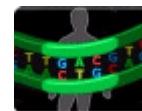


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 30 – Giugno 2011**

---

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

---

## Sommario

- Studio farmacogenetico in pazienti con carcinoma rettale in trattamento con chemioradioterapia pre-operatoria: ruolo di polimorfismi nei geni timidilato sintasi, recettore del fattore di crescita epidermico, GSTP1 e del sistema di riparazione del DNA
- Correlazione tra polimorfismi a singolo nucleotide ed aplotipi della DPYD e tossicità ed efficacia del trattamento con capecitabina nel tumore del colon retto avanzato
- Effetto dei polimorfismi nella regione del gene IL28B e di sostituzioni aminoacidiche nel core del virus dell'Epatite C sulla sensibilità e resistenza al trattamento con Interferone in pazienti con Epatite C cronica
- Effetto farmacogenetico combinato dei polimorfismi di ADCY9 e ADRB2 sulla broncodilatazione come outcome all'associazione terapeutica di farmaci inalatori
- Miglioramento della sopravvivenza con vemurafenib nel melanoma con mutazione di BRAF V600E – studio BRIM-3 (*BRAF inhibitor in melanoma 3*)
- Un polimorfismo a singolo nucleotide per la citidina deaminasi è predittivo di tossicità da gemcitabina nei pazienti con cancro al pancreas: RTOG 9704
- Polimorfismi di EPHX1 nella risposta al warfarin, possibile ruolo nella popolazione anziana
- Lo SNP CYP1A1\*2A come predittore di risposta clinica in pazienti affetti da cancro avanzato del polmone, trattati con EGFR-TKI, ed il suo effetto combinato con lo SNP (CA)<sub>n</sub> in EGFR introne 1

---

## **TRATTAMENTO CON CHEMIORADIOTERAPIA PRE-OPERATORIA: RUOLO DI POLIMORFISMI NEI GENI TIMIDILATO SINTASI, RECETTORE DEL FATTORE DI CRESCITA EPIDERMICO, GSTP1 E DEL SISTEMA DI RIPARAZIONE DEL DNA**

A cura della Dott. Salvatore Terrazzino

La radioterapia pre-operatoria combinata alla chemioterapia è attualmente considerata la procedura standard per il trattamento del carcinoma rettale localmente avanzato. L'utilizzo della chemio-radioterapia nella fase pre- piuttosto che post-operatoria determina una probabilità doppia di usufruire di un intervento chirurgico conservativo (preservazione dello sfintere), un miglior controllo locale e una minore probabilità di avere tossicità acute e complicanze tardive. La chemioradioterapia pre-operatoria è in grado di determinare una regressione completa del tumore in circa il 40% dei pazienti trattati. Per i pazienti che rispondono completamente al trattamento neoadiuvante, si potrebbe quindi evitare un intervento chirurgico che impatta pesantemente sulla qualità di vita dei pazienti. Tuttavia, al momento attuale, non vi sono indagini clinico-strumentali predittive di risposta completa alla chemioradioterapia pre-operatoria. Lo studio qui descritto si è posto l'obiettivo di identificare varianti polimorfiche in grado di predire la regressione tumorale e la

sopravvivenza di pazienti con adenocarcinoma del retto dopo trattamento con chemioradioterapia pre-operatoria.

Tra il 1998 e 2009 sono stati arruolati, retrospettivamente, 128 pazienti. I regimi chemioterapici somministrati comprendevano: 5-FU in 44 pazienti (34%), capecitabina in 16 pazienti (13%), 5-FU in associazione con oxaliplatino in 46 pazienti (36%), e capecitabina in combinazione con oxaliplatino in 22 pazienti (17%). Sono stati classificati *responders* al trattamento con chemioradioterapia pre-operatoria i pazienti con regressione tumorale completa (pCR), ossia assenza di cellule tumorali residue sui preparati istologici della biopsia, oppure presenza di occasionali cellule tumorali residue con marcata fibrosi (Rmic). A partire da campioni di sangue periferico, sono stati analizzati i seguenti polimorfismi: ERCC1 (Asn118Asn, G19716C, C8092A), XRCC1 (Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln), XPD Lys751Gln, EGFR (Arg497Lys), GSTP1 Ile105Val, TS VNTR. I geni ERCC1, XRCC1 e XPD sono coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA, il gene EGFR codifica per il recettore per il fattore di crescita epidermico, il gene GSTP1 è implicato nei processi di detossificazione da sostanze chimiche e da radicali liberi, ed il gene TS (timidilato sintasi) codifica per il bersaglio molecolare del 5-FU. L'associazione dei singoli polimorfismi con la regressione tumorale è stata valutata mediante analisi univariata (test del Chi-quadro) ed analisi multivariata (regressione logistica). Le curve di sopravvivenza libera da progressione (PFS) e di sopravvivenza globale (OS) sono state calcolate mediante il metodo di Kaplan-Meier e le differenze sono state valutate mediante il test log-rank. Le analisi multivariate per PFS e OS sono state condotte mediante regressione di Cox. Non è stata eseguita una correzione per test multipli e la significatività statistica è stata posta a  $P < 0.05$ .

Dall'osservazione istologica delle biopsie ottenute dopo chemioradioterapia pre-operatoria si evidenzia una regressione tumorale completa (pCR) in 17 pazienti (13%), e la presenza di rare cellule tumorali residue (Rmic) in 41 pazienti (32%). In totale, vengono quindi considerati *responders* alla chemioterapia pre-operatoria 58 pazienti (pCR+ Rmic, 45%). L'analisi univariata evidenzia un'associazione del polimorfismo TS VNTR con la regressione tumorale. Più specificatamente, si riscontra una percentuale maggiore di pazienti *responders* tra i portatori del genotipo TS VNTR 3/3 (omozigoti per la variante con 3 *tandem repeats*) rispetto ai pazienti portatori della variante contenente 2 *tandem repeats* (VNTR 2/3 + VNTR 2/2) (59% vs 38%;  $p=0.023$ ). Nell'analisi univariata nessun altro polimorfismo considerato risulta associato alla regressione tumorale. Dall'analisi multivariata emerge inoltre che la valutazione del *performance status* secondo la scala ECOG (OR: 1.84; 95% CI: 1-3.45,  $p=0.05$ ), i livelli di CEA pretrattamento (OR: 2.52; 95% CI: 0.012-0.43,  $p=0.02$ ) ed il polimorfismo TS VNTR (OR: 0.39; 95% CI, 0.17-0.87,  $p=0.021$ ) rappresentano fattori indipendenti predittivi della regressione tumorale.

I polimorfismi TS VNTR e XRCC1 Arg399Gln (rs25487G>A) risultano associati alla prognosi dei pazienti, come evidenziato dall'analisi univariata. Infatti, i pazienti portatori del genotipo TS VNTR 3/3 presentano una sopravvivenza mediana globale di 124 mesi, maggiore rispetto ai 78 mesi osservati nei pazienti portatori dell'allele VNTR 2 ( $p=0.023$ ). Il polimorfismo TS VNTR risulta inoltre correlato alla sopravvivenza libera da progressione (PFS) ( $p=0.039$ ). Per quanto riguarda il polimorfismo XRCC1 Arg399Gln, i pazienti omozigoti G/G presentano una PFS mediana di 101 mesi, maggiore rispetto a quella osservata nei pazienti eterozigoti G/A (78 mesi) e nei pazienti con genotipo A/A (31 mesi) ( $p=0.048$ ). Nell'analisi multivariata, la stadiazione del tumore secondo la classificazione pTN (HR 0.66, 95% CI: 0.44-0.99;  $p=0.045$ ) e la resezione patologica completa (HR 0.44, 95% CI: 0.25-0.78;  $p=0.005$ ) risultano gli unici fattori indipendenti predittivi della sopravvivenza globale. Questi due fattori risultano inoltre variabili indipendenti predittive di PFS.

I risultati dello studio mostrano un'associazione del genotipo TS VNTR 3/3 con un tasso maggiore di regressione tumorale ed una maggiore sopravvivenza dei pazienti con carcinoma rettale dopo trattamento con chemioradioterapia pre-operatoria.

Questi risultati suggeriscono una potenziale utilità clinica del polimorfismo TS VNTR per la selezione dei pazienti a maggiore probabilità di trarre beneficio dalla chemioradioterapia pre-operatoria e dei *non-responders* da indirizzare verso terapie chemioterapiche alternative. Tuttavia, esistono in letteratura numerosi dati contrastanti riguardo il ruolo del polimorfismo TS VNTR nella risposta dei pazienti con carcinoma del retto al trattamento chemioterapico pre-operatorio. Per esempio, lo studio iniziale di Villafranca et al (*J Clin Oncol* 2001, 19:1779-1786) aveva evidenziato un tasso maggiore di regressione tumorale ed una maggiore

sopravvivenza libera da malattia nei pazienti portatori dell'allele TS VNTR 2, mentre i risultati di un recente studio (Cecchin et al. *Pharmacogenomics J* 2011, 11(3):214-26), commentato nella *Newsletter SIF-Farmacogenetica n° 18*, non hanno evidenziato alcuna associazione significativa. Possibili spiegazioni di questi risultati discordanti possono risiedere nel disegno retrospettivo di questi studi, nel limitato numero di pazienti inclusi, nella differente origine del DNA analizzato (DNA germinale vs DNA tumorale), e nei differenti regimi chemioterapici utilizzati. Ampi studi prospettici che possano superare queste limitazioni metodologiche sono pertanto necessari al fine di chiarire il ruolo del polimorfismo TS VNTR nella risposta di pazienti con carcinoma rettale al trattamento chemioradioterapico con fluoropirimidine.

**Parole chiave:** adenocarcinoma del retto, chemioradioterapia pre-operatoria, regressione tumorale, 5-fluorouracile, timidilato sintasi

#### Riferimento bibliografico

[Páez D](#) et al. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011 May 11 [Epub ahead of print].

## CORRELAZIONE TRA POLIMORFISMI A SINGOLO NUCLEOTIDE ED ALOTIPI DELLA DPYD E TOSSICITÀ ED EFFICACIA DEL TRATTAMENTO CON CAPECITABINA NEL TUMORE DEL COLON RETTO AVANZATO

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re

La diidropirimidina deidrogenasi (DPD) è l'enzima chiave del catabolismo del 5-fluorouracile (5-FU) e del suo profarmaco capecitabina, farmaci molto utilizzati nel trattamento dei tumori del colon retto, della mammella e dell'area testa-collo. Una carenza nell'attività enzimatica della DPD indotta dalla presenza di polimorfismi nella regione codificante del gene, può risultare in effetti avversi gravi e potenzialmente letali in seguito a trattamento con dosi standard di fluoropirimidine. In letteratura sono stati precedentemente elencati molti polimorfismi della DPD, ma non è ancora stato chiarito il loro significato clinico ad eccezione dell'IVS14+1G>A che, quando presente, comporta la mancata trascrizione di un esone con conseguente produzione di una proteina incompleta. Deenen et al. hanno quindi valutato gli effetti dei polimorfismi della DPD su tossicità ed efficacia del trattamento con fluoropirimidine.

Nello studio di Deenen et al. è stato analizzato il DNA di 568 pazienti con tumore del colon retto avanzato trattati con capecitabina, oxaliplatino e bevacizumab, in associazione in alcuni casi con cetuximab. Sono stati stratificati i pazienti che sviluppavano almeno una tossicità di grado 4 o due eventi di tossicità di grado 2 tra: diarrea, disidratazione, nausea/vomito, stomatite, sindrome mano-piede (HFS), leucopenia e neutropenia febbrile durante i primi 2 cicli di trattamento e i casi controllo che avevano ben tollerato il trattamento. L'intera regione codificante della DPD, gli introni e la 3'-*untranslated region* (3'-UTR) sono stati analizzati in 45 casi di tossicità e in 100 casi controllo, mentre in tutti i pazienti sono stati analizzati solo le varianti più frequentemente presenti nella popolazione. I polimorfismi sono stati analizzati tramite sequenziamento automatico e PCR Real Time. I polimorfismi e gli alotipi identificati sono stati associati alla tossicità, alla risposta ed alla sopravvivenza.

La presenza del polimorfismo IVS14+1G>A era prevalente nella popolazione con tossicità ed era significativamente associata con tossicità da fluoropirimidine. La seconda e la terza associazione è stata osservata per il polimorfismo intronico IVS9-51T>G (14% vs. 5%; P=0.07) ed il 1236G>A (13% vs. 5%; P=0.08), in linkage disequilibrium. Inoltre, quando il polimorfismo 1236G>A veniva incluso nell'analisi multivariata insieme all'IVS14+1G>A, entrambi i polimorfismi risultavano altamente associati a diarrea di grado 3 o 4, mentre lo SNP 2846A>T e 2194G>A mostravano un'associazione intermedia. Una debole associazione è stata osservata per lo SNP 496A>G con diarrea di grado 3-4 e con HFS di grado 2-3. Nessuno degli altri polimorfismi esaminati mostrava associazione con HFS.

Di 7 pazienti che hanno sviluppato neutropenia febbrile, 3 non avevano polimorfismi e gli altri 4 erano portatori di diverse varianti della DPD: 1 paziente era portatore dei genotipi 85TC, 496AG e 2846AT, 1 era portatore del genotipo 1601GA, 1 mostrava i genotipi 85TC e 496AG ed 1 era portatore del genotipo omozigote mutato 85CC ed eterozigote 1627GA.

Per quanto riguarda le dosi somministrate di capecitabina, questa è stata significativamente ridotta solo nei pazienti eterozigoti IVS14+1G>A (riduzione del 50%) o 2846A>T (riduzione del 25%). Inoltre i pazienti portatori del genotipo 2194AA o 1601AA mostravano un forte rischio di sviluppare diarrea di grado 3-4. I singoli SNPs non risultavano associati a sopravvivenza totale o libera da progressione, ma un'associazione intermedia è stata osservata tra la presenza del genotipo 2194AA ed aumento della sopravvivenza totale.

I dati di questo studio dimostrano che gli SNPs IVS14+1G>A, 2846A>T, 2194G>A e 1601G>A della DPD sono significativamente associati a gravi eventi avversi legati al trattamento con fluoropirimidine, e che i portatori delle varianti IVS14+1G>A e 2846A>T richiedono una significativa riduzione della dose somministrata, ritenendo comunque che la sopravvivenza libera da progressione e la sopravvivenza totale non ne sono modificate negativamente.

Questo studio pone le basi per una modulazione della dose di fluoropirimidine in base al genotipo, consigliando uno screening prima del trattamento con una riduzione della dose rispettivamente del 50% e del 25% qualora il paziente sia portatore dei polimorfismi IVS14+1G>A e 2846A>T.

**Parole chiave:** diidropirimidina deidrogenasi, polimorfismi, 5-FU, tossicità

#### Riferimento bibliografico

[Deenen MJ](#) et al. *Clin Cancer Res* 2011, 17(10):3455-3468.

---

## **EFFETTO DEI POLIMORFISMI NELLA REGIONE DEL GENE IL28B E DI SOSTITUZIONI AMINOACIDICHE NEL CORE DEL VIRUS DELL'EPATITE C SULLA SENSIBILITÀ E RESISTENZA AL TRATTAMENTO CON INTERFERONE IN PAZIENTI CON EPATITE C CRONICA**

A cura della dott.ssa Greta Milani

Il *Hepatitis C Virus* (HCV) causa un'infezione cronica che può evolvere in epatite cronica, in cirrosi epatica o in carcinoma epatocellulare. Il trattamento standard per i pazienti di tale infezione attualmente raccomandato è rappresentato da Peg-Interferone-alfa-2a (PEG- INF) e ribavirina (RBV) per 24-48 settimane; tuttavia tale regime è ben tollerato ed efficace solo nel 60% dei soggetti: solo il 50% dei pazienti con genotipo 1 del virus, infatti, riesce ad ottenere una risposta virologica sostenuta.

In letteratura sono stati presentati diversi studi che mostrano gli effetti dei polimorfismi nella regione del gene dell'IL28B, oltre che della presenza di sostituzioni aminoacidiche nel *core* del virus HCV (in posizione 70) sulla risposta alla terapia con PEG-INF e RBV in pazienti con genotipo HCV 1b; tuttavia nessuno di essi spiega i meccanismi alla base dell'associazione.

Scopo del presente lavoro è stato, appunto, cercare di identificare differenze nella resistenza/sensibilità al trattamento con INF secondo i fattori sopra elencati.

I pazienti arruolati per questo studio sono soggetti con HCV, senza co- infezioni da HIV o HBV, in terapia con INF, che avevano partecipato in precedenza ad uno studio di monitoraggio del RNA virale. I soggetti hanno ricevuto, almeno due settimane prima dell'inizio della terapia PEG-INF e RBV, una singola dose di INF 2beta per misurare e valutare i valori di RNA virale; il trattamento in combinazione è stato somministrato secondo le linee guida: 48 settimane per il virus con genotipo 1b, 24 settimane per il genotipo 2a e 2b.

Allo studio hanno partecipato 69 uomini e 87 donne, con età media 58 anni: nel primo gruppo sono stati arruolati i 101 soggetti con genotipo del virus 1b, mentre nel secondo gruppo i 42 pazienti con genotipo 2a e i 13 con 2b. La classificazione del virus secondo il genotipo è stata fatta mediante l'amplificazione PCR, con primers specifici, della sequenza del *core* del virus; i livelli di RNA virale, invece, sono stati valutati su campioni di siero attraverso un saggio quantitativo su Real Time.

Con l'utilizzo di sonde Taqman, invece, è stato possibile genotipizzare i pazienti per il polimorfismo *rs8099917* sul gene IL28B. Infine, tramite sequenziamento diretto, è stata analizzata la sequenza del core del virus per evidenziare eventuali sostituzioni aminoacidiche in posizione 70.

I soggetti (121) portatori della variante allelica di riferimento (TT), con genotipo virale 1b hanno mostrato una diminuzione dei livelli di HCV RNA, comparati con le misurazioni prima dell'inizio del trattamento, più marcata rispetto a portatori delle altre varianti alleliche, soprattutto in quei pazienti in cui era presente anche la sostituzione di aminoacidi alla posizione 70 del *core* virale.

Le differenze nella diminuzione dei livelli di RNA, 24 ore dopo la somministrazione di IFN, sono spiegabili sulla base del genotipo del polimorfismo del gene IL28; successivamente tali differenze diminuiscono e sono basate, invece, sul tipo di sostituzione aminoacidica in posizione 70.

Per quanto riguarda la risposta virologica sostenuta, il 48,6% dei soggetti portatori di TT riesce ad ottenerla, mentre per i genotipi TG o GG la percentuale di successo scende al 8,3%, essere portatori di Arginina al residuo 70 del core virale consente una probabilità del 46,4% di rispondere alla terapia, mentre la presenza di glutammina riduce la probabilità al 20,7%.

In caso di combinazioni tra i due fattori, la probabilità di risposta virologica sostenuta è maggiore in individui TT con sostituzione in Arginina (50%) e con Glutammina (42,8%); invece, soggetti portatori della variante allelica G, sia in omozigosi che in eterozigosi, con sostituzione in Arginina hanno mostrato risposta nel 22,2% contro ad una non-risposta con sostituzione in Glutammina.

I fattori studiati sono stati valutati secondo l'analisi univariata e multivariata: la prima ha mostrato che il pretrattamento con albumina e la conta piastrinica, i polimorfismi di IL28 e la sostituzione dell'aminoacido in posizione 70 sono fortemente associati al successo della terapia e alla risposta virologica sostenuta; la seconda ha riportato l'associazione indipendente solo del genotipo di IL28 e del pretrattamento e conta piastrinica. Gli autori dello studio hanno riportato che soggetti con genotipo virale 2a hanno una diminuzione maggiore dei livelli di HCV RNA rispetto a individui con genotipo 2b, indipendentemente dalla variante allelica del polimorfismo sul gene IL28B.

In questo studio è stato dimostrato che il polimorfismo *rs8099917* a livello del gene IL28B è associato alla sensibilità/ resistenza al trattamento con INF in pazienti con genotipo virale di tipo 1b. Inoltre, la sostituzione aminoacidica in posizione 70, nel *core* virale, è associata con la risposta al trattamento nei soli pazienti portatori della variante allelica G del gene IL28, sia in eterozigosi che in omozigosi. Nessuna di queste associazioni è stata dimostrata nei soggetti con genotipo virale 2a o 2b.

**Parole chiave:** HCV, IL28, farmacogenetica, interferone, ribavirina

#### Riferimento bibliografico

[Hiraga N](#) et al. *Hepatology* 2011 May 26. doi: 10.1002/hep.24453. [Epub ahead of print].

## **EFFETTO FARMACOGENETICO COMBINATO DEI POLIMORFISMI DI ADCY9 E ADRB2 SULLA BRONCODILATAZIONE COME OUTCOME ALL'ASSOCIAZIONE TERAPEUTICA DI FARMACI INALATORI**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

La combinazione terapeutica tra  $\beta$ 2-agonisti ad azione prolungata (LABA) e corticosteroidi ad inalazione (ICS) risulta efficace per il trattamento dell'asma, migliorando la funzione polmonare e riducendo l'esacerbazione negli adulti asmatici; l'azione sinergica tra ICS e LABA può giocare, inoltre, un importante ruolo nell'aumento dell'efficacia terapeutica, poiché i corticosteroidi hanno un effetto anti-infiammatorio e migliorano la risposta respiratoria ai  $\beta$ 2-agonisti up-regolando l'espressione del recettore  $\beta$ 2 adrenergico e la produzione di cAMP.

Il grado di risposta alla combinazione  $\beta$ 2-agonisti-ICS è molto vario e approssimativamente il 60-80% delle variazioni interindividuali possono essere dovute a fattori genetici. Diversi studi hanno dimostrato che i polimorfismi a singolo nucleotide del gene ADRB2 contribuiscono allo sviluppo di differenti risposte broncodilatatorie ai LABA; inoltre il gene ADCY9 (Adenilato ciclasi tipo 9) e ADRB2 sono sospettati di essere regolatori centrali dell'outcome ai  $\beta$ 2-agonisti.

In questo studio è stato condotto un trial di 12 settimane con terapia combinata di farmaci, somministrati per via inalatoria, in adulti asmatici coreani, allo scopo di investigare l'effetto farmacogenetico degli SNPs di ADCY9 e di ADRB2 sulla broncodilazione.

Lo studio ha previsto un periodo "run in" di 2-4 settimane di monoterapia a dosaggio medio di corticosteroidi per via inalatoria, seguito da 12 settimane di trattamento attivo (mediante combinazione terapeutica). Sono stati arruolati 86 pazienti con asma persistente da media a moderata; durante il trattamento a tutti i pazienti è stato chiesto di utilizzare un singolo inalatore contenente 160µg di budesonide e 45µg di formoterolo due volte al giorno (due puffs). I livelli di FEV1 (volume di espirazione forzata in un secondo) e MMEF (metà del flusso massimo di espirazione) sono stati misurati dopo 0, 8 e 12 settimane.

Dopo aver estratto il DNA sono stati analizzati 5 SNPs per ADCY9 (rs2230739 T\C, e 4 situati sulla 3'UTR, rs1045475 C\T, rs1047476 C\T, rs879619 C\T, rs710893 C\T) e una ripetizione tetra nucleotidica (TTTA<sub>5/4</sub>), e uno SNP per ADRB2 (Arg16Gly). Per quanto riguarda la distribuzione genotipica dei polimorfismi di ADCY9, tutti sono risultati in equilibrio di HW; di questi, i 4 situati sulla 3'UTR hanno mostrato un forte linkage. Un'associazione significativa nella variazione percentuale di FEV1 ( $\Delta$ FEV1%) è stata riscontrata per lo SNP rs2230739; in particolare pazienti con genotipo CC o CT sono soggetti a miglioramento significativo nella FEV1% ( $4.0 \pm 9.6\%$ ) se comparati con soggetti con genotipo TT ( $0.7 \pm 9.6\%$ ) al *time-point* delle 8 settimane ( $P = 0.030$ ). Inoltre il polimorfismo rs879619 è risultato significativamente associato con la variazione percentuale in MMEF ( $\Delta$ MMEF%): nei portatori del genotipo CC è stato osservato un aumento nella MMEF% predetta ( $7.5 \pm 15.0\%$ ), mentre cambiamenti minimi sono stati notati in quelli con genotipo CT o TT ( $-1.3 \pm 14.9\%$ ,  $P = 0.016$ ) (alle 8 settimane di trattamento). Sono stati costruiti gli aplotipi tra i 4 SNPs situati sulla 3'UTR ed è stata osservata un'associazione significativa tra la  $\Delta$ MMEF% e l'aplotipo 3 [TTCC]: i portatori del suddetto aplotipo hanno subito un forte incremento nella MMEF% rispetto ai non portatori ( $11.6 \pm 16.5$  vs  $1.2 \pm 14.6$ ,  $P = 0.017$ ) (dopo 8 settimane di trattamento).

In un secondo momento è stato genotipizzato anche il polimorfismo ADRB2 Arg16Gly e sono state esaminate le interazioni gene-gene. Da queste analisi è emerso che pazienti con CT o CC per ADCY9 Ile772Met (C/T) e AA per ADRB2 Arg16Gly (A/G) mostrano un miglioramento nella FEV1% predetta ( $8.4 \pm 7.5\%$ ) rispetto a quelli con genotipo TT per ADCY9 Ile772Met e AG o GG per ADRB2 Arg16Gly ( $0.4 \pm 9.1\%$ ,  $P = 0.002$ ). Benchè il potenziale effetto funzionale dello SNP Ile772Met sul miglioramento della risposta all'associazione terapeutica osservata nel presente studio sia supportata da lavori precedenti (Small KM et al, 2003; Tantisira KG et al, 2005), gli stessi autori sottolineano alcuni limiti fondamentali; primo tra tutti è sicuramente il numero limitato di soggetti, seguito dalla mancanza di out come secondari (accanto a MMEF% e FEV1%), quali la variabilità del picco di flusso espiratorio o il punteggio di qualità di vita.

In conclusione lo studio ha messo in evidenza come SNPs del gene ADCY9, probabilmente, influiscono sulla risposta terapeutica all'associazione di LABA e ICS, e che la broncodilatazione come outcome a terapie combinate con  $\beta$ 2-agonisti può essere migliorata da un'interazione gene-gene tra i polimorfismi ADCY9 Ile772Met e ADRB2 Arg16Gly.

**Parole chiave:** Asma persistente, associazione terapeutica di farmaci inalatori, SNPs di ADCY9 e ADRB2

#### Riferimento bibliografico

[Kim SH](#) et al. *J Clin Pharm Ther* 2011, 36(3):399-405.

## MIGLIORAMENTO DELLA SOPRAVVIVENZA CON VEMURAFENIB NEL MELANOMA CON MUTAZIONE DI BRAF V600E – STUDIO BRIM-3 (*BRAF Inhibitor in Melanoma 3*)

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Il melanoma metastatico ha una prognosi infausta, con una sopravvivenza media dei pazienti con melanoma di stadio IV da 8 a 18 mesi dalla diagnosi; negli Stati Uniti la frequenza di morte stimata è di 2,6 ogni 100000, in Australia e Nuova Zelanda è di 3,5, in Europa di 1,8.

L'unico chemioterapico approvato da FDA per il trattamento del melanoma metastatico è la dacarbazina, associata ad un tasso di risposta del 7-12% e un *overall survival* (OS) medio di 5,6-7,8 mesi dall'inizio del trattamento; la risposta, ma non OS, aumentano se il farmaco è utilizzato in combinazione.

In circa il 40-60% dei melanomi cutanei è presente una mutazione di *BRAF*, che porta ad un'attivazione costitutiva della via di segnale a valle, attraverso le MAPK; la mutazione più frequente (90%) è a carico del codone 600, con sostituzione della valina con acido glutammico (V600E), ma si conoscono anche altre mutazioni attivanti (*BRAF* V600K e *BRAF* V600R). Il vemurafenib (PLX4032) è un potente inibitore di *BRAF* mutato; ha effetti antitumorali marcati in linee cellulari di melanoma con la mutazione V600E di *BRAF*, ma non suole cellule con *BRAF* *wild-type*. Uno studio di fase I ha dimostrato che la massima dose tollerata è di 960mg due volte al giorno e ha evidenziato una risposta tumorale frequente (Flaherty KT et al., *N Engl J Med* 2010, 363:809-19); uno studio di fase II condotto su pazienti che avevano ricevuto un precedente trattamento per il melanoma metastatico ha confermato un tasso di risposta del 53% con una durata media della risposta di 6,7 mesi (Ribas A et al. *J Clin Oncol* 2011, 29: suppl: 8509 abstract).

In questo lavoro vengono presentati i risultati relativi a un *trial* di fase III, condotto per verificare se il vemurafenib potesse prolungare il tasso di OS e *progression-free survival* (PFS) rispetto alla dacarbazina.

Tutti i pazienti reclutati avevano un melanoma non operabile, non precedentemente trattato, di stadio IIIC o IV, positivo per la mutazione *BRAF* V600E al saggio di *real-time polymerase-chain-reaction*. Altri criteri di inclusione erano: età  $\geq$  18 anni, aspettativa di vita  $\geq$  3 mesi, un *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) *performance status* di 0 (completamente attivo e in grado di portare avanti qualsiasi attività senza restrizioni) o 1 (restrizione in attività fisica intensa, ma in grado di condurre un lavoro leggero o sedentario), funzioni ematologiche, epatiche e renali adeguate. Sono stati esclusi pazienti con storia di tumori negli ultimi 5 anni, eccetto per carcinoma cutaneo basale o a cellule squamose o carcinoma della cervice, o metastasi a carico del sistema nervoso centrale, ad eccezione delle metastasi definitivamente trattate più di 3 mesi prima, con nessuna progressione e richiesta di continuare la terapia glucocorticoide; non erano concessi trattamenti concomitanti con altri farmaci antitumorali. Gli *end-point* primari sono stati la percentuale di OS e di PFS; gli *end-point* secondari includevano il tasso di risposta, la durata della risposta e la sicurezza. L'analisi finale era stata programmata a 196 morti, mentre l'analisi *ad interim* a 98 morti.

Da gennaio a dicembre 2010, in 104 centri in 12 paesi, dei 2107 pazienti screenati, 675 pazienti sono stati randomizzati in rapporto 1:1 a ricevere vemurafenib, 960mg due volte al giorno per os (337 pazienti, età mediana 56 anni, maschi 200 -59%) o dacarbazina, 1000mg/m<sup>2</sup> per infusione ev ogni 3 settimane (338 pazienti, età mediana 52 anni, maschi 181 -54%). I pazienti sono stati stratificati in base allo stadio del tumore, stabilito secondo i criteri dell'*American Joint Committee* (IIIC, M1a, M1b, M1c), al ECOG *performance status* (0 o 1), alla regione geografica (Nord America, Australia e Nuova Zelanda, Europa occidentale o altre regioni) e ai livelli di lattato deidrogenasi (normali o elevati). Era prevista una riduzione della dose per il vemurafenib e la dacarbazina per effetti tossici intollerabili di grado 2 o più.

A 6 mesi, OS è stato dell' 84% (95%CI 78-89) nel gruppo vemurafenib e del 64% (95%CI 56-73) nel gruppo dacarbazina; nell'analisi *ad interim* per OS e nell'analisi finale per PFS, il vemurafenib è stato associato ad una riduzione relativa del 63% del rischio di morte e del 74% del rischio di morte e progressione della malattia in confronto con la dacarbazina ( $p < 0,001$  per entrambi i confronti); i benefici nel gruppo vemurafenib sono stati osservati in ogni sottogruppo, in accordo con età, sesso, ECOG *performance status*, stadio del tumore, livelli di lattato deidrogenasi e regione geografica. Dopo una revisione dell'analisi *ad interim* da parte di una commissione indipendente per la valutazione dei risultati e per il monitoraggio della sicurezza, è stato raccomandato il *crossover* dalla dacarbazina al vemurafenib.

Nel gruppo vemurafenib, molti pazienti sono andati incontro a una riduzione misurabile della massa tumorale e 106 su 219 pazienti (48%, 95% CI 42-55) hanno avuto una risposta oggettiva confermata, incluso 2 pazienti con risposta completa e 104 con risposta parziale, con un tempo mediano di risposta di 1,45 mesi; questi risultati sono in accordo con quanto osservato sia nello studio di fase I che nello studio di fase II, in cui erano stati reclutati pazienti precedentemente trattati. Quattro pazienti con risposta parziale erano portatori della mutazione V600K (40%), evidenziando quindi come i melanomi con questa variante siano sensibili al farmaco.

Nel gruppo dacarbazina, meno pazienti hanno avuto una riduzione misurabile della massa tumorale e solo 12 su 220 (5%, 95% CI 3-9) rispondevano ai criteri per una risposta confermata, tutte parziali, con un tempo mediano di risposta di 2,7 mesi. La differenza nel tasso di risposta tra i due gruppi (48% vs 5%) è stata

significativamente elevata ( $p < 0,001$ ). La bassa risposta alla dacarbazina, inferiore rispetto a quella osservata in recenti studi di fase III può essere dovuta all'inclusione solo di pazienti portatori della mutazione di BRAF: alcuni studi hanno evidenziato come questi melanomi siano più aggressivi e meno responsivi ai chemioterapici rispetto a melanomi con BRAF *wild-type* (Long GV et al. *J Clin Oncol* 2011, 29: 1239-46). Gli eventi avversi di grado 2 o maggiore sono stati riportati in oltre il 5% dei pazienti in entrambi i gruppi; nel gruppo vemurafenib, gli eventi avversi più frequenti sono stati eventi cutanei, artralgia e *fatigue*, mentre nel gruppo dacarbazina sono stati *fatigue*, nausea, vomito e neutropenia. Tra i pazienti trattati con vemurafenib, il 18% ha manifestato almeno un carcinoma cutaneo a cellule squamose o cheratoacantoma; queste lesioni sono state rimosse e nessuna ha richiesto una variazione della dose del farmaco. La percentuale è inferiore rispetto a quanto riportato negli studi di fase I e II con questo farmaco, probabilmente per la più breve durata del *follow-up*. Carcinomi cutanei a cellule squamose e cheratoacantomi sono stati osservati anche in pazienti trattati con sorafenib, altro inibitore delle RAF chinasi; il meccanismo con cui questi farmaci inducano neoplasia cutanee è oggetto di studio: questi farmaci possono potenziare il *pathway* delle MAPK in cellule con BRAF *wild-type*, giustificando l'indice terapeutico favorevole del vemurafenib in pazienti con melanoma con mutazione V600E di BRAF, ma suggerendo anche come il vemurafenib possa accelerare la crescita di tumori solidi con BRAF *wild-type*.

In conclusione, il vemurafenib da solo aumenta il tasso di risposta e di OS e PFS, rispetto alla dacarbazina, in pazienti con melanoma metastatico portatori di mutazioni di BRAF. Questi risultati rappresentano una base valida per lo sviluppo di future terapie di combinazione.

L'editoriale a cura di Ernstoff evidenzia alcuni limiti dello studio: il *follow-up* è breve e la stima finale sugli *outcome* di sopravvivenza deve ancora essere determinata. Inoltre la percentuale di risposta e il PFS possono essere influenzati dalla valutazione della risposta direttamente da parte degli investigatori e non di una commissione apposita, mentre la frequenza di OS potrebbe essere influenzata dalla decisione di permettere ai pazienti di passare al gruppo vemurafenib.

Si sottolinea inoltre come ci siano diverse potenziali conseguenze a lungo termine sulla salute per l'inibizione di BRAF V600E, che può causare una stimolazione paradossale della via delle MAPK in cellule BRAF *wild-type*, possibile meccanismo alla base dello sviluppo di carcinomi cutanei non melanomi nei pazienti trattati con vemurafenib, per cui deve essere garantita un'attenta sorveglianza di questi pazienti.

Sarà fondamentale la scelta dei farmaci da testare in studi clinici in combinazione con il vemurafenib, poiché l'esperienza ha evidenziato come la combinazione di farmaci in grado di bloccare diversi *pathway* abbia effetti positivi sia in termini di efficacia che di tossicità.

Per i pazienti con melanoma metastatico con mutazione V600E di BRAF, la disponibilità del vemurafenib avrà un importante effetto sulla sopravvivenza e sulla qualità della vita; questo farmaco rappresenta uno strumento terapeutico per pazienti con melanoma e potenzialmente con altri tumori portatori della mutazione V600E, così come uno strumento prezioso per studiare nuovi approcci al trattamento del melanoma.

**Parole chiave:** vemurafenib, melanoma metastatico, BRAF V600E

#### Riferimento bibliografico

[Chapman PB](#) et al. *N Engl J Med* 2011 Jun 5. [Epub ahead of print]

[Ernstoff MS](#) *N Engl J Med* 2011.

---

## UN POLIMORFISMO A SINGOLO NUCLEOTIDE PER LA CITIDINA DEAMINASI È PREDITTIVO DI TOSSICITÀ DA GEMCITABINA NEI PAZIENTI CON CANCRO AL PANCREAS: RTOG 9704

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Il tumore al pancreas è uno dei tumori umani più aggressivi e la gemcitabina (Gem) è il farmaco chemioterapico più utilizzato nel trattamento del carcinoma pancreatico avanzato. La Gem ha dimostrato di migliorare i sintomi clinici e di prolungare, anche se modestamente, la sopravvivenza. Tuttavia, l'uso di Gem è associato a significativa tossicità dose dipendente, ed in particolare a tossicità ematologica. E' probabile



che la variabilità genetica di enzimi chiave nel trasporto e nel metabolismo di Gem possa incidere sulla risposta al trattamento e la tossicità di gemcitabina. La citidina deaminasi (CDA) è l'enzima chiave responsabile dell'inattivazione di Gem. Avere la possibilità di prevedere la tossicità da GEM consentirebbe di modificare la dose di farmaco somministrata oppure prendere in considerazione trattamenti alternativi.

Un polimorfismo nel gene  $Lys^{27}Gln$  di CDA è stato proposto come fattore predittivo di risposta al trattamento con gemcitabina e per la tossicità, ma ad oggi i dati sono pochi e contraddittori. Ad esempio, in un recente studio prospettico non randomizzato di pazienti con tumore al polmone, non a piccole cellule, trattati con cisplatino e gemcitabina, il polimorfismo di CDA  $Lys^{27}Lys$  è risultato significativamente correlato con il genotipo che ha dato migliore beneficio clinico, maggiore tossicità ematologiche, compresa neutropenia e trombocitopenia, minore progressione e maggiore sopravvivenza globale (OS) rispetto agli altri genotipi di CDA (C Tibaldi et al. *Clin Cancer Res* 2008, 14:1797–1803). D'altra parte, in uno studio retrospettivo più recente di 149 pazienti con tumore avanzato al pancreas il polimorfismo  $Lys^{27}Lys$  di CDA è stato associato con minore tossicità ematologica e nessun beneficio di sopravvivenza rispetto ai pazienti con i polimorfismi CDA  $Lys^{27}Gln$  e  $Gln^{27}Gln$  (Tanaka M. et al. *Cancer* 2010, 116: 5325–35).

Lo scopo dello studio qui descritto è convalidare il valore prognostico e predittivo del polimorfismo  $Lys^{27}Gln$  della citidina deaminasi (CDA) per la tossicità ematologica e la sopravvivenza in uno studio randomizzato dal titolo Radiation Therapy Oncology Group: RTOG 9704.

RTOG 9704 è uno studio randomizzato, di fase III, in collaborazione con la *Eastern Cooperative Oncology Group* e il *Southwest Oncology Group*. Lo studio è iniziato il 20 luglio 1998 e chiuso il 26 luglio 2002 con un totale di 538 pazienti, di cui 268 sono stati randomizzati nel braccio terapeutico con gemcitabina e 230 nel braccio terapeutico con 5-fluorouracile (5-FU). Infine solo 185 pazienti sono stati inclusi nell'analisi di genotipizzazione finale, a causa dei criteri di esclusione, 87 del primo braccio e 98 del secondo.

L'analisi ha evidenziato che il genotipo omozigote *wild-type* ( $Lys/Lys$ ) è presente nel 39,5% dei pazienti, mentre gli eterozigoti ( $Lys/Gln$ ) e omozigoti per la variante minore ( $Gln/Gln$ ) erano il 50,2% e nel 10,3%, rispettivamente.

Nei 35 pazienti portatori del polimorfismo  $Lys/Lys$ , trattati con Gem, il tempo di sopravvivenza globale medio è risultato maggiore rispetto ai 43 pazienti portatori del genotipo  $Lys/Gln$  e ai 9 pazienti portatori  $Gln/Gln$  ma tale differenza non è risultata statisticamente significativa. Per il braccio trattato con Gem, si è riscontrata invece una differenza statisticamente significativa per quanto concerne la tossicità ematologica. In breve, I pazienti con genotipo omozigote *wild-type* di CDA ( $Lys/Lys$ ,  $OR=0.06$ ,  $P=0,01$ ) e i pazienti con genotipo eterozigote CDA ( $Lys/Gln$ ,  $OR=0.17$ ,  $P=0.06$ ) erano a maggior rischio di tossicità rispetto ai pazienti  $Gln/Gln$ , anche dopo correzione per le altre variabili. Come atteso, il maggior rischio tra genotipo CDA e grave tossicità ematologica non si estendeva ai pazienti nel braccio di 5-FU, che non hanno ricevuto gemcitabina. Non sono state osservate associazioni tra genotipo e tossicità generale o tossicità non-ematologica.

Un limite di questo studio è l'assenza di informazioni più particolareggiate sulla tossicità grave ematologica e le conseguenze cliniche della stessa e il numero limitato di pazienti. Essendo la tossicità ematologica da Gem un problema clinico importante, l'uso di questo test potrebbe risultare utile per stratificare i pazienti e sottoporli a regimi posologici di gemcitabina diversi o a indirizzarli verso terapie chemioterapiche alternative.

Il lavoro suggerisce che il polimorfismo  $Lys^{27}Lys$  di CDA può essere considerato un marker predittivo di tossicità ematologica da gemcitabina. Non ci sono invece evidenze della sua utilità come marker di sopravvivenza.

**Parole chiave:** gemcitabina, citidina deaminasi, SNP, cancro del pancreas

#### Riferimento bibliografico

[Farrell JJ](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2011.

## **POLIMORFISMI DI EPHX1 NELLA RISPOSTA AL WARFARIN, POSSIBILE RUOLO NELLA POPOLAZIONE ANZIANA**

A cura del Dott. Vittorio Simeon

L'utilizzo di anticoagulanti orali per la prevenzione e il trattamento dei pazienti con disturbi tromboembolici sia arteriosi che venosi (fibrillazione atriale, sostituzione della valvola cardiaca) è una delle terapie più utilizzate nella pratica clinica. Il warfarin, in particolare, è l'anticoagulante orale comunemente più prescritto. Tuttavia, la terapia con warfarin può essere problematica a causa della sua ristretta finestra terapeutica e della grande variabilità individuale nella dose richiesta per il raggiungimento del "rapporto internazionale normalizzato" terapeutico (tINR), utilizzato come misura dello stato di anticoagulazione. Un corretto dosaggio di warfarin è cruciale per la prevenzione degli eventi avversi, in quanto un dosaggio eccessivo può portare ad emorragie ed un sottodosaggio può portare a trombosi. La variabilità della risposta farmacologica dei pazienti è dovuta ad una moltitudine di fattori, ambientali e genetici (es. polifarmacoterapia, età, indice di massa corporea, dieta e utilizzo di alcol).

Oltre ai noti CYP2C9 e VKORC1 e al discusso CYP4F2, la comunità scientifica sta ampiamente dibattendo sulla variabilità determinata da altri fattori coinvolti nel metabolismo sia del warfarin che della vitamina K.

Nella lettera all'editore pubblicata su *Clinical Pharmacology & Therapeutics* da Ciccacci et al. viene analizzato e discusso il ruolo del gene EPHX1 partendo dall'articolo "Genetic factors (VKORC1, CYP2C9, EPHX1, and CYP4F2) are predictor variables for warfarin response in very elderly, frail inpatients" pubblicato da Pautas et al (Pautas E et al. *Clin Pharmacol Ther* 2010, 87(1): 57-64).

In quell'articolo Pautas e i suoi collaboratori identificarono una nuova associazione fra il polimorfismo a singolo nucleotide rs2292566 del gene EPHX1 e la dose di warfarin richiesta, confermando il ruolo dei genotipi di VKORC1 e CYP2C9, ma non trovando alcuna associazione tra la risposta al warfarin e il gene CYP4F2. Nello studio pubblicato da Borgiani e Ciccacci (Borgiani P et al. *Pharmacogenomics* 2009, 10(2): 261-6) era stata evidenziata una forte associazione tra la risposta al warfarin e il gene CYP4F2, ma non era stato analizzato il coinvolgimento di EPHX1. Dato che l'epossido idrolasi microsomiale epatica codificata da EPHX1 è considerata una subunità putativa della vitamina K epossido reduttasi, Ciccacci et al. hanno testato l'associazione di due polimorfismi di EPHX1 nella popolazione italiana con la risposta al warfarin: il primo, rs2292566, descritto da Pautas et al., e il secondo, rs4653436, che è stato già studiato in numerosi lavori ma con risultati contrastanti tra loro. Sono stati analizzati i due SNPs in 148 pazienti Italiani in trattamento con warfarin per almeno 6 mesi. Le caratteristiche di questi pazienti erano state precedentemente riportate da Borgiani et al. La discriminazione allelica è stata effettuata utilizzando la tecnologia TaqMan. L'analisi della varianza non ha mostrato nessuna associazione significativa tra i due polimorfismi di EPHX1 e il dosaggio medio settimanale di warfarin. Soltanto pochi studi hanno riportato una correlazione tra la dose di warfarin e i polimorfismi di EPHX1, tra l'altro con una significatività al limite. I dati dello studio di Ciccacci et al. non indicano alcuna associazione degli SNPs rs2292566 e rs4653436 con la variabilità della dose di warfarin nella popolazione italiana. Per quanto riguarda lo SNP rs2292566, la discrepanza tra le recenti scoperte e quelle riportate da Pautas et al. non può essere spiegata sulla base della frequenza della variante allelica in quanto nella popolazione italiana la frequenza è compatibile con quella riportata da Pautas et al. (0.15 vs 0.16). Tuttavia, le differenze tra le caratteristiche cliniche possono giocare un ruolo importante in questa discrepanza, infatti i pazienti dello studio di Pautas sono anziani e fragili, a differenza di quelli dello studio di Ciccacci et al. più eterogenei come età e qualità della vita. In più, è possibile che altri SNP di EPHX1 possano essere coinvolti nella risposta al dosaggio di warfarin nella popolazione italiana. Tuttavia, è importante notare come altri studi hanno riportato associazioni solo al limite, suggerendo che EPHX1 non giochi un ruolo chiave nella mediazione della risposta al warfarin. Gli autori concludono che i geni VKORC1 e CYP2C9 sembrano essere i maggiori determinanti genetici della dose di warfarin, e per il momento sono gli unici geni utilizzati nella pubblicazione di algoritmi per la predizione della dose di warfarin.

Sullo stesso numero di *Clinical Pharmacology & Therapeutics* la lettera di risposta di Moreau et al., del gruppo di ricerca francese coordinato da E. Pautas. Gli autori prima di tutto puntualizzano che le analisi dello studio di Ciccacci et al. sono state effettuate su dati provenienti da una coorte eterogenea di pazienti con differenti target di INR. Nello studio preso in esame da Ciccacci, condotto su 283 pazienti anziani (INR target 2-3) con età media  $86.7 \pm 6.0$  anni, il gruppo coordinato da E. Pautas ha dimostrato una debole ma

significativa associazione tra la dose di mantenimento del warfarin e il polimorfismo rs2292566 di EPHX1 ( $P=0.043$ ), mentre non è stata evidenziata alcuna associazione tra la dose di mantenimento e il polimorfismo rs4653436 (Pautas E et al.). Anche dopo aver aggiustato per potenziali covariate, il polimorfismo rs2292566 è stato conservato nel modello finale di regressione multivariata ( $P=0.0153$ ) insieme a VKORC1 (-1639G>A) ( $P<0.0001$ ), CYP2C9 (alleli \*2 e \*3) ( $P=0.001$ ), e CYP4F2 (p.V433M) ( $P=0.0545$ ). Quando quest'analisi veniva ristretta ad un sottogruppo di 132 pazienti che avevano da poco cominciato la terapia con warfarin non è stato possibile evidenziare alcuna associazione fra la dose di mantenimento di warfarin e i polimorfismi rs2292566 di EPHX1 e rs2108622 di CYP4F2. Gli autori sottolineano anche che la definizione di dose di mantenimento di warfarin è differente tra lo studio di Pautas et al. e Ciccacci et al. In entrambi gli studi la frequenza dell'allele rs2292566 di EPHX1 era simile ( $\approx 0.15$ ), come già menzionato da Ciccacci et al. Ad ogni modo, dato il debole effetto di rs2292566 di EPHX1 sulla variabilità della dose, l'impossibilità nel trovare un effetto nella coorte Italiana ( $n=148$ ) e nel sottogruppo dello studio francese ( $n=132$ ) potrebbe essere attribuita ad un'inadeguata potenza dello studio. In più, la maggior parte dei pazienti del sottogruppo dello studio francese eterozigoti o omozigoti per CYP4F2 erano portatori della variante allelica di VKORC1, spiegando in tal modo l'assenza di associazione tra la dose di mantenimento e lo SNP di CYP4F2. Tra gli studi con una coorte numerosa, è stata riportata un'associazione tra la dose di mantenimento di warfarin e il polimorfismo rs4653436 di EPHX1, ma non rs2292566; tuttavia, nessuno degli SNP di EPHX1 era conservato nel modello finale, indicando solo un debole impatto di alcuni degli SNP di EPHX1 sulla dose di mantenimento di warfarin.

In conclusione, si può concordare con gli autori della lettera in quanto lo studio di Pautas et al. è stato condotto in pazienti anziani e fragili con condizione di comorbidità e numerose comediezioni. Moreau et al. infatti non sono in grado di escludere la possibilità che possa esserci un effetto maggiore degli SNP di EPHX1 sulla dose di mantenimento di warfarin in questo gruppo di pazienti rispetto ad un gruppo di pazienti più giovani, dato che il ruolo di EPHX1 nella regolazione del ciclo della vitamina K non è stato ancora del tutto chiarito e che siano necessari altri studi in popolazioni anziane per approfondire ed investigare questa possibilità.

I polimorfismi di EPHX1 hanno evidenziato risultati contrastanti nell'associazione con la dose di mantenimento di warfarin.

**Parole chiave:** EPHX1, warfarin

#### Riferimento bibliografico

[Ciccacci C et al.](#) *Clin Pharmacol Ther* 2011, 89(6): 791.

[Moreau C et al.](#) *Clin Pharmacol Ther* 2011, 89(6): 792.

## LO SNP CYP1A1\*2A COME PREDITTORE DI RISPOSTA CLINICA IN PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO AVANZATO DEL POLMONE, TRATTATI CON EGFR-TKI, ED IL SUO EFFETTO COMBINATO CON LO SNP (CA)<sub>N</sub> IN EGFR INTRONE 1

A cura della Dott.ssa Domenica L'Insalata

Gli inibitori tirosin-chinasici del recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR-TKI) rappresentano la terapia standard di seconda linea per il tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC). Secondo diversi studi, gli individui asiatici affetti da NSCLC rispondono meglio a tali farmaci rispetto ai pazienti occidentali e nello stesso gruppo si osservano più comunemente mutazioni nel gene EGFR. I fattori genetici sembrano dunque avere una rilevanza notevole nella terapia antitumorale mirata. In particolare, la letteratura suggerisce l'importanza di uno SNP a livello del gene EGFR, la ripetizione del dinucleotide CA sull'introne 1, nel predire il grado di risposta al trattamento di tumori avanzati, con EGFR-TKI. Inoltre il CYP1A1, membro altamente inducibile dei CYP450, espresso nei polmoni, è coinvolto nel metabolismo dell'estradiolo, e può influenzare l'espressione proteica di EGFR. CYP1A1 svolge anche un ruolo centrale nell'attivazione dei più importanti carcinogeni del tabacco, gli ibrocarburi policiclici aromatici. Gli alleli CYP1A1\*2A e CYP1A1\*2C sono più frequenti negli individui asiatici rispetto a caucasici ed afroamericani; l'allele

CYP1A1\*2A presenta una mutazione T>C nella regione 3' non codificante (3801 T>C) associata ad elevata attività enzimatica. La transizione A>G all'esone 7 crea la seconda variante allelica \*2C, portando alla sostituzione aminoacidica Val/Ile, che provoca l'aumento dell'attività microsomiale enzimatica.

In questo studio sono stati dunque valutati gli effetti di 4 polimorfismi nei geni EGFR e CYP1A1 sulla risposta alla terapia con EGFR-TKI: gli SNPs EGFR (CA)<sub>n</sub>, EGFR R497K, CYP1A1\*2A e CYP1A1\*2C.

Sono stati arruolati 115 individui, affetti da NSCLC allo stadio IIIb o IV, di cui 70 in terapia con gefitinib e 45 con erlotinib, secondo il programma EAP (*Expanded Assess Program*). I pazienti avevano ricevuto almeno una terapia standard sistemica prima di entrare nel programma EAP. I campioni di sangue di ciascun paziente sono stati prelevati prima dell'inizio del trattamento con EGFR-TKI e in seguito all'estrazione del DNA è stata effettuata la genotipizzazione mediante tecnica PCR-RFLP. Dei 115 pazienti, 65 erano uomini e 50 donne, con un'età media di 57 anni. Nel 42,6% dei casi si è osservata una risposta parziale ai farmaci EGFR-TKI, mentre nel 19,1% la stabilizzazione della malattia ed il 38,3% dei pazienti è andato in progressione. I risultati del trattamento sono stati correlati con le caratteristiche clinicopatologiche: età, sesso, stadio TNM del tumore, istologia, *smoking index*, *performance status* e tossicità della pelle. Non è risultata alcuna associazione statistica, eccetto per lo *smoking index* e lo stato istologico (rispettivamente  $p = 0.03$  e  $p = 0.09$ ). Per un sottogruppo di 36 pazienti il cui tessuto tumorale era disponibile, sono state analizzate le mutazioni nel gene EGFR: 19 pazienti presentavano una mutazione somatica (12 pazienti con delezione in-frame sull'esone 19 e 7 pazienti con mutazioni di sostituzione sull'esone 21) mentre 17 pazienti erano *wild type*.

I risultati ottenuti hanno mostrato una correlazione fra gli SNPs CYP1A1\*2A e CYP1A1\*2C e le mutazioni EGFR (rispettivamente  $p = 0.037$  e  $p = 0.021$ , Pearson chi-squared test). Inoltre, lo SNP CYP1A1\*2A è risultato associato alla risposta clinica agli inibitori EGFR-TKI, infatti i pazienti con genotipo omozigote T/T presentavano risposte cliniche migliori rispetto agli omozigoti C/C ad agli eterozigoti T/C ( $p = 0.011$ ). Dei 41 pazienti con genotipo T/T, il 56% ha mostrato una risposta parziale agli EGFR-TKI ed il 22% aveva stabilizzazione della malattia.

Lo SNP a livello dell'introne 1 di EGFR è risultato anch'esso in associazione con la risposta terapeutica: pazienti con ripetizioni (CA)<sub>n</sub> <16 hanno risposto al trattamento in misura maggiore rispetto agli individui con ripetizioni del dinucleotide (CA)<sub>n</sub> >16 ( $p = 0.046$ ). Di 66 pazienti con (CA)<sub>n</sub> <16, il 50% ha dato risposta parziale, mentre il 47% dei casi con (CA)<sub>n</sub> >16 è andato in progressione di malattia, nonostante il trattamento. L'analisi multivariata ha confermato che entrambi gli SNP sono fattori predittivi indipendenti ( $p = 0.028$  e  $p = 0.007$ ). Per i 36 pazienti di cui sono stati analizzati i tessuti tumorali, si è visto che chi presentava mutazioni sul gene EGFR rispondeva meglio alla terapia rispetto agli individui *wild type* ( $p = 0.001$ ). Al momento dell'analisi, 108 erano morti (93,9%); il tempo medio di sopravvivenza è stato di 13 mesi (95% CI = 8-18 mesi). In aggiunta, dall'analisi di sopravvivenza univariata si evince una correlazione lineare e significativa fra lo SNP CYP1A1\*2A e la sopravvivenza complessiva ( $p = 0.001$ , log-Rank test). L'analisi di regressione di Cox ha confermato che lo SNP CYP1A1\*2A è un forte fattore indipendente di prognosi ( $p < 0.001$ ). Infine, l'analisi dell'effetto combinato dei due genotipi EGFR introne1 e CYP1A1\*2A mostra una forte associazione fra risposta alla terapia EGFR-TKI e sopravvivenza complessiva, poichè di 22 pazienti con (CA)<sub>n</sub> <16 in EGFR introne 1 e con genotipo T/T per CYP1A1, 17 hanno risposto in maniera parziale, per 4 si è avuta la stabilizzazione della malattia ed 1 è andato in progressione; invece il 46% dei pazienti con genotipo T/C o C/C e (CA)<sub>n</sub> >16 è andato in progressione di malattia, nonostante il trattamento, per il 19,4% si è avuta la stabilizzazione della malattia ed il 34,4% ha dato risposta parziale alla terapia. Il primo gruppo ha avuto una sopravvivenza media di 27 mesi, mentre il secondo di 11 mesi (95% CI = 7-15 mesi;  $p = 0.003$ , log-rank test).

Concludendo, lo studio mostra che il polimorfismo CYP1A1\*2A è un possibile marcatore molecolare predittivo di risposta e di sopravvivenza complessiva nei pazienti NSCLC, trattati con EGFR-TKIs. Inoltre, vi è un effetto combinato sinergico dei due SNPs CYP1A1\*2A ed EGFR (CA)<sub>n</sub> sulla risposta al trattamento.

**Parole chiave:** NSCLC, EGFR-TKI, polimorfismi CYP1A1\*2A ed EGFR (CA)<sub>n</sub>

#### Riferimento bibliografico

Nie Q et al. *Eur J Cancer* 2011 May 25. [Epub ahead of print].

---

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

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

Direttore	Prof. 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 Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Domenica L'Insalata (Università di Bologna) Dott.ssa Greta Milani (Az. Ospedaliera – Polo Univ. Luigi Sacco – Milano) Dott.ssa Virginia Paribello (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) 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)

---

**Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF**

<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: [webmaster@sifweb.org](mailto:webmaster@sifweb.org)

---

**DISCLAMER – Leggere attentamente**

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet [www.sifweb.org](http://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-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

---

### RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96).

Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.



### Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

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

Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.  
[sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it); [sif.informazione@segr.it](mailto:sif.informazione@segr.it); [sifcese@comm2000.it](mailto:sifcese@comm2000.it).

---

---