

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 31 – Luglio 2011**

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

Sommario

- Studio *genome-wide* di associazione tra le varianti alleliche dei geni *DDRGK1* e *ITPA* e l'insorgenza di trombocitopenia in pazienti HCV positivi in trattamento con Peg-interferone e Ribavirina
- Analisi retrospettiva di polimorfismi del VEGF implicati nella risposta alla terapia con FOLFIRI e bevacizumab nel tumore metastatico del colon-retto
- Un polimorfismo funzionale del gene *SCN1A* non modifica la risposta al trattamento con farmaci antiepilettici in pazienti con epilessia focale
- Polimorfismi dei geni della ricombinazione omologa e *outcome* clinico di pazienti affetti da cancro al polmone non a piccole cellule trattati con radioterapia
- Espressione e genotipo della timidilato sintasi non hanno un impatto significativo *sull'outcome* clinico di pazienti con carcinoma coloretale trattati con 5-fluorouracile
- L'impatto del fumo, la cessazione del fumo, e i polimorfismi genetici sull'attività e l'inducibilità del CYP1A2

STUDIO GENOME-WIDE DI ASSOCIAZIONE TRA LE VARIANTI ALLELICHE DEI GENI *DDRGK1* E *ITPA* E L'INSORGENZA DI TROMBOCITOPENIA IN PAZIENTI HCV POSITIVI IN TRATTAMENTO CON PEG-INTERFERONE E RIBAVIRINA

A cura della Dott.ssa Greta Milani

Il 70-80% dei soggetti infettati da HCV (*Hepatitis C Virus*) non risponde alla terapia convenzionale con Peg-Interferone-alfa-2a (PEG- INF) e ribavirina (RBV) ed evolve in epatite cronica, in cirrosi epatica o in carcinoma epatocellulare; meno del 50% dei pazienti con genotipo 1 del virus riesce a sviluppare una risposta virologica sostenuta (SVR). Invece, soggetti più anziani con fibrosi epatica hanno valori di SVR notevolmente più bassi per insorgenza di eventi avversi o anomalie di laboratorio, in particolare alterazioni di alcuni parametri ematologici che richiedono riduzione della dose e sospensione della terapia.

Gli autori di questo studio hanno dapprima trovato quali varianti genetiche, a livello dei geni *DDRGK1* e *ITPA* siano associate con comparsa di trombocitopenia indotta da INF, successivamente è stata valutata la correlazione tra trombocitopenia indotta da INF e l'anemia emolitica (HA) causata dal trattamento con ribavirina in pazienti giapponesi con epatite C cronica in terapia INF-RBV.

Sono stati reclutati 303 individui giapponesi con infezione da HCV in trattamento con PEG-INF/RBV, di cui 107 con piastrinopenia (PLT), da sottoporre ad uno studio genome-wide (GWAS) per identificare possibili fattori genetici che predisponessero a PLT ed eventuali varianti associabili con modifiche quantitative nei livelli di emoglobina (Hb) durante le 4 settimane di terapia combinata. Per validare i risultati ottenuti con lo

studio GWAS, le analisi sono state ripetute in una coorte di 391 soggetti giapponesi HCV positivi con caratteristiche analoghe ai pazienti in studio.

Due polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) dei geni *DDRGK1* e *ITPA* (rispettivamente rs11697186 e rs6139030) sono stati associati, tramite modello delle frequenze alleliche, alla riduzione di Hb in seguito a trattamento con PEG-INF/RBV e un altro SNP sul gene *DDRGK1* (rs11697186) è risultato significativamente associato alla diminuzione della conta piastrinica (PLT) dopo la terapia combinata; infine uno SNP nelle vicinanze del gene *ITPA* (rs6139030) ha mostrato una marginale significatività.

Nel successivo studio GWAS sono stati inseriti 21 SNP, inclusi quelli descritti in precedenza, e un altro SNP rs1127354 associato, in letteratura, con diminuzioni di Hb: le analisi hanno dimostrato che quest'ultimo polimorfismo è fortemente associato alla riduzione dei valori di Hb in seguito al trattamento, sia nella prima coorte di paziente che nel gruppo di controllo.

In particolare, individui portatori della variante allelica "A", sia in eterozigosi che in omozigosi, manifestano una minore diminuzione dei valori di Hb a 2-4-8 e 12 settimane di trattamento rispetto ad individui portatori della variante allelica "C", fortemente associata allo sviluppo di anemia severa; la differenza maggiore è rilevabile dopo un mese di terapia. È stata poi condotta una analisi multivariata che ha mostrato come la SVR sia fortemente associata con il genotipo "TT" del gene *IL28* rs8099917 e la conta piastrinica.

I quattro SNP significativi in questo lavoro (rs11697186, rs6139030, rs11697186 e rs1127354) sono risultati in linkage- disequilibrium (LD) tra loro.

Con un'analisi multivariata gli autori hanno dimostrato che lo SNP rs1127354 è associato indipendentemente con l'anemia severa indotta da RBV e con la trombocitopenia in seguito a trattamento con INF: questo polimorfismo può essere un utile marker per predire gli effetti avversi a livello ematologico della terapia combinata.

Questo lavoro dimostra che 2 SNP nei pressi del gene *DDRGK1*, sul cromosoma 20, (rs11697186 e rs6139030) sono fortemente associati con la trombocitopenia e la diminuzione dei valori di Hb dopo 4 settimane di trattamento con PEG-INF/RBV. Uno SNP funzionale nel locus di *ITPA* (rs1127354) è risultato essere associato in maniera significativa allo sviluppo di anemia indotta da RBV e di trombocitopenia nella popolazione genetica giapponese. Inoltre, la presenza della variante allelica "A" del polimorfismo rs1127354 è un fattore predittivo di SVR in soggetti che rispondono bene al trattamento con INF.

Conflitto di interesse: Gli autori YT, ET e SK dichiarano di condurre attualmente ricerche sponsorizzate da Merck Sharp & Dohme Corp. e Chugai Pharmaceutical Co; gli altri non dichiarano conflitti di interesse

Parole chiave: HCV, IL28, farmacogenetica, interferone, ribavirina, geni *DDRGK1* e *ITPA*.

Riferimento bibliografico

[Tanaka Y](#) et al. *Hum Mol Genet* 2011 Jun 23 [Epub ahead of print].

ANALISI RETROSPETTIVA DI POLIMORFISMI DEL VEGF IMPLICATI NELLA RISPOSTA ALLA TERAPIA CON FOLFIRI E BEVACIZUMAB NEL TUMORE METASTATICO DEL COLON-RETTO

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e della Dott.ssa Santa Mundi

L'approccio terapeutico per il trattamento dei pazienti con tumore metastatico del colon-retto (mCRC) ha recentemente subito molti cambiamenti grazie all'introduzione nella pratica clinica dei farmaci biologici come il cetuximab, anticorpo monoclonale diretto contro l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR), ed il bevacizumab, anticorpo monoclonale che blocca il *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Mentre è noto che il cetuximab non è efficace nei tumori KRAS mutanti, per il bevacizumab non sono ancora noti *biomarkers* predittivi di efficacia; ciò nonostante, il trattamento con bevacizumab, rappresenta la scelta di prima linea nei mCRC in associazione alle fluoropirimidine. Diversi studi hanno dimostrato che alcuni polimorfismi del VEGF possono modificarne la trascrizione genica e conseguentemente la produzione di VEGF, influenzando anche l'evoluzione delle patologie correlate all'angiogenesi.

Nel lavoro di Loupakis *et al.* (BMC Cancer, 2011) sono stati esaminati in maniera retrospettiva i polimorfismi del VEGF in una popolazione trattata con lo schema FOLFIRI-bevacizumab ed in una trattata solo con FOLFIRI, al fine di correlare il genotipo dei pazienti con la risposta al bevacizumab.

Nel presente studio sono stati arruolati 111 pazienti con adenocarcinoma metastatico del colon-retto in trattamento con FOLFIRI-bevacizumab e 107 pazienti in trattamento solo con FOLFIRI come controllo. I polimorfismi, esaminati su DNA germinale per mezzo di una PCR seguita da digestione enzimatica (RFLP), erano: -2578C>A (rs699947), -1498C>T (rs833061), +405C>G (rs2010963) e +936 C>T (rs3025039). L'*end-point* primario dello studio era quello di valutare l'associazione tra polimorfismi del VEGF e *progression free survival* (PFS), mentre gli *end-points* secondari erano: correlazione di polimorfismi con *response rate* (RR), *overall survival* (OS) e sviluppo di tossicità.

Tra i polimorfismi esaminati solo il -1498C>T era significativamente associato alla sopravvivenza, con una OS di 27.3 mesi, 20.5 mesi e 18.6 mesi ed una PFS di 12.8 mesi, 10.5 mesi e 7.5 mesi per i genotipi -1498CC, -1498CT, -1498TT rispettivamente. Nel gruppo di controllo non è stata evidenziata nessuna associazione significativa tra il polimorfismo -1498C>T e PFS o OS.

Il polimorfismo del VEGF -1498C>T, quando presente in forma mutata TT, correla con una PFS molto più breve e con una peggiore OS rispetto al genotipo portatore di almeno un allele *wild type* (CC o CT).

La strategia che vede il VEGF come target della terapia antiangiogenica è un valido approccio e, in particolare, i polimorfismi della linea germinale del VEGF, che influenzano i livelli di espressione della proteina potrebbero diventare validi biomarcatori predittivi di risposta al bevacizumab. Benchè nel presente studio sia stata trovata una significativa associazione tra genotipo -1498TT ed una PFS più breve rispetto al gruppo di controllo esaminato, la popolazione presa in considerazione non era stata randomizzata per il trattamento con bevacizumab e lo studio è stato condotto in modo retrospettivo. Inoltre, poichè non è stato possibile esaminare i livelli plasmatici di VEGF per verificare il reale effetto del polimorfismo -1498C>T sull'espressione del VEGF sia nella linea germinale che somatica, si rendono necessari ulteriori studi maggiormente approfonditi.

Parole chiave: bevacizumab, VEGF, polimorfismi, tumore del colon-retto, risposta al trattamento

Riferimento bibliografico

[Loupakis F](#) et al. *BMC Cancer* 2011, 11:247

UN POLIMORFISMO FUNZIONALE DEL GENE SCN1A NON MODIFICA LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON FARMACI ANTIEPILETTICI IN PAZIENTI CON EPILESSIA FOCALE

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

L'incidenza della farmaco-resistenza nell'epilessia permane elevata nonostante l'introduzione, negli ultimi 10 anni, di numerosi farmaci antiepilettici di nuova generazione. Studi clinici dimostrano infatti che il 15-30% dei pazienti con epilessia di nuova diagnosi sviluppa una refrattarietà al trattamento con uno o più farmaci antiepilettici. La farmaco-resistenza nell'epilessia costituisce un importante problema clinico, dato che la persistenza delle crisi può comportare elevati costi diretti ed indiretti sia per il paziente che per la collettività. Il gene SCN1A codifica per un canale ionico del sodio a voltaggio dipendente e rappresenta il bersaglio molecolare dei farmaci antiepilettici che agiscono attraverso il blocco di questo canale. Alcuni studi clinici hanno ipotizzato il coinvolgimento del polimorfismo rs3812718G>A del gene SCN1A nella risposta clinica al trattamento con farmaci antiepilettici, tuttavia in letteratura esistono dati contrastanti a riguardo. L'obiettivo di questo studio è stato quello di verificare la correlazione esistente del polimorfismo rs3812718G>A del gene, rispettivamente con la farmaco-resistenza e con il dosaggio richiesto, in un'ampia popolazione di pazienti con epilessia focale.

In questo studio sono stati arruolati prospetticamente 883 pazienti italiani (49.1% donne, età media: 39.5 anni ± 13.9, range di età: 5-84 anni). I farmaci antiepilettici assunti comprendevano prevalentemente

carbamazepina (n=293, range della dose: 100-2000 mg/day), e oxcarbazepina (n=158, range della dose: 300-3000 mg/day). Criteri di inclusione: diagnosi di epilessia focale sintomatica o epilessia criptogenica secondo la classificazione *International League against epilepsy* (ILAE); criteri di esclusione: presenza di tumore cerebrale progressivo. Sono stati classificati farmaco-resistenti i pazienti che nei due anni precedenti avevano avuto attacchi (con frequenza di almeno un attacco al mese) a fronte dell'utilizzo di tre o più farmaci antiepilettici, singolarmente o in combinazione, e alla massima dose tollerata. Sono stati classificati "responders" al trattamento antiepilettico i pazienti liberi da attacchi da almeno due anni. Il polimorfismo rs3812718G>A del gene SCN1A è stato determinato mediante discriminazione allelica Taqman in Real-Time PCR. L'associazione tra il polimorfismo rs3812718 e la farmaco-resistenza è stata valutata mediante il test del chi-quadro, mentre l'analisi dell'associazione con il dosaggio richiesto è stata condotta mediante analisi della varianza ad una via (one-way ANOVA).

In base ai criteri utilizzati dagli Autori, sono stati classificati "responders" al trattamento antiepilettico 401 pazienti (45.4%), mentre 482 pazienti (54.6%) sono stati classificati farmaco-resistenti. Il 23.4% dei pazienti arruolati è risultato omozigote GG, il 49.9% eterozigote GA ed il 26.7% omozigote AA. Le frequenze genotipiche osservate per il polimorfismo rs3812718G>A del gene SCN1A sono in accordo con l'equilibrio di Hardy-Weinberg (p=0.997). I risultati ottenuti mostrano che il polimorfismo rs3812718G>A non è associato alla resistenza ai farmaci antiepilettici (p=0.437). In particolare, la frequenza del genotipo AA nei 482 pazienti farmaco-resistenti non differisce in maniera significativa da quella osservata nei 401 pazienti "responders" (26.2 % vs 27.0, rispettivamente). Analogamente, non emergono differenze significative nella distribuzione del polimorfismo rs3812718G>A tra i pazienti farmaco-resistenti e pazienti "responders" quando i pazienti con epilessia sintomatica e criptogenica vengono analizzati separatamente. Inoltre, il polimorfismo rs3812718G>A non risulta correlato al dosaggio richiesto di farmaco antiepilettico, sia qualora si consideri l'intera coorte (p=0.089) che i soli pazienti farmaco-resistenti (p=0.154) o "responders" (p=0.631). Infine, nel caso dei soli pazienti che avevano assunto unicamente carbamazepina (n=393), il dosaggio richiesto non differisce significativamente in base al genotipo rs3812718 (GG=914±401 mg/ml, GA=994±427 mg/ml; AA= 922± 424 mg/ml).

La natura prospettica dello studio qui descritto e la sua adeguata potenza statistica costituiscono i principali punti di forza. Con il presente studio sale complessivamente a tre, il numero degli studi clinici che non confermano l'associazione del polimorfismo rs3812718G>A con il dosaggio richiesto di farmaco antiepilettico, inizialmente riportata da Tate et al. (*Pharmacogenet Genomics* 2006; 16:721-726). Inoltre, non viene confermata la correlazione tra il genotipo rs3812718AA e la farmaco-resistenza al trattamento antiepilettico, riportata da Abe et al., (*Br J Clin Pharmacol* 2008; 66: 204-307). I fattori che potrebbero spiegare la mancata replicazione di questi risultati possono essere riconducibili a differenze tra i vari studi nei criteri di definizione di farmaco-resistenza, nel diverso background genetico dei pazienti, nella diversa eziologia dell'epilessia oppure all'utilizzo di differenti farmaci antiepilettici e nel diverso rapporto di pazienti in monoterapia o politerapia.

In conclusione, i risultati di questo ampio studio prospettico non confermano i risultati ottenuti da studi precedenti che suggerivano una correlazione del polimorfismo rs3812718G>A del gene SCN1A con la farmaco-resistenza o con il dosaggio richiesto di farmaco antiepilettico.

Parole chiave: farmaci antiepilettici, farmaco-resistenza, SCN1A

Riferimento bibliografico

[Manna I](#) et al. *Epilepsia* 2011, 52(5): e40-4

POLIMORFISMI DEI GENI DELLA RICOMBINAZIONE OMOLOGA E OUTCOME CLINICO DI PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO AL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE TRATTATI CON RADIOTERAPIA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al polmone non a piccole cellule (NSCLC) rappresenta circa l'89% di tutti i tumori al polmone; la maggior parte dei pazienti riceve la diagnosi ad uno stadio tumorale già avanzato che richiede la radioterapia da sola o in combinazione con chemioterapia al fine di migliorare il controllo locale e l'*overall survival* (OS). A tutt'oggi la prognosi rimane tuttavia insoddisfacente, con una percentuale di sopravvivenza a 5 anni del 10% ed un tempo medio (MTS, *median survival time*) di 16-18 mesi. La tossicità polmonare correlata al trattamento con radiazioni, quali polmonite o fibrosi polmonari, può influenzare la prognosi di tali pazienti poiché queste complicazioni costringono alla riduzione della dose di radiazioni utilizzata, compromettendo la funzione polmonare. Date le premesse, la ricerca è quindi attratta dalla scoperta di nuovi possibili *markers* molecolari che aiutino a predire l'*outcome* clinico dei pazienti affetti da NSCLC trattati con radio(chemio)terapia.

Le rotture a doppio filamento (DSB) sono le principali lesioni genotossiche provocate da radiazioni ionizzanti; è stimato che circa 1Gy di raggi X provochi 50-100 DSBs in una cellula di mammifero, portando al 50% di morte cellulare. Due sono i *pathways* principali che intervengono nel ripristino delle rotture a doppio filamento: l'*homologous recombination* (HR) e il *non homologous end joining* (NHEj); le proteine coinvolte in questi processi sono molteplici, ma sicuramente alcune delle più importanti sono *MRE11*, *RAD50*, *RAD51*, *XRCC2* e *XRCC3*.

Nella risposta cellulare alle radiazioni ionizzanti come trattamento nella cura del cancro esiste una base genetica per cui pazienti che ricevono lo stesso trattamento rispondono in maniera differente. Studi precedenti dimostrano che l'elevata espressione di alcune proteine coinvolte nella riparazione delle DSBs (*RAD51*, *NBN*, *XRCC3*) conferiscono radio resistenza, mentre la perdita di *XRCC2* risulta in un severo ritardo nella risposta. Considerando che polimorfismi a singolo nucleotide possono modificare la funzione genica o possono essere usati come *markers* genetici, il lavoro in questione è stato volto allo studio dell'associazione di sei potenziali SNPs funzionali (*RAD51* -135G>C rs1801320, -172G>T rs1801321, *XRCC2* 4234G>C rs3218134, R188H rs3218536 G>A, *XRCC3* T241M rs861539, e *NBN* E185Q rs1805794) in geni coinvolti nel pathway HR con polmonite da radiazioni (RP) e overall survival (OS).

In questo studio sono stati arruolati 261 pazienti con NSCLC confermato istopatologicamente; di 261, per 231 si avevano a disposizione informazioni riguardo alla sopravvivenza; sono stati esclusi pazienti che avevano subito resezione chirurgica o ricadute, per cui il pool finale di pazienti è risultato essere di 228 soggetti (con NSCLC in stadio variabile da IA a IV). Inoltre per 196 individui si avevano anche le informazioni riguardo a comparsa di polmonite e dati dosimetrici sulle radiazioni.

Come *endpoints* dell'analisi sono stati selezionati l'OS e la comparsa di polmonite.

Dei 228 pazienti inclusi nelle analisi finali, 125 erano uomini e 103 donne, con un'età media di 63 anni; di questi il 74,6% erano bianchi, l'82,5% si trovava nello stadio III/IV, l'88,2% era stato trattato con una combinazione di chemioterapia e radioterapia e il 96,8% aveva ricevuto una dose di radiazioni compresa tra 60 e 70 Gy. L'OS media è risultata essere di 20 mesi ed il tempo medio per lo sviluppo di RP di 4.3 mesi.

L'analisi dei polimorfismi ha messo in evidenza come per *RAD51* l'omozigosi 135GG, se comparata con CG e CC, era marginalmente associata con il rischio di morte precoce in un'analisi univariata (HR = 1.46, 95% CI, 0.99-2.14, P = 0.056); in seguito ad un'analisi multivariata con aggiustamento per età, sesso, stato di fumatore o non, istologia e stadio del tumore, applicazione della chemioterapia e dose, gli HR erano statisticamente significativi sia per *RAD51* -135 G>C che per *XRCC2* R188H (CG/CC vs GG: HR = 1.70; 95% CI, 1.14-2.62, P = 0.009; AG vs GG: 1.70; 95% CI, 1.02-2.85, P = 0.043 rispettivamente).

Per quanto riguarda l'associazione di polimorfismi genetici con la comparsa di polmonite da radiazioni, similmente ai dati raccolti per l'OS, solo *RAD51* -135G>C mostra una significatività statistica con RP in analisi univariata (CG/CC vs GG: HR = 0.56; 95% CI, 0.35-0.90, P = 0.017). Dopo un aggiustamento multivariato, la significatività statistica è stata nuovamente confermata per *RAD51* -135G>C nel modello dominante (CG\CC vs GG: HR = 0.52, 95% CI, 0.31-0.86, P = 0.010; inoltre il genotipo TT di *XRCC3* T241M sembra mostrare un marginale effetto protettivo contro le RP in un modello additivo (TT vs CC: HR = 0.63, 95% CI, 0.38-1.04, P = 0.069).

È stato infine osservato come, sia *RAD51* -135 G>C che *XRCC2* R188H abbiano una considerevole influenza sull'OS solo in presenza di RP (HR aggiustato = 3.03, 95% CI, 1.69-5.45, P<0.001; e HR aggiustato = 2.67, 95% CI, 1.13-6.29, P = 0.025 rispettivamente).

In seguito a correzione di Bonferroni ancora una volta il polimorfismo *RAD51* -135G>C è rimasto significativo per l'associazione con OS e RP.

In conclusione, benchè sia necessario un numero maggiore di campioni per confermare i risultati osservati, lo studio ha messo in evidenza come polimorfismi in geni dell'*homologous recombination*, in particolare lo SNP di *RAD51 -135G>C*, possano influenzare l'*overall survival* e il rischio di polmoniti da radiazioni in pazienti affetti da NSCLC trattati con radio(chemio)terapia.

Parole chiave: NSCLC, radio(chemio)terapia, *RAD51 -135G>C*

Riferimento bibliografico

[Yin M](#) et al. *PLoS One* 2011, 6(5): e20055 Epub 2011 May 25

ESPRESSIONE E GENOTIPO DELLA TIMIDILATO SINTASI NON HANNO UN IMPATTO SIGNIFICATIVO SULL'OUTCOME CLINICO DI PAZIENTI CON CARCINOMA COLORETTALE TRATTATI CON 5-FLUOROURACILE

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

A più di 50 anni dall'introduzione nella pratica clinica, il 5-fluorouracile è ancora un farmaco fondamentale nel trattamento del carcinoma coloretale (CRC) e di molti altri tumori, sia da solo sia in associazione con altri farmaci. Sono state studiate le potenziali relazioni tra diverse variabili associate a geni coinvolti nel *pathway* metabolico del 5-FU, l'*outcome* clinico e la risposta alla chemioterapia. Ad oggi il marker maggiormente studiato è la timidilato sintasi (TS), il target biologico del 5-FU; i livelli di espressione del gene *TS* sembrano correlati all'*outcome* clinico e alla risposta al farmaco, per cui è stato suggerito come potenziale marker prognostico e/o predittivo.

Tre differenti polimorfismi nelle regioni non tradotte (UTR) di *TS* sono stati proposti come modulatori dell'efficienza di trascrizione e traduzione di mRNA di *TS*. La regione 5' UTR contiene un numero variabile di ripetizioni in tandem (VNTR) di 28 bp; sebbene siano state descritte fino a 9 ripetizioni, la maggioranza degli alleli *TS* contengono 2 o 3 ripetizioni, originando i genotipi definiti 2R/2R, 2R/3R e 3R/3R rispettivamente. Gli alleli 3R presentano un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) G > C in posizione 12 nella seconda ripetizione; i due alleli di questo SNP sono chiamati rispettivamente 3RG e 3RC. Il terzo polimorfismo è una inserzione/delezione di 6 bp nel nucleotide 1494 nella regione 3'UTR. Sono stati condotti diversi studi per verificare se i genotipi di *TS* potessero spiegare le differenze nei livelli di espressione di mRNA, ma i risultati sono piuttosto contrastanti.

Al fine quindi di tenere in considerazione i principali fattori intrinseci coinvolti nella relazione tra genotipo, espressione di *TS* e risposta a 5-FU è stato condotto uno studio pilota in campioni di tessuto sano e tumorale di pazienti con CRC trattati con solo 5-FU. Gli autori hanno analizzato sia la relazione tra genotipo e espressione di *TS* e quella tra questi dati sperimentali e i parametri di sopravvivenza (*disease free- survival* – DFS – e *overall survival* – OS); sono state investigate anche associazioni addizionali tra genotipo di *TS*, espressione e caratteristiche cliniche/patologiche.

I campioni di tumore primario e di mucosa normale corrispondente (prelevata a circa 10 cm dal tumore), ottenuti da 63 pazienti (32 maschi, età media 61 anni) con CRC, sono stati congelati in azoto liquido fino al momento dell'analisi molecolare; tutti i campioni sono stati raccolti prima che la chemioterapia di combinazione diventasse la pratica standard, sia per i pazienti trattati con terapia adiuvante (52 pazienti, secondo la schedula descritta nello studio IMPACT –*Interantional Multicenter Pooled Analysis of Colon Cancer Trials*, *Lancet* 1995, 345:939-44), sia per i pazienti trattati per tumore avanzato (secondo il regime Machover – Machover D et al. *J Natl cancer Inst* 1992, 84:321-7), entrambi riceventi alte dosi di acido folinico.

Il genotipo VNTR è stato associato con i livelli di espressione di *TS* nel tessuto sano, con il genotipo 2R/2R che ha mostrato una minore espressione, significativa, di mRNA rispetto ai genotipi 3R/3R e 2R/3R ($p=0,020$ e $0,049$ rispettivamente); non sono state osservate altre relazioni tra genotipo e espressione di *TS*, né nel tessuto sano, né nel tessuto tumorale.

Sebbene non significativa, è stata evidenziata una differenza nel DFS tra i pazienti in cui il tumore è stato completamente rimosso in funzione dei livelli alti o bassi di espressione del gene *TS*: i pazienti con bassi livelli di mRNA *TS* hanno avuto un più lungo DFS ($p=0,122$); non sono state invece osservate differenze nei parametri di sopravvivenza e espressione di *TS* nel tessuto sano.

In conclusione, i risultati di questo studio pilota suggeriscono come il solo genotipo di *TS* non sia sufficiente a predire la risposta al 5-FU.

Lo studio non ha infatti evidenziato correlazioni significative per la maggior parte dei parametri valutati, nonostante l'analisi delle varianti del gene *TS* e dell'espressione di RNA sia nel tessuto tumorale che nel tessuto sano; la limitata dimensione del campione non permette però di escludere deboli effetti di variazioni genotipiche aggiuntive. Sono necessari ulteriori studi su un maggior numero di campioni per chiarire se *TS* ha un ruolo rilevante nel determinare la risposta al 5-FU e se possa essere utilizzata come marker in clinica. E' necessario inoltre risolvere problemi metodologici, come la quantificazione di *TS* RNA, espressione proteica e attività enzimatica, così come il potenziale coinvolgimento di fattori genetici costituzionali e acquisiti.

Parole chiave: timidilato sintasi, 5-fluorouracile, carcinoma coloretale

Riferimento bibliografico

[Vignoli M](#) et al. *Pharmacol Res* 2011, 64: 242-248

L'IMPATTO DEL FUMO, LA CESSAZIONE DEL FUMO, E I POLIMORFISMI GENETICI SULL'ATTIVITÀ E L'INDUCIBILITÀ DEL CYP1A2

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Il citocromo P450A2 (CYP1A2) è coinvolto nel metabolismo di numerosi farmaci ed è indotto dal fumo. I fumatori, quindi, mostrano una diminuzione della risposta terapeutica a quei farmaci che sono substrati del CYP1A2. Inoltre, vi può essere anche un cambiamento di risposta in quei pazienti in trattamento che smettono di fumare. Ad esempio, MacLeod et al. (*Mutat. Res.* 1997, 376: 135-42) hanno descritto una diminuzione del 40% nell'attività del CYP1A2 dopo cessazione del fumo e Meyer et al. (*J. Clin. Psychopharmacol.* 2001, 21: 569-74) hanno mostrato in pazienti con schizofrenia che avevano smesso di fumare un aumento medio del 72% nei livelli plasmatici di clozapina, ma con una grande variabilità (range 14-261%). Queste osservazioni suggeriscono inoltre che vi può essere una grande variabilità interindividuale nella induzione del CYP1A2 nei fumatori.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare questa variabilità in un coorte di fumatori misurando l'attività del CYP1A2 prima e dopo la cessazione del fumo. Il secondo obiettivo dello studio è stato di determinare se i polimorfismi genetici del gene CYP1A2 (compresi gli aplotipi) potessero influenzare l'inducibilità del CYP1A2.

Questo studio è stato svolto presso il Department of Psychiatry e University Outpatient Clinic di Losanna, Svizzera. Sono stati reclutati un totale di 194 fumatori, che avevano manifestato la volontà di smettere di fumare, di cui 93 uomini (48%) e 101 (52%) donne. La maggior parte dei partecipanti erano caucasici (95%) e non legati da parentela (96%). L'età dei partecipanti era di 40 ± 11 anni (range 19-64 anni), fumavano 22 ± 10 sigarette/die (range 10-70 sigarette) con una media degli anni di fumo di 22 ± 10 anni (range 3-45 anni). Durante lo studio, nessun partecipante ha avviato o sospeso un trattamento farmacologico e non è stato registrato nessun cambiamento nei trattamenti in corso.

L'attività del CYP1A2 è stato determinata prima di smettere di fumare (W0) e a 4 settimane dalla cessazione (W4) del fumo, utilizzando il test di fenotipizzazione plasmatico per la determinazione della caffeina nei 194 fumatori e nei 118 che si sono astenuti dal fumo nel corso di 4 settimane.

I partecipanti sono stati genotipizzati per i polimorfismi CYP1A2*1F, *1D* e *1C.

I fumatori avevano un'attività di CYP1A2 1,55 volte superiore rispetto ai non fumatori ($P < 0,0001$). Questi dati sono in accordo con quelli precedentemente pubblicati in altri studi. Di particolare interesse è l'elevata variabilità nel cambiamento dell'attività del CYP1A2, dopo la cessazione del fumo, che è variata da 1.0 volte (nessun cambiamento) a 7.3 volte. I pazienti sono stati divisi in tre principali gruppi di osservazione.

In un primo gruppo, cinque pazienti, con bassa attività iniziale del CYP1A2, è stato osservato un aumento dopo la cessazione del fumo.

Poca o nessuna variazione ($\pm 20\%$) in attività di CYP1A2 è stata misurata in un secondo gruppo composto da 20 pazienti, dopo la cessazione del fumo, il che suggerisce che il fumo ha poca o nessuna capacità di indurre CYP1A2 in questi pazienti.

Infine, in un gruppo di 25 partecipanti, è stata determinata una diminuzione in attività di CYP1A2 che varia da 2- a 7,3- volte, suggerendo un forte effetto inducente del fumo sull'attività del CYP1A2. Gli altri 68 partecipanti della popolazione in studio hanno mostrato una diminuzione dell'attività del CYP1A2 tra 1,2- e 2- volte, in linea con le previste differenze tra fumatori e non fumatori.

Per il secondo obiettivo in studio, sono stati presi in considerazione anche il sesso, l'età, il numero di sigarette fumate al giorno, il trattamento farmacologico per smettere di fumare, le co-mediazioni, i polimorfismi genetici e gli aplotipi. È stato evidenziato che il fumo ha un effetto dose-dipendente sull'attività del CYP1A2. Inoltre, i partecipanti con poco o nessun cambiamento nell'attività del CYP1A2 dopo cessazione del fumo avevano fumato meno sigarette. Prima della cessazione del fumo, i seguenti fattori sono risultati influenzare l'attività del CYP1A2: CYP1A2*1F ($P=0,005$), CYP1A2*1D ($P=0,014$), il numero di sigarette/die ($P=0,012$), l'uso di contraccettivi ($P<0,001$) e gli aplotipi -163A/-2467T/-3860G ($P=0,002$). Dopo aver smesso di fumare, solo la variante CYP1A2*1F ($P = 0,017$) e l'uso di contraccettivi ($P=0,05$) ha mostrato un'influenza. Non è stata osservata nessuna influenza dei polimorfismi del CYP1A2 sull'inducibilità del CYP1A2.

Questo studio, quindi, dimostra un grande intervariabilità individuale nella inducibilità del CYP1A2 da fumo. Si evidenzia la necessità di un'attenta gestione clinica dei pazienti fumatori che assumono farmaci che sono metabolizzati da questo enzima, e nei pazienti neo-fumatori o che manifestano il desiderio di smettere di fumare. Il numero di sigarette fumate al giorno, uso di contraccettivi, l'influenza di polimorfismi genetici del gene CYP1A2 sono risultati significativi sull'attività del CYP1A2, ma sono necessari ulteriori indagini per determinare le altre variabili cliniche e/o ulteriori polimorfismi genetici che potrebbero influenzare l'attività e/o l'inducibilità del CYP1A2.

È evidente un'ampia intervariabilità individuale nell'inducibilità del CYP1A2 nel gruppo di pazienti in studio. Dopo la cessazione del fumo, solo la variante CYP1A2*1F e l'uso di contraccettivi hanno evidenziato un'influenza enzimatica significativa.

Parole chiave: Fumo, CYP1A2, inducibilità enzimatica

Riferimento bibliografico

[Dobrinis M](#) et al. *Clin Pharmacol Therap* 2011, 90(1): 117-25.

La newsletter di SIF-Farmacogenetica va in ferie. Auguri di buone vacanze a tutti i nostri lettori. Arrivederci a settembre.

La Redazione

**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; sif.informazione@segr.it; sifcese@comm2000.it.

**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 Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Greta Milani (Az. Ospedaliera – Polo Univ. Luigi Sacco – Milano) Dott.ssa Santa Mundi (Università di Pisa) Dott.ssa Virginia Paribello (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) 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

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet www.sifweb.org informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. **IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI.** SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso.

Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari.

Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-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 con oggetto: CANCELLA.