

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 1 – Novembre 2008**

---

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

---

**Sommario**

- LA TERAPIA GENICA PUO' CURARE LA DEGENERAZIONE RETINICA
- LA SERINA PROTEASI HtrA1 È UN NUOVO FATTORE PROGNOSTICO PER IL MESOTELIOMA UMANO
- RELAZIONE TRA OSTEONECROSI DELLA MANDIBOLA ASSOCIATA AL TRATTAMENTO CON BIFOSFONATI E POLIMORFISMI DEL CITOCROMO P450 CYP2C8 IN PAZIENTI CON MIELOMA MULTIPLO: UN'ANALISI GENOME-WIDE DI POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE
- UNA VARIANTE FUNZIONALE DEL RECETTORE PER LA SEROTONINA 5-HT1A INFLUENZA LA RISPOSTA DI PAZIENTI SCHIZOFRENICI AL TRATTAMENTO CON GLI ANTIPSICOTICI ATIPICI
- ARG1 È UN NUOVO GENE PREDITTIVO DELLA RISPOSTA AI BRONCODILATATORI. SCREENING E REPLICHE IN QUATTRO COORTI DI PAZIENTI ASMATICI
- POLIMORFISMI DIFFERENTI PREDISPONGONO ALLA COMPARSA DI ATROFIA E DI ACCUMULO DI GRASSO NELLA SINDROME LIPODISTROFICA ASSOCIATA A TERAPIA ANTIRETROVIRALE
- MUTAZIONE DI K-RAS E BENEFICI DA CETUXIMAB NEL CANCRO DEL COLON RETTO AVANZATO

---

**LA TERAPIA GENICA PUO' CURARE LA DEGENERAZIONE RETINICA**

A cura del Prof. Achille Caputi

La tecnica è stata impiegata con successo nei topi.

I ricercatori del *Massachusetts General Hospital* hanno utilizzato la terapia genica per ristabilire la piena vista nei topi con una degenerazione della retina, una comune causa di cecità negli esseri umani. È quanto riporta l'ultimo numero di *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Lo studio americano ha indagato gli effetti di due proteine sensibili alla luce che si trovano nella retina: la melanopsina e la canal-rodopsina-2. Le cellule retiniche ganglionali sono specializzate nel ricevimento dei segnali forniti dai coni e dai bastoncelli stimolati dalla luce e trasportano il segnale bioelettrico sino al cervello attraverso il nervo ottico. Il team di ricerca coordinato da *Richard Masland*, direttore del Laboratorio di Neurobiologia dell'Ospedale del Massachusetts, ha utilizzato per l'analisi un virus standard del raffreddore preventivamente reso innocuo: svuotato del suo contenuto genetico originale, è stato riempito con materiale genetico sano ed è stato iniettato nell'occhio. In questo modo si è trasportato il gene responsabile della produzione di melanopsina e della canal-rodopsina-2 attraverso la retina delle cavie da laboratorio, i cui fotorecettori erano andati incontro a degenerazione proprio a causa dell'assenza di questa proteina.

**Parole chiave:** terapia genica, degenerazione retinica, melanopsina, canal-rodopsina-2

**Riferimento bibliografico**

**Lin B** et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(41):16009-14.

---

**LA SERINA PROTEASI HtrA1 È UN NUOVO FATTORE PROGNOSTICO PER IL MESOTELIOMA UMANO**

A cura del Prof. Achille Caputi

L'HtrA1 è un mediatore endogeno in grado di predire la risposta alle attuali terapie chemioterapiche. Passi in avanti nella diagnosi e nella cura del mesotelioma, il tumore che colpisce prevalentemente le persone esposte all'amianto. Ricercatori dell'Istituto Regina Elena (IRE) e dell'Università di Napoli hanno di recente pubblicato su *'Pharmacogenomics'* uno studio in cui dimostrano la validità della proteina HtrA1 quale mediatore endogeno in grado di predire la risposta alle attuali terapie chemioterapiche. I risultati aprono ad ulteriori studi in vitro e in vivo per modificare prima possibile la storia naturale del tumore del mesotelioma. La diagnosi di mesotelioma nella maggior parte dei casi viene posta già in fase avanzata del tumore, i sintomi clinici quali tosse, dispnea, dolore toracico, versamento di liquido pleurico portano a successivi esami strumentali del torace e all'analisi istologica del tessuto tumorale, utile per confermare la diagnosi. L'approccio multidisciplinare, metodologia da tempo in uso presso l'Istituto Nazionale Tumori Regina Elena di Roma risulta ottimale, in particolare quando la malattia è allo stadio iniziale e si può prevedere anche un intervento chirurgico. La chemioterapia recentemente ha ottenuto risultati interessanti, grazie allo sviluppo di nuovi farmaci, in particolare il pemetrexed, appartenente alla classe degli antimetaboliti. Da solo o in associazione con il cisplatino, pemetrexed è diventato il farmaco standard nel caso di mesoteliomi in stadi avanzati, ma nonostante ciò rimane bassa la percentuale di sopravvivenza a dodici mesi dalla diagnosi. L'Istituto Regina Elena da diversi anni, anche in collaborazione con il gruppo di ricerca del prof. Alfonso Baldi, studia il ruolo nella biologia del cancro di una proteina essenziale alla vita: la serina proteasi umana HtrA1, presente sia nei batteri che negli uomini. I pochi dati in letteratura sulle funzioni di questa proteina negli organismi superiori indicano che i suoi livelli trascrizionali vengono modificati in situazioni patologiche sia di natura infiammatoria-degenerativa che neoplastica. Il gruppo di ricerca del prof. Baldi in collaborazione con l'Istituto dei tumori Regina Elena, è stato il primo a caratterizzare il ruolo di HtrA1 come oncosoppressore, in quanto l'elevata espressione di HtrA1 nelle cellule neoplastiche riduce la proliferazione e le capacità migratorie di tali cellule. Questa osservazione è stata poi confermata da diversi altri studi internazionali. In collaborazione con il *Cancer Center della Mayo Clinical di Rochester (USA)*, il prof. Baldi ha dimostrato in precedenza che HtrA1 agisce come mediatore endogeno dell'azione del cisplatino nelle cellule neoplastiche e che i livelli della sua espressione sono in grado di predire la risposta al trattamento con cisplatino nei tumori dell'ovaio e dello stomaco. Si è pertanto deciso di analizzare l'espressione di HtrA1 in un vasto gruppo di mesoteliomi trattati presso l'Istituto dei Tumori Regina Elena e la Seconda Università di Napoli e lo studio ha dimostrato che l'espressione di HtrA1 coincide in maniera significativa con la sopravvivenza dei pazienti: maggiore era l'espressione di HtrA1, maggiore era la sopravvivenza dei pazienti.

**Parole chiave:** HtrA1, mesotelioma, pemetrexed

**Riferimento bibliografico**

**Baldi A** et al. *Pharmacogenomics* 2008; 9 (8):1069-77.

---

**RELAZIONE TRA OSTEONECROSI DELLA MANDIBOLA ASSOCIATA AL TRATTAMENTO CON BIFOSFONATI E POLIMORFISMI DEL CITOCROMO P450 CYP2C8 IN PAZIENTI CON MIELOMA MULTIPLO: UN'ANALISI GENOME-WIDE DI POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE**

A cura del Dott. Dario Cattaneo

I bifosfonati rappresentano il trattamento d'elezione nelle patologie ossee secondarie a mieloma multiplo\*. Tuttavia, recenti evidenze cliniche hanno associato la terapia cronica con bifosfonati all'insorgenza di casi di osteonecrosi della mandibola. I meccanismi responsabili di tale complicazione non sono ad oggi del tutto

chiari. I fattori di rischio noti per l'osteonecrosi della mandibola includono le estrazioni dentarie, la terapia con talidomide e l'esposizione prolungata a bifosfonati. Non si può tuttavia escludere che, come per la maggior parte delle patologie complesse, l'insorgenza di tale malattia possa essere favorita sia da fattori ambientali che da un determinato background genetico.

L'obiettivo di questo studio *caso-controllo* è stato identificare varianti geniche potenzialmente associate alla comparsa di osteonecrosi della mandibola in pazienti con mieloma multiplo arruolati nel protocollo GEM-2000 (*Gruppo Espanol de Mieloma*), che prevedeva una polichemioterapia a base di bifosfonati e trapianto di cellule staminali autologhe.

Analizzando le caratteristiche dei 675 pazienti inclusi nel protocollo GEM-2000, sono stati identificati 22 *cas*i che hanno sviluppato osteonecrosi della mandibola e 65 *controlli* che presentavano caratteristiche cliniche e biologiche simili ai *cas*i senza però aver sviluppato necrosi ossea. I due gruppi di pazienti sono stati sottoposti ad un'analisi di screening *genome-wide* in grado di tipizzare contemporaneamente oltre 500,000 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) mediante l'utilizzo di microarrays (*Affymetrix GeneChip Mapping*). Le analisi di clustering tra *cas*i e *controlli* sono state eseguite utilizzando algoritmi BRLMM (*Bayesian Robust Linear Model with Mahalanobis distance classifier*). Le potenziali associazioni tra gli episodi di osteonecrosi della mandibola e i diversi SNPs sono state valutate mediante test  $\chi^2$  (o di Fisher) e corrette utilizzando il test di Bonferroni. Il grado di associazione è stato espresso come odds ratio (OR).

Durante un periodo di follow-up di 64 mesi, 24 pazienti dei 675 arruolati nel protocollo GEM-2000 e trattati con bifosfonati hanno sviluppato osteonecrosi della mandibola, con un'incidenza cumulativa pari al 5.6%. La sopravvivenza a 5 anni dei 22 *cas*i è risultata comparabile a quella dei 65 *controlli* (82% vs 87%).

Le analisi *genome-wide* hanno identificato 4 polimorfismi potenzialmente associati alla comparsa di osteonecrosi della mandibola (rs1934951, rs1934980, rs1341162 e rs17110453). Tutti e quattro gli SNPs si trovano sul cromosoma 10q23, nelle regioni introniche corrispondenti al gene che codifica per il citocromo 2C8 (*CYP2C8*). Di questi solo lo SNP in posizione rs1934951 (posizionato nell'introne 8) è risultato significativamente associato all'evento, con un OR pari a 12.75 (intervallo di confidenza: 3.7-43.5,  $p=1.07 \times 10^{-6}$ ). Tale associazione è risultata significativa anche dopo correzione mediante il test di Bonferroni ( $p=0.02$ ). L'allele T di questo polimorfismo è risultato presente con una maggiore frequenza nei *cas*i rispetto ai *controlli* (48% vs 12%). Il genotipo omozigote CC era più frequente nella popolazione dei *controlli* (75% vs 20%), mentre è interessante sottolineare che gli individui omozigoti per l'allele T erano presenti esclusivamente nei pazienti che hanno sviluppato osteonecrosi della mandibola (14% vs 0%).

In generale, i risultati di questo studio evidenziano una differenza significativa nella frequenza allelica tra *cas*i e *controlli*, specialmente per il polimorfismo in posizione rs1934951 (introne 8) del gene *CYP2C8* (e in misura minore anche per altri varianti alleliche dello stesso gene). Anche se tutti questi SNPs si trovano in regioni introniche (non codificanti), è oggi noto che i polimorfismi intronici possono comunque influenzare l'attività e l'espressione di un dato gene interferendo con i siti promotori e/o quelli di splicing, oppure agendo sui microRNA.

Meno spiegabile risulta invece l'associazione tra la presenza di SNPs sul *CYP2C8* e la comparsa di un effetto collaterale ascrivibile al trattamento con bifosfonati, come la comparsa di osteonecrosi della mandibola. Infatti, anche se è stato documentato che la presenza di polimorfismi sul gene *CYP2C8* è in grado di influenzare la farmacocinetica e la risposta (in termini sia di efficacia che di safety) di alcuni farmaci metabolizzati da questo enzima (come il paclitaxel, la cerivastatina e la repaglinide), non è chiaro quale possa essere il legame tra questo enzima e i bifosfonati, considerando che il *CYP2C8* non è coinvolto nel metabolismo di questi farmaci, che vengono eliminati senza subire modificazioni chimiche di tipo metabolico.

Il *CYP2C8* è un enzima rilevante nel metabolismo dell'acido arachidonico, favorendone la conversione ad acidi epossieicosatrienoici, che giocano un ruolo importante nella regolazione del tono vascolare e dell'omeostasi cardiovascolare. È stato quindi ipotizzato che l'alterazione nel metabolismo dell'acido arachidonico mediata dalla presenza di varianti alleliche di *CYP2C8* potrebbe favorire lo sviluppo di osteonecrosi della mandibola influenzando i processi di vascolarizzazione. Inoltre, considerato che *CYP2C8* entra in gioco anche nella via biochimica del mevalonato – un precursore del colesterolo che sembra essere coinvolto nel processo di differenziazione degli osteoblasti – come ipotesi alternativa è stato suggerito che l'alterazione (su base genetica) della via biochimica del mevalonato potrebbe influenzare l'equilibrio dinamico tra i processi di formazione e distruzione/riassorbimento osseo mediati da osteoclasti e osteoblasti,

predisponendo allo sviluppo di osteonecrosi in aree come la mascella e la mandibola che sono caratterizzate da un elevato rimodellamento osseo.

Questo è il primo studio in cui sono stati analizzati oltre mezzo milione di SNPs in pazienti con mieloma multiplo con lo scopo di identificare il possibile contributo genetico nella patogenesi dell'osteonecrosi della mandibola dopo trattamento cronico con bifosfonati. Uno SNP nella regione intronica 8 del gene CYP2C8 (rs1934951) è risultato significativamente associato con la comparsa dell'evento.

Alla luce di questi risultati, lo screening di questo polimorfismo potrebbe permettere l'identificazione precoce dei pazienti a rischio elevato di sviluppare osteonecrosi della mandibola dopo trattamento con bifosfonati, indirizzando tali pazienti verso terapie alternative e/o misure preventive. Tali risultati richiedono, tuttavia, conferma in popolazioni indipendenti di soggetti.

#### Conflitto di interesse

Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse. Lo studio è stato supportato in parte dalla *Spanish Fondo de Investigaciones Sanitarias*

#### Note

\*Per la prescrizione dei bifosfonati a carico del SSN Italiano si vedano le Note AIFA n°42 e n°79.

#### Parole chiave

Bifosfonati, osteonecrosi della mandibola, CYP2C8

#### Riferimento bibliografico

[Sarasquete ME](#) et al. *Blood*. 2008; 112: 2709-12.

---

## UNA VARIANTE FUNZIONALE DEL RECETTORE PER LA SEROTONINA 5-HT1A INFLUENZA LA RISPOSTA DI PAZIENTI SCHIZOFRENICI AL TRATTAMENTO CON GLI ANTIPSICOTICI ATIPICI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

E' stato postulato che una riduzione dei recettori 5-HT1A nell'amigdala correla con l'aumento dei sintomi negativi nella schizofrenia. Gli autori del presente studio hanno quindi ipotizzato un coinvolgimento della variante funzionale C-1019G del recettore 5-HT1A nella risposta clinica di pazienti schizofrenici al trattamento con gli antipsicotici atipici.

Gli autori hanno condotto un primo studio prospettico multicentrico, randomizzato in doppio cieco, su 68 pazienti schizofrenici trattati per 4 settimane con risperidone oppure con aloperidolo (intervallo della dose per entrambi i farmaci: 2-8 mg/giorno). Per valutare l'efficacia del trattamento è stata utilizzata la scala Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) che valuta i sintomi positivi (es. allucinazioni, deliri), i sintomi negativi (es. apatia, tendenza all'isolamento, attenuazione dell'affettività, impoverimento dell'eloquio) e quelli non specifici (psicopatologici). I risultati indicano che il polimorfismo C-1019G del gene 5-HT1A influenza la risposta al risperidone. I pazienti con genotipo GG presentano un miglioramento dei sintomi negativi (1.22 punti) inferiore rispetto ai pazienti portatori dell'allele C (4.38 punti) (P=0.046). Non si sono invece osservate differenze significative nei pazienti trattati con aloperidolo per i sintomi negativi (6.0 punti per i pazienti con genotipo GG vs 4.0 punti per i portatori dell'allele C).

Per confermare questi risultati, gli autori hanno quindi condotto un secondo studio comprendente un campione indipendente di 130 pazienti schizofrenici. Gli antipsicotici atipici utilizzati comprendevano olanzapina (n=59), amisulpride (n=47), clozapina (n=16), quetiapina (n=15), risperidone (n=13), ziprasidone (n=9), aripiprazolo (n=5), bifeprunox (n=3) e iloperidone (n=1). Alcuni pazienti sono stati trattati con più di un antipsicotico atipico. Questo secondo studio conferma che il polimorfismo C-1019G del gene 5-HT1A influenza la risposta agli antipsicotici. Se per ciascun paziente si calcola la differenza di punteggio nella sottoscala dei sintomi negativi nelle prime 4 settimane, i pazienti con genotipo GG presentano un miglioramento dei sintomi negativi (2.81 punti) inferiore rispetto a quello ottenuto nei portatori dell'allele C

(4.99 punti) ( $F=9.400$ ;  $P=0.003$ ). Le differenze rimangono significative anche quando i tre genotipi vengono analizzati separatamente ( $F=4.664$ ,  $P=0.011$ ).

Oltre ai sintomi negativi, il genotipo CC sembra correlare anche con un miglioramento nei sintomi positivi. Infatti, mentre nel primo studio (randomizzato), i punteggi ottenuti nella sottoscala dei sintomi positivi, in quella della psicopatologia generale e la PANSS totale, non indicava differenze significative, nello studio di conferma invece, i pazienti con genotipo GG ( $6.48 \pm 2.36$ ) mostravano un miglioramento dei sintomi positivi inferiore rispetto ai pazienti CG ( $9.36 \pm 6.40$ ) e CC ( $8.03 \pm 4.69$ ) ( $F=3.250$ ;  $P=0.042$ ). Analogo effetto si otteneva per il punteggio alla scala PANSS totale ( $F=3.868$ ;  $P=0.023$ ). Per il punteggio di psicopatologia generale, la risposta dei pazienti CC (10.25 punti) e CG (10.78 punti) risulta ancora una volta superiore a quella dei pazienti con genotipo GG (6.48) ma solamente quando si combinano i genotipi CG e CC ( $F=4.400$ ;  $P=0.038$ ).

Altri due studi hanno recentemente studiato l'influenza del polimorfismo C-1019G del gene 5-HT1A sulla risposta al trattamento con antipsicotici, con risultati simili al presente studio. Il primo era stato condotto su pazienti psicotici. I risultati di questo studio hanno mostrato che in seguito al trattamento con antipsicotici atipici i pazienti con genotipo CC presentano un miglioramento maggiore. Analoghi risultati sono stati ottenuti da uno studio cinese in pazienti schizofrenici trattati con risperidone. In entrambi gli studi l'effetto del polimorfismo sul miglioramento dei sintomi positivi risulta meno pronunciata rispetto ai sintomi negativi.

In conclusione, nel presente studio gli autori hanno mostrato in due gruppi di pazienti schizofrenici indipendenti che la variante funzionale C-1019G del gene 5-HT1A influenza la risposta di pazienti schizofrenici al trattamento con gli antipsicotici atipici. I risultati sinora riportati in letteratura confermano un ruolo farmacogenetico del recettore 5-HT1A.

**Parole chiave:** antipsicotici atipici, schizofrenia, sintomi negativi, recettore la serotonina 5-HT1A.

#### Riferimento bibliografico

[Mössner R](#) et al. *Pharmacogenet Genomics*. 2008 Oct 9. [Epub ahead of print].

---

## ARG1 È UN NUOVO GENE PREDITTIVO DELLA RISPOSTA AI BRONCODILATATORI. SCREENING E REPLICHE IN QUATTRO COORTI DI PAZIENTI ASMATICI

A cura del Prof. Diego Fornasari

L'asma è una malattia infiammatoria cronica delle vie aeree, caratterizzata da ostruzione reversibile e aumentata reattività agli stimoli broncoconstrictori.

I beta-2-agonisti costituiscono la classe di farmaci più diffusamente impiegata nel trattamento farmacologico dell'asma. Tuttavia, la risposta clinica è spesso variabile ed una consistente parte di asmatici non raggiunge un controllo soddisfacente della patologia con l'uso di questi farmaci. Si ritiene che una proporzione sostanziale di queste risposte terapeutiche parziali abbia basi genetiche e gli studi farmacogenetici sull'asma hanno effettivamente portato all'identificazione di polimorfismi in un numero limitato di geni, che sembrerebbero contribuire alla determinazione di queste risposte. Tuttavia l'asma è una patologia complessa e la risposta terapeutica ai beta2-agonisti assunti per via inalatoria costituisce essa stessa un fenotipo complesso al quale verosimilmente contribuiscono numerosi geni.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di identificare nuovi geni coinvolti nella risposta ai broncodilatatori.

Gli Autori hanno scelto un approccio a “gene-candidato”, studiando inizialmente 111 geni selezionati sulla base di diversi criteri tra i quali quelli di essere geni codificanti per componenti del *signaling* e della regolazione dei recettori beta2-adrenegici o per componenti della sintesi del metabolismo e della risposta ai glucocorticoidi. Da database pubblici venivano selezionati 844 SNPs localizzati negli esoni e nei promotori dei geni considerati, in parte validati dagli Autori stessi mediante sequenziamento. Il primo *screening* veniva effettuato su una coorte di pazienti appartenenti al gruppo placebo dello studio CAMP, *Childhood Asthma Management Program* (*Childhood Asthma Management Program Research Group N Engl J Med* 2000; 343: 1054-1063), in particolare 209 bambini affetti da asma.

Nello studio CAMP erano state effettuate 11 misurazioni della BDR (*bronchodilator response*), nell'arco di quattro anni (durata dello studio). La BDR nello studio CAMP era definita come la differenza percentuale nella FEV<sub>1</sub>, prima e dopo lo stimolo broncodilatatorio. L'*end point* primario di questo primo *screening* era pertanto associare i valori di BDR con un numero ristretto di geni che ne potessero influenzare l'andamento. A tale scopo è stato utilizzato un nuovo algoritmo nell'ambito di un *Family Based Association Testing* (Van Steen K et al. *Nat Genet* 2005; 37: 683-691) disegnato per studi di associazione nell'ambito di famiglie. In questa analisi i singoli polimorfismi venivano ordinati sulla base del loro specifico potere statistico in relazione all'associazione con la BDR da quello con maggiore a quello con minore potere, indipendentemente dal gene di appartenenza. Successivamente tutti i polimorfismi appartenenti allo stesso gene venivano considerati insieme per calcolarne il potere statistico mediano. I geni i cui polimorfismi avevano un potere statistico mediano nel quartile più elevato venivano selezionati per studi di replica in tre coorti diverse.

Il primo *screening* ha portato all'identificazione di 17 geni associati in maniera statisticamente significativa alla BDR. I 99 SNP contenuti nei 17 geni venivano analizzati in una coorte di 432 soggetti adulti di razza bianca che avevano partecipato ad un trial clinico per la valutazione di un farmaco, genericamente definita coorte “*Asthma trial*”. Questa prima analisi di replica portava all'identificazione di 9 geni, contenenti almeno uno SNP associato alla BDR. I 66 SNP presenti in questi 9 geni venivano analizzati in 2 coorti parallele di pazienti appartenenti a 2 *trials* clinici condotti dall'*American Lung Association Asthma Clinical Research Centers*: LOCCS e LODO. Le due analisi di replica relative a 166 e 155 pazienti rispettivamente, evidenziavano l'associazione di 3 SNPs localizzati nel gene dell'Arginasi 1. Questo dato veniva confermato analizzando l'effetto dei 3 SNPs sulla grandezza della BDR in ciascuna delle 3 coorti utilizzate nelle repliche. In particolare, la presenza dell'allele minoritario era associata ad una ridotta BDR rispetto a quella misurata negli omozigoti portatori dell'allele più frequente. I 3 polimorfismi sono localizzati nel promotore del gene *ARG1* e, verosimilmente, potrebbero incrementare il livello di espressione dell'allele minoritario, sebbene questa ipotesi debba essere dimostrata direttamente.

Il gene *ARG1* codifica per una isoforma dell'enzima arginasi, che metabolizza la l-arginina. L'omeostasi dell'arginina è coinvolta nella regolazione della funzione delle vie aeree perché la disponibilità di questo aminoacido per l'enzima NO sintasi (NOS) determina la produzione da parte delle fibre NANC del sistema nervoso autonomo dell'ossido nitrico (NO), un potente broncodilatatore. I livelli intracellulari di arginina dipendono da almeno tre distinti meccanismi: la captazione cellulare da parte degli specifici trasportatori per aminoacidi, il riciclo della l-citrullina e il metabolismo da parte della NOS e dell'arginasi. Una abnorme espressione di arginasi, come quella che potrebbe verificarsi per la presenza di polimorfismi nella regione regolatoria del gene, potrebbe diminuire le disponibilità di arginina per l'enzima NOS, causando iperreattività e scarsa risposta ai broncodilatatori da parte delle vie aeree. Una aumentata espressione di arginasi1 è già stata riportata in modelli sperimentali di asma ed anche in cellule provenienti da lavaggi bronco-alveolari di pazienti asmatici.

Lo studio identifica il gene *ARG1* come un gene potenzialmente coinvolto nella risposta ai beta2-agonisti. Di particolare interesse per i bioinformatici e gli statistici è la strategia impiegata per ottenere questo risultato, utilizzando un numero limitato di soggetti ed un numero elevato di polimorfismi. Infine, è opportuno sottolineare che il presente studio si è interamente fondato sul riutilizzo di campioni di DNA originariamente ottenuti per lo svolgimento di quattro studi aventi scopi diversi, sebbene ovviamente correlati, previo consenso informato ottenuto nei singoli studi per l'utilizzo successivo dei campioni in studi genetici ancillari. I dati clinici utilizzati, con particolare riferimento alla BDR, erano quelli acquisiti nei quattro studi precedenti.

**Parole chiave:** ARG1, beta2-agonisti, asma

#### Riferimento bibliografico

[Litonjua AA](#) et al. *Am J Respir Crit Care Med* 2008, 178: 688-694.

## **POLIMORFISMI DIFFERENTI PREDISPONGONO ALLA COMPARSA DI ATROFIA E DI ACCUMULO DI GRASSO NELLA SINDROME LIPODISTROFICA ASSOCIATA A TERAPIA ANTIRETROVIRALE**

A cura della Dott.ssa Cristina Tonello

La terapia dell'infezione da HIV negli ultimi anni è stata profondamente modificata a seguito del miglioramento delle conoscenze teoriche sulla patogenesi dell'infezione e grazie alla disponibilità di nuovi agenti antiretrovirali.

L'associazione in combinazione di inibitori nucleosidici/nucleotidici e non nucleosidici della trascrittasi inversa e/o degli inibitori della proteasi (*Highly Active Antiretroviral Therapy*, HAART), è in grado di sopprimere significativamente la replicazione di HIV, portando ad un aumento della sopravvivenza dei pazienti con AIDS e allungando la durata del periodo libero da malattia.

A dispetto di tali innegabili benefici clinici, le attuali terapie antiretrovirali sono associate a pesanti e imprevisi effetti collaterali, tra i quali la comparsa della cosiddetta “Sindrome Lipodistrofica”, caratterizzata dalla riduzione del tessuto adiposo periferico del volto e degli arti e/o dall'accumulo di grasso a livello addominale e dorso-cervicale, talora accompagnato da alterazioni del metabolismo lipidico e da insulino-resistenza.

L'elevata incidenza e gravità di questa forma clinica hanno condizionato pesantemente le linee guida sulla terapia dell'infezione da HIV: in particolare si temono le conseguenze che la sindrome da ridistribuzione del tessuto adiposo corporeo può portare sul piano psicologico e sulla qualità della vita. La preoccupazione dei clinici deriva oltre che da un rischio di non aderenza alla terapia da parte del paziente, anche da un modesto ma costante aumento di eventi cardiovascolari relativo alla durata della terapia. Si ritiene che il meccanismo dipenda da un'interferenza farmacologica a livello molecolare, ma la variabilità interindividuale e la diversa gravità dei quadri osservati suggeriscono un livello di predisposizione genetica nella patogenesi di tale sindrome.

Obiettivo dello studio qui descritto era valutare se i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nei geni coinvolti nel metabolismo dei lipidi e/o nell'apoptosi possano contribuire a spiegare le variazioni interindividuali che si osservano nella comparsa di tali alterazioni metaboliche e morfologiche in seguito ad HAART.

Lo studio valuta l'influenza di tali polimorfismi nella comparsa della lipodistrofia associata ad HAART in 255 pazienti che appartengono allo studio ICoNa (*Italian Cohort of Antiretroviral-Naive Patients*). Tale sottostudio è stato denominato LipoICoNa. In particolare gli SNPs analizzati sono: la variante A/G in posizione -670 a livello del promotore del gene Fas, le varianti T/C e C/T rispettivamente in posizione -455 e -482 a livello del promotore del gene ApoC3, lo SNP silente C/T in posizione 161 nel sesto esone di PPARGgamma, il polimorfismo Trp64Arg del recettore beta3-adrenergico e le due varianti Arg16Gly e Gln27Glu localizzate nel gene del recettore beta2-adrenergico. Un aumento dei livelli di ApoC3 è stato in passato correlato ai segni clinici della lipoatrofia, per cui è ipotizzato da parte degli autori che determinate varianti alleliche a livello del promotore riducendo e/o aumentando la trascrizione del gene di ApoC3, sarebbero alla base della comparsa della sindrome. CD95/Fas è coinvolto nell'induzione dell'apoptosi in una grande varietà di cellule, inclusi gli adipociti. Il polimorfismo Fas -670 A/G è localizzato nella regione del promotore e determina una più bassa espressione del gene e conseguentemente una limitazione dell'apoptosi e quindi una protezione contro la comparsa di lipoatrofia. Il polimorfismo Trp64Arg del recettore beta3-adrenergico è stato associato con un accelerato guadagno di peso e con una più precoce comparsa di diabete mellito. Per quanto riguarda il recettore adrenergico beta2 è stato descritto che il polimorfismo Arg16Gly è associato con una alterata funzione del recettore in quanto i portatori di Gly hanno una sensibilità cinque volte maggiore agli agonisti. Al contrario l'allele Glu27 della variante Gln27Glu porta ad un aumento del rischio di obesità, BMI maggiore, dimensione maggiore delle cellule adipose, dislipidemia e diabete mellito. I partecipanti sono stati arruolati tra il settembre 1999 e il marzo 2000. Erano esclusi dallo studio LipoICoNa i pazienti con: diagnosi di AIDS precedente, demenza o dimagrimento estremo da AIDS. I medici dei 34 centri coinvolti hanno raccolto i dati ogni 6 mesi riportando qualsiasi alterazione del tessuto adiposo e le analisi di laboratorio dei livelli lipidici. La lipoatrofia era definita come la perdita di grasso a livello di volto, arti e glutei, mentre l'accumulo di grasso da almeno una delle seguenti alterazioni: gobba di bufalo, lipoma, accumulo anomalo di adipe a livello di seno, addome o collo.

La distribuzione dei differenti genotipi nella popolazione studiata era del tutto sovrapponibile a quella dei soggetti sani riportata dalla letteratura, supportando l'omogeneità e l'affidabilità del gruppo preso in considerazione.

Confermando i dati della letteratura gli autori mostrano un rischio maggiore di sviluppare lipoatrofia per le donne rispetto agli uomini e per chi è sottoposto a una terapia comprendente d4T piuttosto che ZDV.

Considerando i diversi polimorfismi le analisi hanno identificato una forte associazione tra la comparsa di lipoatrofia e la presenza di queste varianti: ApoC3 -455 CT/TT, beta3-AR TC/CC e Fas 670 AA.

Gli autori confermano in questo lavoro che l'età, il sesso femminile e l'uso di inibitori delle proteasi sono significativamente correlati all'accumulo di tessuto adiposo. E' interessante notare che nessuno dei geni coinvolti nella lipoatrofia sono correlati alla comparsa di accumulo di grasso; al contrario gli autori trovano una forte correlazione con due genotipi del recettore beta2-adrenergico: il genotipo AA al codone 16 e il genotipo CC al codone 27 sono rispettivamente associati ad un rischio maggiore e minore di sviluppare accumulo anomalo di tessuto adiposo.

Il lavoro presenta due limitazioni riconosciute dagli stessi autori: da una parte la popolazione studiata è rappresentativa di un periodo di tempo di inizio terapia (1997-1998) nel quale ovviamente le scelte terapeutiche erano differenti da quelle attuali e dall'altra la numerosità relativamente bassa.

In conclusione questo lavoro suggerisce che alcuni polimorfismi dei geni coinvolti nell'apoptosi e nel metabolismo degli adipociti sono significativamente correlati alla lipodistrofia che si sviluppa in seguito a terapia antiretrovirale combinata. In particolare gli autori evidenziano il ruolo della variante -455CT/TT di ApoC3 nella comparsa di lipoatrofia e di due genotipi del recettore beta2-adrenergico nell'accumulo di tessuto adiposo.

**Conflitto di interesse:** gli autori non dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da industrie farmaceutiche

**Parole chiave:** lipodistrofia, terapia antiretrovirale, apoptosi, metabolismo lipidico

#### Riferimento bibliografico

[Zanone Poma B](#) et al. AIDS 2008, 22(14):1769-78.

---

## MUTAZIONE DI K-RAS E BENEFICI DA CETUXIMAB NEL CANCRO DEL COLON RETTO AVANZATO

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Il trattamento con cetuximab\*, anticorpo monoclonale contro il recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR), migliora la sopravvivenza totale (OS) e la sopravvivenza libera da progressione (PFS) e preserva la qualità di vita di pazienti con cancro del colon retto che non hanno risposto alla chemioterapia. La resistenza al cetuximab è comune: alla prima valutazione della risposta della malattia, il tumore è progredito in più del 50% dei pazienti trattati.

*K-ras*, piccola proteina G, componente essenziale della cascata di segnale attivata da EGFR, può acquisire mutazioni nell'esone 2, rendendo gli inibitori di EGFR inefficaci.

Obiettivo dello studio è determinare se mutazioni di *K-ras* modificano l'effetto del cetuximab sull' OS e sul PFS nel *trial* CO.17 (Jonker DJ et al. *New Engl J Med* 2007, 357: 2040-8).

Obiettivo primario di questo studio di fase III è stato esaminare gli effetti del cetuximab sulla sopravvivenza di pazienti con tumore avanzato del colon retto in cui la chemioterapia è fallita e per i quali nessun'altra terapia standard era disponibile (vedi [SIF-Farmaci in evidenza, n° 4 del 15 dicembre 2007](#)).

I pazienti (n=572, 63,2 anni), arruolati tra dicembre 2003 e agosto 2005, non precedentemente trattati con farmaci diretti verso l'EGFR, sono stati assegnati al gruppo cetuximab più terapia di supporto (n=287) o al gruppo solo terapia di supporto (n=285).

Il giorno 1 è stata somministrata una dose di carico di cetuximab (400mg/m<sup>2</sup>, infusione 120 minuti), seguita da un'infusione (60minuti) di 250mg/m<sup>2</sup> una volta alla settimana. Ogni 8 settimane è stata valutata la risposta

e la progressione del tumore. La terapia con cetuximab è proseguita fino a progressione della malattia o fino a quando i pazienti non tolleravano più gli effetti tossici.

Sono stati analizzati 394 campioni (68,9% dell'intera popolazione, 198 del gruppo cetuximab, 196 del gruppo terapia di supporto): mutazioni di *K-ras* sono state determinate nel 40,9% dei campioni nel gruppo cetuximab e nel 42,3% del gruppo terapia di supporto, con caratteristiche basali simili.

L'efficacia del cetuximab è significativamente associata con mutazioni di *K-ras* ( $p=0,01$  e  $p<0,001$  per l'interazione tra mutazioni di *K-ras* e OS e PFS rispettivamente). Nei pazienti con tumori con gene *K-ras wild-type*, il cetuximab, rispetto alla terapia di supporto, ha migliorato significativamente l' OS (9,5 vs 4,8 mesi, HR per morte 0,55, 95% CI 0,41 – 0,74,  $p < 0,001$ ) e il PFS (3,7 vs 1,9 mesi, HR per progressione o morte 0,40, 95% CI 0,30 – 0,54,  $p < 0,001$ ). Tra i pazienti con tumori con gene *K-ras* mutato, non ci sono differenze significative tra il gruppo cetuximab e il gruppo terapia di supporto, né per l'OS (4,5 vs 4,6 mesi, HR 0,98, 95% CI 0,70 – 1,37,  $p = 0,89$ ) né per il PFS (1,8 mesi per entrambi i gruppi, HR 0,99, 95% CI 0,73 – 1,35,  $p = 0,96$ ). La differenza rimane significativa dopo aggiustamento per fattori prognostici potenziali, specificati nel protocollo. L'effetto del cetuximab sul PFS è significativamente maggiore nei pazienti con *k-ras* non mutata ( $p=0,01$ ).

Nessuno dei pazienti del gruppo terapia di supporto ha una risposta oggettiva del tumore, mentre nei pazienti del gruppo cetuximab con tumori con gene *K-ras* non mutato la frequenza di risposta è stata 12,8% vs 1,2% nei pazienti con tumore con *K-ras* mutato. La frequenza di rash durante o entro 30 giorni dalla fine del trattamento con cetuximab è stata significativamente più alta nei pazienti con *K-ras* non mutato (94,8% vs 84,0%,  $p=0,02$ ).

Tra i pazienti con *K-ras* non mutato, quelli trattati con cetuximab hanno avuto un miglioramento nello stato globale di salute a 8 settimane, mentre è stato osservato un peggioramento tra quelli nel gruppo terapia di supporto (variazione media nel punteggio 3,2 vs 7,7 punti,  $p=0,002$ ); tra i pazienti con *K-ras* mutato, non vi sono differenze significative tra i due gruppi.

Nel gruppo terapia di supporto, l'OS e il PFS non sono differiscono in presenza o meno di mutazioni di *K-ras*.

In conclusione, il trattamento con cetuximab, relativamente costoso, potrebbe aver un miglior rapporto costo-efficacia se effettuato su pazienti con una più alta possibilità di trarne benefici; questo studio identifica un *biomarker* che potrebbe escludere una porzione significativa di pazienti con tumore del colon retto, ossia quelli con mutazioni di *K-ras*, dal ricevere una terapia con limitata possibilità di benefici.

Tuttavia, ci sono pazienti con tumori con gene *K-ras wild-type* che non rispondono al cetuximab e nei quali il tumore progredisce rapidamente. E' quindi necessario individuare ulteriori *biomarker*, attendibili e facilmente misurabili, per migliorare l'identificazione di pazienti che potranno beneficiare della terapia con cetuximab.

L'editoriale di accompagnamento, a cura di Messersmith WA e Ahnen DJ, sottolinea come questo studio abbia implicazioni sia biologiche che cliniche. La mancanza di efficacia dell'inibizione di EGFR in pazienti con tumori con mutazioni di *K-ras* sottolinea la rilevanza biologica della via delle MAPK nella cascata del segnale di EGFR nella carcinogenesi; altre mutazioni che attivano la via delle MAPK nel tumore del colon retto potrebbero limitare l'efficacia della terapia anti-EGFR. Circa il 15% dei tumori del colon retto hanno mutazioni nella chinasi *BRAF (B-type Raf)*, gene che codifica per una chinasi a valle di *K-ras* nella via delle MAPK. E' possibile che tumori del colon retto con mutazioni di *BRAF* possano non rispondere alla terapia con anti-EGFR e potrebbero quindi rispondere a inibitori di chinasi che bloccano la via di segnale delle MAPK a valle di *K-ras* e *BRAF*. Gli editorialisti ricordano come l'EMEA abbia approvato il panitumumab\*\* solo per il trattamento di pazienti con tumori con *K-ras wild-type*: è il primo esempio di approvazione di un farmaco per tumori solidi basato su test genetici.

Ulteriori studi permetteranno di identificare altri marker per identificare pazienti che possano beneficiare di anticorpi contro EGFR e altri target e strategie, anche di combinazione, per superare la resistenza a questi farmaci.

\* **Nota 1** - le indicazioni terapeutiche del cetuximab, approvate dall'EMEA, sono state recentemente modificate: il cetuximab è indicato per il trattamento di pazienti affetti da carcinoma metastatico del colon-retto con espressione del recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR) e con gene KRAS non mutato (*wild-type*)(30 maggio 2008), in

combinazione con chemioterapia o in monoterapia nei pazienti nei quali sia fallita la terapia a base di oxaliplatino e irinotecan e che siano intolleranti a irinotecan. Il cetuximab è inoltre indicato per il trattamento di pazienti con carcinoma a cellule squamose di testa e collo localmente avanzato in associazione alla radioterapia o in associazione con chemioterapia a base di platino in carcinoma ricorrente e/o metastatico (23 ottobre 2008).

\*\* **Nota 2** – il panitimumab, autorizzato dall’EMEA il 3 dicembre 2007, non in commercio in Italia, è indicato come monoterapia per il trattamento di pazienti con carcinoma coloretale metastatico esprimenti il recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR) dopo fallimento di regimi chemioterapici contenenti fluoropirimidine, oxaliplatino e irinotecan, nel caso in cui i tumori presentino il gene *KRAS* (Kirsten sarcoma 2 viral oncogene homologue) non mutato (*wild-type*).

**Conflitto di interesse:** gli autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da diverse ditte farmaceutiche

**Parole chiave:** cetuximab, *K-ras*, tumore del colon retto

**Riferimento bibliografico**

[Karapetis CS](#) et al. *N Engl J Med.* 2008, 359(17): 1757-65

Messersmith WA & Ahnen DJ. *N Engl J Med.* 2008, 359(17): 1834-36.

---

**Gruppo di Lavoro SIF sulla Farmacogenetica**

[http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen.php](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php)

**Newsletter n°1 – Novembre 2008**

[http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen\\_newsletters.php](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen_newsletters.php)