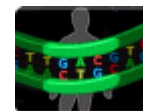


**SIF - FARMACOGENETICA**

Newsletter Numero 17 - Aprile 2010

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

Sommario

- Dosaggio di Irinotecano stabilito in base al genotipo durante uno studio di fase I in pazienti con cancro coloretale metastatico
- Lo studio Rotterdam: analisi di polimorfismi a singolo nucleotide che sono associati con una modificata risposta alla terapia con statine
- Aplotipi di eNOS influenzano la risposta antipertensiva nella preeclampsia ma non nell'ipertensione gestazionale
- Polimorfismi genetici della glutatione metil-transferasi e sopravvivenza dei pazienti con tumore del polmone dopo chemioterapia con cisplatino
- Varianti geniche del recettore dopaminergico D2 e risposta clinica al trattamento con farmaci antipsicotici: risultati di una meta-analisi
- Influenza della farmacogenetica su risposta e tossicità di doxorubicina e ciclofosfamide in pazienti affetti da cancro alla mammella
- Uno SNP a livello dell'*hotspot* mutazionale WT1 predice un *outcome* favorevole in pazienti affetti da leucemia mieloide acuta citogeneticamente normale
- Polimorfismi del gene della metilentetraidrofolato riduttasi (MTHFR) e risposta a FOLFOX in pazienti con cancro coloretale

DOSAGGIO DI IRINOTECANO STABILITO IN BASE AL GENOTIPO DURANTE UNO STUDIO DI FASE I IN PAZIENTI CON CANCRO COLORETTALE METASTATICO

A cura della Dott.ssa Cristina Tonello

Il cancro coloretale è il tumore più comune in Europa e il terzo a livello mondiale. FOLFIRI (Irinotecano, Fluorouracile e Leucovorina) è un importante regime di scelta a livello internazionale, a causa della sua tollerabilità e della sua efficacia. L'irinotecano è un inibitore della topoisomerasi-I, enzima cellulare deputato al mantenimento della struttura del DNA durante i processi di traslazione, trascrizione e mitosi. Può dare gravi forme di diarrea, nausea/vomito, leucopenia, alopecia. E' un profarmaco che in vivo subisce l'idrolisi del gruppo carbammato per dare il metabolita attivo, 1000 volte più potente del precursore. Numerosi studi di farmacogenetica sono stati condotti negli ultimi anni per valutare quale potesse essere l'impatto di alcune varianti genetiche del gene UGT (uridina-glucuronosil-transferasi) nella modulazione della risposta e della tossicità al trattamento con irinotecano. Tali ricerche suggeriscono che la farmacocinetica e la tossicità da trattamento chemioterapico con irinotecano risultano essere determinate dalla variabilità genetica a livello della regione TATA box del promotore del gene UDP-glucosil-transferasi A1 (UGT1A1). Questo comporta un maggior rischio di sviluppo di tossicità per una maggiore esposizione al farmaco nella sua forma attiva. Il polimorfismo che è risultato di maggiore impatto sulla riduzione della attività enzimatica

nella popolazione Caucasica è UGT1A1*28. UGT1A1 è coinvolto nell' inattivazione di SN38, il metabolita attivo dell'irinotecano. Nella popolazione generale si osservano tre principali genotipi a livello del promotore del gene UGT1A1: il genotipo omozigote wild type (UGT1A1*1), caratterizzato da 6 ripetizioni del dinucleotide timidina-adenina e denominato (TA)6/6, il genotipo omozigote mutato con 7 ripetizioni del dinucleotide TA denominato (TA)7/7 (UGT1A1*28), e il genotipo eterozigote denominato (TA)6/7 che possiede su un cromosoma l'allele wild type e sull'altro cromosoma l'allele con la ripetizione extra. L'introduzione del dinucleotide extra determina una diminuzione dell'attività enzimatica con conseguente aumento dei livelli del metabolita attivo dell'irinotecano ed insorgenza di gravi effetti collaterali. In particolare tra i pazienti trattati con irinotecano, quelli aventi genotipo (TA)7/7 e (TA)6/7 mostrano una maggiore severità di effetti avversi, tra cui diarrea e neutropenia, rispetto a pazienti con genotipo (TA)6/6. Il dosaggio standard di irinotecano in FOLFIRI è 180 mg/m² ogni due settimane. Gli autori di questo lavoro ipotizzano che gli individui con il gene UGT1A1 wild-type sono meno sensibili agli effetti tossici di irinotecano e hanno svolto uno studio di "dose-finding" per pazienti UGT1A1*1/*1 e UGT1A1*1/*28 con dosi crescenti del farmaco.

Lo scopo primario dello studio è stato quello di stabilire la dose massima tollerata (MTD) e la tossicità limite della dose (DLT) di irinotecano in FOLFIRI al 1° ciclo in pazienti con genotipi UGT1A1*1/*1 e UGT1A1*1/*28. Scopi secondari includevano la valutazione di: (1) la sicurezza del dosaggio raggiunto durante l'intero ciclo di terapia, (2) l'effetto del genotipo e delle più alte dosi di irinotecano sull'efficacia di FOLFIRI, (3) la farmacocinetica di irinotecano e dei suoi metaboliti. La dose iniziale di irinotecano per i pazienti UGT1A1*1/*1 e UGT1A1*1/*28 era 215 mg/m² per essere poi aumentata a 260, 310, 370 (*1/*1 e *1/*28) e a 420 mg/m² (solo *1/*1). La DLT era definita come tossicità ematologica di grado 4 e non ematologica di grado 3 e 4 registrata durante il 1° ciclo. Tre pazienti venivano arruolati per ogni ciclo di dosaggio e se nessuna DLT veniva registrata per nessun paziente si passava al dosaggio successivo. Se invece si aveva anche un solo caso di DLT tre pazienti addizionali venivano arruolati allo stesso dosaggio e il passaggio al dosaggio successivo era permesso solo se la DLT si manifestava in meno di due pazienti su sei. Se una DLT veniva quindi registrata a una data dose su un paziente su tre o su più di uno su sei, l'aumento del dosaggio veniva sospeso. Dieci pazienti venivano poi arruolati per un livello di dosaggio inferiore per stabilire la sicurezza e la variabilità farmacocinetica tra i pazienti e se meno di due su dieci pazienti sviluppavano tossicità questa dose veniva considerata come la MTD. La concentrazione plasmatica di Irinotecano e dei suoi metaboliti erano misurate tramite HPLC dopo 0.5, 1, 1.5, 2, 2.25, 2.75, 3, 3.5, 4, 6, 8, 10, 14, 26 e 50 ore dall'inizio dell'infusione del farmaco. Gli autori hanno raccolto i dati clinici relativi alla tossicità per tutto il periodo di trattamento e hanno valutato la risposta in pazienti che avevano ricevuto almeno due cicli.

Di 63 pazienti genotipizzati 35 erano *wild-type*, 24 eterozigoti e 4 omozigoti mutati. Questi ultimi 4 pazienti non erano arruolati nello studio. Tra tutti i pazienti trattati le più comuni DLT erano mielosoppressione (3), diarrea (3) e astenia (3). La percentuale di risposta totale era del 43% ed era maggiore in individui con la presenza di un allele *28 o in quelli trattati con dosi maggiori o uguali alla MTD. Questo studio è molto importante perché propone un nuovo approccio per la fase I dello sviluppo dei farmaci: l'utilizzo dell'informazione genetica per l'aumento del dosaggio del farmaco in quei pazienti che risultano meno sensibili agli effetti tossici della chemioterapia.

In questo lavoro gli autori dimostrano, attraverso l'incremento graduale del dosaggio dell'irinotecano, che la dose raccomandata di 180 mg/m² è considerevolmente più bassa rispetto a quella che può essere tollerata da quei pazienti privi del genotipo ad alto rischio UGT1A1*28/*28.

Secondo gli autori, il dosaggio raccomandato dei farmaci ottenuto attraverso studi tradizionali di fase I che non tengono conto del *background* genetico degli individui dovrebbe essere rivisto alla luce dei marker genetici di rischio di tossicità validati. In particolare per la chemioterapia citotossica classica, la mancanza di stratificazione dei pazienti in base al loro genotipo, può risultare in un significativo sottodosaggio in un sottogruppo della popolazione. Comunque questo studio non può dimostrare che dosi più alte di irinotecano portano ad una maggiore sopravvivenza per la bassa numerosità del campione e per l'eterogeneità dei dosaggi e delle caratteristiche dei tumori. Inoltre le differenze interetniche nella frequenza degli alleli di

UGT1A1 rappresentano una ulteriore limitazione nell'applicazione di questi risultati. Un'altro limite del lavoro riconosciuto dagli stessi autori è la mancanza della ricerca del dosaggio ottimale per quegli individui risultati UGT1A1*28/*28.

In ogni caso, sarà necessario uno studio prospettico con molti più pazienti per verificare se dosi maggiori di irinotecano possono aumentare l'indice terapeutico di FOLFIRI e se altri polimorfismi sono clinicamente rilevanti.

Parole chiave: Irinotecano, *dose-finding*, carcinoma coloretale

Riferimento bibliografico:

[Toffoli G](#) et al. *J Clin Oncol* 2010, 28(5):866-71

LO STUDIO ROTTERDAM: ANALISI DI POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE CHE SONO ASSOCIATI CON UNA MODIFICATA RISPOSTA ALLA TERAPIA CON STATINE

A cura della Dott.ssa Greta Milani

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano la principale causa di morte nell'Unione Europea e sono all'origine di circa il 40% dei decessi, per un totale di 2 milioni di persone/anno.

Le CVD sono, inoltre, una delle cause di infermità di lunga durata e di abbandono del mercato del lavoro e dipendono in larga misura dalle condizioni sociali.

Tuttavia, i tradizionali fattori di rischio, tra cui l'ipercolesterolemia, in particolare l'incremento della frazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL), l'ipertensione, il diabete, il fumo e l'obesità non rendono ragione di tutti i casi di queste patologie. Circa il 50% dei soggetti che sviluppano una CVD, infatti, non presenta nessuno di questi fattori di rischio. In molti soggetti l'unico rischio evidente è rappresentato da una storia familiare di CVD precoce: ciò indica chiaramente una predisposizione genetica allo sviluppo della patologia. I farmaci indicati per il trattamento dell'ipercolesterolemia comprendono: statine, fibrati, ezetimibe, probucolo e acido nicotinico.

Le statine sono sicuramente le più efficaci nel ridurre i livelli plasmatici di colesterolo LDL, mentre la loro azione risulta relativamente meno efficace sulla riduzione dei trigliceridi e sull'incremento delle HDL.

Il meccanismo di azione di questi farmaci consiste nella inibizione competitiva dell'enzima regolatore della sintesi del colesterolo (HMGCoA-reduttasi), con azione di gran lunga prevalente a livello epatico (sede della sintesi endogena del colesterolo).

In questo modo si causa una riduzione della concentrazione intracellulare di colesterolo e un aumento, sulla superficie cellulare, del numero dei recettori per le LDL: il risultato è una maggiore captazione di LDL plasmatiche da parte degli epatociti e la conseguente riduzione della colesterolemia.

Vista la variabilità di risposta alla terapia, in letteratura sono presenti numerosi studi volti all'individuazione di potenziali marcatori genetici predittivi di efficacia delle statine o di possibili tossicità; in particolare sono stati studiati polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) in geni coinvolti nel metabolismo lipidico.

L'obiettivo dello studio presentato è verificare se la presenza di comuni variazioni a livello dei geni coinvolti nel metabolismo lipidico possa modificare l'effetto della terapia con statine sulla colesterolemia.

Lo studio è stato condotto sia sui partecipanti al *trial* clinico denominato "Studio Rotterdam" (RS-I) (Hofman A. et al., *Eur J Epidemiol.* 2007; 22(11): 819–829), iniziato nel 1990, sulla popolazione di Rotterdam sia su una nuova coorte indipendente (RS-II) arruolata a partire dal 2000. Tutti i residenti di un quartiere (Ommoord) della città olandese con più di 55 anni sono stati invitati a partecipare a questi studi, il cui protocollo prevedeva la raccolta di dati anagrafici, fisiologici e terapeutici di tutti i soggetti partecipanti e il monitoraggio, continuo nel tempo, della popolazione.

Inizialmente sono stati selezionati oltre 5000 soggetti tra i partecipanti al RS-I, in trattamento con statine nel periodo dello studio e con almeno una misurazione nota della colesterolemia durante la terapia.

Gli autori del lavoro hanno deciso di studiare 18 geni coinvolti nel metabolismo lipidico, che codificano rispettivamente per: la HMG-CoA reduttasi (*HMGCR*), la squalene sintetasi (*FDFT1*), la colesterolo 7 α idrossilasi (*CYP7A1*), il recettore per LDL (*LDLR*), apolipoproteina B (*APOB*), l'apolipoproteina E (*APOE*),

l'apolipoproteina A-I (*APOA1*), la proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (*CETP*), il trasportatore A1 della famiglia ABC (*ABCA1*), il trasportatore G8 della famiglia ABC (*ABCG8*), la paraoxonasi 1 (*PONI*), la proteina che lega il fattore di trascrizione dell'elemento regolatore dello sterolo (*SREBF1*), il recettore attivato dai proliferatori dei perossisomi – delta, il recettore attivato dai proliferatori dei perossisomi – gamma (*PPARG*), la lipoproteina lipasi (*LPL*), la proteina microsomiale di trasporto dei trigliceridi (*MTP*) e il recettore per la leptina (*LEPR*).

A livello dei geni sopracitati, sono stati analizzati mediante *microarray* complessivamente 667 SNP.

Solo due degli SNP analizzati, rs1532624 a livello del gene che codifica per la proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (*CETP*) e rs533556 a livello del gene codificante per l'apolipoproteina A1 (*APOA1*), hanno evidenziato una differenza nell'efficacia del trattamento farmacologico con statine.

In particolare, per quanto riguarda il polimorfismo del gene che codifica per *CETP*, gli autori hanno dimostrato che soggetti portatori dell'allele a frequenza minore (A), dopo l'inizio della terapia, hanno livelli di colesterolo più alti rispetto a portatori in omozigosi dell'allele C, considerati come il gruppo di riferimento. Soggetti, trattati con statine, con l'allele variante del polimorfismo, infatti, hanno una minore riduzione dei livelli di colesterolo.

Anche per quanto riguarda lo SNP del gene *APOA1* è stato riscontrato che i valori di colesterolo dei soggetti portatori dell'allele a frequenza minore (A) rimangono maggiori rispetto al gruppo di riferimento.

Visto che lo scopo del lavoro è di individuare gli SNP che influenzano la concentrazione di colesterolo in risposta alla terapia con statine e non polimorfismi che influenzino la colesterolemia in generale, si sono valutati, mediante l'analisi di regressione lineare, i livelli di colesterolemia in individui che non assumono il farmaco e le possibili correlazioni con ogni singolo SNP. Entrambi gli SNP identificati in precedenza non sono stati associati con il livello basale di colesterolo totale in soggetti sani: ciò dimostra che sono associati al trattamento farmacologico.

Per confermare i dati ottenuti con i partecipanti al RS-I, è stata effettuata una replica dello studio su una coorte indipendente (RS-II) di circa 2000 partecipanti per gli SNP sopra descritti.

In questa fase è stato dimostrato che il solo SNP del gene *CETP* ha un effetto dose-allele; invece non è stato possibile confermare l'associazione del polimorfismo del gene *APOA1* nella coorte RS-II.

Gli autori hanno quindi comparato i valori di colesterolemia, dopo l'inizio del trattamento, tra i diversi genotipi, sistemando i dati rispetto all'età, al sesso, al livello basale di colesterolo, al livello di HDL basale, la dose di statine e la durata della terapia. Infine è stata effettuata una meta-analisi, seguendo il modello a effetti fissi della varianza inversa, per combinare i risultati ottenuti nello studio RS-I e nella replica RS-II.

Lo studio Rotterdam mette in evidenza i fattori di rischio e le variabili di risultato su un tempo, relativamente lungo, di monitoraggio di una popolazione indipendente.

Questo studio prospettico mostra, per la prima volta in letteratura, una associazione significativa tra lo SNP presente sull'introne 7 del gene *CETP* e la risposta alla terapia con statine.

La novità del presente lavoro sta anche nella scelta degli SNP da analizzare: gli autori hanno selezionato 18 geni candidati, coinvolti nel metabolismo lipidico, per individuare quali modificassero la risposta al trattamento con statine in termini di diminuzione della colesterolemia e non quali SNP modificassero la concentrazione di colesterolo in generale.

Un potenziale limite del lavoro, ammesso dagli stessi autori, è rappresentato dalla scelta di usare come variabile di interesse le concentrazioni di colesterolo LDL e non i valori di colesterolo totale.

Inoltre, se gli autori avessero potuto considerare come variabile la differenza tra colesterolo totale prima e dopo l'inizio della terapia, avrebbero potuto includere altri SNP che mostravano effetti sia sui livelli di colesterolo totale sia sulla risposta al trattamento con statine.

[Nella newsletter di [SIF- farmacogenetica n.11 di Ottobre 2009](#), è possibile trovare un articolo, commentato dal Dr.Terrazzino, sull'influenza di alcuni SNP sul trattamento con statine in pazienti provenienti dalla popolazione inclusa nello Studio Rotterdam.]

Parole chiave: statine, ipercolesterolemia, CETP, APOA1

Riferimento bibliografico:

[De Keyser CE](#) et al. *Pharmacogenomics J.* 2010 Mar 2. [Epub ahead of print]

APLOTIPI DI eNOS INFLUENZANO LA RISPOSTA ANTIPERTENSIVA NELLA PREECLAMPSIA MA NON NELL'IPERTENSIONE GESTAZIONALE

A cura del Dott. Vittorio Simeon

L'ipertensione è una delle malattie più frequenti in gravidanza e colpisce approssimativamente il 10% delle donne in attesa. Tra i disordini ipertensivi, la preeclampsia (PE) e l'ipertensione gestazionale (IG) possono comportare numerose complicazioni sia per la madre che per il feto, con insufficienza renale, insufficienza epatica, edema cerebrale, prematurità e morte del feto. È stato accertato che l'aumento della pressione sanguigna osservata in questi disordini è dovuta ad una scarsa perfusione placentare. I farmaci antipertensivi utilizzati in terapia non sono in grado di antagonizzare in pieno le alterazioni fisiopatologiche, ma garantiscono il mantenimento della gravidanza aumentando l'età gestazionale con una netta diminuzione degli eventi avversi sia materni che fetali.

A questo proposito, le linee guida per il trattamento antipertensivo dei disordini della gravidanza (NHBPEP, *National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy*) raccomandano strategie terapeutiche basate su una diagnosi specifica di ipertensione da lieve a moderata fino a severa e preeclampsia. La terapia specifica per questo tipo di disordine ipertensivo include metildopa, nifedipina, idralazina e labetalolo.

Gli effetti clinici prodotti da molti di questi farmaci antipertensivi (bloccanti dei canali del calcio e alcuni beta bloccanti) includono un aumento della biodisponibilità dell'ossido nitrico (NO). Questa piccola molecola è essenziale nella regolazione del tono vascolare ed è stato ampiamente descritto un incremento della produzione di NO durante una gravidanza fisiologica. Viceversa, sia nella preeclampsia che nell'ipertensione gestazionale è stata riportata una ridotta formazione di NO, suggerendo un ruolo potenziale di tale riduzione nella patogenesi dei disordini ipertensivi in gravidanza. In più, già dai primi studi era stato ipotizzato un ruolo dei polimorfismi e degli aplotipi del gene della monossido d'azoto sintetasi endoteliale (eNOS) nei disordini ipertensivi in gravidanza, suggerendo l'importanza di tali variazioni genetiche nella predisposizione a questo tipo di patologia (Choi et al. *Ann Clin Lab Sci* 2002, 32:257-263; Sandrim VC et al. *J Hypertens* 2006, 186:428-432).

Nel recente lavoro pubblicato su *The Pharmacogenomic Journal* da Sandrim VC et al. è stata valutata l'associazione tra i polimorfismi e gli aplotipi del gene della eNOS e la risposta farmacologica antipertensiva nella cura della preeclampsia e della ipertensione gestazionale.

Tutte le pazienti incluse in questo studio sono state reclutate presso il Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia dell'Ospedale Universitario della Facoltà di Medicina di Ribeirão Preto, San Paolo del Brasile. Sono state studiate 304 donne in gravidanza (152 con ipertensione gestazionale, IG e 152 con preeclampsia, PE).

I disordini antipertensivi erano definiti in accordo con le linee guida del NHBPEP. La PE era definita come un incremento della pressione sanguigna (pressione sistolica ≥ 140 mm Hg o pressione diastolica ≥ 90 mm Hg in due o più misurazioni a 6 ore di distanza) con proteinuria (≥ 0.3 g per 24h), in una donna alla ventesima settimana di gestazione. L'IG era definita come ipertensione indotta dalla gravidanza (pressione sistolica ≥ 140 mm Hg o pressione diastolica ≥ 90 mm Hg in due o più misurazioni a 6 ore di distanza) senza proteinuria (< 0.3 g per 24h), in una donna alla ventesima settimana di gestazione. Nessuna paziente con ipertensione preesistente è stata inclusa in questo studio.

Le pazienti arruolate in questo studio erano tenute sotto stretta osservazione per valutare eventuali segni e sintomi di PE o IG, con valutazione continua dello stato del feto e test biochimici almeno 2 volte a settimana. La risposta alla terapia era basata su parametri sia clinici che di laboratorio in seguito alla somministrazione dei farmaci antipertensivi. Il farmaco antipertensivo di prima scelta era la metildopa (1000-1500 mg al giorno), seguito dalla nifedipina (40-60 mg die) e/o l'idralazina (5-30 mg die), aggiunte in caso di scarsa risposta alla metildopa.

I seguenti *outcome* clinici e di laboratorio erano considerati come segno di mancata risposta alla terapia:

1. vista annebbiata, mal di testa persistente e dolore epigastrico;
2. pressione sistolica ≥ 140 mm Hg, pressione diastolica ≥ 90 mm Hg;
3. sindrome di HELLP (emolisi, alti livelli di enzimi epatici e bassa conta piastrinica) con proteinuria > 2.0 g per 24 ore; valori di creatinina > 1.2 mg o di urea > 30 mg, per 100 ml di sangue; valori di AST > 40 UI⁻¹ e di ALT > 60 UI⁻¹.
4. Ridotte funzioni vitali del feto rivelate tramite cardiocografia, ritardo di crescita intrauterina, oligoamnio, profilo biofisico fetale anomalo, anomalie nell'analisi all'eco-doppler.

Durante l'ospedalizzazione delle pazienti veniva effettuato un prelievo di sangue per l'analisi del DNA genomico. Il DNA era estratto utilizzando una metodica di *salting-out* e conservato a -20°C fino all'analisi. Nell'analisi del gene di eNOS sono stati presi in considerazione tre polimorfismi di rilevanza clinica: il polimorfismo T-786C nella regione 5' fiancheggiante del gene e il polimorfismo Glu298Asp nell'esone 7 (studiati entrambi tramite *Taqman Allele Discrimination assay*), e la variazione del numero delle *tandem repeats* nell'introne 4 (studiata tramite PCR e separazione dei frammenti per elettroforesi in gel di poliacrilammide all'8%).

Le pazienti venivano suddivise in due gruppi a seconda della risposta alla terapia (*responsive vs non-responsive*) e combinate per età, etnia, fumo, % di primigravide e indice di massa corporea ($p > 0.05$). Come atteso, nelle pazienti con PE e IG, il gruppo non-responsive presentava livelli di pressione sistolica e diastolica maggiori rispetto al gruppo responsive (entrambe, $p < 0.05$). Solo nelle pazienti con PE, il gruppo non-responsive mostrava una minore età gestazionale e un minore peso alla nascita rispetto al gruppo responsive ($p < 0.05$).

La distribuzione dei genotipi non mostrava differenze significative dall'equilibrio di Hardy-Weinberg ($p > 0.05$), e non vi erano differenze significative tra i genotipi e la distribuzione allelica dopo la comparazione dei gruppi responsive e non-responsive di entrambe le patologie ($p > 0.05$).

Veniva quindi approfondita l'analisi, prendendo in considerazione gli aplotipi di eNOS piuttosto che la sola distribuzione dei singoli polimorfismi. Non vi erano differenze significative nella distribuzione aplotipica di eNOS tra i gruppi responsive e non-responsive delle pazienti con IG ($p > 0.05$). Al contrario, la comparazione dei gruppi responsive e non-responsive delle pazienti con PE mostrava una differenza significativa nella distribuzione aplotipica di eNOS ($p = 0.0003$). In particolare, l'aplotipo "C Glu a" era più frequente nel gruppo delle pazienti responsive rispetto alle non-responsive (36 vs 10%; $p = 0.0003$; odds ratio=3.65; CI 95%= 1.74-7.67), e l'aplotipo "T Asp a" era meno frequente nel gruppo delle pazienti responsive rispetto alle non-responsive (7 vs 22%; $p = 0.0007$; odds ratio=0.23; CI 95%= 0.09-0.58).

I risultati del presente studio evidenziano quindi l'influenza degli aplotipi di eNOS 'C Glu a' e 'T Asp a' nella risposta alla terapia antipertensiva nelle pazienti con PE, ma non con IG. È interessante evidenziare come nella precedente analisi dei singoli polimorfismi non sia stata osservata alcuna associazione con la risposta alla terapia. Inoltre gli aplotipi di eNOS modificano la risposta alla terapia antipertensiva nelle pazienti con PE ma non in quelle con IG, suggerendo quindi, almeno in termini di risposta alla terapia, una differente base genetica per queste due patologie. Un aspetto ancora da chiarire e approfondire è la relazione che questi farmaci hanno con la biodisponibilità dell'NO; mentre per l'idralazina e la nifedipina è noto un rapporto con la biodisponibilità di NO, per la metildopa questo meccanismo non è ancora stato chiarito.

In conclusione, questo studio oltre a riportare l'interessante dato sull'interazione degli aplotipi di eNOS con la risposta antipertensiva, evidenzia come l'utilizzo di marker genetici multipli (strutture aplotipiche) sia molto più efficace nello studio dei fenotipi complessi, come quelli delle malattie poligenetiche e della risposta farmacologica.

Gli aplotipi di eNOS 'C Glu a' e 'T Asp a' influenzano la risposta alla terapia antipertensiva nella preeclampsia.

Parole chiave: eNOS, gravidanza, antipertensivi

Riferimento bibliografico

[Sandrim VC](#) et al. *Pharmacogenomics J.* 2010, 10(1):40-5

POLIMORFISMI GENETICI DELLA GLUTATIONE METIL-TRANSFERASI E SOPRAVVIVENZA DEI PAZIENTI CON TUMORE DEL POLMONE DOPO CHEMIOTERAPIA CON CISPLATINO

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e dei Dott. Guido Bocci e Antonello Di Paolo

I composti del platino hanno un largo impiego in molte forme di tumore, tra cui il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) e dell'ovaio. Tuttavia, circa il 70% dei pazienti con NSCLC presenta una risposta non soddisfacente al trattamento le cui cause non sono ancora del tutto note. Poiché l'azione citotossica del cisplatino si esplica mediante la formazione di addotti al DNA tra basi puriniche, 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, oltre che dai sistemi di trasporto di questo farmaco. I composti del platino possono essere inattivati tramite coniugazione con glutatione e, dal momento che gli enzimi implicati (glutatione S-transferasi, GST) mostrano polimorfismi genetici di significato funzionale, la sopravvivenza dei pazienti può essere influenzata dall'attività di tali sistemi enzimatici; la conoscenza di queste varianti genetiche può permettere la stratificazione dei pazienti sulla base della loro probabilità di risposta al trattamento.

A tale scopo Moyer et al. hanno studiato 290 polimorfismi degli enzimi della via metabolica del glutatione e dei trasportatori cellulari del cisplatino in 973 pazienti con tumore del polmone per valutare il loro possibile contributo nella variazione della risposta alla terapia con platino. I geni studiati sono stati: i trasportatori *ATP-binding cassette* ABCC1, ABCC2, ABCC3, ABCC4, la glutammato-cisteina ligasi GCLC e GCLM, le isoforme GPX1, GPX2, GPX3, GPX5, GPX6, GPX7 della glutatione perossidasi, la glutatione reduttasi GSR, la glutatione sintetasi GSS e le isoforme GSTA1, GSTA2, GSTA3, GSTA4, GSTA5, GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4, GSTM5, GSTO1, GSTO2, GSTP1, GSTT1, GSTT2, GSTZ1 di glutatione S-transferasi. Dopo aver identificato gli SNPs che correlavano con i dati clinici dei pazienti, è stato effettuato uno studio *in vitro* su linee cellulari per valutare l'effetto dei polimorfismi sull'espressione dei geni e sulla chemiosensibilità a cisplatino.

E' stato esaminato il DNA estratto da sangue periferico di 973 pazienti con tumore del polmone trattati con chemioterapia contenente cisplatino. La popolazione appartenente allo studio era caucasica ed i pazienti sono stati arruolati presso la *Mayo Clinic* (Rochester, MN, USA) tra il 1997 ed il 2006. Al giugno 2007, 694 pazienti erano deceduti e 279 erano sopravvissuti. La presenza dei polimorfismi è stata valutata tramite sequenziamento automatico. Per lo studio *in vitro* sono state utilizzate linee cellulari linfoblastoidi, le linee cellulari di adenocarcinoma polmonare umano CRL-5872 e CRL-5985 e la linea embrionale HEK293T con elevata espressione di ABCC4.

Quattro polimorfismi hanno mostrato avere una significativa correlazione con la sopravvivenza: il numero di copie di GSTT1, GSTA5 -31+2057C>T (rs4715354), GSTM4 260-34T>C (rs560018) e ABCC4 75-11893T>C (rs7984157). L'esito clinico dei pazienti sembrerebbe dipendere dal numero di copie ripetute di GSTT1, che è associato a sua volta ad aumento di espressione di GSTT1 e riduzione della sopravvivenza dei pazienti. Inoltre, i pazienti eterozigoti GSTM4 e GSTA5 e gli omozigoti mutati di ABCC4 risultano essere associati a minore sopravvivenza.

I genotipi associati a minore sopravvivenza in pazienti affetti da tumore del polmone in trattamento con cisplatino sono: 2 copie di GSTT1, GSTA5-31+2057 CT, GSTM4 TC e ABCC4 CC.

Questi risultati potrebbero essere utili nella definizione di parametri farmacogenetici per stratificare i pazienti con NSCLC sulla base della loro probabilità di risposta al trattamento con cisplatino. Trattandosi, tuttavia, di studi retrospettivi, sarà necessario validare in studi prospettici quanto osservato per produrre un algoritmo che abbia valenza clinico-assistenziale.

Parole chiave: Tumore polmone; cisplatino; GST; ABCC; polimorfismi; sopravvivenza

Riferimento bibliografico

[Moyer AM](#) et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010, 19(3):811-21

VARIANTI GENICHE DEL RECETTORE DOPAMINERGICO D2 E RISPOSTA CLINICA AL TRATTAMENTO CON FARMACI ANTIPSICOTICI: RISULTATI DI UNA META-ANALISI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Diverse linee di evidenza mostrano che il recettore dopaminergico D2 ha un ruolo cruciale nel meccanismo d'azione dei farmaci antipsicotici. Malgrado alcuni studi suggeriscano che la variabilità individuale dell'efficacia dei farmaci antipsicotici possa essere dovuta, almeno in parte, a specifici polimorfismi del gene DRD2, le casistiche limitate e la presenza in letteratura di risultati divergenti non permettono di trarre conclusioni definitive. Una metodologia potenzialmente utile a superare questi limiti è l'utilizzo della tecnica meta-analitica che con tecniche statistiche quantitative consente di combinare in un unico dato i risultati ottenuti nei singoli studi. In questo studio gli Autori hanno condotto una revisione sistematica della letteratura ed effettuato una meta-analisi degli studi rilevanti allo scopo di valutare l'esistenza di associazione tra varianti polimorfiche del gene DRD2 e risposta al trattamento con farmaci antipsicotici.

La revisione della letteratura è stata effettuata attraverso la consultazione della banca dati MEDLINE, limitata al 31 dicembre 2008. I criteri di inclusione nella meta-analisi sono stati i seguenti: 1) diagnosi di schizofrenia o disordine schizoaffettivo, confermata tramite una intervista clinica strutturata secondo i criteri del DSM-IV; 2) valutazione dell'efficacia terapeutica secondo scale ben standardizzate quali la Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS) o la Clinical Global Impression (CGI); 3) valutazione del periodo di follow-up non superiore a 3 mesi, in quanto a tempi successivi la risposta clinica può essere maggiormente influenzata da fattori confondenti quale la non-compliance. I dati estratti dai singoli studi sono stati analizzati mediante il Cochrane Collaboration Review Manager (RevMan, versione 5.0). Gli odds ratio (OR) ed i relativi intervalli di confidenza (CI) sono stati calcolati utilizzando un modello statistico a effetti fissi. Il test del χ^2 e l'indice di Inconsistenza (I2) sono stati utilizzati per misurare la percentuale di variabilità dovuta all'eterogeneità tra gli studi, mentre il test di Egger è stato utilizzato per evidenziare i potenziali bias delle pubblicazioni.

Per la meta-analisi sono stati selezionati unicamente i polimorfismi del gene DRD2 per i quali fossero disponibili almeno tre studi. Solo due polimorfismi rispondono a questo criterio di selezione: il polimorfismo -141C Ins/Del (rs1799732) che consiste in una inserzione/delezione di una citosina in posizione -141 nella regione 5' del promotore del gene, ed il polimorfismo Taq1A (rs1800497) caratterizzato da una sostituzione C>T situata approssimativamente 10 kb a valle dal gene DRD2 e compreso nella regione codificante del gene ANKK1 (ankyrin repeat and kinase domain containing 1). Secondo i criteri utilizzati dagli Autori, dieci studi risultano eleggibili per la meta-analisi (numero totale di pazienti= 889). Di questi, sei studi riportano dati che si riferiscono al polimorfismo -141C Ins/Del del gene DRD2 (n =687) e otto studi con dati riguardanti il polimorfismo Taq1A (n=748). I risultati della meta-analisi riferiti al polimorfismo -141C Ins/Del mostrano che i pazienti portatori della variante -141C Del hanno una probabilità inferiore di rispondere al trattamento con farmaci antipsicotici rispetto ai pazienti portatori del genotipo -141C Ins/Ins (OR=0.65, 95%CI=0.43-0.97, P=0.03). L'analisi statistica mostra l'assenza sia di eterogeneità tra i differenti studi (χ^2 =9.23, df=5, p=0.10; I2=46%) che di bias di pubblicazione (beta=0.79; 95%CI=-3.05-4.63, p=0.60). In una seconda analisi, limitata ai soli pazienti con primo episodio schizofrenico (n=316), i risultati evidenziano nuovamente che i pazienti portatori della variante -141C Del beneficiano meno dal trattamento antipsicotico rispetto ai pazienti portatori del genotipo Ins/Ins (OR=0.53, 95%CI=0.28-0.99, P=0.05). Per quanto riguarda il polimorfismo Taq1A, i risultati della meta-analisi non mostrano differenze nella risposta al trattamento antipsicotico, sia nel caso di confronto dei pazienti con genotipo A1A1 rispetto ai portatori della variante A2 (OR=1.39, P=0.13), sia quando si confrontano i portatori della variante A1 rispetto ai pazienti A2A2 (OR=1.30, P=0.14). Per entrambi i confronti, l'analisi statistica esclude sia la presenza di eterogeneità tra i differenti studi (A1A1 vs portatori variante A2: χ^2 =10.40, p=0.11; I2=42%; portatori della variante A1 vs A2A2: χ^2 =9.49, p=0.22; I2=26%), che l'esistenza di bias di pubblicazione (A1A1 vs portatori variante A2: beta=-0.07, p=0.93; portatori della variante A1 vs A2A2: beta =0.60, p=0.26).

La casistica piuttosto limitata e l'ampio spettro di farmaci antipsicotici utilizzati, sia tipici che atipici, non ha permesso agli Autori di questa meta-analisi di valutare l'associazione delle varianti del gene DRD2 con l'efficacia dei singoli farmaci antipsicotici. Malgrado agiscano tutti sul recettore D2, i farmaci antipsicotici

possiedono infatti specifici profili di affinità recettoriale, ed in particolare i recettori D3, D4, 5HT2A ed i recettori NMDA possono contribuire in maniera diversa all'azione farmacologica dei differenti farmaci antipsicotici. E' quindi possibile ipotizzare che alcune varianti polimorfiche nei rispettivi geni target possano contribuire alla variabilità dell'efficacia degli antipsicotici in maniera farmaco-specifica. Un secondo limite di questa meta-analisi, e degli studi che la compongono, è rappresentato dal fatto che l'analisi non ha tenuto conto della diversa origine etnica dei pazienti ed è noto che le varianti del gene DRD2 considerate in questa meta-analisi hanno una differente distribuzione nelle diverse etnie. Infine, un altro aspetto particolarmente rilevante nei pazienti psicotici che non è stato preso in considerazione è la non-compliance che produce la sottostima della "dimensione dell'effetto" ossia, nel contesto di studi farmacogenetici, dell'impatto delle varianti geniche sulla risposta al trattamento farmacologico.

In conclusione, i risultati di questa meta-analisi mostrano che il polimorfismo -141C Ins/Del del gene DRD2 è associato all'efficacia dei farmaci antipsicotici, ed in particolar modo nei pazienti con primo episodio schizofrenico.

Parole chiave: Farmaci antipsicotici, recettore D2, polimorfismo -141C Ins/Del, meta-analisi

Riferimento bibliografico

[Zhang JP](#) et al. *Am J Psychiatry* 2010 Mar 1 . [Epub ahead of print]

INFLUENZA DELLA FARMACOGENETICA SU RISPOSTA E TOSSICITÀ DI DOXORUBICINA E CICLOFOSFAMIDE IN PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO ALLA MAMMELLA

A cura delle Dott.sse Eleonora Turrini e Sabrina Angelini

L'associazione doxorubicina e ciclofosfamide (AC) è ampiamente utilizzata nel trattamento adiuvante del cancro alla mammella. I fattori che influenzano la risposta al trattamento con AC includono lo stadio ed il grado del tumore, numero di linfonodi coinvolti, l'espressione dei recettori per estrogeni, progesterone e di ERBB2. Pochi studi hanno valutato l'influenza di variazioni nei geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo e nel trasporto di questi due farmaci. La doxorubicina è substrato dei trasportatori ABCB1 e SLC22A16. La ciclofosfamide è un pro-farmaco attivato da diversi citocromi P450, inclusi CYP-2B6, -2C9, -2C19 e -3A5. Ognuno di questi enzimi e trasportatori è caratterizzato dalla presenza di SNPs che possono influenzare la risposta terapeutica.

Lo scopo di questo studio è stato quello di esaminare l'influenza di SNPs su sicurezza ed efficacia del regime chemioterapico AC in pazienti affetti da cancro alla mammella.

Lo studio è stato condotto su 230 pazienti, arruolati tra marzo 2002 e dicembre 2007, sottoposti a trattamento di associazione doxorubicina (60 mg m⁻²) e ciclofosfamide (600 mg m⁻²), somministrati per via intravenosa al giorno uno di ciascuno dei 4 o 6 cicli di 21 giorni di terapia. L'analisi del genotipo è stata effettuata su DNA genomico; nel complesso sono stati analizzati 17 SNPs nei geni ABCB1 (rs1128503, rs2032582, rs1045642), SLC22A16 (rs714368, rs6907567, rs723685, rs12210538), Cyp2B6 (rs8192709, rs12721655, rs3745274, rs45482602, rs2279343, rs3211371), Cyp2C9 (rs1799853, rs1057910), Cyp2C19 (rs4244285) e Cyp3A5 (rs776746). Gli *endpoints* primari dello studio sono correlare il genotipo con la tollerabilità ad AC, che comprende riduzione della dose, *dose delay* e percorso chemioterapico non completato, e con l'efficacia del trattamento, comprendente il *time to progression* (TTP) e l'*overall survival* (OR).

Tollerabilità - L'analisi ha evidenziato che le varianti alleliche SLC22A16 rs714368, rs6907567 e rs723685 sono associate ad una significativa minor incidenza di *dose delay* rispetto alla presenza dell'allele *wild type* (13% vs 25% $P = 0.031$; 13% vs 25% $P = 0.031$ e 8% vs 23% $P = 0.036$ rispettivamente). Al contrario, *carriers* delle varianti alleliche SLC22A16 rs12210538, Cyp2B6 rs8192709 e rs3211371 si associano ad una maggior incidenza di *dose delay* significativa rispetto alla presenza dell'allele *wild type* (28% vs 16% $P = 0.021$; 55% vs 19% $P = 0.013$ e 29% vs 18% $P = 0.053$ rispettivamente). Leucopenia e neutropenia sono le principali cause del *dose delay*. Degli SNPs analizzati solo il *minor allele* SLC22A16 rs12210538 si associa

a leucopenia dopo il primo ciclo di terapia rispetto al *major allele* (21% vs 6% $P = 0.004$). Una minor incidenza di riduzione della dose è associata all'allele Cyp2B6*9 (rs3745274; 8% vs 2% $P = 0.020$). Infine, non si è osservata alcuna apparente influenza del genotipo sul completamento della terapia.

Efficacia - Carriers dell'allele raro A di ABCB1 (rs2032582) sono caratterizzati da un significativo minor TTP e OS con un *hazard ratio* (HR) rispettivamente di 4.3 (CI 1.3-14.5, $P = 0.018$) e 4.8 (CI 1.1-21.6, $P = 0.039$) rispetto ai *carriers* dell'allele *wild type* combinati con l'altro allele comune T. Si è inoltre osservato un trend di un ridotto TTP e minor OS per i pazienti in omozigosi per l'allele raro Cyp2C19 rs4244285. Analogamente, rispetto ai *carriers* dell'allele *wild type* si osserva un ridotto TTP associato all'omozigosi per l'allele raro Cyp2B6 rs12721655 (HR 6.8, CI 0.91-50.16; $P = 0.06$), mentre pazienti eterozigoti sono caratterizzati da una significativa riduzione dell'OS (HR 11.9, CI 1.55-91.2; $P = 0.017$). Lo SNP Cyp2B6 rs8192709 è associato ad una significativa riduzione del TTP (HR 4.64, CI 1.59-12.55; $P = 0.005$); altri due SNPs in Cyp2B6 (rs3745274 e rs2279343) si associano ad un *outcome* sfavorevole (rispettivamente $P = 0.003$ e $P = 0.05$, log rank test). Infine, la variante Cyp2B6 rs8192709, sebbene associata ad una maggiore incidenza di *dose delay* ($P = 0.013$), è stata paradossalmente associata anche un più lungo TTP, pur non statisticamente significativo ($P = 0.068$). L'analisi multivariata conferma l'influenza di ABCB1 (rs2032582) su TTP e OS, così come viene confermata l'associazione tra gli SNPs Cyp2B6 rs12721655 e rs8192709, rispettivamente con un ridotto OS e un TTP più corto.

In conclusione gli autori sostengono che varianti alleliche nei geni che codificano per i trasportatori ABCB1, SLC22A16 e per Cyp2B6, principale enzima coinvolto nell'attivazione della ciclofosfamide, sembrano influenzare tollerabilità ed efficacia della terapia con AC nei pazienti affetti da tumore alla mammella.

Nonostante queste evidenze, gli stessi autori sottolineano che non è stata effettuata alcuna correzione formale per *multiple testing*, per cui tutti i risultati ottenuti devono essere considerati preliminari. Questo rende necessari ulteriori studi per confermare le evidenze riscontrate in questa popolazione di pazienti, nonché per mettere in luce possibili meccanismi responsabili di variazioni clinicamente significative in termini di sicurezza ed efficacia.

Parole chiave: doxorubicina, ciclofosfamide, cancro alla mammella, ABCB1, SLC22A16, Cyp2B6

Riferimento bibliografico

Bray J et al. *Br J Cancer* 2010, 102:1003-09

UNO SNP A LIVELLO DELL'HOTSPOT MUTAZIONALE WT1 PREDICE UN OUTCOME FAVOREVOLE IN PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA CITOGENETICAMENTE NORMALE

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

La leucemia mieloide acuta (AML) è una malattia eterogenea caratterizzata da diverse aberrazioni citogenetiche ricorrenti che forniscono le informazioni prognostiche più importanti alla diagnosi; tuttavia, circa il 45% dei pazienti adulti affetti da AML sono citogeneticamente normali (CN-AML). Negli ultimi anni sono stati identificati differenti geni mutati nei CN-AML, tra i quali *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* e *MLL*; alcune di queste aberrazioni genetiche sono state associate con la risposta al trattamento, gettando le basi per l'identificazione di nuovi markers per la stratificazione del rischio e nuovi target terapeutici. Un potenziale marker è rappresentato dallo stato mutazionale di Wilms tumor 1 (WT1), potente regolatore trascrizionale di geni coinvolti nella crescita cellulare e nel metabolismo. Vari studi riportano, però, risultati contraddittori riguardo l'impatto delle mutazioni di WT1 sulla prognosi e sull'*outcome* terapeutico nei pazienti CN-AML.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare come il gene WT1 e le sue varianti influenzino l'*outcome* nei pazienti CN-AML. In particolare gli autori hanno valutato l'impatto prognostico dello stato mutazionale, dell'espressione e della presenza dello SNP rs16754 di WT1.

Lo studio è stato effettuato su 249 pazienti (età 17-60 anni) di nuova diagnosi o AML secondaria, citogeneticamente normali, arruolati nei *multicenter treatment trials* AML SHG 0199 ($n = 167$, svolto tra il 1999 - 2004), e AML SHG 0295 ($n = 82$ nel periodo 1995 - 1999); inoltre sono stati analizzati 50 donatori sani. Le analisi effettuate sono state: l'analisi mutazionale, mediante amplificazione e sequenziamento diretto degli esoni 7 e 9 di WT1, che comprende anche lo SNP rs16754 e l'analisi dell'espressione dell'mRNA mediante RT-PCR.

L'analisi ha evidenziato che 29 pazienti (11.6%) presentavano almeno una mutazione WT1 all'esone 7 o 9 mentre il 25.7% ($n = 64$ pazienti) presentava lo SNP rs16754. Di questi ultimi 60 erano eterozigoti (WT1^{AG}) e 4 erano omozigoti per l'allele polimorfo (WT1^{GG}). Le caratteristiche dei pazienti, il regime terapeutico, o la frequenza di mutazioni in *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*, *MLL*, *WT1* o *NPM1*^{mutated}/*FLT3-ITD*^{negative} (*FLT3* con duplicazioni interne in tandem) non differiscono a seconda della presenza o meno dello SNP rs16754. Nel gruppo dei 50 controlli il 36% presentava lo SNP (17 WT1^{AG} e 1 WT1^{GG}).

L'ulteriore comparazione tra pazienti WT1^{mutated} ($n=29$) e WT1^{wild-type} ($n=220$) ha mostrato una distribuzione simile nelle caratteristiche di base, modalità di trattamento, e frequenza delle altre mutazioni, fatta eccezione per un trend verso una frequenza più alta della mutazione di *FLT3* e uno verso una frequenza più bassa *NPM1*^{mutated}/*FLT3-ITD*^{negative}, nei pazienti WT1^{mutated}.

L'87.5% di pazienti con almeno una variante allelica WT1^G sono andati incontro a remissione completa (CR), contro il 76.2% degli omozigoti per l'allele *wild type* (WT1^{AA}; $P = 0.06$). Nell'analisi univariata, pazienti con almeno un allele G rispetto a pazienti AA erano caratterizzati da un *relapse-free survival* (RFS) più lungo (hazard ratio [HR], 0.48; 95% CI, 0.3 - 0.77; RFS 5 anni, 60% [$n=56$] vs 37% [$n=141$]; $P = 0.002$) e da un *overall survival* (OS) significativamente più alto (HR 0.39; 95% CI, 0.24 - 0.63; OS 5 anni, 66% vs 37%; $P < 0.001$). Tale effetto si è dimostrato più prominente in base allo stato mutazionale *NPM1/FLT3*. In particolare, pazienti con lo stato mutazionale ad alto rischio (*FLT3-ITD*^{positive} e/o *NPM1 wild type*) mostrano RFS ed OS significativamente migliori (HR 0.43, CI 95% 0.23-0.79; $P = 0.005$ e HR 0.38, CI 95% 0.21-0.67 $P = 0.001$ rispettivamente). Nei pazienti con lo stato mutazionale a basso rischio la presenza dello SNP rs16754 non comporta differenze in termini di RFS, mentre si osserva un trend verso OS migliori (HR 0.42; 95% CI 0.18-1.02; $P = 0.05$). Un effetto positivo dello SNP su RFS e OS si è anche osservato restringendo l'analisi ai pazienti *NPM1/FLT3-ITD* ad alto rischio e *CEBPA*^{wild type} (RFS: HR 0.43; 95% CI 0.22-0.83, $P = 0.01$; OS: HR 0.39; 95% CI 0.22-0.71, $P = 0.002$). Successivamente è stato osservato che lo stato mutazionale acquisito di WT1 non ha alcun impatto su CR, RFS e OS, indipendentemente dallo SNP rs16754.

Riguardo l'espressione di WT1, l'81% dei pazienti caratterizzati da bassa espressione di WT1 raggiungono la CR contro il 77% dei pazienti con espressione WT1 alta ($P = 0.4$). Questi ultimi sono anche caratterizzati da un OS significativamente più corto (HR 1.47, 95% CI 1.03-2.11; OS 5 anni, 37% vs 51%; $P = 0.03$), mentre non si osservano differenze in termini di RFS.

L'analisi multivariata ha confermato la presenza dello SNP WT1 rs16754 quale fattore indipendente di prognosi favorevole per RFS (HR, 0.44; 95% CI 0.27-0.74; $P = 0.002$) e per OS (HR, 0.49; 95% CI 0.3-0.81; $P = 0.005$) quando considerato insieme allo stato mutazionale di *NPM1/FLT3* e di *CEBPA*, lo stato di espressione di WT1, l'età e la conta delle piastrine e dei globuli bianchi.

In conclusione, l'allele minore WT1^G dello SNP rs16754, situato all'esone 7, è stato identificato come marker indipendente di rischio favorevole in pazienti con CN-AML. Sorprendentemente, lo SNP ha permesso di identificare 33 pazienti (51%) con prognosi favorevole che non era stato possibile identificare da nessuno degli altri markers di rischio conosciuti. Per confermare tale effetto prognostico indipendente, gli stessi autori suggeriscono la necessità di includere la valutazione di questo polimorfismo in maniera prospettica in futuri *trials* su pazienti CN-AML.

La presenza dello SNP non sembra avere impatto sulla suscettibilità alla malattia, considerato che la distribuzione del genotipo è simile tra i pazienti ed i 50 controlli analizzati. Tuttavia gli autori suggeriscono che l'allele minore possa essere associato con la sensibilità al trattamento della CN-AML, anche se non è chiaro come uno SNP sinonimo possa avere un tale effetto sull'*outcome*. I meccanismi, che possono chiarire come l'allele minore WT1^G dello SNP rs16754 possa alterare la funzione di WT1, includono alterazioni della stabilità dell'mRNA, del *folding* o dello *splicing*.

Parole chiave: CN-AML; WT1

Riferimento bibliografico

Damm F et al. *J Clin Oncol* 2010, 28:578-85

POLIMORFISMI DEL GENE DELLA METILENTETRAIDROFOLATO RIDUTTASI (MTHFR) E RISPOSTA A FOLFOX IN PAZIENTI CON CANCRO COLORETTALE

A cura della Dott.ssa Maria Cecilia Giron

La chemioterapia per i pazienti con carcinoma del colon-retto (CRC) avanzato è progredita dal semplice trattamento con fluorouracile (FU) alla somministrazione di FU con acido folinico, alla combinazione di FU con oxaliplatino (FOLFOX) o irinotecan (FOLFIRI), o all'associazione di trattamenti contenenti FU e agenti biologici. L'ampia scelta di strategie chemioterapiche richiede la determinazione di fattori predittivi individuali al fine di scegliere la terapia ottimale per ogni singolo paziente. Scopo del presente studio è stato valutare in modo prospettico il valore predittivo di polimorfismi genetici potenzialmente implicati nella farmacodinamica di FU e oxaliplatino, determinando tossicità, tasso di risposta e *progression-free survival* (PFS) di un protocollo chemioterapico con FOLFOX, considerato un trattamento standard per la cura del CRC.

In questo studio farmacogenetico ancillare prospettico (parte di una sperimentazione multicentrica di Fase II OPTIMOX2 condotta dal gruppo GERCOR; Chibaudel B et al. *J Clin Oncol* 2009; 27:5727-33) sono stati arruolati 147 pazienti con CRC sottoposti a terapia FOLFOX 7. Dal momento che lo scopo primario della sperimentazione multicentrica era valutare l'influenza di periodi di interruzioni di chemioterapia sulla sopravvivenza e qualità della vita, i pazienti sono stati suddivisi in due gruppi per ricevere: gruppo a) (n = 58 pazienti) 6 cicli di FOLFOX 7 modificato [mFOLFOX7, infusione per 2 h di oxaliplatino 100 mg/m² + leucovorin (LV) 400 mg/m² seguita da 46 ore di infusione di FU 3 g/m², die 1 = die 15]; gruppo b) (n = 59 pazienti) 6 cicli di mFOLFOX7, seguiti da terapia di mantenimento con LV-5FU consistente di un regime bimestrale semplificato dal ciclo 7 fino alla progressione [infusione per 2h di LV 400 mg/m² seguita da un bolo di FU 400 mg/m² e poi da infusione di FU 3 g/m² per 46 ore]. Il numero di cicli di mFOLFOX7, le dosi cumulative di oxaliplatino e le dosi cumulative di FU non sono risultati significativamente diversi nei due gruppi. Nelle cellule mononucleate estratte da campioni di sangue periferico proveniente dai pazienti sono stati analizzati i polimorfismi germinali dei geni rilevanti per il FU, in particolare la timidilato sintasi [TYMS; i) polimorfismo a 28 bp repeat (2R o 3R) in 5'UTR con la presenza di una mutazione G→C nel secondo repeat dell'allele 3R; ii) delezione di 6 bp in posizione 1494 in 3'UTR], la metilentetraidrofolato reductasi [MTHFR; 677C→T e 1298A→C], diidropirimidina deidrogenasi [DPYD; IVS14+1G→A], e di quelli rilevanti per l'oxaliplatino come la glutatione S-tranferasi π [GSTπ; 105Ile→Val e 114Ala→Val], excision repair cross-complementing group 1 [ERCC1; 118AAT→AAC], ERCC2 [XPD; 751Lys→Gln], XRCC1 [399Arg→Gln]. L'influenza di tali polimorfismi è stata valutata su tipo e grado di tossicità, efficacia (come tasso di risposta alla chemioterapia), PFS e sopravvivenza totale.

Nessuno dei genotipi analizzati si è dimostrato predittivo di tossicità. Il tasso di risposta, pari al 54,7% (risposta completa+risposta parziale) è apparso derivare dalla farmacogenetica del FU, in particolare ai genotipi di MTHFR con sia 677C→T (p<0.042) che 1298A→C (p<0.004). In particolare la presenza di alleli di MTHFR (677T e 1298C) era correlata col grado di risposta clinica, risultato essere pari al 37,1, 53,3, 62,5 e 80%, rispettivamente, in pazienti con zero, uno, due o tre alleli favorevoli (p=0,04). I polimorfismi di geni relativi alla farmacodinamica di oxaliplatino hanno evidenziato un'influenza sul PFS, con un miglior esito in pazienti col genotipo GSTπ 105Ile→Val o XPD 751Lys→Gln. La tossicità della chemioterapia è risultata paragonabile in entrambi i gruppi senza nessuna influenza da parte dei polimorfismi analizzati.

In conclusione il presente studio evidenzia il ruolo di polimorfismi germinali di MTHFR come potenziali fattori predittivi di risposta alla terapia FOLFOX, dimostrando per la prima volta che il tasso di risposta a FOLFOX aumenta proporzionalmente col numero di alleli favorevoli per MTHFR. Questi risultati, se confermati da altri studi, potrebbero avere utilità applicativa nel disegno di programmi terapeutici alternativi privi di FU in quel 30% di pazienti privi di alleli favorevoli per questo enzima.

Conflitto di interesse: L'autore André T. dichiara di aver ricevuto un finanziamento dalla ditta Sanofi Aventis.

Parole chiave: cancro colon retto, metilentetraidrofolato riduttasi, FOLFOX, fluorouracile, oxaliplatino

Riferimento bibliografico

Etienne-Grimaldi MC et al. *Br J Clin Pharmacol* 2010, 69(1):58-66.

**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. Guido Bocci (Università di Pisa) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott. Antonello Di Paolo (Università di Pisa) Dott.ssa Maria Cecilia Giron (Università di Padova) Dott.ssa Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (Seconda Università di Napoli) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Cristina Tonello (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: sif@unito.it

DISCLAMER – 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-Infoma" 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.
