



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 145 – Dicembre 2021

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

SOMMARIO

Oncologia

- Associazione tra varianti genetiche e nefrotossicità indotta dal cisplatino: approccio *genome-wide* e validazione
- Influenza dei polimorfismi genetici di *MTHFR* sulla terapia con metotressato nella leucemia linfoblastica acuta pediatrica

Neuropsichiatria

- Influenza delle varianti geniche dei geni CYP2D6 e CYP2C19 sul rischio di diabete mellito in individui in trattamento con antidepressivi o antipsicotici

Gastroenterologia

- Relazione tra genotipo/fenotipo della tiopurina S-metiltransferasi e livelli di nucleotidi della tioguanina in 316 pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale in trattamento con tioguanina

La metanalisi del mese

- Analisi del ruolo di polimorfismi genetici nella tossicità indotta da alte dosi di metotrexato e nella risposta al farmaco in pazienti affetti da tumori ematologici: una revisione sistematica e meta-analisi

ONCOLOGIA

ASSOCIAZIONE TRA VARIANTI GENETICHE E NEFROTOSSICITA' INDOTTA DAL CISPLATINO: APPROCCIO GENOME-WIDE E VALIDAZIONE

A cura delle Dott.sse Francesca Gorini e Gloria Ravegnini

Il cisplatino è un agente antineoplastico utilizzato per il trattamento dei tumori della testa e del collo, della cervice, della vescica, delle ovaie, delle neoplasie mammarie, testicolari, gastroesofagee e polmonari. Tuttavia, l'effetto antineoplastico di questo farmaco spesso coincide con lo sviluppo di numerosi effetti avversi acuti e cronici come nausea, vomito, nefrotossicità, ototossicità e neurotossicità, che possono

ridurre l'aderenza alla terapia. Circa un terzo dei pazienti in terapia con cisplatino sviluppa nefrotossicità dopo una singola somministrazione del farmaco, che può manifestarsi con danno renale, ipomagnesemia, ipocalcemia, proteinuria, deficienza di eritropoietina, microangiopatia trombotica, e malattia renale cronica.

Tra i fattori non genetici predisponenti allo sviluppo di nefrotossicità indotta da cisplatino sono stati individuati età, malnutrizione, ipovolemia, comorbidità (presenza di danni vascolari, diabete mellito, disfunzione renale, danni cronici renali preesistenti), uso concomitante di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) e consumo di alcol. Per quanto riguarda, invece, i fattori genetici predisponenti all'insorgenza di questo effetto avverso, gli studi fino ad ora eseguiti hanno mostrato risultati incoerenti. Tuttavia, la comprensione del potenziale contributo di varianti geniche nel manifestarsi della tossicità renale conseguente alla terapia con cisplatino, potrebbe costituire uno strumento fondamentale utile ai clinici al fine di individuare precocemente gli individui con rischio maggiore di sviluppo di nefrotossicità e, di conseguenza, indirizzarli ad una differente scelta terapeutica, nonché per individuare strategie preventive allo sviluppo di tale effetto avverso.

In questo contesto si inserisce il presente studio che ha valutato la relazione tra varianti genetiche e nefrotossicità indotta da cisplatino mediante uno studio di associazione *Genome-Wide* (GWAS). Un'analisi retrospettiva è stata eseguita in una coorte di *discovery* composta da 529 pazienti diagnosticati con cancro alla testa e al collo e 156 pazienti diagnosticati con cancro esofageo, trattati con cisplatino, da solo o in associazione ad altri antineoplastici o radioterapia. Il DNA per lo studio delle varianti è stato estratto dal sangue periferico e la nefrotossicità indotta da cisplatino è stata valutata mediante due parametri: 1) definizione di "danno renale acuto" (AKI) secondo i Criteri di Comune Terminologia per gli Effetti Avversi (CTCAE); 2) differenza tra il livello basale e il valore più basso durante il periodo di follow up della velocità di filtrazione glomerulare (eGFR).

Dei 6.5 milioni di SNPs analizzati, 81 hanno mostrato una correlazione statisticamente significativa con lo sviluppo di nefrotossicità ($p \leq 10^{-5}$) e sono stati validati in una coorte indipendente costituita da 177 pazienti affetti da tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) in terapia con cisplatino. In particolare, 2 SNPs (ARPC1A rs199659233 e rs556958738) sono stati associati ad un rischio minore di riduzione della eGFR mentre 3 SNPs (TMEM225B rs17161766, chr7:98951080 e BACH2 rs4388268) sono stati associati ad un rischio maggiore di riduzione della eGFR.

Nella coorte di *discovery*, BACH2 rs4388268 è risultato lo SNP più costantemente associato ad un aumentato rischio di nefrotossicità indotta da cisplatino, sia per quanto riguarda lo sviluppo di AKI-CTCAE sia per l'andamento della eGFR, nonostante la significatività statistica non sia stata confermata nella coorte di validazione. Pazienti con variante AA su rs4388268 hanno mostrato un rischio maggiore di sviluppare nefrotossicità in seguito a terapia con cisplatino in termini di AKI-CTCAE di grado 1 o maggiore. In particolare, nella coorte di *discovery* l'incidenza di AKI-CTCAE di grado 1 o maggiore è stato del 10.6% per pazienti con genotipo GG, del 24.7% per pazienti con genotipo AG e del 36.4% per pazienti con genotipo AA, mentre nella coorte di validazione le percentuali di pazienti con aumentato rischio di sviluppare nefrotossicità sono state del 24%, 30.4% e 50% rispettivamente per pazienti con genotipo GG, AG e AA su rs4388268. Pertanto, la presenza di un allele minore A su rs4388268 può aumentare la suscettibilità alla nefrotossicità e contribuire alle differenze interindividuali che si manifestano nei pazienti in terapia con cisplatino.

Inoltre, nel presente studio, è stato impiegato un approccio *candidate-gene* per studiare cinque SNPs che erano precedentemente stati individuati in una revisione svolta dagli autori: ERCC1 rs11615, ERCC1 rs3212986, ERCC2 rs13181, ERCC2 rs1799793 and SLC22A2 rs316019. Tuttavia, nella coorte di *discovery* non sono risultate associazioni significative tra questi SNPs e lo sviluppo di tossicità renale mentre nella coorte di validazione, la presenza di un allele C su ERCC1 rs3212986 è risultato associato ad una riduzione della eGFR.

Tra i limiti di questo studio si devono considerare la natura retrospettiva e l'utilizzo di coorti di pazienti con differenti tipi di tumore, con conseguente differente regime terapeutico e periodo di follow up. Inoltre, lo studio è stato effettuato esclusivamente su pazienti di origine europea, pertanto ulteriori studi sarebbero

necessari per validare i risultati ottenuti anche su altre popolazioni. Infine, nella coorte di validazione l'età media dei pazienti all'inizio della terapia con cisplatino era maggiore rispetto alla coorte di *discovery*, con conseguente presenza di maggiore comorbidità, che costituisce un fattore di rischio non genetico per lo sviluppo di nefrotossicità.

In conclusione, il presente studio suggerisce come la predisposizione genetica e, in particolare, la variante rs4388268 di BACH2, possa influire sullo sviluppo di nefrotossicità indotta da cisplatino, nonostante siano necessari ulteriori studi al fine di comprenderne le basi meccanicistiche.

Parole chiave: cisplatino, nefrotossicità, BACH2

Riferimento bibliografico

[Zazuli Z](#) et al. *J Pers Med* 2021,11(11):1233

INFLUENZA DEI POLIMORFISMI GENETICI DI *MTHFR* SULLA TERAPIA CON METOTRESSATO NELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA PEDIATRICA

A cura delle Dott.sse Stefania Braidotti e Raffaella Franca

Il metotressato (MTX) è un farmaco cardine per il successo del trattamento della leucemia linfoblastica acuta (LLA) pediatrica. Esso è un farmaco antitumorale appartenente alla classe degli antimetaboliti. In quanto antagonista dell'acido folico, interferisce con il metabolismo dei folati nelle cellule inibendo competitivamente la diidrofolato reduttasi, un enzima coinvolto nella riduzione del diidrofolato a tetraidrofolato; una carenza di tetraidrofolato inibisce la sintesi di DNA, RNA e proteine, promuovendo così l'effetto antitumorale. La chemioterapia ad alte dosi con metotressato (HD-MTX, >500 mg/m²) utilizzata nel protocollo terapeutico della LLA pediatrica si è dimostrata utile nel migliorare la prognosi di bambini affetti da leucemia, ma può causare in taluni casi gravi tossicità e determinare interruzioni di trattamento con aumento di ricadute e morte. La grande variabilità interindividuale e intraindividuale nella farmacocinetica del MTX rende infatti difficile la previsione delle tossicità causate dal suo impiego.

Negli ultimi anni, diversi studi hanno suggerito che i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) degli enzimi chiave del metabolismo dell'acido folico e dei suoi trasportatori possano essere associati al metabolismo dell'MTX e alle tossicità causate da esso. L'enzima metilene-tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) riduce il 5,10-metilen-tetraidrofolato a 5-metil-tetraidrofolato. Mediante la catalisi della timidilato sintetasi, il 5,10-metilen-tetraidrofolato converte il dUMP in dTMP e partecipa così alla sintesi del DNA. Il MTX non può inibire direttamente la MTHFR, ma i cambiamenti nell'attività di MTHFR possono influenzare la distribuzione intracellulare dei folati e la metilazione degli acidi nucleici e di conseguenza l'efficacia e la tossicità di MTX. Due sono gli SNP che possono ridurre l'attività enzimatica di MTHFR: rs1801133 (C677T) e rs1801131 (A1298C). Il primo provoca la sostituzione dell'alanina 222 con una valina nella proteina codificata. I soggetti con genotipi CT e TT hanno rispettivamente il 60 e il 30% di attività enzimatica di MTHFR, rispetto a quella dei soggetti *wild type*. Il secondo polimorfismo, provoca la sostituzione dell'acido glutammico in posizione 429 con l'alanina. I portatori del genotipo variante CC presentano un'attività enzimatica di MTHFR ridotta (60-68%) rispetto agli individui con genotipo AA. Inoltre, è noto che tutti i pazienti con alleli varianti in rs1801133 (CT/TT) sono più sensibili alla chemioterapia HD-MTX, con un rischio aumentato di tossicità rispetto agli individui *wild type* (CC). Ulteriori studi hanno anche dimostrato un'associazione tra il genotipo *MTHFR* A1298C AA e l'aumentato rischio di eventi avversi.

Lo studio farmacogenetico di Shen e collaboratori ha l'obiettivo di indagare la relazione tra i polimorfismi genetici C677T o A1298C del gene *MTHFR* e l'eliminazione del MTX o le tossicità indotte dal farmaco in un gruppo di bambini cinesi affetti da LLA.

A tale studio hanno preso parte 145 pazienti pediatrici (0-14 anni, 88 maschi (60.9%)) al primo esordio di LLA e senza altre patologie in corso, arruolati dal 2016 al 2020 presso l'Union Hospital di Wuhan (Cina). I

pazienti hanno ricevuto e completato almeno un ciclo di chemioterapia con HD-MTX dei 4 previsti secondo il protocollo CCCG-ALL-2015 del Chinese Children's Cancer Group (studio clinico numero: ChiCTR-IPR-14005706). Secondo il protocollo, i pazienti dovevano ricevere complessivamente 4 infusioni di HD-MTX, una ogni due settimane (3 g/m^2 per i pazienti a basso rischio e 5 g/m^2 per il rischio intermedio/alto) e delle somministrazioni giornaliere di mercaptopurina per via orale nella fase di consolidamento della terapia. Ad ogni infusione, il 10% della dose di HD-MTX veniva infuso nei primi 30 minuti e la restante dose veniva somministrata nelle successive 23.5 ore. La dose di MTX è stata ridotta in base alla *clearance* della creatinina alla prima esposizione al farmaco e poi aggiustata a 44 ore. Nella popolazione di studio, 52 pazienti erano a basso rischio e 93 ad alto rischio e sono stati analizzati 576 cicli di HD-MTX in totale. Previo consenso informato e approvazione del comitato etico, sono stati raccolti dai pazienti i prelievi di sangue venoso prima del trattamento con MTX.

I polimorfismi *MTHFR* C677T e *MTHFR* A1298C sono stati caratterizzati mediante tecnica PCR-RFLP: 23,4% dei pazienti erano omozigoti varianti per lo SNP *MTHFR* C677T e 5,5% per lo SNP *MTHFR* A1298C, mentre la percentuale di eterozigoti era rispettivamente del 36,6% e del 29,0%. Il test di Hardy-Weinberg ha indicato che la frequenza genica nella popolazione campione era in accordo con la legge dell'equilibrio genetico ($P > 0,05$).

Le relazioni tra i polimorfismi *MTHFR* e la farmacocinetica o la tossicità di MTX sono state analizzate mediante il test chi-quadrato (dati categoriali) o il test non parametrico (dati continui). L'eliminazione ritardata di MTX è stata definita come *clearance* a 44h $>1,0 \mu\text{mol/L}$ o *clearance* a 68h $\geq 0,2 \mu\text{mol/L}$. Le tossicità correlate al MTX (ad es. mielosoppressione, epatotossicità, danno renale acuto, mucosite, neurotossicità) sono state valutate in base ai criteri comuni di tossicità del National Cancer Institute. La mielosoppressione è indicata dal numero di giorni con conta assoluta dei neutrofili $< 1,0 \times 10^9/\text{L}$. I fattori di rischio per tossicità e ritardo nell'eliminazione di MTX sono stati analizzati mediante regressione logistica binaria. Le probabilità di sopravvivenza libera da malattia sono state stimate utilizzando il metodo Kaplan-Meier insieme al test Log-rank. $P < 0,05$ sono stati considerati significativi. Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando SPSS v25.0 (IBM, Armonk, NY, USA).

Gli autori definiscono "velocità di infusione del HD-MTX" il rapporto tra dose effettiva di HD-MTX e la dose raccomandata dal protocollo. Tale velocità di infusione del HD-MTX si è dimostrata significativamente associata ai polimorfismi del gene *MTHFR*. La velocità di infusione mediana di HD-MTX dei genotipi rs1801133 CC/CT/TT era 0,96 (range interquartile (IQR), 0,7-1,0), 1,0 (IQR, 0,7-1,0) e 1,0 (IQR, 0,8-1,0), rispettivamente ($p=0,026$). I pazienti con genotipo *MTHFR* C677T TT potrebbero tollerare una dose di MTX significativamente più alta rispetto a quelli con genotipo CC/CT (Test non parametrico accoppiato, $P = 0,011$ e $P = 0,019$), mentre non è emersa alcuna differenza significativa tra i portatori dell'allele *wild type* (CT e TT, $P = 0,838$). Per quanto riguarda il polimorfismo A1298C, la velocità di infusione mediana di HD-MTX dei genotipi AA/AC/CC era 1,0 (IQR, 0,8-1,0), 0,85 (IQR, 0,7-1,0) e 1,0 (IQR, 0,8-1,0), rispettivamente ($p=0,008$). I pazienti con genotipo AC avevano una velocità di infusione di MTX minore rispetto a quella dei pazienti con genotipo AA o genotipo CC ($P_{AC/AA} < 0,001$, $P_{AC/CC} = 0,001$, $P_{AA/CC} = 0,111$).

Un'eliminazione ritardata dell'HD-MTX a 44 e 68 ore è stata osservata rispettivamente nel 39,3% e nel 51,7% dei cicli. Non è stata riscontrata un'associazione significativa con i polimorfismi genetici in analisi.

Tossicità di grado 1-2 legate al MTX sono state osservate nell'80,2% dei cicli (461 su 576 cicli di HD-MTX considerati), mentre quelle di grado 3-4 nel 18,6% dei cicli (107 su 576), per il 60,7% rappresentate da infezioni. La mielosoppressione è stato l'evento avverso più comune, seguito da epatotossicità. Il test chi-quadrato è stato utilizzato per rilevare la differenza nella prevalenza delle tossicità correlate al MTX tra i genotipi testati. Lo SNP rs1801133 non è stato associato a queste tossicità. I pazienti con genotipi C677T TT hanno mostrato un aumentato rischio di ipokaliemia, rispetto a quelli con tipo CC o tipo CT ($P_{TT/CC} = 0,008$, $OR_{TT/CC} = 1,369$, IC 95%: 1,045–1,792; $P_{TT/CT} = 0,007$, $OR_{TT/CT} = 1,409$, 95% CI: 1,053–1,884), mentre non vi era alcuna differenza significativa tra i pazienti con genotipo CC o genotipo CT ($P = 0,923$). Nessuna delle altre tossicità era significativamente associata al polimorfismo *MTHFR* C677T ($P > 0,05$).

Il test chi-quadrato ha suggerito che il polimorfismo *MTHFR* A1298C fosse associato ad un aumentato rischio di epatotossicità ($P = 0,048$). I pazienti con genotipo AA avevano infatti un rischio di epatotossicità 1.405 volte maggiore rispetto a quelli con genotipo AC. Non c'era alcuna relazione significativa tra il polimorfismo *MTHFR* A1298C e la mielosoppressione, il ritardo della chemioterapia, la neurotossicità, l'iperkaliemia, l'ipokaliemia, l'infezione, la mucosite o la nefrotossicità ($P > 0,05$).

Non è stata trovata alcuna correlazione significativa tra *MTHFR* C677T o A1298C e sopravvivenza libera da recidive.

Ad oggi l'identificazione di biomarcatori predittivi dell'insorgenza di tossicità correlata al HD-MTX rappresenta ancora una grande sfida clinica. Gli SNP del gene *MTHFR* sono stati ampiamente studiati in questo campo. Tuttavia, i risultati della loro associazione a questo fenotipo clinico sono piuttosto controversi in letteratura e quindi i polimorfismi C677T e A1298C non sembrano ancora poter esser usati come predittivi di tossicità correlata a MTX.

Parole chiave: *MTHFR*, metotrexato, leucemia linfoblastica acuta, tossicità, polimorfismi

Riferimento bibliografico

[Shen Y et al. *Open Life Sci* 2021,16\(1\):1203-12](#)

NEUROPSICHIATRIA

INFLUENZA DELLE VARIANTI GENICHE DEI GENI CYP2D6 E CYP2C19 SUL RISCHIO DI DIABETE MELLITO IN INDIVIDUI IN TRATTAMENTO CON ANTIDEPRESSIVI O ANTIPSICOTICI

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

I farmaci antidepressivi e antipsicotici rappresentano la terapia di prima scelta per molti pazienti. Tuttavia, il loro utilizzo può essere associato allo sviluppo di alcune reazioni avverse da farmaco, tra le quali sedazione, aumento di peso, disturbi del movimento e un aumento del rischio di sviluppare diabete mellito. Questo rischio è più accentuato per gli antipsicotici di prima generazione, per alcuni di seconda generazione come olanzapina e clozapina e per gli antidepressivi triciclici. Per altre classi di antidepressivi come gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) e gli inibitori della ricaptazione di serotonina e noradrenalina (SNRI), i dati sono più contrastanti. La farmacogenetica potrebbe aiutare a spiegare le differenze interindividuali nella risposta ai farmaci e nello sviluppo di reazioni avverse. Il citocromo P450 (CYP450) rappresenta una superfamiglia di enzimi coinvolti nella biotrasformazione ed eliminazione della maggior parte dei farmaci. In particolare, CYP2D6 e CYP2C19 sono gli enzimi maggiormente coinvolti nel metabolismo dei farmaci antidepressivi e antipsicotici. Entrambi sono altamente polimorfici e alcune varianti determinano un'alterazione della loro attività enzimatica. Si distinguono generalmente quattro o cinque gruppi fenotipici associati a differenti capacità metaboliche: i metabolizzatori lenti (enzima non funzionale), intermedi (attività ridotta dell'enzima), normali o estesi (attività dell'enzima nella norma) e i metabolizzatori rapidi o ultrarapidi (attività dell'enzima aumentata). Diversi studi suggeriscono che i metabolizzatori lenti per CYP2D6 o CYP2C19 presentino livelli sierici aumentati dei farmaci antidepressivi e antipsicotici rispetto ai metabolizzatori normali. Il Clinical Pharmacogenomics Implementation Consortium (CPIC) ha sviluppato delle linee guida basate sull'evidenza per gli antidepressivi SSRI e triciclici, raccomandando modifiche nel dosaggio in base al fenotipo metabolizzatore degli enzimi CYP2D6 e CYP2C19. In maniera simile, il Dutch Pharmacogenetics Working Group ha pubblicato delle linee guida per alcuni antipsicotici in base al fenotipo del CYP2D6.

Lo studio corrente ha avuto l'obiettivo di esaminare l'associazione tra fenotipi metabolizzatori del CYP2D6 e CYP2C19 e il rischio di diabete mellito nei partecipanti della UK Biobank in trattamento con farmaci antidepressivi e antipsicotici. Lo studio ha riguardato un totale di 33149 partecipanti in trattamento con uno dei farmaci di interesse (31579 con antidepressivi e 2699 con antipsicotici) e per i quali fosse disponibile la misurazione dell'emoglobina glicata (HbA1c). I livelli di HbA1c sono stati misurati tramite High Performance Liquid Chromatography (HPLC) e il range è risultato tra 15 e 184 mmol/mol. Inoltre, sono stati utilizzati i dati relativi a diagnosi di diabete (riportata dal partecipante o confermata tramite diagnosi in accordo con i criteri ICD-10), l'assunzione dei farmaci antidiabetici, le varianti geniche dei geni *CYP2D6* e/o *CYP2C19* e l'indice di massa corporea (BMI). I dati genetici sono stati misurati mediante *array* Affymetrix UK BiLEVE Axiom e UK Biobank Axiom (Affymetrix, Santa Clara, USA). Per gli antidepressivi, sono state condotte analisi indipendenti per ogni antidepressivo, oltre ad un'analisi combinata per il gruppo degli antidepressivi triciclici. I farmaci sono stati raggruppati in base al metabolismo prevalente da parte dell'enzima CYP2D6, CYP2C19 o entrambi sulla base delle linee guida Maudsley Prescribing e CPIC. Nessun antipsicotico era assunto da un numero sufficiente di partecipanti per permettere di fare analisi specifiche per singoli farmaci. Pertanto, gli antipsicotici noti per essere metabolizzati almeno in parte dall'enzima CYP2D6 sono stati analizzati come gruppo. Per ogni farmaco o gruppo di farmaci sono stati costruiti dei modelli di regressione lineare con i livelli di HbA1c come *outcome*, ed il fenotipo metabolizzatore e la diagnosi di diabete come predittori principali. I modelli sono stati corretti per BMI, genere, età, origine e assunzione di farmaci antidiabetici o psicotropi noti per essere metabolizzati dagli enzimi di interesse. È stata inserita tra i predittori l'interazione tra il fenotipo metabolizzatore e la diagnosi di diabete. In caso di interazione significativa, sono state condotte analisi stratificate sulla base dello status diabetico.

Dei 33149 partecipanti inclusi, 31579 erano in trattamento con antidepressivi e 2699 con antipsicotici. L'amitriptilina è risultata il farmaco più utilizzato tra gli antidepressivi (n=8191) e la proclorperazina tra gli antipsicotici (n=870). Tra i partecipanti in trattamento con paroxetina, sono stati osservati livelli significativamente più alti di HbA1c tra i metabolizzatori lenti per il CYP2D6 (differenza media: 2,43 mmol/mol, $p = 7,77 \times 10^{-5}$). Un'analisi stratificata ha mostrato, nei partecipanti con diagnosi di diabete e in trattamento con fluoxetina, un'associazione tra status di metabolizzatore intermedio e livelli più bassi di HbA1c rispetto ai metabolizzatori normali (differenza media: 3,74 mmol/mol, $p = 0,017$). Nei partecipanti con diagnosi di diabete e in trattamento con venlafaxina, i metabolizzatori lenti hanno mostrato livelli più alti di HbA1c rispetto ai metabolizzatori normali. Inoltre, i partecipanti in trattamento con farmaci inibitori dell'enzima CYP2C19, a prescindere dal fenotipo metabolizzatore dell'enzima, hanno mostrato livelli più alti di HbA1c. Non è stata identificata alcuna associazione significativa tra fenotipo metabolizzatore del CYP2D6 e livelli di HbA1c nei partecipanti in trattamento con antipsicotici.

Tra i limiti dello studio vi sono l'utilizzo di dati in parte *self-reported* (come la diagnosi di diabete mellito), l'utilizzo dei soli dati relativi alla valutazione *baseline* della UK Biobank e la mancanza di dati relativi a durata del trattamento e dosaggio.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra il fenotipo metabolizzatore degli enzimi CYP2D6 e CYP2C19 e i livelli di HbA1c nei partecipanti della coorte UK Biobank in trattamento con gli antidepressivi paroxetina, fluoxetina e venlafaxina.

Parole chiave: antidepressivi, diabete mellito, *CYP2D6*, *CYP2C19*

Riferimento bibliografico

[Austin-Zimmerman I](#) et al. *Genes* 2021,12(11):1758

GASTROENTEROLOGIA**RELAZIONE TRA GENOTIPO/FENOTIPO DELLA TIOPURINA S-METILTRANSFERASI E LIVELLI DI NUCLEOTIDI DELLA TIOGUANINA IN 316 PAZIENTI CON MALATTIA INFIAMMATORIA CRONICA INTESTINALE IN TRATTAMENTO CON TIOGUANINA**

A cura della Dott.ssa Sofia Pagarin

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) consistono in un disturbo cronico infiammatorio dell'intestino che comprende due patologie principali: la malattia di Crohn e la colite ulcerosa. Negli ultimi 25 anni sono emerse nuove terapie con farmaci biologici per il trattamento delle MICI. Tuttavia, per mantenere la remissione, le tiopurine quali azatioprina e mercaptopurina rimangono importanti immunosoppressori di prima linea, sebbene circa il 60% dei pazienti in trattamento con questi farmaci interrompa il trattamento entro 5 anni, principalmente a causa di eventi avversi o mancata risposta. Le strategie per ottimizzare le terapie convenzionali con tiopurine includono: dosaggio personalizzato in base al genotipo/fenotipo dell'enzima tiopurina S-metiltransferasi (TPMT), uno degli enzimi responsabili del metabolismo di questi farmaci, dosaggio ridotto con la prescrizione concomitante di allopurinolo e monitoraggio terapeutico dei metaboliti attivi (TDM).

L'utilizzo della tioguanina per le MICI è stato introdotto circa due decenni fa. La tioguanina veniva somministrata a dosi piuttosto alte (>120 mg/die) e ciò provocava spesso effetti avversi a livello del fegato, limitandone l'uso diffuso e la potenziale autorizzazione per la cura delle MICI. Negli ultimi anni la tioguanina è stata riscoperta per la terapia delle MICI e attualmente detiene una licenza provvisoria nei Paesi Bassi. La dose clinica giornaliera media di tioguanina somministrata per il trattamento delle MICI (20 mg/die) è inferiore rispetto a quelle riportate inizialmente nelle segnalazioni di effetti avversi per la terapia delle MICI e della leucemia. Analogamente ad altri immunosoppressori, gli eventi avversi, osservati nell'11%-20% dei casi, rimangono un motivo importante per l'interruzione del trattamento delle MICI con tioguanina, tuttavia questi eventi avversi sono reversibili senza decessi segnalati. Per migliorare ulteriormente la sicurezza, la genotipizzazione di TPMT potrebbe essere una valida scelta. Ad oggi, però, non è stata identificata alcuna relazione tra i livelli dei nucleotidi della tioguanina (TGN) e valori di laboratorio anormali, in particolare livello di emoglobina, volume corpuscolare medio, leucociti, trombociti, fosfatasi alcalina, alanina aminotransferasi, aspartato aminotransferasi, proteina C-reattiva e calprotectina. In questo studio, gli autori vogliono indagare il ruolo dei livelli dei metaboliti attivi TGN, geno/fenotipizzazione di TPMT e la loro relazione reciproca nella terapia con tioguanina nelle MICI.

Uno studio di coorte multicentrico retrospettivo internazionale è stato condotto in 4 centri nei Paesi Bassi (Máxima Medical Centre) e nel Regno Unito (Guy's and St. Thomas' Hospital, Queen Elizabeth Hospital e East Surrey Hospital). I pazienti inclusi nello studio sono stati diagnosticati con malattia di Crohn, colite ulcerosa o MICI non classificate e sono stati trattati con tioguanina, sia in monoterapia che in terapia concomitante con farmaci biologici. La genotipizzazione di TPMT è stata effettuata basandosi sul metodo di Schütz et al. Il fenotipo di TPMT è stato determinato con il metodo descritto da Breen et al. Pazienti con livelli di TPMT inferiori a 25 U/mL sono stati considerati metabolizzatori lenti e pazienti con livelli superiori a 65 U/mL sono stati considerati metabolizzatori veloci. Fino al 2016, nei Paesi Bassi, le concentrazioni di TGN sono state determinate negli eritrociti mediante un metodo di cromatografia liquida ad alta prestazione di Lennard e Singleton. A partire dal 2016, le concentrazioni di TGN negli eritrociti sono state determinate utilizzando un metodo di cromatografia liquida-spettrometro di massa. Nei pazienti del Regno Unito, le misurazioni dei TGN sono state eseguite utilizzando il metodo di Dervieux, con un livello terapeutico di TGN di riferimento di 235–450 pmol/8 x 10⁸ eritrociti (RBC). In totale, sono state eseguite 526 misurazioni TGN in 316 pazienti con MICI. Di questi 316 pazienti, 195 erano donne, con un'età media di 45 anni (IQR 34–59). Inoltre, malattia di Crohn, colite ulcerosa e MICI non classificate sono stati diagnosticati rispettivamente in 154, 147 e 15 pazienti. La dose media giornaliera di tioguanina era di 20

mg/die (10-40 mg/die) e la durata media della terapia con tioguanina era di 21,1 mesi. La genotipizzazione di TPMT è stata svolta per 71 pazienti. La distribuzione dei genotipi di TPMT era *1/*1 in 67, *1/*3A in 3 pazienti e *1/*2 in 1 paziente. Per quanto riguarda il livello fenotipico di TPMT, 43 erano metabolizzatori normali (>25, <65 mU/L), 12 erano metabolizzatori veloci (>65 mU/L) e 3 pazienti erano metabolizzatori lenti (<25 mU/L). Nei gruppi a metabolismo lento, veloce e normale, i valori mediani di metaboliti attivi TGN erano 772 (IQR 459-1724), 296 (IQR 200-705) e 775 (IQR 501-982) pmol/810⁸ RBC. Una differenza significativa è stata osservata tra i gruppi (P<0,001, ANOVA). E' stata osservata una differenza statisticamente significativa (P<0,0001, t test) anche tra i gruppi con varianti di TPMT o con TPMT wild-type, i cui valori mediani di TGN erano 1126 (IQR 948-1562) e 468 (IQR 334-593) pmol/8 x 10⁸ RBC, rispettivamente. In questo studio, i livelli di TGN sono stati correlati con il dosaggio della tioguanina in 487 misurazioni. I livelli mediani di TGN per dosaggi di 10, 20, 30 e 40 mg/die erano 404 (IQR 269-642), 553 (IQR 364-803), 510 (IQR 333-671) e 677 (IQR 472-1436) pmol/8 x 10⁸ RBC, rispettivamente. I livelli di TGN dopo la somministrazione di 40 mg/die differivano significativamente rispetto ai livelli ottenuti con altri dosaggi (P<0,0001, ANOVA). Inoltre, i livelli di TGN con 20 mg/die di tioguanina erano significativamente differenti rispetto a quelli con 10 mg/die.

In conclusione gli autori riportano che le misurazioni fenotipiche di TPMT all'inizio della terapia con tioguanina possono essere utili, tuttavia, il fenotipo di TPMT è influenzato da vari fattori come trasfusioni di sangue o inibitori di TPMT (ad es. mesalazina, furosemide e acido acetilsalicilico), pertanto, la genotipizzazione di TPMT sembra più affidabile del test fenotipico. In questo studio, non è stata osservata alcuna relazione tra i livelli di TGN ed i parametri di laboratorio indagati. I livelli medi di TGN nei pazienti che presentavano valori di laboratorio anormali erano simili a quelli dei pazienti che presentavano valori di laboratorio normali. Ciò è in linea con studi precedenti che valutavano i livelli di TGN ed i parametri di laboratorio. In precedenti studi di Derijks et al e Meijer et al non era stata rilevata un'insorgenza di leucopenia in pazienti con livelli elevati (1000 pmol/8 x 10⁸ RBC) di TGN; lo stesso risultato è stato osservato in questo studio. Questo è un importante vantaggio in termini di sicurezza per la terapia con tioguanina rispetto alla terapia con tiopurine convenzionali (azatioprina, mercaptopurina). Sembra che la necessità di quantificazione dei TGN non sia così elevata nei pazienti con MICI trattati con tioguanina rispetto ai pazienti con MICI trattati con azatioprina o mercaptopurina.

Genotipo e fenotipo di TPMT risultano correlati a differenze significative nei livelli di TGN, in pazienti con malattia infiammatoria cronica intestinale trattati con tioguanina. Valori di parametri di laboratorio anormali, non sembrano essere associati alle concentrazioni di 6-TGN, di conseguenza la quantificazione di questi metaboliti nei pazienti in trattamento con tioguanina potrebbe essere meno rilevante, rispetto a pazienti trattati con azatioprina/mercaptopurina.

Parole chiave: tiopurina S-metiltransferasi (TPMT); tioguanina; malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI); metaboliti tioguaninici (TGN)

Riferimento bibliografico

[Bayoumy AB](#) et al. *The Drug Monit* 2021,43(5):617-23.

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DEL RUOLO DI POLIMORFISMI GENETICI NELLA TOSSICITÀ INDOTTA DA ALTE DOSI DI METOTREXATO E NELLA RISPOSTA AL FARMACO IN PAZIENTI AFFETTI DA TUMORI EMATOLOGICI: UNA REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

Il metotrexato ad alte dosi (HDMTX, dall'inglese "*high-dose methotrexate*") rappresenta, ad oggi, un trattamento chiave per la terapia della leucemia linfoblastica acuta e dei linfomi non-Hodgkin. Tuttavia, dalla pratica clinica emerge una forte variabilità interindividuale nella risposta clinica a tale trattamento, soprattutto in termini di rischio di insorgenza di reazioni avverse gravi, a cui possono essere attribuibili l'interruzione o la discontinuazione del trattamento, una riduzione della dose, prognosi infausta o, addirittura, *exitus*. In letteratura sono molteplici gli studi di farmacogenetica in cui è stata investigata la potenziale correlazione tra varianti genetiche individuali e la risposta clinica a HDMTX. Tra i geni candidati più frequentemente analizzati si annoverano quelli codificanti per proteine coinvolte nel trasporto transcellulare del farmaco (RFC1/SLC19A1, ABCB1, OATP/SLCO), nel *pathway* di poligluttammazione (FPGS, GGH) o codificanti per le proteine target del farmaco (DHFR, TYMS/TS, ATIC, MTHFR). A fronte della numerosità degli studi primari condotti nell'ambito, sono state prodotte una serie di revisioni sistematiche e meta-analisi finalizzate a produrre stime quantitative riguardo all'associazione tra le diverse varianti genetiche analizzate e la risposta clinica a HDMTX. Tuttavia, tali meta-analisi hanno prodotto risultati a volte contrastanti tra loro e molte di queste si sono focalizzate unicamente sull'analisi di singoli polimorfismi come predittori della tossicità da HDMTX ma non della prognosi di tali pazienti. Alla luce di ciò e della necessità di aggiornare i dati meta-analitici per alcune delle varianti di interesse, il presente studio si pone l'obiettivo di produrre una nuova e onnicomprensiva revisione sistematica della letteratura, seguita da una meta-analisi, finalizzata a produrre, quando possibile, delle stime conclusive riguardo all'associazione tra polimorfismi genetici e l'efficacia e/o la sicurezza di HDMTX in pazienti affetti da tumori ematologici.

La ricerca bibliografica è stata condotta a novembre del 2020 utilizzando i database di PubMed, Embase, CENTRAL e ClinicalTrials.gov. Sono stati definiti come eleggibili tutti gli studi farmacogenetici di coorte in cui fossero arruolati pazienti affetti da tumori ematologici in trattamento con HDMTX. Per ciascuno studio eleggibile sono stati estratti i dati relativi a primo autore e anno di pubblicazione, paese di arruolamento, etnia, sesso ed età dei pazienti, diagnosi, dimensione campionaria, distribuzione genotipica, dose di MTX somministrata, HWE, *outcome* analizzati e i risultati di ciascuno studio. La qualità degli studi primari è stata valutata tramite Newcastle Ottawa Scale. La meta-analisi è stata condotta qualora fossero disponibili almeno due studi primari in cui venisse analizzata la correlazione tra la medesima variante genetica e uno degli *outcome* in studio. Nello specifico, è stata condotta una meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, rispettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità rilevata tra gli studi. Le stime meta-analitiche sono state calcolate come OR o HR e relativi intervalli di confidenza al 95% (95% CI) nei modelli genetici dominante, recessivo ed allelico. Sono state inoltre condotte, quando possibile, meta-analisi per sottogruppi sulla base dell'età dei pazienti nonché analisi di sensibilità *leave-one-out*. Infine, il rischio di *bias* di pubblicazione è stato stimato mediante funnel plot.

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 4359 studi di cui 34 sono risultati essere eleggibili per la presente revisione sistematica. Tali studi hanno arruolato nel complesso 4102 pazienti e le varianti analizzate sono state in totale 12 a carico di 7 geni, ossia RFC1, SLCOB1, ABCB1, FPGS, MTHFR, TYMS e ATIC. In 8 dei 34 studi, i pazienti arruolati erano adulti, in 25 erano bambini mentre nel rimanente studio erano di qualsiasi età. Gli *outcome* analizzati sono stati relativi alla prognosi dei pazienti in 14 studi mentre in 30 è stata investigata la correlazione tra varianti genetiche e la tossicità da HDMTX. Dei 34 studi eleggibili per la revisione sistematica, 31 sono stati inclusi nella meta-analisi. Le varianti per le quali è stato possibile condurre una meta-analisi della loro associazione con la prognosi e/o la tossicità da HDMTX sono state 9. Nello specifico, sono emerse correlazioni statisticamente significative tra 5 varianti genetiche e la tossicità indotta da HDMTX. Più nel dettaglio, le varianti RFC1 rs1051266, ABCB1 rs1045642 e MTHFR rs1801133 sono emerse essere associate alla tossicità epatica da HDMTX [rispettivamente, OR 95% CI: 0.35 (0.16-0.76); 3.80 (1.68-8.61); 1.41 (1.01-1.97)]. I polimorfismi MTHFR rs1801133 e MTHFR rs1801131 sono risultati essere associati alla tossicità renale [rispettivamente, OR 95% CI: 1.89 (1.18-3.02); 0.41 (0.19-0.97)] mentre gli SNP MTHFR rs1801133 e TYMS rs34743033 sono risultati essere predittivi del rischio di

insorgenza di mucositi [rispettivamente, OR 95% CI: 1.91 (1.28-2.85); 0.66 (0.47-0.94)]. Per quanto riguarda, invece, gli *outcome* di prognosi, è stato possibile condurre una meta-analisi solo per le varianti MTHFR rs1801133 e rs1801131, tuttavia nessuna evidenza di associazione statisticamente significativa è emersa in tale contesto. Infine, non si è evinto un rischio statisticamente significativo di *bias* di pubblicazione.

Il presente studio rappresenta la più aggiornata revisione sistematica e meta-analisi condotta nell'ambito. Tuttavia, i risultati qui riportati devono essere interpretati alla luce di alcune limitazioni, che includono: i) la ridotta dimensione campionaria su cui sono state calcolate le stime meta-analitiche: si sottolinea che alcune delle stime quantitative siano state ottenute combinando solo due studi; ii) la ricerca bibliografica risale a novembre 2020: è quindi possibile che altri studi rilevanti nell'ambito siano stati pubblicati nel mentre; iii) nonostante, nel complesso, non sia emersa dalle analisi una forte eterogeneità tra gli studi, gli studi primari inclusi in questa meta-analisi differiscono tra loro in termini di caratteristiche di base dei pazienti arruolati, protocolli adottati nonché ore di infusione di HDMTX. Alla luce delle limitazioni qui espresse, i risultati qui ottenuti non possono considerarsi conclusivi. Ulteriori studi di replicazione di idonea dimensione campionaria si rendono, quindi, necessari per validare le stime di associazione statisticamente significative qui riscontrate. Gli Autori del presente lavoro suggeriscono che futuri studi prospettici di coorte debbano focalizzarsi maggiormente sull'indagine dei fattori genetici predittivi della prognosi di pazienti affetti da tumori ematologici in trattamento con HDMTX, e che tali studi valutino l'utilità clinica delle varianti genetiche analizzate.

La genotipizzazione per polimorfismi principalmente a carico del gene MTHFR emerge essere potenzialmente utile per predire il rischio di insorgenza di tossicità indotte da metotrexato ad alte dosi in pazienti affetti da tossicità ematologiche.

Parole chiave: MTHFR, ABCB1, HDMTX, tossicità ematologiche

Riferimento bibliografico

[Song Z et al. Front Pharmacol 2021,12:757464](#)



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 Stefania Braidotti (Università di Trieste) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Francesca Gorini (Università di Bologna) Dott.ssa Sofia Pagarin (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)
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](https://sif-website.s3.amazonaws.com/uploads/attachment/file/240/Informativa_Privacy_SIF_Generica.pdf) che l'utente, con la sottoscrizione del presente Contratto, dichiara di aver compiutamente visionato, compreso e accettato. Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.
