



## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 74 – Giugno 2015

---

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

---

## Sommario

### ⇒ Oncologia

- Il genotipo TYMS è fortemente predittivo nei pazienti con tumore gastrointestinale metastatico in trattamento chemioterapico a base di capecitabina
- Il trasportatore di cationi organici OCT6 media l'assorbimento e la resistenza al cisplatino nel tumore al polmone
- Il polimorfismo rs11671784 G/A nel miR-27a diminuisce la sensibilità alla chemioterapia nei pazienti affetti da cancro alla vescica abbassando i livelli di miR-27a e aumentando l'espressione di RUNX-1
- Blocco del PD-1 in tumori con deficit dei meccanismi di riparazione del danno del DNA (*Mismatch-Repair*)
- L'analisi integrata del numero di copie e di espressione genica identifica i profili delle alterazioni di interi bracci di cromosomi e i sottogruppi con esito clinico favorevole nei carcinomi delle cellule chiare ovariche
- Associazione dei livelli plasmatici di AR e del numero di copie del CYP17A1 con l'*outcome* di pazienti affetti da tumore metastatico della prostata resistente alla castrazione trattati con abiraterone

### ⇒ Neurologia

- Analisi di associazione *genome-wide* della risposta al trattamento con inibitori della ricaptazione della serotonina in pazienti affetti da disturbo ossessivo-compulsivo
- LPHN3 e Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività: uno studio di suscettibilità e farmacogenetica
- Varianti genetiche di *ATPIA3*, ma non di *ATPIA2*, sono associate alle epilessie generalizzate genetiche nella popolazione cinese

### ⇒ La metanalisi del mese

- Influenza del polimorfismo HER2 Ile655Val sul rischio di cardiotoxicità indotta da trastuzumab in pazienti con tumore della mammella HER2-positivo: una meta-analisi

**ONCOLOGIA****IL GENOTIPO TYMS È FORTEMENTE PREDITTIVO NEI PAZIENTI CON TUMORE GASTROINTESTINALE METASTATICO IN TRATTAMENTO CHEMIOTERAPICO A BASE DI CAPECITABINA**

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

La capecitabina, profarmaco attivato a 5-fluorouracile (5FU), è una fluoropirimidina ampiamente utilizzata nel trattamento dei pazienti affetti da carcinoma del colon retto (CRC) e cancro gastroesofageo (GEC). Numerosi polimorfismi in geni coinvolti nel *pathway* delle fluoropirimidine sono stati associati agli *outcome* clinici in pazienti con tumori del tratto gastrointestinale. In particolare, le varianti polimorfiche nel promotore del gene che codifica per la timidilato sintasi (TYMS) possono determinare la sensibilità delle cellule cancerose al trattamento chemioterapico. Gli autori di questo studio hanno ricercato la correlazione tra farmacogenetica e farmacocinetica dei chemioterapici utilizzati in pazienti con cancro gastrointestinale in stadio avanzato.

La popolazione in studio era rappresentata da 64 pazienti con CRC metastatico trattati con capecitabina/oxaliplatino e 76 pazienti con GEC in stadio avanzato in terapia con epirubicina/cisplatino/capecitabina arruolati presso il *Cancer Institute* (Amsterdam-Olanda). La genotipizzazione è stata eseguita su DNA genomico isolato da sangue periferico mediante sequenziamento diretto. Sono stati analizzati 44 polimorfismi in 16 geni (TYMS, MTHFR, GSTP1, GSTM1, GSTT1, DPYD, XRCC1, XRCC3, XPD, ERCC1, RECQ1, RAD54L, ABCB1, ABCC2, ABCG2 e UGT2B7). Il genotipo TYMS è stato definito dalla presenza di almeno un allele "3G" (2R/3G, 3C/3G o 3G/3G). Inoltre è stata eseguita un'analisi farmacocinetica misurando le concentrazioni plasmatiche dei farmaci chemioterapici somministrati all'inizio del trattamento e dopo 24 ore, mediante spettroscopia di assorbimento atomico e HPLC.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a 6 cicli di chemioterapia. Gli uomini avevano una clearance di oxaliplatino più elevata rispetto alle donne. Gli individui omozigoti per il polimorfismo GSTP1-c.313G mostravano una clearance di epirubicina più alta del 44%, e i portatori della variante ABCB1-c.3435T un valore di clearance di epirubicina più elevato del 21%. Inoltre, la presenza del polimorfismo DPYD-c.1905+1G>A nei pazienti con GCE distale avanzato era associata a una clearance di 5FU più bassa del 66%, mentre la variante XRCC1-c.399G a una clearance di 5FU più alta del 42%. I pazienti con una clearance di 5FU bassa erano esposti a un rischio aumentato di neutropenia e di sindrome mano-piede. I polimorfismi DPYD T85C, T1896C e A2846T erano associati a diarrea e sindrome mano-piede e la variante DPYD IVS14+1G>A a diarrea. I genotipi TYMS 2R/3G, 3C/3G or 3G/3G erano associati a un peggioramento, valutato in termini di sopravvivenza senza progressione della patologia (*progression free survival (PFS)*) sia nel CRC che nel GEC e a un peggioramento, inteso come sopravvivenza globale (*overall survival, OS*), nei pazienti con GEC. Il polimorfismo GSTP1-A313G era associato, invece, a valori più alti sia di *PFS* sia di *OS*.

Questo studio prospettico è uno dei pochi che abbia valutato insieme dati farmacogenetici e farmacocinetici in pazienti con tumore gastrointestinale in fase avanzata. I pazienti che avevano un genotipo associato a un'alta espressione della proteina TYMS mostravano una risposta terapeutica peggiore, indipendentemente dal farmaco utilizzato e questo può portare a ritenere che un aumento o, comunque, un cambiamento, del regime posologico di capecitabina, pianificato in base al genotipo TYMS del paziente, potrebbe essere molto utile. Questo dato è in accordo con i risultati ottenuti in altri studi indipendenti (*Int J Colorectal Dis* 2002, 17(1):46–49; *Pharmacogenomics J* 2001, 1(1):65–70; *Br J Cancer* 2003, 94 (2):281–286). Inoltre, come altri ricercatori (*Cancer Sci* 2010, 101(2):530–535), gli autori di questo studio hanno rilevato che i pazienti con CRC metastatico portatori dell'allele GSTP1-c.313A>G mostravano un miglioramento degli *outcome* clinici valutati come *PFS* e *OS*. Infine, il ruolo delle varianti del gene DPYD come fattori predittivi di tossicità da fluoropirimidine è stato ampiamente confermato in questo studio nonostante la bassa frequenza allelica di

tali polimorfismi. Le limitazioni di questa ricerca sono ascrivibili, come spesso accade, al basso potere statistico dovuto alla dimensione del campione analizzato, tuttavia i risultati sono molto interessanti e dimostrano che i polimorfismi nei geni DPYD, TYMS e GSTP1 esercitano un'influenza considerevole sulla risposta al trattamento chemioterapico a base di capecitabina nei pazienti con cancro coloretale e gastroesofageo di stadio avanzato.

Questo studio sottolinea l'importanza dell'analisi farmacogenetica in caso di trattamento chemioterapico con fluoropirimidine. In particolare, considerata la forte associazione tra genotipo TYMS e gli esiti clinici della chemioterapia a base di capecitabina in pazienti con tumore gastrointestinale avanzato, è ragionevole pianificare e/o adattare il regime terapeutico prendendo in considerazione la possibilità di eseguire l'analisi di tale genotipo in ogni paziente.

**Parole chiave:** timidilato sintasi, capecitabina, genotipo TYMS, carcinoma gastrointestinale metastatico

**Riferimento bibliografico:**

[Joerger M](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015, 75(4):763-72.

---

## IL TRASPORTATORE DI CATIONI ORGANICI OCT6 MEDIA L'ASSORBIMENTO E LA RESISTENZA AL CISPLATINO NEL TUMORE AL POLMONE

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

I trasportatori di anioni (OATs) e cationi (OCTs) organici sono due famiglie di proteine coinvolte nel mantenimento dell'omeostasi dei composti organici carichi. OCTs sono trasportatori di ingresso che appartengono alla famiglia dei carrier di soluto SLC22. Esistono quattro sottotipi: OCT1 (SLC22A1), OCT2 (SLC22A2), OCT3 (SLC22A3) e OCT6 (SLC22A16). Questi trasportatori traslocano molti cationi organici, con strutture molecolari molto diverse, in modo elettrogenico. Ogni OCT ha uno specifico *pattern* di espressione tissutale e di substrati trasportati. Il trasportatore OCT2 rappresenta la principale isoforma renale; recentemente, tale trasportatore è risultato coinvolto nel trasporto del cisplatino (CDDP) e nella nefrotossicità CDDP-indotta. Inoltre, è stato riportato che OCT1 e OCT2 sono espressi in alcune linee cellulari di carcinoma del colon, e che svolgono un ruolo critico nel *uptake* cellulare e, conseguentemente, nella citotossicità da oxaliplatino (L-OHP). Questi risultati suggeriscono che gli OCT potrebbero svolgere un ruolo importante nell'accumulo cellulare dei farmaci a base di platino e nella resistenza delle cellule tumorali a questi composti. Tuttavia, il ruolo di questi membri della famiglia OCT nel conferire resistenza ai farmaci al platino non è stato ancora chiarito. In questo lavoro è stata quindi esaminata la funzione dei membri della famiglia OCT nell'assorbimento del platino e nella conseguente resistenza al CDDP utilizzando due linee cellulari del tumore al polmone CDDP-resistenti.

In questo studio sono state utilizzate le seguenti linee cellulari di carcinoma umano: due linee cellulari di adenocarcinoma (A549, PC-14), una linea cellulare di tumore del polmone a piccole cellule (PC-6), una di tumore ovarico (SK-OV-3), una di leucemia (HL-60) e due linee cellulari CDDP-resistenti (PC-14/CDDP e PC-6/CDDP) derivate da PC-14 e PC-6. In breve, le cellule resistenti sono state sottoposte ad una continua esposizione di concentrazioni gradualmente crescenti di CDDP. Inoltre, le linee cellulari medio resistenti sono state clonate e i cloni resistenti sono stati isolati e coltivati sempre in presenza della concentrazione massima di CDDP a cui rimanevano vitali. Per valutare la vitalità cellulare, sono state aggiunte graduali diluizioni di dieci volte del farmaco antitumorale (nell'intervallo di concentrazione da 10pM a 100uM) 2 ore dopo la piastratura, e le colture sono state incubate a 37°C per 72 h. Alla fine del periodo di coltura, sono stati aggiunti 20uL di soluzione MTS [(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H tetrazolium) (The CellTiter96®AQ<sub>ueous</sub> One Solution Cell Proliferation Assay, Promega, Madison, WI, USA), le cellule sono state poi incubate per altre 4 h e l'assorbimento è stato misurato a 490 nm utilizzando un lettore di piastre ELISA. I valori medi sono stati calcolati da tre esperimenti indipendenti condotti in quadruplicato. La chemiosensibilità è stata espressa come la concentrazione di farmaco per IC<sub>50</sub>, che è stata determinata dal rapporto concentrazione-effetto utilizzando Graph Pad Prism versione 5.0

(GraphPad Software, San Diego, CA, USA). La quantificazione dell'mRNA di SLC22A1 (OCT1), SLC22A2 (OCT2), SLC22A3 (OCT3) e SLC22A16 (OCT6) è stata eseguita in Real-Time PCR con sonde TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) a partire dal RNA totale estratto dalle linee cellulari tumorali. Le cellule PC-14/CDDP sono state trasfettate con il plasmide pCMV6-Entry/SLC22A16, ottenuto dal sotto-clonaggio del cDNA intero di SLC22A16 umano nel vettore di espressione mammifero pCMV6-Entry, o con plasmidi controllo. Il clonaggio del gene SLC22A16 sotto il controllo del promotore CMV, ha permesso la sua espressione costitutiva. Dopo selezione con geneticina (300 ug/ml), l'analisi dell'espressione della proteina OCT6 è stata condotta mediante Western blotting. Dopo conferma dell'aumento di espressione di OCT6, le cellule trasfettate sono state clonate in presenza di geneticina. Successivamente, da queste cellule trasfettate sono state selezionate due linee cellulari sovra esprimenti OCT6. Allo stesso modo state clonate le cellule trasfettate con il plasmide di controllo negativo ed è stata selezionata una linea cellulare che mostrava livelli di espressione di OCT6 simile alle cellule parentali, che è stata così scelta come linea cellulare di controllo. Per determinare l'importanza di OCT6 nell'assorbimento di CDDP, le linee cellulari PC-14 e PC-14/CDDP sono state incubate per 1 o 4 ore a 37°C con 50 o 400 µM di CDDP. Dopo l'incubazione, le cellule sono state lavate e centrifugate per raccogliere il supernatante in cui è stata misurata la concentrazione di platino utilizzando il test di spettrometria d'assorbimento atomico. Tutte le differenze tra i campioni sono state valutate utilizzando il test *t* spaiato di Student. Il livello di significatività è stato fissato al 5% con l'analisi a due code.

**Valori di IC<sub>50</sub> per CDDP e L-OHP nelle linee cellulari CDDP-resistenti.** Per studiare la sensibilità delle linee cellulari di tumore al polmone al CDDP e a L-OHP, è stata misurata la IC<sub>50</sub> per ogni farmaco nelle linee cellulari PC-6, PC-6/CDDP, PC-14 e PC-14/CDDP. La IC<sub>50</sub> per CDDP è risultata 4.24 e 3.79 volte superiore nelle linee cellulari PC-6/CDDP e PC-14/CDDP rispettivamente, in confronto alle linee cellulari parentali, in accordo con i risultati precedenti. Anche la IC<sub>50</sub> per L-OHP è risultata superiore (14,2 e 7,72 volte) nelle linee cellulari PC-6/CDDP e PC-14/CDDP, rispetto alle linee parentali.

**Livelli di espressione di OCTs nelle cellule CDDP-resistenti.** RT-PCR quantitativa è stata effettuata per indagare i livelli di espressione dei geni della famiglia OCT nelle linee cellulari PC-6, PC-14 e nelle loro derivate CDDP-resistenti. Le linee cellulari HL-60, SK-OV-3 e A549 sono state usate come controlli positivi in quanto l'espressione di OCTs era già stata confermata in lavori precedenti. Sia nelle linee cellulari CDDP-resistenti che nelle loro derivate, l'espressione dei geni SLC22A2 e SLC22A3 non era rilevabile o era molto bassa. SLC22A1 è stato identificato in tutte le linee cellulari, ma non è stata trovata alcuna differenza nei livelli di espressione. Solo i livelli di espressione di SLC22A16 erano significativamente più bassi nelle linee cellulari resistenti PC-14/CDDP e PC-6/CDDP rispetto alle loro linee parentali. Per questo motivo l'attenzione si è focalizzata sullo studio dell'espressione di OCT6. Anche i livelli di espressione proteica di OCT6 erano diminuiti nelle linee cellulari resistenti PC-6/CDDP e PC-14/CDDP rispetto alle parentali.

**Accumulo cellulare di platino.** Per determinare se la minore espressione di OCT6 nelle cellule resistenti ai farmaci determinasse un minor afflusso di farmaco, è stato misurato l'accumulo intracellulare di platino nelle cellule PC-14 e PC-14/CDDP. Dopo trattamento con 50 e 400 µM di CDDP per 1 e 4 h, nelle cellule PC-14/CDDP l'accumulo intracellulare di platino è risultato inferiore rispetto alle PC-14 ad ogni *time-point* testato.

**Aumento della citotossicità di CDDP da trasfezione di SLC22A16.** Per indagare ulteriormente il ruolo di OCT6 nella resistenza ai farmaci, le cellule PC-14/CDDP sono state trasfettate con un vettore di espressione che codifica per SLC22A16 o con un vettore di controllo negativo. Il livello d'espressione della proteina OCT6 risultava aumentato dopo la trasfezione di SLC22A16 rispetto al controllo. Il test di vitalità cellulare MTS è stato effettuato per verificare se questo aumento dell'espressione di OCT6 avesse aumentato la citotossicità di CDDP e L-OHP. Le linee cellulari PC-14/CDDP trasfettate con SLC22A16 o con vettore di controllo successivamente sono state trattate con CDDP o L-OHP per 72 ore dopodiché, è stata valutata la vitalità cellulare. La citotossicità di CDDP è risultata aumentata nelle cellule trasfettate con SLC22A16 rispetto alle cellule trasfettate con il vettore di controllo negativo. Dato che il vettore di controllo non influisce sull'espressione di OCT6, questi risultati permettono di concludere che l'aumento d'espressione di OCT6 ha alterato la citotossicità di CDDP. Inoltre la citotossicità di L-OHP era potenziata dall'espressione di OCT6. L'accumulo intracellulare di platino dopo trattamento con 400 µM di CDDP o 100 µM di L-OHP per 4 ore era aumentato nelle linee cellulari PC-14/CDDP trasfettate con SLC22A16 rispetto a quelle trasfettate con il vettore di controllo negativo.

Concludendo, l'aumentata espressione di OCT6 risulta in un maggiore assorbimento cellulare di CDDP e quindi in un'alterazione della citotossicità di questo farmaco. Questi risultati indicano che OCT6 media l'assorbimento di CDDP e che la sua *down-regulation* conferisce direttamente resistenza al CDDP per via della diminuzione della concentrazione di platino intracellulare.

In questo studio, è stato dimostrato che OCT6 è un mediatore dell'assorbimento del platino nelle cellule tumorali e che la diminuzione dei livelli di OCT6 è un meccanismo di resistenza alla chemioterapia contenente CDDP nel tumore del polmone. Sono necessari ulteriori studi clinici per determinare l'impatto clinico dell'espressione della famiglia degli OCT sulla chemioterapia per il cancro al polmone.

**Parole chiave:** trasportatore di cationi organici, cisplatino, oxaliplatino, resistenza ai farmaci, tumore al polmone

#### Riferimento bibliografico

[Kunii E](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015, 75(5):985-91.

## IL POLIMORFISMO RS11671784 G/A NEL MIR-27A DIMINUISCE LA SENSIBILITÀ ALLA CHEMIOTERAPIA NEI PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO ALLA VESCICA ABBASSANDO I LIVELLI DI MIR-27A E AUMENTANDO L'ESPRESSIONE DI RUNX-1

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

In Italia si diagnosticano oltre 20mila nuovi casi all'anno di tumore della vescica, di cui oltre 16mila tra gli uomini e poco meno di 4mila tra le donne, generalmente dopo i 65 anni d'età. Nel trattamento della malattia localmente avanzata o metastatica, la chemioterapia sistemica con cisplatino può ottenere risposta clinica in circa la metà dei pazienti. Alcuni studi suggeriscono che polimorfismi a singolo nucleotide a carico di mi-RNAs o pre-mi-RNAs possono alterare l'espressione dei mi-RNAs e generare differenze interindividuali nella sensibilità al trattamento chemioterapico. È noto che l'espressione del miR-27a è significativamente più bassa nel cancro alla vescica. In tale contesto, è stato suggerito che lo SNP rs11671784 G>A, situato nel loop del pre-miR-27a, potrebbe influenzare l'espressione del miR-27a maturo (Yang et al. *Oncogene* 2014, 33:193-202).

Date queste evidenze, gli Autori dello studio hanno investigato: i) la potenziale correlazione tra lo SNP rs11671784 e la chemioresistenza nel tumore alla vescica; ii) il meccanismo attraverso il quale tale variante possa influenzare tale effetto.

Nello studio sono stati inclusi un totale di 89 pazienti affetti da cancro alla vescica avanzato (stadio II e III) o metastatico (stadio IV). Tutti i soggetti erano in trattamento con chemioterapici in combinazione a base di platino. Mediante analisi su sangue e tessuto tumorale è stato osservato che i pazienti con malattia in progressione o stabile avevano un'espressione del miR-27a significativamente più bassa sia nel siero (0.58 volte più bassa,  $p < 0.0001$ ) che nel tessuto tumorale (1.55 volte più bassa,  $p < 0.0001$ ) rispetto ai pazienti con risposta completa o parziale al trattamento chemioterapico. Dato il possibile impatto della variante rs11671784 G>A sull'espressione di miR-27a, è stata valutata la correlazione tra tale SNP e la resistenza alla chemioterapia. Dall'analisi di associazione, è emerso che i pazienti con genotipo GA o AA avevano un rischio maggiore di malattia in progressione o stabile rispetto ai soggetti omozigoti per l'allele G (OR: 9.49, 95% CI:3.57-25.20,  $p < 0.00001$ ). Per identificare in che modo la variante rs11671784 G/A potesse alterare l'espressione di miR-27a, sono stati misurati i livelli di pri-miR-27a, pre-miR-27a e miR-27a maturo nel tessuto tumorale dei pazienti stratificati per genotipo. L'espressione di miR-27a è risultata essere più bassa nei tessuti tumorali di pazienti con genotipo GA o AA rispetto ai soggetti con genotipo GG ( $p < 0.01$ ). Al contrario, i livelli di pri-miR-27a e pre-miR-27a sono risultati essere equiparabili nei tre sottogruppi ( $p > 0.05$ ). Inoltre, per valutare se l'espressione alterata di miR-27a dipendeva dallo SNP, cellule di tumore alla vescica, RT4 sono state transfettate con lenti-miR-27a-G o lenti-miR-27a-A. Le cellule con lenti-miR-27a-G presentavano livelli di miR-27a significativamente più alti rispetto alle cellule con lenti-miR-27a-A, mentre i livelli di pri-miR-27a e pre-miR-27a non differivano tra le due linee cellulari ( $p = 0.8$  e  $0.7$ , rispettivamente). Questo risultato suggerisce che la bassa espressione del miR-27a nelle cellule con genotipo

rs11671784-A sia causata da un'interruzione del processo di maturazione del pre-miR-27a alla forma matura, supportando l'ipotesi che l'allele G possa svolgere un ruolo chiave in questo processo. Infine, sono stati valutati i possibili target a valle di miR-27a mediante modelli cellulari *in vitro*. Da questi studi è emerso che la sovraespressione di miR-27a determina: i) un aumento dose-dipendente della sensibilità delle linee cellulari di cancro alla vescica; ii) una stimolazione dell'apoptosi cellulare farmaco-indotta e promozione dell'espressione di marker pro-apoptotici quali Bax e la caspasi 3. Mediante luciferasi reporter assay, è stato infine dimostrato che la modulazione della sensibilità alla chemioterapia avveniva tramite l'inibizione diretta dell'espressione di RUNX-1.

In conclusione, i risultati di questo studio suggeriscono che la variante rs11671784 G/A è un potenziale fattore predittivo della sensibilità alla chemioterapia nei pazienti affetti da cancro alla vescica.

**Parole chiave:** cancro alla vescica, chemioterapia basata su cisplatino, miR-27a, rs11671784

#### Riferimento bibliografico

Deng Y et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2015, 458(2):321-7.

---

## BLOCCO DEL PD-1 IN TUMORI CON DEFICIT DEI MECCANISMI DI RIPARAZIONE DEL DANNO DEL DNA (*MISMATCH-REPAIR*)

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

La via del PD-1 (*programmed death-1*) rappresenta un *feedback* negativo per le risposte citotossiche Th1 e risulta spesso *up-regolata* in diversi tumori e nel microambiente circostante. Il blocco di questa via con anticorpi anti-PD-1 o contro i suoi ligandi ha portato a risposte cliniche importanti in pazienti affetti da diverse patologie tumorali, inclusi melanoma, tumore polmonare non a piccole cellule, carcinoma a cellule renali, carcinoma della vescica, linfoma di Hodgkin (Ansell SM et al. *N Engl J Med* 2015, 372:311-9; Hamid O et al. *N Engl J Med* 2013, 369:134-44; Herbst RS et al. *Nature* 2014, 515:563-7; Powles T et al. *Nature* 2014, 515:558-62). L'espressione dei ligandi del PD-1 (PD-L1 o PD-L2) sulla superficie delle cellule tumorali o del sistema immunitario rappresenta un importante *marker* di risposta a questi farmaci. In alcuni *report* sull'uso del blocco del PD-1 nel trattamento del carcinoma del colon-retto, solo 1 su 33 pazienti aveva avuto una risposta terapeutica (Topalian SL et al. *N Engl J Med* 2012, 366:2443-54; Taube JM et al. *Clin Cancer Res* 2014, 20:5064-74; Brahmer JR, Drake CG, Wollner I et al. *J Clin Oncol* 2010, 28:3167-75) mentre la frazione di pazienti con melanoma, cancro del rene o del polmone che rispondono è sostanziale. È stato ipotizzato che questo paziente potesse avere una carenza dei meccanismi di riparazione del DNA (*mismatch repair*), che permette di avere mutazioni somatiche riconoscibili dal sistema immunitario da 10 a 100 volte più frequenti, e questa ipotesi è stata poi confermata (Koopman M et al. *Br J Cancer* 2009, 100:266-73, Goldstein J et al. *Ann Oncol* 2014, 25:1032-8; Lipson EJ et al. *Clin Cancer Res* 2013, 19: 462-8). Pertanto, i tumori con deficit del *mismatch repair* potrebbero essere più responsivi al blocco PD-1 rispetto ai pazienti con meccanismi di riparazione funzionanti.

È stato iniziato uno studio di fase 2 per valutare il blocco del *checkpoint* immunitario nei pazienti i cui tumori presentavano o meno deficit dei meccanismi di riparazione del DNA, a causa di mutazioni somatiche o germinali dei 4 geni del *mismatch repair*.

Sono stati arruolati pazienti con carcinoma metastatico progressivo refrattario al trattamento, e suddivisi in 3 coorti: coorte A di pazienti con adenocarcinoma coloretale con deficit del sistema *mismatch repair*, coorte B di pazienti con adenocarcinoma coloretale con sistema *mismatch repair* funzionante, coorte C con altri tipi di tumori e deficit del *mismatch repair*. Il farmaco in studio, pembrolizumab, è stato somministrato endovena alla dose di 10 mg/kg ogni 14 giorni. All'inizio di ogni ciclo di trattamento è stata eseguita una valutazione di malattia tramite il dosaggio di *marker* sierici. La valutazione radiografica è stata effettuata dopo 12 settimane di trattamento, e successivamente ogni 8 settimane. L'efficacia dei meccanismi di riparazione è stata valutata tramite la presenza di mutazioni in particolari sequenze microsatellite, che sono particolarmente soggette ad errori di copia quando il sistema di *mismatch repair* è compromesso (kit MSI analysis system, Promega).

Sono stati arruolati e trattati tra settembre 2013 e gennaio 2015 41 pazienti, di cui 32 avevano un carcinoma coloretale e sono stati assegnati alle coorti A e B. Tutti i pazienti con carcinoma coloretale avevano ricevuto 2 o più regimi chemioterapici (4 in media), ad eccezione di un paziente che aveva ricevuto un regime chemioterapico ed uno di immunoterapia. Nella coorte C sono stati inseriti 9 pazienti con deficit del *mismatch repair* ed altre patologie tumorali, e tutti avevano ricevuto uno o più regimi terapeutici (due in media). Il tasso di risposta oggettiva immuno-correlata era del 40% nella coorte A e del 67% nella coorte C, mentre il tasso di *progression-free survival* (PFS) immuno-correlata a 20 settimane era del 78% nella coorte A e del 71% nella coorte C. Nella coorte B, dei pazienti con sistema di riparazione funzionante, il tasso di risposta oggettiva immuno-correlata era dello 0% ed il tasso di PFS immuno-correlata a 20 settimane era dell'11%. Il *follow-up* medio era di 36 settimane per i pazienti della coorte A, 20 settimane per i pazienti della coorte B e 21 per i pazienti della coorte C. Dei 10 pazienti della coorte A valutabili secondo criteri RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*), 4 (40%) presentavano una risposta oggettiva, mentre il tasso di controllo della malattia (definito come la percentuale di pazienti con risposta oggettiva o con malattia stabile) era del 90%. Dei 7 pazienti della coorte C valutabili, 5 (71%) avevano una risposta oggettiva secondo i criteri RECIST, ed il tasso di controllo della malattia era del 71%. Tra i 18 pazienti della coorte B, nessuno aveva una risposta oggettiva secondo i criteri RECIST, ed il tasso di controllo della malattia era dell'11%. Nella coorte A non sono state raggiunte la mediana di PFS ed *overall survival* (OS), mentre nella coorte B la mediana di PFS era di 2,2 mesi e quella di OS di 5 mesi. Nella coorte C la mediana di PFS era di 5,4 mesi e quella di OS non è stata raggiunta. Un confronto post-hoc tra le coorti con e senza deficit del *mismatch repair* ha mostrato un *hazard ratio* per progressione ( $p < 0,001$ ) e morte ( $p = 0,05$ ) a favore dei pazienti con deficit dei sistemi di riparazione. Per valutare se le differenze nella sopravvivenza potessero essere dovute a differenze prognostiche, è stato misurato il tempo intercorso dalla diagnosi della malattia metastatica e la *performance* del regime terapeutica che i pazienti hanno ricevuto prima dell'arruolamento. Non è stata trovata differenza tra le coorti in termini di durata della malattia metastatica ( $P = 0,77$ ) o PFS media dei precedenti regimi ( $P = 0,6$ ). Inoltre, aggiustando per la potenziale differenza delle coorti in termini di tempo trascorso dalla diagnosi iniziale, l'effetto del pembrolizumab in termini di PFS e OS è rimasto significativamente superiore nei pazienti con deficit del *mismatch repair* ( $P < 0,001$  e  $P = 0,05$  rispettivamente). Gli effetti avversi di particolare interesse clinico erano rash o prurito (24%), tiroidite, ipotiroidismo o ipofisite (10%) e pancreatite asintomatica (15%). In 29 dei 32 pazienti con carcinoma coloretale l'antigene carcinoembrionario (CEA) era al di sopra dei limiti superiori di normalità. Una sostanziale riduzione dei livelli di CEA è stata riscontrata in 7 dei 10 pazienti con carcinoma coloretale con deficit di riparazione, ed in nessuno dei 19 pazienti con carcinoma coloretale e meccanismi di riparazione normali in cui i livelli di CEA erano valutabili. Tra i pazienti con altre patologie tumorali, i *marker* (CEA, CA19-9, CA-125) erano superiori ai limiti normali in 4 pazienti, ed in 3 di questi è stata rilevata una riduzione di CA19-9 o CA-125 di almeno il 70%. La riduzione del CEA dopo una dose di pembrolizumab era predittiva di PFS ( $P = 0,01$ ) e OS ( $P = 0,02$ ).

L'analisi genomica ha mostrato una media di 1.782 mutazioni somatiche per tumore nei pazienti con deficit dei meccanismi di riparazione, e 73 mutazioni per tumore nei pazienti con sistemi di riparazione efficienti ( $P = 0,007$ ). Queste mutazioni sono state poi valutate per il loro potenziale immunogeno, trovando 578 mutazioni potenzialmente associate a formazione di neo-antigeni nei tumori dei pazienti con alterazioni dei sistemi di riparazione, e solo 21 nei pazienti con sistemi di riparazioni efficienti. Un alto numero di mutazioni somatiche sono state associate con una più lunga PFS e con la risposta oggettiva.

Alla valutazione immunoistochimica le coorti A e C sono risultate avere una più alta densità di linfociti CD8+ nel tumore rispetto ai pazienti della coorte B ( $P = 0,10$ ). Inoltre, l'espressione del PD-L1 era presente solo nei pazienti con deficit del *mismatch repair*, in particolare nei linfociti infiltranti il tumore e nei macrofagi localizzati sul fronte tumorale invasivo ( $P = 0,04$ ). L'espressione del CD8 e del PD-L1 non era significativamente associata con PFS o OS.

I dati di questo piccolo studio supportano l'ipotesi che la carenza di *mismatch repair* renda i tumori più responsivi al blocco PD-1. Il deficit dei meccanismi di riparazione del DNA è riscontrato in diversi tumori, tra cui il tumore del colon-retto, il tumore dell'utero, dello stomaco, del tratto biliare, del pancreas, dell'ovaio, della prostata e del piccolo intestino (Cancer Genome Atlas Network. *Nature* 2012, 487:330-7; Maple JT et al. *Pancreatology* 2005, 5:220-7; Meltzer SJ et al. *Cancer Res* 1994, 54:3379-82; Cancer Genome Atlas Research Network. *Nature* 2013, 497:67-73; Williams AS, Huang WY. *Pathology* 2013,

45:540-52). Questa ipotesi è stata supportata dall'osservazione di una intensa infiltrazione di cellule del sistema immunitario nei tumori con deficit di *mismatch repair* (Kim H et al. *Am J Pathol* 1994, 145:148-56). Uno studio recente ha mostrato che il microambiente dei tumori con deficit di *mismatch repair* esprime diversi ligandi dei *checkpoint* immunitari, quali PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, IDO, indicando che la presenza attiva del sistema immunitario nel microambiente è bilanciata da segnali inibitori che consentono la resistenza delle cellule tumorali (Llosa NJ et al. *Cancer Discov* 2015, 5:43-51). Spiegazioni alternative che giustifichino la risposta agli anti-PD-1 nei pazienti con deficit dei sistemi di riparazione dovrebbero essere considerate. Ad esempio, differenti vie di segnalazione attivate nei due tipi tumorali potrebbero causare la secrezione di fattori solubili che comportino una diversa attivazione delle vie PD-1 nel microambiente tumorale (Boland CR, Goel A. *Gastroenterology* 2010, 138:2073-87; Yamamoto H et al. *J Gastroenterol* 2002, 37:153-63).

In conclusione, questo studio supporta l'ipotesi che i tumori con deficit del *mismatch repair* siano più responsivi al blocco PD-1. Inoltre, mostra un approccio terapeutico basato sullo status mutazionale a prescindere dal tipo di tumore sottostante.

**Parole chiave:** tumori metastatici, pembrolizumab, *Mismatch-Repair*

#### Riferimenti bibliografici

[Le DT](#) et al. *N Engl J Med*. 2015 May 30. [Epub ahead of print].

## L'ANALISI INTEGRATA DEL NUMERO DI COPIE E DI ESPRESSIONE GENICA IDENTIFICA I PROFILI DELLE ALTERAZIONI DI INTERI BRACCI DI CROMOSOMI E I SOTTOGRUPPI CON ESITO CLINICO FAVOREVOLE NEI CARCINOMI DELLE CELLULE CHIARE OVARICHE

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il cancro all'epitelio ovarico è una delle principali cause di morte fra le patologie del sistema genitale, è caratterizzato da frequenza relativamente elevata e bassi tassi di sopravvivenza, e può essere classificato in 4 sottotipi istologici: il carcinoma sieroso (SC), quello mucoso (MC), quello endometrioso (EC) e quello delle cellule chiare (CCC). Il carcinoma sieroso di alto grado (Hg) è caratterizzato da un'alta frequenza di mutazioni sul *TP53*, mutazioni statisticamente ricorrenti degli altri geni tumori soppressori (*NF1*, *RBI* e *BRCA 1/2*) e alterazioni nel numero delle copie (CNA) in locus specifici. L'inattivazione del *TP53* induce instabilità cromosomale e CNA focali. Il CCC è la seconda causa di morte fra i tumori ovarici e la sua tumorigenesi consiste in un'iniziale endometriosi, che si evolve attraverso un' endometriosi atipica o adenofibroma, e si conclude con la fase del carcinoma vero e proprio. In questo studio, gli autori si sono focalizzati sui tratti distintivi del carcinoma delle cellule chiare, confrontandolo con SC ed EC. Sono stati utilizzati i dati provenienti dagli arrays dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) e delle espressioni geniche in modo da caratterizzare il profilo genomico di CCC per poter meglio esplorare le sue caratteristiche intrinseche.

Lo studio si è basato sui campioni provenienti dalle biopsie di 80 pazienti, 57 analizzate per il numero di copie, 55 per i saggi di espressione genica e, quindi, 32 presentanti la sovrapposizione di questi due fattori. In questa corte sono state inserite solo pazienti con alto grado di tumore sieroso. A tutte le pazienti è stato fatto un intervento primario, quelle con grado da I a IV hanno ricevuto da 6 a 8 cicli di chemioterapia adiuvante (*paclitaxel* e *carboplatino*), e la chemiosensibilità è stata misurata nelle pazienti con residui o ricadute apprezzabili.

I saggi per l'analisi degli SNPs sono stati eseguiti accoppiando il DNA tumorale di 57 pazienti con un DNA sano usando un array GeneChi Human Mapping 250K Nsp (Affymetrix). I campioni provenivano da 31 CCC, 12 EC e 14 Hg-SC e la durata media dei follow-up è stata di 36 mesi. L'analisi completa degli squilibri genici ha permesso di definire un valore di instabilità cromosomale (CIN) basandosi sulla distribuzione dei bracci di cromosomi presentanti un numero di copie alterate che ha portato alla suddivisione dei campioni in sottogruppi: CIN-alto ( $\geq 9$  bracci coinvolti da CNAs), CIN-basso (1-8 bracci con CNAs), e CIN-negativo (0

CNAs). Il valore di CIN-alto è assai frequente fra i tumori sierosi (86%), mentre fra i CCC occupa il 23% e negli EC rappresenta il 50%. Gli autori hanno poi classificato i pazienti mediante cluster gerarchici dei genotipi basati sulle distanze euclidee istituendo il Tipo A (21 campioni) caratterizzato da ampio range e bassa frequenza di CNAs, Tipo B (16) con range ampio e frequenza medio-alta di CNAs, e Tipo C (16) con range focale e alta frequenza di CNAs. Ventisei su 31 CCCs (84%) sono di tipo A/B, 5 su 14 SCs (36%) sono di tipo A/B e anche 8 su 12 di ECs (67%).

Per analizzare il profilo di espressione nei tre diversi sottotipi istologici del tumore ovarico, sono stati improntati arrays di profiling dell'espressione genica in 55 carcinomi ovarici. Sono stati creati dei cluster gerarchici che hanno permesso di distinguere 3 sottotipi con un grado elevato di differenze in termini di struttura molecolare. Il Cluster A è ricco di CCCs (19/21, 90%), il Cluster B di ECs (7/12, 58%), il C di SCs (12/22, 55%). In 20 pazienti con ricadute misurabili, il valore di risposta globale alla terapia platino-taxani è stata del 17% nel cluster A, significativamente inferiore rispetto ai cluster B e C. L'endometriosi è risultata molto più comune fra i pazienti del cluster A (76%) rispetto al B (33%) e al C (14%). I geni dei *pathway* dei fattori inducibili di ipossia e quelli nucleari negli epatociti (HFI-1 e HNF-1beta) sono sovraespressi nel cluster A, mentre i geni del *pathway* del p53 sono spesso deregolati nei tumori del cluster C.

La sopravvivenza priva di progressione (PFS) non è risultata significativamente differente fra i sottogruppi CIN-alto e CIN-basso. I 25 CCCs, classificati principalmente come CIN-alto, sono stati poi suddivisi in classi gerarchiche tramite specifiche sonde: CCC-1 (9, 36%), CCC-2 (10, 40%) e CCC-3 (6, 24%). È risultato che il CCC-2 presenta una PSF significativamente migliore rispetto agli altri due sottogruppi, la PFS dei 3 anni è al 100% in questo cluster, contro il 60% degli altri due.

Le alterazioni in PIK3CA sono state riscontrate nel 64% (14/22) dei CCCs, e la perdita dell'espressione di ARID1A è stata vista nel 52% dei casi (11/21). Alterazioni coincidenti di questi due geni sono state trovate nei clusters CCC-1 e 3 (7/11, 67%) ma non in CCC-2; inoltre, i clusters 1 e 2 presentano simili PFS. Tutti e tre i pazienti con recidive appartenenti al CCC-1 si sono rivelati resistenti al trattamento chemioterapico a base di platino, e solo i pazienti del cluster CCC-2 sono stati associati ad una prognosi favorevole. I cluster gerarchici dei carcinomi dei 55 campioni analizzati con i *microarrays* hanno dimostrato una caratterizzazione dipendente dal loro istotipo.

In conclusione, in questo studio è stato mostrato come il carcinoma ovarico a cellule chiare sia molto più incline a presentare CNAs ad intero braccio, mentre in SC le CNA erano soprattutto focali e determinanti l'inattivazione di importanti geni oncosoppressori (BCRA1/2, TP53, RB1 e NF1). Gli autori hanno stabilito che il CCC può essere suddiviso in base al suo profilo di espressione genica, che può essere associato a chemioresistenza e prognosi infausta.

Questo studio presenta notevoli limitazioni, incluso il numero minimo di campioni analizzati e una focalizzazione sulle mutazioni del gene PIK3CA. Anche se il numero di CCC era limitato, si potrebbe fare una cauta ipotesi sul fatto che sia necessario interpretare l'impatto prognostico dei sottogruppi di CCC.

**Parole chiave:** CCC, SNPs, tumore ovarico

#### Riferimento bibliografico

[Uehara Y et al. PLoS One 2015, 10\(6\): e0128066](#)

## ASSOCIAZIONE DEI LIVELLI PLASMATICI DI AR E DEL NUMERO DI COPIE DEL CYP17A1 CON L'OUTCOME DI PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE METASTATICO DELLA PROSTATA RESISTENTE ALLA CASTRAZIONE TRATTATI CON ABIRATERONE

A cura delle Dott.sse Valentina Citi e Marzia Del Re

La maggior parte dei pazienti con recidiva da tumore della prostata sono trattati con terapie di privazione androgenica e, nonostante una risposta iniziale, vanno incontro a progressione dopo circa 2-3 anni di trattamento. Il meccanismo attraverso il quale il tumore acquisisce resistenza alla castrazione non è ancora chiaro, ma recenti studi hanno dimostrato che anche bassi livelli di testosterone possono attivare il recettore

degli androgeni (AR). L' abiraterone è un inibitore selettivo del citocromo P450 17  $\alpha$ -idrolasi (CYP17A1) e blocca la sintesi degli androgeni nelle ghiandole surrenali, nei testicoli e nel tessuto tumorale. Uno studio randomizzato di fase III che confrontava abiraterone vs placebo in pazienti affetti da tumore metastatico della prostata castrazione-resistente (CRPC) precedentemente trattati con docetaxel ha mostrato un significativo aumento della PFS e della OS portando a un uso su larga scala dell'abiraterone. CYP17A1 e AR sembrano essere i principali protagonisti nella cascata del segnale androgenico coinvolto nella comparsa di resistenza acquisita al trattamento con abiraterone: l'enzima è il target specifico del farmaco e catalizza le reazioni chiave nelle biosintesi degli ormoni sessuali. La sua maggiore espressione nel tessuto tumorale è stata rilevata nel tessuto biotico di pazienti trattati con abiraterone, suggerendo che una elevata espressione dell'enzima potrebbe rivestire un ruolo importante nell' acquisizione di resistenza secondaria. AR è frequentemente amplificato nel tessuto tumorale prostatico e correla con un'alta espressione proteica suggerendo un ulteriore meccanismo di resistenza al trattamento con abiraterone. Il ruolo di questi geni come potenziali biomarkers circolanti non è ancora stato esplorato e in questo studio gli autori analizzano le variazioni del *copy number* (CNVs) del gene CYP17A1 e del gene AR nel DNA circolante di pazienti affetti da CRPC trattati con abiraterone. Inoltre i dati ottenuti sono stati correlati con l'*outcome* clinico.

I criteri di inclusione prevedevano livelli sierici basali di testosterone < 50ng/ml; performance status < 2; funzione cardiaca, epatica, renale e midollare adeguate. Sono stati inclusi 53 pazienti (età media 74 anni) affetti da CRPC metastatico con PSA medio 33ng/ml precedentemente trattati con docetaxel. I campioni di plasma sono stati raccolti al basale, prima dell'inizio della terapia con abiraterone ed è stato analizzato il CNVs sia per il gene AR sia per il gene CYP17A1. La concentrazione media del DNA estratto usando QIAamp DNA Mini kit è stata di 6,8 ng/ $\mu$ l (range: 2,5 – 14,3 ng/ $\mu$ l). AR è risultato aumentato in 16 casi, CYP17A1 in 15 casi mentre in 10 casi è stato rilevato un aumento di entrambe i geni. I dati sono stati validati tramite l'utilizzo della Digital Droplet PCR e i risultati confrontati con 40 soggetti sani.

La PFS e l'OS media per la totalità dei pazienti sono di rispettivamente di 6,8 mesi (95% CI: 4.6 – 9.7) e di 17,6 mesi (95% CI: 10.8 – 21.9); la PFS per i pazienti con CNV-AR incrementato vs CNV-AR normale è di 2,8 mesi (95% CI: 2.2 – 5.6) vs 9.2 mesi (95% CI: 6.7 – 12.7). Risultati simili sono stati ottenuti confrontando CNV-CYP17A1 elevato vs CNV-CYP17A1 normale in cui la PFS è rispettivamente di 2.8 mesi (95% CI: 0.9 – 4.3) vs 9.2 mesi (95% CI: 6.6 – 12.7). Considerando i CNVs dei due geni insieme, la differenza in PFS dei pazienti con CNVs elevati vs CNVs normali aumenta: 2,5 mesi (95% CI: 0.3 – 2.9) vs 10.1 mesi (95% CI: 6.7 – 12.7) rispettivamente.

L'OS media dei pazienti con CNV-AR elevato vs CNV-AR normale è di 5,0 mesi (95% CI: 2.7 – 12.3) vs 21.9 mesi (95% CI: 14.4 – NR); pazienti con CNV-CYP17A1 incrementato vs CNV-CYP17A1 normale mostrano una OS media di 4.3 mesi (95% CI: 1.8 – 18.6) vs 19.0 mesi (95% CI: 12.2 – NR). Considerando i CNVs dei due geni insieme, la differenza in OS dei pazienti con CNVs incrementati vs CNVs normali aumenta: 2,9 mesi (95% CI: 0.8 – 12.3) vs 21.9 mesi (95% CI: 14.4 – NR) rispettivamente

In questo studio è stata messa in evidenza una significativa correlazione tra i CNVs del gene AR e del gene CYP17A1 e l'*outcome* clinico di pazienti affetti da CRPC trattati con abiraterone. La maggior parte dei pazienti con elevati livelli di CNVs dei due geni mostra una progressione di malattia entro 4 mesi dall'inizio del trattamento con abiraterone, indicando un valore predittivo di resistenza precoce alla terapia. Inoltre gli elevati livelli di CNVs dei due geni sono correlati con una minore PFS ed OS.

Il principale limite di questo studio è un campione di pazienti limitato, ma i primi risultati sembrano ipotizzare un valore predittivo del *copy number* dei geni AR e CYP17A1 su biopsia liquida, aspetto di rilevante importanza in quanto permetterebbe di eliminare il bisogno dell'esame biotico in siti metastatici difficili da raggiungere.

**Parole chiave:** tumore della prostata resistente alla castrazione, DNA tumorale circolante, *copy number variation*, AR, CYP17A1

**Riferimento bibliografico:**

[Salvi S](#) et al. *Br J Cancer* 2015, 112(10):1717-24.

## NEUROLOGIA

### ANALISI DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE* DELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON INIBITORI DELLA RICAPTAZIONE DELLA SEROTONINA IN PAZIENTI AFFETTI DA DISTURBO OSSESSIVO-COMPULSIVO

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

L'1-3% circa della popolazione degli Stati Uniti d'America è affetta da disturbo ossessivo-compulsivo (DOC), un disordine di natura neuropsichiatrica caratterizzato da sintomi invalidanti quali ossessioni ricorrenti e/o compulsioni. Analogamente al disturbo depressivo, nei pazienti affetti da DOC si evidenzia una riduzione dei livelli cerebrali di serotonina. Per questa ragione, gli inibitori della ricaptazione della serotonina (SRIs) rappresentano i farmaci di prima linea per il trattamento farmacologico del DOC. Tale classe di farmaci agisce aumentando i livelli di serotonina nello spazio sinaptico tramite inibizione del reuptake del neurotrasmettitore nel neurone presinaptico. Tuttavia, dalla pratica clinica emerge come oltre il 30% dei soggetti in terapia con SRIs risulti non rispondere al trattamento. Ad oggi, non è noto il ruolo della componente genetica individuale nell'influenzare la variabilità nella risposta alla terapia con SRIs. Evidenze di letteratura suggeriscono una potenziale correlazione tra varianti nei geni SLC6A4, CYP2D6, SLC1A1 e 5-HT2A e la risposta alla terapia con SRIs in pazienti affetti da DOC. Si tratta, tuttavia, di correlazioni emerse da studi di associazione per geni candidati condotti in coorti di pazienti di numerosità limitata. Obiettivo di questo studio è stato quello di identificare, con un approccio *genome-wide*, il potenziale impatto della variabilità genetica individuale nella risposta al trattamento con SRIs in un'ampia coorte di pazienti affetti da OCD.

Lo studio di associazione *genome-wide* (GWAS) è stato condotto su una coorte di pazienti affetti da OCD arruolati per lo studio *OCD Collaborative Genetics Association Study* (OC GAS). La diagnosi di OCD è stata posta tramite le scale di valutazione "Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale OCD symptom checklist" e "Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale OCD severity scale". Sono stati raccolti dati clinici relativi alla durata del trattamento con SRIs (clomipramina, citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamin, paroxetina, sertralina, venlafaxina e duloxetina), massimo dosaggio assunto e risposta al/ai farmaco/i assunto/i. La risposta al trattamento farmacologico con SRIs è stata misurata attraverso una scala a 5 punti, utilizzando le definizioni di "nessuna risposta", "farmaco non tollerato", "risposta minima alla terapia", "moderato miglioramento della malattia" e "totale remissione dalla malattia". Per la seguente analisi, la risposta al trattamento con SRIs è stata dicotomizzata a "risposta positiva al trattamento" ("moderato miglioramento della malattia" o "totale remissione dalla malattia") e "risposta negativa alla terapia" ("nessuna risposta" o "risposta minima alla terapia"). I pazienti non tolleranti agli SRIs e quelli per cui il dato sulla risposta era mancante sono stati esclusi dall'analisi. Il DNA dei soggetti arruolati è stato estratto da campioni di sangue periferico. La genotipizzazione è stata effettuata per 730525 SNPs tramite piattaforma Illumina HumanOmniExpress-12v1.

Un totale di 804 soggetti caratterizzati in maniera esaustiva per la risposta al trattamento con SRIs sono stati inclusi nello studio (514 *responders* e 290 *non responders* al trattamento). Dopo controllo di qualità, 597847 dei 730525 SNPs genotipizzati sono stati inseriti nell'analisi di associazione *genome-wide*. Il livello di significatività statistica *genome-wide* è stato quindi fissato a  $P=8.36 \times 10^{-8}$ . Solo lo SNP rs17162912 del gene DISP1 è risultato essere statisticamente associato alla risposta al trattamento con SRIs nella suddetta coorte di pazienti affetti da OCD ( $P=1.76 \times 10^{-8}$ ; OR: 0.39, 95% CI 0.26-0.58). Oltre a tale variante, altri 6 SNPs sono risultati essere associati alla risposta a SRIs ad un livello di significatività statistica prossimo a quello *genome-wide* ( $P < 10^{-5}$ ). Tra queste varianti, gli SNPs rs7676822 e rs1911877 (rispettivamente:  $P=2.86 \times 10^{-6}$ , OR: 0.65, 95% CI 0.51-0.83;  $P=8.41 \times 10^{-6}$ , OR: 0.66, 95% CI 0.52-0.84) risultano essere localizzate vicino al gene PCDH10, appartenente alla famiglia dei geni codificanti per le protocaderine. Infine, ulteriori 35 SNPs sono emersi come potenzialmente associati alla risposta al trattamento con SRIs, mostrando un P value di associazione statistica inferiore a  $P=10^{-4}$ .

Lo SNP emerso dall'analisi di associazione *genome-wide* è la variante rs17162912, localizzata in prossimità del promotore del gene DISP1. Nello specifico, il gene DISP1 codifica per una proteina trans-membrana a 12 domini cruciale per il contatto cellula-cellula e per lo sviluppo del midollo spinale. Tale gene risiede nel locus 1q41-q42, noto per presentare una microdelezione associata ad una sindrome caratterizzata da ritardo mentale, disturbi comportamentali, convulsioni e caratteristiche dismorfiche. Le varianti rs7676822 e rs1911877, emerse come potenzialmente associate alla risposta a SRI, sono invece localizzate in prossimità del gene PCDH10 che codifica per le protocaderine. Tali proteine risultano essere prevalentemente espresse nel sistema nervoso centrale e sembrano avere un ruolo chiave nel mantenimento della funzionalità sinaptica e della connessione cellula-cellula. Numerosi studi GWAS hanno inoltre identificato potenziali associazioni tra diversi geni appartenenti alla famiglia dei PCDH e l'insorgenza di malattie neuropsichiatriche, tra cui l'autismo, il disturbo bipolare e la schizofrenia. Nel complesso queste evidenze suggeriscono quindi come le proteine coinvolte nei meccanismi di contatto cellula-cellula possano essere implicate nella risposta al trattamento con SRI. Tuttavia, sono necessari studi mirati a definire il possibile meccanismo biologico alla base di questa correlazione. *Limiti dello studio*: i) la valutazione della risposta al trattamento con SRI è stata condotta con la metodologia del "self report retrospettivo"; ii) si evidenzia una mancanza di informazioni dettagliate relative al dosaggio e alla durata della terapia con SRI; iii) essendo difficile raccogliere informazioni esaustive sulla risposta al trattamento con SRI, il numero dei pazienti inclusi nello studio GWAS è limitato. Al fine di validare le associazioni ivi riscontrate, si rendono pertanto necessari ulteriori studi condotti su ampie coorti di pazienti affetti da DOC per i quali siano disponibili informazioni più dettagliate sul dosaggio e sulla durata del trattamento con SRI.

La variante rs17162912 del gene DISP1 è associata alla risposta al trattamento con SRI in pazienti affetti da disturbo ossessivo-compulsivo.

**Parole chiave:** SRI, disturbo ossessivo-compulsivo, DISP1

#### Riferimento bibliografico

[Qin H](#) et al. *Mol Psychiatry* 2015 Mar 31 [Epub ahead of print].

## **LPHN3 E DISTURBO DA DEFICIT DI ATTENZIONE/IPERATTIVITÀ: UNO STUDIO DI SUSCETTIBILITÀ E FARMACOGENETICA**

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività (ADHD) è un disturbo del neurosviluppo caratterizzato da pattern di disattenzione, iperattività-impulsività o entrambe, persistenti e inappropriati per l'età. L'ADHD è un disturbo complesso e, sebbene i fattori ambientali giochino un ruolo importante, l'ereditarietà è stata stimata essere intorno al 76%. Il metilfenidato (MPH) è il trattamento di prima linea, essendo efficace nel 70% dei pazienti, sebbene esista una considerevole variabilità interindividuale nella risposta. Sulla base della sua azione sul sistema dopaminergico, i primi studi di farmacogenetica della terapia con MPH hanno valutato l'effetto di varianti dei geni *DAT1* e *DRD4*, con risultati incerti. Recentemente è stato suggerito che varianti del gene latrophilin 3 (*LPHN3*) abbiano un ruolo nel mediare la suscettibilità allo sviluppo dell'ADHD e la risposta all'MPH. *LPHN3* è un membro, specifico del cervello, della sottofamiglia dei recettori G-protein-coupled *LPHN* ed è implicato nella regolazione dell'esocitosi dei neurotrasmettitori e nello sviluppo sinaptico. Alcuni studi hanno suggerito che l'interazione tra varianti del gene *LPHN3* e altri geni localizzati nella regione 11q aumentino il potere predittivo della diagnosi di ADHD e della risposta al farmaco.

Sulla base di queste evidenze, gli autori dello studio hanno valutato l'associazione tra cinque polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) del gene *LPHN3* e la diagnosi di ADHD in un campione brasiliano di 523 bambini e adolescenti con ADHD e 132 controlli sani. Inoltre, gli autori hanno valutato l'associazione tra gli SNPs selezionati e la risposta all'MPH in un sottocampione di 172 pazienti. I criteri di inclusione per lo studio di farmacogenetica erano: diagnosi di ADHD in accordo con i criteri del DSM-IV, età compresa tra 4 e 17 anni, MPH naive e prescrizione di MPH a un dosaggio  $\geq 0.3$  mg/Kg/die. La valutazione dei sintomi tramite la

scala Swanson, Nolan and Pellam Scale - version IV (SNAP-IV) è stata effettuata prima dell'inizio della terapia, dopo un mese e dopo tre mesi di trattamento con MPH. La dose di MPH è stata aumentata fino alla scomparsa di ulteriori miglioramenti o allo sviluppo di eventi avversi. In base alla letteratura sono stati selezionati gli SNPs rs6551665, rs1947275, rs6813183, rs1355368 e rs734644 del gene *LPHN3* e gli SNPs rs754672 e rs965560 localizzati a livello della regione 11q. Gli SNPs sono stati genotipizzati tramite metodo Taqman su DNA estratto da linfociti. L'impatto funzionale degli SNPs è stato valutato tramite un'analisi *in silico* condotta mediante i database F-SNP e SNPinfo-FuncPred. L'effetto dei differenti genotipi sulla risposta al trattamento nel tempo è stato valutato utilizzando un modello *mixed-effects*.

Gli SNPs del gene *LPHN3* sono risultati ricadere in due blocchi aploipici: blocco 1 (rs6551665 e rs1947265) e blocco 2 (rs6813183, rs1355368 e rs734644). Ciascun blocco aploipico è stato analizzato separatamente per osservare il suo effetto sulla risposta nel tempo. Gli aplotipi del blocco 2 sono risultati associati con la diagnosi di ADHD (p-value globale = 0.002). In particolare, lo studio ha confermato l'associazione dell'aplotipo CGC con la diagnosi di ADHD, come già riportato in letteratura. Inoltre, lo studio ha mostrato nell'analisi relativa al blocco 1 un'interazione tra l'aplotipo GT e la risposta al trattamento nel tempo (p = 0.04). Seppure il risultato non si mantenga significativo dopo correzione di Bonferroni, il modello suggerisce che i pazienti omogizoti per l'aplotipo GT mostrino una risposta più rapida al trattamento con MPH, con un effetto particolarmente marcato nel primo mese di terapia. L'analisi relativa al blocco 2 ha mostrato un'interazione significativa tra l'aplotipo CGC e la risposta al trattamento nel tempo (p < 0.001). Anche in questo caso, i pazienti omogizoti per l'aplotipo CGC mostravano una risposta più rapida all'MPH, in particolare nel primo mese. L'analisi *in silico* ha suggerito un possibile ruolo funzionale nella regolazione dello *splicing* soltanto per lo SNP rs734644 del blocco 2.

Il risultato principale di questo studio è quindi l'associazione tra l'aplotipo CGC del gene *LPHN3* e il miglioramento dei sintomi dell'ADHD dopo trattamento con MPH. Tra i maggiori limiti dello studio vi sono la sample size limitata, la mancanza di un gruppo di controllo e di misurazioni delle concentrazioni plasmatiche dell'MPH nei pazienti.

In conclusione, lo studio conferma tramite un'analisi aploipica il dato già suggerito in letteratura di un effetto del gene *LPHN3* nel conferire suscettibilità allo sviluppo dell'ADHD e nel moderare la risposta al trattamento con MPH.

**Parole chiave:** metilfenidato, ADHD, *LPHN3*

#### Riferimento bibliografico

[Bruxel EM](#) et al. *Genes Brain Behav* 2015, 14(5):419-27.

## VARIANTI GENETICHE DI *ATPIA3*, MA NON DI *ATPIA2*, SONO ASSOCIATE ALLE EPILESSIE GENERALIZZATE GENETICHE NELLA POPOLAZIONE CINESE

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'epilessia è una malattia neurologica cronica che causa un'attività elettrica anomala nell'encefalo, che a sua volta si manifesta con movimenti involontari o alterazioni sensitive e comportamentali. Lo 0.3% della popolazione è affetta da epilessie generalizzate genetiche (*genetic generalized epilepsies*, GGE), rappresentando circa il 30% di tutti i pazienti che soffrono di epilessia. Si ritiene che le GGE siano poligeniche e comprendono l'epilessia infantile con assenze (*childhood absence epilepsy*, CAE), l'epilessia giovanile con assenze (*juvenile absence epilepsy*, JAE), l'epilessia mioclonica giovanile (*juvenile myoclonic epilepsy*, JME) e l'epilessia generalizzata tonico-clonica (*epilepsy with generalized tonic-clonic seizures*, EGTCs). Attualmente si ritiene che la maggior parte dei geni coinvolti nell'epilessia codifichi per i canali ionici *voltage-gated* o *ligand-gated*, come ad esempio *SCN1A*, *KCNQ2*, *CHRNA4*, *GABRA1* e *GRIN2A*. I geni *ATPIA1*, *ATPIA2* e *ATPIA3* codificano per le subunità catalitiche delle Na/K-ATPasi che idrolizzano l'ATP per guidare il trasporto del potassio nelle cellule e del sodio fuori dalle cellule. È stato riportato che mutazioni del gene *ATPIA2* sono associate alle convulsioni febbrili nella cefalea emiplegica familiare e nella cefalea emiplegica con epilessia. Mutazioni del gene *ATPIA2* potrebbero alterare il ruolo dell'enzima

ATPasi nella regolazione del potenziale di membrana, e quindi del *firing* neuronale, inducendo le crisi convulsive.

Un terzo dei pazienti epilettici continua a manifestare crisi convulsive nonostante un regime ottimale di trattamento, in mono o politerapia. I meccanismi che sono alla base della farmacoresistenza rimangono a tutt'oggi sconosciuti. I gradienti cellulari di Na e K sono determinati dall'attività delle Na/K-ATPasi e facilitano la generazione dei potenziali d'azione influenzando così il rilascio e la ricaptazione dei neurotrasmettitori. Pertanto, le Na/K-ATPasi stabiliscono ed influenzano lo stato elettrofisiologico basale della cellula nervosa che può quindi rispondere in maniera diversa ai farmaci antiepilettici. Gli Autori del presente studio ipotizzano che mutazioni nei geni *ATPIA2* o *ATPIA3*, che determinano disfunzioni delle Na/K-ATPasi, possano alterare gli stati elettrofisiologici basali dei neuroni e quindi essere responsabili della mancanza di efficacia dei farmaci antiepilettici. Lo scopo del presente studio è analizzare sei SNPs di *ATPIA2* e due di *ATPIA3* in 484 pazienti Cinesi con GGE e 284 controlli sani per investigare il coinvolgimento di tali geni nell'eziologia delle GGE e nella farmacoresistenza.

I pazienti con GGE includevano 185 pazienti con CAE, 95 con JAE, 124 con JME e 80 con EGTCs. La diagnosi di GGE è stata effettuata in accordo con la classificazione delle epilessie e delle sindrome epilettiche della *International League Against Epilepsy*. Criteri di esclusione: scarsa *compliance* agli antiepilettici, mancanza o inattendibile registrazione della frequenza degli episodi convulsivi, storia di abuso di farmaci o sostanze, gravi reazioni avverse ai farmaci, presenza di malattie neurologiche progressive o degenerative, di malattie sistemiche, epatiche o renali.

I pazienti sono stati considerati responsivi ai farmaci in assenza di crisi convulsive per almeno 1 anno dopo l'inizio dell'assunzione di antiepilettici; la farmacoresistenza è stata definita come 4 o più crisi convulsive nell'anno precedente durante il quale il paziente assumeva almeno 3 farmaci antiepilettici alle massime dosi tollerate.

La genotipizzazione degli 8 SNPs è stata effettuata tramite *massArray* (Sequenom, San Diego, CA) via *allele-specific MALDI-TOF mass spectrometry*.

Nel presente studio sono stati reclutati 484 pazienti cinesi con GGE (296 maschi, 188 femmine, età media di  $18.3 \pm 12.1$  anni) e 284 controlli sani (180 maschi, 104 femmine, età media di  $18.6 \pm 12.2$  anni). Tra i pazienti epilettici sono stati osservati i seguenti sottotipi di epilessia: CAE (38.3%), JAE (19.6%), JME (25.6%) e EGTCs (16.5%).

I risultati hanno mostrato che il genotipo *ATPIA3* rs8107107 era associato alle GGE nella popolazione Cinese esaminata. La frequenza dell'allele rs8107107 C era significativamente più bassa nella popolazione Cinese con GGE rispetto ai controlli sani (11% vs. 15%, OR = 0.807 (0.678-0.960),  $p=0.021$ ). Inoltre vi era una differenza significativa nella frequenza del genotipo CC tra i due gruppi (0.4% vs. 3.2%, OR= 0.121 (0.026–0.565),  $p=0.002$ ). Nessuna differenza è stata osservata nelle frequenze alleliche o genotipiche degli altri SNPs dei geni *ATPIA2* e *ATPIA3* tra i pazienti con GGE e i controlli sani.

Analizzando le relazioni tra i differenti sottotipi di GGE e gli SNPs analizzati è emerso che il genotipo *ATPIA3* rs8107107 CT+CC era associato con EGTCs ( $p=0.001$ ).

Non sono state rilevate differenze significative nelle frequenze degli SNPs analizzati tra il gruppo dei pazienti farmacoresistenti e quello dei pazienti responsivi ai farmaci.

Il presente studio per la prima volta dimostra che il polimorfismo *ATPIA3* rs8107107 è associato alla suscettibilità alle GGE nella popolazione Cinese e che il genotipo *ATPIA3* rs8107107 CT+CC è associato a EGTCs. Non sono state osservate associazioni tra gli SNPs e gli altri sottotipi di GGE, probabilmente a causa del fatto che, dopo la classificazione e suddivisione in sottotipi, la dimensione del campione di ogni sottotipo era piccola, cosa che potrebbe aver influenzato l'analisi statistica. Pertanto, saranno necessari studi su campioni di maggiori dimensioni. Il presente studio ha diverse limitazioni: a tutt'oggi non ci sono standard ottimali per la classificazione dei pazienti o per la classificazione di precisi fenotipi. Inoltre, il complesso utilizzo dei farmaci antiepilettici per i differenti sottotipi di epilessia probabilmente inficia la definizione di efficacia farmacologica. E' possibile che alcuni pazienti siano stati impropriamente etichettati come farmacoresistenti a causa di una scarsa aderenza al regime terapeutico. Inoltre, la dimensione del campione di questo studio era limitato.

In conclusione, il presente studio dimostra una significativa associazione tra il polimorfismo *ATPIA3* rs8107107 e le epilessie generalizzate genetiche nella popolazione Cinese, ed in particolare l'epilessia generalizzata tonico-clonica. I polimorfismi considerati di *ATPIA2* e *ATPIA3* non sono invece risultati associati alla farmacoresistenza in questo studio.

**Parole chiave:** epilessie generalizzate genetiche, *ATPIA2*, *ATPIA3*, polimorfismo, farmaci antiepilettici

#### Riferimento bibliografico

Qu J et al. *J Neurol Sci* 2015; 15:56-62.

## LA METANALISI DEL MESE

### INFLUENZA DEL POLIMORFISMO *HER2 ILE655VAL* SUL RISCHIO DI CARDIOTOSSICITÀ INDOTTA DA TRASTUZUMAB IN PAZIENTI CON TUMORE DELLA MAMMELLA *HER2-POSITIVO*: UNA META-ANALISI

A cura del Dott. Vittorio Simeon

*HER2* (*ERRBB-2*, neu) è un proto-oncogene over-espresso in circa il 15-20% di tutti i tumori della mammella. L'over-espressione di questo proto-oncogene può essere predittiva di un esito sfavorevole, con aumento d'incidenza di metastasi, minore sopravvivenza libera da malattia e generale. L'utilizzo del trastuzumab (herceptin), anticorpo monoclonale anti-*HER2*, ha indubbiamente migliorato il trattamento del cancro della mammella, tuttavia i trial clinici condotti hanno mostrato una cardi tossicità indotta da questo farmaco. Circa il 20-33% dei pazienti in terapia con trastuzumab manifesta cardi tossicità, un range così ampio di percentuale è dovuto alla differenza di definizione di evento cardiaco e di regime terapeutico utilizzato. La percentuale dei pazienti con cardi tossicità aumenta quando il trastuzumab è assunto in combinazione con antracicline. La cardi tossicità può essere classificata in due modi: di *tipo I*, con morte cellulare e con reazione irreversibile, e di *tipo II*, senza morte cellulare e di tipo reversibile. La reazione di *tipo I* è associata principalmente alla terapia con antracicline. Sono stati proposti numerosi meccanismi molecolari per spiegare questo evento avverso legato al trastuzumab. Questo anticorpo monoclonale è in grado di indurre una citotossicità anticorpo e complemento dipendente che, di conseguenza, può indurre un aumento della cardi tossicità. In più, sono numerose le evidenze sperimentali che supportano un ruolo del signaling di *HER2* nelle cardiomiopatie.

Al momento non esistono biomarcatori specifici, validati nella pratica clinica, per l'individuazione precoce della cardi tossicità indotta da trastuzumab. Tra le varianti genetiche germinali, il polimorfismo rs1136201 (655 A>G, Ile/Val) del gene *HER2* sembra essere associato a un elevato rischio di tumore della mammella. La presenza di questo polimorfismo potrebbe inoltre rendere i cardiomiociti particolarmente dipendenti al signaling di *HER2* e molto sensibili al trastuzumab.

Scopo del lavoro pubblicato su *Pharmacogenetics and Genomics* da Gómez Peña C e colleghi, è stato di confermare l'associazione di questo polimorfismo con la cardi tossicità indotta da trastuzumab in una coorte indipendente di pazienti con cancro della mammella *HER2* positivo e, inoltre, di validare tale associazione conducendo una meta-analisi degli studi pubblicati in precedenza.

Lo studio è stato condotto su 78 pazienti reclutati presso il San Cecilio University Hospital di Granada e Torrecàrdena Hospital di Almería. Il Trastuzumab è stato somministrato per via endovenosa, alla dose iniziale di 8 mg/kg ed alla dose di mantenimento di 6 mg/kg ogni 3 settimane.

I pazienti arruolabili dovevano presentare al baseline una frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF) maggiore del 55%, tale misurazione è stata eseguita anche a 3, 6, 9 e 12 mesi dalla prima somministrazione. Durante il trattamento, la tossicità cardiaca è stata definita come: 1) riduzione del 10% della LVEF misurata al baseline, con una LVEF al follow-up minore del 50%; 2) riduzione del 15% della LVEF misurata al baseline; 3) qualsiasi diminuzione con una LVEF finale risultante minore del 45%. Il polimorfismo

rs1136201 è stato analizzato con saggio di discriminazione allelica Taqman. La frequenza del genotipo è stata testata per l'equilibrio di Hardy-Weinberg ( $P=0.52$ ). È stato utilizzato un modello di regressione logistica, con differenti modelli genetici, per valutare l'associazione tra tossicità cardiaca e il genotipo. Il polimorfismo rs1136201 era associato significativamente al rischio di tossicità cardiaca e nello specifico, indicando il polimorfismo AA come riferimento, nei vari modelli: AG vs AA (OR 3.88, 95% CI 1.20 - 12.57,  $P=0.024$ ), AG+GG vs AA (OR 3.47, 95% CI 1.09 - 11.13,  $P=0.036$ ), e il modello di sovradominanza AG vs AA+GG (OR 4.06, 95% CI 1.25 - 13.12,  $P=0.019$ ). Dopo aver aggiustato per menopausa e trattamento con antracicline al baseline, l'associazione di questo polimorfismo era rafforzata dal punto di vista statistico.

Dopo aver analizzato la propria popolazione, gli autori hanno considerato alcuni studi precedentemente pubblicati per effettuare una meta-analisi. Sono stati utilizzati i seguenti termini per la ricerca su PubMed: trastuzumab, tossicità cardiaca e polimorfismi a singolo nucleotide. Sono stati presi in considerazione altri tre studi (Beauclair S et al., 2010; Lemieux J et al., 2013; Roca L et al., 2013), e il test di Breslow-Day non mostrava alcuna eterogeneità tra gli studi in analisi ( $p=0.5$ ), compreso quello di *Gómez Peña C e colleghi*. Nell'analisi raggruppata, indicando il genotipo AA come gruppo di riferimento, l'OR per la tossicità era di 5.35 (95% CI 2.55 - 11.73,  $P<0.0001$ ) per l'eterozigote (AG vs AA) e di 4.60 (95% CI 2.21 - 10.01,  $P<0.0001$ ) per il genotipo combinato AG+GG.

Il trastuzumab ha sicuramente migliorato la sopravvivenza delle pazienti con tumore della mammella HER2 positivo tuttavia, dato il rischio di eventi avversi e l'alto costo di questo tipo di terapia, sarebbe molto utile riuscire a predire quali pazienti avranno un evento di cardiotoxicità ed ottimizzare la cardioprotezione.

I risultati di questo studio, combinati ai già noti dati di letteratura, confermano il ruolo del polimorfismo rs1136201 come fattore di predizione di cardiotoxicità in questo tipo di pazienti e, nello specifico il genotipo HER2-AG è associato ad un rischio più elevato di cardiotoxicità.

La particolarità di questo modello genetico (sovradominanza) comporta ovviamente un'approfondita valutazione biologica. Studi *in-vitro* hanno mostrato che cellule portatrici dell'allele *Val* presentavano capacità proliferative più alte e sviluppavano tumori più aggressivi con una maggiore sensibilità al trastuzumab. Di conseguenza, l'allele *Val* potrebbe rendere i cardiomiociti particolarmente dipendenti dal *signaling* di HER2 e sensibili al trastuzumab. Rimane da spiegare perché nei vari studi il genotipo GG non sia statisticamente significativo. Prima di tutto, la bassa frequenza, e quindi la numerosità, influenza in maniera negativa la potenza del test statistico, rendendo molto difficile mettere in evidenza quest'associazione. È stato proposto, inoltre, che HER2 funzioni come un omodimero e che il cambio di *signaling* intracellulare generato dal complesso Ile/Val, a causa del differente ingombro sterico, possa essere maggiore di quello generato da Ile/Ile e Val/Val. Un limite di questo studio è sicuramente la bassa numerosità campionaria con 78 pazienti, tuttavia il dato è stato successivamente rafforzato dalla meta-analisi con 344 pazienti.

La presenza del genotipo HER2-AG può produrre cardiomiociti particolarmente dipendenti dal *signaling* di HER e sensibili al trastuzumab. Sono sicuramente necessari ulteriori studi, con l'inclusione di un numero di pazienti più alto, per confermare questo modello genetico e stabilire un biomarcatore farmacogenetico robusto e valido per la valutazione della cardiotoxicità indotta da trastuzumab.

Il polimorfismo rs1136201 (655 A>G, Ile/Val) del gene HER2 è associato al rischio di cardiotoxicità in pazienti con tumore della mammella HER2 positivo ed in terapia con trastuzumab. In particolare, il genotipo HER2-AG è associato ad un rischio più elevato di cardiotoxicità.

**Parole chiave:** HER2, trastuzumab, tumore della mammella, cardiotoxicità

#### Riferimento bibliografico

[Gómez Peña C et al. \*Pharmacogenet Genomics\* 2015 Jun 5 \[Epub ahead of print\].](#)



### 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.informazione@segr.it](mailto:sif.informazione@segr.it); [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.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 - ISSN 2282-4758

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Cargini (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) Dott.ssa Valentina Citi (Università di Pisa) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB)

---

### Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

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

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

---

---

## DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet [www.sifweb.org](http://www.sifweb.org) informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. **IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI.** SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

---

## RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96). Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo [sif.farmacologia@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.

---

---