti avversi e/o le ragioni di interruzione del trattamento, i *follow-up* a intervalli non regolari e la mancanza di informazioni sul fenotipo del CYP3A4, anch'esso coinvolto nel metabolismo dell'aripiprazolo.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra il fenotipo del CYP2D6 metabolizzatore lento e una maggiore frequenza di interruzione dell'assunzione di aripiprazolo per via di effetti avversi nei pazienti pediatrici con disturbi dell'umore.

Parole chiave: aripiprazolo, disturbi dell'umore, CYP2D6

Riferimento bibliografico

[Jallag SA](#) et al. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2020 Aug 25 Online ahead of print

GASTROENTEROLOGIA

FARMACOGENETICA DEI LIVELLI SIERICI MINIMI DI ANTI-TNF NELLE MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI PEDIATRICHE

A cura della Dott.ssa Martina Franzin

La terapia per le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) in ambito pediatrico consiste prevalentemente nell'impiego di agenti biologici quali inibitori del *tumor necrosis factor alpha* (TNF α), o anti-TNF, dal momento che il trattamento con corticosteroidi potrebbe influire nella crescita e nei caratteri sessuali del bambino. Gli anti-TNF, principalmente infliximab (IFX) e adalimumab (ADA), hanno rivoluzionato il trattamento delle MICI per l'alto tasso di risposta ma non è chiaro il perché alcuni pazienti vadano incontro ad una mancata risposta primaria o allo sviluppo di una perdita di risposta secondaria. In seguito a terapia con biologici, alcuni pazienti sviluppano immunogenicità, fenomeno caratterizzato dalla produzione di anticorpi anti farmaco e la conseguente neutralizzazione del loro effetto terapeutico. Calprotectina fecale, parametri ematici, come la proteina C-reattiva e l'albumina, e, in particolare, i livelli sierici minimi di anti-TNF si sono dimostrati dei marker rilevanti nella risposta agli agenti biologici. Inoltre, nei pazienti pediatrici, come in quelli adulti, tra i livelli sierici minimi di IFX e ADA e l'attività della malattia c'è una correlazione inversa, motivo per cui questi marker insieme a dati di analisi genetiche potrebbero migliorare la predittività nella risposta a questi farmaci. Polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) dei geni implicati nella *pathway* del *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF κ B) mediano la risposta infiammatoria ed il *signalling* del TNF α . Inoltre, citochine regolate da NF κ B sono state proposte

come marker di risposta agli anti-TNF. Di conseguenza, l'obiettivo principale di questo studio è l'identificazione di varianti genetiche utili a predire la risposta agli anti-TNF associate ai livelli sierici minimi di IFX e ADA. L'obiettivo secondario invece consiste nel determinare se le varianti identificate siano marker differenziali per ogni farmaco.

Questo studio osservazionale trasversale è stato condotto in 17 unità di gastroenterologia tra il 2016 ed il 2019. I criteri di inclusione erano età < 18 anni, diagnosi di malattia di Crohn (MC) o rettocolite ulcerosa (RCU), trattamento con IFX o ADA in terapia di mantenimento (anche in co-trattamento con immunomodulatori). Per ciascun paziente sono stati raccolti dati demografici e clinici e richiesti due prelievi di sangue: uno in provetta con EDTA per le analisi genetiche ed uno in provetta con particelle di silice immediatamente prima la somministrazione di una dose programmata di anti-TNF per il dosaggio dei livelli sierici di IFX, ADA e di anticorpi anti farmaco.

Il primo prelievo è stato utilizzato per isolare il DNA genomico usando il kit NucleoSpin Tissue kit. Una volta misurata la concentrazione usando lo spettrofotometro Q5000, i polimorfismi di interesse sono stati genotipizzati grazie alla sonda TaqMan in un sistema StepOnePlus real-time PCR. Gli *SNPs* associati alla risposta agli anti-TNF nelle MICI selezionati ed analizzati riguardano:

- ✓ geni coinvolti nella risposta infiammatoria mediata da $\text{NF}\kappa\text{B}$ quali Toll-like receptor (*TLR2*, *TLR4*, e *TLR9*), lymphocyte antigen 96 (*LY96*), *CD14* e mitogen-activated protein kinase 14 (*MAP3K14*);
- ✓ geni coinvolti nel *signalling* del $\text{TNF}\alpha$ quali *TNF*, TNF receptor superfamily members *TNFRSF1A* and *TNFRSF1B*, FAS Ligand G, *FASLG*, TNF alpha-induced protein 3, *TNFAIP3*;
- ✓ citochine regolate da $\text{NF}\kappa\text{B}$ (interleuchina *IL1B*, *IL10*, *IL6* and *IL17A*).

Il secondo prelievo è stato utilizzato per ottenere il siero del paziente, che è stato prima conservato a -20/-40 °C per un periodo massimo di 2 mesi, ed in seguito è stato utilizzato per dosare i livelli sierici di IFX e ADA tramite metodica ELISA con i kit Promonitor IFXv2kit e Promonitor ADLv2kit. I limiti di quantificazione erano 0,024 µg/mL per IFX e 0,035 µg/mL per ADA. È stato considerato invece range terapeutico 3-7 µg/mL per IFX e 5-12 µg/mL per ADA. Inoltre, i livelli di anticorpi anti farmaco sono stati quantificati grazie al kit Promonitor anti-IFXv2kit e Promonitor anti-ADLv2kit. Sono stati quantificati quindi i livelli sierici di IFX, ADA e dei loro anticorpi anti farmaco ma non gli immunocomplessi.

Le variabili cliniche e demografiche continue sono state espresse come media e deviazione standard (SD) o come mediana e intervallo interquartile (IQR); le variabili qualitative sono state presentate come frequenze assolute e relative. Il *Fisher exact test* o il *student's t-test* sono stati utilizzati per confrontare rispettivamente variabili qualitative e quantitative. Un *Fisher exact test linear-by-linear* è stato utilizzato per indagare le associazioni univariate tra polimorfismi e livelli sierici sovra e subterapeutici basati su un modello codominante. La regressione logistica binaria, tenendo conto di sesso e tipologia di MICI come covariate, è stata applicata ad associazioni con $P < 0,6$ in un modello codominante. Per quanto riguarda l'analisi multivariata, un $P < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. Tutti i dati sono stati analizzati usando il software IBM SPSS Statistics for Windows. Il *t-test* è stato anche usato per studiare l'associazione tra gli *SNPs* e i valori di concentrazione di anti-TNF. L'analisi è stata eseguita grazie al software GraphPad Prism.

La coorte di pazienti pediatriche analizzata in questo studio è composta da 154 pazienti, tra cui 106 affetti da MC e 48 da RCU. I pazienti erano per lo più appartenenti al genere maschile e naïve al trattamento con biologici. Non sono state evidenziate differenze per quanto riguarda l'età o il sesso. La terapia con ADA è stata iniziata più tardi rispetto a IFX dopo la diagnosi. IFX è stato inoltre il primo anti-TNF nella maggior parte dei pazienti, mentre ADA è stato il primo anti-TNF somministrato nella metà di coloro che lo hanno ricevuto ($P < 0,001$). La percentuale di pazienti che hanno richiesto un aumento della dose di farmaco ed il tempo mediano dalla somministrazione dell'anti-TNF alla misurazione dei livelli sierici sono risultati simili in entrambi i gruppi.

In seguito a dosaggio di anti-TNF tramite saggio ELISA, il livello minimo mediano di IFX è risultato essere 5,3 µg/mL (IQR, 7,3). Inoltre, livelli sierici minimi subterapeutici (<3 µg/mL) e sovraterapeutici (>7 µg/mL) sono stati riscontrati in due terzi dei pazienti trattati con IFX. Il livello minimo mediano di ADA è risultato invece essere 10,6 µg/mL (IQR, 6,8) e livelli sierici minimi subterapeutici (<5 µg/mL) e sovraterapeutici (> 12

µg/mL) sono stati trovati rispettivamente nel 38% e nel 6% dei pazienti in trattamento con ADA. Analizzando separatamente in termini di alta, bassa o nessuna intensificazione del dosaggio di farmaco, livelli di anti-TNF sovratrapeutici sono stati riscontrati in una maggior percentuale in seguito ad una maggior intensificazione del dosaggio. La produzione di anticorpi anti farmaco è stata inoltre confermata in 3 su 6 pazienti con livelli sierici di IFX non rilevabili e nell'unico paziente con livelli sierici di ADA non rilevabili, ipotizzando che solo il 2,8% ed il 2,1% di pazienti trattati rispettivamente con IFX ed ADA presentino anticorpi anti farmaco.

In seguito a genotipizzazione, l'analisi multivariata ha permesso di identificare due *SNPs*, uno in *TLR4* (rs5030728) ed uno in *LY96* (rs11465996), associati a livelli subterapeutici di IFX. In particolare, il genotipo GG in *TLR4* ed i genotipi CG e GG in *LY96* sono stati associati a un valore di livelli minimi sierici <3 µg/mL ed entrambe queste associazioni sono rimaste significative escludendo dall'analisi i pazienti in cui il trattamento è stato intensificato. Invece, nonostante siano stati identificati uno *SNP* in *TNFRSF1B* (rs3397) associato con valori di livelli minimi sierici sub terapeutici (<5 µg/mL) e due *SNPs* in *CD14* (rs2569190) ed in *TLR2* (rs1816702) associati con livelli minimi sierici sopra terapeutici (> 12 µg/mL), in seguito ad esclusione di pazienti in cui il trattamento è stato di molto intensificato, queste associazioni non sono rimaste statisticamente significative.

Oltre alla precedente analisi dell'associazione tra *SNPs* e livelli minimi sierici per intervallo sopra o subterapeutico, è stata eseguita anche un'analisi per studiare l'associazione tra *SNPs* e valore assoluto dei livelli di anti-TNF. Minor livelli sierici di ADA sono stati associati agli *SNPs* in *TLR2* (rs1816702) e *CD14* (rs2569190), mentre minor livelli di IFX sono correlati a rs2569190. Infatti, i portatori dell'allele T nel gene *TLR2* (rs1816702) hanno presentato livelli di ADA sierici che erano quasi il doppio degli omozigoti CC. Analizzando separatamente i pazienti a cui era stato intensificato di molto il dosaggio e quelli a cui era stato intensificato di poco o per niente, l'associazione relativa al rs1816702 rimaneva significativa solo nel gruppo in cui aveva intensificato la dose. Inoltre, il genotipo GG in *CD14* (rs2569190) è stato correlato con livelli più alti di ADA rispetto all'allele A, soprattutto in pazienti che avevano intensificato il trattamento (P=0.0069). Infine, l'allele A per rs2569190 è correlato in maniera statisticamente significativa a livelli più bassi di IFX in pazienti in cui il trattamento non era o era di poco intensificato (rispettivamente P=0,014; P=0,0067).

Questo studio ha permesso di identificare diversi *SNPs* associati ai livelli sierici di IFX e/o ADA in pazienti pediatrici con diagnosi di MICI in terapia di mantenimento con questi agenti biologici. In particolare, sono stati identificati per la prima volta gli *SNPs* rs5030728 in *TLR4* e rs11465996 in *LY96* in correlazione ai livelli subterapeutici di IFX. Inoltre, portatori della variante T di rs1816702 in *TLR2* e della variante G di rs2569190 in *CD14* in omozigosi sembrano avere maggiori livelli sierici assoluti di ADA. La variante A di rs2569190 è anche associata a livelli sierici assoluti inferiori di IFX. Seppur questo studio sia da considerare preliminare e debba essere convalidato prima della sua applicazione nella pratica clinica, i risultati ottenuti suggeriscono che la genotipizzazione di queste varianti genetiche in pazienti pediatrici prima dell'inizio della terapia con gli anti-TNF IFX ed ADA possono aiutare a selezionare il miglior farmaco per garantire un livello minimo sierico terapeutico durante la fase di mantenimento ed aumentare la possibilità di una risposta efficace a questi farmaci.

Parole chiave: biomarker; gastroenterologia; farmacogenomica; anti-TNF; farmacocinetica – farmacodinamica

Riferimento bibliografico

[Salvador-Martín S](#) et al. *Br J Clin Pharmacol* 2020 Jun 1 Online ahead of print

IL RUOLO DELL'INTERAZIONE TRA *IL6* E *CRIM1* NELLO SVILUPPO DI NEUTROPENIA DA TIOPURINE IN PAZIENTI LEUCEMICI CON GENOTIPO DI *TPMT* E *NUDT15 WILD TYPE*

A cura delle Dott.sse Giulia Zudeh e Raffaella Franca

Nonostante i progressi terapeutici nella cura della leucemia linfoblastica acuta (LLA) raggiunti aggiustando l'intensità della polichemioterapia sulla base del rischio di ricaduta, circa il 50% dei pazienti sviluppa episodi di tossicità severa da tiopurine, come la neutropenia e la leucopenia, le quali possono venir spiegate dalla presenza di polimorfismi nei geni tiopurina metiltransferasi (*TPMT*) e idrolasi nudix 15 (*NUDT15*). Linee guida che permettono l'aggiustamento del dosaggio delle tiopurine sulla base del genotipo variante del paziente in *TPMT* e *NUDT15* sono disponibili in letteratura. Tuttavia, anche pazienti con genotipo *wild type* (WT) possono sviluppare tossicità da tiopurine, con conseguente interruzione o sospensione del trattamento, fallimento terapeutico e aumentato rischio di ricaduta. Risulta perciò necessario identificare nuove varianti farmacogenetiche che possano spiegare queste situazioni. Recentemente, è stato riportato che la presenza in omozigosi della variante missense rs3821169 (G>T, che comporta la sostituzione di una glicina con una valina nel gene Cysteine Rich Transmembrane BMP Regulator 1, *CRIM1*) possa essere considerata come un nuovo fattore di rischio per lo sviluppo di tali effetti avversi in pazienti asiatici; la variante in eterozigosi, invece, porta ad un fenotipo di tossicità intermedio con un impatto clinico non noto.

Lo studio è stato condotto su 320 pazienti pediatrici coreani con LLA trattati con mercaptopurina durante il mantenimento secondo i protocolli Children's Cancer Group (CCG) 1891 e 1952 oppure Children's Oncology Group AALL-0331. La tossicità ematologica è stata associata alla dose di mercaptopurina tollerata dai pazienti all'ultimo ciclo di somministrazione del farmaco (12.ma settimana), espressa in percentuale rispetto alla dose prevista (DIP, dall'inglese *dose intensity percentage*). Gli individui sono stati suddivisi in metabolizzatori lenti (ML), intermedi (MI) e normali (MN) sulla base delle correlazioni fenotipo-genotipo di *TPMT* e *NUDT15* (aplotipi STAR, *) proposte dalle linee guida del Consorzio per l'Implementazione Clinica della Farmacogenetica (CPIC): sono stati considerati come MN gli individui WT per entrambi i geni. Per *CRIM1* sono stati considerati come WT tutti i pazienti non omozigoti varianti per la variante rs3821169. È stata eseguita un'analisi esplorativa sui 228 pazienti WT in *TPMT*, *NUDT15* e *CRIM1* per scoprire nuovi marcatori genetici mediante tecnologia *whole-exome sequencing* (WES). Questo studio ha permesso di individuare la variante missense rs13306435 (T>A, Asp>Glu) nell'interleuchina 6 (*IL6*): sono stati considerati come WT tutti i pazienti non presentanti alcun allele variante in rs13306435.

All'interno della coorte analizzata 80 pazienti erano MI e ML; tra gli MN, 115 erano WT anche per i polimorfismi in *CRIM1* e *IL6*, 94 erano eterozigoti per la variante rs3821169 in *CRIM1*, 12 eterozigoti per la variante rs13306435 in *IL6*, 11 omozigoti per la variante rs3821169 in *CRIM1* e 8 con entrambe le varianti rs3821169 e rs13306435. Come atteso, la DIP dei pazienti non WT per *NUDT15* ($47,1 \pm 30,5\%$, N = 72) o *TPMT* ($56,6 \pm 33,6\%$, N = 9) era significativamente minore di quella tollerata dai 115 individui WT per tutti i geni ($71,3 \pm 29,6\%$, $p < 0,001$), usati come controllo. Gli individui omozigoti varianti in *CRIM1* rs3821169 avevano anche una ridotta tolleranza alla mercaptopurina rispetto ai controlli sia prima ($44,6 \pm 35,2\%$, N = 16) che dopo ($42,3 \pm 35,0\%$, N = 11) l'aggiustamento dell'analisi per le varianti di *NUDT15* e *IL6*. Tra gli individui WT per *TPMT*, *NUDT15* e *CRIM1*, 19 presentavano la variante rs13306435 in *IL6* e presentavano una DIP ridotta rispetto ai 209 pazienti non portatori di questa variante ($48,0 \pm 27,3\%$ vs $69,9 \pm 29,0\%$) sia mediante il test t-Student ($p = 0,0016$) che dopo una regressione lineare covariata multipla ($p = 0,0028$). Inoltre, è emerso che tra i 19 pazienti con la variante rs13306435 in *IL6*, 7 presentavano anche la variante rs3821169 in *CRIM1* e tolleravano meno mercaptopurina ($24,7 \pm 8,9\%$) rispetto ai 12 individui portatori unicamente della variante rs13306435 in *IL6* ($61,6 \pm 25,1\%$). Inoltre, le DIP erano diverse tra gli omozigoti per entrambe le varianti in *CRIM1* ed *IL6* e gli individui WT per tutti i quattro geni ($71,3 \pm 29,6\%$) e gli individui eterozigoti per *CRIM1* ($68,1 \pm 28,4\%$, rispettivamente, $p = 0,0001$; ANOVA a 1 via Tukey post-test $p < 0,05$); inoltre, questi individui tolleravano meno mercaptopurina ($44,6 \pm 35,2\%$) in confronto anche agli eterozigoti per rs13306435 in *IL6* (ANOVA a una via $61,6 \pm 25,1\%$; Tukey post-test $p < 0,05$).

I dati clinici hanno dimostrato che circa un quarto degli omozigoti per le varianti in *CRIM1* e *IL6* tolleravano meno del 25% della dose di mercaptopurina pianificata, con conseguente aumento del rischio di fallimento terapeutico e ricaduta della leucemia; questi dati sono paragonabili a quelli per gli individui non WT per *TPMT* e *NUDT15*. Tuttavia, il 56,6% (6/11) dei pazienti *CRIM1* non WT e l'87,5% (7/8) degli omozigoti per la variante in *IL6* tolleravano meno del 35% della percentuale di dose di mercaptopurina pianificata; in questo gruppo ricadevano anche il 38,9% (28/72) dei non WT per *NUDT15* ed il 33,3% (3/9) dei non WT per *TPMT*. Da notare che solo il 6,1% degli individui WT per tutti i quattro geni tollerava meno del 25% della dose di mercaptopurina pianificata e solamente il 10,5% tollerava meno del 35% della dose di mercaptopurina pianificata.

Per valutare la distribuzione inter-etnica delle varianti prese in considerazione da questo studio gli autori si sono basati su 2504 individui facenti parte del 1000 Genomes Project. Come già noto, le varianti in *TPMT* e *NUDT15* presentano una diversa distribuzione tra le varie popolazioni, mentre è stato dimostrato che gli asiatici siano i principali portatori della variante rs3821169 in *CRIM1*: il 6,5% degli asiatici è omozigote per questa variante, la quale è presente nelle altre etnie in meno dell'1% degli individui. Al contrario la variante rs13306435 in *IL6* è presente nel 15% degli americani, nel 3% degli asiatici ed europei e in meno dell'1% degli africani.

L'analisi *gene-wise burden* (GVB) è un nuovo modello che permette di valutare l'effetto cumulativo di varianti localizzate su geni diversi; in questo studio l'analisi è stata svolta valutando sia l'impatto delle varianti comuni che di quelle rare. Gli autori hanno fatto un'analisi ROC per valutare l'effetto della variabilità nei geni di interesse nella predizione della DIP nel campione di 240 pazienti WT sia per *TPMT* che *NUDT15* e successivamente su tutti i 320 pazienti per valutare le interazioni farmacogenetiche tra tutti i quattro geni (*TPMT*, *NUDT15*, *CRIM1* ed *IL6*); come soglie di affidabilità delle curve ROC sono state valutate le aree sotto la curva (AUC) ai seguenti *cutoff*: 10%, 15%, 25%, 35%, 45%, 60%, 80% e 100% di DIP. Dai risultati emersi, è stato visto che *CRIM1* permette di predire meglio la dose di mercaptopurina tollerata rispetto alla variante in *IL6*, probabilmente a causa della maggior frequenza della variante rs3821169 nella coorte studiata. Come atteso, la combinazione dell'effetto di più i geni sembra predire meglio la DIP rispetto ai geni considerati singolarmente. Questi risultati indicano che il modello GVB sembra essere migliore rispetto al metodo basato su l'associazione allele-fenotipo, comunemente usato nelle linee guida: ad esempio il rischio relativo (RR) è passato da 3,29 a 5,73.

L'*IL6* sembra essere un fattore protettivo dei neutrofili. *CRIM1* è una proteina di membrana che interagisce con le proteine morfogenetiche dell'osso; in particolare sono stati rilevati elevati livelli di *CRIM1* nei blasti leucemici chemoresistenti, con conseguenti alterazioni nei livelli delle proteine morfogenetiche dell'osso. Ciò suggerisce un potenziale ruolo di *CRIM1* nella crescita e nella differenziazione ematopoietica.

Il potenziale ruolo di *IL6* e *CRIM1* nella tossicità da tiopurine potrebbe essere dovuto a un effetto farmacodinamico, mentre le reazioni avverse a questi farmaci mediate da *TPMT* e *NUDT15* sono legate ad effetti farmacocinetici.

La grande variabilità interetnica della variante rs13306435 in *IL6* potrebbe spiegare il motivo per cui essa non sia stata ancora individuata come biomarcatore della tossicità da tiopurine, dato che la maggior parte degli studi a riguardo vengono svolti su popolazioni di etnia europea. Inoltre, le linee guida utilizzano il metodo * basato su l'associazione allele-fenotipo, costruito per spiegare le varianti farmacogenetiche di *TPMT* e *NUDT15*; tuttavia questo metodo non riesce a tener conto delle interazioni farmacogenetiche multigeniche, come invece avviene con il metodo GVB.

Parole chiave: IL6, CRIM1, tossicità da tiopurine, determinante genetico

Riferimento bibliografico

[Hyery K et al. MedRxiv 2020 July 25 Online ahead of print](#)

LA METANALISI DEL MESE**ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI GENETICI E LA RISPOSTA CLINICA A FARMACI ANTIDEPRESSIVI IN PAZIENTI AFFETTI DA DEPRESSIONE MAGGIORE: UNA META-ANALISI "A RETE"**

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

La depressione maggiore (DM) è il disturbo psichiatrico più comune a livello globale ed è stato stimato che il tasso di prevalenza *una tantum* della malattia sia pari al 15-18%. La DM è un disordine multifattoriale, e diversi fattori genetici e ambientali sono noti per contribuire in maniera sostanziale al rischio di sviluppare tale patologia. Ad oggi, disponiamo di un'ampia gamma di farmaci efficaci per il trattamento di DM, tra cui si annoverano gli inibitori selettivi della ricaptazione di serotonina (SSRI), gli inibitori della ricaptazione di serotonina e noradrenalina (SNRI), gli antidepressivi triciclici e gli antidepressivi specifici noradrenergici e serotonergici (NaSSA). Tuttavia, dalla pratica clinica emerge come una consistente proporzione di pazienti non manifesti una risposta clinica soddisfacente a tali farmaci. Sono diverse le evidenze in letteratura che suggeriscono una potenziale correlazione tra la risposta clinica ai farmaci antidepressivi e alcune varianti in geni candidati, come SLC6A4, BDNF, TPH1, HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C, HTR3A e HTR6. Tali risultati di associazione farmacogenetica sono stati spesso contrastanti tra loro e, alla luce di ciò, diverse revisioni sistematiche della letteratura, seguite da meta-analisi, sono state condotte al fine di offrire una stima potenzialmente conclusiva della correlazione tra tali SNPs e la risposta clinica ai farmaci antidepressivi. Essendo mancante in letteratura uno studio che consentisse di determinare quanto una variante genetica fosse più predittiva delle altre in termini di risposta clinica a tali farmaci, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di condurre una revisione sistematica della letteratura, seguita da una meta-analisi "a rete", in cui è stato confrontato tra loro il valore di alcuni SNP come fattori genetici predittivi della risposta clinica ai farmaci antidepressivi in pazienti affetti da depressione maggiore.

La ricerca bibliografica è stata effettuata nel mese di dicembre 2019 utilizzando i database PubMed, EMBase e Cochrane. Sono stati definiti includibili tutti gli studi di coorte in cui: i) i pazienti arruolati fossero affetti da DM, (diagnosticata sulla base dei criteri DSM-IV) e non presentassero altre comorbidità psichiatriche; ii) l'*outcome* fosse espresso come ORR (tasso di risposta globale) e la durata del trattamento farmacologico non fosse inferiore alle 4 settimane; iii) la risposta clinica fosse valutata secondo le scale HAMD o MADRS. Non sono state applicate restrizioni sul tipo di antidepressivo utilizzato. Al contrario sono stati esclusi tutti gli studi non pubblicati in lingua inglese, in cui i pazienti non fossero affetti da MD, che non riportassero i dati in maniera completa e gli studi GWAS. La qualità degli studi eleggibili è stata valutata utilizzando i criteri del *Cochrane collaboration's tool for assessing the risk of bias*. Inizialmente, sono state condotte delle meta-analisi a coppie tramite cui la correlazione tra il singolo SNP e la risposta agli antidepressivi è stata calcolata come OR e relativo intervallo di confidenza al 95%. A seguire, è stato costruito un diagramma di rete per otto SNP in cui ogni nodo rappresenta uno SNP, la dimensione del nodo è proporzionale alla dimensione campionaria su cui è stata testata l'associazione farmacogenetica per quella variante e lo spessore delle linee tra i nodi indica il numero di studi in cui le due varianti collegate dalla linea sono state analizzate simultaneamente. In terzo luogo, è stato eseguito il test di incoerenza sui dati diretti e indiretti utilizzando il metodo "node splitting". Infine, è stata calcolata l'area sotto la curva (superficie sotto la curva di classificazione cumulativa [SUCRA]): maggiore era il valore SUCRA, migliore risultava essere il valore predittivo della variante.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 1562 articoli, dei quali 16 sono stati considerati eleggibili per la revisione. Il totale dei pazienti affetti da DM arruolati in questi 16 studi era di 2257. L'etnia degli stessi era asiatica in 7 studi e caucasica nei rimanenti 9. I polimorfismi analizzabili tramite meta-analisi a rete sono risultati essere 8 localizzati in 4 geni candidati, e sono 5-HTTLPR, 5HTTStn2, 5HTR2A rs6311, 5HTR2A

rs6314, 5HTR2A rs7997012, 5HTR2A rs6313, 5HTR1A rs6295 e BDNF rs6265. Dalla meta-analisi a coppie, nessuna delle varianti in studio è risultata essere correlata in maniera statisticamente significativa alla risposta clinica agli antidepressivi. Dalla meta-analisi "a rete" è emerso che le varianti testate sui campioni di maggior dimensione sono state 5-HTTLPR e rs6313 e che i due SNP analizzati più di frequente nella medesima casistica sono stati 5-HTTLPR e 5HTTSTin2. Dal *network forest plot* ed *interval plot* non è emerso che alcuna variante sia più predittiva delle altre nel predire la risposta clinica agli antidepressivi. Quando calcolati i valori SUCRA, l'ordine delle varianti sulla base di valori decrescenti di SUCRA è risultato essere il seguente: 5HTR2A rs7997012, 5HTR2A rs6311, 5HTR2A rs6313, 5-HTTLPR, 5HTR1A rs6295, BDNF rs6265, 5HTTSTin2 e 5HTR2A rs6314.

Il presente lavoro costituisce il primo studio di meta-analisi "a rete" condotto nell'ambito. Nessuna delle varianti in studio è emersa essere singolarmente correlata alla risposta clinica agli antidepressivi. Inoltre, tra queste, nessuna variante è risultata essere un fattore genetico significativamente più predittivo delle altre; tuttavia, alla luce dei punteggi SUCRA, gli SNP 5HTR2A rs7997012 e 5HTR2A rs6311 sembrano essere le varianti più promettenti come fattori genetici predittivi della risposta agli antidepressivi. Tali risultati devono essere però interpretati alla luce di alcune limitazioni, tra cui: i) la ridotta numerosità campionaria su cui sono state calcolate le stime meta-analitiche; ii) il fatto che le scale utilizzate per la misurazione della risposta fossero diverse; iii) l'aver escluso studi *genome-wide* (fatto che potrebbe aver impattato sulla bontà dei risultati ottenuti); iv) l'assenza di meta-analisi stratificate per etnia e classe farmacologica di appartenenza del farmaco antidepressivo somministrato. Alla luce di quanto riportato, i risultati del presente studio non possono essere considerati come conclusivi.

Nessuna delle varianti genetiche analizzate è risultata essere più forte delle altre come fattore genetico predittivo della risposta clinica ai farmaci antidepressivi.

Parole chiave: depressione maggiore, antidepressivi, 5HTR2A, 5HTR1A, BDNF, SLC6A4

Riferimento bibliografico

Du D et al. *Pharmacogenomics* 2020, 21(13):963-74



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	Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattore	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Martina Franzin (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Giulia Zudeh (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 tentativo 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@sigr.it con oggetto: CANCELLA.