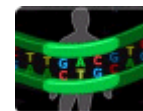


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 37 – Febbraio 2012**

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

Sommario

- Valutazione prospettica del profilo farmacogenetico del warfarin per l'induzione ed il monitoraggio del regime terapeutico
- Impatto dei polimorfismi genetici di P2Y12, CYP3A5 e CYP2C19 sulla variabilità alla risposta a clopidogrel in pazienti iraniani
- Farmacogenetica della osteonecrosi della mandibola indotta da bifosfonati: il ruolo di *RBMS3*
- Doxorubicina liposomiale pegilata come trattamento monoterapico di prima linea per il tumore della mammella localmente avanzato o metastatico: identificazione di nuovi fattori predittivi per il trattamento
- Uno studio di associazione *genome-wide* identifica un *locus* sul cromosoma 10q22 associato con l'*outcome* clinico della terapia adiuvante con tamoxifene- in pazienti giapponesi affette da cancro al seno
- I polimorfismi 667C>T e 1298A>C del 5,10-metilenetetraidrofoloreduttasi (MTHFR) non predicano la risposta al metotrexato in pazienti con neoplasia trofoblastica gestazionale
- Rischio di ricadute in pazienti con cancro della mammella trattati con tamoxifene: i polimorfismi di CYP2D6 e ABCB1
- Polimorfismi nei geni SOD2 e IL13 sono possibili marcatori della risposta alla chemioradioterapia preoperatoria nel cancro del retto

VALUTAZIONE PROSPETTICA DEL PROFILO FARMACOGENETICO DEL WARFARIN PER L'INDUZIONE ED IL MONITORAGGIO DEL REGIME TERAPEUTICO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Il warfarin è un anticoagulante orale utilizzato comunemente per il trattamento del tromboembolismo venoso e della fibrillazione atriale. A dispetto della sua efficacia, la gestione di questo farmaco è molto difficile a causa delle variazioni interindividuali nelle dosi necessarie per raggiungere e mantenere un'anticoagulazione efficace. In generale, la terapia anticoagulante con il warfarin prevede il raggiungimento di un valore di INR (*International Normalized Ratio*), o tempo di protrombina, all'interno di un intervallo che va da 2,0 a 3,0.

Una dose insufficiente comporta la perdita dell'effetto antitrombotico, mentre un'eccessiva anticoagulazione aumenta il rischio di sanguinamento.

Sebbene il warfarin sia utilizzato da almeno sessanta anni, l'influenza della genetica nel determinare la risposta individuale al farmaco è stata presa in considerazione solo recentemente. Da quando la FDA ha evidenziato l'importanza di alcuni polimorfismi a carico dei geni VKORC1 e CYP2C9, responsabili

rispettivamente della farmacodinamica e farmacocinetica del warfarin, diversi gruppi di ricerca, per garantire un corretto regime terapeutico, hanno proposto algoritmi che includono parametri genetici insieme agli altri di tipo clinico e demografico già utilizzati. Ad ogni modo, restano insufficienti le informazioni riguardanti la dose idonea per l'inizio della terapia, che, a oggi, è stabilita mediante aggiustamenti di tipo clinico che, naturalmente, non sono esenti dal rischio piuttosto elevato di ricorrenze emorragiche o trombotiche.

In questo studio viene proposto un nuovo algoritmo basato sull'analisi dei polimorfismi di VKORC1 e CYP2C9, il WRAPID (*Warfarin Regimen using A Pharmacogenetics-guided Initiation Dosing Protocol*), per stabilire la dose di carico e di mantenimento della terapia con warfarin nei pazienti con fibrillazione atriale o tromboembolismo.

Sono stati arruolati pazienti di entrambi i sessi, ai quali era stato prescritto il warfarin per la prima volta e per un periodo di almeno tre mesi.

L'analisi ha incluso i polimorfismi CYP2C9*2; CYP2C9*3; VKORC1 -1639G>A e CYP4F2 c.1297G>A. I genotipi sono stati determinati mediante la tecnica, *TaqMan allelic discrimination*.

Su un totale di 157 pazienti, le frequenze alleliche per VKORC1 -1639G>A e CYP4F2 c.1297G>A erano 38,0% e 31,7% rispettivamente e per CYP2C9*2 e*3 rispettivamente di 11,1% e 4,8%.

Non sono state riscontrate deviazioni dall'equilibrio di Hardy-Wenber.

L'obiettivo primario era determinare il tempo necessario per raggiungere il valore terapeutico di INR (tra 2,0 e 3,0) e il tempo per l'eventuale over-anticoagulazione (INR>4).

Il tempo necessario per stabilizzare l'effetto anticoagulante è stato molto variabile nei portatori del polimorfismo VKORC1, ma non in quelli CYP2C9*2 e*3 e, comunque quando i valori erano aggiustati mediante analisi di co-variata, nessuno di questi genotipi influenzava in maniera rilevante il tempo per la stabilizzazione dell'effetto terapeutico.

I profili di risposta nei vari gruppi genotipici sono stati stimati essere molto simili tra loro. In altre parole il peso di VKORC1 e CYP2C9 per un'efficace e sicura anticoagulazione era paragonabile.

In questo studio l'uso dell'algoritmo WRAPID ha eliminato le differenze basate sui genotipi VKORC1 e CYP2C9 per raggiungere l'INR target all'inizio della terapia con warfarin.

I risultati suggeriscono che l'analisi dei polimorfismi di VKORC1 e CYP2C9 (con l'esclusione di CYP4F2) sia sufficiente, anche se gli stessi autori affermano che per escludere definitivamente un'influenza del CYP4F2 siano necessari studi con un più alto potere statistico di quelli eseguiti finora.

Una limitazione di questo lavoro è l'impossibilità di determinare l'influenza dell'algoritmo basato sui polimorfismi VKORC1 e CYP2C9 sulle evenienze rare di sanguinamento a causa del numero insufficiente di pazienti analizzati. In ogni caso, questo studio supporta, ancora una volta, l'importanza di uno screening preventivo, basato sull'analisi di VKORC1 e CYP2C9 per determinare la dose efficace e più sicura nelle fasi iniziali della terapia con warfarin e, in questo senso, i risultati contrastano con quelli ottenuti da altri autori che sostengono l'importanza esclusiva dei polimorfismi a carico di CYP2C9.

Infine, questo è il primo studio prospettico che dimostra l'utilità di un algoritmo genetico che minimizzi le differenze associate ai ben noti polimorfismi nei geni VKORC1 e CYP2C9 nel peso che hanno per stabilire la dose iniziale della terapia con warfarin sia nei pazienti con fibrillazione atriale, sia in quelli affetti da tromboembolismo venoso.

I polimorfismi VKORC1 -1639G>A, CYP2C*2 e *3 influenzano fortemente e in ugual misura il raggiungimento di un'efficace anticoagulazione con il warfarin e il rischio di eventi avversi a esso associati.

Parole chiave: Warfarin, VKORC1, CYP2C9.

Riferimento bibliografico:

Gong IY et al. Blood. 2011, 118(11):3163-71
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21725053>

IMPATTO DEI POLIMORFISMI GENETICI DI P2Y12, CYP3A5 E CYP2C19 SULLA VARIABILITÀ ALLA RISPOSTA A CLOPIDOGREL IN PAZIENTI IRANIANI

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

L'angioplastica coronarica (*percutaneous coronary intervention*, PCI) ha migliorato l'esito delle sindromi coronariche acute (*acute coronary syndrome*, ACS), sebbene la trombosi in seguito a impianto di uno *stent* sia una delle più frequenti complicanze che influenzano sopravvivenza ed esito delle ACS. Nonostante la terapia con clopidogrel ed aspirina in questa categoria di pazienti abbia migliorato l'esito clinico a lungo termine, un adeguato effetto antiaggregante del clopidogrel non viene raggiunto nel 4-30% dei pazienti. La differenza interindividuale nella risposta a clopidogrel è stata ampiamente studiata sia in termini di co-somministrazione con altri farmaci che di fattori correlati al paziente come diabete, fumo, obesità e fattori genetici. Il clopidogrel è un pro farmaco, rapidamente assorbito per via orale, metabolizzato dal CYP450 (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4/5) e dalla glicoproteina paraossinasi-1 per generare metaboliti attivi come inibitori dei recettori piastrinici adenosina difosfato (ADP) P2Y12.

Studi farmacogenetici sono stati condotti principalmente sulla popolazione caucasica ed in misura minore su quella asiatica, ma nessuna ricerca è stata pubblicata per la popolazione iraniana. Scopo del presente lavoro è stato quello di indagare il ruolo di importanti fattori genetici (CYP3A5, CYP2C19 e P2Y12), caratteristiche demografiche e condizioni patologiche nella risposta alla terapia antiaggregante con clopidogrel in una popolazione iraniana sottoposta a PCI in via elettiva.

Pazienti in attesa per una PCI in via elettiva sono stati arruolati tra Settembre 2007 e Ottobre 2008 presso l'ospedale Kowsar di Shiraz. I pazienti avevano firmato il consenso informato e lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'ospedale. Tutti i pazienti avevano ricevuto 80-325 mg di aspirina per almeno una settimana prima della PCI e non avevano ricevuto la tienopiridina nella settimana prima dell'arruolamento. Tra i criteri di esclusione dallo studio erano elencati infarto acuto del miocardio nella settimana, qualsiasi controindicazione per aspirina e clopidogrel, trombocitopenia, anemia, insufficienza renale. Le caratteristiche dei pazienti raccolte includevano età, sesso, fumo, diabete mellito, ipertensione, iperlipidemia, indice di massa corporea, conta dei leucociti e delle piastrine, malattie ed interventi multi vascolari.

Tutti i pazienti avevano ricevuto una dose di carico (LD) di 600 mg di clopidogrel almeno 24 h prima della PCI, seguita da 150 mg/die per le due settimane successive e 75 mg/die per i 12 mesi successivi all'intervento. L'aspirina è stata prescritta 325 mg/die per una settimana e 80 mg/die per un periodo non definito dopo PCI. Sono stati esclusi dallo studio pazienti che ricevevano farmaci con attività su CYP3A5 e CYP2C19.

I campioni di sangue sono stati collezionati prima dell'intervento per pazienti che assumevano solo aspirina, considerati come *baseline*, 2 h dopo la dose di carico di 600 mg di clopidogrel, 24 h e dopo 30 giorni dall'inserimento dello *stent*. L'aggregazione piastrinica è stata valutata attraverso *light transmittance aggregometry* (LTA).

Il genotipo è stato analizzato mediante PCR-RFLP per P2Y12 rs2046934, CYP3A5 rs776746, CYP2C19*2 (rs4244285) e CYP2C19*3 (rs4986893).

La mancata risposta al clopidogrel è stata definita come l'inibizione relativa di piastrine (RI) indotta da clopidogrel. $RI = [(aggregazione\ prima\ del\ trattamento - aggregazione\ dopo\ il\ trattamento) / (aggregazione\ prima\ del\ trattamento)] \times 100$. Sia per 5 che 20 μM di aggregazione ADP-indotta, i pazienti erano considerati non responsivi per $RI < 10\%$, semi-responsivi per $RI = 10-30\%$ e responsivi per $RI > 30\%$.

I pazienti arruolati erano 112. Il 25.90% e il 28.60% dei pazienti avevano il massimo di non risposta al clopidogrel dopo 2 h dall'assunzione della dose di carico misurata a 5 e 20 μM ADP, rispettivamente. Una forte correlazione è stata osservata tra le due concentrazioni degli agonisti di ADP ($P < 0.001$, $r = 0.88$). Non ci sono differenze significative tra le caratteristiche dei pazienti e la loro classificazione in non responsivi, semi-responsivi e responsivi. 93 pazienti avevano assunto almeno un farmaco che avrebbe potuto influenzare il metabolismo del clopidogrel, ma i risultati di LTA non hanno evidenziato alcuna influenza reale sulla mancata risposta a clopidogrel.

Per quel che riguarda P2Y12, il 92.9% dei pazienti era omozigote *wild type* ed il 7.1% eterozigote e nessun omozigote polimorfo; pertanto, visto lo scarso numero di soggetti e la maggioranza dei soggetti *wild type*, non è stata effettuata l'analisi statistica e la relazione alla mancata risposta a clopidogrel non è stata indagata.

Per quel che riguarda CYP3A5, l'8% dei pazienti è risultato *1/*1, 37.50% *1/*3 e 54.50% *3/*3. Anche classificando la popolazione in soggetti aventi almeno un allele polimorfo e soggetti *wild type*, nessuna differenza significativa è stata riscontrata né tra genotipo o caratteristiche del paziente (età, sesso, BMI) e mancata risposta a clopidogrel. L'inibizione dell'aggregazione piastrinica dopo trattamento con clopidogrel è risultata significativa in entrambi i gruppi di soggetti se confrontata alla *baseline* ($P < 0.05$). L'efficacia di clopidogrel in termini di RI è stata confrontata tra i due gruppi, ma sebbene non ci fossero differenze significative, i soggetti portatori di almeno un allele *1 hanno mostrato una più alta inibizione dell'aggregazione piastrinica.

Anche per quel che riguarda CYP2C19 non sono state evidenziate associazioni significative tra il genotipo e la mancata risposta a clopidogrel.

Tutti i polimorfismi analizzati erano in equilibrio di Hardy-Weinberg.

Il presente studio ha mostrato come i polimorfismi di P2Y12, CYP3A5 e CYP2C19 insieme a fattori non genetici non influenzino la variabilità interindividuale alla risposta a clopidogrel in una popolazione iraniana di pazienti sottoposti a PCI in via elettiva.

I limiti principali dello studio sono prima di tutto l'esiguo numero di soggetti e la difficoltà della determinazione dei metaboliti del clopidogrel direttamente nel plasma, sebbene sia stato utilizzato un test di aggregazione con ADP come marcatore indiretto dei metaboliti. Vista la rilevanza del problema della trombosi in seguito ad inserimento dello *stent*, altri fattori quali la glicoproteina paraoxinasi-1, il recettore IIb/IIIa della glicoproteina e trasportatori del clopidogrel quali ABCB1 meritano di essere approfonditi.

Parole chiave: PCI, clopidogrel, P2Y12, CYP3A5, CYP2C19

Riferimento bibliografico

Namazi S et al. *Biochem Pharmacol* 2012, 83(7):903-8

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Biochemical+pharmacology%22%5bJour%5d+AND+2012%5bpd%5d+AND+Namazi%5bauthor%5d&cmd=detailssearch>

FARMACOGENETICA DELLA OSTEONECROSI DELLA MANDIBOLA INDOTTA DA BIFOSFONATI: IL RUOLO DI *RBMS3*

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

I bifosfonati (BP) sono farmaci ampiamente prescritti, sia per la prevenzione della perdita ossea nell'osteoporosi sia per il controllo delle metastasi ossee e dell'ipercalcemia nelle patologie oncologiche, grazie alla loro capacità di ridurre l'attività degli osteoclasti. Questi farmaci, in particolare l'acido zoledronico, sono stati associati all'insorgenza di un importante effetto avverso, quale l'osteonecrosi della mandibola. Secondo l'*American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* (AAOMS), l'osteonecrosi della mandibola indotta da BP è definita come una lesione ossea maxillofaciale della durata di almeno 8 settimane in pazienti in trattamento con BP che non abbiano storia di terapia radiante della mandibola. Fattori predisponenti sembrano essere, in piccola percentuale, l'età, la razza, il fumo, l'obesità, le patologie tumorali ed una scarsa igiene orale. Alcuni studi suggeriscono un'associazione dell'osteonecrosi anche con fattori genetici, ed un test genetico capace di selezionare i pazienti a rischio prima di iniziare la terapia potrebbe avere una grande utilità clinica.

E' stato pertanto effettuato uno studio farmacogenetico di associazione *genomewide*, reclutando pazienti con diagnosi definita di osteonecrosi della mandibola da BP ai quali è stato analizzato l'intero genoma alla ricerca di *single nucleotide polymorphisms* (SNP) e *copy number variation* (CNV) di suscettibilità. In particolare sono stati analizzati i geni della famiglia dell'*insulin-like growth factor* (IGF) ed i geni legati alla farmacocinetica dei farmaci (geni ADME), che in precedenti studi hanno mostrato di avere un ruolo nella fisiopatologia di questa reazione avversa.

Si tratta di uno studio caso-controllo che ha arruolato i pazienti presso le seguenti cliniche: Massachusetts General Hospital, Brigham & Women's Hospital, the Harvard School of Dental Medicine e la clinica

affiliata, e Nova University Dental School in Florida. Per l'arruolamento sono stati utilizzati i seguenti 3 criteri, ricavati dall'AAOMS: trattamento con bifosfonati al momento della comparsa della osteonecrosi della mandibola; lesioni di durata superiore alle 8 settimane; nessuna precedente terapia radiante della mandibola. I controlli erano pazienti in trattamento con bifosfonati senza segni o sintomi di osteonecrosi della mandibola all'esame clinico. Sono stati raccolti campioni di saliva da ogni paziente reclutato ed il DNA estratto è stato analizzato con il Human Omni Express 12v1.0 Beadchip (Illumina, San Diego, CA). Inoltre, per incrementare la forza dell'analisi, sono stati utilizzati controlli di popolazione, ricavati dal Population Reference Sample (POPRES), dal Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC), dall'Illumina iControlDB, e dall'international Serious Adverse Events Consortium (iSAEC).

Sono stati reclutati tra il 2008 ed il 2009 67 pazienti, di cui 47 casi (32 femmine con età media di 62.8 anni; 15 maschi con età media di 64.8 anni) e 20 controlli (15 femmine con età media di 64.8 anni, 5 maschi con età media di 63.8 anni). La maggior parte dei pazienti (28 casi e 13 controlli) era stato in trattamento con acido zoledronico per una durata media di 22.5 mesi. L'analisi del DNA è stata eseguita in 53 dei 67 pazienti arruolati (35 casi e 18 controlli). È stata trovata un'associazione significativa tra la presenza dell'rs17024608, localizzato a livello dell'introne del gene *RBMS3*, e l'insorgenza di osteonecrosi della mandibola ($p = 7.4 \times 10^{-8}$); gli individui positivi per l'rs17024608 mostravano un rischio 5 volte maggiore di sviluppare osteonecrosi rispetto agli individui negativi. Sono stati analizzati 1.083 SNP dei geni della famiglia dell'IGF, e 4.564 SNP dei geni ADME: nella prima serie di geni studiati l'associazione più forte è stata trovata per l'SNP rs11934877, localizzato a livello della regione intronica del gene *IGFBP7* (OR: 2.9; 95% IC; $p = 0.00022$); nella seconda, l'rs1678387, della regione intronica del gene *ABCC4*, ha mostrato l'associazione più forte anche se con una significatività al limite dopo correzioni multiple (OR, 5.3; 95% CI; $p = 2.0 \times 10^{-5}$). Per quanto riguarda l'analisi delle CNV, non è stata riscontrata una differenza significativa tra casi e controlli. Tuttavia è stata individuata la presenza di 2 grandi duplicazioni nei casi e non nei controlli: una sul cromosoma 2 (925.407 bp; dall'rs4850234 all'rs16837705), ed una sul cromosoma 22 (730.236 bp; dall'rs6003971 all'rs2845421). In particolare, la duplicazione eterozigote di 730 kb copre il gene *SLC7A4*, codificante per un *carrier* dei soluti che potrebbe essere importante per la biodisponibilità dei BP.

Lo scopo di questo studio è stato quello identificare markers genetici ad alta penetranza associati al rischio di osteonecrosi della mandibola da BP. Uno dei possibili meccanismi eziopatogenetici di questa reazione avversa sembra riguardare una soppressione del turnover osseo, che comporta una riduzione del flusso sanguigno, necrosi ed apoptosi delle cellule ossee. Recentemente è stato dimostrato che i BP riducono la sintesi del collagene di tipo I nei fibroblasti umani gengivali e negli osteoblasti. A questi effetti negativi dei BP sul turnover osseo, si andrebbero a sommare le conseguenze determinate dalla presenza di geni di suscettibilità, come l'*RBMS3*. Questo gene codifica per la proteina legante Prx1, un fattore di trascrizione homeobox che regola la sintesi del collagene di tipo I nei fibroblasti. Il collagene di tipo I, codificato dal gene *COL1A*, costituisce la parte principale della matrice ossea e mutazioni in questo gene causano fragilità ossea, come nell'osteogenesi imperfetta. Variazioni dell'*RBMS3* (rs10510628) e del *COL1A* (rs1800012) sono state in precedenza associate con una riduzione della massa ossea e con fratture osteoporotiche. In questo studio è stata individuata un'associazione significativa tra l'rs17024608 del gene *RBMS3* e l'osteonecrosi; non essendoci una differenza statisticamente significativa tra il gruppo di controllo e la popolazione generale di controllo, è improbabile che l'associazione riscontrata sia dovuta a fattori di confondimento. L'rs17024608 è meno frequente nella popolazione Africana e questo potrebbe in parte spiegare perché l'osteonecrosi sembra essere più frequente nei bianchi. Lo studio degli SNP ha messo in evidenza un'associazione tra l'insorgenza della reazione avversa ed il gene *IGFBP7*. L'IGF1 e l'IGF2 sono fattori di crescita che svolgono un ruolo importante nella normale crescita e sviluppo, influenzando la replicazione ed il differenziamento delle cellule ossee, e bambini con deficit di IGF1 sono incapaci di raggiungere un'altezza appropriata. Inoltre è stata individuata anche un'associazione con il gene *ABCC4*, codificante per un multidrug resistance transporter (MRP)4, che svolge un importante ruolo protettivo per il midollo osseo, la milza, il timo ed il tratto gastrointestinale. Mutazioni in questo gene sono state associate con l'insorgenza di reazioni avverse gravi (leuco-neutropenia da ciclofosfamide), ma ancora non sono disponibili altre informazioni sull'eventuale aumento di tossicità da BP. Lo studio delle CNV infine ha messo in luce una predisposizione all'osteonecrosi in portatori di mutazioni a carico di geni del metabolismo come l'*SLC7A4*.

In conclusione questo studio *genomewide* ha rivelato un'associazione significativa tra l'SNP rs17024608 del gene *RBMS3* e l'insorgenza di osteonecrosi della mandibola da BP. E' probabile che il gene in questione riduca la formazione di collagene ed alteri il turnover osseo. Inoltre sono stati chiamati in causa anche i geni *IGFBP7* ed *ABCC4*. Ulteriori studi sono necessari per validare e replicare questi risultati e per chiarire la loro rilevanza clinica.

Parole chiave: bifosfonati, osteonecrosi della mandibola, *RBMS3*

Riferimento bibliografico

Nicoletti P et al. *Oncologist*. 2012 Jan 20 [Epub ahead of print]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=%22The+oncologist%22%5bJour%5d+AND+2012%5bpd%5d+AND+Nicoletti+P+%5bauthor%5d&cmd=detailsearch>

DOXORUBICINA LIPOSOMIALE PEGILATA COME TRATTAMENTO MONOTERAPICO DI PRIMA LINEA PER IL TUMORE DELLA MAMMELLA LOCALMENTE AVANZATO O METASTATICO: IDENTIFICAZIONE DI NUOVI FATTORI PREDITTIVI PER IL TRATTAMENTO

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e della Dott.ssa Silvia Magagna

La scelta dello schema terapeutico ottimale per il trattamento del tumore della mammella in donne in età avanzata può essere spesso problematico. Le antracicline sono tra i farmaci maggiormente utilizzati per il trattamento dei tumori della mammella, ma sono spesso associate allo sviluppo di numerosi eventi di tossicità tra cui cardiotossicità, mielosoppressione, mucosite, diarrea, nausea, vomito ed eritrodiestesia palmo-plantare (PPE). La doxorubicina liposomiale pegilata (PLD) è una forma farmaceutica in cui le molecole di farmaco sono incapsulate in particelle liposomiali, che conferiscono al farmaco una maggior emivita, una miglior penetrazione all'interno del tessuto tumorale ed una ridotta tossicità. Benchè l'efficacia e la tossicità della terapia siano influenzate da fattori riguardanti le caratteristiche delle pazienti e la natura del tumore, sembrerebbero rivestire un ruolo importante anche l'espressione della glicoproteina P (PgP), codificata dal gene *ABCB1* (*ATP binding cassette* isoforma B1), ed alcune proteine riparatrici del DNA. Alcuni studi condotti retrospettivamente hanno dimostrato che l'amplificazione del gene che codifica per l'enzima topoisomerasi II α (TOPOII α) è associata allo sviluppo di eventi tossici in seguito a trattamento con antracicline, mentre il complesso MRE11/RAD50/NSB1 (MRN), coinvolto nel rilascio del legame DNA-topoisomerasi, potrebbe influenzare l'efficacia della terapia. Lo scopo di questo studio è stato dunque quello di valutare l'efficacia e la sicurezza della terapia con PLD e verificare la presenza di biomarcatori predittivi per la tossicità e per la risposta alla terapia.

Nello studio di Green *et al.* sono state arruolate 25 pazienti con età ≥ 65 anni affette da tumore della mammella avanzato o metastatico. Le pazienti arruolate non presentavano problemi cardiaci (frazione di eiezione del ventricolo sinistro $\geq 50\%$) e mostravano normale funzionalità degli organi e del midollo osseo (piastrine $\geq 100 \times 10^9/L$; neutrofilo $\geq 1,5 \times 10^9/L$; globuli bianchi $\geq 3.0 \times 10^9/L$; emoglobina $> 90g/L$). Sono state escluse dallo studio le pazienti che erano state sottoposte precedentemente a chemioterapia, che avevano mostrato recidive entro 12 mesi in seguito alla terapia adiuvante con antracicline, che avevano avuto infarto del miocardio a 6 mesi dall'inserimento nel programma terapeutico e che mostravano metastasi sintomatiche a livello del sistema nervoso centrale. Le pazienti sono state trattate con PLD in dose di di 40 mg/m² per via endovenosa con un ciclo ogni 4 settimane. L'efficacia della terapia è stata valutata considerando il tempo di fallimento del trattamento (TTF), inteso come progressione della malattia, sviluppo di grave tossicità che ha portato a morte o a sospensione del trattamento. Risposta alla terapia e tempo di miglioramento (TTP) sono stati valutati utilizzando i criteri RECIST, ad eccezione delle pazienti con metastasi ossee, per le quali sono stati utilizzati i criteri WHO. La sicurezza del trattamento è stata valutata osservando l'insorgenza di effetti avversi secondo valutazione CTCAE, monitorando la funzionalità cardiaca e misurando la frazione di eiezione del ventricolo sinistro (LVEF) mediante tecniche di ecocardiografia ad ultrasuoni. Per quanto riguarda i parametri istologici sono stati valutati il grado tumorale, l'espressione dei recettori HER2, ER e PR, e l'espressione della proteina ki67.

Lo studio farmacogenetico è stato svolto esaminando i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) a carico del gene ABCB1, noto per svolgere un ruolo importante nello sviluppo della resistenza a molti altri chemioterapici. Gli SNPs analizzati sono stati il G1199A, C1236T, G2667T/A, C3435T e le analisi sono state condotte utilizzando un Pyrosequencing PSQ96MA (Qiagen, Stockholm, Sweden). Inoltre, con tecniche immunochimiche è stata determinata l'espressione del complesso MRN e della TOPOII α .

Le tossicità più frequenti sono state nausea (60%), atassia (56%) e PPE (52%); cardiotoxicità clinicamente significativa è stata riscontrata in 3 pazienti. Sono stati calcolati i valori medi di TTF (5,5 mesi) e di TTP (5,7 mesi).

Non è stata identificata un'associazione tra l'espressione dei recettori HER2, PR, ER e i parametri TTF e TTP. Le pazienti con Ki67 \leq 10% hanno mostrato TTF e TTP significativamente maggiori rispetto a quelle affette da tumore ad attività proliferativa alta o intermedia. È stata individuata un'associazione significativa tra il genotipo 3435TT e l'incidenza di gravi forme di PPE. I valori medi di TTF e TTP risultano significativamente maggiori per le pazienti con genotipo *wild-type* per lo SNP G2677T rispetto ai genotipi eterozigoti o omozigoti mutati. Per la variante G1199A, solo un paziente era portatore del genotipo GA, e per questo motivo lo SNP è stato escluso dallo studio; il polimorfismo C1236T invece non sembra essere associato alla risposta alla terapia. Infine, non è stata dimostrata nessuna relazione tra la presenza di SNPs sul gene ABCB1 e lo sviluppo di mielosoppressione e cardiotoxicità.

L'espressione di TOPOII α è stata messa in relazione con quella di Ki67, ed è stato visto che ad un elevato rapporto TOPOII α /Ki67 erano associati TTF e TTP significativamente maggiori rispetto alla media. Infine, per le pazienti che presentavano bassi livelli di MRN non sono stati osservati progressi della malattia.

I risultati di questo studio dimostrano l'esistenza di un'associazione clinicamente significativa tra efficacia della terapia e lo SNP G2677T in condizione di eterozigosi ed omozigosi mutata; inoltre il genotipo 3435TT del polimorfismo C3435T risulta associato allo sviluppo di gravi forme di PPE.

In conclusione, in questo studio è stato dimostrato che la genotipizzazione del gene ABCB1 può essere un biomarcatore predittivo di risposta al trattamento e di sviluppo di PPE. Inoltre, una aumentata espressione della TOPOII α risulta essere associata allo sviluppo di tossicità in seguito a trattamento con antracicline, mentre elevati livelli di complesso MRN potrebbero diminuire l'efficacia della terapia.

Come affermato anche dagli autori, questi risultati devono essere validati ampliando il range di età della popolazione e su un numero maggiore di pazienti.

Parole chiave: tumore della mammella, antracicline, farmacogenetica, polimorfismi, ABCB1, topoisomerasi II α

Riferimento bibliografico

Green H et al. Cancer Lett. 201, 313(2):145-53

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Cancer+letters%22%5bJour%5d+AND+313%5bvolume%5d+AND+2%5bissue%5d+AND+145%5bpage%5d+AND+2011%5bpdatt%5d&cmd=detailssearch>

UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE GENOME-WIDE IDENTIFICA UN LOCUS SUL CROMOSOMA 10Q22 ASSOCIATO CON L'OUTCOME CLINICO DELLA TERAPIA ADIUVANTE CON TAMOXIFENE- IN PAZIENTI GIAPPONESI AFFETTE DA CANCRO AL SENO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il tamoxifene (TX) è oggi la *gold standard therapy* nel trattamento di cancro alla mammella ormone recettore (ER) – positivo. Tuttavia il 30-50% delle pazienti trattate con terapia tamoxifene-adiuvante va incontro a ricorrenza e successivamente a morte, mostrando forti differenze individuali nella risposta. TX è metabolizzato ai metaboliti altamente attivi 4-idrossitamoxifene e 4-idrossi-N-desmetiltamoxifene (endoxifene): proprio le differenze inter-individuali nella formazione e nell'eliminazione di questi metaboliti potrebbero essere uno dei più importanti fattori influenti sulla variabilità nella risposta al tamoxifene. Polimorfismi genetici noti del gene CYP2D6 (codificante per l'enzima chiave della generazione di

endoxifene) fanno sì che questo gene sia diventato il predittore più promettente della concentrazione plasmatica di endoxifene e dell'efficacia clinica del tamoxifene in pazienti con cancro alla mammella. In diversi studi, oltre a CYP2D6, diversi altri geni, come CYP2C19, 3A5, SULT1A1, UGT2B15, ABCC2 vengono presentati come possibili candidati associati con l'*outcome* clinico a terapia con tamoxifene: tuttavia tali associazioni non sono state ancora validate. Per questi motivi le differenze inter-individuali nella risposta terapeutica a TX, suggeriscono che possano essere implicati anche altri fattori genetici.

Allo scopo di identificare *loci* responsabili dell'*outcome* clinico, è stato condotto uno studio di associazione *genome-wide* (GWAS) tramite la genotipizzazione di più di 610 000 SNPs e identificato il gene *C10orf11* (cromosoma 10 *open-reading frame* 11) come associato a *recurrence-free survival* (RFS, sopravvivenza libera da ricomparsa) in pazienti con cancro al seno trattati con TX.

Nello studio sono stati reclutati 462 soggetti giapponesi con cancro al seno riceventi TX-terapia, con un'età media di 51 anni (*range* 27-84 anni), un follow-up medio di 6.8 anni (*range* 0.6-23.5 mesi), ed un periodo medio di trattamento di 4.8 anni (*range* 0.6-6.3 anni); tra le caratteristiche dei pazienti, grandezza del tumore e stato nodale mostravano un legame significativo con RFS ($P = 0.000215$; HR 1.71; 95% CI, 1.14-3.09, rispettivamente). Lo studio GWAS è stato condotto su 240 soggetti; dopo un controllo degli standard di qualità l'analisi associativa è stata effettuata per 470 796 SNPs. Da questa prima analisi è emerso un legame significativo con RFS e 15 SNPs situati in nove regioni genetiche (1p31, 1q41, 5q33, 7p11, 10q22, 12q13, 13q22, 18q12, 19p13) che rientrano nel P limite stabilito ($P < 1.06 \times 10^{-7}$). Sono stati genotipizzati 9 dei 15 polimorfismi, poiché sei di essi erano fortemente legati ad un altro SNP ($r^2 > 0.80$); in seguito a tale analisi lo SNP rs10509373 nel gene *C10orf11* su 10q22 è risultato significativamente associato con RFS (log-rank $P = 4.18 \times 10^{-4}$). Lo SNP rs10509373 è stato poi genotipizzato utilizzando 117 campioni addizionali, che includono pazienti riceventi TX dopo chemioterapia, ed è stata osservata un'associazione significativa (log-rank $P = 1.86 \times 10^{-2}$); considerando tutti i campioni il P value è risultato 2.19×10^{-10} , suggerendo l'associazione significativa con RFS in pazienti con tumore al seno in trattamento con TX. Tramite analisi proporzionale di Cox, il polimorfismo nel gene *C10orf11* rs10509373 si è rivelato essere un indicatore indipendente di RFS dopo aggiustamento in base alla grandezza del tumore ed allo stato nodale ($P = 6.28 \times 10^{-8}$). L'HR aggiustato per lo SNP rs10509373, per l'allele C, era 4.51 (95%CI, 2.72-7.51), indicando che C era l'allele di rischio per la ricomparsa del cancro al seno. Successivamente, allo scopo di identificare ulteriori polimorfismi associati con RFS, sono stati genotipizzati 130 SNPs "tag" scelti mediante minuzioso mappaggio sul cromosoma 10q22 (cr.10: 77.35-78.70 Mb), tuttavia nessuno di essi ha mostrato una forte associazione.

Tenendo conto dell'associazione, già nota in letteratura, dei geni CYP2D6 (considerando tutti gli alleli che diminuiscono la funzionalità *4, *5, *10, *14, *21, *41 e quelli duplicati *10-*10 e *36-*36) e ABCC2 (rs3140065) con RFS in pazienti con cancro al seno sotto regime farmaceutico con TX, è stato valutato l'effetto combinato dei genotipi di *C10orf11*, CYP2D6 e ABCC2 su RFS tramite la classificazione dei 345 pazienti in 6 gruppi (0, 1, 2, 3, 4 e 5 alleli di rischio) in base al numero di alleli di rischio dei tre geni che ogni soggetto aveva: l'analisi di Kaplan-Meier rivela come il numero crescente degli alleli di rischio abbia un effetto cumulativo su RFS (log-rank $P = 2.24 \times 10^{-12}$).

Successivamente è stata effettuata l'analisi multivariata: rs10509373 mantiene l'associazione significativa anche dopo un aggiustamento dei genotipi di CYP2D6 e ABCC2 grandezza tumore e stato nodale – correlata ($P = 4.74 \times 10^{-7}$), indicando che questo polimorfismo è un fattore di rischio indipendente della ricomparsa di tumore al seno. Infine, l'analisi combinata dei genotipi di *C10orf11*, CYP2D6 e ABCC2 ha confermato, ancora una volta, l'effetto cumulativo degli alleli di rischio su RFS ($P = 2.28 \times 10^{-12}$): pazienti con tre o più alleli hanno un rischio di ricorrenza di cancro al seno da 6.51 volte (tre alleli di rischio) a 119.51 volte (cinque alleli di rischio) più alto.

In conclusione, mediante studio di associazione *genome-wide* su pazienti di etnia asiatica affetti da cancro al seno è stato identificato un nuovo *locus*, contenente il gene *C10orf11* associato con l'*outcome* clinico di soggetti in trattamento con tamoxifene. In particolare il polimorfismo rs10509373 sembra essere significativamente associato con la *recurrence-free survival*.

Parole chiave: Cancro al seno, tamoxifene, C10orf11

Riferimento bibliografico

Kiyotani K et al. *Hum Mol Genet* 2012 Jan 3 [Epub ahead of print]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Hum+Mol+Genet%5bJour%5d+AND+2012%5bpd%5d+AND+Kiyotani+K+%5bauthor%5d&cmd=detailssearch>

I POLIMORFISMI 677C>T E 1298A>C DEL 5,10-METILENETETRAIDROFOLATOREDDUTTASI (MTHFR) NON PREDICONO LA RISPOSTA AL METOTREXATO IN PAZIENTI CON NEOPLASIA TROFOBLASTICA GESTAZIONALE

Dott.ssa Veronica De Gregorio e Dott.ssa Elisa Paolicchi

La mola idatiforme (HM), gravidanza geneticamente alterata caratterizzata da villi corionici idropici e iperplasia degli elementi trofoblastici, è associata ad un aumentato rischio di insorgenza di neoplasia trofoblastica gestazionale (GTN). Successivamente all'asportazione della mola il 15% di donne con mola idatiforme completa (CHM) e lo 0.5% di donne con mola idatiforme parziale (PHM) sviluppano GTN. Le donne con GTN vengono sottoposte a trattamento chemioterapico con metotrexato, farmaco antagonista dei folati. Un enzima chiave del metabolismo dei folati è il 5,10-metilenetetraidrofolatoredduttasi (MTHFR). Un terzo delle pazienti trattate con metotrexato sviluppa resistenza al farmaco. Studi farmacogenetici nell'ambito di altri disordini hanno individuato due polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) di MTHFR, 677C>T e 1298A>C, che risultano in relazione con la tossicità al trattamento con metotrexato e la sua efficacia. In particolare per alcune neoplasie ematologiche e per alcuni tumori solidi il genotipo 677TT è associato ad una aumentata tossicità. Invece in pazienti con artrite reumatoide il genotipo 1298CC riduce il rischio di tossicità e l'allele 1298C è associato ad un aumento dell'efficacia del metotrexato. L'obiettivo dello studio è di valutare l'impatto dei polimorfismi di MTHFR, 677C>T e 1298A>C, sulla risposta al trattamento con metotrexato in donne con GTN allo scopo di scegliere il trattamento chemioterapico più appropriato.

Lo studio è di tipo retrospettivo e si è svolto presso il Charing Cross Hospital di Londra. Sono state arruolate 121 pazienti (111 Europee Caucasiche, 8 Asiatiche e 2 Africane) secondo i seguenti criteri di inclusione: donne che, in seguito ad HM, nel periodo tra il 2005 e il 2008 erano state trattate con metotrexato per GTN senza essere state sottoposte ad altre terapie prima di tale trattamento. E' stato escluso dallo studio chi aveva un rischio alto di insorgenza di GTN, determinato attraverso il monitoraggio dei livelli di gonadotropina corionica (hCG). Per tutte le pazienti si è indagato sui polimorfismi di MTHFR, 677C>T e 1298A>C SNPs. Un'analisi istopatologica è stata inoltre effettuata per 64 (56 Europee Caucasiche, 6 Asiatiche e 2 Africane) dei 121 casi. Alle pazienti è stato assegnato un ciclo di 14 giorni di metotrexato, per far ritornare a livello di normalità i valori di hCG (<5 IU/L), seguito da altri 3 cicli di metotrexato e acido folinico per consolidare il trattamento. Il test del χ^2 è stato adoperato per valutare le frequenze alleliche e genotipiche dei pazienti che rispondono al trattamento rispetto a quelli che mostrano resistenza. Per confrontare i casi e i controlli si è adoperato il test del χ^2 di McNemar.

L'endpoint primario di questo studio è quello di verificare l'impatto dei polimorfismi di MTHFR, 677C>T e 1298A>C SNPs, sulla risposta al trattamento con metotrexato in pazienti con GTN.

I risultati riportati fanno riferimento al gruppo etnico prevalente costituito dalle 111 pazienti caucasiche e rimangono inalterati prendendo in considerazione anche le pazienti delle altre due etnie (8% del campione). Tra le 111 pazienti, 54 hanno risposto alla terapia con metotrexato mentre 57 sono risultate resistenti. Dall'analisi tramite T-Test dell'età media delle pazienti e del periodo gestazionale medio ($p=0.75$ e $p=0.56$ rispettivamente) non si evincono differenze statisticamente significative tra le pazienti che rispondono (età media: 33,3 anni e periodo gestazionale medio: 10,8 settimane) e quelle resistenti (età media: 33,7 anni e periodo gestazionale medio: 10,5 settimane). La genotipizzazione delle pazienti per 677C>T SNP ha identificato 42 CC (52% risponde-48% resiste), 54 CT (46% risponde-54% resiste) e 15 TT (47% risponde-53% resiste). La genotipizzazione per 1298A>C ha identificato 52 AA (48% risponde-52% resiste), 49 AC (53% risponde-47% resiste) e 10 CC (30% risponde-70% resiste). Entrambi i genotipi, 677C>T e 1298A>C, non mostrano deviazione dall'Equilibrio di Hardy Weinberg ($p=0.84$ e $p=0.83$). La genotipizzazione ha complessivamente mostrato che non vi è associazione significativa tra il genotipo e la risposta al metotrexato

sia per 677C>T SNP ($p=0.82$) sia per 1298A>C SNP ($p=0.41$), tra la variante allelica T e la risposta ($p=0.54$; OR 0.79; 95% CI 0.36-1.7) per 677C>T e la variante allelica C e la risposta ($p=0.91$; OR 1.04; 95% CI 0.49-2.41) per 1298A>C. Dall'analisi istopatologica del tessuto molare di 64 pazienti è emerso che non vi è contaminazione materna del DNA molare. Delle 64 pazienti 4 presentavano PHM e sono state escluse da ulteriori analisi. Le 60 pazienti rimanenti (2 Africane, 6 Asiatiche e 52 Caucasiche) presentavano CHM; solo per le pazienti Caucasiche si è proceduto con la genotipizzazione. Per una paziente delle 52 caucasiche la genotipizzazione non ha fornito risultati. La genotipizzazione delle 51 pazienti rimanenti per 677C>T ha identificato 39 CC (51% risponde-49% resiste), 1 CT (risponde) e 11 TT (55% risponde-45% resiste). La genotipizzazione per 1298A>C ha identificato 31 AA (48% risponde-52% resiste), 4 AC (50% risponde-50% resiste) e 16 CC (63% risponde-37% resiste). Complessivamente anche dalla genotipizzazione del tessuto molare si evince che non vi è associazione significativa tra il genotipo e la risposta al metotrexato sia per 677C>T SNP ($p=0.62$) sia per 1298A>C SNP ($p=0.83$), tra la variante allelica T e la risposta ($p=0.66$; OR 1.33; 95% CI 0.36-4.94) per 677C>T e tra la variante allelica C e la risposta ($p=0.60$; OR 1.33; 95% CI 0.44-4.04) per 1298A>C.

Le GTN sono un gruppo insolito di neoplasie che derivano da cellule di trofoblasto di una paziente gravida e pertanto presentano un genotipo differente da quello della paziente. La maggior parte delle donne con HM, successivamente all'asportazione, vengono trattate con metotrexato, ma un terzo di queste sviluppa resistenza. L'obiettivo di Lasecka L. et al. è stato di trovare marcatori predittivi della risposta al metotrexato. Studi in letteratura su disordini diversi da GTN dimostrano che i polimorfismi di MTHFR, 677C>T e 1298A>C SNPs, influenzano la tossicità e l'efficacia del metotrexato. Lasecka L. et al. hanno ipotizzato che anche in casi di GTN il genotipo per uno dei due SNPs potesse essere associato alla risposta al trattamento e potesse essere in futuro adoperato come fattore prognostico in grado di guidare la scelta iniziale della terapia. Per entrambi i polimorfismi gli autori non hanno trovato una significativa associazione tra il genotipo e la risposta al trattamento. L'esistenza di un *linkage disequilibrium* tra i due loci è stata confermata. Nessuna paziente risultava omozigote per entrambe le varianti, un'unica paziente possedeva aplotipo 677T/1298C. In studi passati gli omozigoti risultavano rari, probabilmente a causa della bassa frequenza degli alleli nella popolazione. In questo studio il 33% dei casi presenta genotipo omozigote 1298CC, mentre la frequenza degli omozigoti 677TT (21%) è inferiore a quella attesa. La discordanza tra frequenza allelica e frequenza genotipica risulta significativa per 677C>T SNP ($p=0.002$) ma non per 1298A>C SNP ($p=0.9$). Secondo gli autori ciò potrebbe essere connesso o a una incidenza più bassa del genotipo 677TT o a una incidenza più bassa in caso di gravidanza molare. Studi recenti inoltre non hanno riscontrato associazione tra la variante allelica per 677C>T e l'incremento di tossicità e in contrapposizione a studi precedenti, che avevano associato al genotipo 1298CC un effetto protettivo, hanno mostrato una associazione tra la variante allelica 1298C e un incremento di tossicità. Per concludere, i dati di Lasecka L. e al. suggeriscono che gli SNPs investigati non siano significativamente predittivi dell'efficacia del trattamento con metotrexato in donne con GTN. Secondo gli autori potrebbe essere utile indagare in futuro su altre varianti polimorfiche di MTHFR o su altri enzimi chiave coinvolti nel metabolismo dei folati in quanto potrebbero contribuire a fornire informazioni di tipo prognostico.

Il genotipo per i polimorfismi 677C>T e 1298A>C SNPs non è predittivo dei risultati terapeutici in donne trattate con metotrexato per GTN. L'aspetto innovativo dello studio è quello di essere stato il primo ad indagare sui polimorfismi di MTHFR in pazienti con GTN.

Parole chiave: Neoplasia trofoblastica gestazionale, mola idatiforme, polimorfismi di MTHFR, metotrexato, 677C>T, 1298A>C

Riferimento bibliografico

Lasecka L et al. *Gynecol Oncol* 2011, 123(3):605-9

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=667CT%20and%201298AC%20polymorphisms%20of%20MTHFR%20do%20not%20predict%20response%20to%20methotrexate%20in%20patients%20with%20gestational%20trophoblastic%20neoplasia%20lasecka%20>

RISCHIO DI RICADUTE IN PAZIENTI CON CANCRO DELLA MAMMELLA TRATTATI CON TAMOXIFENE: I POLIMORFISMI DI CYP2D6 E ABCB1

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il tamoxifene viene ampiamente utilizzato come terapia standard adiuvante nel trattamento del cancro della mammella ormone-positivo, specialmente in donne ad alto rischio sia in pre che in post menopausa. Il 30%-50% delle pazienti con cancro della mammella con stadio recettoriale positivo agli estrogeni (ER+) non risponde adeguatamente alla terapia con tamoxifene. Infatti, le maggiori problematiche legate alla terapia con tamoxifene includono una resistenza totale alla terapia e la comparsa di eventi avversi.

Il tamoxifene è metabolizzato ampiamente dai citocromi P450, e in particolare il CYP2D6, CYP3A4 e CYP2C9. È noto che i polimorfismi di CYP2D6 possono causare la maggiore variabilità nel metabolismo del tamoxifene e di conseguenza possono comportare il verificarsi di eventi avversi o perdita di efficacia.

Le variazioni genetiche di CYP2D6 possono presentare diversi fenotipi con diversa capacità metabolica dell'enzima: estensiva (EM), intermedia (IM), ultrarapida (UM) e povera (PM).

La presenza dell'allele CYP2D6*10 è responsabile di una ridotta attività enzimatica nei metabolizzatori definiti intermedi, mentre gli alleli CYP2D6*4, *5 e *14 sono alleli nulli che non codificano per alcuna variante enzimatica. Gli UM (CYP2D6*xN) presentano una duplicazione o moltiplicazione degli alleli funzionali che comporta un incremento dell'attività enzimatica. Queste variazioni sono un esempio della causa della variabilità nell'*outcome* dei pazienti in terapia con tamoxifene. Gli studi di farmacocinetica del tamoxifene hanno dimostrato che i pazienti portatori di CYP2D6*10/10 hanno livelli plasmatici allo *steady-state* dei metaboliti 4-idrossi-N-desmetiltamoxifene e 4-idrossitamoxifene più bassi rispetto agli altri genotipi. Questi metaboliti sono circa 100 volte più potenti del tamoxifene. In un recente studio su pazienti asiatici con cancro della mammella portatori di CYP2D6*10/*10 è stato dimostrato che i livelli plasmatici di 4-idrossitamoxifene ed endoxifen erano significativamente più bassi rispetto ai pazienti portatori della variante *wild-type* o eterozigoti ed inoltre questi pazienti avevano una mediana al tempo di progressione della malattia più bassa.

ABCB1 è il gene responsabile della *multidrug resistance*, una proteina che funge da pompa energia-dipendente per l'eliminazione dei farmaci e di altre sostanze, ed è il responsabile di uno dei principali meccanismi di resistenza ai farmaci chemioterapici. L'iperespressione di questa proteina nel tumore della mammella è stato significativamente associato al verificarsi di ricadute e di un tempo più breve di sopravvivenza libera da malattia. ABCB1 è un gene ampiamente polimorfico e di conseguenza può causare una grande suscettibilità alla terapia. Una mutazione silente presente sull'esone 26 e nominata C3435T è stata associata sia all'*outcome* terapeutico nel trattamento del cancro della mammella che altre patologie. Un altro allele, G2677A/T nell'esone 21, causa una modificazione aminoacidica in Ala893Thr e Ala893Ser che è stata associata ad una diversa efficienza della pompa trasportatrice.

Nello studio pubblicato su *The American Association of Pharmaceutical Scientists* da L.K. Teh e colleghi è stato analizzato l'impatto dei genotipi di CYP2D6 e ABCB1 sull'*outcome* della terapia con tamoxifene in una coorte di pazienti della Malesia con cancro della mammella.

Lo studio è stato approvato dal comitato etico del ministero della salute della Malesia. I pazienti reclutati comprendevano tre differenti gruppi etnici predominanti in Malesia: malese, cinese ed indiana. Sono stati reclutati 95 pazienti (53 Malesi, 36 Cinesi e 6 Indiani). Lo stato del recettore estrogenico e progestinico è stato determinato attraverso tecnica di immunoistochimica.

I pazienti hanno ricevuto 20 mg di tamoxifene al giorno. Il DNA genomico è stato estratto da sangue utilizzando kit commerciali e conservato a -20°C fino all'analisi. I campioni sono stati genotipati per CYP2D6*xN, CYP2D6*4, CYP2D6*5, CYP2D6*10, CYP2D6*14, ABCB1 C3435T e G2677A/T. Lo stato metabolico di CYP2D6 è stato definito come: EM in assenza della variante allelica *10/*10; metabolizzatore intermedio eterozigote (Het-IM) in presenza di un allele di CYP2D6*10 e, IM se omozigote per CYP2D6*10 o in presenza di una combinazione di alleli nulli eterozigoti. È stato calcolato l'equilibrio di Hardy-Weinberg delle frequenze alleliche di CYP2D6 e ABCB1. Le differenze nelle frequenze alleliche e tra le caratteristiche dei pazienti sono state determinate utilizzando un test di chi quadro o un test esatto di Fisher. È stato calcolato l'odds ratio e il rispettivo intervallo di confidenza per la stima del rischio e per valutare il trend di associazione tra i genotipi e la ricorrenza di metastasi. Il tempo libero da ricaduta è stato definito come il

periodo a seguire dal trattamento chirurgico e dall'inizio della terapia con tamoxifene fino al ripresentarsi della malattia o delle metastasi.

I risultati dello studio mostrano come i pazienti con genotipo IM di CYP2D6, paragonati al genotipo EM, avevano un rischio maggiore di sviluppare sia ricadute che metastasi (OR 13.14; 95% CI 1.54-109.94). Anche i portatori del genotipo Het-IM mostravano un rischio aumentato, ma con una differenza statisticamente non significativa (OR 2.71; 95% CI 0.28-25.78). L'analisi dei dati per ABCB1 mostra come i pazienti con una combinazione di CT e TT del polimorfismo ABCB1 C3435T avevano un rischio minore di sviluppare ricadute, ma tale dato non era significativo (OR 0.46; 95% CI 0.16 – 1.34). I pazienti con i genotipi G/A o G/T e AT di G2677A/T avevano un rischio più alto di ricadute, ma anche in questo caso il dato non era significativo (OR 1.41; 95% CI 0.35 - 5.71). Il tempo libero da ricadute e da metastasi è stato valutato utilizzando un'analisi di Kaplan-Meier. I pazienti portatori del genotipo IM di CYP2D6, se comparati con i pazienti EM ed Het-IM, mostravano una riduzione del tempo libero da ricaduta (log-rank; p=0.031). Al contrario invece, non era rilevabile nessuna associazione statisticamente significativa nel tempo libero da ricaduta per il genotipo C3435T di ABCB1 (log-rank; p=0.22), anche se i pazienti con il genotipo CC hanno un presentarsi della ricaduta se comparato con CT e TT. Anche per il genotipo ABCB1 G2677T era stato evidenziato un differente trend, ma statisticamente non significativo (p=0.97).

Da prima analisi è stato evidenziato che i pazienti portatori del genotipo CC di ABCB1 C3435T mostravano una sopravvivenza libera da ricadute più breve. Questo genotipo è stato quindi combinato in analisi con IM CYP2D6 per investigare l'effetto dei due fattori sul presentarsi delle ricadute. I pazienti sono stati classificati in 5 gruppi a seconda del numero di alleli a rischio (0 – omoEM e TT per ABCB1; 1- Het-IM e TT per ABCB1, o omoEM e CT ABCB1; 2 - Het-IM e CT per ABCB1; 3 – Het-IM e CC per ABCB1, o IM e CT per ABCB1; 4 - IM e CC per ABCB1). I pazienti portatori di 3 o 4 alleli di rischio avevano una probabilità più alta di sviluppare recidive (OR 9.9; 95% CI 2.11 – 46.6; p=0.001). Inoltre questi pazienti avevano anche un tempo di sopravvivenza libero da recidive più basso (p=0.01). La mediana del tempo allo sviluppo delle recidive e delle metastasi era di 12 mesi nei pazienti IM CYP2D6 / CC ABCB1 C3435T (95% CI = 0.79 – 23.2, n=3) a differenza dei 48 mesi (95% CI= 14.7 – 81.2, n=8) nei pazienti senza la combinazione del genotipo. Un trend simile è stato osservato anche nei pazienti con recidive e metastasi (n=11) e in quelli con le sole metastasi (n=6).

In questo studio è stata rafforzata l'ipotesi già presente in altri studi che i portatori di CYP2D6*10/*10 hanno un'incidenza più alta di sviluppare ricadute e metastasi rispetto ai pazienti CYP2D6*1/*1 e CYP2D6*1/*10. In più da questo studio emerge l'evidenza che il genotipo CC di ABCB1 C3435T ha un tempo più breve nello sviluppare ricadute e metastasi anche se statisticamente non significativa. Inoltre è stata effettuata un'analisi combinata dei pazienti con ricadute portatori di CYP2D6 IM e del genotipo CC di ABCB1. Questi risultati sono di particolare interesse nella valutazione dell'efficacia e della resistenza alla terapia con tamoxifene e contribuiscono ad aumentare la *evidence base medicine* di questo farmaco.

I pazienti portatori dei polimorfismi IM di CYP2D6 e CC di ABCB1 C3435T hanno un rischio maggiore di sviluppare recidive ed hanno un tempo libero da ricadute più basso.

Parole chiave: Tamoxifene, CYP2D6, ABCB1

Riferimento bibliografico:

Teh LK et al. *AAPS J* 2011 Dec 20 [Epub ahead of print]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22The+AAPS+journal%22%5bJour%5d+AND+2011%5bpd%5d+AND+Teh%5bauthor%5d&cmd=detailssearch>

POLIMORFISMI NEI GENI SOD2 E IL13 SONO POSSIBILI MARCATORI DELLA RISPOSTA ALLA CHEMIORADIOTERAPIA PREOPERATORIA NEL CANCRO DEL RETTO

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Il trattamento standard per il cancro del retto localmente avanzato è la radiochemioterapia neoadiuvante (RCT) seguita da intervento chirurgico. La radiochemioterapia preoperatoria ha lo scopo di rendere radicale

l'intervento chirurgico e di ridurre l'incidenza di recidiva della malattia. Tuttavia, la risposta del tumore alla chemioradioterapia varia notevolmente negli individui. L'identificazione di marcatori predittivi della risposta alla RCT preoperatoria sarebbe di grande importanza clinica poiché permetterebbe di individuare i pazienti resistenti a questo tipo di terapia e scegliere per questi un'alternativa terapeutica oppure un regime di trattamento più aggressivo per migliorarne la risposta.

Da novembre 2005 a maggio 2008 sono stati reclutati 71 pazienti caucasici con adenocarcinoma del retto (stadio II-IV) in uno studio prospettico condotto presso il Comprehensive Cancer Center di Montpellier. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a radioterapia preoperatoria (dose totale 45 o 50Gy/ 25 frazioni di 1,8-2Gy/ 5 settimane) e a chemioterapia (1600mgm⁻² di capecitabina al giorno o capecitabina + 50mgm⁻² di oxaliplatino settimanale). L'intervento chirurgico è stato programmato a 6-8 settimane dal completamento della radio-chemioterapia preoperatoria. Lo scopo di questo studio era di identificare i marcatori genetici della linea germinale predittivi della sensibilità o della resistenza a RCT nel cancro del retto. A questo scopo, sono stati studiati in modo prospettico 128 SNPs selezionati in 76 geni codificanti proteine coinvolte in diversi processi cellulari come apoptosi, riparazione del DNA, proliferazione, risposta immunitaria, stress ossidativo e metabolismo.

La risposta alla radio-chemioterapia è stata valutata istologicamente sul materiale di resezione chirurgica.

Il grado di regressione tumorale (TRG) è stato valutato utilizzando il sistema proposto da Dworak (O Dworak et al. *Int J Colorectal Dis* 1997;12: 19-23).

L'eventuale riduzione di stadio di malattia (*downstaging*) è stata valutata confrontando lo stadio clinico preoperatorio con lo stadio patologico:

- o *TRG0*: solo neoplasia (assenza di risposta)
- o *TRG1*: predominanza di neoplasia con associata fibrosi
- o *TRG2*: predominanza di fibrosi con associata neoplasia ben riconoscibile
- o *TRG3* marcata fibrosi con rare cellule neoplastiche
- o *TRG4* solo fibrosi senza cellule neoplastiche (responders)

I pazienti con *TRG 0, 1 e 2* sono stati definiti come pazienti *non-responders*, mentre quelli con *TRG 3 o 4* sono stati classificati come *responders*. Su 71 pazienti, 32 pazienti (45,1%) hanno mostrato una buona risposta alla RCT preoperatoria. In 9 pazienti (12,7%) è stata osservata regressione completa (*TRG 4*) e in 23 pazienti (32,4%) sono stati rilevati solo tumori microscopici residui (*TRG 3*). Un totale di 39 pazienti (54,9%) sono stati considerati non-responders, di cui 2 pazienti (2,8%) con *TRG 0*, 16 pazienti (22,5%) con *TRG 1* e 21 pazienti (29,6%) con *TRG 2*.

Dall'analisi univariata otto SNPs sono risultati significativamente associati con la risposta al trattamento neoadiuvante: CASP10 rs13010627, ERCC4 rs744154, IL13 rs1800925, MLH1 rs1800734, MBD4 rs10342, NOS2a rs2297518, SOD2 rs4880 e XPA rs3176658. Degli otto SNPs inizialmente selezionati con l'analisi univariata, solo due SNPs, dopo analisi multivariata, sono risultati essere significativamente associati alla risposta del tumore alla chemio-radioterapia: Superossido Dismutasi 2 (SOD2) rs4880 (p=0,005) e l'Interleuchina-13 (IL13) rs1800925 (p=0,0008). I risultati hanno evidenziato che questi due SNPs sono fattori predittivi indipendenti della risposta patologica alla RCT. I pazienti con SOD2 rs4880 genotipo C/T o T/T hanno una significativamente più bassa risposta alla RCT preoperatoria rispetto ai pazienti con genotipo C/C (odds ratio 0,19- intervallo di confidenza al 95% 0,06-0,64-p = 0,005). Allo stesso modo, i pazienti con IL13 rs1800925 C/T e T/T hanno una risposta significativamente più bassa rispetto a quelli con la IL13 rs1800925 C/C genotipo (Odds ratio 0,14- intervallo di confidenza 95% 0,04-0,49-P = 0,0008).

La variante rs4880 C nel gene SOD2 codifica per una proteina più attiva (40%), mentre l'allele T è associato ad aumento nella trascrizione dell'IL13.

Questi risultati rafforzano l'idea di utilizzare polimorfismi germinali per il trattamento personalizzato e confermano che il trattamento radio-chemioterapico preoperatorio nel carcinoma del retto localmente avanzato è in grado di ottenere una significativa riduzione della massa tumorale (*downsizing*) e dello stadio patologico della malattia (*downstaging*), purchè siano assenti i polimorfismi SOD2 rs4880 e IL13 rs1800925 nei pazienti da trattare.

Il numero basso di pazienti e l'assenza di un gruppo di validazione, però, riducono l'impatto potenziale che questa associazione potrebbe avere in clinica.

I polimorfismi SOD2 rs4880 e IL13 rs1800925 sono possibili markers predittivi indipendenti della risposta alla RCT preoperatoria nel cancro del retto.

Parole chiave: cancro del retto, marker predittivo, radiochemioterapia neoadiuvante, SOD2, IL13

Riferimento bibliografico:

Ho-Pun-Cheung A et al. *Pharmacogenomics J* 2011, 11: 437–43

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Pharmacogenomics+J+%5bJour%5d+AND+11%5bvolume%5d+AND+437%5bpage%5d+AND+2011%5bdat%5d&cmd=detailssearch>



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.

SIF – FARMACOGENETICA

Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia

Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010

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 Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Veronica De Gregorio (Università di Pisa) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Silvia Magagna (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa) Dott.ssa Virginia Paribello (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Gloria Ravagnini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
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.
