

**SIF - FARMACOGENETICA**

Newsletter Numero 16 - Marzo 2010

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

Sommario

- Il polimorfismo -535G>T di MGMT è associato alla prognosi in pazienti con tumore colorettales metastatico trattato con oxaliplatino
- Influenza dei polimorfismi di *SLCO1B1* sulla concentrazione plasmatica di lopinavir e ritonavir in uomini affetti da HIV
- Una variazione nel gene dell'*IL28B* è associata con l'Epatite Cronica e fallimento terapeutico – uno studio di associazione *genome-wide*
- Significatività dei polimorfismi dei geni CYP2D6 e ABCC2 sull'*outcome* clinico di donne con tumore alla mammella in trattamento con Tamoxifene
- Variante allelica CYP2C19*17, aggregazione piastrinica, eventi emorragici, e trombosi dello stent in pazienti con applicazione di stent coronarico, trattati con clopidogrel
- Ruolo delle varianti 5HTTLPR e rs25531 del gene per il trasportatore della serotonina nella risposta precoce al trattamento antipsicotico in pazienti *drug-naive* con primo episodio psicotico
- Mutazioni di *TP53* e risposta completa a chemioterapia neoadiuvante con cisplatino e fluorouracile nel carcinoma a cellule squamose della cavità orale asportato chirurgicamente
- Livelli elevati di anticorpi specifici per Tribbles omologo 2 in pazienti con narcolessia

IL POLIMORFISMO -535G>T DI MGMT È ASSOCIATO ALLA PROGNOSI IN PAZIENTI CON TUMORE COLORETTALE METASTATICO TRATTATO CON OXALIPLATINO

A cura delle Dott.sse Marzia Del Re, Valentina Mey, Simona Ricciardi

La combinazione di oxaliplatino e 5-fluorouracile/leucovorin (FOLFOX) o capecitabina (XELOX) è un trattamento di largo impiego nel carcinoma colorettales metastatico (mCRC). Tuttavia, circa il 40-50% dei pazienti presenta una risposta non soddisfacente le cui cause non sono ancora del tutto note. Poiché l'azione citotossica dell'oxaliplatino si esplica mediante la formazione di addotti al DNA sull'azoto in posizione 7 di due basi adiacenti di guanina e adenina, è stato ipotizzato che i fenomeni di sensibilità e resistenza alla terapia possano dipendere dall'attività di sistemi enzimatici di riparazione del danno al DNA. Più in generale, l'efficienza di riparazione del danno genetico può avere importanza nel rischio di sviluppare tumore e nella sopravvivenza dei pazienti. Tali sistemi enzimatici mostrano polimorfismi genetici di significato funzionale e questo rappresenta la motivazione per stratificare i pazienti sulla base del loro profilo genetico.

A tal scopo Jee Hyun Park et al. hanno analizzato 16 polimorfismi di geni codificanti per enzimi di riparazione del DNA per valutarne il ruolo nella risposta al trattamento e nella sopravvivenza di pazienti con mCRC trattati con oxaliplatino. I geni e i corrispondenti polimorfismi analizzati sono stati: NBN C/T (rs1063045), MGMT G/T (rs1625649), ERCC4 C/T (rs1799801), XPC C/G (rs1870134), RFC1 A/G (rs2066786), RFC4 C/T (rs187868), VARS2 A/G (rs2074511) e A/G (rs2249459), XRCC1 A/G (rs25487), MSH2 A/G (rs3732183), POLE A/G (rs5744857), POLR2A C/T (rs2228133), POLR2B A/G (rs1713982), POLR2C C/T (rs4937), DNMT3B C/T (rs6087990), XAB2 A/G (rs794078).

E' stato esaminato il DNA da tessuto tumorale di 94 pazienti trattati in regime ambulatoriale con XELOX o FOLFOX-4 al *Kyungpook National University Hospital and Daegu Catholic University Medical Center* (Daegu, Korea). Il trattamento con XELOX consisteva in capecitabina 1,000 mg/m² p.o. 2 volte al giorno ai giorni 1–14, seguita da un'interruzione di 7 giorni, ed oxaliplatino 130 mg/m² i.v. in 2 ore al primo giorno per un ciclo di 3 settimane. Il trattamento con FOLFOX 4, invece, comprendeva oxaliplatino 85 mg/m² i.v. in 2 ore al primo giorno, seguito da 5-FU 400 mg/m² i.v. in bolo seguito da 600 mg/m² in 8 ore e leucovorin 30 mg/m² i.v. per 10 min al primo ed al secondo giorno. Le dimensioni del tumore sono state misurate ogni tre cicli per trattamento con XELOX ed ogni quattro per FOLFOX-4. La risposta del tumore è stata classificata secondo i criteri di valutazione dei tumori solidi (RECIST). La presenza dei polimorfismi è stata valutata tramite analisi in PCR-RFLP o con sequenziamento automatico. La stima della sopravvivenza è stata calcolata utilizzando il metodo Kaplan–Meier. Le correlazioni tra la sopravvivenza totale (OS) o la sopravvivenza libera da progressione (PFS) e i polimorfismi dei geni codificanti gli enzimi di riparazione del DNA sono state valutate utilizzando il log-rank test. Per identificare i fattori di predittività associati alla risposta alla terapia è stato utilizzato un modello di regressione logistica e per l'analisi della sopravvivenza è stato impiegato il modello *Cox's proportional hazard regression*. I pazienti sono stati inoltre stratificati per età (<60 anni vs >60 anni), sesso, stato della malattia, tipologia di intervento (curativo o no) e schema di trattamento. Sono stati calcolati l'*hazard ratio* (HR) e l'intervallo di confidenza al 95%. Il *cut-off* utilizzato per le analisi è stato fissato a 0.5 ed i dati statistici sono stati ottenuti con il software SPSS 11.5.

Il genotipo mutato TT del polimorfismo di POLR2C V58V (rs4937) ed il genotipo AG/GG di MSH2 (rs3732183) sono risultati significativamente associati con una risposta migliore alla terapia con oxaliplatino. I polimorfismi TT di MGMT (rs1625649), CT di RFC4 (rs187868) e GG di POLR2B (rs1713982) sono tutti associati a PFS. Il genotipo TT di MGMT -535G>T (rs1625649) è correlato con un PFS peggiore rispetto ai genotipi GG e GT (HR = 3.137; 95% CI = 1.423-6.914; P = 0.005), e mostra un'associazione marginale con la OS (HR = 2.059; 95% CI = 0.737– 5.757; P = 0.168).

Tra tutti le varianti genetiche studiate, il genotipo MGMT -535TT (rs1625649) ha mostrato avere un effetto predittivo negativo sulla sopravvivenza libera da progressione in pazienti con mCRC in terapia contenente oxaliplatino.

La presenza di correlazioni marginali tra OS e risposta alla terapia con oxaliplatino con il genotipo MGMT possono essere spiegate con l'esiguità del numero dei pazienti arruolati in questo studio e l'eterogeneità dei trattamenti utilizzati. Si rendono necessari, per questo motivo, ulteriori studi per identificare altre varianti funzionali del gene MGMT e confermare le associazioni dei parametri clinici con il polimorfismo -535G>T.

Parole chiave: Tumore colon-retto, oxaliplatino, biomarcatori, MGMT, polimorfismi

Riferimento bibliografico

[Park JH](#) et al. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010 Jan 21 [Epub ahead of print]

INFLUENZA DEI POLIMORFISMI DI *SLCO1B1* SULLA CONCENTRAZIONE PLASMATICA DI LOPINAVIR E RITONAVIR IN UOMINI AFFETTI DA HIV

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

Nonostante il successo dell'impiego di antiretrovirali altamente attivi (*highly active antiretroviral therapy* HAART) nel trattamento dell'HIV, si riscontra una elevata interindividualità nella risposta osservata. Tale variabilità è stata in gran parte attribuita alla componente genetica. Riguardo gli inibitori delle proteasi (PIs), componente integrale della HAART, gli studi di farmacogenetica essenzialmente hanno valutato polimorfismi nei geni *CYP3A* e *ABCB1*, con risultati contrastanti. Recentemente è stato riportato che i PIs sono substrato della famiglia dei trasportatori di anioni organici (OATP/*SLCO*). In particolare il lopinavir ed altri PIs sono substrato di *SLCO1B1* e *1A2*. Un gruppo di ricercatori di Liverpool ha associato la presenza dello SNP 512T→C nel gene *SLCO1B1* (rs4149056) ai livelli plasmatici di lopinavir in uomini infetti da HIV sottoposti a HAART.

In questo studio gli autori hanno voluto sia confermare l'influenza dello SNP 512T→C, sia indagare il ruolo di ulteriori due SNP sul gene *SLCO1B1*: 388A→G (rs2306230) e 463C→A (rs11045819), sulle concentrazioni plasmatiche di lopinavir e ritonavir.

L'analisi è stata svolta su 99 pazienti affetti da HIV in terapia stabile con HAART contenente lopinavir/ritonavir per almeno 4 settimane. I 99 pazienti sono stati categorizzati in base al *Brazilian Census*, basata sulla percezione della razza/colore, in bianchi (*n* 47), mulatti (*n* 42) e neri (*n* 10). Le concentrazioni plasmatiche dei due farmaci sono state quantificate mediante cromatografia liquida associata a spettrometria di massa.

I dati ottenuti non hanno evidenziato una associazione significativa tra le concentrazioni plasmatiche di lopinavir e ritonavir e gli SNPs rs2306230 e rs11045819. Al contrario vengono confermati i risultati del gruppo di Liverpool, per cui lo SNP rs4149056 correla in maniera significativa con le concentrazioni plasmatiche di lopinavir (Kruskal-Wallis test, *P* = 0,03). Tale effetto non si osserva per ritonavir. Inoltre, si osserva un trend significativo, per cui la concentrazione media di lopinavir è più alta negli individui con genotipo omozigote polimorfo, CC (9123 ng/ml), rispetto agli individui omozigoti *wild-type*, TT (6133 ng/ml), ed ha un valore intermedio negli individui eterozigoti TC (7094ng/ml), (Jonckheere-terpstra test, *P* = 0,02). La scarsa ampiezza del gruppo di individui omozigoti CC (*n* 3 individui soltanto) non ha permesso la *pair-wise comparison* tra genotipi. Per questa ragione eterozigoti ed omozigoti sono stati combinati, evidenziando che la concentrazione media di lopinavir è significativamente più alta negli individui che presentano almeno un allele 512C rispetto agli individui *wild-type* (Mann-Whitney test, *P* = 0,03). Non è stata riscontrata alcuna associazione tra le concentrazioni dei due farmaci e variabili demografiche come età, razza/colore e peso corporeo.

In conclusione questo studio conferma che la variante allelica 512C nel gene *SLCO1B1*, è associata a livelli plasmatici medi di lopinavir più elevati, rispetto all'allele *wild-type*.

L'utilità nella pratica clinica di tale informazione non è ancora chiara. Infatti, gli stessi autori sottolineano l'esistenza di un'ampia sovrapposizione tra le concentrazioni di lopinavir all'interno dei tre gruppi di genotipo *SLCO1B1* 512T→C. Questo rende necessari ulteriori studi per confermare l'importanza di polimorfismi nel gene *SLCO1B1* nella farmacocinetica del lopinavir.

Parole chiave: HIV, Lopinavir, Ritonavir, *SLCO1B1*

Riferimento bibliografico

[Kohlrausch FB](#) et al. *Br J Clin Pharmacol* 2010, 69 (1): 95-8

UNA VARIAZIONE NEL GENE DELL'*IL28B* È ASSOCIATA CON L'EPATITE CRONICA E FALLIMENTO TERAPEUTICO – UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE*

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

Il virus dell'epatite C (HCV) causa infezione cronica in circa il 3% della popolazione mondiale. Lo stato patologico e la mortalità associate all'epatite C cronica sono riconducibili principalmente alla progressione

verso cirrosi e carcinoma epatocellulare. La terapia standard prevede la somministrazione di interferone α peghilato e ribavirina (PEG-IFN α /RBV), che tuttavia risulta fallimentare nel 50% degli individui con infezione cronica. Fattori individuali influenzano sia il naturale decorso dell'epatite C che la risposta alla terapia. Precedenti studi, con approccio *gene candidate*, hanno evidenziato l'influenza di polimorfismi nei geni che codificano per gli antigeni dei leucociti, *killer immunoglobulin-like receptor*, chemochine, interleuchine e geni stimolati dall'IFN, nella *clearance* spontanea del HCV. Un recente studio, sempre *gene candidate*, ha messo in luce il ruolo di varianti nel gene dell'*IL28B*, che codifica per IFN- λ , nella guarigione spontanea dall'infezione; tre studi *genome-wide* invece hanno riportato il ruolo di SNPs nell'*IL28B* nella risposta alla terapia antivirale.

Alla luce di questi studi gli autori hanno effettuato uno studio *genome-wide* volto a identificare markers genetici responsabili della progressione ad epatite C cronica del fallimento terapeutico.

Nello studio sono stati inclusi 1362 pazienti HCV, di cui 914 mono-infetti e 448 co-infetti con HIV; 347 sono andati incontro a guarigione spontanea, 1015 ad infezione persistente. L'infezione è stata definita cronica in caso di sieropositività anti-HCV ed RNA virale misurabile. Nel caso di sieropositività, ma RNA virale non misurabile, il paziente è andato incontro a guarigione spontanea. 465 pazienti, che hanno ricevuto l'80% della dose raccomandata di PEG-IFN α /RBV, sono stati considerati per l'analisi di risposta al trattamento. Questa ultima è stata considerata positiva se l'RNA virale non è risultato rilevabile nel siero a 24 settimane dalla sospensione del trattamento. L'analisi del genotipo, oltre 500.000 SNPs, è stata eseguita tramite piattaforma genomica che sfrutta *beadchips* dell'Illumina (human1M-Duo, humanhap550 o human610W-Quad). Dopo attribuzione del genotipo, avvenuta automaticamente tramite il software Beadstudio (Illumina) sono stati esclusi dalle analisi SNPs con frequenza inferiore a 0.2, e SNPs con un rate di attribuzione inferiore al 90% e pazienti con un *call rate* inferiore al 95%.

Dallo *screening* è emerso che diversi SNPs, situati in prossimità del *locus* dell'*IL28* (cromosoma 19) erano associati con l'infezione cronica da HCV. Nessuno SNP al di fuori di questo *locus* ha dato risultati significativi. In particolare, lo SNP rs8099919 è quello che ha restituito lo score più alto (OR 2.31, CI 95% 1.74-3.06; $P = 6.07 \times 10^{-9}$). In considerazione di una potenziale influenza sulla guarigione spontanea della co-infezione da HIV, i due gruppi (mono-infetti e co-infetti) sono stati analizzati separatamente, restituendo risultati simili, successivamente quindi le due coorti sono state meta-analizzate. Le frequenze dello SNP rs8099919 - TT, GT, GG sono state rispettivamente di 0.58, 0.37 e 0.05 nei pazienti con infezione cronica, e di 0.78, 0.21 e 0.01 in quelli andati incontro a guarigione spontanea. Dall'analisi del genotipo è emerso che individui omozigoti GG (OR 6.02, CI 95% 2.10-17.21; $P = 8.10 \times 10^{-4}$) ed eterozigoti GT (OR 2.22, CI 95% 1.63-3.07; $P = 6.63 \times 10^{-7}$) sono caratterizzati da un rischio maggiore di cronicità rispetto al genotipo comune TT. L'allele minore G è dunque un allele di rischio, associato ad un aumentato rischio di andare incontro ad infezione cronica.

Il passo successivo è stato quello di valutare l'influenza degli SNPs associati a cronicità dell'infezione con la risposta alla terapia con PEG-IFN α /RBV. Fattori associati al fallimento della terapia includono genotipo HCV 1 o 4 ($P < 0.001$), fibrosi cistica ($P = 0.06$), sesso maschile ($P = 0.05$), età ($P < 0.01$), pre-trattamento RNA-HCV ad alte dosi ($P = 0.04$). Queste variabili sono state prese in considerazione nel modello di regressione logistica per l'analisi dell'influenza degli SNPs sulla risposta alla terapia.

Le frequenze dello SNP rs8099919 - TT, GT, GG sono state rispettivamente di 0.42, 0.51 e 0.07 nei pazienti che non hanno risposto al trattamento, e di 0.68, 0.29, e 0.03 in quelli responsivi. L'analisi del genotipo ha evidenziato che individui omozigoti GG e gli eterozigoti GT hanno un rischio maggiore di andare incontro a fallimento terapeutico rispetto ai pazienti con il genotipo comune TT. Anche nella risposta alla terapia l'allele minore G è dunque un allele di rischio (OR 5.19, CI 95% 2.90-9.30; $P = 3.11 \times 10^{-8}$).

Un ulteriore aspetto importante nella risposta al trattamento dell'infezione è il genotipo virale; per questo gli autori hanno stratificato la popolazione in 4 gruppi, corrispondenti al genotipo virale 2 o 3 (2/3) vs 1 o 4 (1/4), questi ultimi associati a prognosi negativa, in presenza o meno dell'allele di rischio G, e valutato l'interazione genotipo-genotipo. L'analisi ha evidenziato che nel gruppo di pazienti con il profilo a basso rischio (genotipo virale 2/3 e assenza dell'allele G) il fallimento terapeutico è avvenuto solo nel 14% dei casi, contro il 72% dei pazienti con il profilo ad alto rischio (genotipo virale 1/4 e presenza dell'allele G)

(OR 15.79, CI 95% 8.37-29.76; $P = 1.48 \times 10^{-17}$). Considerato il gruppo di pazienti con genotipo virale 1/4, il fallimento terapeutico avviene nel 72% dei casi che presentano l'allele di rischio contro i 37% di quelli che non lo presentano (OR 4.97, CI 95% 2.56-9.66; $P = 2.13 \times 10^{-6}$); nel gruppo con genotipo virale 2/3 la presenza o meno dell'allele di rischio non influenza significativamente la percentuale dei pazienti non responsivi (14% vs 20%; OR 1.58, CI 95% 0.77-3.25; $P = 0.18$).

Lo studio è proseguito con il sequenziamento del *locus* dell'*IL28B* selezionando pazienti in cui si è osservata concordanza genotipo-fenotipo e pazienti in cui invece si è osservato dato discordante. In particolare, nel primo gruppo sono stati inclusi pazienti con genotipo TT con *clearance* ($n = 15$) o GG con infezione cronica ($n = 15$). Nel secondo gruppo invece sono stati inclusi individui TT con infezione cronica ($n = 15$) ed i rari GG andati incontro a *clearance* ($n = 2$). Il sequenziamento del *locus* ha portato alla identificazione di 21 SNPs che contribuiscono a formare due famiglie di aplotipi principali. La prima famiglia comprende individui con il fenotipo di *clearance*, la seconda famiglia di aplotipi invece comprende individui a rischio di cronicità.

In conclusione, lo SNP rs8099919 nel gene *IL28B* è associato con la progressione dell'epatite C ad infezione cronica e con il fallimento terapeutico, effetto quest'ultimo ancora più marcato nei pazienti con genotipo virale 1/4.

Lo SNP rs8099919 è localizzato all'interno di una regione di circa 80kb codificante per tre citochine *IL28A*, *IL28B* e *IL29*; in particolare si tratta di una sostituzione T>G a monte del codone di start dell'*IL28B*. La sua associazione sia con la *clearance* spontanea che quella associata a trattamento, mette in risalto l'importanza della risposta immunitaria e innata e dell'IFN- λ nella patogenesi dell'infezione da HCV.

Parole chiave: Epatite C, Interferone α peghilato, Ribavirina, IL 28B

Riferimento bibliografico

[Rauch A](#) et al. *Gastroenterology* 2010 Jan 7 [Epub ahead of print]

SIGNIFICATIVITÀ DEI POLIMORFISMI DEI GENI CYP2D6 E ABCC2 SULL'OUTCOME CLINICO DI DONNE CON TUMORE ALLA MAMMELLA IN TRATTAMENTO CON TAMOXIFENE.

A cura della Dott.ssa Greta Milani

Il cancro alla mammella rappresenta la più comune neoplasia femminile e circa il 75% dei casi è di tipo ormono-sensibile (ER positivo). Il Tamoxifene è un modulatore selettivo del recettore per gli estrogeni (ER) ed ha rappresentato, negli ultimi tre decenni, il più importante agente terapeutico del carcinoma mammario ER+. Il tamoxifene agisce legandosi ad ER e inibendo il legame degli estrogeni e la conseguente proliferazione del tumore. Una notevole variabilità inter-individuale è stata riscontrata nei livelli plasmatici del farmaco e dei suoi principali metaboliti attivi, *4-idrossi-tamoxifene* e *4-idrossi-N-desmetiltamoxifene* (endoxifene), al raggiungimento dello stato stazionario; ciò significa che la dose riconosciuta come standard nella terapia con tamoxifene può non essere quella ottimale per ciascun paziente. I metaboliti attivi del farmaco presentano la stessa affinità di legame per ER (100 volte superiore a quella del tamoxifene) e la medesima capacità di inibire la proliferazione estrogeno-dipendente di cellule di tumore esprimenti tale recettore in vitro (30-100 volte superiore a quella del farmaco). La conversione del tamoxifene nei suoi metaboliti attivi avviene ad opera dell'isoforma 2D6 del citocromo P450, codificata dal gene *CYP2D6*. In alcuni individui una minore formazione dei metaboliti attivi, dovuta ad una ridotta o assente funzionalità dell'enzima *CYP2D6*, può determinare una peggiore risposta terapeutica al farmaco. Infatti, nonostante il beneficio terapeutico del tamoxifene sia stato dimostrato dalla riduzione della ricomparsa del tumore e dei tassi di mortalità in pazienti con tumore della mammella ER+, circa il 30%-50% delle donne trattate con questo chemioterapico va incontro ad eventi di recidiva/morte. Individui con metabolismo "nullo" presentano polimorfismi che determinano la mancata espressione della proteina (es: allele *CYP2D6*5*) o

l'espressione di una proteina priva di attività enzimatica (es: CYP2D6*4). Il più frequente allele nullo riscontrato nella popolazione Caucasica è il CYP2D6*4, caratterizzato dalla produzione di una proteina tronca. L'allele CYP2D6*10, invece, è presente fino al 57% nella popolazione asiatica ed è associato ad uno stato di metabolizzatore intermedio, per la produzione di un enzima con ridotta attività catalitica. Diversi studi clinici hanno dimostrato che pazienti con metabolismo nullo o ridotto, trattate con tamoxifene, hanno un peggiore *outcome* terapeutico, sia in termini di maggiore rischio di recidiva, sia in termini di tempo libero da malattia/recidiva rispetto a pazienti portatrici di alleli CYP2D6 funzionanti. I soli polimorfismi del CYP2D6, tuttavia, non riescono a spiegare alcune delle differenze interindividuali nella risposta alla terapia: ciò suggerisce che ci siano altri fattori genetici coinvolti nella formazione ed eliminazione dei metaboliti del farmaco. Il tamoxifene è eliminato principalmente dal metabolismo ossidativo epatico: in particolare circa il 75% della dose viene escreta nel tratto biliare sotto forma di glucuronidi. In letteratura sono presenti numerosi lavori che hanno descritto il ruolo fondamentale dei trasportatori nella resistenza al farmaco in cellule tumorali.

Gli autori di questo lavoro hanno quindi deciso di studiare le variazioni genetiche di tre proteine ABC (ATP-Binding Cassette): ABCB1, ABCC2 e ABCG2 e la loro eventuale associazione con le differenze interindividuali riscontrate in pazienti di tumore al seno in terapia con tamoxifene.

La prima parte del lavoro descrive uno *studio di efficacia* per verificare una possibile associazione tra i genotipi dei geni correlati alla farmacocinetica del tamoxifene e la sopravvivenza libera da malattia; la seconda parte, invece, può essere considerata come un vero e proprio *studio di farmacocinetica* per correlare le concentrazioni plasmatiche del farmaco e dei suoi metaboliti attivi e il genotipo delle pazienti.

Nello *studio di efficacia* sono state arruolate 282 donne giapponesi con un tumore primario alla mammella con ER positivo e/o il recettore del progesterone positivo, in trattamento monoterapico con tamoxifene (20mg/die per cinque anni oppure sospeso alla comparsa di recidiva).

Il DNA è stato estratto da sangue intero periferico e la genotipizzazione per i polimorfismi dei geni CYP2D6, ABCB1, ABCC2 e ABCG2 è stata eseguita utilizzando *primers* e sonde specifiche o mediante sequenziamento diretto, seguendo delle metodiche già descritte in letteratura.

Il genotipo del gene CYP2D6 è stato valutato sull'intera popolazione dello studio: la presenza dell'allele *10, in particolare, che porta ad una diminuzione dell'attività enzimatica, è circa del 37%.

Gli alleli *4, *5, *10-, *10, *14, *21, *36, *36- e *41 sono stati considerati "nulli" in quanto portano ad una attività ridotta o nulla dell'enzima, mentre l'allele *1 è considerato funzionante e quindi *wild-type*. Mediante il metodo di Kaplan- Meier si è stabilito che le pazienti portatrici degli alleli "nulli" (allo stato eterozigote o omozigote) hanno una diminuzione significativa del tempo di sopravvivenza libero da malattia rispetto alle pazienti *1/*1, con alleli funzionanti. L'analisi del rischio secondo il modello di Cox ha dimostrato che il genotipo del gene CYP2D6 è un indicatore indipendente del tempo libero da malattia.

Per quanto riguarda, invece, i polimorfismi a livello dei geni dei trasportatori ABC, gli autori hanno individuato uno SNP significativo a livello del gene ABCC2 (rs3740065) in cui la presenza dell'allele A aumenta il rischio di recidiva nelle pazienti.

Lo studio dimostra infine un effetto cumulativo quando sono presenti due o più alleli nulli.

Per lo *studio di farmacocinetica*, invece, sono state arruolate 98 pazienti con cancro al seno, in terapia adiuvante con tamoxifene (20mg/die) da almeno 4 settimane. Le concentrazioni plasmatiche di tamoxifene e dei suoi metaboliti sono state misurate mediante HPLC-TOF. Gli autori hanno assegnato un punteggio crescente ad ogni genotipo: 1 per il gruppo portatore in omozigosi degli alleli funzionanti, 2 per i portatori in eterozigosi e 3 per i portatori in omozigosi degli alleli nulli.

Le concentrazioni plasmatiche di endoxifene allo stato stazionario variano significativamente in base ai genotipi del gene CYP2D6 : 15,5 ng/mL per le pazienti portatrici degli alleli nulli allo stato omozigote, 27,2 ng/mL per le pazienti eterozigoti e 35,4 ng/mL per le portatrici degli alleli funzionanti. Anche le concentrazioni dell'altro metabolita, il 4-idrossi-tamoxifene, hanno mostrato la stessa significatività rispetto ai genotipi del gene CYP2D6, mentre non sono state individuate delle associazioni significative tra le concentrazioni plasmatiche dei due metaboliti e lo SNP studiato del gene ABCC2.

In questo lavoro è stato dimostrato che le pazienti con genotipo CYP2D6*1/*10 e CYP2D6*10/*10 hanno un tempo di sopravvivenza libero da malattia più breve rispetto alle pazienti *wild-type*. La presenza dell'allele

*10, infatti, porta ad una diminuzione dei livelli plasmatici di endoxifene; questo risultato potrebbe spiegare la minore efficacia clinica del farmaco, dovuta ad una esposizione sistemica minore.

Gli autori del lavoro ipotizzano che lo SNP a livello dell'introne 29 del gene *ABCC2*, in correlazione con altre variazioni genetiche, possa essere associato ad un aumento dei livelli di espressione o di attività di trasporto del gene nei tessuti di tumore alla mammella; in questo modo le cellule tumorali risulterebbero meno esposte al tamoxifene.

I risultati del presente studio indicano che i polimorfismi genetici a livello dei geni *CYP2D6* e *ABCC2* possono essere considerati dei validi predittori dell'*outcome* clinico di pazienti in trattamento con tamoxifene.

Sarebbe opportuno condurre degli studi ulteriori per confermare questi dati e valutare gli effetti di altri polimorfismi sul metabolismo di questo farmaco. Inoltre, una maggiore conoscenza dei meccanismi biologici associati all'*outcome* clinico del trattamento con tamoxifene potrebbe consentire ai medici di selezionare il trattamento farmacologico migliore.

Parole chiave: tamoxifene, *CYP2D6*, *ABCC2*, tumore alla mammella

Riferimento bibliografico:

[Kiyotani K](#) et al *J Clin Oncol* 2010 28(8):1287-93

VARIANTE ALLELICA CYP2C19*17, AGGREGAZIONE PIASTRINICA, EVENTI EMORRAGICI, E TROMBOSI DELLO STENT IN PAZIENTI CON APPLICAZIONE DI STENT CORONARICO, TRATTATI CON CLOPIDOGREL

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il clopidogrel è un anti-aggregante piastrinico ampiamente utilizzato per prevenire il rischio di eventi trombotici in soggetti sottoposti ad angioplastica coronarica. Recenti studi hanno suggerito che la riduzione del rischio degli eventi trombotici può di controparte incrementare il rischio di complicazioni emorragiche, con un impatto sulla mortalità ad 1 anno molto simile a quello causato da infarto del miocardio post-intervento (Mehran R et al, *Eur Heart J.* 2009, 30:1457-1466). Nella pratica clinica è ben nota un'ampia variabilità nella risposta terapeutica al clopidogrel. Tale composto essendo un profarmaco, prima di bloccare i recettori dell'adenosina P₂Y₁₂ localizzati sulle piastrine, deve essere metabolicamente attivato da diversi isoenzimi epatici del citocromo P450. Tra questi, il CYP2C19 svolge un ruolo essenziale nel metabolismo del profarmaco e numerosi polimorfismi a suo carico sembrano essere causa della grande variabilità nella risposta terapeutica al clopidogrel. La variante allelica maggiormente studiata, CYP2C19*2, è caratterizzata dalla presenza di un sito di *splicing* aberrante che causa la produzione di una proteina tronca inattiva. I portatori di questa variante allelica non hanno benefici dalla terapia con clopidogrel e sono ad alto rischio di eventi trombotici.

Sibbing e coll. in questo lavoro pubblicato su *Circulation* sono stati i primi ad esplorare l'altro lato dell'attività del CYP2C19, costituito dai metabolizzatori ultrarapidi. Una nuova variante allelica, CYP2C19*17, è dovuta alla presenza del polimorfismo -806 C>T nella regione promotrice del gene e comporta un'aumentata trascrizione di CYP2C19 con conseguente incremento dell'attività enzimatica.

Il metabolismo ultrarapido da parte del CYP2C19 potrebbe comportare un'aumentata azione antiaggregante del clopidogrel, migliorando la prevenzione degli eventi trombotici ma incrementando il rischio di emorragie.

Scopo del lavoro è stato quello di studiare l'associazione tra la variante allelica CYP2C19*17 e 1) l'aggregazione piastrinica indotta da ADP, 2) il rischio di eventi emorragici e 3) il rischio di eventi trombotici in pazienti sottoposti ad angioplastica coronarica ed in terapia con clopidogrel.

Sono stati arruolati 1524 pazienti con patologie coronariche e con un intervento di angioplastica programmato. L'arruolamento è avvenuto presso il Centro di Cardiologia di Monaco di Baviera da Febbraio 2007 ad Aprile 2008. Sono stati esclusi i pazienti con controindicazioni verso la terapia con aspirina o clopidogrel o trattati con inibitori della glicoproteina IIb/IIIa dieci giorni prima dell'intervento.

Tutti i pazienti inclusi nello studio venivano trattati con una dose di carico di clopidogrel (600 mg) circa 2 ore prima dell'intervento. L'intervento veniva effettuato seguendo le linee guida standard (Sibbing D et al, *J Am Coll Cardiol.* 2009;53:849-856). Successivamente all'operazione i pazienti venivano trattati e dimessi con un regime antiaggregante di 75 mg di clopidogrel e 100 mg di aspirina al giorno.

L'analisi dell'impatto della variante allelica sull'aggregazione piastrinica dopo somministrazione di clopidogrel veniva effettuata su sangue prelevato prima dell'intervento. I genotipi venivano determinati tramite TaqMan assay (*Assay ID C_469857_10; dbSNP ID rs12248560*) e l'aggregazione piastrinica indotta da ADP veniva analizzata con un Multiplate Platelet Function Analyzer.

L'*end point* primario di sicurezza dello studio era l'incidenza a 30 giorni di eventi emorragici di tipo lieve o grave, definiti in accordo con i criteri del *Thrombolysis in Myocardial Infarction* (TIMI). L'*end point* primario di efficacia dello studio era l'incidenza cumulativa durante i 30 giorni del *follow-up* di trombosi dello stent "certe" (sindrome coronarica acuta con conferma angiografica della trombosi) o "probabili" (morte inspiegata durante i 30 giorni o infarto del miocardio senza conferma angiografica della trombosi).

Le caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione risultavano ben bilanciate tra i differenti gruppi genotipici. Dei 1524 pazienti inclusi nello studio, 902 (59%) erano omozigoti *wild-type* (wt/wt), 546 (36%) erano eterozigoti per CYP2C19*17 (wt/*17), e 76 (5%) erano omozigoti (*17/*17) per la variante allelica CYP2C19*17. Questa distribuzione genotipica comportava la seguente frequenza allelica: 77.1% dell'allele *wild-type* di CYP2C19 contro 22.9 % per la variante allelica mutata CYP2C19*17. Non è stata osservata nessuna deviazione significativa dall'equilibrio di Hardy-Weinberg ($p=0.77$).

Le maggiori conclusioni di questo studio sono state:

1 - la variante allelica CYP2C19*17 ha un impatto significativo sull'aggregazione piastrinica indotta da ADP nei pazienti trattati con clopidogrel, con un' aumentata risposta al clopidogrel in presenza dell'allele *17. I valori dell'aggregazione piastrinica indotta da ADP tra i vari genotipi di CYP2C19*17 erano i seguenti: 328 AU×min per i pazienti wt/wt, 215 AU×min per i pazienti wt/*17, e 186 AU×min per i pazienti *17/*17. L'aggregazione indotta da ADP era significativamente differente tra i 3 gruppi genotipici ($p=0.007$). I valori più bassi di aggregazione indotta da ADP erano osservati nei pazienti portatori dei due alleli CYP2C19 *17. Nei 622 pazienti che erano portatori di almeno una variante allelica (wt/*17 o *17/*17), l'aggregazione indotta da ADP era più bassa se paragonata ai pazienti omozigoti *wild-type* ($n=902$, wt/wt) [rispettivamente, 213 AU×min vs 238 AU×min, $p=0.009$].

2 - la presenza dell'allele *17 conferisce un aumento del rischio di eventi emorragici. Sono stati registrati eventi emorragici in 51 pazienti (3.3%) della popolazione in studio, di questi: 12 (0.8%) pazienti con emorragie di tipo grave e 39 (2.5%) pazienti con emorragie di tipo lieve. 45 pazienti (88%) hanno avuto emorragie durante le prime 24 ore dopo l'intervento, e 49 (96%) eventi emorragici sono avvenuti in ospedale. Prendendo in considerazione il genotipo di CYP2C19*17, il rischio di emorragie era più alto sia nei portatori eterozigoti che omozigoti dell'allele CYP2C19*17 (wt/*17 e *17/*17 vs wt/wt: OR, 1.80; 95% CI, 1.03-3.14), ma era più alto soprattutto nei pazienti portatori dei due alleli CYP2C19*17 (*17/*17; χ^2 test, $p=0.01$; wt/wt vs *17/*17: OR, 3.27; 95% CI, 1.33-8.10). Dei 51 pazienti che hanno presentato eventi emorragici, 28 (55%) erano pazienti omozigoti o eterozigoti per la variante CYP2C19*17. Tramite un modello di regressione logistica multipla è stato inoltre dimostrato che la variante allelica CYP2C19*17 era un predittore indipendente di emorragie a 30 giorni (OR, 1.85; 95% CI, 1.19-2.86 per i portatori di CYP2C19*17; OR, 3.41; 95% CI, 1.42-8.17 per omozigoti CYP2C19*17 vs omozigoti *wild-type*, $p=0.006$).

3 - l'allele *17 non ha un effetto protettivo sull'occorrenza di trombosi dello stent o di eventi ischemici.

Sono stati registrati nei 30 giorni di *follow-up* eventi certi o probabili di occlusione dello stent in 14 (3.3%) dei pazienti in studio (10 certe e 4 probabili). L'associazione di tali eventi con il genotipo CYP2C19*17 era simile tra i gruppi genotipici: 8 (0.9%) in pazienti wt/wt, 5 (0.9%) in pazienti wt/*17, e 1 (1.3%) nei pazienti *17/*17 ($p=0.79$).

In questo studio è stato preso in considerazione l'impatto di una singola variante genetica sull'aggregazione piastrinica e gli *outcome* clinici dei pazienti, senza tener conto delle numerose varianti genetiche e il loro impatto combinato.

Nonostante questo, i risultati del presente studio identificano quei pazienti ad alto rischio di complicazioni emorragiche nella terapia con clopidogrel dopo angioplastica coronarica. Considerando la variante allelica CYP2C19*17 come un fattore di rischio genetico, si potranno caratterizzare al meglio questi pazienti prima della somministrazione di un regime antiaggregante, valutando soprattutto che un regime antiaggregante intensificato potrebbe essere un danno specialmente per questo gruppo di pazienti.

In conclusione gli Autori ritengono che sia necessario definire ulteriormente la finestra terapeutica per il trattamento antiaggregante con clopidogrel.

La variante allelica CYP2C19*17 comporta una minore aggregazione piastrinica indotta da ADP nei pazienti trattati con clopidogrel, un aumento del rischio di eventi emorragici e nessun miglioramento nella prevenzione di trombosi dello stent o di eventi ischemici.

Conflitto d'interesse: gli Autori dichiarano diversi tipi di rapporti professionali con aziende farmaceutiche.

Parole chiave: CYP2C19, Clopidogrel, Emorragie

Riferimento bibliografico

[Sibbing D](#) et al. *Circulation* 2010, 121(4):512-8

RUOLO DELLE VARIANTI 5HTTLPR E RS25531 DEL GENE PER IL TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA NELLA RISPOSTA PRECOCE AL TRATTAMENTO ANTIPSICOTICO IN PAZIENTI *DRUG-NAIVE* CON PRIMO EPISODIO PSICOTICO

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Alcuni studi suggeriscono che specifici polimorfismi nel gene codificante il trasportatore della serotonina possono influenzare la risposta al trattamento antipsicotico in pazienti schizofrenici. Tra le varianti funzionali del gene per il trasportatore della serotonina particolare attenzione è stata posta sul polimorfismo 5HTTLPR, caratterizzato da una inserzione/delezione di 44 paia di basi nella regione promotore. La variante S (*short*) è associata ad una minore trascrizione del gene, rispetto alla variante L (*long*) che contiene l'inserzione. Recentemente, è stato identificato un nuovo polimorfismo che consiste in una sostituzione A>G (rs25531) localizzata in prossimità del polimorfismo 5-HTTLPR, in grado di modificare i livelli di espressione della variante L. In particolare, la combinazione L_A determina una maggiore espressione del gene rispetto alla combinazione L_G. Al fine di meglio comprendere il ruolo delle varianti del gene del trasportatore della serotonina nella risposta ai farmaci antipsicotici, in questo studio è stata valutata l'associazione delle varianti 5-HTTLPR e rs25531 del gene trasportatore della serotonina con la risposta precoce a tre farmaci antipsicotici, in una coorte di pazienti *drug-naive* con primo episodio psicotico.

A partire da un più ampio studio longitudinale, gli Autori hanno selezionato 147 pazienti di origine Caucasica (88 maschi e 59 femmine) al primo episodio psicotico. L'età media dei pazienti era di 27.8 ±7.9 anni (range 15-57). I pazienti sono stati sottoposti al trattamento con aloperidolo (n=45; dose media= 5.1 mg/day, range 2.1-8.3), risperidone (n=50; dose media= 3.9 mg/day, range 1.8-5.7) e olanzapina (n=52; dose media= 15.2 mg/day, range 5-20). La risposta clinica è stata valutata dopo sei settimane dall'inizio del trattamento antipsicotico, mediante l'utilizzo rispettivamente della scala BPRS (*Brief Psychiatric Rating Scale*) che valuta la psicopatologia generale, della scala SANS (*Scale for the Assessment of Negative Symptoms*) per la valutazione dei sintomi negativi e della scala SAPS (*Scale for the Assessment of Positive Symptoms*) per la valutazione dei sintomi positivi. Sono stati definiti *responders* i pazienti che avevano ottenuto una riduzione dello score nella scala BPRS di almeno il 40%, mentre la risposta ai sintomi positivi (SAPS) e negativi (SANS) è stata definita secondo i tre criteri seguenti: a) riduzione di almeno il 40%

rispetto al valore pretrattamento, b) uno score finale inferiore a 8 e c) nessun item con punteggio di 3 o superiore.

I tre gruppi di trattamento antipsicotico non differiscono nella distribuzione dei polimorfismi 5-HTTLPR ($\chi^2=0.66$, $df=4$, $P=0.96$) e rs25531 ($\chi^2=0.55$, $df=4$, $P=0.76$) o nei punteggi ottenuti al *baseline* nelle scale di valutazione clinica BPRS, SAPS e SANS. Sulla base di questi risultati, gli autori hanno inizialmente valutato l'associazione dei polimorfismi 5-HTTLPR e rs25531 con la risposta al trattamento antipsicotico nella totalità dei pazienti a disposizione. I risultati mostrano che gli eterozigoti L/S per il polimorfismo 5-HTTLPR presentano una migliore risposta dei sintomi negativi (55.9%), rispetto agli omozigoti LL e SS (37.7%) ($\chi^2=7.05$, $df=1$, $P=0.008$). Nella scala di valutazione della risposta ai sintomi negativi, la distribuzione degli alleli L ed S tuttavia non differisce in maniera significativa tra pazienti *responders* e *non responders* ($p=0.32$). Il polimorfismo 5-HTTLPR non risulta invece associato alla risposta clinica valutata mediante le scale BPRS e SAPS. I risultati mostrano inoltre che il polimorfismo rs25531, se analizzato singolarmente, non risulta associato a nessuna delle tre scale utilizzate, mentre se combinato con il polimorfismo 5-HTTLPR evidenziano una maggior frequenza degli omozigoti L_A/L_A tra i *non responders* ai sintomi negativi (70%), rispetto ai soggetti non portatori del genotipo L_A/L_A (50%) ($\chi^2=5.16$, $df=1$, $P=0.02$). Quando l'associazione dei polimorfismi 5-HTTLPR e rs25531 viene valutata all'interno di ciascun gruppo di trattamento, l'unico risultato significativo evidenziato riguarda l'associazione del polimorfismo 5-HTTLPR con la risposta dei sintomi negativi nel gruppo di pazienti trattati con olanzapina ($n=52$) ($\chi^2=8.47$, $df=1$, $P=0.01$), dovuta ad una maggiore frequenza degli eterozigoti L/S tra i *responders* (63.3%) rispetto ai *non responders* (22.7%).

La risposta al trattamento antipsicotico nei pazienti *drug-naive* con primo episodio psicotico non è influenzata da possibili fattori confondenti che caratterizzano invece gli studi condotti in pazienti cronici, quali gli effetti della cronicità della malattia e di trattamenti farmacologici precedenti. I risultati di questo studio tuttavia differiscono da quelli ottenuti nei due unici studi che finora hanno valutato l'associazione di polimorfismi del trasportatore della serotonina con la risposta precoce a farmaci antipsicotici in pazienti con primo episodio psicotico. Il primo di questi studi, condotto in pazienti di origine Caucasica, aveva evidenziato in pazienti trattati con risperidone e aloperidolo un'associazione, sia dell'allele S che del genotipo SS, con una risposta clinica peggiore valutata attraverso la scala BPRS. Questa associazione risultava ancora più significativa se il polimorfismo rs255315 veniva analizzato in combinazione con il polimorfismo HTTLPR. Nel secondo studio, condotto in pazienti di origine Asiatica, era stata riscontrata un'associazione tra l'allele L ed una migliore risposta alla scala BPRS. I risultati dello studio qui descritto non confermano quindi gli studi precedenti e devono pertanto essere considerati dati preliminari che necessitano di una conferma in una casistica più ampia. Considerato inoltre che la risposta al trattamento antipsicotico verosimilmente non è il risultato dell'effetto di una o poche varianti a livello di un singolo gene, gli studi futuri dovranno valutare l'associazione sia di altre varianti comuni del gene del trasportatore della serotonina, quali per esempio il polimorfismo VNTR dell'introne 2, sia il ruolo di polimorfismi in geni serotonergici e dopaminergici potenzialmente coinvolti nella risposta a farmaci antipsicotici.

In conclusione, i risultati di questo studio mostrano che il genotipo L/S del polimorfismo 5-HTTLPR è associato ad una migliore risposta dei sintomi negativi a farmaci antipsicotici, ed in modo particolare al farmaco olanzapina, in pazienti *drug-naive* con primo episodio psicotico.

Parole chiavi: trasportatore della serotonina, schizofrenia, farmaci antipsicotici, primo episodio psicotico.

Riferimento bibliografico

[Vázquez-Bourgon J](#) et al. *Psychiatry Res.* 2010; 175(3):189-94

MUTAZIONI DI *TP53* E RISPOSTA COMPLETA A CHEMIOTERAPIA NEOADIUVANTE CON CISPLATINO E FLUOROURACILE NEL CARCINOMA A CELLULE SQUAMOSE DELLA CAVITÀ ORALE ASPORTATO CHIRURGICAMENTE

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Il trattamento del carcinoma testa collo avanzato a cellule squamose (HNSCC) richiede un approccio multidisciplinare, con chirurgia, radioterapia e chemioterapia a base di cisplatino; l'interesse nella terapia neoadiuvante è cresciuto recentemente per i benefici sulla sopravvivenza, in particolare quando viene utilizzato un regime cisplatino-tassani al posto di quello standard, cisplatino-fluorouracile. L'identificazione di predittori della risposta tumorale permetterebbe una selezione più razionale delle strategie terapeutiche, riducendo il rischio di tossicità in pazienti che non beneficerebbero della terapia neoadiuvante.

Alcuni studi hanno evidenziato una stretta correlazione tra le mutazioni di *TP53* e la risposta a chemioterapia neoadiuvante a base di cisplatino in pazienti con HNSCC, sottolineando come lo stato di *TP53* possa essere un predittore di risposta, visto che la proteina p53 è coinvolta nell'apoptosi stimolata dai farmaci antitumorali che hanno come bersaglio il DNA.

In questo studio, condotto in Italia, viene indagata la relazione tra lo stato di *TP53* e la risposta a trattamenti inducenti danno al DNA, focalizzando l'attenzione sul valore predittivo delle mutazioni di questo gene e lo stato funzionale in pazienti affetti da carcinoma a cellule squamose (SCC) della cavità orale, inseriti in un *trial* multicentrico randomizzato, disegnato per confrontare la chirurgia da sola con la chemioterapia primaria seguita dall'intervento chirurgico.

Lo studio ha coinvolto 98 pazienti con SCC della cavità orale operabile, non trattato e localmente avanzato, arruolati nel braccio con chemioterapia adiuvante, che comprendeva tre cicli di cisplatino (P – 100mg/m² il giorno 1) e fluorouracile (F – 1000mg/m² somministrato in infusione di 120 h ogni 21 giorni). In caso di progressione della malattia o malattia stabile in accordo con i criteri dell'OMS, la chemioterapia veniva interrotta e i pazienti sottoposti a intervento chirurgico; in media il tempo che intercorreva tra la fine dell'ultimo ciclo chemioterapico e la chirurgia (resezione primaria del tumore, dissezione nodale monolaterale in tutti i pazienti e bilaterale in presenza del tumore primario sulla linea mediana) era di 27 giorni. La remissione patologica completa (pCR) è stata definita come assenza di qualsiasi evidenza immunofenotipica e morfologica di cellule tumorali nel sito del tumore e nei nodi rimossi.

Un campione adatto all'analisi mutazionale di *TP53* era disponibile solo da 53 pazienti; 24 (45%) presentavano mutazioni negli esoni 5 e 8: 20 mutazioni *missense* che portano a una sostituzione aminoacidica soprattutto sull'esone 5 (la mutazione Cys176Tyr era presente in due differenti campioni), due mutazioni nonsenso portanti a un codone di stop prematuro e due delezioni, una consistente nella perdita di due codoni nell'esone 5 e una nella perdita di un codone nell'esone 7. Due tumori presentavano anche una mutazione silente che non porta a variazioni nella sequenza aminoacidica della proteina p53 funzionale. Le 22 mutazioni di singolo nucleotide sono state classificate in base alla loro attività di trans attivazione (TA): 21 (95%) delle 22 mutazioni sono state classificate come non funzionali (TA medio $\leq 20\%$) e la rimanente come funzionante parziale (TA medio 68%), associata a pCR; gli altri 29 pazienti presentavano una proteina p53 perfettamente funzionante. La frequenza delle mutazioni è inferiore nei pazienti che hanno raggiunto una pCR (4/15, 27%) rispetto a quelli che no (20/38, 53%), ma la differenza non è statisticamente significativa ($p=0,12$); 4 dei 24 casi mutati hanno raggiunto una pCR (17%). La frequenza delle mutazioni non funzionali è significativamente inferiore nei pazienti che hanno raggiunto pCR (2/14 – 14% vs 19/37 – 51%, $p < 0,02$); in 2 dei 22 (9%) pazienti con mutazioni p53 non funzionale è stata raggiunta una pCR.

Sia l'*overall survival* (OS) che la *disease-free survival* (DFS) sono significativamente migliori nei pazienti che hanno raggiunto una pCR; a 5 anni OS per i pazienti che hanno raggiunto una pCR è del 83% vs 48% per quelli con malattia residua, mentre DFS è rispettivamente del 90% vs 40%.

I pazienti che hanno raggiunto una pCR hanno una più alta frequenza di p53 funzionale (12/14 – 86%) rispetto agli altri (18/37 – 49%); tra i 30 pazienti con p53 funzionale, il 60% non raggiunge una pCR, suggerendo quindi un ruolo limitato dello stato funzionale di p53 come predittore di risposta.

In conclusione, è stata dimostrata un'associazione significativa tra le mutazioni non funzionali di *TP53* e una bassa probabilità di pCR in pazienti con SCC della cavità orale trattati con chemioterapia PF neoadiuvante.

Questi risultati promettenti sottolineano come la perdita di attività di p53 per mutazioni del gene predicano una scarsa risposta più che una pCR a chemioterapia neoadiuvante a base di cisplatino.

P53 potrebbe non solo indurre apoptosi e favorire la risposta al trattamento, ma anche indurre in arresto irreversibile del ciclo cellulare, che può bloccare la crescita tumorale attraverso il processo della senescenza; sono quindi necessari ulteriori studi per chiarire il ruolo della senescenza cellulare nei trattamenti di HNSCC, cercando di far luce sull'assenza di pCR anche in presenza di una p53 funzionale.

Questi dati indicano come la selezione dei pazienti con SCC della cavità orale sulla base dello stato di *TP53* potrebbe contribuire a identificare il trattamento più efficace e suggeriscono come siano necessari ulteriori studi sul ruolo di *TP53* nella risposta a chemioterapia a base di tassani.

L'editoriale di accompagnamento, a cura di Mroz e Rocco, sottolinea alcuni limiti dello studio; innanzitutto, la chemioterapia non include un tassano, che recentemente ha dimostrato di migliorare la sopravvivenza in pazienti con HNSCC rispetto al regime platino/fluorouracile e la risposta al quale potrebbe dipendere meno dallo stato di p53. Inoltre sono state esaminate solo le mutazioni di TP53 in 4 esoni e in particolare non è stato studiato l'esone 4, per cui non si hanno informazioni sul polimorfismo a carico del codone 72 con sostituzione arginina/prolina, che è noto influenzare la risposta ai farmaci nel HNSCC. Infine lo studio non esamina lo stato di TP53 nel braccio trattato solo chirurgicamente. Questo studio identifica quindi p53 come biomarker che permette di identificare pazienti con HNSCC che possono meglio trarre benefici dalla chemioterapia, in termini di chirurgia meno aggressiva e minor necessità di radioterapia, ma sono necessari ulteriori studi prima che questo biomarker possa essere utilizzato nella pratica clinica. Ad oggi, l'approccio ottimale ai tumore avanzati della cavità orale rimane l'intervento chirurgico, con radio o chemioterapia nei casi ad alto rischio.

Parole chiave: *TP53*, cisplatino, fluorouracile, carcinoma a cellule squamose della cavità orale

Riferimento bibliografico

[Perrone F](#) et al. *J Clin Oncol* 2010, 28(5): 761-66

Mroz EA & Rocco JW *J Clin Oncol* 2010, 28(5): 715-17

LIVELLI ELEVATI DI ANTICORPI SPECIFICI PER TRIBBLES OMOLOGO 2 IN PAZIENTI CON NARCOLESSIA

A cura della Dott.ssa Maria Cecilia Giron

La narcolessia è un disordine del sonno caratterizzato da eccessiva sonnolenza diurna ed episodi di perdita del tono muscolare in seguito ad una forte emozione (catalessia). Tale patologia è causata da deficienza di ipocretina per perdita di neuroni ipotalamici, responsabili della sua secrezione. Attualmente si pensa che la narcolessia sia una patologia autoimmune ma non esistono evidenze certe, come ad esempio la scoperta di specifici autoanticorpi. La narcolessia è inoltre strettamente associata al sistema HLA (antigeni umani leucocitari - *Human Leucocyte Antigens*): infatti il 95% dei pazienti con narcolessia e catalessia sono portatori dell'allele HLA-DQB1*602 e con livelli non rilevabili di ipocretina nel liquido cerebrospinale (CSF).

In questo studio sono stati messi a punto 1) un modello murino transgenico per valutare quali proteine, coespresse con l'ipocretina, possano essere bersagli di una risposta autoimmune durante la narcolessia; 2) un test ELISA per determinare la presenza di autoanticorpi contro Tribbles omologo 2 (Trib2) nel siero e nel CSF di soggetti controllo e di pazienti con narcolessia o con altre patologie neurologiche.

Topi transgenici Pabpc1-ipocretina sono stati creati e caratterizzati al fine di poter misurare solo gli mRNA prodotti da neuroni secernenti ipocretina nell'ipotalamo. Tale modello è risultato altamente efficiente nel

rilevare l'espressione di mRNA per l'ipocretina rispetto a quella dell'ormone concentrante melanina, un'altra proteina presente nella stesso tessuto che forma popolazioni distinte di neuroni ma parzialmente sovrapposte a quelle di ipocretina. Grazie a studi di *microarray* di oligonucleotidi è stato possibile identificare 23 trascritti i quali (però pur non essendo riportati come specificamente espressi in neuroni secernenti ipocretina) possono avere importanza funzionale ed essere coinvolti nelle anomalie neuronali della narcolessia. Sono stati esaminati in particolare quattro geni candidati, Igfbp2, Slc12a6, Spin1 e Trib2, e tra questi solo Trib2 è risultato essere un autoantigene presente nell'uveite, malattia autoimmune spesso associata ad HLA-DR15 e ad narcolessia in un paziente.

In parallelo sono stati arruolati pazienti affetti da narcolessia con catalessia (n=119, HLA-DQB1*602-positivi) o senza (n=24), pazienti con ipersonnia idiopatica (n=23), individui con sclerosi multipla o altra patologia neurologica infiammatoria (n=9) e soggetti controllo (n=42) in cliniche o in centri del sonno affiliati all'Università di Losanna, Svizzera. Nel siero di tutti i pazienti con narcolessia è stato evidenziato un aumento significativo del livello di anticorpi specifici per Trib2 ($P < 3 \times 10^{-9}$). In particolare 56 pazienti con narcolessia (39%) rispetto al totale (n=143) sono risultati avere livelli di anti-Trib2 con valori $> \text{media} + 1\text{DS}$ dei controlli. Pur non essendo stato possibile definire una correlazione fra la concentrazione di anti-Trib2 e la durata della patologia, la presenza di anticorpi misurati nel siero dei pazienti è risultata diminuire marcatamente durante i primi 2-3 anni dalla comparsa, ma rimanendo però sempre a valori superiori alla $\text{media} + 1\text{SD}$ della concentrazione misurata nei controlli anche dopo 30 anni dall'inizio della patologia ($P < 5 \times 10^{-5}$). Il dosaggio di anti-Trib2 è risultato significativamente e positivamente correlato con la frequenza della catalessia ($r=0,74$, $P < 0,02$) e tendenzialmente correlato anche con la gravità della sonnolenza ($r=0,67$, $P=0,06$). In un limitato numero di pazienti (n=26 con narcolessia e catalessia; n=6 con narcolessia; n=4 con ipersonnia idiopatica; n=15 con sclerosi multipla) sono stati trovati bassi livelli di anticorpi specifici per Trib2 nel CSF ma senza differenze significative fra i gruppi di soggetti.

Questo è il primo studio che identifica autoanticorpi nella narcolessia umana che nel caso di Trib2 raggiungono livelli significativamente elevati ($> 2,5\text{-}3\text{ DS}$) in pazienti con narcolessia e catalessia. Pur non essendo la proteina Trib2 specifica per i neuroni secernenti ipocretina, essendo poco espressa ma in modo altamente concentrato in questa popolazione neuronale, si può ipotizzare che altri trascritti come ad esempio Igfbp2 o Slc12a6 possano giocare un ruolo funzionale nella trasmissione neuronale ipocretinergica, come evidenziato per Igfbp3. In conclusione questi risultati rafforzano l'ipotesi che la narcolessia è una patologia autoimmune e suggeriscono di sottoporre ad immunoterapia i pazienti aventi diagnosi precoce ed alti livelli di anti-Trib2.

Conflitto di interesse: L'autore Tafti M. dichiara di aver ricevuto finanziamenti da UCB Pharma S.A., Belgio.

Parole chiave: narcolessia, Tribbles omologo 2, patologie autoimmuni

Riferimento bibliografico

[Cvetkovic-Lopes V et al. J Clin Invest. 2010, 120\(3\):713-9.](#)

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

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Maria Cecilia Giron (Università di Padova) Dott.ssa Valentina Mey (Università di Pisa) Dott.ssa Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Simona Ricciardi (Università di Pisa) Dott. Vittorio Simeon (Seconda Università di Napoli) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: sif@unito.it

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione.

In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura.

La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia.

IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso.

Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto.

Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti

responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate.

Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di “SIF–Informa” 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 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; sif.informazione@segr.it; sifcese@comm2000.it.
