



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 146 – Gennaio 2022

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

SOMMARIO

Oncologia

- Importanza di polimorfismi farmacogenetici nella risposta alla chemioterapia con docetaxel, cisplatino e 5-fluorouracile nel cancro dell'esofago
- Il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 predice la mielotossicità precoce da 6-mercaptopurina in pazienti con leucemia linfoblastica acuta sottoposti a terapia di mantenimento

Neuropsichiatria

- Il genotipo GG del polimorfismo rs1345697 del gene serotonin 4 receptor è associato ad una minore frequenza di remissione dopo trattamento con antidepressivi: risultati della coorte METADAP

Immunomodulazione

- Studio di associazione genome-wide riguardo l'aumento degli enzimi epatici in pazienti con artrite reumatoide che iniziano la terapia con metotressato

La metanalisi del mese

- Un polimorfismo del gene MTHFR è associato a tossicità severa indotta da metotrexato in pazienti affetti da osteosarcoma: una revisione sistematica della letteratura e meta-analisi

ONCOLOGIA

IMPORTANZA DI POLIMORFISMI FARMACOGENETICI NELLA RISPOSTA ALLA CHEMIOTERAPIA CON DOCETAXEL, CISPLATINO E 5-FLUOROURACILE NEL CANCRO DELL'ESOFAGO

A cura delle Dott.sse Francesca Gorini e Gloria Ravegnini

Il cancro dell'esofago è un tumore altamente letale, tipicamente diagnosticato in fase avanzata. Il trattamento standard è costituito dalla chirurgia; in alcuni casi, però, viene somministrata la chemioterapia neoadiuvante prima dell'intervento chirurgico al fine di ottenere una riduzione della massa tumorale tale da consentire una resezione ottimale del tumore durante l'intervento chirurgico. Tale trattamento ha portato ad un aumento della sopravvivenza rispetto ai pazienti trattati esclusivamente con intervento

chirurgico. La chemioterapia neoadiuvante somministrata in caso di cancro esofageo è comunemente costituita da cisplatino e 5-fluorouracile (5-FU), ma attualmente sono in fase di sviluppo nuovi regimi terapeutici volti a migliorare il tempo di sopravvivenza dei pazienti; in particolare, è stato osservato che l'aggiunta di docetaxel alla combinazione precedente (cisplatino+5-FU + docetaxel (DCF)) ha mostrato risultati promettenti. Nonostante il riscontro di una elevata risposta terapeutica, uno studio giapponese di fase II ha mostrato anche che frequentemente possono comparire effetti avversi come ad esempio la neutropenia severa, effetto collaterale dose-limitante nella terapia. Frequentemente questi episodi avversi possono essere correlati alla presenza di polimorfismi genetici. Nomura e colleghi hanno dimostrato che due polimorfismi, rs1045642 e rs12762549, su geni che codificano per le proteine trasportatrici ABCB1 e ABCC2 sono stati associati alla comparsa di neutropenia severa. Tuttavia, i dati sull'eventuale associazione tra la risposta clinica e polimorfismi genetici in pazienti affetti da cancro esofageo trattati con DCF non sono esaustivi. A tal proposito, il presente studio ha avuto l'obiettivo di analizzare polimorfismi genetici implicati nella risposta clinica di pazienti affetti da cancro esofageo in stadio avanzato trattati con DCF in chemioterapia neoadiuvante.

Lo studio ha coinvolto 56 pazienti e sottoposti a chemioterapia neoadiuvante con DCF che consiste in infusione dei farmaci ogni 3 settimane. La risposta alla terapia è stata valutata dopo il primo ciclo di chemioterapia mediante tomografia computerizzata e sulla base di criteri RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors). Nel presente studio sono stati analizzati 21 polimorfismi su geni che codificano per proteine trasportatrici del farmaco (SLCO1B3, ABCB1, ABCC2, e ABCG2), per enzimi implicati nel metabolismo dei farmaci (CYP3A5 e GST), e per enzimi implicati nel meccanismo di riparazione del DNA, incluso NER (ERCC1, ERCC2, XRCC1, and XRCC3).

Dopo il primo ciclo di chemioterapia, dei 56 pazienti, 47 (84%) ha mostrato una riduzione misurabile della malattia rispetto alla valutazione iniziale. Per quanto riguarda i polimorfismi analizzati, dei 13 pazienti che mostravano la variante XRCC3 rs1799794 AA, 12 (il 92.3%) hanno mostrato una riduzione della massa tumorale rispetto al periodo precedente la terapia. Dei 21 polimorfismi analizzati, infatti, solo XRCC3 rs1799794 (G > A) ha mostrato una correlazione significativa con la risposta clinica alla terapia ($p= 0.033$) e l'analisi multivariata ha evidenziato XRCC3 rs1799794 quale predittore indipendente della risposta clinica alla terapia neoadiuvante a base di DCF. I due polimorfismi dei geni trasportatori ABC (ABCB1 rs1045642 and ABCC2 rs12762549), precedentemente correlati ad uno sviluppo di neutropenia severa di grado 3 o superiore, invece, non sembrano influenzare la risposta clinica alla chemioterapia neoadiuvante con DCF.

L'importanza clinica di XRCC3 rs1799794 è ancora incerta, nonostante diversi studi supportino i risultati ottenuti nella presente analisi. Ad esempio, in una recente analisi condotta su pazienti con glioblastoma trattati con temozolamide, un'associazione statisticamente significativa è stata riscontrata tra la presenza di XRCC3 rs1799794 e la progressione libera da malattia.

Il presente studio presenta alcune limitazioni, prima fra tutte il coinvolgimento di una coorte di pazienti ridotta e composta per il 91% da uomini; pertanto, l'analisi dovrebbe essere svolta su una coorte più ampia per confermare i risultati ottenuti. Inoltre, la valutazione della risposta clinica è stata eseguita solamente dopo un ciclo di chemioterapia ma sarebbe interessante effettuare anche una valutazione dopo 3 cicli di chemioterapia.

In conclusione, questo studio ha mostrato che la variante rs1799794 del gene XRCC3, implicato nel pathway del meccanismo di riparazione del DNA, può influenzare la risposta clinica di pazienti con cancro esofageo trattati con chemioterapia neoadiuvante a base di DCF.

Parole chiave: tumore esofageo, XRCC3 rs1799794, cisplatino, 5-fluoro uracile, docetaxel

Riferimento bibliografico

[Nomura H](#) et al. *Invest New Drugs* 2021 Nov 18 Online ahead of print

IL POLIMORFISMO C.415C>T DI NUDT15 PREDICE LA MIELOTOSSICITÀ PRECOCE DA 6-MERCAPTOPURINA IN PAZIENTI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA SOTTOPOSTI A TERAPIA DI MANTENIMENTO

A cura della Dott.ssa Paola Rispoli

La leucemia linfoblastica acuta (ALL) è il più comune cancro infantile, la cui ultima fase del trattamento prevede la terapia di mantenimento con mercaptopurina (6-MP) e metotressato (MTX). Il principale effetto avverso è la mielosoppressione, che può risultare in episodi neutropenici febbrili e mettere in pericolo la vita dei pazienti; inoltre, vi è una variazione inter-individuale nella risposta e i polimorfismi genetici a carico degli enzimi che metabolizzano i farmaci e dei trasportatori contribuiscono significativamente a questa variabilità. Ad esempio, polimorfismi a carico dei geni codificanti per l'enzima tiopurina metiltransferasi (TPMT) e per NUDT15 (nudix hydrolase 15) sono correlati alla citopenia mediata da 6-MP. Le varianti di TPMT e di NUDT15 sono rare nella popolazione indiana, e non spiegano in toto la grave mielosoppressione riscontrata nei pazienti con ALL sottoposti a terapia di mantenimento. Alcuni screening per il polimorfismo c.415 C>T di NUDT15 in pazienti con severa mielosoppressione, ma privi delle varianti di TPMT, hanno mostrato che solo il 53% di essi presentava il polimorfismo in esame; altri fattori genetici potrebbero dunque avere un ruolo. Polimorfismi a carico della proteina MRP4 (multidrug resistance protein-4), quali c.2269C>T, e di ITPA (inosina trifosfato pirofosfatasi), quali c.94 C>A, sono, inoltre, stati correlati alla tossicità di 6-MP in alcune etnie. Sebbene precedenti studi nella popolazione indiana abbiano sottolineato il ruolo del polimorfismo c.415 C>T di NUDT15 in associazione alla tossicità di 6-MP, non ci sono reports comprensivi di tutti i polimorfismi correlati all'intolleranza di 6-MP.

Questo studio ha lo scopo di valutare il ruolo di polimorfismi a carico dei geni codificanti per ITPA e MRP4, oltre a quelli relativi a NUDT15 e TPMT, nel predire l'intolleranza a 6-MP in pazienti indiani con ALL.

Sono stati inclusi pazienti con ALL che, dal 2009 al 2017, hanno presentato una severa mielotossicità correlata alle tiopurine e che hanno richiesto una riduzione della dose in seguito alla genotipizzazione per TPMT (coorte 1, retrospettiva; n=42); questa coorte serve per identificare polimorfismi genetici (in aggiunta a quelli a carico di TPMT) che potrebbero spiegare la mielotossicità. Inoltre, sono stati prospetticamente arruolati tutti i pazienti del dipartimento di ematologia del Christian Medical College (Vellore, India) con ALL sottoposti a terapia di mantenimento tra il 2018 e marzo 2020 (coorte 2, prospettica; n=133); la coorte 2 permette lo studio dell'influenza dei polimorfismi genetici sull'intolleranza a 6-MP, sulle tossicità e sulla sopravvivenza. Il consenso informato è stato ottenuto per tutti i pazienti arruolati e lo studio è stato approvato dall'IRB (Institutional Review Board). Prima di iniziare la terapia di mantenimento, il sangue periferico è stato prelevato, e il DNA estratto con Qiagen Gentra kit. Diversi polimorfismi sono stati presi in esame: NUDT15*3 (c.415 C > T), ITPA (c.94 C > A) e MRP4 (c.2269 G>A), valutati con il sequenziamento bidirezionale di Sanger, TPMT*3A [*3B (460 G>A) e *3C (719 A > G)], valutati con la tecnica RFLP (restriction fragment length polymorphism). Anche il polimorfismo [*2(238G > C)] di TPMT è stato valutato, mediante PCR con oligonucleotidi allele-specifici. Sono stati considerati anche i polimorfismi nell'esone 1 di NUDT15, valutati mediante sequenziamento con metodo di Sanger. La riduzione della dose, il rapporto WBC (white blood cell) /ANC (absolute neutrophil count) e i livelli delle transaminasi ALT/AST sono stati monitorati durante tutta la terapia di mantenimento. L'intensità percentuale della dose di 6-MP (rapporto tra la dose di clinicamente prescritta e la dose percentuale prevista dal protocollo) è stata registrata mensilmente per i primi 6 mesi dall'inizio del trattamento. La mielotossicità severa viene definita come valore di ANC inferiore a 500/mm³; la mielotossicità precoce e quella tardiva sono state documentate durante i mesi 1-3 e 4-6, rispettivamente, dopo la terapia di mantenimento. La sopravvivenza complessiva (OS) è stata calcolata dall'inizio della terapia di mantenimento alla data della morte o a quella dell'ultimo follow-up applicabile. La sopravvivenza priva di effetti avversi (EFS) è definita come la percentuale di pazienti che erano vivi senza ricaduta o morte all'ultimo follow-up durante la terapia di mantenimento. La sopravvivenza priva di ricaduta (RFS) è, invece, la percentuale di pazienti che non presentavano ricadute, dall'inizio della terapia di

mantenimento, all'ultimo follow-up. La ricaduta e la sopravvivenza sono state documentate solo per la coorte prospettica.

Tutte le analisi statistiche di questo studio sono state effettuate mediante SPSS, R software e GraphPad Prism 8, considerando $p < 0,05$ come valore statisticamente significativo. Precisamente, sono stati usati il test ANOVA ad una via, il Mann-Whitney U-test e l'analisi multivariata.

Dalla genotipizzazione è emerso che nessuno dei pazienti della coorte 1 presentava polimorfismi a carico di TPMT, mentre il 3% pazienti della coorte 2 era eterozigote per la variante TPMT*3C. Riguardo la variante c.415C>T di NUDT15, questa era presente in 19 pazienti della coorte 1 (14 eterozigoti e 5 omozigoti), e 18 pazienti della coorte 2 erano invece eterozigoti. Nessuno dei pazienti inclusi nello studio presentava polimorfismi nell'esone 1 del gene codificante per NUDT15. Per quanto concerne le dosi di farmaco, nella coorte 1, il 19% dei pazienti ha richiesto una drastica riduzione della dose (meno del 50%) di 6-MP e il 47,6% ha invece ricevuto il 50-80% della dose totale prevista. Riguardo la coorte 2, il 70% dei pazienti ha ricevuto più dell'80% della dose prevista di 6-MP, e solo il 3% ha ricevuto meno del 50% della dose totale. Sebbene tutti i pazienti nella coorte 1 presentassero severa mielotossicità, il 38% ha manifestato severi episodi di neutropenia (ANC medio $< 500/\text{mm}^3$); nella coorte 2, invece, severi episodi di neutropenia si sono manifestati nel 27% dei pazienti (ANC medio $< 500/\text{mm}^3$). Riguardo gli effetti sul fegato, il 7% dei pazienti della coorte 1 presentava livelli di ALT elevati, mentre il 2% presentava alti livelli di AST; tali valori erano rispettivamente 9% e 2% per la coorte 2. Inoltre, nella coorte 2, il 16% dei pazienti ha avuto una ricaduta durante o dopo la terapia di mantenimento (tasso di RSF di 3 anni = 84,2% ad un follow-up medio di 18 mesi). La sopravvivenza complessiva (OS) e la sopravvivenza priva di effetti avversi (EFS) dopo 3 anni erano 96,2% e 83,5% rispettivamente, ad un follow-up medio di 18 mesi. Sebbene tutti i pazienti della coorte 1 richiedessero una riduzione della dose, il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 è stato trovato solo in 19 pazienti, quello c.94C>A di ITPA in 3 pazienti e quello C.2269G>A di MRP4 in 2. Mentre 5 pazienti omozigoti per il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 erano altamente sensibili alla 6-MP e tolleravano solo il 25% dell'intensità media della dose, quelli eterozigoti ($n=14$) o wild-type ($n=23$) tolleravano un'intensità media di dose del 58% e 77% ($p=0,040$ e $0,0005$, rispettivamente). Nessuno dei pazienti della coorte 2 è risultato invece omozigote per il polimorfismo c.415C>T di NUDT15; gli eterozigoti ($n=18$) per questo polimorfismo, tuttavia, erano più sensibili a 6-MP rispetto a quelli wild-type ($n=115$) ($p=0,034$). Nessuno degli altri polimorfismi esaminati è stato associato in modo significativo con l'intensità della dose di 6-MP.

È stata, in seguito, valutata l'associazione tra questi polimorfismi e la mielotossicità, l'epatotossicità, la ricaduta e la sopravvivenza. Nella coorte 1, i pazienti omozigoti o eterozigoti per il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 avevano un ANC significativamente più basso in confronto a quelli wild-type ($p=0,006$). Nella coorte 2, i pazienti eterozigoti per tale polimorfismo presentavano una significativamente più alta mielotossicità precoce e tardiva in confronto a quelli wild-type ($p < 0,0001$ e $p=0,015$, rispettivamente). Inoltre, anche i pazienti con i polimorfismi c.94C > A di ITPA e TPMT*3C avevano un ANC significativamente più basso (rispettivamente $p=0,04$ e $p=0,04$) durante la terapia di mantenimento, indicando un ruolo di tali polimorfismi nella mielotossicità. L'analisi multivariata (coorte 2) ha mostrato che, sebbene la variante TPMT*3C ($\beta=-0,209$, $p=0,02$) fosse significativamente associata con la mielotossicità, il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 era la variabile maggiormente associata con la mielotossicità sia precoce ($\beta=-0,314$; $p < 0,0001$) che tardiva ($\beta=-0,197$; $p=0,018$). Nessuno dei polimorfismi esaminati è stato associato con l'epatotossicità, la ricaduta e la sopravvivenza.

È interessante notare che 10 dei 36 pazienti con mielotossicità severa nella coorte 2 non presentavano varianti per nessuno dei polimorfismi esaminati, ma manifestavano comunque neutropenia severa. Inoltre, il 53% dei pazienti che ha ricevuto una quantità minore o uguale all'80% della dose prevista di 6-MP non presentava nessun polimorfismo genetico. Dopo aver raggruppato i pazienti della coorte 2 in base ai diversi genotipi individuati, è emerso che i pazienti con solo il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 (gruppo 4) manifestavano un'augmentata mielotossicità ($p=0,002$) rispetto a quelli wild-type per le varianti di NUDT15, TPMT, ITPA e MRP4 (gruppo 1). Similarmente, i pazienti con solo il polimorfismo c.94 C > A di ITPA (gruppo 3) presentavano un'augmentata mielotossicità ($p=0,030$) in confronto a quelli del gruppo 1.

Infine, comparando i costi ospedalieri diretti dei primi 6 mesi di terapia di mantenimento tra i pazienti, sia della coorte 1 che della coorte 2, con genotipo wild-type e quelli omozigoti o eterozigoti per il polimorfismo c.415C>T di NUDT15, è emerso che il costo era più alto per i pazienti omozigoti o eterozigoti per la variante in esame rispetto a quelli wild-type ($p=0,07$). Dunque, un preventivo screening per il polimorfismo c.415C>T di NUDT15 e per i polimorfismi di TPMT, e la scelta di una dose appropriata di 6-MP, potrebbero portare a benefici per i pazienti e a diminuzione dei costi.

Il polimorfismo c.415C>T di NUDT15, sia in omozigosi che in eterozigosi, è associato ad un aumento di tossicità midollari di 6-MP e sembra essere, almeno in parte, correlato alla necessità di riduzione della dose. Inoltre, anche la variante *3C di TPMT è stata associata a mielotossicità. In aggiunta, il polimorfismo c.94 C > A di ITPA è stato correlato a severa neutropenia; episodi di leucopenia, senza necessità di riduzione della dose sono stati invece associati alla variante missenso 2269G>A di MRP4. Infine, una parte dei pazienti con severa neutropenia non presentava nessuna delle varianti genetiche analizzate, suggerendo che ulteriori polimorfismi potrebbero spiegare l'intolleranza a 6-MP.

Parole chiave: farmacogenetica, leucemia linfoblastica acuta, 6-mercaptipurina, polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), mielotossicità

Riferimento bibliografico

[Pai AA](#) et al. *Pharmacogenomics Pers Med* 2021, 14:1303-13

NEUROPSICHIATRIA

IL GENOTIPO GG DEL POLIMORFISMO RS1345697 DEL GENE *SEROTONIN 4 RECEPTOR* È ASSOCIATO AD UNA MINORE FREQUENZA DI REMISSIONE DOPO TRATTAMENTO CON ANTIDEPRESSIVI: RISULTATI DELLA COORTE METADAP

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il disturbo depressivo maggiore (DDM) rappresenta una delle principali cause di disabilità. Nei pazienti con DDM si osserva una importante variabilità interindividuale nella risposta ai farmaci antidepressivi. Tra i fattori che giocano un ruolo nello spiegare questa variabilità vi sono fattori genetici, come varianti dei geni che codificano per gli enzimi coinvolti nel metabolismo degli antidepressivi CYP2C19 e CYP2D6. Tra gli ulteriori geni che potrebbero spiegare parte della variabilità nella risposta a questi farmaci è stato suggerito il gene *serotonin type 4 receptor* (HTR4). Il recettore metabotropico HTR4 è espresso in aree cerebrali associate con lo stress e le emozioni, tra le quali l'amigdala, il nucleus accumbens e l'ippocampo. Inoltre, dati preclinici e clinici supportano il suo possibile ruolo nella patogenesi della depressione e dell'ansia. Topi *knockout* per il gene *HTR4* mostrano un aumento dei comportamenti simil-depressivi ed è stato suggerito che l'anedonia nei ratti sia associata ad una *downregolazione* dei livelli di HTR4 nell'ippocampo. Nell'uomo, uno studio di *genome-wide association* condotto nell'ambito del progetto GENDEP (*Genome-based therapeutic drugs for depression*) ha valutato l'associazione tra la risposta al trattamento con antidepressivi e varianti localizzate a livello dell'intero genoma. I pazienti arruolati in questo studio sono stati trattati per 12 settimane con escitalopram ($n = 394$) o nortriptilina ($n = 312$). La variante rs1345697 ha mostrato il segnale più promettente tra le varianti localizzate nel gene *HTR4*, sebbene l'associazione non sia risultata significativa dopo correzione per test multipli.

Gli autori del presente studio hanno valutato l'associazione tra la variante rs1345697 e il miglioramento dei sintomi depressivi dopo 6 mesi di trattamento con farmaci antidepressivi in una coorte di pazienti

prevalentemente di origine europea con un episodio depressivo maggiore in corso, con diagnosi di DDM. I pazienti sono stati reclutati dal 2009 al 2013 nell'ambito della coorte METADAP (*Do Antidepressants Induce Metabolic Syndromes*), uno studio multicentrico, prospettivo, *real-world*, che ha coinvolto sei cliniche specialistiche in Francia. Sono stati reclutati 624 pazienti che richiedevano l'inizio di una terapia con antidepressivi in monoterapia. Tra questi, 492 hanno fornito un prelievo di sangue per l'estrazione del DNA. I pazienti eleggibili avevano un'età compresa tra 18 e 65 anni e un punteggio minimo di 18 alla *17-item Hamilton Depression Rating Scale* (HDRS), corrispondente a una depressione moderata o severa. Sono stati esclusi pazienti con sintomi psicotici, diagnosi di disturbo bipolare, diagnosi di disturbi psicotici o dell'alimentazione, disturbo da abuso o dipendenza da sostanze, condizioni mediche instabili, patologie cerebrali organiche, stato di gravidanza o allattamento. Il farmaco di scelta e il dosaggio sono stati stabiliti a discrezione dello specialista psichiatra. Non sono stati inclusi pazienti in trattamento con altri farmaci psicotropi, ad eccezione delle benzodiazepine. I pazienti sono stati valutati alla *baseline* e dopo un mese (M1), tre mesi (M3) e sei mesi (M6). La risposta agli antidepressivi è stata definita in base a una riduzione pari ad almeno il 50% del punteggio della scala HDRS al *follow-up* rispetto alla *baseline*. La remissione è stata definita come un punteggio ≤ 7 alla HDRS.

La variante rs1345697 del gene *HTR4* è stata genotipizzata su DNA genomico tramite metodica TaqMan. L'associazione tra genotipo GG versus AG+AA e la risposta al trattamento è stata analizzata tramite la costruzione di un modello di regressione logistica *mixed-effect*, utilizzando la risposta o la remissione nel tempo come *outcome*, includendo i diversi *timepoint*. La variazione del punteggio della scala HDRS è stata analizzata anche come variabile quantitativa, tramite la costruzione di un modello di regressione lineare. I modelli sono stati corretti per età, sesso e origine. Inoltre, è stato valutato l'effetto della classe del farmaco antidepressivo assunto.

I 492 pazienti inclusi comprendevano prevalentemente donne (69%, $n = 337$) e avevano un'età media pari a $45,4 \pm 13,3$ anni. Alla *baseline*, il punteggio HDRS medio era $24,8 \pm 4,9$. La maggior parte dei pazienti (89%, $n = 473$) ha richiesto un'ospedalizzazione alla *baseline*. La maggior parte dei pazienti è stata trattata con inibitori della ricaptazione della serotonina (43%, $n = 208$) o inibitori della ricaptazione della serotonina e della noradrenalina (40%, $n = 193$). Non sono risultate differenze significative nelle classi di farmaci antidepressivi utilizzate in base al genotipo della variante rs1345697 ($p = 0,92$). Inoltre, la classe di farmaco antidepressivo non è risultata associata con i tassi di risposta ($p = 0,59$) o remissione ($p = 0,52$) nel tempo. Alla *baseline*, i pazienti con genotipo AA/AG ($n = 378$) non differivano rispetto a quelli con genotipo GG ($n = 114$) per caratteristiche socio-demografiche, caratteristiche cliniche, classe di farmaco antidepressivo assunto o punteggio HDRS.

I tassi di *dropout* sono stati del 24%, 45% e 58% dopo 1 mese, 3 mesi e 6 mesi, rispettivamente. Le ragioni principali per il *dropout* includevano cambiamento del farmaco antidepressivo (36%), utilizzo di farmaci non autorizzati (7%) o perdita al *follow-up* (51%). Il numero di pazienti che hanno completato lo studio non è risultato diverso in base al genotipo ($p = 0,97$).

I pazienti *carrier* del genotipo GG hanno mostrato un minore tasso di remissione nel tempo (M1: 16%, M3: 19%, M6: 37%) rispetto ai *carrier* dell'allele A (M1: 21%, M3: 32%, M6: 47%; *odds ratio*: 2,00, $p = 0,05$). Il genotipo è risultato associato in maniera significativa con la variazione del punteggio HDRS analizzato come variabile quantitativa ($p = 0,009$) ma non con il tasso di risposta nel tempo ($p = 0,09$).

I limiti dello studio comprendono l'eterogeneità dei farmaci e regimi di trattamento utilizzati (che tuttavia consente la valutazione in condizioni *real-life*), l'elevato tasso di *dropout*, la mancanza di alcune informazioni cliniche potenzialmente rilevanti (quali la familiarità per DDM) e la scelta di analizzare una sola variante, intronica, per la quali non si hanno dati in merito ad un potenziale effetto funzionale sul recettore.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra la variante rs1345697 del gene *HTR4* e la remissione dopo trattamento con antidepressivi in una coorte di pazienti di origine prevalentemente europea con diagnosi di DDM.

Parole chiave: antidepressivi, disturbo depressivo maggiore, *HTR4*

Riferimento bibliografico

[Poinsignon V et al. J Affect Disord 2021, 299:335-343](#)

IMMUNOMODULAZIONE**STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE* RIGUARDO L'AUMENTO DEGLI ENZIMI EPATICI IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE CHE INIZIANO LA TERAPIA CON METOTRESSATO**

A cura della Dott.ssa Alessia Norbedo

Il metotressato a basso dosaggio (MTX) è il trattamento cardine dell'artrite reumatoide (AR), sia in monoterapia che in combinazione con altri farmaci. Il potenziale rischio di epatotossicità dovuto all'assunzione di MTX ha sempre suscitato preoccupazione nei clinici e sono state sviluppate linee guida per la sua diagnosi precoce effettuando test di laboratorio regolari, volti a valutare principalmente i livelli di alanina aminotransferasi (ALT) o aspartato aminotransferasi (AST). L'aumento delle amino transferasi si registra in oltre il 30% dei pazienti con AR trattati con MTX e può portare a modifiche o interruzioni del trattamento. Attualmente mancano metodi per prevedere l'aumento di ALT/AST durante il trattamento con MTX a basse dosi. L'identificazione dei pazienti a rischio prima dell'inizio del trattamento potrebbe offrire la possibilità di personalizzare il trattamento e concentrare i test diagnostici per pazienti predisposti a sviluppare epatotossicità da MTX.

Gli studi farmacogenetici hanno identificato potenziali fattori di rischio nei pazienti con AR trattati con MTX a basso dosaggio: varianti geniche di *MTHFR* sembrano essere associate alla tossicità da MTX e ad un aumento dei valori di ALT. In alcuni studi è emerso anche il ruolo di *SLCO1B1* nella tossicità correlata a MTX. Infine, un recente studio ha riportato un'associazione tra epatotossicità e varianti del gene *ADORA3* nella via dell'adenosina, attraverso il quale MTX esercita i suoi effetti anti-infiammatori.

Inoltre, è stato ipotizzato che l'epatotossicità indotta da MTX e la steatosi epatica non alcolica (NAFLD) potrebbero avere una patogenesi comune. Negli studi di associazione genome-wide (GWAS), la NAFLD è stata associata a varianti dei geni *PNPLA3*, *GCKR*, *SAMM50*, *GATAD2A*, *HERPUD2* e a varianti della regione regolatoria intergenica sul cromosoma 16. Studi GWAS in diverse popolazioni hanno anche rilevato associazioni genetiche con l'aumento di ALT, in particolare con varianti di *PNPLA3*.

Dunque l'obiettivo di questo studio è stato quello di cercare di identificare nuovi fattori di rischio genetici associati all'epatotossicità precoce dopo l'inizio del MTX, valutando aumenti nei livelli di ALT entro 6 mesi dall'inizio del trattamento.

Per identificare nuove varianti genetiche che predispongano all'aumento dell'ALT nei pazienti con AR dopo l'inizio del trattamento con MTX e la sua prosecuzione per almeno 6 mesi, è stato condotto uno studio di associazione sull'intero genoma in 198 pazienti con AR che iniziavano ad assumere, per via orale o sottocute, MTX (7,5-25 mg) una volta alla settimana con successiva integrazione di folati. I pazienti, che hanno partecipato allo studio previo consenso informato, sono stati reclutati presso i dipartimenti di reumatologia dell'ospedale universitario di Uppsala, Svezia, tra il 1 maggio 2013 e il 30 settembre 2017, e dell'ospedale di Sunderby (Lulea), Svezia, tra il 1 gennaio 2005 e il 30 settembre 2017. Valutando le cartelle cliniche elettroniche e indagando le abitudini mediante questionari standard, sono stati selezionati i soggetti che soddisfacevano i criteri dell'American College of Rheumatology. I pazienti selezionati, di età maggiore o uguale a 18 anni e con un'origine etnica piuttosto omogenea, hanno fornito un campione di sangue o saliva (2 ml di Oragene[®] Kit di raccolta OG-500, DNA Genotek, Canada) da cui è stato estratto il DNA e sono stati sottoposti periodicamente ai test di laboratorio per monitorare i valori di ALT seguendo le linee guida svedesi, che prevedono l'analisi di ALT ogni 14 giorni durante i primi 3 mesi di terapia con MTX, seguiti da test mensili per 3 mesi e, infine, ogni 3 mesi finché la terapia MTX viene mantenuta. L'endpoint

primario, innalzamento di ALT > 1,5 volte il limite superiore della norma (ULN) entro i primi 6 mesi di trattamento, è stato selezionato sulla base di dati di letteratura (>44 U/l [0,75 µkat/l] nelle femmine adulte e >66 U/l [1,1 µkat/l] nei maschi adulti) e ha permesso di dividere i pazienti in due gruppi: casi (18) e controlli (180).

Per le analisi comparative tra casi e controlli, sono stati utilizzati il test t di Student o il test Mann–Whitney per le variabili continue e il test χ^2 o di Fisher per le variabili categoriali, mentre per l'analisi statistica di correlazione e regressione sono stati utilizzati PLINK 1.9 o R package GeneticsDesign.

È emerso che la durata media del trattamento con MTX era significativamente più breve nei casi rispetto ai controlli (3,0 anni contro 4,4 anni, $p = 0,02$) e la dose massima media di MTX era significativamente più bassa (15,1 mg contro 17,3 mg, $p = 0,045$).

Per l'analisi di correlazione, la genotipizzazione è stata effettuata mediante Illumina Infinium OmniExpressExome 1 M Array e sono stati esaminati 14 SNP candidati che in precedenza erano stati implicati in studi sull'epatotossicità indotta da MTX, aumento di ALT e NAFLD: rs2298191T e aplotipo rs1544223A / rs3393A in *ADORA3*, rs4808199 in *GATAD2A*, rs1260326 e rs780094 in *GCKR*, rs10272006 in *SP4*, rs343064 vicino *HERPUD2*, rs738409 e rs2896019 in *PNPLA3*, rs738491 e rs2143571 in *SAMM50* ed infine rs6499186 e rs698718, entrambi intergenici sul cromosoma 16. Non è stata trovata alcuna associazione statisticamente significativa a livello di genoma confrontando pazienti con ALT > 1,5 × ULN entro 6 mesi con i controlli per queste varianti candidate.

Il livello massimo di ALT entro 6 mesi era significativamente associato a livello di tutto il genoma a quattro varianti: rs72675408, rs3920617, rs55889764 e rs17384589 del gene *RAVER2*. In particolare per lo SNP *RAVER2* rs72675408 in media i valori di ALT aumentavano di 1,78 volte nei pazienti con un allele e fino a $(1,78)^2 = 3,17$ nei pazienti con due alleli varianti. Dunque le varianti di *RAVER2* sono risultate significativamente associate all'ALT massima entro 6 mesi dall'inizio di MTX. Questa variante è in *linkage disequilibrium* con rs72675451, che è associato all'espressione differenziale di *RAVER2* e *JAK1*, che codifica per una janus chinasi coinvolta nella patogenesi dell'AR.

Questi risultati sembrano fornire una base interessante per approfondire questo campo di indagine in farmaco genetica ampliando la coorte di studio.

E' stata trovata un'associazione tra l'aumento dei valori di ALT durante la terapia con MTX di pazienti con AR e alcune varianti genetiche che possono regolare l'espressione di *JAK1* e *RAVER2*. In particolare lo SNP *RAVER2* rs72675408 ha un'associazione statisticamente significativa con i livelli massimi di ALT ($p = 4,36 \times 10^{-8}$). Questa variante è in *linkage disequilibrium* con rs72675451, che è associato all'espressione differenziale di *RAVER2* e *JAK1*, che codifica per una janus chinasi coinvolta nella patogenesi dell'AR.

Parole chiave: studio di associazione *genome-wide*, metotressato, polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), artrite reumatoide, epatotossicità, alanina aminotransferasi

Riferimento bibliografico

[Sundbaum JK](#) et al. *Pharmacogenomics* 2021, 22(15):973-82.

LA METANALISI DEL MESE

UN POLIMORFISMO DEL GENE MTHFR È ASSOCIATO A TOSSICITÀ SEVERA INDOTTA DA METOTREXATO IN PAZIENTI AFFETTI DA OSTEOSARCOMA: UNA REVISIONE SISTEMATICA DELLA LETTERATURA E META-ANALISI

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

L'osteosarcoma è il più frequente tumore maligno primitivo dell'osso la cui incidenza annuale a livello globale è stata stimata essere pari a 1-3 casi su 1 milione. I trattamenti ad oggi adottati per la cura dell'osteosarcoma includono la resezione della lesione nonché la chemioterapia antitumorale, sia essa neoadiuvante o adiuvante. Il metotrexato (MTX) ad alte dosi è uno degli agenti chemioterapici più frequentemente utilizzati per il trattamento dell'osteosarcoma. Tuttavia, diversi studi in letteratura hanno evidenziato un'elevata incidenza di tossicità indotte dalla somministrazione di tale farmaco ad alte dosi ($> 1\text{g}/\text{m}^2$), che includono l'insorgenza di insufficienza renale, danno epatocellulare, nausea/vomito, indurimento dei tessuti cutanei/subcutanei, anemia e mucositi. Dalla pratica clinica è emersa una forte variabilità interindividuale in termini di rischio di insorgenza di tossicità da MTX e, oltre a fattori come l'età, il sesso e l'etnia, anche il *background* genetico dell'individuo è risultato contribuire a tale rischio. Tra i geni più studiati nell'ambito della farmacogenetica del MTX, spicca il gene MTHFR codificante per la metilentetraidrofolato reduttasi, un enzima chiave coinvolto nella regolazione del metabolismo dei folati. Nello specifico, due varianti funzionali di tale gene, rs1801133 e rs1801131, sono emerse risultare in una riduzione dell'attività dell'enzima pari al 30%, diventando così oggetto di diversi studi di farmacogenetica condotti nell'ambito. Alla luce di evidenze contrastanti presenti in letteratura, l'obiettivo del presente studio è stato quello di condurre una revisione sistematica della letteratura seguita da meta-analisi finalizzata a produrre delle stime conclusive riguardo al ruolo di MTHFR rs1801133 e rs1801131 come potenziali fattori genetici predittivi dell'insorgenza di tossicità indotte da MTX in pazienti affetti da osteosarcoma.

La ricerca bibliografica è avvenuta in data 26 luglio 2021 ed è stata condotta utilizzando i *database* di PubMed, Web of Science, Cochrane Library, ClinicalTrials.gov, Embase e China National Knowledge Infrastructure. Sono stati definiti eleggibili gli studi caso-controllo in cui venisse analizzata l'associazione tra polimorfismi del gene MTHFR e la tossicità indotta da MTX in pazienti affetti da osteosarcoma e nei quali fosse esplicitata chiaramente la distribuzione allelica e genotipica tra casi e controlli. Per ciascuno studio eleggibile, sono state estratte le informazioni riguardo a: Paese di arruolamento, etnia, dimensione campionaria, metodo di genotipizzazione, SNP analizzati, dose di MTX somministrata, OR e relativo IC al 95% nei diversi modelli genetici analizzati nonché tossicità indotte da MTX (epatocellulare, renale, mucositi e anemia). La qualità degli studi è stata valutata tramite i criteri della Newcastle Ottawa Scale. Le stime meta-analitiche sono state espresse come OR e relativo IC al 95%. Nello specifico, è stata adottata una tecnica di meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, rispettivamente, dell'assenza o della presenza di eterogeneità tra gli studi. Al fine di esplorare le potenziali cause di eterogeneità tra gli studi sono state condotte delle meta-analisi per sottogruppi sulla base della dimensione campionaria degli studi primari, metodo di genotipizzazione adottato ed etnia dei pazienti. Infine, per testare la robustezza delle stime meta-analitiche ottenute, sono state effettuate delle analisi di sensibilità e il rischio di bias di pubblicazione è stato valutato tramite *funnel-plot* e test di Begg.

Dalla ricerca bibliografica è emerso un totale di 88 studi, di cui 7 sono risultati essere includibili nella presente meta-analisi. Tali studi sono stati pubblicati dal 2012 in avanti, hanno incluso un totale di 585 pazienti e sono risultati essere di buona qualità. In quattro studi sono state analizzate le varianti rs1801133 e rs1801131, mentre nei rimanenti tre solo variante rs1801133. Siccome sono risultati essere non estraibili i dati per rs1801131 in tre degli studi primari, è stata effettuata la meta-analisi solo per la variante MTHFR rs1801133. Dalla meta-analisi, è emersa un'associazione statisticamente significativa tra tale variante e il rischio di insorgenza di mucositi di grado severo (grado 3-4) in tutti i modelli genetici analizzati (tra cui il modello allelico: $N_{\text{studi}}=4$; OR 2.28, 95% CI 1.49-3.50, $P=0.000$). Inoltre, solo nel sottogruppo di pazienti asiatici si è evinta un'associazione tra rs1801133 ed il rischio di insorgenza di tossicità epatica severa nei modelli genetici codominante ($N_{\text{studi}}=3$; OR 3.15, 95% CI 1.30-7.60, $P=0.011$), dominante ($N_{\text{studi}}=3$; OR 2.11, 95% CI 1.06-4.21, $P=0.043$) e allelico ($N_{\text{studi}}=3$; OR 1.61, 95% CI 1.07-2.42, $P=0.024$). Infine, rs1801133 è risultato essere predittivo del rischio di tossicità renale nel modello eterozigote ($N_{\text{studi}}=4$; OR 2.63, 95% CI 1.31-5.29, $P=0.007$). Le analisi di sensibilità hanno dimostrato che le stime meta-analitiche non

sono variate dopo l'esclusione volta per volta di ciascuno dei singoli studi. Non è emersa evidenza di *bias* di pubblicazione.

Il presente lavoro rappresenta il primo studio di meta-analisi finalizzato a investigare il ruolo delle varianti MTHFR rs1801133 e rs1801131 come potenziali fattori genetici predittivi della tossicità indotta da alte dosi di MTX in pazienti affetti da osteosarcoma. Nonostante tali risultati siano incoraggianti, essi devono essere interpretati alla luce di alcune limitazioni, che includono: i) la ridotta dimensione campionaria su cui sono state calcolate le stime meta-analitiche, sia nella popolazione complessiva che nei sottogruppi analizzati; ii) gli studi primari qui inclusi hanno arruolato pazienti caucasici o asiatici: le conclusioni tratte non possono quindi essere estendibili a pazienti di etnie differenti; iii) dalle meta-analisi condotte è stata riscontrata un'eterogeneità statisticamente significativa tra gli studi: in molti casi, dato il numero limitato di studi inclusi, non è stato possibile identificarne le cause; iv) essendo state effettuate su un numero estremamente ridotto di studi, le analisi per l'identificazione di *bias* di pubblicazione non possono considerarsi robuste; v) nonostante gli Autori dichiarino che, secondo i criteri NOS, gli studi primari siano tutti di buona qualità, il non aver riportato nell'articolo i risultati della valutazione per ogni singolo studio rende poco esplicita al lettore la comprensione dei limiti e dei punti di forza degli stessi. Alla luce di quanto detto, i risultati qui ottenuti non possono essere considerati conclusivi.

La variante MTHFR rs1801133 è risultata essere associata a tossicità epatica, renale e mucositi di grado severo indotte da metotrexato somministrato ad alte dosi in pazienti affetti da osteosarcoma.

Parole chiave: MTHFR, metotrexato, osteosarcoma

Riferimento bibliografico

[Zhang W](#) et al. *Front Oncol* 2021,11:781386



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF.

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.

sif.informazione@sigr.it; sif.farmacologia@sigr.it.

SIF – FARMACOGENETICA

Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia

Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010 ISSN 2282-4758

https://www.sifweb.org/la_societ%C3%A0#Gruppi_di_lavoro

Direttore	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	Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale)

questo numero: Dott.ssa Francesca Gorini (Università di Bologna)
Dott.ssa Alessia Norbedo Università di Trieste)
Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari)
Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)
Dott.ssa Paola Rispoli (Università di Trieste)

Web Editor Dott. Federico Casale (Università di Torino)

Archivio SIF-Farmacogenetica
Edicola Virtuale SIF

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentativo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

La Società dichiara che i dati personali comunicati dall'utente sono trattati in conformità alle disposizioni del D. Lgs. 196/2003 ed alla normativa comunitaria secondo quanto indicato specificamente nell'informativa privacy reperibile sul sito internet della Società all'indirizzo https://sif-website.s3.amazonaws.com/uploads/attachment/file/240/Informativa_Privacy_SIF_Generica.pdf che l'utente, con la sottoscrizione del presente Contratto, dichiara di aver compiutamente visionato, compreso e accettato. Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.
