

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 44 – Ottobre 2012**

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

Sommario

- Influenza di polimorfismi e delle concentrazioni sieriche di TNF e IL1beta sulla risposta all'infliximab nella malattia di Crohn e nella colite ulcerosa
- Studio farmacogenetico su pazienti affetti da tumore avanzato del polmone non a piccole cellule (NSCLC) trattati con pemetrexed o pemetrexed-carboplatino in seconda linea
- Valutazione farmacogenetica dell'*outcome* clinico in pazienti con cancro metastatico al seno trattati con docetaxel e capecitabina
- Analisi farmacogenetiche su pazienti pediatriche affette da leucemia linfoblastica acuta: una possibile associazione tra sopravvivenza e i polimorfismi di *ITPA*
- Polimorfismi dell'Ossido Nitrico Sintasi endoteliale (eNOS) e del Fattore di Crescita dell'endotelio (VEGF) sono predittori di ipertensione indotta da sunitinib

⇒ La metanalisi del mese

- Polimorfismi di geni appartenenti al pathway di VEGF come fattori prognostici e farmacogenetici: una revisione sistematica e meta-analisi

INFLUENZA DI POLIMORFISMI E DELLE CONCENTRAZIONI SIERICHE DI TNF E IL1BETA SULLA RISPOSTA ALL'INFLIXIMAB NELLA MALATTIA DI CROHN E NELLA COLITE ULCEROSA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Nelle malattie infiammatorie croniche dell'intestino (*Inflammatory Bowel Diseases*, IBD), come Crohn (*Crohn's Disease*, CD) e colite ulcerosa (*Ulcerative Colitis*, UC), i cambiamenti funzionali della mucosa intestinale e le anomalie dei valori di laboratorio sono parzialmente attribuibili ad una aumentata secrezione a livello della lamina propria della parete intestinale di citochine pro-infiammatorie, quali *Tumour Necrosis Factor* (TNF) ed interleuchina 1beta (IL1beta), che giocano un ruolo importante nell'iniziazione e propagazione di queste patologie. Non sorprende, quindi, che l'infliximab, anticorpo monoclonale anti-TNF, abbia una maggiore efficacia rispetto alle terapie convenzionali nel trattamento di questi pazienti. La risposta all'infliximab, comunque, presenta ampia variabilità interindividuale, e sono stati condotti diversi studi per ottenere markers che consentano di predire la risposta a questo farmaco. A questo scopo, è stato valutato il ruolo delle concentrazioni sieriche di TNF/IL e dei polimorfismi dei geni codificanti per queste citochine, e molti studi si sono focalizzati sui polimorfismi della regione promoter del

TNF, del gene per il recettore del TNF e di geni correlati, come l'*FCGR3A*. Non sono noti studi precedenti che abbiano analizzato la possibile influenza dei polimorfismi dell'*IL1B*, gene codificante per l'IL1beta, sulla risposta all'infliximab nei pazienti con IBD.

In questo studio sono state valutate, in pazienti affetti da CD e UC, le concentrazioni sieriche di IL1beta e TNF prima del trattamento con infliximab ed il valore predittivo delle concentrazioni sieriche di queste citochine sulla risposta all'infliximab; è stata, inoltre, valutata la correlazione tra i polimorfismi dei geni del *TNF* e dell'*IL1B* e le concentrazioni sieriche di TNF ed IL1beta, e la loro influenza sulla risposta all'infliximab.

Sono stati reclutati 47 pazienti (29 con CD e 18 con UC) presso il Dipartimento di gastroenterologia dell'ospedale universitario Santa Lucia di Cartagena in Spagna. Tutti i pazienti erano caucasici e rispondevano ai criteri di classificazione per CD e UC. Per essere incluso nello studio, un paziente affetto da IBD doveva essere stato trattato per la prima volta con infliximab tra il gennaio 2008 e l'agosto 2010. L'attività di malattia è stata valutata usando il *CD activity index* (CDAI) per i pazienti con CD ed il *Truelove modified (Lichtiger) index* per i pazienti con UC. La risposta clinica alla terapia nei pazienti con CD è stata valutata dopo 3 mesi dall'inizio dell'infliximab (4^a infusione). La terapia è stata considerata efficace in presenza di una riduzione del CDAI superiore a 70 punti in confronto allo *score* prima della terapia, mentre la remissione clinica è stata individuata da una riduzione di 150 punti. La risposta biologica è stata valutata a 3, 6 e 12 mesi dall'inizio della terapia misurando i livelli di proteina C reattiva (PCR): una risposta positiva corrispondeva ad una riduzione dei livelli di PCR superiore al 25 % rispetto al basale.

Sono stati raccolti campioni di sangue periferico prima di iniziare la terapia con infliximab per l'estrazione del DNA.

Tra il gennaio 2008 ed il maggio 2009 sono stati, inoltre, reclutati 23 pazienti con IBD (17 con CD e 6 con UC) ed inclusi nel follow-up delle concentrazioni sieriche delle citochine. I campioni sono stati raccolti al basale, alla 6^a ed alla 14^a settimana dopo l'inizio della terapia.

Non sono state osservate differenze demografiche o cliniche tra il totale ed il sottogruppo in cui sono state valutate le concentrazioni sieriche di citochine. Nei pazienti con UC sono state riscontrate concentrazioni sieriche al basale di IL1beta e di TNF più elevate rispetto ai pazienti con CD ($p=0.0097$ e $p=0.0024$, rispettivamente). Le concentrazioni di PCR al basale non hanno mostrato, invece, differenze statisticamente significative ($p=0.098$).

Valutando le concentrazioni di citochine dopo l'inizio della terapia con infliximab, il numero di pazienti con CD con livelli di IL1beta <0.64 pg/ml (livelli indosabili) è risultato superiore tra i *responders* rispetto ai *non-responders* (6/7 vs. 3/10, rispettivamente; $p=0.036$) dopo 14 settimane. Risultati simili sono stati ottenuti anche prendendo in considerazione la concentrazione media. Non è stata, invece, trovata un'associazione significativa tra le concentrazioni sieriche di TNF e la risposta all'infliximab o tra le concentrazioni di citochine e la risposta nei pazienti con UC: in questi pazienti solo il 33% con livelli indosabili di IL1beta dopo 14 settimane è risultato *responders*, mentre nei pazienti con CD questa percentuale era del 62.5%.

Il genotipo CC del polimorfismo rs1143634 del gene *IL1B* è stato associato con una più alta concentrazione sierica di IL1beta, mentre nessuno dei polimorfismi del *TNF* ha raggiunto un livello di significatività. La presenza dell'allele C dell'SNP rs1143634 dell' *IL1B* è stata, inoltre, riscontrata più nei *non-responders* (84%) che nei *responders* (65%) dopo 14 settimane di trattamento con infliximab. Queste differenze indicano una tendenza all'efficacia clinica ($p=0.051$), raggiungendo la significatività per la remissione clinica (84 vs. 50%, rispettivamente; $p=0.027$). L'87.5% dei pazienti con UC che hanno mostrato risposta parziale o nessuna risposta ed il 60% dei *responders* erano portatori del genotipo CC; tuttavia, questa differenza non è risultata statisticamente significativa ($p=0.196$). Nessuna differenza è stata osservata nei pazienti con UC o nell'analisi del polimorfismo del *TNF*.

In questo studio sono state per prima cosa valutate le concentrazioni sieriche di citochine e sono state trovate concentrazioni al basale di IL1beta e TNF più elevate nei pazienti con UC rispetto ai pazienti con CD. Questo potrebbe essere in accordo con l'espressione più elevata di queste citochine osservata in cellule mononucleate isolate a livello della lamina propria di biopsie ottenute da pazienti con UC rispetto ai

pazienti con CD. Una differenza simile non è stata osservata per le concentrazioni di PCR, anche se i pazienti con UC tendono ad avere concentrazioni sieriche più elevate. Le concentrazioni di IL1beta sono state correlate alla risposta all'infliximab, essendo più basse nei pazienti *responders*. L'uso delle concentrazioni di citochine come biomarker di risposta ha gli svantaggi di richiedere campioni ematici, che le loro valutazioni dipendono dal tempo in cui il campione è stato raccolto e le tecniche per la determinazione delle concentrazioni sono elaborate e costose. Per questo, è stato valutato se le concentrazioni di IL1beta possano essere spiegate da differenze nel genotipo. Diversi studi hanno trovato un'associazione tra l'SNP rs1143634 del gene *IL1B* ed il rischio di sviluppare patologie infiammatorie ed alcuni studi hanno valutato la possibile influenza di questo SNP sulla risposta farmacologica, ma non ci sono lavori a riguardo su pazienti con IBD. I risultati di questo studio dimostrano che l'allele T è associato ad una concentrazione più bassa di IL1beta, come dimostrato in precedenza per l'artrite reumatoide. Il meccanismo alla base dell'associazione tra l'SNP rs1143634 e l'iper-espressione di IL1beta potrebbe essere comune a diverse patologie infiammatorie croniche. È stata, quindi, valutata la possibile associazione tra questo SNP e la risposta all'infliximab, riscontrando la presenza dell'allele C nei pazienti con CD senza risposta clinica a 3 mesi dal trattamento e senza remissione a 3 mesi o successivamente. L'allele C è stato associato, senza sorpresa, a livelli più elevati di IL1beta e questi livelli elevati di espressione della citochina sono risultati correlati ad una risposta peggiore all'infliximab, sottolineando il particolare coinvolgimento di questa citochina nella patogenesi e nel trattamento delle CD. I pazienti con CD presentavano livelli di IL1beta più bassi al basale rispetto ai pazienti con UC e bassi livelli a 14 settimane indicavano una risposta migliore nei pazienti con CD ma non nei pazienti con UC. Infine, nessuno dei polimorfismi del promoter del *TNF* è stato correlato con una particolare risposta all'infliximab.

In conclusione, questo rappresenta il primo studio che abbia valutato il ruolo dell'rs1143634 del gene *IL1B* e dei polimorfismi del *TNF* nei pazienti con IBD trattati con infliximab. È stata trovata un'associazione tra l'allele C dell'rs1143634 ed una più elevata concentrazione sierica di IL1beta ed una minore risposta al trattamento con infliximab nei pazienti con CD. La conferma di questi risultati, ottenuta con ulteriori studi, potrebbe fornire le basi per una terapia su misura dei pazienti con CD.

Limiti dello studio sono rappresentati dal ridotto numero di pazienti reclutati. Nonostante ciò, i dati clinici, di biologia molecolare e biochimici, dimostrano una consistente associazione tra concentrazioni sieriche di IL1beta e risposta all'infliximab nei pazienti con CD. Sono necessari ulteriori studi per confermare questi risultati.

Parole chiave: infliximab, IBD, *IL1B*, *TNF*

Riferimento bibliografico

[Lacruz-Guzman D et al. Eur J Clin Pharmacol 2012 \[Epub ahead of print\].](#)

STUDIO FARMACOGENETICO SU PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE AVANZATO DEL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE (NSCLC) TRATTATI CON PEMETREXED O PEMETREXED-CARBOPLATINO IN SECONDA LINEA

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e della Dott.ssa Michela Santoro

La chemioterapia a base di platino rappresenta la scelta di prima linea nel trattamento del tumore avanzato del polmone non a piccole cellule (NSCLC), ma, inevitabilmente, i soggetti affetti da NSCLC vanno incontro a progressione di malattia e, a causa di un profilo di tossicità molto basso, il trattamento di seconda linea prevede l'utilizzo del pemetrexed da solo o in associazione con il carboplatino. L'attività del pemetrexed è dipendente da vari fattori, tra cui: la timidilato sintetasi (TS), principale bersaglio del farmaco, il trasportatore del folato (RCF), necessario per l'entrata nella cellula di folati e anti-folati, la γ -glutamyl

idrolasi (GGH) che rimuove i residui glutamminici da substrati poli-glutamati diminuendo l'attività intracellulare del pemetrexed, e la 5,10-metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) che assume un ruolo determinante nella regolazione del *pathway* dell'acido folico.

Lo scopo dello studio di Tiseo *et al.* è quello di verificare la presenza di una correlazione tra polimorfismi di geni implicati nel metabolismo del pemetrexed e del carboplatino ed *outcome* in pazienti con NSCLC.

Lo studio, farmacogenetico multicentrico retrospettivo, si è svolto su 208 pazienti affetti di NSCLC, arruolati dall'Ottobre 2005 all'Ottobre 2009 in Italia e nei Paesi Bassi. Sono stati raccolti prelievi di sangue ed è stato estratto il DNA sul quale sono stati esaminati i principali polimorfismi funzionali di: TS (TSER*2 e TSER*3), RFC (80G>A ed RFC-exon 6-SNP C>T), GGH (452C>T), MTHFR (677C>T) e XPD (2251A>C). Il genotipo TSER è stato valutato tramite l'amplificazione della regione enhancer (5'UTR) e sequenziamento automatico, mentre tutti gli altri polimorfismi sono stati esaminati tramite analisi in Real Time PCR.

E' stata osservata una significativa associazione tra i pazienti portatori del genotipo MTHFR 677TT e risposta clinica, rispetto ai pazienti con genotipo 677CC o 677CT. In particolare, i pazienti MTHFR 677TT mostravano una PFS più lunga rispetto agli altri genotipi (5,4 vs 3,4 mesi); allo stesso modo, i pazienti con genotipo 677TT mostravano una OS di 16,4 mesi rispetto a pazienti portatori del genotipo 677CC o 677CT che hanno una OS di 8,5 mesi. Nessun'altra associazione significativa è stata osservata con gli altri polimorfismi esaminati.

Suddividendo i pazienti per gruppo di trattamento (pemetrexed vs pemetrexed + carboplatino) è stata osservata un'associazione significativa tra genotipo di XPD 2251A>C e PFS ed OS, in particolare i portatori del genotipo mutato 2251CC avevano PFS più corta rispetto ai portatori del genotipo XPD 2251AA e CC; questa associazione non è stata riscontrata nel gruppo dei pazienti in trattamento con il solo pemetrexed.

Il genotipo omozigote mutato per il polimorfismo MTHFR677C>T è correlato ad una maggiore PFS ed OS in pazienti affetti da NSCLC in trattamento con pemetrexed. In pazienti in trattamento con l'associazione pemetrexed e carboplatino il genotipo omozigote mutato per XPD2251A>C è correlato con una peggiore PFS ed OS.

L'associazione del genotipo MTHFR 677C>T con PFS ed OS in pazienti affetti da NSCLC in trattamento con pemetrexed era già stata riscontrata in numerosi altri studi, per questo motivo, l'aumento dell'evidenza di un ruolo di questo polimorfismo promuove l'ipotesi di valutarne il ruolo in studi futuri prospettici, poiché la validazione di questo polimorfismo potrebbe offrire un nuovo biomarcatore per l'ottimizzazione del trattamento del NSCLC.

Parole chiave: NSCLC, pemetrexed, carboplatino, polimorfismi, *outcome*

Riferimento bibliografico

[Tiseo M](#) et al. *Lung Cancer* 2012, 78(1):92-9.

VALUTAZIONE FARMACOGENETICA DELL'OUTCOME CLINICO IN PAZIENTI CON CANCRO METASTATICO AL SENO TRATTATI CON DOCETAXEL E CAPECITABINA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al seno è il tipo di cancro più frequentemente diagnosticato nel mondo e la prima causa di morte tumore-relata nella donna.

Almeno un terzo delle donne a cui viene diagnosticato sviluppano metastasi e la prognosi per queste rimane sfavorevole con un sopravvivenza media di 2-3 anni. Un'importante opzione per il cancro al seno metastatico (MBC) è la chemioterapia con antracicline e taxano, i due agenti terapeutici più attivi.

Per i pazienti per cui le antracicline hanno fallito, numerosi studi hanno dimostrato che la combinazione doxecetale-capecitabina può essere efficace (O'shaughnessy et al. *J Clin Oncol* 2002, 20:2812-2823; Chan et

al. *J Clin Oncol* 2009, 27:1753–1760; Michalaki et al. *Anticancer Drugs* 2009, 20:204–207). Tuttavia, un responso oggettivo è stato osservato solo nel 40%, mentre nei rimanenti casi si assiste a vari livelli di resistenza; fattori come condizioni pato-fisiologiche, interazioni farmaco-farmaco, costituzione genica possono contribuire per il 20-95% della variabilità nell'outcome farmacologico; inoltre anche polimorfismi genetici a livello di trasportatori, del metabolismo e dei recettori del farmaco, possono influenzare la risposta clinica.

Ad oggi, diversi studi riportano un'associazione tra SNPs nei geni della famiglia del CYP450 e rischio di cancro al seno (Ma et al. *Breast Cancer Res Treat* 2010, 122:495–501; Sergentanis and Economopoulos *Breast Cancer Res Treat* 2010, 122:459–469), tuttavia non vi sono evidenze di come queste possano influenzare l'outcome terapeutico di un regime chemioterapico comunemente usato di doxorubicina più capecitabina in pazienti affetti da MBC.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'impatto di SNPs del CYP450 su risposta oggettiva, PFS (*progression-free survival*), e OS (*overall survival*), con l'obiettivo di identificare fattori predittivi e prognostici.

Nello studio sono state incluse pazienti precedentemente trattate con antracicline con un'età maggiore di 18 anni; criteri di esclusione sono stati una precedente esposizione a docetaxel o capecitabina, presenza di metastasi nel sistema nervoso centrale, infezioni attive, gravidanza allattamento, radioterapia precedente.

Le pazienti sono state trattate con docetaxel (75mg/m², d1) e capecitabina (950mg/m², due volte al giorno, nei giorni 1-14) in un ciclo di tre settimane. Interruzione del trattamento o riduzione della dose sono state effettuate sulla base di tossicità ematologica e non. La risposta tumorale è stata misurata ogni due cicli mediante tomografia computerizzata per documentare risposta completa (CR), parziale (PR), stabile (SD) o in progressione (PD).

L'analisi genetica ha incluso 79 polimorfismi con MAF (*minor allelic frequency*) > o = 10%.

L'outcome al trattamento è stato dicotomizzato in responsivi (CR + PR) e non (SD + PD).

I parametri demografici e clinici includevano età, ECOG *performance status* (0 vs > o =1), *tumor grading* (I vs II vs III), estrogeno recettore (negativo vs positivo), recettore progesteronico (negativo vs positivo), stato menopausa (pre vs post)

Lo studio ha coinvolto un totale di 69 soggetti; uno di questi, avendo ricevuto un solo ciclo di trattamento è stato escluso dalle analisi genotipiche. Tra questi, il tasso di risposta è stato del 27.9% con una risposta non completa; in particolare 19 con una risposta parziale (27.9%), 27 con SD (39.7%) e 22 in progressione (32.4%); la PFS e l'OS media erano 6.0 mesi (95% CI, 5.3-6.7) e 17.1 mesi (95% CI, 13.0-21.2) rispettivamente.

Nessuna delle variabili cliniche e demografiche sono risultate associate con una risposta oggettiva, mentre gli stati estrogeno recettore positivo e post-menopausa erano associati con una PFS più lunga (P = 0.034 e P = 0.040 rispettivamente) ECOG *performance status* di 0 e post-menopausa erano associate con OS maggiore (P = 0.001 e P = 0.023, rispettivamente). Inoltre i pazienti responsivi avevano una PFS significativamente più lunga dei non responsivi (mediana, 8.7 [95% CI, 7.0-10.4] vs 5.2 [95% CI, 2.7-7.7] mesi, P = 0.002).

Per quanto riguarda l'analisi genotipica, 5 dei polimorfismi analizzati sono stati esclusi in quanto non in HWE.

In un'analisi univariata, nessuna associazione significativa è stata evidenziata tra genotipo, risposta oggettiva od OS dopo correzione di bonferroni. Solo uno SNP, CYP1A1 rs1048943 A>G è risultato essere significativamente associato con PFS; pazienti con la variante G (GG/GA) avevano una PFS maggiore di quelli con genotipo AA (mediana, 8.3 [95% CI, 4.3-12] vs 5.3 [95% CI, 3.6-7.0] mesi, P = 0.0003). Infine per valutare il rischio di progressione della malattia è stata condotta una regressione di Cox inserendo fattori clinici conosciuti (mestruazione ed estrogeno recettore stato) e SNP (CYP1A1 rs1048943 A>G). In questo modello i suddetti fattori clinici non sono risultati predittori indipendenti di PFS, mentre il polimorfismo si (P = 0.004).

In conclusione, questo studio identifica una forte associazione tra varianti nei geni della famiglia del CYP450 e sopravvivenza. In particolare il polimorfismo CYP1A1 rs1048943 A>G è risultato essere un potenziale marker prognostico per pazienti affetti da cancro al seno metastatico trattate con chemioterapia con docetaxel più capecitabina.

Parole chiave: cancro al seno metastatico, chemioterapia con docetaxel più capecitabina, CYP450

Riferimento bibliografico

[Dong N](#) et al. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012, 138(7):1197-203.

ANALISI FARMACOGENETICHE SU PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA LEUCEMIA LINFOLASTICA ACUTA: UNA POSSIBILE ASSOCIAZIONE TRA SOPRAVVIVENZA E I POLIMORFISMI DI ITPA

A cura della Dott.ssa Raffaella Franca e del Dott. Gabriele Stocco

Nel corso delle ultime quattro decadi, la terapia farmacologica dei pazienti pediatrici affetti da leucemia linfoblastica acuta (LLA) è migliorata considerevolmente, soprattutto grazie all'integrazione tra l'approccio polichemioterapico e la stratificazione della malattia sulla base del rischio, con conseguente trattamento dei pazienti con protocolli di intensità adeguata. Nonostante l'ampio successo ottenuto, circa il 20% dei pazienti trattati sviluppa fenomeni di resistenza ai farmaci antitumorali o fallisce la terapia a causa di episodi di tossicità dovuta al trattamento. Una possibile spiegazione per la comparsa di questi eventi avversi è la presenza di un effetto farmacogenetico: polimorfismi in geni che codificano per proteine coinvolte nella farmacocinetica o nella farmacodinamica, come ad esempio enzimi deputati al metabolismo o trasportatori cellulari o proteine target, possono influenzare l'efficacia e la tossicità dei farmaci antileucemici. Dal momento che la terapia per la LLA si avvale della combinazione di agenti antitumorali, varianti in geni coinvolti in diverse vie metaboliche potrebbero contribuire all'esito terapeutico finale: una migliore caratterizzazione di queste varianti potrebbe quindi servire per individualizzare la terapia della LLA. Nella pratica clinica, inoltre, si riscontra che i pazienti asiatici non tollerano i dosaggi utilizzati nei protocolli terapeutici occidentali per la LLA. Sulla base di questi presupposti, lo studio di Kim et al. ha valutato diversi polimorfismi genetici di interesse farmacologico in una popolazione di pazienti pediatrici coreani, allo scopo di confrontare la loro frequenza con quella di una popolazione di pazienti occidentali e di verificarne l'associazione con l'esito della terapia anti-leucemica. Questo lavoro dunque si propone come la prima analisi farmacogenetica retrospettiva condotta nei pazienti pediatrici coreani affetti da LLA che considera diversi loci genetici candidati, emersi come predittivi di tossicità e/o dell'esito della terapia in precedenti studi su popolazioni occidentali.

L'analisi è stata eseguita su un campione di pazienti ristretto (100 pazienti, età media 5,2 anni, range 1,4-16 anni), arruolati presso l'Ospedale Nazionale Universitario di Seoul e trattati con protocolli terapeutici derivati da quelli del Children's Cancer Group nordamericano (protocolli CCG-1881, CCG-1891, CCG-1952), apportando la modifica particolare di ridurre il dosaggio di 6-mercaptopurina durante la fase di mantenimento da 75 a 50 mg/m²/giorno, proprio a causa della nota ridotta tolleranza clinica dei pazienti asiatici verso questo farmaco, le cui cause molecolari non sono state ancora del tutto chiarite. I DNA estratti dal sangue periferico dei pazienti in remissione sono stati genotipizzati per 13 loci diversi: i citocromi CYP3A4 e CYP3A5, coinvolti nel metabolismo di glucocorticoidi, vincristina, etoposide e ciclofosfamide; le glutatione-S-transferasi (GST-M1, GST-P1, GST-T1) che metabolizzano anche antracicline e metotressato; il gene *multi-drug resistance-1* (*MDR1/ABCB1*) che codifica per la pompa di efflusso (glicoproteina-P) per antracicline, vincristina, etoposide e ciclofosfamide; il recettore nucleare per la vitamina D (VDR) capace di regolare l'espressione di CYP3A; il gene *NR3C1* per il recettore dei glucocorticoidi; i geni per gli enzimi tiopurina metil-transferasi (TPMT) ed inosina trifosfato pirofosfatasi (ITPA) coinvolti nel metabolismo della 6-mercaptopurina; il trasportatore per i folati ridotti (RFC) responsabile dell'ingresso del metotressato nelle cellule e gli enzimi metilen tetraidrofolato reductasi

(MTHFR) e timidilato sintetasi (TYMS) su cui agisce il metotressato stesso. Nello specifico, le diciotto varianti polimorfiche studiate sono le delezioni di *GST-M1* e *GST-T1* ed i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) 313 A>G in *GST-P1*, *CYP3A4*1B*, *CYP3A5*3*, 2677 G>T/A (esone 21) e 3435 C>T (esone 26) in *MDR1*, FokI (start-site) T>C e introne 8 G>A in *VDR*, 1088 A>G in *NR3C1*, gli SNPs 238 G>C, 460G>A e 719 A>G in *TPMT* e 94 C>A in *ITPA*, 80 G>A in *RFC1*, 677 C>T e 1298A>C in *MTHFR* ed infine gli *enhancer repeats* di *TYMS*. Le distribuzioni dei vari genotipi sono state paragonate con quelle di una popolazione caucasica ed una giapponese, rivelando delle differenze statisticamente significative rispettivamente per 10 e 3 loci.

I polimorfismi caratterizzati sono stati inoltre analizzati in rapporto all'esito della terapia: la percentuale di sopravvivenza priva di eventi (intesi come ricaduta, morte o tumori secondari) è risultata più bassa nei portatori del polimorfismo 94 C>A nel gene *ITPA* (eterozigoti+mutati) e questo polimorfismo è risultato essere l'unico fattore di rischio indipendente nell'analisi multivariata (hazard ratio 4,96, intervallo di confidenza al 95%: 1,1-22,7, p=0,039). Gli autori spiegano questo risultato sulla base della diversa frequenza allelica dei genotipi di *TPMT* e *ITPA* nella popolazione asiatica rispetto a quella occidentale, riportata in letteratura ma non così evidente nella popolazione coreana arruolata in questo studio. Secondo gli autori, vista la minore incidenza di varianti per *TPMT* ed la maggiore frequenza di quelle di *ITPA*, il ruolo ritenuto secondario di questo gene nel metabolismo della 6-mercaptopurina potrebbe diventare predominante ed influire sull'*outcome* della terapia nei pazienti di etnia asiatica.

Gli autori hanno valutato inoltre la tolleranza alla terapia con 6-mercaptopurina e metotressato, misurata in termini della dose di questi farmaci somministrata durante l'ultimo ciclo della terapia di mantenimento, fase in cui il dosaggio dovrebbe essere definitivamente regolato sulla base della sensibilità individuale dei pazienti agli antimetaboliti. Come atteso sulla base della letteratura, i pazienti con genotipo variante di *TPMT*, che notoriamente comporta un aumento dei metaboliti attivi delle tiopurine a dosi standard ed è quindi associato alla comparsa della tossicità ematologica, hanno assunto dosi significativamente ridotte di antimetaboliti rispetto ai pazienti con *TPMT wild-type* (da notare che l'unico paziente omozigote per una variante di *TPMT* non ha assunto dosi particolarmente ridotte di 6-mercaptopurina).

E' stata valutata infine anche la correlazione fra i polimorfismi analizzati e l'incidenza di effetti avversi (sepsi di grado 4 durante tutta la terapia e tossicità epatica e neutropenia con febbre di grado 3-4 durante la terapia di mantenimento) e non è stata rilevata alcuna associazione significativa; tuttavia l'analisi statistica sembra non avere tenuto conto del tempo di esposizione alla terapia, che per la chemioterapia della LLA è prolungato ed è un fattore determinante della probabilità di effetti avversi, per cui la rilevanza di questa osservazione potrebbe essere limitata.

Questo è il primo studio condotto in pazienti pediatrici coreani affetti da LLA ed ha messo in luce una diversa distribuzione di polimorfismi di interesse farmacogenetico rispetto alla popolazione occidentale, nonché il loro diverso valore prognostico rispetto a dati precedentemente pubblicati su pazienti caucasici: in particolare il polimorfismo di *ITPA C94A* è risultato associato ad un esito sfavorevole della polichemioterapia della LLA.

Parole chiave: leucemia linfoblastica acuta, pazienti pediatrici, sopravvivenza, tossicità, polimorfismi, *ITPA*

Riferimento bibliografico

[Kim H](#) et al. *PLoS ONE* 2012, 7(9): e45558.

POLIMORFISMI DELL'OSSIDO NITRICO SINTASI ENDOTELIALE (ENOS) E DEL FATTORE DI CRESCITA DELL'ENDOTELIO (VEGF) SONO PREDITTORI DI IPERTENSIONE INDOTTA DA SUNITINIB

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Il sunitinib è un inibitore di molteplici recettori tirosin-chinasici coinvolti nella crescita tumorale, nell'angiogenesi tumorale e nella progressione metastatica del cancro. In particolare, il recettore del fattore di crescita dell'endotelio vascolare A (VEGFR)-2 e il suo ligando VEGF-A giocano un ruolo chiave nella

regolazione dell'angiogenesi, essenziale per la crescita e la diffusione metastatica dei tumori maligni. L'introduzione del sunitinib in clinica ha migliorato le prospettive di sopravvivenza di diversi pazienti, compresi quelli con cancro a cellule chiare renali metastatico (mRCC). Il trattamento con sunitinib è associato ad aumento della pressione arteriosa (PA) nella maggior parte dei pazienti sottoposti a trattamento. Anche se l'ipertensione indotta da farmaci è di solito gestibile, vi è comunque un numero di pazienti che richiedono una riduzione della dose fino anche la sospensione del trattamento.

Il meccanismo attraverso il quale gli inibitori di VEGF inducono ipertensione non è stato ancora completamente chiarito. Diversi studi hanno dimostrato che VEGFR-2 è coinvolta nella regolazione del tono vascolare. L'attivazione di VEGFR-2 provocherebbe l'attivazione della fosfatidilinositolo-3-chinasi (PI3K), attivazione della serina protein chinasi Akt e conseguente produzione del vasodilatatore NO per attivazione dell'Ossido Nitrico Sintasi endoteliale (eNOS). L'inibizione di VEGF-A porterebbe, quindi, ad una minore biodisponibilità di NO con conseguente alterato equilibrio tra il vasodilatatore NO e il vasoconstrictore endotelina-1 (ET-1), inducendo vasoconstrizione ed aumento della pressione diastolica BP (DBP) (Merkus D. et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006, 291: H2075–H2081; Wileyet K.E. al. *Br J Pharmacol* 2001, 133: 568–574). Ad oggi, non sono stati identificati i fattori predisponenti per lo sviluppo di ipertensione durante il trattamento con inibitori di VEGF. Pertanto, il primario obiettivo di questo studio è stato valutare il valore predittivo dei polimorfismi genetici in *VEGF-A*, *VEGFR-2*, *eNOS* ed *ET-1* rispetto allo sviluppo di ipertensione in pazienti trattati con sunitinib. L'obiettivo secondario è stato studiare l'associazione tra ipertensione e sopravvivenza nei pazienti con mRCC a cellule chiare trattati con sunitinib e valutarne eventuali valori predittivi, al fine di convalidare maggiormente i risultati.

Sono stati selezionati i sette polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) maggiormente coinvolti nei meccanismi di regolazione della pressione arteriosa a seguito del trattamento con sunitinib. I criteri di selezione sono stati la frequenza della presenza degli alleli nella popolazione, in accordo con la letteratura e il database *dbSNP* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>) e la rilevanza clinica in base alla letteratura disponibile (Kim J.J. et al. *Cancer* 2012, 118:1946–1954; Lin T.H. et al. *Am J Hypertens* 2010, 23:960–966).

In questo studio retrospettivo sono stati studiati in 255 pazienti, affetti da tumore, i sette polimorfismi nei quattro geni di *VEGF-A*, (*VEGFR-2*), dell'endotelina-1 (*ET-1*) e dell'eNOS, valutando i gradi di ipertensione associata e le variazioni della pressione sistolica (SBP), della pressione diastolica (DBP) e della pressione media arteriosa (MAP). Quindi, è stata studiata l'associazione tra ipertensione e sopravvivenza nei pazienti con mRCC a cellule chiare. I pazienti sono stati trattati con sunitinib per almeno 4 settimane consecutive. Campioni di DNA sono stati raccolti dai pazienti, in sei centri medici nei Paesi Bassi tra il giugno 2004 e l'ottobre 2010: Erasmus University Medical Center (n=105), Paesi Bassi Cancer Institute (n=49), Leiden University Medical Center (n=47), VU Medical Center (n=42), University Medical Center di Groningen (n=40) e Radboud University Nijmegen Medical Center (n=8). Per gli *outcomes* primari (variazione di SBP e di DBP), sono stati inseriti nell'analisi multivariata di regressione lineare le seguenti caratteristiche cliniche: peso, performance status, i livelli di SBP e di DBP all'inizio della terapia. Per la MAP sono state inserite nell'analisi multivariata le seguenti caratteristiche: peso corporeo, BP e DBP. Lo studio è stato approvato dalla commissione istituzionale medica per la revisione etica ed eseguito in conformità alla Dichiarazione di Helsinki.

La media dei valori di DS e BP iniziali nei pazienti in terapia con sunitinib erano 135±18 mmHg per la pressione sistolica (SBP), 79±11 mmHg diastolica (DBP) e 98±12 mmHg media arteriosa (MAP). Durante il primo ciclo di terapia con sunitinib, 166 pazienti (65%) hanno mostrato un aumento della SBP (25±18 mmHg), 186 pazienti (73%) hanno mostrato un aumento di DBP (15±9 mmHg) e 193 pazienti (76%) hanno mostrato un aumento della MAP (16±11 mmHg). Trentatré pazienti (13%) hanno sviluppato ipertensione di grado 3, mentre i restanti 222 pazienti (87%) hanno sviluppato ipertensione di grado 0-2 (162, 27, e 33 pazienti con gradi 0, 1, e 2, rispettivamente). Dall'analisi univariata è risultato predittivo dell'aumento della BP l'aplotipo ACG in *VEGF-A* rs699947 (-2578A>C), rs833061 (-460C>T) e rs2010963 (405C>G), significativamente associato ad aumento della pressione arteriosa sistolica durante il primo ciclo di trattamento (P=0,026). Nessuna associazione significativa è stata evidenziata tra i polimorfismi selezionati e l'aumento di DBP durante il primo ciclo di trattamento con sunitinib. La presenza dell'aplotipo ACG in *VEGF-*

A è stata associata a variazione della MAP ($P=0,053$). Durante il primo ciclo di trattamento, la presenza dell'aplotipo ACG in VEGF-A in un modello moltiplicativo e la presenza dell'allele C in eNOS rs2070744 (-786T>C) in un modello dominante sono stati associati a ipertensione di grado 3 (rispettivamente $P=0,083$ e $P=0,051$). Quando questi polimorfismi sono stati testati in un'analisi di regressione multivariata, l'aplotipo ACG in VEGF-A è risultato predittivo in modo significativo per l'ipertensione di grado 3 (Odds ratio:1,69, intervallo di confidenza 0,97-2,94, $P=0,031$). Inoltre, la presenza dell'allele C in eNOS (-786T>C), in un modello dominante, è stata associata in modo indipendente a ipertensione di grado 3 (odds ratio: 2,62, intervallo di confidenza 1,08-6,35, $P = 0,045$).

Nei pazienti con mRCC è stato evidenziato che l'ipertensione-indotta è capace di conferire un beneficio nella sopravvivenza, con un prolungamento della sopravvivenza media globale di 7,2 mesi ($P=0,035$ e $P=0,026$ per aumenti di SBP e DBP, rispettivamente) e di 6,3 mesi nei pazienti con alto MAP ($P=0,037$). L'ipertensione di grado 3 è risultato essere un fattore indipendente per la sopravvivenza generale nei pazienti con mRCC. Questo è in accordo con i risultati di Rini et al. (*J Natl Cancer Inst* 2011, 103:763–773).

In conclusione, i polimorfismi genetici in VEGF-A e eNOS, in modo indipendente, sono predittivi di aumento della PA e/o grave ipertensione nei pazienti trattati con sunitinib e quindi la loro determinazione può essere utile nella identificazione precoce di questo sottogruppo e la terapia può essere iniziata o regolata in anticipo. Inoltre, in pazienti con mRCC del tipo a cellule chiare il trattamento con sunitinib può essere considerato come un potenziale biomarcatore per l'esito.

I polimorfismi genetici in VEGF-A e eNOS, in modo indipendente, sono responsabili dell'aumento della PA e/o grave ipertensione in pazienti trattati con sunitinib.

Parole chiave: VEGF-A, (VEGFR)-2, ET-1, eNOS, mRCC, sunitinib

Riferimento bibliografico

[Echoute K](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2012, 92(4):503-10.

La metanalisi del mese

POLIMORFISMI DI GENI APPARTENENTI AL PATHWAY DI VEGF COME FATTORI PROGNOSTICI E FARMACOGENETICI: UNA REVISIONE SISTEMATICA E META-ANALISI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF) è il membro principale di una famiglia di citochine strutturalmente e funzionalmente correlate, che rivestono insieme dei ruoli essenziali nell'angiogenesi, nella linfoangiogenesi e nella vasculogenesi. In ragione di ciò, il *pathway* VEGF/VEGF Receptor (VEGFR) costituisce un target farmacologico nella terapia oncologica. Gli Autori hanno condotto una revisione sistematica e meta-analisi degli studi relativamente al ruolo di polimorfismi germinali di geni appartenenti al *pathway* di VEGF sia come fattori predittivi della tossicità e della risposta terapeutica al trattamento con farmaci ad azione anti-angiogenica, sia per investigare il loro ruolo come possibili indicatori prognostici.

La ricerca degli studi rilevanti è stata condotta mediante consultazione di MEDLINE, a partire da Maggio 1990 fino a luglio 2011, utilizzando le seguenti parole chiave:{"angiogenesis", "VEGF", "VEGFR1", "FLT1", "KDR", "VEGFR2", "FGF2", "FGF", "FGFR", "NRP1", "endostatin", "VEGFA", "VEGFB and "Bevacizumab"} and "cancer" and "polymorphism". La ricerca è stata limitata agli studi in lingua inglese. Sono stati considerati eleggibili gli studi che avevano valutato almeno uno dei seguenti *outcome* clinici: sopravvivenza

globale, sopravvivenza libera da progressione, sopravvivenza libera da malattia, tempo di ricorrenza di malattia, tasso di risposta e tossicità.

Dalla ricerca della letteratura sono emersi in totale 60 studi clinici, di cui 12 relativi all'associazione dei polimorfismi di geni appartenenti al *pathway* di VEGF con la tossicità e la risposta terapeutica al trattamento con bevacizumab, e 48 studi riguardanti la correlazione con la sopravvivenza. Dato che i criteri utilizzati per definire la risposta terapeutica e la tossicità differivano tra uno studio e l'altro, gli autori hanno deciso di non effettuare meta-analisi relativamente a questi due *endpoints*, limitandosi alla sola descrizione dei principali risultati riportati nei differenti studi. Relativamente al ruolo dei polimorfismi VEGF come possibili fattori prognostici, sono state effettuate meta-analisi relativamente a 5 polimorfismi del gene VEGF (+936C>T, -460T>C, -1154G>A, -2578C>A e +405G>C). Dai risultati dell'analisi aggregata di 18 studi (6106 pazienti totali) emerge che i portatori dell'allele C del polimorfismo +405G>C presentano un'aumentata sopravvivenza rispetto ai portatori in omozigosi dell'allele G (HR: 0.74, 95%CI, 0.60-0.91, P=0.004). I risultati delle meta-analisi riguardanti gli altri 4 polimorfismi del gene VEGF non evidenziano nessun trend di associazione con la sopravvivenza globale.

Gli SNPs di VEGF nella linea germinale, in particolare quelli che modificano l'espressione genica e quindi la produzione e l'attività della proteina, rappresentano potenziali fattori predittivi di efficacia dell'inibizione di farmaci ad azione anti-angiogenica. Da questa revisione sistematica emerge che pochi studi si sono finora focalizzati sullo stesso polimorfismo. Inoltre esiste un'ampia eterogeneità tra i differenti studi in termini di tipologia di tumore, terapia anti-angiogenica, definizione di *endpoints* clinici e polimorfismi analizzati. Malgrado quindi rimanga aperta la questione sul ruolo dei polimorfismi di geni appartenenti al *pathway* di VEGF/VEGFR come fattori predittivi della risposta clinica al trattamento con bevacizumab o con altri farmaci ad azione anti-angiogenica, i risultati di questo studio suggeriscono un ruolo prognostico del polimorfismo VEGF +405G>C. L'allele C della variante VEGF +405G>C potrebbe pertanto conferire un vantaggio in termini di sopravvivenza. A supporto di questi risultati, alcuni studi *in vitro* hanno evidenziato che l'allele C del polimorfismo VEGF +405G>C determinerebbe una diminuzione dell'espressione di VEGF.

In conclusione, l'eterogeneità degli studi finora condotti non consente di concludere circa il ruolo dei polimorfismi di geni appartenenti al *pathway* di VEGF come fattori farmacogenetici, tuttavia i risultati della meta-analisi suggeriscono un ruolo prognostico del polimorfismo VEGF +405G>C.

Parole chiave: cancro, farmaci anti-angiogenici, VEGF, polimorfismi, meta-analisi

Riferimento bibliografico

[Eng L](#) et al. *Clin Cancer Res* 2012, 18(17):4526-37.



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 Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Raffaella Franca (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Virginia Paribello (Università di Salerno) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Michela Santoro (Università di Pisa) Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) 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, indiretto, 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 tentativo 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.