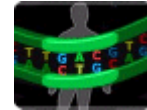


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 11 - Ottobre 2009**

---

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

---

## Sommario

- Variazioni genetiche a carico del gene IL28B predicono la risposta virologica sostenuta indotta dal trattamento dell'epatite C
- Influenza di polimorfismi nei geni CYP3A4 e ABCB1 sul rischio di riduzione della dose di statina oppure di *switch* terapeutico in pazienti in terapia anticolesterolemica con simvastatina o atorvastatina
- Impatto del polimorfismo Pro12Ala nel gene *PPAR-γ2* e della terapia con ACE inibitori sull'insorgenza di microalbuminuria nel diabete di tipo 2: evidenze dallo studio BENEDICT (*BErgamo NEphrologic DIabetic Complications Trial*)
- *Outcome* di pazienti con tumore alla mammella in stadio iniziale trattati con chemioterapia adiuvante basata su doxorubicina in funzione dello stato di HER2 e TOP2A
- Approccio farmacogenetico *multi gene candidate* per predire efficacia e resistenza ad Imatinib in pazienti affetti da leucemia mieloide cronica

---

## VARIAZIONI GENETICHE A CARICO DEL GENE IL28B PREDICONO LA RISPOSTA VIROLOGICA SOSTENUTA INDOTTA DAL TRATTAMENTO DELL'EPATITE C

A cura delle Dott.sse Cristina Tonello e Greta Milani

L'epatite C è un'infezione del fegato causata dal *Hepatitis C Virus*, denominato HCV. Prima dell'identificazione del virus, avvenuta nel 1989, l'epatite C era definita come "non A non B".

L'HCV attacca preferenzialmente il fegato, attraverso l'attivazione del sistema immunitario dell'ospite, provocando danni strutturali e funzionali anche molto gravi. Nello specifico l'infezione causa la morte delle cellule epatiche (necrosi epatica), che vengono sostituite da un nuovo tessuto di riparazione-cicatizzazione, provocando la fibrosi epatica. Progressivamente, questo tessuto di cicatrizzazione sostituisce tutta o quasi la componente sana del fegato, portando ad una grave compromissione delle sue attività fino alla cirrosi epatica. Una volta penetrato nel fegato, il virus causa una epatite acuta che però, nella maggior parte dei casi, è asintomatica. Ciò fa sì che la malattia possa divenire cronica (nell'80% dei casi) senza che il paziente se ne accorga e possa quindi curarla precocemente. Si stima che su 100 persone infettate dal virus HCV solamente il 15% non sviluppa alcuna patologia cronica liberandosi dal virus grazie al proprio sistema immunitario, il restante 85% sviluppa forme croniche della malattia con complicanze che evolvono in cirrosi epatica e in carcinoma epato-cellulare. Generalmente i danni al fegato non si presentano se non dopo 10-30 anni dall'infezione.

L'infezione cronica con HCV colpisce 170 milioni di persone in tutto il mondo ed è la principale causa di cirrosi nel nord America.

Il trattamento dell'epatite C cronica che offre i maggiori vantaggi è rappresentato da un ciclo di 24-48 settimane di Peg-Interferone-alfa-2a (PegIFN- $\alpha$ -2a) e ribavirina (RBV). I pazienti infetti da HCV di genotipo 2 o 3 hanno probabilità 2-3 volte maggiore di rispondere alla terapia a base di Interferone rispetto a coloro

che sono infettati dal genotipo 1. Il Peg-Interferone è un interferone alfa modificato chimicamente con una catena di polietilen-glicole (PEG), che permette di allungare l'emivita, consentendo una somministrazione settimanale anziché a giorni alterni.

Il Peg-Interferone è più attivo dell'interferone standard nell'inibire il virus HCV, con percentuali di risposta sostenuta più alte ed un profilo di tollerabilità simile.

RBV è un farmaco antivirale con attività contro numerosi virus; la sola ribavirina ha scarso effetto nei confronti del virus HCV, ma associata all'interferone aumenta la percentuale di risposta virologica sostenuta di 2-3 volte. La terapia combinata PegIFN- $\alpha$ -2a e RBV presenta tutti i comuni effetti collaterali dell'interferone, quali disturbi respiratori (tosse, dispnea, sintomi influenzali), cutanei (rash, prurito), astenia, nausea e anoressia, insonnia e alterazioni dell'equilibrio tiroideo. L'effetto collaterale più importante e più preoccupante attribuibile alla RBV è quello di una anemia emolitica e la teratogenicità.

È, perciò, prioritario identificare i fattori determinanti della risposta al trattamento: lo studio riporta un polimorfismo genetico nelle vicinanze del gene IL28B, che codifica per l'interferone- $\lambda$ -3 (IFN- $\lambda$ -3) associato con la risposta al trattamento in pazienti di origine ancestrale europea ed afro-americana.

Mediante uno studio *genome-wide* di oltre 1600 pazienti, arruolati nello studio IDEAL (Duke University, North Carolina, USA) e di 67 pazienti provenienti da un altro studio prospettico (Schering- Plough Research Institute, New Jersey, USA), sono stati identificati fattori genetici che influenzano il trattamento anti HCV.

È stato così individuato un polimorfismo sul cromosoma 19 (rs 12979860), localizzato a meno di 3 kb a monte del gene IL28B, che codifica per IFN- $\lambda$ -3. Questo SNP risulta essere fortemente associato con la risposta virologica sostenuta (SVR) in tutti i gruppi di pazienti; in particolare la popolazione europea-americana mostra una significatività *genome-wide* elevata ( $P=1,06*10^{-25}$ ). Inoltre, combinando il *P-value* con i gruppi di popolazione, la variante mostra un'associazione pari a  $1,37*10^{-28}$ .

In pazienti di origine ancestrale europea il genotipo CC è associato con valore due volte più grande di SVR rispetto al genotipo TT; valori simili anche nei gruppi afro-americani e ispanici.

Il polimorfismo non solo influenza fortemente la risposta all'interno dei ciascuno dei principali gruppi di popolazione, ma sembra anche spiegare molte delle differenze di risposta al trattamento tra diversi gruppi di popolazione (europei- americani rispetto a afro-americani).

Gli autori dello studio hanno stimato che metà delle differenze nella SVR tra le diverse popolazioni possono essere riconducibili alle differenze di frequenza dell'allele C tra pazienti afro-americani e pazienti di origine ancestrale europea. È inoltre risultato interessante che pazienti provenienti dall'Asia dell'est abbiano valori più alti di SVR rispetto a pazienti europei. Studiando un campione *random* di popolazione di varie etnie e stato sconosciuto di epatite C, è stata osservata una maggiore frequenza dell'allele C in pazienti provenienti dall'Asia orientale. Pazienti afro-americani con il genotipo CC hanno un valore di risposta molto più alto rispetto ad individui di origine ancestrale europea con genotipo TT; questo fatto sottolinea la grande importanza del genotipo individuale rispetto all'etnia di appartenenza per predire la risposta al trattamento.

A questo punto lo studio ha valutato se questa variante potesse influenzare la carica virale basale (prima del trattamento): si è riscontrata una significativa associazione in tutti i gruppi; in particolare, l'allele C, associato ad una migliore risposta al trattamento, è correlato ad una carica virale basale più elevata.

Sembra plausibile, per gli autori dello studio, che il polimorfismo IL28 abbia un ruolo nella espressione intraepatica del gene stimolato da IFN, con conseguenze sia per la carica virale, sia per la risposta al trattamento.

Non sono state individuate associazioni tra il polimorfismo e il valore soglia della carica virale che solitamente si utilizza per predire la risposta al trattamento; l'associazione tra il polimorfismo e la risposta virologica sostenuta sembra essere indipendente dal valore della carica virale.

Gli autori dichiarano di aver notato che la frequenza dell'allele C era significativamente ridotta in una coorte cronicamente infetta rispetto ad individui di controllo della stessa etnia: ciò sembra suggerire che ci sia un'associazione tra l'allele C e un valore più alto di risposta virologica sostenuta all'epatite C.

Il gene IL28B è stato, poi, sequenziato in 96 individui e sono state trovate due varianti strettamente associate con il polimorfismo precedentemente studiato: i) una transizione G/C (rs28416813) 37bp a monte del codone iniziale di traduzione, ii) un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) non sinonimo, che porta a una sostituzione aminoacidica Lys70Arg (rs8103142).

Tutti i pazienti dello studio sono stati quindi genotipati per queste due nuove varianti, ma non è stato possibile determinare se una di queste varianti sia unicamente responsabile dell'associazione con SVR.

Mediante un modello di regressione, è stato definito che il genotipo CC è associato a differenze più sostanziali nel valore di risposta rispetto ad altri valori basali inseriti nel modello.

Sembra chiaro, quindi, che conoscere in dettaglio il genotipo dei pazienti infetti da HCV possa, in futuro, essere una componente importante della decisione di iniziare un trattamento con PegIFN e RBV.

È stato individuato un polimorfismo a monte del gene IL28B che è fortemente associato alla risposta al trattamento con PegIFN e RBV in pazienti con infezione cronica da HCV, genotipo 1. Questo polimorfismo spiega molte delle differenze di risposta al trattamento tra pazienti di origine europea- americana e afro-americana; inoltre sembra chiaro che il prodotto di questo gene sia coinvolto nel controllo innato di HCV.

Lo studio ha un paio di limiti: il primo è la mancanza di un gruppo di pazienti di confronto non trattati; il secondo, dichiarato dagli stessi autori, è la mancanza di uno studio su coorti che hanno avuto/ non avuto una risposta virologica sostenuta naturale contro questa infezione. Infine, sono necessari degli studi ulteriori, in particolare sui meccanismi di trasduzione del segnale di IFN, per poter determinare quale terapia sia migliore per ogni paziente.

**Conflitto di interesse:** gli autori dichiarano conflitti di interesse.

**Parole chiave:** Epatite C, interferone, ribavirina

**Riferimento bibliografico:**

[Thomas DL](#) et al. *Nature* 2009, 461: 798-801.

---

## INFLUENZA DI POLIMORFISMI NEI GENI CYP3A4 E ABCB1 SUL RISCHIO DI RIDUZIONE DELLA DOSE DI STATINA OPPURE DI SWITCH TERAPEUTICO IN PAZIENTI IN TERAPIA ANTICOLESTEROLEMICA CON SIMVASTATINA O ATORVASTATINA

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Le statine, o inibitori dell'enzima idrossi-metil-glutaril-coenzima-A (HMG-CoA) riduttasi, sono farmaci di prima scelta per la prevenzione primaria e secondaria di patologie associate alle dislipidemie. Generalmente ben tollerate, le statine in rari casi possono determinare l'insorgenza di gravi effetti avversi, tra cui miopatia e rabdomiolisi. Le statine simvastatina e atorvastatina vengono principalmente metabolizzate dall'enzima CYP3A4 in prodotti inattivi o con bassa attività farmacologica. Queste due statine fungono inoltre da substrato per la glicoproteina-P (Pgp), un trasportatore di membrana con funzione di pompa da efflusso, codificata dal gene ABCB1, in grado di estrarre farmaci ed altri composti xenobiotici lipofili dalle cellule nello spazio extracellulare, evitandone l'accumulo negli organi e nei tessuti. Varianti funzionali dei geni ABCB1 e CYP3A4 potrebbero dunque influenzare sia l'efficacia terapeutica di simvastatina e atorvastatina che determinare la comparsa di effetti avversi in pazienti in terapia anticolesterolemica. Tra le varianti note di questi geni, particolare attenzione è stata rivolta verso i polimorfismi C1236, C3535T, G2677A/T del gene ABCB1, associate ad una ridotta capacità di trasporto, ed il polimorfismo CYP3A4\*1B (-392A>G), localizzato a livello del promotore ed associato ad un' aumento della trascrizione del gene. Gli obiettivi di questo studio di popolazione sono stati i seguenti: i) valutare se il polimorfismo CYP3A4\*1B (-392A>G) e le varianti C1236T, G2677A/T e C3435T del gene ABCB1 hanno una influenza sul rischio di pazienti in trattamento con simvastatina o atorvastatina di ricevere una riduzione della dose di statina oppure uno *switch* terapeutico (il passaggio di prescrizione da una statina all'altra); ii) valutare se tale rischio differisce tra uomini e donne, ed infine iii) valutare se esiste un'interazione tra il polimorfismo CYP3A4\*1B (-392A>G) e le varianti dei geni ABCB1.

Per questo studio sono stati selezionati i pazienti in terapia con simvastatina oppure atorvastatina facenti parte del *Rotterdam study* [Hofman A. et al., *Eur J Epidemiol.* 2007; 22(11): 819–829], uno studio prospettico di coorte su popolazione che comprendeva 7983 caucasici con almeno 55 anni di età e residenti nell'area urbana di Rotterdam. Sono stati considerati *outcome* clinici gli eventi che comprendevano sia una

riduzione della dose di statina che il passaggio da una statina all'altra. L'associazione tra i polimorfismi genici con la riduzione della dose e lo *switch* terapeutico è stata valutata attraverso l'analisi di regressione di Cox, aggiustata per i fattori età, sesso e dose iniziale di statina.

Gli Autori individuano 1380 partecipanti al *Rotterdam study*, dei quali 1058 in terapia anticolsterolemica con simvastatina, e 322 in terapia con atorvastatina. Il periodo di *follow-up* medio dei pazienti è stato di 5.3 anni ( $\pm$  4.8 anni). Dall'analisi dei *reports* riguardanti la prescrizione elettronica dei farmaci risulta che la dose di statina è stata diminuita in 163 pazienti, mentre lo *switch* terapeutico è avvenuto in 108 pazienti. Il numero totale di eventi registrati è stato quindi di 271. I risultati principali dello studio sono stati i seguenti: i) il rischio di diminuzione della dose di statina oppure di *switch* terapeutico risulta inferiore nei pazienti portatori dell'allele G del polimorfismo CYP3A4\*1B (-392A>G), rispetto ai pazienti omozigoti per la variante A (HR: 0.46; 95% CI: 0.24-0.90). ii) Tale associazione è significativa nelle donne (n=684, HR 0.33; 95% CI 0.12-0.89), ma non negli uomini (n= 514, HR 0.69, 95% CI: 0.28-1.70). iii) Non sono state trovate associazioni significative con i polimorfismi del gene ABCB1, sia se analizzati singolarmente che dopo analisi in combinazione aploipatica. Infine, iv) l'effetto del polimorfismo CYP3A4\*1B sul rischio di eventi risulta maggiore nei pazienti portatori dell'allele ABCB1 3435T, rispetto ai pazienti con genotipo 3435CC (HR 0.39, 95% CI: 0.19-0.84).

Gli Autori fanno l'assunzione che la diminuzione della dose di statina e lo *switch* terapeutico possano indicare la presenza di elevati livelli circolanti di statina e quindi di effetti avversi, oppure essere indicativi di una eccessiva riduzione dei livelli di colesterolo LDL. Tuttavia tra i 271 eventi totali individuati, solamente nel 12% dei casi è stata registrata la motivazione che ha determinato la riduzione della dose oppure lo *switch* terapeutico (delle 32 motivazioni disponibili, il 53% degli eventi è stato attribuito a reazioni avverse tra cui dolore muscolare e neuropatia, mentre nel 25% dei casi ad una riduzione eccessiva dei livelli di colesterolo LDL). A differenza di quanto ipotizzato, parte degli eventi potrebbero essere stati determinati da altre cause, per esempio da una ridotta efficacia terapeutica. Inoltre, gli Autori non tengono conto di eventuali farmaci concomitanti in grado di inibire l'enzima CYP3A4. Pur tenendo conto dei limiti metodologici comuni per altro a tutti gli studi di popolazione, i risultati di questo studio sono comunque coerenti con l'ipotesi che i pazienti che possiedono la variante CYP3A4\*1B (-392G), avendo un'aumentata espressione di CYP3A4, presentano diminuiti livelli circolanti di simvastatina e atorvastatina. Questo si tradurrebbe in un minor rischio di effetti avversi e quindi in una minore necessità, in questi soggetti, di ridurre la dose di statina o di cambiare statina. In ogni caso, i risultati riguardanti l'effetto dei polimorfismi del gene ABCB1 necessitano ulteriori conferme in ampi studi che tengano anche conto della somministrazione di farmaci concomitanti.

In conclusione, i risultati di questo studio prospettico di popolazione mostrano che durante la terapia anticolsterolemica con simvastatina o atorvastatina i pazienti portatori della variante G del polimorfismo CYP3A4\*1B (-392A>G) hanno un rischio minore di ricevere una riduzione della dose di statina oppure uno *switch* terapeutico. L'effetto del polimorfismo CYP3A4\*1B sul rischio di tali eventi è maggiore nei pazienti che possiedono la variante ABCB1 3435T.

**Parole chiave:** simvastatina, atorvastatina, dose, *switch* terapeutico, ABCB1, CYP3A4

**Riferimento bibliografico:**

[Becker ML](#) et al. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2009 [Epub ahead of print]

## IMPATTO DEL POLIMORFISMO PRO12ALA NEL GENE *PPAR-γ2* E DELLA TERAPIA CON ACE INIBITORI SULL'INSORGENZA DI MICROALBUMINURIA NEL DIABETE DI TIPO 2: EVIDENZE DALLO STUDIO BENEDICT (*Bergamo NEphrologic DIabetic Complications Trial*)

A cura del Dott. Dario Cattaneo

La microalbuminuria – definita da un'escrezione urinaria di albumina compresa tra 20 e 200 µg/min – è stata recentemente riconosciuta come un importante fattore di rischio di eventi renali e cardiovascolari. In particolare diversi *trials* clinici hanno dimostrato che la microalbuminuria è un predittore indipendente sia di progressione delle malattie renali croniche verso l'uremia terminale che di morbilità e mortalità per eventi cardiovascolari soprattutto nei soggetti diabetici. Alla luce di queste evidenze l'identificazione precoce dei soggetti a rischio elevato di sviluppare microalbuminuria è fondamentale per l'implementazione di strategie di intervento preventive mirate a limitare l'aumentato rischio eventi renali e cardiovascolari in questa popolazione. La microalbuminuria è spesso associata a presenza di sindrome (pluri)metabolica, caratterizzata a sua volta dalla presenza di insulino-resistenza, obesità, dislipidemia, ipertensione e aumentata morbilità renale e cardiovascolare. I dati attualmente a disposizione suggeriscono che l'insulino-resistenza precede e probabilmente contribuisce alla comparsa di microalbuminuria nei soggetti affetti da diabete di tipo 1 così come nei soggetti non ancora diabetici. Ricerche recenti hanno ipotizzato che l'insulino-resistenza e il rischio di sviluppare microalbuminuria potrebbero essere almeno in parte legati, da un punto di vista patogenetico, al gene *PPAR-γ2* (*peroxisome proliferator-activated receptor γ*) che codifica per recettori ormonali nucleari coinvolti nel metabolismo lipidico e glucidico così come nei processi di differenziazione cellulare. Studi di tipo *cross-sectional* hanno dimostrato che la presenza di un polimorfismo in posizione 12 (in cui una prolina è sostituita da alanina) in questo gene si associava ad una ridotta incidenza di insulino-resistenza e ad un diminuito rischio di sviluppare microalbuminuria.

Obiettivo del presente studio è stato quello di confermare tali evidenze preliminari all'interno di un *trial* clinico su larga scala, coinvolgendo un'ampia casistica di soggetti diabetici normoalbuminurici.

Lo studio BENEDICT, condotto in diversi ospedali italiani, è uno studio in doppio-cieco, randomizzato volto a valutare l'impatto di una terapia con ACE inibitore (trandolapril) e/o con calcio-antagonista (verapamil) verso placebo nel prevenire la comparsa di microalbuminuria in oltre 1200 soggetti con diabete di tipo 2 seguiti per 3 anni dall'inizio del trattamento. Il 93% dei soggetti arruolati nello studio ha dato il consenso per l'esecuzione delle analisi genetiche per la ricerca della variante ala12pro. L'identificazione di tale variante è stata eseguita mediante genotipizzazione con TaqMan; il 20% dei risultati sono stati successivamente confermati mediante l'utilizzo di una tecnica indipendente (LightCycler480 System). L'*endpoint* primario dello studio era rappresentato dal tempo di insorgenza della microalbuminuria. L'effetto della presenza del polimorfismo ala12pro sull'insorgenza di microalbuminuria è stato valutato mediante modelli di regressione Cox, e i risultati sono stati espressi come *hazard ratio* (HR), aggiustando i modelli ottenuti per il trattamento farmacologico e per le caratteristiche dei pazienti (sesso, fumo, controllo glicemico e valori basali di albuminuria).

Dei 1119 pazienti considerati, 7 (0.6%) e 170 (15.2%) erano rispettivamente omozigoti ed eterozigoti per la variante allelica ala12pro, mentre i rimanenti 942 (84.2%) erano portatori del genotipo *wild type* (pro12). Visto il ridotto numero di soggetti, gli omozigoti per la variante ala sono stati considerati insieme al gruppo di eterozigoti. Dalle prime analisi statistiche è emerso che durante un periodo di *follow-up* mediano di 44 mesi l'incidenza di microalbuminuria è stata del 4% nei *carriers* della variante allelica e del 9.1% nei soggetti *wild type*, con un HR pari a 0.45 (p=0.04). Inoltre alla visita finale i *carriers* “ala” presentavano valori di microalbuminuria significativamente ridotti rispetto a quanto osservato nei soggetti *wild type*. Nelle analisi multivariate sesso, fumo di sigaretta, albuminuria basale, controllo glicemico e pressione arteriosa media sono risultati tutti predittori indipendenti dello sviluppo di microalbuminuria. All'interno del gruppo di soggetti “Ala” l'incidenza di microalbuminuria è risultata comparabile tra chi assumeva o non assumeva per protocollo ACE inibitori (4.4% vs 3.5%, p=0.805). Per contro nei soggetti *wild type* l'incidenza di microalbuminuria è risultata significativamente più bassa in chi era in trattamento con trandolapril rispetto a chi non assumeva ACE inibitori (6.3% vs 11.9%, p<0.001). Tale tendenza è stata confermata anche dalle analisi multivariate.

Il risultato principale di questo studio è rappresentato dal fatto che in una coorte ampia ed omogenea di soggetti ipertesi con diabete di tipo 2 e escrezione urinaria di albumina nella norma i soggetti portatori del polimorfismo in posizione ala12pro nel gene *PPAR-γ2* avevano una incidenza di microalbuminuria significativamente più bassa rispetto ai *carriers* del genotipo *wild type*. Consistentemente, i portatori della variante ala presentavano una progressione più lenta della malattia renale, evidenziabile da valori più bassi di escrezione urinaria di albumina a fine studio rispetto a quanto osservato nei soggetti con genotipo "pro". Tali risultati sono stati confermati anche dalle analisi multivariate che hanno valutato il contributo di tutti i fattori "non genetici" confondenti, come il sesso, la pressione, il controllo glicemico e il trattamento farmacologico. In generale, l'incidenza cumulativa di microalbuminuria è risultata essere il 50% inferiore nei soggetti "ala" rispetto ai *carriers* "pro". È interessante osservare che l'aumentato rischio di sviluppare microalbuminuria in questi ultimi soggetti poteva essere annullato (o comunque fortemente ridotto) dal trattamento con ACE inibitori.

Lo *screening* per la presenza del polimorfismo ala12pro nel gene *PPAR-γ2* potrebbe quindi favorire una identificazione precoce dei soggetti diabetici a rischio elevato di sviluppare nefropatia diabetica: questi soggetti potrebbero quindi essere i candidati ideali per una terapia aggressiva con farmaci che agiscono sul sistema renina-angiotensina.

In soggetti diabetici la presenza della variante allelica Ala in posizione 12 nel gene *PPAR-γ2* si associa ad una ridotta insorgenza di microalbuminuria, mentre il trattamento con ACE inibitori riduce il rischio di progressione della malattia renale nei soggetti diabetici portatori del genotipo Pro/Pro.

**Parole chiave:** diabete di tipo 2, ACE inibitori, nefropatia diabetica, microalbuminuria.

**Riferimento bibliografico:**

[De Cosmo S](#) et al. *Diabetes* 2009 [Epub ahead of print]

---

## OUTCOME DI PAZIENTI CON TUMORE ALLA MAMMELLA IN STADIO INIZIALE TRATTATI CON CHEMIOTERAPIA ADIUVANTE BASATA SU DOXORUBICINA IN FUNZIONE DELLO STATO DI *HER2* E *TOP2A*

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Diversi studi clinici hanno evidenziato migliori *outcome* in pazienti con carcinoma della mammella trattati con chemioterapia adiuvante a base di antracicline, nonostante questa terapia sia associata a tossicità come insufficienza cardiaca congestizia e leucemia acuta, che mettono in pericolo di vita il paziente, e a effetti avversi più comuni, ma fastidiosi, come nausea, vomito, mucositi, alopecia e fatica. Il trattamento di questi pazienti potrebbe migliorare se venissero individuati *marker* molecolari predittivi della risposta a questi farmaci. Alcuni studi hanno evidenziato come un'amplificazione o overespressione del gene *HER2* possa identificare un sottogruppo di pazienti che meglio rispondono alle antracicline (RIFERIMENTI); nel 35-40% dei pazienti con carcinoma alla mammella con amplificazione di *HER2* anche la topoisomerasi II alfa (*TOP2A*), il cui gene si trova in prossimità di *HER2*, è coamplificata.

Nel *Southwest Oncology Group Protocol S9313 (Intergroup Protocol 0137 – SWOG S9313/Int0137)*, pazienti con tumore della mammella nodulo-negativo ad alto rischio o nodulo-positivo a basso rischio sono stati trattati contemporaneamente con doxorubicina 54mg/m<sup>2</sup> e ciclofosfamide 1,2g/m<sup>2</sup> endovena ogni 3 settimane per 6 cicli (braccio I) o in sequenza con doxorubicina 40,5mg/m<sup>2</sup> ev nei giorni 1 e 2 ogni 3 settimane per 4 cicli seguita da ciclofosfamide 2,4g/m<sup>2</sup> ev ogni 2 settimane per 3 cicli (braccio II). Lo studio non ha evidenziato differenze in termini di *overall (OS)* e *disease-free survival (DFS)* per nessuna delle due schedule, ma una maggiore mielosoppressione e complicanze correlate nel gruppo trattato in sequenza; gli autori si propongono quindi di studiare se l'amplificazione o la delezione di *TOP2A* possa migliorare l'*outcome* in pazienti trattati con antracicline.

Lo studio *SWOG S9313* ha reclutato, tra l'aprile 1994 e il maggio 1997, 3125 donne (età media 47 anni) con tumore alla mammella in stadio iniziale, con da 1 a 3 noduli coinvolti o con carcinoma nodulo-negativo ad alto rischio, definito come tumore primario > 2cm o > 1cm se negativo per i recettori estrogenici e

progestinici, dei quali 1592 trattati con doxorubicina (A) + ciclofosfamide (C) e 1533 trattati prima con A, poi con C. I campioni per il *tissue microarray* (TMA) erano disponibili da 2123 pazienti (67%), sui quali sono stati valutati mediante ibridazione in situ fluorescente (FISH) i rapporti *TOP2A/CEP17* e *HER2/CEP17*.

E' stato identificato un genotipo *TOP2A* anormale in 153 pazienti su 1626 (9,4% - 4% amplificato, 5,4% delecto) e un genotipo *HER2* anormale in 303 su 1483 (20,4% - 18,8% amplificato, 1,6% delecto). Non si sono osservate differenze significative in termini di OS e DFS in funzione di *TOP2A*, mentre entrambi sono fortemente e negativamente associati ad alti livelli di amplificazione di *HER2* ( $HER2/CEP17 \geq 4$ ), anche se la significatività viene persa quando l'analisi viene aggiustata per dimensione del tumore, stato dei recettori ormonali, numero di noduli positivi, menopausa e trattamento assegnato. Poiché l'amplificazione di *TOP2A* è quasi sempre presente in pazienti con *HER2* amplificato, è stata valutata anche l'influenza della delezione o amplificazione di *TOP2A* in donne con *HER2* amplificato, ma non sono state osservate variazioni significative. Gli *outcome* nei due bracci di trattamento sono simili indipendentemente dallo stato sia di *HER2* che di *TOP2A*.

In questo gruppo di pazienti con carcinoma della mammella di stadio iniziale trattati con chemioterapia adiuvante a base di doxorubicina e ciclofosfamide, le anomalie a carico del gene *TOP2A* non sono associate agli *outcome*, mentre alti livelli di amplificazione di *HER2* sono un fattore prognostico nei pazienti trattati con antracicline.

L'articolo è accompagnato da un editoriale, a cura di Pritchard, in cui si sottolinea come lo studio confermi alcuni risultati noti, come la presenza di amplificazione di *HER2* in circa il 20% dei pazienti e come, almeno in un'analisi univariata, tale gene rappresenti un *marker* prognostico in donne trattate con antracicline. Questo tipo di studio sarebbe però più utile in *trial* in cui il farmaco di interesse sia confrontato con un regime privo del farmaco stesso e permetterebbe così di validare il ruolo di *HER2*, *TOP2A* e altri *biomarker* nel predire la risposta a antracicline, tassani e altre terapie.

**Parole chiave:** doxorubicina, ciclofosfamide, *TOP2A*, *HER2*, tumore alla mammella

**Riferimenti bibliografici:**

[Tubbs R](#) et al. *J Clin Oncol* 2009, 27: 3881-86

[Pritchard KI](#) *J Clin Oncol* 2009, 27: 3875-76.

---

## APPROCCIO FARMACOGENETICO MULTI GENE CANDIDATE PER PREDIRE EFFICACIA E RESISTENZA AD IMATINIB IN PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

A cura delle Dott.sse Sabrina Angelini e Gloria Ravegnini

Imatinib Mesilato (IM) è il trattamento d'elezione della leucemia mieloide cronica [LMC] grazie all'azione di inibizione selettiva sulla tirosin chinasi *Bcr-Abl*, caratteristica delle cellule leucemiche. Nonostante il successo di IM sono già emersi casi di farmaco resistenza dovuti ad amplificazione e sovraespressione del gene *BCR-ABL*, mutazioni puntiformi nel sito attivo di IM su *Bcr-Abl*, o sovraespressione del gene *MDR1* [conosciuto come *ABCB1*]. Accanto a questi sono inoltre emersi casi di farmaco resistenza le cui cause rimangono sconosciute.

È ampiamente riconosciuto che le concentrazioni plasmatiche e tessutali di molti farmaci sono influenzate da variazioni inter-individuali nei geni che codificano per enzimi responsabili del loro metabolismo e trasporto, che possono quindi essere responsabili di comparsa di tossicità o fallimento della terapia.

IM è substrato dei trasportatori *ABCB1* e *ABCG2*, mentre il suo uptake è mediato dal gene *SLC22A1*. IM è metabolizzato dal sistema del citocromo P-450, principalmente le isoforme *Cyp3A5/3A4*; inoltre è trasportato in forma legata alla proteina plasmatica AGP. È ragionevole ritenere che la presenza in questi geni di SNPs, responsabili di una alterazione dell'attività del prodotto codificato, possa predire efficacia e resistenza ad IM. A tal scopo sono stati analizzati 16 SNPs nei 5 geni candidati su un campione di 229 pazienti affetti da LMC Ph<sup>+</sup>. Di questi, 212 hanno ricevuto IM alla dose standard di 400 mg/die, mentre 17 hanno iniziato la terapia a 600 mg/die ( $n = 15$ ) o 800 mg/die ( $n = 2$ ). Tutti i pazienti in fase cronica hanno

iniziato a 400 mg/die ( $n = 203$ ), mentre i pazienti in fase accelerata o crisi blastica hanno iniziato alla dose di 400 mg/die ( $n = 9$ ), 600 mg/die ( $n = 15$ ) o 800 mg/die ( $n = 2$ ).

L'esito della terapia, valutata come risposta citogenetica completa (CCyR) o maggiore (MCyR), risposta molecolare completa (CMoR) o maggiore (MMoR), perdita di risposta (LOR), resistenza primaria (TFS), progressione nella fase accelerata o nella crisi blastica (P), e sopravvivenza complessiva (OS), è stato valutato in accordo a ciascun genotipo impiegando modelli di analisi additivo, dominante e recessivo.

Dall'analisi univariata è risultato che il genotipo ABCG2-GG (rs2231137) e CYP3A5-AA (rs776746) sono significativamente associati ad una ridotta CCyR [ $P = 0.02$  (HR 0.63, 95% CI 0.42-0.94) e  $P = 0.03$  (HR 0.39, 95% CI 0.16-0.96) rispettivamente], mentre ABCG2-AC o CC (rs2231142) è significativamente associato ad una ridotta MMoR [ $P = 0.004$  (HR 0.40, 95% CI 0.20-0.81)] o CMoR [ $P = 0.006$  (HR 0.42, 95% CI 0.21-0.85)]. Riguardo i parametri di fallimento terapeutico il genotipo SLC22A1-GG (rs683369) è stato associato ad un più alto rischio di fallimento o LOR [ $P = 0.0008$  (HR 4.86, 95% CI 1.74-13.52) e  $P = 0.02$  (HR 3.24, 95% CI 1.18-8.89) rispettivamente]. I risultati sono confermati nell'analisi multivariata, basata sul modello di *hazard* proporzionale di Cox, considerando lo stadio della malattia quale fattore confondente. Il genotipo ABCG2-GG (rs2231137), CYP3A5-AA (rs776746) e stadio avanzato della malattia sono significativamente associati ad una ridotta risposta al trattamento, in particolare CCyR [ $P = 0.03$  (HR 0.64, 95% CI 0.43-0.95);  $P = 0.04$  (HR 0.39, 95% CI 0.16-0.95);  $P = 0.01$  (HR 0.47, 95% CI 0.26-0.84)] e MCyR [ $P = 0.04$  (HR 0.67, 95% CI 0.45-0.98);  $P = 0.02$  (HR 0.34, 95% CI 0.14-0.83)]. Inoltre, il genotipo SLC22A1-GG (rs683369) e stadio avanzato della terapia correlano significativamente sia con il fallimento della terapia [ $P = 0.009$  (HR 3.86, 95% CI 1.39-10.69);  $P = 0.002$  (HR 2.67, 95% CI 1.45-4.91)], che con la LOR [ $P = 0.001$  (HR 5.47, 95% CI 1.95-15.36);  $P = 0.011$  (HR 2.57, 95% CI 1.24-5.32)]. Infine, il genotipo ABCG2-CC (rs2231142) è stato identificato quale fattore di predizione per la necessità di escalation della dose.

In considerazione di questi risultati, è stato generato un modello che incorpora i dati dei due genotipi [ABCG2 (rs2231137) e CYP3A5 (rs776746)] e lo stadio della malattia. Secondo questo modello la popolazione risulta divisa in tre gruppi: a basso rischio ( $n=27$ ), rischio intermedio ed alto ( $n=173$  e  $n=28$  rispettivamente). Dall'analisi è risultato che sia la MCyR che la CCyR correlano significativamente in accordo al gruppo di rischio. I risultati sono stati confermati nel gruppo di pazienti in fase cronica creando un secondo modello in cui è stato assegnato lo score di 1 al genotipo dall'effetto negativo e 0 al genotipo di riferimento. Dall'assegnazione degli score sono stati generati ancora una volta tre gruppi di rischio: basso ( $n=30$ ), intermedio ed alto ( $n=191$  e  $n=7$  rispettivamente). Dall'analisi è emerso che non solo i tempi medi alla MCyR e la CCyR sono significativamente diversi nei tre gruppi, ma sono favorevoli al gruppo di pazienti a basso rischio. In particolare, il tempo medio di raggiungimento della MCyR dal gruppo a basso rischio a quello ad alto rischio è rispettivamente di giorni 106 (95% CI 66-146), 146 (95% CI 110-181) e 279 (95% CI 224-334) ( $P = 0.003$ ). Il tempo medio di raggiungimento della CCyR invece, dal gruppo a basso rischio a quello ad alto rischio è di giorni 168 (95% CI 148-188), 239 (95% CI 186-292) e 962 (95% CI 354-1569) rispettivamente ( $P < 0.001$ ).

Analogamente, in considerazione dei risultati relativi a fallimento dell'intervento terapeutico e LOR è stato creato un modello che include lo stadio della malattia ed il genotipo SLC22A1-GG (rs683369). Dal modello sono stati generati due gruppi di rischio: basso ( $n=198$ ) ed alto ( $n=30$ ). Dall'analisi è emerso che la probabilità di vivere tre anni liberi da LOR è significativamente più alta nel gruppo a basso rischio rispetto a quello ad alto rischio ( $72 \pm 4\%$  vs  $54 \pm 11\%$ ;  $P < 0.001$ ). Allo stesso modo, la probabilità di vivere tre anni liberi da fallimento terapeutico è a favore del gruppo a basso rischio ( $68 \pm 4\%$  vs  $42 \pm 10\%$ ;  $P < 0.001$ ). I risultati sono stati confermati confinando l'analisi al gruppo di pazienti in fase cronica ( $P < 0.006$ ).

Il responso ad IM, oltre che allo stadio della malattia, è fortemente associato agli SNPs su ABCG2 (rs2231137) e CYP3A5 (rs776746). Inoltre, il fallimento del trattamento, compresa la LOR, correla con lo SNP rs683369 sul gene SLC22A1 e stadio della malattia.

I risultati di questo studio dimostrano che l'esito della terapia con IM in pazienti affetti da LMC può essere predetto mediante analisi di SNPs. Parallelamente a questo un risultato interessante è anche la non-associazione del genotipo ABCB1 con alcun parametro di risposta e/o fallimento terapeutico, come invece è stato evidenziato in altri studi. Considerato che la sovraespressione ABCB1 è uno dei meccanismi di resistenza osservati per IM, gli Autori suggeriscono l'importanza di ampliare le analisi genotipizzando altri SNPs su ABCB1, oltre ai classici C3435T (rs623214), C1236T (rs1128503) e G2677T/A (rs2032582).



**Parole chiave:** Imatinib, Leucemia mieloide cronica, ABCG2, CYP3A5, SLC22A1, ABCB1

**Riferimento bibliografico:**

[Kim DH](#) et al. *Clin Cancer Res* 2009, 15(14):4750-58.

---

**GRUPPO DI LAVORO SULLA FARMACOGENETICA  
della SOCIETA' ITALIANA DI FARMACOLOGIA**

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

Direttore	Prof. Carlo Riccardi (Presidente SIF, Università di Perugia)
Coordinatori	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott. Dario Cattaneo (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Cristina Tonello (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Supervisione	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano) Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: [sif@unito.it](mailto:sif@unito.it)

---

**DISCLAIMER – Leggere attentamente**

Gli autori e redattori del Gruppo di Lavoro sulla Farmacogenetica sono Farmacologi, Medici, Farmacisti e Biologi, e quanto riportato deriva da affidabili ed autorevoli fonti e studi scientifici, accompagnato dai relativi estratti o riferimenti bibliografici alle pubblicazioni. In ogni caso, le informazioni fornite, 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/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen.php](http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php), sulle relative newsletter, 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. Il servizio è totalmente gratuito e non esistono conflitti di interesse o finalità di lucro. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione della newsletter "SIF – Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

---

**RICEZIONE NEWSLETTER**

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.

---

**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 Finanziamento della ricerca scientifica e della Università, 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: 02-29520311  
[sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it); [sif.informazione@segr.it](mailto:sif.informazione@segr.it); [sifcese@comm2000.it](mailto:sifcese@comm2000.it).