



## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 143 – Ottobre 2021

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

#### SOMMARIO

##### Oncologia

- Validazione indipendente di microRNA candidati come biomarker predittivi della terapia a base di bevacizumab in pazienti con cancro al colon metastatico

##### Neuropsichiatria

- Test farmacogenetici in una clinica psichiatrica universitaria: una revisione retrospettiva delle cartelle

##### Immunomodulazione

- Il ruolo dei geni AHR-dipendenti nella risposta alla terapia con metotressato in pazienti con artrite reumatoide
- I polimorfismi di GGH e ABCC2 sono associati all'intolleranza al metotressato in pazienti affetti da artrite reumatoide

##### La Metanalisi del mese

- Analisi dell'associazione tra le varianti COMT rs4680, MAO-B rs1799836 e l'insorgenza di discinesia indotta da levodopa in pazienti affetti da malattia di Parkinson: uno studio di meta-analisi

#### ONCOLOGIA

#### VALIDAZIONE INDIPENDENTE DI microRNA CANDIDATI COME BIOMARKER PREDITTIVI DELLA TERAPIA A BASE DI BEVACIZUMAB IN PAZIENTI CON CANCRO AL COLON METASTATICO

*A cura delle Dott.sse Francesca Gorini e Gloria Ravegnini*

Il cancro al colon-retto (CRC) è la forma tumorale più comune del tratto gastrointestinale e, nonostante numerosi sforzi volti ad un effettuare una diagnosi sempre più precoce, più del 20% delle diagnosi avviene quando il tumore si trova già in fase metastatica (mCRC). Il regime terapeutico per il cancro al colon-retto è costituito da fluoropirimidine (fluorouracile/capecitabina) in combinazione con oxaliplatino (FOLFOX) o irinotecan (FOLFIRI). Inoltre, la chemioterapia può essere associata con terapie a bersaglio molecolare; tra

queste, bevacizumab è un anticorpo monoclonale specifico per il Fattore di Crescita Endoteliale Vascolare (VEGF) che agisce con effetto anti-angiogenetico. Attualmente, tuttavia, le conoscenze sull'esatto meccanismo di azione di bevacizumab sono ancora limitate e non sono ancora stati identificati biomarcatori specifici per l'identificazione precoce dei pazienti che trarranno beneficio da questo trattamento combinato.

I microRNA (miRNA) sono piccoli RNA non-codificanti che regolano l'espressione di geni target e svolgono un ruolo chiave in molti processi cellulari come apoptosi, regolazione del ciclo cellulare, invasione e angiogenesi. Essendo relativamente stabili, i miRNA possono essere identificati anche nei tessuti fissati in paraffina e questo li rende potenziali biomarcatori della risposta alla terapia con bevacizumab.

Nel presente studio sono stati coinvolti 92 pazienti caucasici affetti da mCRC e trattati con terapia combinata Bevacizumab/FOLFOX, la cui risposta alla terapia è stata valutata mediante criteri RECIST (Criteri della Valutazione della Risposta in Tumori Solidi) e sopravvivenza libera da malattia (PFS). I pazienti con una completa o parziale risposta alla terapia sono stati definiti *responders*, mentre pazienti con malattia stabile o in progressione sono stati definiti *non responders*. Lo studio rappresenta una validazione indipendente di 4 miRNA (miR-92b-3p, miR-3156-5p, miR-10a-5p, miR-125a-5p), individuati in uno studio precedente come possibili biomarcatori della risposta alla terapia con bevacizumab/FOLFOX nei pazienti affetti da mCRC. miR-92b-3p e miR-125a-5p sono risultati up-regolati nei pazienti *responders* alla terapia con bevacizumab/FOLFOX, mentre i livelli di miR-3156 e miR-10a-5p non hanno mostrato differenze significative tra i pazienti *responders* e *non responders*. L'analisi di Kaplan-Meier ha mostrato, invece, che i livelli elevati di miR-92b-3p sono significativamente correlati ad una prolungata PFS ( $p=0.024$ ). Un'espressione deregolata del miR-92b-3p è emersa in diversi tipi di tumore; tuttavia, ancora non è chiaro il suo ruolo. Secondo gli autori del presente studio, l'espressione di questo miRNA nel tessuto tumorale potrebbe riflettere la densità dei vasi neoformati e, di conseguenza, potrebbe essere indice di risposta alla terapia anti-angiogenetica.

Questo studio presenta i limiti di essere monocentrico e di analizzare esclusivamente pazienti caucasici; per confermare le potenzialità del miR-92b-3p come biomarcatore di risposta alla terapia anti-angiogenetica, sarebbe quindi necessario ampliare la coorte dei pazienti ed effettuare uno studio multicentrico. Inoltre, la performance analitica del miR-92b-3p (AUC=0.705) non è sufficiente per l'utilizzo di tale miRNA come biomarker della risposta alla terapia nei pazienti con mCRC trattati con bevacizumab/FOLFOX e ulteriori studi saranno necessari per verificare se tale performance aumenti associando il miR-92b-3p con altri biomarker.

In conclusione, questo studio ha mostrato che alterazioni dell'espressione del miR-92b-3p possono essere correlate con una diversa risposta alla terapia con bevacizumab/FOLFOX nei pazienti affetti da mCRC.

**Parole chiave:** cancro al colon-retto metastatico, miR-92b-3p, bevacizumab, angiogenesi

#### Riferimento bibliografico

Kiss D. *In Vivo* 2021, 35(5):2809-14

## NEUROPSICHIATRIA

### TEST FARMACOGENETICI IN UNA CLINICA PSICHIATRICA UNIVERSITARIA: UNA REVISIONE RETROSPETTIVA DELLE CARTELLE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Una percentuale elevata di pazienti con diagnosi di disturbo depressivo maggiore non risponde al primo trattamento con antidepressivi. Alcuni studi hanno mostrato che ad ogni nuovo trattamento con antidepressivi la probabilità di remissione diminuisce e il rischio di eventi avversi aumenta. L'approccio *trial and error* aumenta anche il rischio di sviluppare una depressione resistente al trattamento. Per questo motivo, sarebbe di grande utilità avere a disposizione dei marker in grado di aiutare il clinico nella scelta del migliore regime di trattamento. La farmacogenomica utilizza le informazioni genetiche che riguardano varianti a livello di geni coinvolti nella farmacocinetica o nella farmacodinamica e che possono giocare un ruolo nella variabilità interindividuale nella risposta ai farmaci. Nei pazienti con depressione che non hanno risposto ad almeno un trattamento, l'utilizzo delle informazioni farmacogenetiche per impostare il trattamento sembra migliorare la probabilità di remissione dei sintomi rispetto al trattamento *treatment as usual*. Anche se i trial clinici randomizzati in cieco sono il *gold standard* per la valutazione di un nuovo intervento, è importante anche avere informazioni in merito all'implementazione e utilizzo dei test farmacogenetici in un setting *real-world*. Gli autori hanno condotto uno studio retrospettivo, nell'ambito di un progetto volto al miglioramento della qualità, per comprendere come i test farmacogenetici sono utilizzati in una clinica psichiatrica di un centro medico universitario.

Lo studio è stato condotto presso il Loyola University Medical Center ed è stato finanziato da Myriad Neuroscience, azienda produttrice del test farmacogenetico utilizzato. Sono state analizzate le cartelle di tutti i pazienti afferiti al Servizio Ambulatoriale del Dipartimento di Psichiatria che hanno ricevuto un test di farmacogenetica tra gennaio 2010 e giugno 2019. I criteri di inclusione comprendevano: diagnosi di un disturbo psichiatrico, età maggiore di 8 anni e disponibilità di informazioni cliniche rilevanti. In totale sono state analizzate le cartelle di 600 pazienti. Otto pazienti sono stati esclusi per mancanza di dati e 592 sono stati inclusi nell'analisi. Per ogni paziente sono state raccolte le seguenti informazioni: genere, età, origine, diagnosi, storia di patologie mediche, neurologiche e psichiatriche e assunzione di farmaci psicotropi (da 1 anno prima del test fino a 2 anni dopo la data del test farmacogenetico).

Il test utilizzato è stato per tutti i pazienti GeneSight di Myriad Genetics (Mason, USA). L'algoritmo alla base di questo test fornisce la seguente informazione in merito alle possibili interazioni gene-farmaco: codice verde (nessuna interazione nota), codice giallo (interazioni moderate) o codice rosso (interazioni significative). Le decisioni mediche nell'anno precedente e in quello successivo al test sono state definite come "congruenti" se al paziente è stato prescritto un farmaco categorizzato come giallo o verde e "non congruenti" se è stato prescritto un farmaco categorizzato come "rosso". La proporzione di prescrizioni congruenti e incongruenti prima e dopo il test è stata confrontata tramite il test di McNemar.

Delle 592 cartelle analizzate, la maggior parte dei pazienti presentava una diagnosi di depressione (52%) o disturbo d'ansia (12%). L'età dei pazienti variava da 8 a 88 anni (mediana: 39). Il 65% dei pazienti era di genere femminile e il 63% di origine caucasica. Gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina sono risultati i farmaci più prescritti sia prima che dopo il test farmacogenetico.

Non è stato possibile definire la congruenza per 125 pazienti (47 non hanno assunto farmaci per i quali il test forniva indicazioni nell'anno precedente il test e 78 pazienti non hanno assunto farmaci nell'anno successivo al test). Nell'anno successivo al test, la proporzione di pazienti che assumeva farmaci categorizzati come "rossi" si è ridotta dal 26% al 19% e quella dei pazienti che assumevano farmaci categorizzati come "gialli" o "verdi" è aumentata dal 73% all'81% ( $p = 0,006$ ).

Un'analisi ristretta ai 451 pazienti che nell'anno precedente il test hanno assunto farmaci per i quali il test fornisce indicazioni ha mostrato che il 91% dei pazienti che assumevano farmaci "verdi" hanno continuato ad assumere farmaci "verdi" o "gialli" nell'anno successivo. Dei pazienti che assumevano farmaci "rossi" prima del test, il 56% è passata ad un farmaco "verde" o "giallo" dopo il test ( $p = 0,0004$ ).

Per quanto riguarda la politerapia, mentre prima del test farmacogenetico la maggior parte dei pazienti assumeva 4 o più farmaci, dopo il test la maggior parte dei pazienti è risultata assumere fino a 2 farmaci ( $p < 0,0001$ ).

Obiettivo di questo studio è stato quello di capire come l'utilizzo e l'implementazione dei test farmacogenetici in un centro medico universitario abbia modificato le pratiche prescrittive dei clinici per i pazienti con disturbi psichiatrici. I risultati hanno mostrato una maggiore propensione per la prescrizione di

farmaci caratterizzati da un minor numero di interazioni gene-farmaco dopo il test. Questo approccio è stato suggerito da studi precedenti essere associato ad una più elevata probabilità di remissione. Tuttavia, nel presente studio i clinici non erano tenuti ad utilizzare le informazioni farmacogenetiche per l'impostazione del regime di trattamento. Ulteriori limiti dello studio, che è stato finanziato dall'azienda produttrice del test, comprendono la mancanza di dati in merito alla risposta dei pazienti o allo sviluppo di eventi avversi, i quali non sono stati documentati in maniera sistematica nei pazienti inclusi.

In conclusione, lo studio ha mostrato una riduzione della prescrizione di farmaci incongruenti e di politerapia dopo il test farmacogenetico GeneSight in una clinica psichiatrica universitaria.

**Parole chiave:** antidepressivi, disturbo depressivo maggiore, test farmacogenetico

#### Riferimento bibliografico

[Brown L](#) et al. *J Pers Med* 2021, 11(9):896

## IMMUNOMODULAZIONE

### IL RUOLO DEI GENI AhR-DIPENDENTI NELLA RISPOSTA ALLA TERAPIA CON METOTRESSATO IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE

A cura delle Dott.sse Giulia Zudeh e Raffaella Franca

Il metotressato (MTX) è un farmaco di prima linea nel trattamento dell'artrite reumatoide (AR). Tuttavia, nella pratica clinica, si osserva spesso una mancata risposta o una risposta parziale al trattamento farmacologico da parte dei pazienti: le ragioni di tale inefficacia rimangono tuttora poco chiare. Il MTX è un antimetabolita con una struttura simile all'acido folico, il quale regola negativamente la sovraespressione del recettore degli idrocarburi arilici (AhR, dall'inglese *aryl hydro- carbon receptor*). Il gene *AHR* codifica per un fattore di trascrizione capace di regolare l'espressione di molti enzimi e trasportatori coinvolti nella farmacocinetica degli xenobiotici, compresi molti farmaci. È stato quindi ipotizzato dagli autori che questo fattore possa influenzare anche la risposta al MTX nei pazienti affetti da AR. L'impatto di *AhR* e dei geni *AhR*-dipendenti sulla risposta al MTX non era mai stato preso in considerazione prima. In questo studio, è stato fatto un sequenziamento degli esoni e delle sequenze introniche adiacenti agli esoni dei geni coinvolti nella risposta al MTX con tecniche di next generation sequencing (NGS) usando la piattaforma Ampliseq On-Demand Panel (Illumina, Inc. San Diego, CA, USA) e delle analisi di espressione genica mediante sonde TaqMan dei geni candidati su un numero limitato di pazienti. Inoltre, è stata seguita la genotipizzazione mediante sonde Taqman dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP, *single nucleotide polymorphism*) emersi dall'analisi NGS nell'intera coorte di pazienti per la valutazione del loro ruolo predittivo sulla risposta alla terapia con MTX.

Nello studio sono stati arruolati 158 pazienti (in prevalenza donne (89,9%) con un'età mediana (range) di 59 (22-89) anni ed un grado di attività della malattia moderato (DAS, *disease activity score*): mediana (range) 4,44 (0,97-7,51)) in trattamento da almeno 3 mesi con una dose settimanale di MTX compresa tra 15 e 25 mg; la durata mediana del trattamento nell'intera coorte è stata di 11 (0,5-48) anni. La risposta al trattamento con MTX è stata valutata mediante i criteri EULAR. I pazienti sono stati divisi in due gruppi a seconda della risposta al MTX: quelli con una buona risposta (n = 108 (68,3%)) sono stati trattati con MTX o MTX associato a glucocorticoidi, mentre il gruppo di pazienti con una risposta inadeguata (n = 50, costituito sia da coloro che non rispondevano al trattamento sia da coloro che avevano sofferto di sindromi dispeptiche o che avevano presentato altri sintomi di intolleranza al farmaco, come cefalea e pancitopenia)

sono stati poi trattati con farmaci biologici quali il tocilizumab e gli inibitori per il TNF $\alpha$ . Le analisi statistiche svolte sull'intera coorte hanno dimostrato che i pazienti che non rispondevano bene al MTX avevano dei valori più alti rispetto ai pazienti presentanti buona risposta alla terapia dei seguenti parametri clinici: velocità di sedimentazione eritrocitaria (VES):  $p < 0,0001$ ; proteina C reattiva (PCR):  $p < 0,0001$ ; DAS:  $p < 0,0001$ ; fattore reumatoide  $p < 0,002$ ) e presentavano un maggior livello di deformazione ossea, osservabile radiologicamente ( $p = 0,049$ ).

Quattordici pazienti, 5 con una buona risposta al trattamento con MTX e 9 con una risposta scarsa, sono stati selezionati casualmente ed inclusi nell'analisi NGS. È emerso che i pazienti resistenti al trattamento con MTX presentavano con maggior frequenza l'allele di riferimento rs34453673 ( $p = 0,04$ ) e l'allele variante rs2292596 ( $p = 0,02$ ) nel gene repressore di AhR (*AHRR*, *Aryl-Hydrocarbon Receptor Repressor*) rispetto a coloro che rispondevano bene al MTX. Entrambi questi SNP sono missenso (rs34453673: c.1933G > C, p.Ans645His; rs2292596: c.565C > G, p.Pro189Ala). Risultati bioinformatici hanno dimostrato che entrambe le varianti rs2292596 e rs34453673 potrebbero avere impatto sulla regolazione della trimetilazione della lisina 36 dell'istone 3 (H3K36me3) e della trimetilazione della lisina 27 dell'istone 3 (H3K27me3). La variante rs34453673 potrebbe anche impattare sulla regolazione dell'attività dell'RNA polimerasi II (Pol II). In entrambi i casi, le regioni necessarie per la repressione trascrizionale potrebbero andare perse.

Queste due varianti sono poi state valutate nell'intera coorte di pazienti e in un gruppo di donatori sani ( $n=94$  per lo SNP rs34453673;  $n=110$  per lo SNP rs2292596; paragonabili al gruppo di malati per età e sesso). Per le analisi statistiche sono stati utilizzati modelli di regressione logistica (aggiustati per l'età): codominante, dominante, recessivo e sovradominante. Non è stata riscontrata alcuna associazione tra gli SNP e il rischio di AR né è stata confermata l'associazione tra gli SNP e la risposta al trattamento con il MTX sull'intera coorte di pazienti. Una successiva analisi svolta per valutare la possibile associazione tra gli SNP in *AHRR* ed i parametri clinici dei pazienti AR ha dimostrato che i pazienti con scarsa risposta al MTX portatori del genotipo mutato GG in rs34453673 avevano una durata della malattia più lunga ( $p = 0,04$ ) rispetto ai pazienti con lo stesso genotipo ma responsivi al trattamento; tali pazienti presentavano inoltre dei valori di PCR minori rispetto ai soggetti con scarsa risposta al MTX portatori di almeno un allele C in rs34453673, anche se la differenza non aveva raggiunto una significatività statistica ( $p=0,48$ ). I pazienti CC in rs2292596 con scarsa risposta al trattamento con MTX erano caratterizzati da valori maggiori di PCR e di VES rispetto a coloro che avevano almeno un allele G, nonostante quest'aumento non fosse significativo ( $p = 0,77$  e  $p = 0,59$  rispettivamente); la VES, invece, era diversa nei portatori dei genotipi CC e GG tra i pazienti con scarsa risposta rispetto ai soggetti con buona risposta al trattamento ( $p = 0,01$  e  $p = 0,02$ , rispettivamente). In seguito all'analisi di regressione logistica multivariata, il genotipo eterozigote CG dello SNP rs2292596 (ma non il variante mutato GG) e il DAS28 sono risultati associati al rischio di una risposta inefficace al MTX ( $p=0,039$  e  $p=4,2 \times 10^{-10}$ , rispettivamente).

Dallo studio dei profili di espressione genica eseguito sul sangue di 23 pazienti (9 con una buona risposta al trattamento con MTX e 14 con una risposta scarsa) è inoltre emerso che i pazienti con una scarsa risposta al MTX tendevano ad avere dei livelli maggiori di espressione genica di *AhR* rispetto a quelli presentanti successo terapeutico ( $p = 0,59$ ) o rispetto ai soggetti sani ( $p = 0,10$ ); non sono state trovate differenze statisticamente significative tra i pazienti con buona risposta terapeutica ed i soggetti sani ( $p = 0,10$ ). Per quanto riguarda l'espressione del gene *ARNT* (*Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator* codificante una proteina che si complessa con AhR per traslocare nel nucleo) è stata riscontrata una tendenza inversa: i pazienti con scarsa risposta al trattamento avevano livelli minori di mRNA rispetto ai pazienti con buona risposta o rispetto ai controlli sani ( $p = 0,56$  e  $p = 0,58$ , rispettivamente). L'espressione invece di *AHRR* è risultata essere invece molto bassa nei pazienti con una scarsa risposta al MTX e praticamente non rilevabile nel caso di pazienti con una buona risposta al MTX o nei donatori sani. Per quanto riguarda altri geni coinvolti nella farmacocinetica e farmacodinamica del MTX, è stato riscontrato che i soggetti con scarsa risposta al MTX avevano livelli d'espressione minori della diidrofolato reduttasi (*DHFR*, uno dei bersagli molecolari del MTX) e maggiori della pompa di efflusso ABCG2 rispetto ai pazienti con maggior successo terapeutico ( $p = 0,007$  e  $p=0,03$  rispettivamente). Sono stati riscontrati anche livelli maggiori ma non significativamente diversi dei trasportatori *SLC19A1*, *ABCC1* e *ABCC3*.

In conclusione, questo studio non supporta il ruolo delle varianti rs2292596 e rs34453673 nel gene *AHRR* sul rischio di AR nella popolazione caucasica. Tuttavia, è stato visto che l'allele variante G nello SNP rs2292596 potrebbe aumentare la probabilità di insuccesso del trattamento farmacologico con MTX nei pazienti affetti da AR, ma futuri studi funzionali sono necessari per confermare questa possibilità. I principali limiti dello studio da tenere in considerazione sono il basso numero di partecipanti ed il fatto che siano tutti di etnia caucasica.

L'allele variante G nello SNP rs2292596 potrebbe aumentare la probabilità di insuccesso del trattamento farmacologico con MTX nei pazienti affetti da AR.

**Parole chiave:** artrite reumatoide, metotressato, risposta al trattamento.

#### Riferimento bibliografico

[Wajda A](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2021, 21:608–21

### I POLIMORFISMI DI GGH E ABCC2 SONO ASSOCIATI ALL'INTOLLERANZA AL METOTRESSATO IN PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE

A cura della Dott.ssa Martina Franzin

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia cronica autoimmune caratterizzata da infiammazione sinoviale e danno cartilagineo che comporta lesioni articolari e limitazioni nella mobilità in pazienti che non ricevono un adeguato trattamento. L'European League Against Rheumatism (EULAR) e l'American College of Rheumatology (ACR) raccomandano l'uso di farmaci antiinfiammatori non steroidei (FANS) e farmaci antireumatici sintetici convenzionali (csDMARDs) nel trattamento di prima linea dei pazienti affetti da AR attiva ed entrambe le associazioni concordano sull'uso del metotressato (MTX) come farmaco di prima scelta. Il MTX può essere usato in monoterapia o in combinazione con altri DMARDs biologici (bDMARDs) o con glucocorticoidi. Tuttavia, circa la metà dei pazienti non raggiungono l'obiettivo del trattamento e circa il 20% interrompe la terapia con MTX a causa della comparsa di effetti collaterali o intolleranza.

Polimorfismi nei geni che codificano per trasportatori ed enzimi che mediano il metabolismo e l'eliminazione del MTX sono risultati essere una delle cause degli eventi avversi. In particolare, due polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) (rs1891133 e rs1801131) nel gene codificante per l'enzima 5,10-metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR), coinvolto nel *pathway* intracellulare del MTX, ed un polimorfismo (rs1051266) nel gene *SLC19A1/RFC1*, codificante per un membro della famiglia dei trasportatori *solute carriers* (SLC) coinvolti nell'uptake del MTX, sono stati associati alla tossicità da MTX. Inoltre il polimorfismo rs104562 in *ABCB1*, gene codificante per una glicoproteina di membrana, è risultato correlare con l'intolleranza a questo farmaco.

Nonostante queste evidenze, non è stato ancora identificato nessun biomarcatore affidabile per predire la tossicità e l'intolleranza al MTX nei pazienti con AR. Pertanto, questo studio è stato condotto al fine di identificare nuovi SNP nei geni codificanti per proteine coinvolte nel metabolismo del MTX che correlino con la tossicità e l'intolleranza a questo farmaco in una coorte di pazienti con AR della Spagna meridionale. Gli ospedali Virgen de las Nieves (Granada), Carlos Haya (Malaga) e Reina Sofía (Cordova) hanno partecipato a questo studio osservazionale, retrospettivo e multicentrico. Sono stati inclusi nello studio pazienti:

- (a) con diagnosi di AR secondo i criteri di ACR/EULAR;
- (b) in trattamento con bDMARD al momento della visita di inclusione;
- (c) in trattamento con MTX in qualsiasi momento del decorso della malattia.

Pazienti in trattamento combinato con MTX e bDMARD sono stati considerati tolleranti al MTX. I pazienti in monoterapia con bDMARD sono stati considerati intolleranti al MTX se l'interruzione del trattamento era



dovuta a eventi avversi/ tossicità (nausea, vomito, dispepsia, alopecia, ulcere orali, leucopenia, tossicità polmonare o alterazioni epatiche definite come livelli di alanina aminotransferasi maggiore di 1,5 volte il limite normale superiore). Non sono stati inclusi nell'analisi pazienti che hanno interrotto la terapia con MTX per motivi diversi dai precedenti.

Il DNA genomico è stato estratto grazie al kit QIAamp DNA Mini da prelievi ematici o da campioni di saliva da pazienti del Virgen de las Nieves. Sono stati selezionati sulla base della letteratura scientifica ed analizzati 10 polimorfismi (8 in 7 geni codificanti per proteine coinvolte nel metabolismo e 2 in sequenze non codificanti). In particolare, i polimorfismi analizzati sono coinvolti nel:

- (a) trasporto attivo: RFC1-G80A (rs1051266);
- (b) formazione dei metaboliti poliglutammati: GGH-T401C (rs11545078);
- (c) ciclo del folato e sintesi delle purine: MTHFR-C677T (rs1801133), MTHFR-A1298C (rs1801131), DHFR (rs1105525), SHMT1-c1303C > T (rs1979277) e nella sequenza non codificante ITPA-C94A (rs34743033, nota della redazione: questa variante è localizzata nel gene TYMS e non ITPA come indicato nell'articolo);
- (d) pompe di efflusso: ABCC2-C24T (rs717620), ABCB1-c3435C > T (rs1045642) e nella sequenza non codificante SLCO1B1 (rs11045879).

È stato usato il metodo Real-time PCR usando la sonda Taqman e le varianti alleliche sono state determinate grazie al software StepOne v2.3.

Le variabili coinvolte nello studio sono l'intolleranza e la tolleranza al MTX. Inoltre, sono state raccolte le seguenti variabili: età, sesso, durata della malattia, età alla diagnosi, tempo trascorso dall'introduzione di bDMARD e durata del trattamento con MTX, attività della malattia al momento della visita di inclusione nello studio, proteina c-reattiva (CRP) in mg/dL, velocità di eritrosedimentazione (VES) in mm/h, numero di articolazioni dolenti (NTJ), numero di articolazioni gonfie (NSJ), valutazione del medico (scala analogica visiva che va da 0-10 punti), valutazione del paziente (scala analogica visiva che va da 0-10 punti), punteggio di attività della malattia 28 (DAS28), indice di attività della malattia semplice (SDAI) ed indice clinico di attività della malattia (CDAI). Le variabili qualitative sono state comparate tra i 2 gruppi (tolleranti vs intolleranti) usando i test chi-quadro o Fisher, mentre le variabili continue usando il t-test o il test di Mann-Whitney. Ciascun polimorfismo è stato classificato secondo i tre possibili genotipi. Infine, gli alleli di ciascun polimorfismo sono stati classificati in due gruppi secondo la presenza di una base e utilizzando l'omozigosi dell'altra base come riferimento. Queste associazioni sono state testate mediante la regressione logistica univariata e multivariata utilizzando la variabile "tollerante/intollerante" come risultato dipendente ed i polimorfismi come variabili esplicative. *P-value* <0.05 sono stati considerati significativi e le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software SPSS v25.

Nell'analisi finale sono stati inclusi 227 pazienti, tra i quali 107 sono risultati intolleranti e 120 tolleranti al MTX. L'età media era di 60,0 anni e il 78,4% dei pazienti era di genere femminile. L'età media alla diagnosi di AR era di 44,2 anni e la durata della malattia media era di 1,48 anni. Non sono state riscontrate differenze nelle variabili sociodemografiche e nell'attività della malattia dei due gruppi di pazienti al momento della visita di studio. Per quanto riguarda le associazioni dei 10 polimorfismi con l'intolleranza a MTX, il genotipo GG omozigote dello SNP rs11545078 (GGH-T401C) era significativamente meno diffuso tra i pazienti intolleranti che tra i pazienti tolleranti (77,6% contro 87,5%, rispettivamente  $p < 0,05$ ). Il genotipo CC omozigote dello SNP rs717620 (ABCC2-gene C24T) è risultato più frequente nei pazienti intolleranti rispetto ai tolleranti (51,4% vs 37,5%, rispettivamente  $p < 0,05$ ), mentre il genotipo eterozigote TC del polimorfismo rs717620 era meno prevalente tra il gruppo intollerante (35,5% vs. 50,0%, rispettivamente  $p < 0,05$ ). Inoltre, questo studio ha dimostrato un'associazione significativa tra intolleranza al MTX ed i genotipi GGH-T401C AA o AG (OR 2,13, 95% CI 1,06-4,29,  $p = 0,035$ ) rispetto al genotipo GG, mentre è stata osservata un'associazione inversa tra i genotipi ABCC2-C24T TT o TC e l'intolleranza a MTX (OR 0,59, 95% CI 0,35-1,00,  $p = 0,05$ ) rispetto al genotipo CC. L'analisi di regressione logistica multivariata ha confermato i risultati dell'analisi univariata, che mostrano che i genotipi GGH-T401C AA o AG e ABCC2-C24T TT o TC erano indipendentemente associati all'intolleranza al MTX (OR 2,14, 95% CI 1,05-4,39,  $p = 0,037$  e OR 0,54, 95% CI 0,32-0,93,  $p = 0,026$ , rispettivamente).

L'intolleranza al MTX è significativamente associata alla presenza del genotipo AA o AG del polimorfismo GGH-T401C rispetto al genotipo GG in una coorte di pazienti con AR. Inoltre, pazienti con genotipo TT o TC nel polimorfismo ABCC2-C24T rispetto che con genotipo CC hanno tollerato maggiormente il MTX. Queste nuove evidenze tra SNPs ed intolleranza al MTX potrebbero contribuire allo sviluppo di nuovi biomarcatori e condurre ad una medicina personalizzata in pazienti affetti da AR.

**Parole chiave:** metotrexato, artrite reumatoide, genetica, biomarker

#### Riferimento bibliografico

[Escudero-Contreras A](#) et al. *J Clin Med* 2021, 10(18):4070

## LA METANALISI DEL MESE

### ANALISI DELL'ASSOCIAZIONE TRA LE VARIANTI COMT RS4680, MAO-B RS1799836 E L'INSORGENZA DI DISCINESIA INDOTTA DA LEVODOPA IN PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIA DI PARKINSON: UNO STUDIO DI META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

Il morbo di Parkinson è una malattia neurodegenerativa a evoluzione progressiva caratterizzata da tremori a riposo, bradicinesia, rigidità e instabilità posturale. Il trattamento di elezione per il morbo di Parkinson è rappresentato dalla levodopa. Tuttavia, la somministrazione a lungo termine di tale farmaco risulta nella comparsa di diversi effetti collaterali, tra cui spiccano le complicazioni motorie. Di queste, la più diffusa è la discinesia, un effetto avverso limitante la somministrazione di levodopa ad alte dosi e noto per impattare fortemente sulla qualità di vita del paziente. Studi recenti riportano che la prevalenza di discinesia indotta da levodopa (DIL) vari dal 3 al 94% tra gli utilizzatori di levodopa e che siano molteplici i fattori noti per impattare sul rischio di insorgenza di DIL, che includono l'esposizione cumulativa alla levodopa, il sesso femminile, la severità della compromissione motoria e funzionale nonché la componente genetica individuale. Relativamente a quest'ultimo aspetto, è da evidenziare che numerosi studi siano stati condotti al fine di identificare la correlazione tra DIL e varianti a carico di geni strettamente coinvolti nei *pathway* dopaminergici, quali quelli codificanti per i recettori DRD1-4, per i trasportatori DAT1 della dopamina o per enzimi implicati nel metabolismo di tale neurotrasmettitore, come COMT e MAO-B. Due varianti molto studiate di questi ultimi due geni sono state, rispettivamente, rs4680 e rs1799836. Essendo contrastanti le evidenze disponibili riguardo alla loro potenziale associazione con DIL, l'obiettivo del presente studio di meta-analisi è stato quello di raccogliere in maniera sistematica tutte le evidenze pubblicate a riguardo e di produrre delle stime meta-analitiche della correlazione tra le varianti COMT rs4680, MAO-B rs1799836 e l'insorgenza di DIL in pazienti affetti da morbo di Parkinson.

La ricerca bibliografica è stata condotta utilizzando i database di PubMed, Embase e Cochrane library. Sono stati definiti includibili tutti gli studi pubblicati in lingua inglese in cui i) venisse analizzata la correlazione tra DIL e COMT rs4680 e/o MAO-B rs1799836 in pazienti affetti da morbo di Parkinson, ii) fossero riportati sufficienti dati per calcolare l'OR e relativo intervallo di confidenza al 95% (95% CI) e iii) le distribuzioni genotipiche fossero in equilibrio di Hardy-Weinberg. Per ciascun lavoro eleggibile sono stati estratti i dati relativi a: primo autore e anno di pubblicazione, paese di arruolamento dei pazienti, geni analizzati, genotipi o distribuzione allelica nei pazienti con DIL e senza DIL affetti da morbo di Parkinson. La stima meta-analitica della correlazione tra le varianti analizzate e DIL è stata calcolata come OR e relativo 95% CI nei modelli omozigote, eterozigote, recessivo, dominante e allelico. L'eterogeneità tra gli studi è stata



quantificata tramite test di Higgins. È stata applicata una meta-analisi ad effetti fissi o random, rispettivamente, in caso di assenza o presenza di eterogeneità tra gli studi. Per la variante COMT rs4680 sono state condotte meta-analisi per sottogruppi sulla base dell'etnia dei pazienti arruolati negli studi (ciò non è avvenuto per la variante rs1799836 per insufficienza di studi). Sono state, inoltre, effettuate analisi di sensibilità per valutare l'influenza dei singoli studi sulla stima meta-analitica complessiva. Infine, il rischio di bias di pubblicazione è stato stimato tramite test di Begg e di Egger.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 343 studi, di cui 10 sono risultati essere eleggibili per la presente meta-analisi. In tutti e 10 gli studi è stata investigata la variante COMT rs4680 (N pazienti=2385) in relazione a DIL mentre solo in 4 di questi è stato testato lo SNP MAO-B rs1799836 (N pazienti=1450). Dalla meta-analisi è emersa una correlazione statisticamente significativa tra COMT rs4680 e DIL unicamente nel modello recessivo (OR 1.39, 95% CI 1.02-1.89, P=0.039). Tramite meta-analisi per sottogruppi sulla base dell'etnia dei pazienti arruolati, è stata identificata una correlazione statisticamente significativa nel sottogruppo dei pazienti brasiliani, sia nel modello recessivo (OR 3.96, 95% CI 1.84-8.51, P<0.001) che in quello omozigote (OR 2.70, 95% CI 1.21-5.99, P=0.015). Al contrario, non si è evinta alcuna correlazione tra la variante rs4680 e DIL nei sottogruppi di pazienti asiatici e caucasici, qualsiasi fosse il modello genetico analizzato. Non è emerso un bias di pubblicazione statisticamente significativo nei diversi modelli genetici analizzati ad eccezione di quello allelico. Per quanto riguarda la variante MAO-B rs1799836, dalla meta-analisi è emersa una correlazione statisticamente significativa tra tale SNP e DIL unicamente nel modello eterozigote (OR 1.66, 95% CI 1.04-2.65, P=0.03). In tale contesto, non è stato identificato alcun rischio di publication bias nei diversi modelli genetici investigati, ad eccezione di quello recessivo.

Nonostante la presente meta-analisi rappresenti, ad oggi, lo studio più esaustivo ed aggiornato sulla correlazione tra le varianti rs4680, rs1799836 e DIL nei pazienti con morbo di Parkinson, i risultati qui emersi devono essere interpretati alla luce di alcune limitazioni intrinseche allo studio, che includono: i) il fatto di aver considerato come eleggibili unicamente gli studi primari pubblicati in lingua inglese: tale scelta potrebbe aver introdotto un bias linguistico; ii) il numero limitato di studi e pazienti inclusi nelle meta-analisi per COMT rs4680 (N studi=10; N pazienti=2385) ma, soprattutto, per MAO-B rs1799836 (N studi=4; N pazienti=1450) potrebbe rappresentare un limite al considerare robuste le stime meta-analitiche qui ottenute, iii) il fatto di aver escluso alcuni studi dalla meta-analisi per insufficienza di dati relativamente alla distribuzione genotipica delle varianti potrebbe avere avuto un impatto sui risultati della meta-analisi: quantomeno, sarebbe stato opportuno tentare di contattare gli Autori di tali studi per richiedere i dati mancanti; iv) non è stato possibile condurre meta-analisi per sottogruppi sulla base di variabili quali età, sesso, durata e severità della malattia nonché dose e durata del trattamento, tutti fattori noti per impattare sul rischio di insorgenza di DIL; v) non è stata valutata la qualità degli studi inclusi nella presente meta-analisi: il lettore non ha, quindi, la percezione della bontà e della robustezza delle evidenze combinate tramite meta-analisi.

La variante COMT rs4680 è emersa essere associata nel modello genetico recessivo ad un maggior rischio di sviluppare discinesia indotta da levodopa in pazienti affetti da morbo di Parkinson.

**Parole chiave:** Parkinson, levodopa, COMT

#### Riferimento bibliografico

[Yin Y](#) et al. *Neurol Sci* 2021, 42(10):4085-94



**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](mailto:sif.informazione@sigr.it); [sif.farmacologia@sigr.it](mailto: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](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 Francesca Gorini (Università di Bologna) 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](http://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](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](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.

---

---