

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 136 – Febbraio 2021**

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

SOMMARIO**Oncologia**

- Studio di associazione tra etnia, polimorfismi TPMT-VNTR e lo sviluppo di tossicità emato-logica in pazienti pediatrici uruguaiani affetti da leucemia linfoblastica acuta
- Mutazioni nel ctDNA in plasma pre-operatorio come indicatore prognostico di recidiva nel carcinoma endometriale

Neuropsichiatria

- Risposta all'infusione di ketamina a basso dosaggio per la depressione resistente al trattamento: uno studio di associazione genome-wide basato sui geni
- Utilizzo della cannabis basato sulla farmacogenetica nella farmacia di comunità: valutazione di un programma pilota
- Effetto dei polimorfismi del CYP2D6 sulle concentrazioni plasmatiche e l'effetto terapeutico del risperidone

ONCOLOGIA**STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA ETNIA, POLIMORFISMI TPMT-VNTR E LO SVILUPPO DI TOSSICITÀ EMATOLOGICA IN PAZIENTI PEDIATRICI URUGUAIANI AFFETTI DA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA**

A cura delle Dott.sse Giulia Zudeh e Raffaella Franca

La leucemia linfoblastica acuta (LLA) è il più frequente cancro pediatrico e nonostante i miglioramenti avvenuti nel corso del tempo riguardo al suo trattamento, circa il 20% dei pazienti sviluppa effetti avversi legati alla chemioterapia. In Uruguay, i pazienti pediatrici con LLA vengono trattati sulla base del protocollo sviluppato dall'associazione Berlin-Frankfurt-Münster (IC-BFM), secondo il quale essi vengono stratificati sulla base del rischio di ricaduta e vengono sottoposti ad un regime terapeutico, suddiviso in fasi, la cui durata totale è di circa due anni. Nel corso della fase di mantenimento della remissione, ai pazienti vengono somministrati la mercaptopurina (MP, 50 mg/m²/giorno) ed il metotressato (20 mg/m²/giorno). La MP segue una complessa via metabolica, in cui l'enzima tiopurina metiltransferasi (TPMT) svolge un importante

ruolo nella regolazione dei livelli di tioricidina attivi che si possono formare. La presenza di varianti genetiche in *TPMT* è associata ad una riduzione nella sua attività enzimatica ed al conseguente possibile sviluppo di tossicità da farmaco. Nel corso del tempo sono stati caratterizzati 44 possibili alleli varianti per *TPMT*, tra cui i maggiormente frequenti sono *TPMT*2* (rs1800462, 238C>G, p.Ala80Pro), *TPMT*3B* (rs1800460, 460G>A, p.Ala154Thr), *TPMT*3C* (rs1142345, 719A>G, p.Tyr240Cys) e *TPMT*3A* (aplotipo caratterizzato dalla presenza di entrambe le varianti rs1800460 e rs1142345), i quali spiegano il 95% dei casi in cui questo enzima presenta attività ridotta. Inoltre, la presenza di ripetizioni tandem nel promotore di *TPMT*, dette *variable number tandem repeat (VNTR-TPMT)*, è stata associata ai livelli d'espressione genica di *TPMT*. In particolare, questa regione ricca in GC è composta da tre elementi, due dei quali possono variare nel numero di ripetizioni (AmBnC).

Lo scopo di questo lavoro è valutare l'effetto di *VNTR-TPMT* sulla tossicità ematologica da MP durante la fase di mantenimento in una coorte di 130 pazienti pediatriche uruguayane con LLA con età compresa tra 1 e 15 anni trattati secondo il protocollo ALL-IC-BFM 2002 (n= 58) e ALL-IC-BFM 2009 (n= 72). La tossicità ematologica, considerata come episodi di leucopenia di grado 3 e 4, è stata valutata sia nel suo insieme che a intervalli di otto settimane, dalla prima fino alla 32esima settimana della terapia di mantenimento. La dose cumulativa di MP è stata calcolata alle settimane 8, 16, 24 e 32, ma anche come dose media settimanale. Prima del trattamento i pazienti sono stati genotipizzati per identificare eventuali polimorfismi in *TPMT* e *NUDT15*, che sono le varianti più comuni associate allo sviluppo di tossicità da MP. Il numero, il tipo di *VNTR-TPMT* ed i genotipi di *TPMT* e *NUDT15* sono stati determinati tramite PCR e sequenziamento Sanger.

Sono stati identificati 18 genotipi e 10 alleli in *VNTR-TPMT*, composti da ripetizioni tandem in numero variabile (A + B + C), da 6 (ABC/ABC) a 14 (A5BC/A5BC). I genotipi più frequenti in *VNTR-TPMT* erano *4a/*5a (33,85%), *4a/*4a (25,38%), *5a/*5a (11,54%) e *4a/*6a (8,46%); tra questi è stato visto che gli alleli *4a (A2BC, 51,54%), *5a (A2B2C, 32,59%), e *6a (A2B3C, 6,15%) spiegavano più del 90% della variabilità presente in questa regione genica.

I sei genotipi di *VNTR-TPMT* *3/*3, *4a/*4a, *4a/*5a, *5a/*5a, *6b/*8a e *7a/*7a sono stati identificati in 9 pazienti eterozigoti *TPMT*3A/*1*, mentre i genotipi di *VNTR-TPMT* *4a/*4a e *4b/*5a erano presenti nel paziente portatore della variante *TPMT*2/*1* e *TPMT*3C/*1* rispettivamente. È stato possibile associare gli alleli di *VNTR-TPMT* *3, *4a, *5a, *7a e *8a alla variante *TPMT*3A* e gli alleli di *VNTR-TPMT* *4a e *4b alle varianti *TPMT*2* e *TPMT*3C*.

È stata identificata una correlazione significativa tra il numero di ripetizioni A e l'incidenza di leucopenia sia quando valutata nelle prime otto settimane (p = 0,008) che nelle 32 settimane di trattamento (p = 0,009). Partendo da questo risultato, i pazienti sono stati suddivisi in due gruppi di rischio sulla base del numero di ripetizioni A che presentavano: il gruppo di rischio 1 comprendeva i casi con meno di 5 ripetizioni A, mentre il gruppo di rischio 2 includeva i pazienti con un numero di ripetizioni A maggiore o pari a 5. L'analisi statistica svolta mediante il test di Mann-Whitney ha dimostrato come nel gruppo 2 ci siano stati più casi di leucopenia nelle prime 8 settimane del mantenimento (p = 0,01), tra le settimane 17 e 24 (p = 0,025) e nell'intervallo complessivo considerato di 32 settimane (p = 0,002). Siccome lo sviluppo di leucopenia da MP è associato a varianti in *TPMT* e *NUDT15*, gli autori hanno suddiviso il campione analizzato sulla base della presenza di queste varianti e hanno visto che l'associazione con lo sviluppo di leucopenia è rimasta significativa soltanto nel gruppo di pazienti non presentanti tali polimorfismi sia nelle prime otto settimane (p = 0,044) che nell'intervallo complessivo di 32 settimane (p = 0,012). Tuttavia, la presenza di ripetizioni A non è stata associata alla dose cumulativa di MP somministrata sia analizzando la coorte completa, che in seguito alla sua suddivisione in base alla presenza di varianti in *TPMT* e *NUDT15*.

Successivamente gli autori hanno fatto delle analisi per valutare il possibile impatto dell'etnia, la quale è stata determinata in 111 pazienti (europei 73,9 %, nativi americani 16,9 %, africani 9,12 %); è stata identificata una correlazione negativa significativa tra il numero di casi di leucopenia e l'etnia nativa americana in pazienti senza varianti in *TPMT* e *NUDT15* (p = 0,032). Siccome i pazienti senza varianti in *TPMT* e *NUDT15* del gruppo di rischio 2 erano prevalentemente di discendenza europea e nativa americana, a differenza dei pazienti del gruppo di rischio 1, è stata svolta un'ulteriore analisi per valutare il

possibile impatto di questa variabile usando il gruppo di rischio come co-variata: non è stata identificata una correlazione significativa tra il numero di casi di leucopenia e l'etnia nativa americana ($p = 0,120$).

I risultati ottenuti in questo lavoro sono in linea con quelli ottenuti da altri gruppi di ricerca e svolti su coorti di pazienti portoghesi del Mozambico, inglesi asiatici e serbi; in particolare, gli alleli *4a, *5a e *6a erano i più frequenti, mentre la frequenza degli alleli *4b e *3a risultava essere maggiore rispetto a quella identificata negli europei, ma molto simile a quella presente nei pazienti del Mozambico e negli inglesi asiatici. Questo risultato è probabilmente dovuto alla presenza nella coorte uruguaiana di molti pazienti con etnia nativa americana e africana. In accordo con quanto emerso da lavori precedenti, le analisi svolte riguardo ai genotipi ed il LD hanno mostrato che gli alleli *4a e *4b erano in LD con gli alleli *TPMT*2* and *TPMT*3C*; inoltre *TPMT*3A* era in LD con 6 alleli *VNTR-TPMT*. Al contrario, in questo studio non è stato osservato un LD tra la variante *6b e *TPMT*3A*, il quale risultava in LD con le varianti *VNTR-TPMT* meno frequenti (*3 e *8a); studi precedenti, invece, avevano trovato *TPMT*3A* in LD con gli alleli più frequenti (*5a e *6a). Queste discrepanze possono essere spiegate da diverse ipotesi, come la perdita di LD tra *TPMT*3A* e gli alleli più comuni in *VNTR-TPMT* a causa della ricombinazione, l'eterogeneità nella popolazione caucasica presente nella coorte uruguaiana oppure la possibilità di eventi microevolutivi, come deriva genetica o effetti fondatori, verificatisi nella popolazione uruguaiana.

Diversi studi hanno studiato a livello molecolare e biochimico l'impatto dei *TPMT-VNTR* sull'espressione/attività di *TPMT*. Questo studio invece correla le varianti *VNTR-TPMT* con i dati clinici. Dalle analisi svolte è stata vista un'associazione positiva tra il numero di ripetizioni A e il rischio di leucopenia; tuttavia l'associazione non è stata trovata con la dose di MP, probabilmente perché gli effetti delle varianti *VNTR-TPMT* sono più lievi rispetto a quelli dovuti ai polimorfismi in *TPMT* e *NUDT15*.

La presenza di ripetizioni tandem nel promotore di *TPMT* sembra essere associata ad un maggiore rischio di sviluppare leucopenia in pazienti pediatrici uruguaiani con LLA.

Parole chiave: leucemia linfoblastica acuta, *TPMT*, *TPMT-VNTR*, *NUDT15*, MP, farmacogenomica, etnia, tossicità ematologica

Riferimento bibliografico

[Burgueño-Rodríguez G et al. *Front Pharmacol* 2020,11: 594262](#)

MUTAZIONI NEL CTDNA IN PLASMA PRE-OPERATORIO COME INDICATORE PROGNOSTICO DI RECIDIVA NEL CARCINOMA ENDOMETRIALE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Negli Stati Uniti, il cancro dell'endometrio (CE) rappresenta la sesta principale causa di morte per cancro tra le donne. L'incidenza di questa neoplasia è la più alta tra tutti i tumori ginecologici e la sopravvivenza a 5 anni è rimasta sostanzialmente invariata nell'ultimo ventennio. L'approccio clinico-terapeutico presenta molteplici opzioni sulla base dello stadio e dell'istotipo tumorale; il trattamento adiuvante per il cancro dell'endometrio è complicato e controverso e vi sono scarse opzioni terapeutiche per la malattia recorrente e metastatica. Purtroppo la mancanza di biomarcatori appropriati e specifici per la selezione del trattamento, il monitoraggio della malattia e il follow-up è una delle principali limitazioni nel trattamento dei pazienti affetti da carcinoma endometriale. La biopsia liquida, tecnica che si basa sull'analisi di DNA o RNA circolante presente nei fluidi biologici come potenziale biomarcatore non invasivo, offre un'importante opportunità per la diagnosi e il monitoraggio della malattia nei pazienti oncologici. Nel contesto del CE, gli studi su DNA o RNA circolante sono praticamente assenti ma è forte l'esigenza di individuare dei nuovi parametri molecolari per una accurata stratificazione delle pazienti. Date le suddette premesse, lo scopo del lavoro è stato quello di rilevare mutazioni somatiche nel DNA circolante (ctDNA) in

pazienti con CE mediante ddPCR con l'obiettivo di comprendere le potenziali associazioni tra ctDNA, caratteristiche clinico-patologiche e risposta clinica.

Nello studio, retrospettivo, monocentrico, sono stati inclusi un totale di 199 pazienti affette da CE sottoposte a resezione chirurgica. Il sangue è stato prelevato il giorno dell'intervento; per due pazienti sono stati inoltre raccolti prelievi seriali di sangue nel corso del trattamento farmacologico.

Data l'elevata frequenza delle mutazioni a carico di PIK3CA e KRAS che caratterizzano questo tumore, inizialmente il DNA somatico dei 199 pazienti è stato analizzato per specifici hotspot mutazionali mediante ddPCR, identificando 68 casi con alterazioni su uno o entrambi i geni.

Per i 68 casi è stato quindi analizzato il ctDNA e valutata l'associazione con i parametri clinici e la sopravvivenza. Il tasso di positività (in termini di identificazione di mutazioni PIK3CA e / o KRAS) del ctDNA è risultato significativamente associato con l'istologia ($p=0.026$), lo stadio avanzato ($p=0.008$) e con l'invasione dello spazio linfovaskolare (presenza di cellule tumorali nei vasi sanguigni e linfatici all'interno e in prossimità della neoplasia) ($p=0.002$). Questi dati suggeriscono che ctDNA è positivo nei casi con un alto rischio di recidiva ed indicano che potrebbe essere impiegato come potenziale biomarcatore di stratificazione delle pazienti che devono essere monitorate più frequentemente o selezionati per la terapia adiuvante.

Infine, la correlazione tra CA125 sierico e variazioni nel ctDNA è stata analizzata nei 2 pazienti con CE in fase avanzata in trattamento chemioterapico, per i quali erano disponibili prelievi seriali.

La prima paziente è stata monitorata durante il trattamento neoadiuvante (6 cicli di regime carboplatino+docetaxel) fino al giorno dell'intervento. Tale monitoraggio ha permesso di osservare che i livelli di ctDNA con KRAS mutato (alterazione individuata dall'analisi del DNA somatico) erano diminuiti fino allo 0 il giorno della resezione in cui aveva mostrato risposta patologica completa mentre i livelli di CA125 erano rimasti a 107.3 U/ml.

Nel secondo caso, il monitoraggio del ctDNA è avvenuto dal giorno dell'intervento e durante il trattamento adiuvante. Inizialmente la donna ha mostrato una risposta parziale dopo 3 cicli di chemioterapia (carboplatino+docetaxel) ma dopo 5 cicli ha mostrato progressione; successivamente quindi la paziente è stata trattata con un inibitore di AKT, mostrando nuovamente una malattia in progressione dopo 3 cicli. I livelli di ctDNA in questo caso hanno permesso di osservare un cambiamento precoce rispetto ai livelli sierici di CA125 suggerendo che il ctDNA potrebbe essere un utile biomarcatore per un monitoraggio più dinamico della malattia.

In conclusione, questo è uno dei primi studi a descrivere il potenziale impiego del ctDNA nel monitoraggio della risposta terapeutica del carcinoma endometriale. I dati mostrano come il ctDNA abbia un comportamento più dinamico rispetto al CA125 sierico in risposta al trattamento farmacologico e gettano le basi per l'identificazione di nuovi biomarcatori circolanti.

Parole chiave: carcinoma endometriale, ctDNA, chemioterapia

Riferimento bibliografico

[Shintani D](#) et al. *Int J Gynecol Cancer* 2020, 30(9):1340-6

NEUROPSICHIATRIA

RISPOSTA ALL'INFUSIONE DI KETAMINA A BASSO DOSAGGIO PER LA DEPRESSIONE RESISTENTE AL TRATTAMENTO: UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE GENOME-WIDE BASATO SUI GENI

A cura della Dott.ssa Martina Franzin

L'infusione di ketamina a basso dosaggio può dare un rapido e prolungato effetto antidepressivo. In particolare, per quanto riguarda il trattamento della depressione resistente al trattamento (DRT), la ketamina, un antagonista del recettore dell'N-metil-D-aspartato (NMDA), è risultata legarsi preferenzialmente ed inibire il recettore dell'NMDA a livello degli interneuroni che usano come neurotrasmettitore l'acido gamma-amminobutirrico (GABA). Ciò favorisce la sinaptogenesi ed aumenta i livelli di fattore neurotrofico cerebrale (FNC) in questi interneuroni. In seguito ad infusione, il 50-60% dei pazienti affetti da DRT riscontra almeno il 50% di riduzione dei sintomi depressivi rapidamente ma l'effetto antidepressivo di una singola somministrazione può persistere anche per più di 2 settimane. Appurato l'effetto terapeutico della ketamina nel DRT, risulta essere di interesse clinico identificare i *biomarker* ottimali che possano predire la risposta all'infusione di ketamina. Diversi studi hanno riportato che polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs), quali il polimorfismo di *BDNF* rs6265 ed il polimorfismo del recettore mu degli oppiacei rs1799971, possano predire la risposta alla somministrazione di ketamina per infusione e di esketamina per via inalatoria. Inoltre, l'esecuzione di studi di associazione *genome-wide* (GWAS), ha identificato SNPs riguardanti geni che codificano per proteine non ancora collegate al meccanismo d'azione della ketamina. Purtroppo, studi GWAS basati su SNPs privi di ipotesi possono portare a fornire risultati falsi positivi e non identificare un'associazione confermata tra risposta e *biomarker* genetici. In uno studio precedente dei medesimi autori, la dose standard di infusione di ketamina (0,5 mg/kg) è stata correlata a livelli sierici di ketamina e del suo metabolita norketamina più alti ed è risultata più efficace rispetto ad infusione di ketamina in dosaggio minore (0,2 mg/kg).

Di conseguenza, questo studio si propone di trovare un'associazione tra la risposta all'infusione di ketamina a basso dosaggio per la DRT e geni correlati al meccanismo d'azione della ketamina ed, in particolare, selezionando geni tra cui *BDNF* e bersaglio molecolare della rapamicina (*MTOR*) (per l'effetto antidepressivo del farmaco), recettore neurotrofico tirosina chinasi 2 (*NTRK2*; per il suo legame recettoriale a *BDNF*), citocromi P450 (*CYP2B6* per il metabolismo della ketamina) e recettori dell'NMDA (NMDAR) come *GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, *GRIN2C*, *GRIN2D*, *GRIN3A*, *GRIN3B* e *GRINA*. Gli SNPs verranno anche correlati ai livelli sierici di ketamina e norketamina.

Per questo studio, sono stati arruolati 71 pazienti adulti con DRT senza alcuna storia di malattie neurologiche o disturbi da uso di alcool ed altre sostanze d'abuso. Tutti i pazienti hanno ricevuto per 40 minuti l'infusione di ketamina al dosaggio di 0,2 mg/kg o 0,5 mg/kg o il placebo. I sintomi depressivi sono stati esaminati utilizzando la *Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS) e la *Montgomery Asberg Depression Rating Scale* (MADRS) prima dell'infusione ed in seguito a 40, 80, 120, 240 minuti e nei 2, 7 e 14 giorni consecutivi all'infusione. L'*outcome* primario consisteva nella misura della severità della depressione, determinate dalle suddette scale, mentre l'*outcome* secondario nella valutazione della risposta al trattamento, definita come riduzione maggiore o uguale al 50% dei punteggi HDRS e MADRS dopo 40 e 240 minuti dall'infusione e dopo 2, 7 e 14 giorni dall'infusione, rispetto ai punteggi iniziali.

Tutti i pazienti sono stati genotipizzati usando Illumina Human Omni Express Exome Bead Chips. 65 soggetti sono stati genotipizzati per 684.616 SNPs. In particolare, sono stati selezionati 12 geni candidati quali *BDNF*, *MTOR*, *NTRK2*, *CYP2B6*, *GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, *GRIN2C*, *GRIN2D*, *GRIN3A*, *GRIN3B* e *GRINA* e, su questi, sono stati mappati 388 SNPs. Per quanto riguarda le analisi di associazione, i modelli di regressione lineare e logistica aggiustati per sesso ed età sono stati impiegati per identificare gli SNPs fortemente associati alla risposta al trattamento. Questi modelli sono stati anche usati per le analisi di associazione basate sui geni. Solo SNPs con $p < 1 \times 10^{-3}$ (significativo) e $p < 1 \times 10^{-2}$ (suggestivo) e geni con $p < 1 \times 10^{-2}$ (significativo) e $p < 5 \times 10^{-2}$ (suggestivo) sono stati valutati significativi. Tutte le analisi sopra elencate sono state svolte con i software R e PLINK. È stata condotta anche una *gene set enrichment analysis* (o *pathway analysis*) per indagare riguardo i processi e le funzioni biologiche nei pazienti a cui viene somministrata ketamina. I database utilizzati sono Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), BioCarta, Reactome e Gene Ontology (GO). In totale 226 *pathway* che includono 16.649 geni sono state analizzate selezionando i 12 geni di interesse. Solo *pathway* con $p < 5 \times 10^{-2}$ dopo la correzione di Bonferroni sono stati considerati significativi.

Per quanto riguarda i livelli sierici di ketamina e del suo metabolita norketamina, sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i diversi gruppi dello studio da 40 a 240 minuti dopo l'infusione ($p < 0,001$). Differenze statisticamente significative si sono anche riscontrate dall'analisi dei fenotipi di risposta in diversi tempi di *follow-up* ($p < 0,001$).

Nelle analisi di associazione basate su SNPs, 25 SNPs sono stati identificati come significativi o suggestivi in correlazione alla risposta al trattamento in diversi tempi di *follow-up* ma, tra questi, solo 6 (*NTRK2* rs10217777 e rs10868590, *GRIN2A* rs16966731 e rs34413887, *GRIN3A* rs79965951 e *GRIN2B* rs11055643) risultano essere suggestivi se correlati agli *scores* indicativi della sintomatologia utilizzando sia la scala HDRS sia la MADRS. 10 SNPs mappati su *NTRK2*, *GRIN2A*, e *BDNF* e 6 SNPs mappati su *NTRK2*, *GRIN2A*, e *GRIN3A* sono significativamente associati all'effetto antidepressivo della ketamina dopo 40 e 240 minuti dall'infusione ed in particolare rs10868590, mappato su *NTRK2*, è stato correlato alla risposta ad entrambe le tempistiche. La risposta al trattamento con ketamina dopo 2-6 giorni dall'infusione è risultata correlare con 10 SNPs mappati su *NTRK2*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, *GRIN3A* e *CYP2B6*; mentre quella dopo 14 giorni dall'infusione è stata associata a 3 SNPs mappati su *GRIN2B*, *GRIN2D* e *GRIN3A*. Inoltre, 5 SNPs mappati su *NTRK2* e *GRIN2B* sono significativamente associati con la risposta al farmaco dopo 2-5 giorni dal trattamento.

Investigando sulla correlazione tra SNPs e livelli sierici di ketamina e del suo metabolita norketamina, 5 SNPs mappati su *GRIN2A*, 1 su *GRIN2B* e 2 su *NTRK2* sono risultati essere associati ai livelli di ketamina rispettivamente 40, 80-240 e 80-120 minuti dopo l'infusione. Invece, 7 SNPs mappati su *GRIN2A* e 2 su *GRIN2B* sono stati correlati ai livelli sierici di norketamina rispettivamente 40-240 e 40-120 minuti dopo l'infusione. Tra questi, rs9937979 e rs145984686 sono associati sia ai livelli di farmaco che dei metaboliti. Nessuna significatività statistica in nessun momento ed in nessun gruppo di pazienti è stata raggiunta correlando gli SNPs del gene *CYP2B6*.

Per quanto riguarda le analisi di associazione basate sui geni, *BDNF*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, *GRIN2C*, *GRIN2D*, *GRIN3A* e *CYP2B6* sono risultati correlare in maniera significativa o suggestiva con gli *scores* HDRS e MADRS. *BDNF* è associato significativamente a 2, 3, 4, 6 e 7 giorni dopo l'infusione; mentre *GRIN2C* dopo 2 e 5 giorni dal trattamento. Inoltre, investigando sulla correlazione tra geni e livelli sierici di ketamina e norketamina, solo *GRIN2A* è stato associato ai livelli di farmaco dopo 40 minuti dall'infusione, mentre *GRIN2B*, *GRIN3A* e *GRIN3B* ai livelli di metabolita 80 minuti dopo il trattamento.

Infine, i risultati della *gene set enrichment analysis* ha evidenziato un totale di 17 percorsi biologici (7 da Reactome, 5 da KEGG, 3 da GO, 1 da BioCarta ed 1 da Lopes) connessi alla risposta al trattamento con ketamina. In particolare, Reactome ha suggerito come *pathway* principali la fosforilazione di CREB tramite attivazione CaMKII, l'attivazione di Ras su afflusso di Ca²⁺ tramite NMDAR e la fosforilazione di CREB tramite attivazione Ras; mentre KEGG ha suggerito la sclerosi laterale amiotrofica, l'interazione ligando-recettore neuroattivo ed il potenziamento a lungo termine. I *pathway* principali in GO erano l'attività del recettore del glutammato ionotropico, la via di segnalazione del glutammato e l'attività del recettore del glutammato; mentre in BioCarta e Lopes erano rispettivamente il *pathway* NOS1 e per Lopes metilati nel cancro del colon.

Seppur lo studio presenti delle limitazioni (cotrattamento con altri farmaci antidepressivi e numero limitato di pazienti incluso nello studio), questi risultati confermano il ruolo cruciale del *signaling* BDNF-tirosina chinasi 2 e dei sistemi glutamatergico e GABAergico nella previsione della risposta ad infusione di ketamina a basso dosaggio in pazienti affetti da DRT.

Questo è stato il primo studio GWAS a suggerire che specifici SNPs e geni, coinvolti nel *signaling* BDNF e nei sistemi glutamatergici e GABAergici (*GRIN2A*, *GRIN2B*, *GRIN2C* e *GRIN3A*) sono associati all'effetto antidepressivo rapido (entro 240 minuti) e persistente (fino a 2 settimane) in seguito all'infusione di ketamina a basso dosaggio. Inoltre, diversi SNPs in *NTRK2*, *GRIN2A* e *GRIN2B* sono risultati essere correlati ai livelli sierici di ketamina e del suo metabolita norketamina dopo l'infusione.

Parole chiave: fattore neurotrofico cerebrale; ketamina; GWAS; depressione

Riferimento bibliografico

[Chen MH](#) et al. *Genomics* 2020, 113(2):507-14

UTILIZZO DELLA CANNABIS BASATO SULLA FARMACOGENETICA NELLA FARMACIA DI COMUNITÀ: VALUTAZIONE DI UN PROGRAMMA PILOTA

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Con la diffusione del consumo di cannabis è fondamentale che l'utilizzatore sia istruito ai potenziali rischi associati al suo utilizzo e che sia adeguatamente informato relativamente alla variabilità individuale nella risposta al trattamento farmacologico. I consumatori di cannabis solitamente scelgono il loro prodotto attraverso tentativi ed errori, che spesso possono portare a effetti nocivi sulla salute. Storicamente, il coinvolgimento dei farmacisti nell'educazione sulla cannabis è limitato. Ciò è ulteriormente reso difficile dalla mancanza di standardizzazione dei prodotti a base di cannabis e dalla disponibilità di strumenti per prevederne la risposta individuale e la tolleranza. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare la praticità e l'impatto dell'implementazione di un programma di screening farmacogenetico nella farmacia di comunità. Tale programma ha lo scopo di guidare gli utenti attuali o potenziali di cannabis sia nella selezione che nel modello di utilizzo, con l'obiettivo di ridurre al minimo i potenziali effetti negativi dovuti alle variabilità genetiche individuali. La via metabolica primaria del THC coinvolge il CYP2C9. Il cannabinoide è idrossilato nella sua forma attiva (OH-THC) che ha attività psicotropa; viene quindi ulteriormente ossidato dal CYP2C9 nella sua forma di acido carbossilico (COOH-THC), farmacologicamente inattivo. Studi di epidemiologia genetica hanno dimostrato che il 15-20% della popolazione ha l'allele *CYP2C9* * 3. Questa variante risulta in una conversione molto più lenta del THC nella sua forma non psicoattiva, rispetto alla variante dell'allele *CYP2C9* * 1. Di conseguenza, questi individui con alleli * 3 possono accumulare livelli di THC che sono del 200-300% superiori a quelli con l'allele normale e, quindi, possono essere più predisposti agli effetti psicoattivi negativi del THC tra cui ansia, allucinazioni, paranoia, battito cardiaco accelerato e attacchi di panico. Inoltre, i polimorfismi dei geni *AKT1* e *COMT* possono influire, rispettivamente, sulla risposta all'uso di cannabis e sul rischio di sviluppare psicosi e deterioramento cognitivo.

Il programma pilota è stato concepito come uno studio aperto, non randomizzato e osservazionale. Nello studio sono stati arruolati pazienti che avevano ricevuto una prescrizione di cannabis medica o che avevano una storia pregressa di consumo di cannabis. Ai pazienti è stato chiesto di completare un questionario *pre-test* per la raccolta di informazioni demografiche, e relative alla storia medica e alla precedente esperienza con la cannabis. I campioni di DNA sono stati estratti da tamponi buccali ed inviati tramite posta ordinaria a un laboratorio esterno certificato. Una piattaforma di test farmacogenetici è stata utilizzata per l'identificazione dei polimorfismi genetici *CYP2C9*, *AKT1* e *COMT*. Entro 24-48 ore dalla ricezione dei risultati genetici, i farmacisti hanno fornito una consulenza farmacogenetica sulla cannabis ai pazienti. Ai partecipanti è stato successivamente chiesto di completare un questionario *post-test* per valutare il valore percepito sia dei test farmacogenetici sia della consultazione del farmacista.

Venti pazienti sono stati arruolati nello studio. La metà dei partecipanti era completamente all'oscuro del contenuto di THC nella cannabis che stava usando o aveva usato. I tre motivi principali per l'uso di cannabis includevano ansia / depressione (70%), attività ricreativa (40%) e gestione del dolore (35%). Una revisione della storia dei farmaci ha rivelato che il 45% dei pazienti stava assumendo almeno 1 farmaco cronico e di quei pazienti, tutti assumevano almeno un farmaco antidepressivo, antipsicotico o sedativo. Coerentemente con gli studi epidemiologici, lo screening farmacogenetico ha identificato che la maggior parte della popolazione in studio (95%) aveva il genotipo *CYP2C9* * 1 / * 1. Al contrario, l'analisi dei genotipi *AKT1* e *COMT* ha rivelato che oltre la metà (> 55%) dei partecipanti aveva varianti geniche che aumentavano significativamente il rischio di sviluppare sintomi psicotici e / o deterioramento cognitivo. Più specificamente, utilizzando *AKT1* come marker di rischio genetico per lo sviluppo di psicosi, il 35 e il 25% dei pazienti sono stati identificati come a rischio intermedio (genotipo C / T) e ad alto rischio (genotipo C / C),

rispettivamente. Allo stesso modo, il test del genotipo *COMT* ha rivelato che il 55% dei partecipanti era a rischio elevato di compromissione neurocognitiva, con il 45% a rischio intermedio (genotipo Val / Met) e il 10% ad alto rischio (genotipo Val / Val). Dopo aver ricevuto un consulto da un farmacista che ha esaminato i risultati dei propri test farmacogenomici, il 65% dei pazienti ha affermato che l'interazione ha aumentato il proprio livello di comfort generale nella scelta di una specifica forza / ceppo di cannabis da utilizzare in futuro. Inoltre, il 75% dei partecipanti ha riportato un valore elevato in questo servizio e ha ritenuto che i test potrebbero avere un impatto significativo sul loro uso futuro di cannabis. Il 95% dei pazienti ha ritenuto che i farmacisti dovrebbero essere maggiormente coinvolti nel consigliare i pazienti sull'uso appropriato della cannabis.

Questo è il primo studio sull'uso dei test farmacogenomici al fine di guidare il consumatore di cannabis ad un suo utilizzo più consapevole. I risultati evidenziano l'apprezzamento dei consumatori di cannabis riguardo al consulto con il farmacista e sulla possibilità di utilizzare le informazioni genetiche al fine di prendere decisioni riguardo al futuro uso di cannabis. Nonostante le dimensioni ridotte del campione, lo studio ha identificato una serie di varianti genetiche clinicamente rilevanti. Sebbene non siano stati identificati pazienti portatori di varianti del *CYP2C9* associate a ridotto metabolismo del THC, l'analisi dei genotipi *AKT1* e *COMT* ha rivelato che oltre la metà (> 55%) dei partecipanti risultava portatrice di varianti geniche associate al rischio di sviluppo di sintomi psicotici e / o deterioramento cognitivo. I principali limiti dello studio sono costituiti dalla ridotta dimensione del campione e dalla mancata valutazione di correlazione tra le varianti genetiche identificate con esiti clinici o delle modifiche comportamentali dei pazienti dopo consulto con il farmacista.

Lo studio rivela come la conoscenza della propria predisposizione genetica ad un più alto rischio di psicosi e disturbi della memoria, sia in grado di guidare il paziente verso un utilizzo più consapevole della cannabis.

Parole chiave: THC, CBD, *CYP2C19*, *AKT1*, *COMT*

Riferimento bibliografico

[Papastergiou J et al. J Cannabis Res 2020, 2\(1\):24](#)

EFFETTO DEI POLIMORFISMI DEL *CYP2D6* SULLE CONCENTRAZIONI PLASMATICHE E L'EFFETTO TERAPEUTICO DEL RISPERIDONE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

L'antipsicotico atipico risperidone è ampiamente utilizzato e presenta un buon profilo di sicurezza. Tuttavia, esiste un'ampia variabilità interindividuale nella risposta al farmaco e nello sviluppo di effetti avversi. Il risperidone è metabolizzato in maniera predominante dagli enzimi del citocromo P450 *CYP2D6* e *CYP3A4*. È stato suggerito che la risposta terapeutica al risperidone possa essere influenzata dalle concentrazioni plasmatiche di risperidone e di 9-idrossirisperidone (9-OH-RIS), suo principale metabolita attivo, che possono essere influenzate da varianti del gene che codifica per l'enzima *CYP2D6*. In particolare, è stato suggerito che i pazienti *carrier* della variante *CYP2D6*10* presentino livelli più alti di risperidone e del rapporto risperidone/9-OH-RIS. Gli studi che hanno analizzato la relazione tra varianti del *CYP2D6* e risposta al risperidone, o effetti avversi durante il trattamento, riportano risultati contrastanti. Alcuni studi suggeriscono che i *carrier* della variante *CYP2D6*10* mostrino un maggior rischio effetti avversi metabolici, come l'aumento di peso, mentre sono stati riportati risultati contrastanti in merito allo sviluppo di effetti extrapiramidali. Gli autori dello studio hanno genotipizzato alcune varianti del gene *CYP2D6* per valutare l'associazione di tali varianti con le concentrazioni plasmatiche di risperidone, la risposta al farmaco e lo sviluppo di effetti avversi.

Lo studio ha incluso pazienti di età compresa tra 18 e 68 anni, con una diagnosi di schizofrenia cronica in accordo con i criteri dell'ICD-10, fatta negli ultimi cinque anni presso il Third People's Hospital di Jiangyin City, Jiangsu, reclutati tra il 2018 e il 2019. I criteri di inclusione comprendevano: 1) non essere stati in trattamento con antipsicotici per almeno un anno, 2) essere stati ospedalizzati per un attacco acuto, e 3) avere iniziato un trattamento in monoterapia con risperidone dopo l'ospedalizzazione. Il dosaggio di risperidone è stato aumentato gradualmente fino a raggiungere il dosaggio terapeutico in una settimana (3-6 mg/die). I criteri di esclusione comprendevano: 1) essere stati sottoposti a terapia elettroconvulsivante nei tre mesi precedenti, 2) somministrazione di altri farmaci psicotropi, inclusi antidepressivi e stabilizzanti dell'umore, 3) danno cerebrale o altre patologie mediche, e 4) altre condizioni che impedissero al paziente di partecipare al trial (ad esempio allergie al farmaco o arruolamento in trial clinici per altri farmaci o dispositivi).

In totale, sono stati reclutati 79 pazienti, di cui 3 sono usciti dallo studio per via di modifiche del dosaggio o mancata compliance, per un totale di 76 pazienti inclusi nelle analisi. I dati raccolti hanno incluso informazioni demografiche, anamnesi, valutazione clinica dei sintomi psichiatrici, peso, altezza, esami di laboratorio (inclusi livelli di LDL, HDL, glicemia, prolattina, funzionalità renale ed epatica ed elettrocardiogramma) e genotipizzazione del CYP2D6. I sintomi psichiatrici sono stati monitorati tramite le scale Positive and Negative Symptoms Scale (PANSS), Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) e Clinical Global Impression (CGI). La risposta al trattamento è stata valutata misurando i cambiamenti nelle tre scale dalla settimana 0 alla settimana 4 e poi alla 8. Le scale Barnes Akathisia Scale (BAS) e Extrapyramidal Symptom Rating Scale (ESRS) sono state utilizzate per la valutazione degli effetti avversi. Ad ogni visita di follow-up sono inoltre state misurate le concentrazioni plasmatiche di risperidone e 9-OH-RIS tramite cromatografia liquida (HPLC). Sono stati calcolati il rapporto risperidone/9-OH-RIS per valutare l'attività del CYP2D6 e il rapporto concentrazione/dose (concentrazione totale di risperidone + 9-OH-RIS, diviso la dose di risperidone) per ottenere un indice della capacità di eliminazione del farmaco. Sono state genotipizzate su DNA genomico cinque varianti ad alta frequenza del CYP2D6: 100C > T (rs1065852), 1038C > T (rs1081003), 1662G > C (rs1058164), 2851C > T (rs16947) e 4181G > C (rs1135840), che sono state tradotte nei fenotipi CYP2D6*10, CYP2D6*2 e CYP2D6*65, in accordo con i criteri di PharmVar. La relazione tra varianti del CYP2D6 e risposta clinica è stata analizzata tramite analisi di regressione multipla.

I pazienti presentavano una durata media di malattia pari a 13,48 anni ($\pm 7,8$). A tutti i *time point*, le concentrazioni plasmatiche di risperidone sono risultate più alte nei *carrier* della variante CYP2D6*10 rispetto ai *carrier* della variante CYP2D6*2 ($p < 0,05$ dopo correzione per Bonferroni). Non sono state evidenziate differenze nelle concentrazioni di 9-OH-RIS tra i diversi genotipi. Il rapporto risperidone/9-OH-RIS è risultato più alto nei *carrier* della variante CYP2D6*10 rispetto ai *carrier* della variante CYP2D6*2 a tutti i *time point* e rispetto ai *carrier* della variante CYP2D6*65 alle settimane 4 e 8 ($p < 0,05$ dopo correzione per Bonferroni). Il rapporto concentrazione / dose non è risultato significativamente diverso in base ai genotipi alle settimane 4 o 8. L'associazione tra genotipo del CYP2D6 e risposta clinica è risultata modesta. Nello specifico, non è stata riscontrata un'associazione significativa tra genotipo del CYP2D6 e variazione degli *score* BPRS e CGI, mentre è stata evidenziata un'associazione tra genotipo del CYP2D6 e variazione dello *score* PANSS alla sola settimana 8 ($p = 0,027$). Nello specifico, è stata osservata una maggiore variazione dello PANSS nei pazienti *carrier* dell'allele CYP2D6*2 rispetto ai *carrier* dell'allele CYP2D6*65 ($p = 0,007$), mentre non è stata rilevata alcuna differenza significativa rispetto ai *carrier* dell'allele CYP2D6*10. L'aumento di peso alla settimana 4 è risultato significativamente maggiore nei *carrier* dell'allele CYP2D6*65 rispetto agli alleli CYP2D6*10 ($p < 0,001$) e CYP2D6*2 ($p = 0,025$). Inoltre, l'aumento dei livelli di prolattina alla settimana 8 è risultato maggiore nei *carrier* dell'allele CYP2D6*65 rispetto agli altri due alleli ($p < 0,05$ per entrambi).

I limiti principali dello studio comprendono la dimensione limitata del campione, il *follow-up* di sole otto settimane e la definizione del genotipo del gene CYP2D6 tramite tre sole varianti.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra le varianti del gene CYP2D6, le concentrazioni plasmatiche di risperidone e alcuni effetti avversi durante il trattamento.

Parole chiave: risperidone, schizofrenia, CYP2D6

Riferimento bibliografico

Lu J et al. *BMC Psychiatry* 2021, 21(1):70



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 Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Martina Franzin (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) 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 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@sigr.it con oggetto: CANCELLA.