

IMPORTANZA DEI MARKER FARMACOGENETICI NELLA TERAPIA ANTITUMORALE

INTRODUZIONE

Un problema rilevante che si presenta nella gestione del trattamento farmacologico in campo oncologico è la significativa variabilità interindividuale relativamente a tossicità ed efficacia associate alla terapia. Numerosi studi hanno evidenziato una diversa suscettibilità all'effetto tossico di un dato agente chemioterapico in pazienti sottoposti allo stesso dosaggio o una diversa sensibilità allo stesso agente in pazienti clinicamente omogenei. Tutto ciò, oltre a determinare una potenziale inadeguatezza nell'assistenza fornita al malato, può aggravare il carico economico associato alla gestione del paziente oncologico¹⁻³.

Le caratteristiche genetiche del paziente rappresentano uno dei fattori determinanti nella variabilità intersoggettiva osservata nell'esito della terapia antitumorale, e la farmacogenetica ha lo scopo di validare e impiegare nella pratica clinica determinati markers genetici, con la finalità di personalizzare e ottimizzare la terapia. Lo sviluppo di maneggevoli e pratici metodi diagnostici molecolari risulta, quindi, di particolare utilità in quanto, permettendo l'analisi preliminare delle caratteristiche genetiche del paziente, può fornire agli oncologi medici uno strumento addizionale nella scelta del chemioterapico più idoneo e della dose ottimale per il singolo individuo.

Le varianti genetiche prese in considerazione dalla farmacogenetica sono i polimorfismi genici, ovvero alterazioni stabili nella sequenza del DNA, che interessano più dell'1% della popolazione. Il tipo più semplice e diffuso di polimorfismo coinvolge un unico nucleotide (SNP), altre variazioni genetiche sono rappresentate da inserzioni, delezioni e variazioni nel numero di *tandem repeats* (mini/microsatelliti). Tali polimorfismi, compatibili con un normale stile di vita, possono evidenziare delle differenze interindividuali in situazioni di particolare stress come l'esposizione ad agenti chemioterapici, qualora le alterazioni genetiche in questione vadano a modificare la funzionalità e/o l'espressione di proteine coinvolte nella cascata di eventi (trasporto, metabolismo e meccanismo d'azione), di cui è protagonista il farmaco impiegato. Diversi studi pubblicati negli ultimi anni nella letteratura scientifica internazionale hanno evidenziato e confermato come alcuni polimorfismi genici, con un effetto fenotipico ben definito sulla proteina codificata, possano assumere un ruolo predittivo clinicamente rilevante sull'esito della chemioterapia sia in termini di tossicità che di risposta^{1,2}.

I chemioterapici anti-tumorali sono sostanze naturali o di sintesi che presentano una bassa selettività, essendo citotossici per tutte le cellule in duplicazione, sia tumorali che normali. Modulando la sensibilità della cellula verso l'azione del farmaco, le caratteristiche genetiche dell'organismo ospite possono risultare importanti nel determinare soprattutto il grado di tossicità della terapia, mentre le caratteristiche genetiche del tumore, segnate da aberrazioni importanti, possono invece influenzare in particolar modo l'efficacia del trattamento². La determinazione delle varianti genetiche germinali del paziente ha, quindi, prevalentemente lo scopo di orientare la terapia in funzione dei potenziali effetti tossici, caratterizzanti il tessuto normale, anziché in funzione della risposta tumorale, fenotipo più problematico correlato alla complessa genetica tumorale. L'approccio multigenico permette, inoltre, di effettuare un'analisi simultanea di più polimorfismi all'interno dello stesso gene o in geni multipli, assecondando la complessità delle vie metaboliche e cellulari che coinvolgono il farmaco¹.

Riferimenti bibliografici

1. Efferth, T. and Volm, M. Pharmacogenetics for individualized cancer chemotherapy. *Pharmacol. Ther.*, 107: 155-176, 2005.
2. Imyanitov, E. N. and Moiseyenko, V. M. Molecular-based choice of cancer therapy: realities and expectations. *Clin. Chim. Acta*, 379: 1-13, 2007.
3. Marsh, S. and McLeod, H. L. Pharmacogenomics: from bedside to clinical practice. *Hum. Mol. Genet.*, 15 Spec No 1: R89-R93, 2006.

FLUOROPIRIMIDINE

Il trattamento con fluoropirimidine ha come principale target intracellulare la timidilato sintetasi (TS o TYMS), i cui livelli di espressione possono essere determinanti nell'influenzare l'esito clinico del trattamento farmacologico con questi agenti anti-tumorali⁴⁻¹⁰.

Per il gene TS è stata descritta una variazione genetica che consiste nella variabilità nel numero di ripetizioni (2 o 3) di una sequenza di 28 basi situata nel promotore del gene (TSER 28 bp VNTR; dove per TSER si intende *TS promoter enhancer region*). Diversi studi *in vitro* ed *in vivo* hanno dimostrato che l'allele polimorfico 3R (caratterizzato da 3 ripetizioni) è associato ad un incremento di espressione ed attività dell'enzima¹¹⁻¹³ e quindi potenzialmente all'*outcome* clinico della terapia con fluoropirimidine. La variante allelica del gene TYMS caratterizzata da 2 ripetizioni (2R) è stata associata ad un significativo aumento nell'incidenza di eventi avversi ad una terapia basata sull'impiego di 5-fluorouracile (5-FU) in pazienti affetti da carcinoma coloretale^{13,14}. Lo stesso allele 2R è stato associato, in molteplici studi, anche ad un migliore *outcome* terapeutico, sia in termini di risposta tumorale, sopravvivenza e tempo alla progressione, in pazienti trattati con schemi terapeutici a base di 5-FU^{13,15-19}. Anche la risposta tumorale alla capecitabina è risultata maggiore in pazienti portatori del genotipo di TSER 2R/ 2R in pazienti affetti da carcinoma colonrettale²⁰.

Un ruolo primario nell'inattivazione catabolica delle fluoropirimidine e quindi nel determinare i livelli di farmaco attivo disponibile nel paziente è la diidropirimidina deidrogenasi (DPYD). In particolare, un polimorfismo caratterizzante il gene codificante per DPYD a livello dell'introne 14 (IV14+1 G>A) è responsabile di un errore di splicing dell'mRNA, associato alla produzione di un enzima non funzionale^{21,22}. Tale polimorfismo è piuttosto raro nella popolazione, con una frequenza dell'allele variante IV14+1A inferiore all'1% nei caucasici²³. Tuttavia, i portatori di questo allele, anche allo stato eterozigote, sono esposti ad un alto rischio di sviluppare tossicità di grado 3 e 4 con esiti a volte anche letali, in seguito a chemioterapia con fluoropirimidine²⁴⁻²⁷.

Una proteina codificata da un gene particolarmente polimorfico, avente un ruolo chiave all'interno del metabolismo e omeostasi dei folati, è la 5-10-metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR), la quale può essere indirettamente implicata anche nel meccanismo d'azione delle fluoropirimidine. Il polimorfismo 677C>T del gene MTHFR, che porta ad un cambio amminoacidico nel codone 222 (Ala222Val)^{28,29}, e il polimorfismo 1298A>C, che porta ad una variazione di amminoacido nel codone 429 (Glu429Ala)^{30,31}, sono in relazione reciproca di *linkage disequilibrium* e presentano una diffusione significativamente diversa nelle varie regioni e gruppi etnici³²⁻³⁴. Entrambi i polimorfismi sono stati associati ad una ridotta attività dell'enzima MTHFR, con conseguente incremento dei livelli di omocisteina ed alterazione della distribuzione intracellulare dei folati^{28,35,36}.

Considerato il ruolo di MTHFR nel ciclo dei folati, target del trattamento con fluoropirimidine, si può ipotizzare un impatto rilevante dei polimorfismi che lo caratterizzano sul risultato clinico di una terapia con fluoropirimidine. Alcuni studi *in vitro* e su modelli murini hanno suggerito che entrambe le variazioni genetiche 677C>T e 1298A>C possono incrementare la chemiosensibilità al 5-FU^{37,38}. L'effetto di queste varianti sull'*outcome* della terapia con fluoropirimidine nel paziente non è ancora stato completamente chiarito, tuttavia diversi studi clinici condotti su pazienti con carcinoma coloretale trattati con terapia comprendente 5-FU, hanno evidenziato un significativo aumento della risposta tumorale, del tempo alla progressione e della sopravvivenza in pazienti recanti l'allele variante 677T^{17,39-41}. Inoltre, la variante polimorfica 1298C è risultata essere associata ad un aumento della tossicità dopo trattamento con fluoropirimidine²⁴. Le modalità con cui questa variante allelica influenza la prognosi dei pazienti in trattamento con fluoropirimidine devono essere ulteriormente indagate^{24,40,42,43}.

Riferimenti bibliografici

- Amatori, F., Di Paolo, A., Del Tacca, M., Fontanini, G., Vannozzi, F., Boldrini, L., Bocci, G., Lastella, M., and Danesi, R. Thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidine phosphorylase expression in colorectal cancer and normal mucosa in patients. *Pharmacogenet.Genomics*, 16: 809-816, 2006.
- Ciapparelli, M., Quirino, M., Schinzari, G., Zannoni, G., Corsi, D. C., Vecchio, F. M., Cassano, A., La Torre, G., and Barone, C. Predictive role of thymidylate synthase, dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidine phosphorylase expression in colorectal cancer patients receiving adjuvant 5-fluorouracil. *Oncology*, 70: 366-377, 2006.
- Johnston, P. G., Lenz, H. J., Leichman, C. G., Danenberg, K. D., Allegra, C. J., Danenberg, P. V., and Leichman, L. Thymidylate synthase gene and protein expression correlate and are associated with response to 5-fluorouracil in human colorectal and gastric tumors. *Cancer Res.*, 55: 1407-1412, 1995.
- Leichman, C. G., Lenz, H. J., Leichman, L., Danenberg, K., Baranda, J., Groshen, S., Boswell, W., Metzger, R., Tan, M., and Danenberg, P. V. Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J.Clin.Oncol.*, 15: 3223-3229, 1997.
- Lenz, H. J., Leichman, C. G., Danenberg, K. D., Danenberg, P. V., Groshen, S., Cohen, H., Laine, L., Crookes, P., Silberman, H., Baranda, J., Garcia, Y., Li, J., and Leichman, L. Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J.Clin.Oncol.*, 14: 176-182, 1996.
- Salonga, D., Danenberg, K. D., Johnson, M., Metzger, R., Groshen, S., Tsao-Wei, D. D., Lenz, H. J., Leichman, C. G., Leichman, L., Diasio, R. B., and Danenberg, P. V. Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin.Cancer Res.*, 6: 1322-1327, 2000.
- Takabayashi, A., Iwata, S., Kawai, Y., Kanai, M., Taki, Y., Takechi, T., and Fukushima, M. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity and mRNA expression in advanced gastric cancer analyzed in relation to effectiveness of preoperative 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Int.J.Oncol.*, 17: 889-895, 2000.
- Horie, N., Aiba, H., Oguro, K., Hojo, H., and Takeishi, K. Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struct.Funct.*, 20: 191-197, 1995.
- Kawakami, K., Salonga, D., Park, J. M., Danenberg, K. D., Uetake, H., Brabender, J., Omura, K., Watanabe, G., and Danenberg, P. V. Different lengths of a polymorphic repeat sequence in the thymidylate synthase gene affect translational efficiency but not its gene expression. *Clin.Cancer Res.*, 7: 4096-4101, 2001.
- Pullarkat, S. T., Stoehlmacher, J., Ghaderi, V., Xiong, Y. P., Ingles, S. A., Sherrod, A., Warren, R., Tsao-Wei, D., Groshen, S., and Lenz, H. J. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-FU chemotherapy. *Pharmacogenomics.J.*, 1: 65-70, 2001.
- Lecomte, T., Ferraz, J. M., Zinzindohoue, F., Lorient, M. A., Tregouet, D. A., Landi, B., Berger, A., Cugnenc, P. H., Jian, R., Beaune, P., and Laurent-Puig, P. Thymidylate synthase gene polymorphism predicts toxicity in colorectal cancer patients receiving 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin.Cancer Res.*, 10: 5880-5888, 2004.
- Iacopetta, B., Grieco, F., Joseph, D., and Elsaleh, H. A polymorphism in the enhancer region of the thymidylate synthase promoter influences the survival of colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracil. *Br J Cancer*, 85: 827-830, 2001.
- Ishida, Y., Kawakami, K., Tanaka, Y., Kanehira, E., Omura, K., and Watanabe, G. Association of thymidylate synthase gene polymorphism with its mRNA and protein expression and with prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.*, 22: 2805-2809, 2002.

17. Jakobsen, A., Nielsen, J. N., Gyldenkerne, N., and Lindeberg, J. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracil sensitivity. *J.Clin.Oncol.*, 23: 1365-1369, 2005.
18. Marsh, S., McKay, J. A., Cassidy, J., and McLeod, H. L. Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region in colorectal cancer. *Int.J.Oncol.*, 19: 383-386, 2001.
19. Villafranca, E., Okruzhnov, Y., Dominguez, M. A., Garcia-Foncillas, J., Azinovic, I., Martinez, E., Illarramendi, J. J., Arias, F., Martinez, M. R., Salgado, E., Angeletti, S., and Brugarolas, A. Polymorphisms of the repeated sequences in the enhancer region of the thymidylate synthase gene promoter may predict downstaging after preoperative chemoradiation in rectal cancer. *J.Clin.Oncol.*, 19: 1779-1786, 2001.
20. Park, D. J., Stoecklacher, J., Zhang, W., Tsao-Wei, D., Groshen, S., and Lenz, H. J. Thymidylate synthase gene polymorphism predicts response to capecitabine in advanced colorectal cancer. *Int.J.Colorectal Dis.*, 17: 46-49, 2002.
21. Ridge, S. A., Sludden, J., Wei, X., Sapone, A., Brown, O., Hardy, S., Canney, P., Fernandez-Salguero, P., Gonzalez, F. J., Cassidy, J., and McLeod, H. L. Dihydropyrimidine dehydrogenase pharmacogenetics in patients with colorectal cancer. *Br.J.Cancer*, 77: 497-500, 1998.
22. Wei, X., McLeod, H. L., McMurrugh, J., Gonzalez, F. J., and Fernandez-Salguero, P. Molecular basis of the human dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and 5-fluorouracil toxicity. *J.Clin.Invest*, 98: 610-615, 1996.
23. Van Kuilenburg, A. B., Muller, E. W., Haasjes, J., Meinsma, R., Zoetekouw, L., Waterham, H. R., Baas, F., Richel, D. J., and Van Gennip, A. H. Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency. *Clin.Cancer Res.*, 7: 1149-1153, 2001.
24. Capitain, O., Boisdron-Celle, M., Poirier, A. L., Abadie-Lacourtoisie, S., Morel, A., and Gamelin, E. The influence of fluorouracil outcome parameters on tolerance and efficacy in patients with advanced colorectal cancer. *Pharmacogenomics.J.*, 2007.
25. Raida, M., Schwabe, W., Hausler, P., Van Kuilenburg, A. B., Van Gennip, A. H., Behnke, D., and Hoffken, K. Prevalence of a common point mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) gene within the 5'-splice donor site of intron 14 in patients with severe 5-fluorouracil (5-FU)- related toxicity compared with controls. *Clin.Cancer Res.*, 7: 2832-2839, 2001.
26. Van Kuilenburg, A. B., Meinsma, R., Zoetekouw, L., and Van Gennip, A. H. High prevalence of the IVS14 + 1G>A mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene of patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity. *Pharmacogenetics*, 12: 555-558, 2002.
27. Van Kuilenburg, A. B., Meinsma, R., Zoetekouw, L., and Van Gennip, A. H. Increased risk of grade IV neutropenia after administration of 5-fluorouracil due to a dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: high prevalence of the IVS14+1g>a mutation. *Int.J.Cancer*, 101: 253-258, 2002.
28. Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C. A., Matthews, R. G., Boers, G. J., den Heijer, M., Kluijtmans, L. A., van den Heuvel, L. P., and A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat.Genet.*, 10: 111-113, 1995.
29. Goyette, P., Sumner, J. S., Milos, R., Duncan, A. M., Rosenblatt, D. S., Matthews, R. G., and Rozen, R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat.Genet.*, 7: 195-200, 1994.
30. van der Put, N. M., Gabreels, F., Stevens, E. M., Smeitink, J. A., Trijbels, F. J., Eskes, T. K., van den Heuvel, L. P., and Blom, H. J. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am.J.Hum.Genet.*, 62: 1044-1051, 1998.
31. Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., and Rozen, R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol.Genet.Metab*, 64: 169-172, 1998.
32. Botto, L. D. and Yang, Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am.J.Epidemiol.*, 151: 862-877, 2000.
33. Hughes, L. B., Beasley, T. M., Patel, H., Tiwari, H. K., Morgan, S. L., Baggott, J. E., Saag, K. G., McNicholl, J., Moreland, L. W., Alarcon, G. S., and Bridges, S. L., Jr. Racial or ethnic differences in allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and their influence on response to methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann.Rheum.Dis.*, 65: 1213-1218, 2006.
34. Robien, K. and Ulrich, C. M. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am.J.Epidemiol.*, 157: 571-582, 2003.
35. Bagley, P. J. and Selhub, J. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 95: 13217-13220, 1998.
36. Lievers, K. J., Boers, G. H., Verhoef, P., den Heijer, M., Kluijtmans, L. A., van der Put, N. M., Trijbels, F. J., and Blom, H. J. A second common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine, and cardiovascular disease risk. *J.Mol.Med.*, 79: 522-528, 2001.
37. Etienne, M. C., Ilc, K., Formento, J. L., Laurent-Puig, P., Formento, P., Cheradame, S., Fischel, J. L., and Milano, G. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms: relationships with 5-fluorouracil sensitivity. *Br.J.Cancer*, 90: 526-534, 2004.
38. Sohn, K. J., Croxford, R., Yates, Z., Lucock, M., and Kim, Y. I. Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism on chemosensitivity of colon and breast cancer cells to 5-fluorouracil and methotrexate. *J.Natl.Cancer Inst.*, 96: 134-144, 2004.
39. Cohen, V., Panet-Raymond, V., Sabbaghian, N., Morin, I., Batist, G., and Rozen, R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in advanced colorectal cancer: a novel genomic predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy. *Clin.Cancer Res.*, 9: 1611-1615, 2003.
40. Etienne, M. C., Formento, J. L., Chazal, M., Francoual, M., Magne, N., Formento, P., Bourgeon, A., Seitz, J. F., Delpero, J. R., Letoublon, C., Pezet, D., and Milano, G. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and response to fluorouracil-based treatment in advanced colorectal cancer patients. *Pharmacogenetics*, 14: 785-792, 2004.
41. Wisotzkey, J. D., Toman, J., Bell, T., Monk, J. S., and Jones, D. MTHFR (C677T) polymorphisms and stage III colon cancer: response to therapy. *Mol.Diagn.*, 4: 95-99, 1999.
42. Wu, X., Gu, J., Wu, T. T., Swisher, S. G., Liao, Z., Correa, A. M., Liu, J., Etzel, C. J., Amos, C. I., Huang, M., Chiang, S. S., Milas, L., Hittelman, W. N., and Ajani, J. A. Genetic variations in radiation and chemotherapy drug action pathways predict clinical outcomes in esophageal cancer. *J.Clin.Oncol.*, 24: 3789-3798, 2006.
43. Zhang, W., Press, O. A., Haiman, C. A., Yang, D. Y., Gordon, M. A., Fazzone, W., El Khoueiry, A., Iqbal, S., Sherrrod, A. E., Lurje, G., and Lenz, H. J. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and sex-specific survival in patients with metastatic colon cancer. *J.Clin.Oncol.*, 25: 3726-3731, 2007.

METOTRESSATO

Il metotressato (MTX) è un chemioterapico appartenente alla famiglia degli agenti antifolici ed ha come bersaglio intracellulare principale la diidrofolato reduttasi (DHFR), una proteina enzimatica coinvolta nel ciclo dei folati. Una proteina codificata da un gene particolarmente polimorfico, avente un ruolo chiave all'interno del metabolismo e omeostasi dei folati è la 5-10-metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR), la quale può essere indirettamente implicata anche nel meccanismo d'azione del metotressato. Il polimorfismo 677C>T del gene MTHFR, che porta ad un cambio amminoacidico nel codone 222 (Ala222Val)^{4,5}, e il polimorfismo 1298A>C, che porta ad una variazione di amminoacido nel codone 429 (Glu429Ala)^{6,7}, sono in relazione reciproca di *linkage disequilibrium* e presentano una diffusione significativamente diversa nelle varie regioni e gruppi etnici⁸⁻¹⁰. Entrambi i polimorfismi sono stati associati ad una ridotta attività dell'enzima MTHFR, con conseguente incremento dei livelli di omocisteina ed alterazione della distribuzione intracellulare dei folati^{4,11,12}.

Diversi studi clinici pubblicati in letteratura hanno evidenziato un'associazione tra la presenza dell'allele variante 677T del gene MTHFR ed un significativo aumento nell'incidenza di eventi avversi a seguito di trattamento con MTX, impiegato da solo o in combinazione con altri farmaci.

In particolare è stata descritto un maggior rischio di sviluppare effetti tossici alla terapia con schemi di trattamento che includono MTX, impiegato come agente anti-tumorale in diverse patologie oncologiche¹³⁻¹⁶. La stessa associazione è stata descritta in casistiche che prevedevano l'uso di MTX come agente immunosoppressore nella terapia malattie infiammatorie croniche¹⁷⁻²⁰ o nel trattamento anti-rigetto in pazienti sottoposti a trapianto d'organo²¹⁻²⁴. Un possibile evento associato a tale incremento di tossicità nei pazienti portatori dell'allele 677T è l'aumento dei livelli plasmatici di omocisteina, associato appunto a questo polimorfismo, evidenziato in alcuni degli studi citati. Dati contrastanti sono stati riportati in merito all'effetto della variante polimorfica sull'efficacia terapeutica del trattamento, anche se diversi studi recenti, svolti su casistiche con una discreta numerosità, hanno evidenziato un potere prognostico negativo dell'allele variante 677T per i pazienti oncologici trattati con schemi terapeutici che includono MTX^{13,14,25}. Lo stesso polimorfismo è risultato associato ad una prognosi migliore se impiegato come immuno-soppressore in individui affetti da artrite reumatoide²⁶.

Nonostante la presenza di alcuni dati controversi riguardo l'effetto del polimorfismo 1298A>C sull'incidenza di eventi avversi alla terapia, una serie di studi ha evidenziato come, anche in questo caso, l'allele variante 1298C sembri favorire l'insorgenza di tossicità alla terapia a base di MTX sia in pazienti oncologici¹⁴ che in quelli affetti da malattie infiammatorie croniche^{26,27}.

In altri studi, invece, l'allele variante 1298C è stato associato ad una minore tossicità in pazienti trattati con MTX come terapia anti-rigetto²⁸ ed in individui con artrite reumatoide^{9,29}.

In virtù della relazione di *linkage disequilibrium* presente tra i due polimorfismi di MTHFR, si è iniziato anche ad analizzare l'effetto combinato delle due mutazioni, 677C>T e 1298A>C, sull'esito clinico del trattamento con MTX; tale approccio ha portato dei risultati che sono però da ritenersi ancora preliminari^{18,30,31}.

Un altro enzima codificato da un gene polimorfico, che riveste un ruolo importante nel ciclo cellulare dei folati, quindi con un potenziale effetto sull'azione farmacologica del metotressato, è la timidilato sintetasi (TS o TYMS)³². Per il gene TS è stata descritta una variazione genetica che consiste nella variabilità nel numero di ripetizioni (2 o 3) di una sequenza di 28 basi situata nel promotore del gene (TSER 28 bp VNTR; dove per TSER si intende *TS promoter enhancer region*). Diversi studi *in vitro* ed *in vivo* hanno dimostrato che l'allele polimorfico 3R (caratterizzato da 3 ripetizioni) è associato ad un incremento di espressione ed attività dell'enzima³³⁻³⁵. Da dati di letteratura l'efficacia della terapia con MTX sembra essere associata alla presenza di un numero crescente di alleli 2R nel genotipo del paziente. In particolare, pazienti oncologici in trattamento con schemi terapeutici comprendenti MTX presentano un maggior rischio di recidive ed una minore sopravvivenza se portatori del genotipo 3R/3R allo stato omozigote^{30,36,37}. Una correlazione simile è stata evidenziata anche da studi clinici svolti su pazienti affetti da patologie infiammatorie croniche in trattamento con MTX^{38,39}.

Un ulteriore marker, per le sue possibili implicazioni farmacogenetiche sulla terapia con MTX, è il gene *ATP-binding cassette C2* (ABCC2), il quale codifica per la *multidrug resistance-associated protein 2* (MRP2), un trasportatore di membrana importante per la detossificazione a livello cellulare di MTX^{40,41}. Il polimorfismo –24C>T del gene ABCC2, situato nella regione 5' non tradotta del gene, è apparentemente associato ad una ridotta espressione della proteina⁴².

Uno studio effettuato su pazienti con linfoma trattati con alte dosi di MTX ha evidenziato come variazioni genetiche del trasportatore possano rendersi responsabili di una ridotta eliminazione dell'agente antifolico, con conseguente aumento di eventi avversi negli individui portatori della variante allelica –24T⁴³.

La stessa variante –24T è stata messa in relazione con una maggiore esposizione al metotressato a livello plasmatico anche in 44 pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta (ALL)⁴⁴. Altri studi su larga scala per valutare il ruolo delle varianti geniche di ABCC2 sulla farmacocinetica del metotressato sono tuttora in corso.

4. Frosst, P., Blom, H. J., Milos, R., Goyette, P., Sheppard, C. A., Matthews, R. G., Boers, G. J., den Heijer, M., Kluijtmans, L. A., van den Heuvel, L. P., and . A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat.Genet.*, 10: 111-113, 1995.
5. Goyette, P., Sumner, J. S., Milos, R., Duncan, A. M., Rosenblatt, D. S., Matthews, R. G., and Rozen, R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat.Genet.*, 7: 195-200, 1994.
6. van der Put, N. M., Gabreels, F., Stevens, E. M., Smeitink, J. A., Trijbels, F. J., Eskes, T. K., van den Heuvel, L. P., and Blom, H. J. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am.J.Hum.Genet.*, 62: 1044-1051, 1998.
7. Weisberg, I., Tran, P., Christensen, B., Sibani, S., and Rozen, R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol.Genet.Metab.*, 64: 169-172, 1998.
8. Botto, L. D. and Yang, Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am.J.Epidemiol.*, 151: 862-877, 2000.
9. Hughes, L. B., Beasley, T. M., Patel, H., Tiwari, H. K., Morgan, S. L., Baggott, J. E., Saag, K. G., McNicholl, J., Moreland, L. W., Alarcon, G. S., and Bridges, S. L., Jr. Racial or ethnic differences in allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and their influence on response to methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann.Rheum.Dis.*, 65: 1213-1218, 2006.
10. Robien, K. and Ulrich, C. M. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. *Am.J.Epidemiol.*, 157: 571-582, 2003.
11. Bagley, P. J. and Selhub, J. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 95: 13217-13220, 1998.
12. Lievers, K. J., Boers, G. H., Verhoef, P., den Heijer, M., Kluijtmans, L. A., van der Put, N. M., Trijbels, F. J., and Blom, H. J. A second common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine, and cardiovascular disease risk. *J.Mol.Med.*, 79: 522-528, 2001.
13. Chiusolo, P., Reddicono, G., Casorelli, I., Laurenti, L., Sora, F., Mele, L., Annino, L., Leone, G., and Sica, S. Preponderance of methylenetetrahydrofolate reductase C677T homozygosity among leukemia patients intolerant to methotrexate. *Ann.Oncol.*, 13: 1915-1918, 2002.
14. Gemmati, D., Ongaro, A., Tognazzo, S., Catozzi, L., Federici, F., Mauro, E., Della, P. M., Campioni, D., Bardi, A., Gilli, G., Pellati, A., Caruso, A., Scapoli, G. L., and De Mattei, M. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C gene variants in adult non-Hodgkin's lymphoma patients: association with toxicity and survival. *Haematologica*, 92: 478-485, 2007.
15. Toffoli, G., Veronesi, A., Boiocchi, M., and Crivellari, D. MTHFR gene polymorphism and severe toxicity during adjuvant treatment of early breast cancer with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil (CMF). *Ann.Oncol.*, 11: 373-374, 2000.
16. Toffoli, G., Russo, A., Innocenti, F., Corona, G., Tumolo, S., Sartor, F., Mini, E., and Boiocchi, M. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677C-->T polymorphism on toxicity and homocysteine plasma level after chronic methotrexate treatment of ovarian cancer patients. *Int.J.Cancer*, 103: 294-299, 2003.
17. Schmeling, H., Biber, D., Heins, S., and Horneff, G. Influence of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on efficacy and toxicity of methotrexate in patients with juvenile idiopathic arthritis. *J.Rheumatol.*, 32: 1832-1836, 2005.
18. Urano, W., Taniguchi, A., Yamanaka, H., Tanaka, E., Nakajima, H., Matsuda, Y., Akama, H., Kitamura, Y., and Kamatani, N. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene were associated with both the efficacy and the toxicity of methotrexate used for the treatment of rheumatoid arthritis, as evidenced by single locus and haplotype analyses. *Pharmacogenetics*, 12: 183-190, 2002.
19. van Ede, A. E., Laan, R. F., Blom, H. J., Huizinga, T. W., Haagsma, C. J., Giesendorf, B. A., de Boo, T. M., and van de Putte, L. B. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a genetic risk factor for methotrexate-related elevation of liver enzymes in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.*, 44: 2525-2530, 2001.
20. Weisman, M. H., Furst, D. E., Park, G. S., Kremer, J. M., Smith, K. M., Wallace, D. J., Caldwell, J. R., and Dervieux, T. Risk genotypes in folate-dependent enzymes and their association with methotrexate-related side effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 54: 607-612, 2006.
21. Kim, I., Lee, K. H., Kim, J. H., Ra, E. K., Yoon, S. S., Hong, Y. C., Park, S. S., Kim, C. S., Park, S., and Kim, B. K. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and clinical outcomes in HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann.Hematol.*, 86: 41-48, 2007.
22. Robien, K., Schubert, M. M., Bruemmer, B., Lloid, M. E., Potter, J. D., and Ulrich, C. M. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell transplants for chronic myelogenous leukemia. *J.Clin.Oncol.*, 22: 1268-1275, 2004.
23. Robien, K., Schubert, M. M., Chay, T., Bigler, J., Storb, R., Yasui, Y., Potter, J. D., and Ulrich, C. M. Methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genotypes modify oral mucositis severity following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 37: 799-800, 2006.
24. Ulrich, C. M., Yasui, Y., Storb, R., Schubert, M. M., Wagner, J. L., Bigler, J., Ariail, K. S., Keener, C. L., Li, S., Liu, H., Farin, F. M., and Potter, J. D. Pharmacogenetics of methotrexate: toxicity among marrow transplantation patients varies with the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Blood*, 98: 231-234, 2001.
25. Aplenc, R., Thompson, J., Han, P., La, M., Zhao, H., Lange, B., and Rebbeck, T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and therapy response in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.*, 65: 2482-2487, 2005.
26. Wessels, J. A., Vries-Bouwstra, J. K., Heijmans, B. T., Slagboom, P. E., Goekoop-Ruiterman, Y. P., Allaart, C. F., Kerstens, P. J., van Zeben, D., Breedveld, F. C., Dijkmans, B. A., Huizinga, T. W., and Guchelaar, H. J. Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single-nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes. *Arthritis Rheum.*, 54: 1087-1095, 2006.
27. Herrlinger, K. R., Cummings, J. R., Barnardo, M. C., Schwab, M., Ahmad, T., and Jewell, D. P. The pharmacogenetics of methotrexate in inflammatory bowel disease. *Pharmacogenet.Genomics*, 15: 705-711, 2005.
28. Robien, K., Bigler, J., Yasui, Y., Potter, J. D., Martin, P., Storb, R., and Ulrich, C. M. Methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genotypes and risk of acute graft-versus-host disease following hematopoietic cell transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Biol.Blood Marrow Transplant.*, 12: 973-980, 2006.
29. Berkun, Y., Levartovsky, D., Rubinow, A., Orbach, H., Aamar, S., Grenader, T., Abou, A., I, Mevorach, D., Friedman, G., and Ben Yehuda, A. Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene. *Ann.Rheum.Dis.*, 63: 1227-1231, 2004.
30. Krajcinovic, M., Lemieux-Blanchard, E., Chiasson, S., Primeau, M., Costea, I., and Moghrabi, A. Role of polymorphisms in MTHFR and MTHFD1 genes in the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics.J.*, 4: 66-72, 2004.
31. Robien, K., Ulrich, C. M., Bigler, J., Yasui, Y., Gooley, T., Bruemmer, B., Potter, J. D., and Radich, J. P. Methylenetetrahydrofolate reductase genotype affects risk of relapse after hematopoietic cell transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Clin.Cancer Res.*, 10: 7592-7598, 2004.

32. Trinh, B. N., Ong, C. N., Coetzee, G. A., Yu, M. C., and Laird, P. W. Thymidylate synthase: a novel genetic determinant of plasma homocysteine and folate levels. *Hum.Genet.*, 111: 299-302, 2002.
33. Horie, N., Aiba, H., Oguro, K., Hojo, H., and Takeishi, K. Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struct.Funct.*, 20: 191-197, 1995.
34. Kawakami, K., Salonga, D., Park, J. M., Danenberg, K. D., Uetake, H., Brabender, J., Omura, K., Watanabe, G., and Danenberg, P. V. Different lengths of a polymorphic repeat sequence in the thymidylate synthase gene affect translational efficiency but not its gene expression. *Clin.Cancer Res.*, 7: 4096-4101, 2001.
35. Pullarkat, S. T., Stoehmacher, J., Ghaderi, V., Xiong, Y. P., Ingles, S. A., Sherrod, A., Warren, R., Tsao-Wei, D., Groshen, S., and Lenz, H. J. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-FU chemotherapy. *Pharmacogenomics.J.*, 1: 65-70, 2001.
36. Costea, I., Moghrabi, A., and Krajinovic, M. The influence of cyclin D1 (CCND1) 870A>G polymorphism and CCND1-thymidylate synthase (TS) gene-gene interaction on the outcome of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Pharmacogenetics*, 13: 577-580, 2003.
37. Krajinovic, M., Costea, I., and Chiasson, S. Polymorphism of the thymidylate synthase gene and outcome of acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 359: 1033-1034, 2002.
38. Campalani, E., Arenas, M., Marinaki, A. M., Lewis, C. M., Barker, J. N., and Smith, C. H. Polymorphisms in folate, pyrimidine, and purine metabolism are associated with efficacy and toxicity of methotrexate in psoriasis. *J.Invest Dermatol.*, 127: 1860-1867, 2007.
39. Kumagai, K., Hiyama, K., Oyama, T., Maeda, H., and Kohno, N. Polymorphisms in the thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase genes and sensitivity to the low-dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Int.J.Mol.Med.*, 11: 593-600, 2003.
40. Bakos, E., Evers, R., Sinko, E., Varadi, A., Borst, P., and Sarkadi, B. Interactions of the human multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2 with organic anions. *Mol.Pharmacol.*, 57: 760-768, 2000.
41. Konig, J., Nies, A. T., Cui, Y., Leier, I., and Keppler, D. Conjugate export pumps of the multidrug resistance protein (MRP) family: localization, substrate specificity, and MRP2-mediated drug resistance. *Biochim.Biophys.Acta*, 1461: 377-394, 1999.
42. Itoda, M., Saito, Y., Soyama, A., Saeki, M., Murayama, N., Ishida, S., Sai, K., Nagano, M., Suzuki, H., Sugiyama, Y., Ozawa, S., and Sawada, J. J. Polymorphisms in the ABCC2 (cMOAT/MRP2) gene found in 72 established cell lines derived from Japanese individuals: an association between single nucleotide polymorphisms in the 5'-untranslated region and exon 28. *Drug Metab Dispos.*, 30: 363-364, 2002.
43. Hulot, J. S., Villard, E., Maguy, A., Morel, V., Mir, L., Tostivint, I., William-Faltaos, D., Fernandez, C., Hatem, S., Deray, G., Komajda, M., Leblond, V., and Lechat, P. A mutation in the drug transporter gene ABCC2 associated with impaired methotrexate elimination. *Pharmacogenet.Genomics*, 15: 277-285, 2005.
44. Rau, T., Erney, B., Gores, R., Eschenhagen, T., Beck, J., and Langer, T. High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: impact of ABCC2 polymorphisms on plasma concentrations. *Clin.Pharmacol.Ther.*, 80: 468-476, 2006.

IRINOTECANO

L'irinotecano è un profarmaco che viene convertito *in vivo* nel suo metabolita attivo SN-38 attraverso una reazione di idrolisi ad opera delle isoforme 1 e 2 della carbossilesterasi umana. La conseguente trasformazione di SN-38 nel suo derivato inattivo avviene per coniugazione del farmaco con una molecola di acido glucuronico operata da enzimi appartenenti alla famiglia delle uridino-glucuronosiltransferasi 1A (UGT1A) e principalmente dalla isoforma UGT1A1. Questo enzima, e in particolare il suo polimorfismo genico UGT1A1*28, che consiste nella variabilità del numero di ripetizioni (comunemente 6 o 7 nella popolazione Caucasica) del microsatellite TA nel promotore del gene, sono stati diffusamente studiati per le loro importanti implicazioni dal punto di vista farmacogenetico. Tale variante polimorfica, che causa una diminuita espressione genica, a cui segue una ridotta capacità di glucuronazione dell'individuo⁴⁻⁶, è risultata essere associata ad un aumento significativo del rischio di sviluppare tossicità ematologica e non ematologica severa (soprattutto diarrea e neutropenia) dopo terapia basata sulla somministrazione di irinotecano. In particolar modo, individui recanti la variante allelica caratterizzata da 7 ripetizioni TA sono risultati maggiormente esposti al metabolita attivo del farmaco, SN-38, e ai suoi effetti tossici⁷⁻¹⁵. Sulla base dei dati emersi a questo proposito in letteratura, nel luglio 2005 l'American Food and Drug Administration (FDA) ha deciso di includere nel foglietto informativo che accompagna l'irinotecano, una indicazione farmacogenetica che raccomanda un aggiustamento del dosaggio da somministrare al paziente in trattamento con irinotecano, sulla base del suo genotipo relativamente al polimorfismo UGT1A1*28 (Revised Irinotecan label; American Food and Drug Administration; <http://www.fda.gov>). Studi aggiuntivi sono comunque tuttora in corso al fine di definire in maniera conclusiva il corretto dosaggio da impiegare in ciascun gruppo di pazienti con diverso genotipo per UGT1A1*28, anche in virtù dei risultati emersi recentemente in letteratura su una predisposizione differenziale dei pazienti con genotipo variante, non solo allo sviluppo di tossicità, ma anche di risposta al trattamento^{8,16,17}.

L'irinotecano, una volta somministrato al paziente, può andare incontro, oltre al processo di attivazione sopra descritto, ad una reazione ossidativa che lo trasforma in derivati non farmacologicamente attivi e che è realizzata ad opera delle isoforme 3A4 e 3A5 del citocromo P-450 (CYP3A4 e CYP3A5). Le isoforme CYP3A4 e CYP3A5 sono caratterizzate da una marcata variabilità inter-individuale in termini di espressione e attività enzimatiche, che possono riflettersi in una variazione della bio-disponibilità di irinotecano. Anche se non completamente chiarita, la causa di questa variabilità può essere ricercata nella presenza di polimorfismi genetici. In particolare, con la sigla CYP3A4*1B viene identificato un polimorfismo (-392 A>G) localizzato a livello della regione regolatoria non tradotta in 5' del gene, che sembra essere correlato ad un aumento del livello di espressione della proteina e dell'efficienza del metabolismo ossidativo ad essa associato^{18,19}. In riferimento all'isoforma CYP3A5, il polimorfismo CYP3A5*3 (6986A>G), situato nell'introne

3 del gene, risulta associato ai livelli di espressione enzimatica. In particolare, l'assenza del polimorfismo (variante CYP3A5*1) in almeno uno dei due alleli portati dal paziente, si riflette in un drammatico incremento del livello di espressione del citocromo CYP3A5, che lo porta a rappresentare il 50% del contenuto totale di enzimi epatici della sottofamiglia CYP3A. La variabilità inter-etnica nella prevalenza di tale polimorfismo può essere associata, quindi, a differenze nel grado di espressione di questa isoforma in diversi gruppi etnici²⁰. Tali variazioni genetiche, studiate in pazienti oncologici, sottoposti a trattamento farmacologico comprendente irinotecano, sono risultate implicate in fluttuazioni dei livelli plasmatici di metabolita attivo SN-38, con potenziali conseguenze sulla tossicità prodotta nel paziente²¹⁻²⁵. In particolare, individui recanti l'allele variante CYP3A4*1B o l'allele wild type CYP3A5*1 sembrano avere un metabolismo più estensivo dei substrati di ossidazione, risultando di conseguenza meno esposti al farmaco nella sua forma attiva. E' presumibile quindi che la presenza di tali alleli riduca il rischio di esposizione agli effetti tossici dell'irinotecano.

Studi *in vitro* e su modelli animali hanno inoltre evidenziato come l'irinotecano rappresenti un substrato per il trasportatore di membrana glicoproteina-P (P-gp), appartenente alla famiglia delle *ATP binding cassette proteins* e codificato dal gene ABCB1²⁶⁻³². Polimorfismi del gene ABCB1, associati a variazioni dell'attività e/o dell'espressione di tale trasportatore, possono causare alterazioni nel processo di efflusso del farmaco, con importanti conseguenze sulla sua biodisponibilità. Alcuni autori hanno suggerito un effetto del polimorfismo silente 1236 C>T, situato nell'esone 12 del gene, sulla stabilità dell'mRNA e, conseguentemente, sulla sua espressione³³. Alcuni studi clinici, pubblicati negli ultimi anni, hanno evidenziato un'associazione tra questo polimorfismo e la farmacocinetica dell'irinotecano. In particolare, la variante polimorfica 1236T è stata associata ad un significativo aumento dell'esposizione plasmatica all'irinotecano e al suo metabolita attivo SN-38^{23,34}. Anche se non esistono al momento molti dati in letteratura, l'impatto di questo polimorfismo sulla farmacocinetica dell'irinotecano e dei suoi metaboliti può riflettersi in una maggiore suscettibilità del paziente con l'allele 1236T a sviluppare effetti tossici al chemioterapico.

Riferimenti bibliografici

- Ando, Y., Saka, H., Asai, G., Sugiura, S., Shimokata, K., and Kamataki, T. UGT1A1 genotypes and glucuronidation of SN-38, the active metabolite of irinotecan. *Ann.Oncol.*, 9: 845-847, 1998.
- Iyer, L., King, C. D., Whittington, P. F., Green, M. D., Roy, S. K., Tephly, T. R., Coffman, B. L., and Ratain, M. J. Genetic predisposition to the metabolism of irinotecan (CPT-11). Role of uridine diphosphate glucuronosyltransferase isoform 1A1 in the glucuronidation of its active metabolite (SN-38) in human liver microsomes. *J Clin Invest*, 101: 847-854, 1998.
- Monaghan, G., Ryan, M., Seddon, R., Hume, R., and Burchell, B. Genetic variation in bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet*, 347: 578-581, 1996.
- Ando, Y., Ueoka, H., Sugiyama, T., Ichiki, M., Shimokata, K., and Hasegawa, Y. Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase and pharmacokinetics of irinotecan. *Ther Drug Monit*, 24: 111-116, 2002.
- Cote, J. F., Kirzin, S., Kramar, A., Mosnier, J. F., Diebold, M. D., Soubeyran, I., Thirouard, A. S., Selves, J., Laurent-Puig, P., and Ychou, M. UGT1A1 polymorphism can predict hematologic toxicity in patients treated with irinotecan. *Clin.Cancer Res.*, 13: 3269-3275, 2007.
- Innocenti, F., Undevia, S. D., Iyer, L., Chen, P. X., Das, S., Kocherginsky, M., Karrison, T., Janisch, L., Ramirez, J., Rudin, C. M., Vokes, E. E., and Ratain, M. J. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol*, 22: 1382-1388, 2004.
- Iyer, L., Das, S., Janisch, L., Wen, M., Ramirez, J., Karrison, T., Fleming, G. F., Vokes, E. E., Schilsky, R. L., and Ratain, M. J. UGT1A1*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics.J.*, 2: 43-47, 2002.
- Marcuello, E., Altes, A., Menoyo, A., del Rio, E., Gomez-Pardo, M., and Baiget, M. UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *Br.J.Cancer*, 91: 678-682, 2004.
- Ramchandani, R. P., Wang, Y., Booth, B. P., Ibrahim, A., Johnson, J. R., Rahman, A., Mehta, M., Innocenti, F., Ratain, M. J., and Gobburu, J. V. The role of SN-38 exposure, UGT1A1*28 polymorphism, and baseline bilirubin level in predicting severe irinotecan toxicity. *J.Clin.Pharmacol.*, 47: 78-86, 2007.
- Rouits, E., Boisdron-Celle, M., Dumont, A., Guerin, O., Morel, A., and Gamelin, E. Relevance of different UGT1A1 polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: a molecular and clinical study of 75 patients. *Clin.Cancer Res.*, 10: 5151-5159, 2004.
- Ruzzo, A., Graziano, F., Loupakis, F., Santini, D., Catalano, V., Bissoni, R., Ficarelli, R., Fontana, A., Andreoni, F., Falcone, A., Canestrari, E., Tonini, G., Mari, D., Lippe, P., Pizzagalli, F., Schiavon, G., Alessandrini, P., Giustini, L., Maltese, P., Testa, E., Menichetti, E. T., and Magnani, M. Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFIRI chemotherapy. *Pharmacogenomics.J.*, 2007.
- Toffoli, G., Russo, A., Innocenti, F., Corona, G., Tumolo, S., Sartor, F., Mini, E., and Boiocchi, M. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase 677C->T polymorphism on toxicity and homocysteine plasma level after chronic methotrexate treatment of ovarian cancer patients. *Int.J.Cancer*, 103: 294-299, 2003.
- Carlini, L. E., Meropol, N. J., Bever, J., Andria, M. L., Hill, T., Gold, P., Rogatko, A., Wang, H., and Blanchard, R. L. UGT1A7 and UGT1A9 polymorphisms predict response and toxicity in colorectal cancer patients treated with capecitabine/irinotecan. *Clin.Cancer Res.*, 11: 1226-1236, 2005.
- Toffoli, G., Cecchin, E., Corona, G., Russo, A., Buonadonna, A., D'Andrea, M., Pasetto, L. M., Pessa, S., Errante, D., De, P., V., Giusto, M., Medici, M., Gaion, F., Sandri, P., Galligioni, E., Bonura, S., Boccalon, M., Biason, P., and Frustaci, S. The role of UGT1A1*28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *J.Clin.Oncol.*, 24: 3061-3068, 2006.
- Amirimani, B., Ning, B., Deitz, A. C., Weber, B. L., Kadlubar, F. F., and Rebbeck, T. R. Increased transcriptional activity of the CYP3A4*1B promoter variant. *Environ.Mol.Mutagen.*, 42: 299-305, 2003.
- Schirmer, M., Toliat, M. R., Haberl, M., Suk, A., Kamdem, L. K., Klein, K., Brockmoller, J., Nurnberg, P., Zanger, U. M., and Wojnowski, L. Genetic signature consistent with selection against the CYP3A4*1B allele in non-African populations. *Pharmacogenet.Genomics*, 16: 59-71, 2006.

20. Kuehl, P., Zhang, J., Lin, Y., Lamba, J., Assem, M., Schuetz, J., Watkins, P. B., Daly, A., Wrighton, S. A., Hall, S. D., Maurel, P., Relling, M., Brimer, C., Yasuda, K., Venkataramanan, R., Strom, S., Thummel, K., Boguski, M. S., and Schuetz, E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*, 27: 383-391, 2001.
21. Goto, M., Masuda, S., Kiuchi, T., Ogura, Y., Oike, F., Okuda, M., Tanaka, K., and Inui, K. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics*, 14: 471-478, 2004.
22. Hesselink, D. A., van Gelder, T., van Schaik, R. H., Balk, A. H., van, d. H., I, van Dam, T., van der, W. M., Weimar, W., and Mathot, R. A. Population pharmacokinetics of cyclosporine in kidney and heart transplant recipients and the influence of ethnicity and genetic polymorphisms in the MDR-1, CYP3A4, and CYP3A5 genes. *Clin.Pharmacol.Ther.*, 76: 545-556, 2004.
23. Mathijssen, R. H., Marsh, S., Karlsson, M. O., Xie, R., Baker, S. D., Verweij, J., Sparreboom, A., and McLeod, H. L. Irinotecan pathway genotype analysis to predict pharmacokinetics. *Clin Cancer Res*, 9: 3246-3253, 2003.
24. Min, D. I. and Ellingrod, V. L. Association of the CYP3A4*1B 5'-flanking region polymorphism with cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther.Drug Monit.*, 25: 305-309, 2003.
25. Zheng, H., Webber, S., Zeevi, A., Schuetz, E., Zhang, J., Bowman, P., Boyle, G., Law, Y., Miller, S., Lamba, J., and Burckart, G. J. Tacrolimus dosing in pediatric heart transplant patients is related to CYP3A5 and MDR1 gene polymorphisms. *Am.J.Transplant.*, 3: 477-483, 2003.
26. Arimori, K., Kuroki, N., Hidaka, M., Iwakiri, T., Yamsaki, K., Okumura, M., Ono, H., Takamura, N., Kikuchi, M., and Nakano, M. Effect of P-glycoprotein modulator, cyclosporin A, on the gastrointestinal excretion of irinotecan and its metabolite SN-38 in rats. *Pharm.Res.*, 20: 910-917, 2003.
27. Chu, X. Y., Suzuki, H., Ueda, K., Kato, Y., Akiyama, S., and Sugiyama, Y. Active efflux of CPT-11 and its metabolites in human KB-derived cell lines. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 288: 735-741, 1999.
28. Chu, X. Y., Kato, Y., and Sugiyama, Y. Possible involvement of P-glycoprotein in biliary excretion of CPT-11 in rats. *Drug Metab Dispos.*, 27: 440-441, 1999.
29. Iyer, L., Ramirez, J., Shepard, D. R., Bingham, C. M., Hossfeld, D. K., Ratain, M. J., and Mayer, U. Biliary transport of irinotecan and metabolites in normal and P-glycoprotein-deficient mice. *Cancer Chemother.Pharmacol.*, 49: 336-341, 2002.
30. Luo, F. R., Paranjpe, P. V., Guo, A., Rubin, E., and Sinko, P. Intestinal transport of irinotecan in Caco-2 cells and MDCK II cells overexpressing efflux transporters Pgp, cMOAT, and MRP1. *Drug Metab Dispos.*, 30: 763-770, 2002.
31. Sugiyama, Y., Kato, Y., and Chu, X. Multiplicity of biliary excretion mechanisms for the camptothecin derivative irinotecan (CPT-11), its metabolite SN-38, and its glucuronide: role of canalicular multispecific organic anion transporter and P-glycoprotein. *Cancer Chemother.Pharmacol.*, 42 Suppl: S44-S49, 1998.
32. Yamamoto, W., Verweij, J., de Bruijn, P., de Jonge, M. J., Takano, H., Nishiyama, M., Kurihara, M., and Sparreboom, A. Active transepithelial transport of irinotecan (CPT-11) and its metabolites by human intestinal Caco-2 cells. *Anticancer Drugs*, 12: 419-432, 2001.
33. Frittitta, L., Ercolino, T., Bozzali, M., Argiolas, A., Graci, S., Santagati, M. G., Spampinato, D., Di Paola, R., Cisternino, C., Tassi, V., Vigneri, R., Pizzuti, A., and Trischitta, V. A cluster of three single nucleotide polymorphisms in the 3'-untranslated region of human glycoprotein PC-1 gene stabilizes PC-1 mRNA and is associated with increased PC-1 protein content and insulin resistance-related abnormalities. *Diabetes*, 50: 1952-1955, 2001.
34. Sai, K., Saeki, M., Saito, Y., Ozawa, S., Katori, N., Jinno, H., Hasegawa, R., Kaniwa, N., Sawada, J., Komamura, K., Ueno, K., Kamakura, S., Kitakaze, M., Kitamura, Y., Kamatani, N., Minami, H., Ohtsu, A., Shirao, K., Yoshida, T., and Saijo, N. UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther*, 75: 501-515, 2004.

I DERIVATI DEL PLATINO

L'effetto farmacologico dei derivati del platino può essere influenzato da variazioni genetiche che vanno ad alterare l'attività e/o il livello di espressione delle proteine che intervengono nei meccanismi di detossificazione del farmaco e di risposta fisiologica al danno prodotto dal farmaco sul DNA genomico delle cellule dell'ospite.

In particolare, l'iper-espressione dell'enzima glutatione S-transferasi (GST), deputato alla detossificazione del farmaco tramite la sua coniugazione con glutatione, è spesso associata a fenomeni di farmaco-resistenza verso i derivati del platino, e la sottoclasse GSTP1 è quella maggiormente implicata in tale evento⁴⁻⁶. Il polimorfismo 313A>G, nell'esone 5 di GSTP1, porta alla sostituzione di una isoleucina con una valina nel codone 105 e implica una diminuita efficienza catalitica della proteina^{7,8}. In due studi indipendenti è stato recentemente dimostrato un ruolo del polimorfismo di GSTP1 nello sviluppo di neurotossicità associata al trattamento farmacologico a base di oxaliplatino^{9,10}. Lo studio caratterizzato dalla maggiore numerosità di pazienti sottolinea come l'essere portatori dell'allele variante allo stato omozigote (313GG) aumenti il rischio di sviluppare neurotossicità di grado 3 dopo trattamento con oxaliplatino¹⁰. Diversi ricercatori hanno inoltre evidenziato un possibile effetto del polimorfismo sulla sensibilità al trattamento con derivati del platino. Tali studi concordano su un ruolo prognostico positivo dell'allele variante 313G. In particolare pazienti recanti il genotipo omozigote variante GSTP1-313GG sono risultati maggiormente candidati a sviluppare una risposta tumorale e ad avere una sopravvivenza ed un tempo alla progressione più lunghi degli altri pazienti¹¹⁻¹⁴.

Un'altra via cellulare in grado di interferire con l'azione farmacologica dei derivati del platino è quella deputata al riparo dei danni al DNA esercitati dal farmaco, che proprio attraverso questo meccanismo esplica la sua azione citotossica anti-tumorale. In particolare il farmaco è in grado di formare addotti covalenti bifunzionali intrafilamento platino-DNA, che portano all'arresto del ciclo cellulare e alla morte della cellula via apoptosi. La capacità di correggere in modo rapido ed efficiente tali lesioni influenza, quindi, pesantemente la sensibilità della cellula a tale classe di farmaci antitumorali e le varianti polimorfiche dei geni implicati nei meccanismi di riparazione del DNA possono avere un'importanza farmacogenetica. In particolare, il gene codificante per XRCC1, implicato nel riparo dei danni prodotti dai derivati del platino sul DNA, è

caratterizzato dalla variante polimorfica 28152G>A situata nell'esone 10 e associata alla sostituzione di una arginina con una glutammina nel codone 399 della proteina¹⁵.

Il polimorfismo Arg399Gln coinvolge il dominio di interazione di XRCC1 con la *Poly ADP-ribose polymerase* (PARP)^{16,17}, alterando la capacità di assemblare il complesso necessario per riparare efficientemente la lesione; la variante Arg399Gln è risultata infatti essere associata ad aumentati livelli di danno al DNA¹⁸⁻²¹. Questo si rifletterebbe in una maggiore aggressività del trattamento citotossico con conseguente aumento della tossicità sviluppata dal paziente. D'altro canto, sulla base di diversi studi clinici pubblicati, l'effetto del polimorfismo sembra avere come esito l'incremento della risposta da parte del tessuto tumorale, a sua volta risultante in una migliore prognosi del paziente dopo trattamento con derivati del platino²²⁻²⁴. Altri studi riportano, invece, come effetto del polimorfismo, il peggioramento della prognosi di pazienti in trattamento con derivati del platino²⁵⁻²⁸.

Un altro enzima di fondamentale importanza nei meccanismi cellulari di riparo degli addotti platino-DNA è ERCC1, il cui livello d'espressione è strettamente correlato alla sensibilità della cellula verso l'azione dei derivati del platino²⁹⁻³³. Il polimorfismo 8092C>A nella regione 3' non tradotta del gene ERCC1 porta ad una alterazione dell'espressione genica³⁴. In 214 pazienti affetti da Non Small Cells Lung Cancer (NSCLC) trattati con derivati del platino è stata riscontrata una maggiore tossicità gastrointestinale nei portatori di almeno un allele polimorfico (8092AA e 8092CA)³⁵. Inoltre è stato dimostrato che il polimorfismo influenza la prognosi di pazienti affetti da NSCLC in fase avanzata trattati con una terapia a base di cisplatino-carboplatino: gli individui con genotipo wild-type 8092CC mostrano un'aumentata sopravvivenza³⁶. Il polimorfismo 19007C>T nell'esone 4 di ERCC1 porta alla sostituzione del codone 118 AAC con il codone 118 AAT, il quale codifica per lo stesso amminoacido, ma è tradotto con velocità minore. Questo polimorfismo determina una ridotta espressione del gene e di conseguenza una minore capacità di riparare gli addotti platino-DNA da parte di ERCC1^{37,38}, influenzando la suscettibilità dei pazienti portatori della variante allo sviluppo di tossicità. Infine è stato riportato un importante ruolo predittivo del polimorfismo sull'efficacia della terapia con derivati del platino. Infatti è stato riportato, in vari studi indipendenti, come pazienti omozigoti per la variante 118C mostrino una miglior risposta tumorale alla terapia, così come una migliore prognosi in termini di sopravvivenza e tempo libero da progressione^{14,39-41}.

Riferimenti bibliografici

1. Ban, N., Takahashi, Y., Takayama, T., Kura, T., Katahira, T., Sakamaki, S., and Niitsu, Y. Transfection of glutathione S-transferase (GST)-pi antisense complementary DNA increases the sensitivity of a colon cancer cell line to adriamycin, cisplatin, melphalan, and etoposide. *Cancer Res.*, 56: 3577-3582, 1996.
2. Cheng, X., Kigawa, J., Minagawa, Y., Kanamori, Y., Itamochi, H., Okada, M., and Terakawa, N. Glutathione S-transferase-pi expression and glutathione concentration in ovarian carcinoma before and after chemotherapy. *Cancer*, 79: 521-527, 1997.
3. Goto, S., Iida, T., Cho, S., Oka, M., Kohno, S., and Kondo, T. Overexpression of glutathione S-transferase pi enhances the adduct formation of cisplatin with glutathione in human cancer cells. *Free Radic.Res.*, 31: 549-558, 1999.
4. Srivastava, S. K., Singhal, S. S., Hu, X., Awasthi, Y. C., Zimniak, P., and Singh, S. V. Differential catalytic efficiency of allelic variants of human glutathione S-transferase Pi in catalyzing the glutathione conjugation of thiotepa. *Arch.Biochem.Biophys.*, 366: 89-94, 1999.
5. Watson, M. A., Stewart, R. K., Smith, G. B., Massey, T. E., and Bell, D. A. Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*, 19: 275-280, 1998.
6. Lecomte, T., Landi, B., Beaune, P., Laurent-Puig, P., and Lorient, M. A. Glutathione S-transferase P1 polymorphism (Ile105Val) predicts cumulative neuropathy in patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy. *Clin.Cancer Res.*, 12: 3050-3056, 2006.
7. Ruzzo, A., Graziano, F., Loupakis, F., Rulli, E., Canestrari, E., Santini, D., Catalano, V., Ficarelli, R., Maltese, P., Bisonni, R., Masi, G., Schiavon, G., Giordani, P., Giustini, L., Falcone, A., Tonini, G., Silva, R., Mattioli, R., Floriani, I., and Magnani, M. Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFOX-4 chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*, 25: 1247-1254, 2007.
8. Goekkurt, E., Hoehn, S., Wolschke, C., Wittmer, C., Stueber, C., Hossfeld, D. K., and Stoeckl, J. Polymorphisms of glutathione S-transferases (GST) and thymidylate synthase (TS)—novel predictors for response and survival in gastric cancer patients. *Br.J.Cancer*, 94: 281-286, 2006.
9. Pillot, G. A., Read, W. L., Hennenfent, K. L., Marsh, S., Gao, F., Viswanathan, A., Cummings, K., McLeod, H. L., and Govindan, R. A phase II study of irinotecan and carboplatin in advanced non-small cell lung cancer with pharmacogenomic analysis: final report. *J.Thorac.Oncol.*, 7: 972-978, 2006.
10. Stoeckl, J., Park, D. J., Zhang, W., Groshen, S., Tsao-Wei, D. D., Yu, M. C., and Lenz, H. J. Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J.Natl.Cancer Inst.*, 94: 936-942, 2002.
11. Stoeckl, J., Park, D. J., Zhang, W., Yang, D., Groshen, S., Zahedy, S., and Lenz, H. J. A multivariate analysis of genomic polymorphisms: prediction of clinical outcome to 5-FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer. *Br.J.Cancer*, 91: 344-354, 2004.
12. Shen, M. R., Jones, I. M., and Mohrenweiser, H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. *Cancer Res.*, 58: 604-608, 1998.
13. Masson, M., Niedergang, C., Schreiber, V., Muller, S., Menissier-de Murcia, J., and de Murcia, G. XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. *Mol.Cell Biol.*, 18: 3563-3571, 1998.

14. Taylor, R. M., Thistlethwaite, A., and Caldecott, K. W. Central role for the XRCC1 BRCT I domain in mammalian DNA single-strand break repair. *Mol.Cell Biol.*, 22: 2556-2563, 2002.
15. Abdel-Rahman, S. Z. and El Zein, R. A. The 399Gln polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK. *Cancer Lett.*, 159: 63-71, 2000.
16. Lunn, R. M., Langlois, R. G., Hsieh, L. L., Thompson, C. L., and Bell, D. A. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Res.*, 59: 2557-2561, 1999.
17. Vodicka, P., Kumar, R., Stetina, R., Sanyal, S., Soucek, P., Haufroid, V., Dusinska, M., Kuricova, M., Zamecnikova, M., Musak, L., Buchancova, J., Norppa, H., Hirvonen, A., Vodickova, L., Naccarati, A., Matousu, Z., and Hemminki, K. Genetic polymorphisms in DNA repair genes and possible links with DNA repair rates, chromosomal aberrations and single-strand breaks in DNA. *Carcinogenesis*, 25: 757-763, 2004.
18. Wang, Y., Spitz, M. R., Zhu, Y., Dong, Q., Shete, S., and Wu, X. From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity. *DNA Repair (Amst)*, 2: 901-908, 2003.
19. Chung, H. H., Kim, M. K., Kim, J. W., Park, N. H., Song, Y. S., Kang, S. B., and Lee, H. P. XRCC1 R399Q polymorphism is associated with response to platinum-based neoadjuvant chemotherapy in bulky cervical cancer. *Gynecol.Oncol.*, 103: 1031-1037, 2006.
20. Giachino, D. F., Ghio, P., Regazzoni, S., Mandrile, G., Novello, S., Selvaggi, G., Gregori, D., DeMarchi, M., and Scagliotti, G. V. Prospective assessment of XPD Lys751Gln and XRCC1 Arg399Gln single nucleotide polymorphisms in lung cancer. *Clin.Cancer Res.*, 13: 2876-2881, 2007.
21. Quintela-Fandino, M., Hitt, R., Medina, P. P., Gamarra, S., Manso, L., Cortes-Funes, H., and Sanchez-Cespedes, M. DNA-repair gene polymorphisms predict favorable clinical outcome among patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck treated with cisplatin-based induction chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*, 24: 4333-4339, 2006.
22. de las, P. R., Sanchez-Ronco, M., Alberola, V., Taron, M., Camps, C., Garcia-Carbonero, R., Massuti, B., Queral, C., Botia, M., Garcia-Gomez, R., Isla, D., Cobo, M., Santarpi, M., Cecere, F., Mendez, P., Sanchez, J. J., and Rosell, R. Polymorphisms in DNA repair genes modulate survival in cisplatin/gemcitabine-treated non-small-cell lung cancer patients. *Ann.Oncol.*, 17: 668-675, 2006.
23. Gurubhagavatula, S., Liu, G., Park, S., Zhou, W., Su, L., Wain, J. C., Lynch, T. J., Neuberg, D. S., and Christiani, D. C. XPD and XRCC1 genetic polymorphisms are prognostic factors in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*, 22: 2594-2601, 2004.
24. Liu, B., Wei, J., Zou, Z., Qian, X., Nakamura, T., Zhang, W., Ding, Y., Feng, J., and Yu, L. Polymorphism of XRCC1 predicts overall survival of gastric cancer patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy in Chinese population. *Eur.J.Hum.Genet.*, 15: 1049-1053, 2007.
25. Stoehmacher, J., Ghaderi, V., Iobal, S., Groshen, S., Tsao-Wei, D., Park, D., and Lenz, H. J. A polymorphism of the XRCC1 gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer. *Anticancer Res.*, 21: 3075-3079, 2001.
26. Arnould, S., Hennebelle, I., Canal, P., Bugat, R., and Guichard, S. Cellular determinants of oxaliplatin sensitivity in colon cancer cell lines. *Eur.J.Cancer*, 39: 112-119, 2003.
27. Dabholkar, M., Vionnet, J., Bostick-Bruton, F., Yu, J. J., and Reed, E. Messenger RNA levels of XPAC and ERCC1 in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. *J.Clin.Invest.*, 94: 703-708, 1994.
28. Ferry, K. V., Hamilton, T. C., and Johnson, S. W. Increased nucleotide excision repair in cisplatin-resistant ovarian cancer cells: role of ERCC1-XPF. *Biochem.Pharmacol.*, 60: 1305-1313, 2000.
29. Metzger, R., Leichman, C. G., Danenberg, K. D., Danenberg, P. V., Lenz, H. J., Hayashi, K., Groshen, S., Salonga, D., Cohen, H., Laine, L., Crookes, P., Silberman, H., Baranda, J., Konda, B., and Leichman, L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*, 16: 309-316, 1998.
30. Shirota, Y., Stoehmacher, J., Brabender, J., Xiong, Y. P., Uetake, H., Danenberg, K. D., Groshen, S., Tsao-Wei, D. D., Danenberg, P. V., and Lenz, H. J. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J.Clin.Oncol.*, 19: 4298-4304, 2001.
31. Goode, E. L., Ulrich, C. M., and Potter, J. D. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.*, 11: 1513-1530, 2002.
32. Suk, R., Gurubhagavatula, S., Park, S., Zhou, W., Su, L., Lynch, T. J., Wain, J. C., Neuberg, D., Liu, G., and Christiani, D. C. Polymorphisms in ERCC1 and grade 3 or 4 toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Clin.Cancer Res.*, 11: 1534-1538, 2005.
33. Zhou, W., Gurubhagavatula, S., Liu, G., Park, S., Neuberg, D. S., Wain, J. C., Lynch, T. J., Su, L., and Christiani, D. C. Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin.Cancer Res.*, 10: 4939-4943, 2004.
34. Yu, J. J., Mu, C., Lee, K. B., Okamoto, A., Reed, E. L., Bostick-Bruton, F., Mitchell, K. C., and Reed, E. A nucleotide polymorphism in ERCC1 in human ovarian cancer cell lines and tumor tissues. *Mutat.Res.*, 382: 13-20, 1997.
35. Yu, J. J., Lee, K. B., Mu, C., Li, Q., Abernathy, T. V., Bostick-Bruton, F., and Reed, E. Comparison of two human ovarian carcinoma cell lines (A2780/CP70 and MCAS) that are equally resistant to platinum, but differ at codon 118 of the ERCC1 gene. *Int.J.Oncol.*, 16: 555-560, 2000.
36. Isla, D., Sarries, C., Rosell, R., Alonso, G., Domine, M., Taron, M., Lopez-Vivanco, G., Camps, C., Botia, M., Nunez, L., Sanchez-Ronco, M., Sanchez, J. J., Lopez-Brea, M., Barneto, I., Paredes, A., Medina, B., Artal, A., and Lianes, P. Single nucleotide polymorphisms and outcome in docetaxel-cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer. *Ann.Oncol.*, 15: 1194-1203, 2004.
37. Park, S. Y., Hong, Y. C., Kim, J. H., Kwak, S. M., Cho, J. H., Lee, H. L., and Ryu, J. S. Effect of ERCC1 polymorphisms and the modification by smoking on the survival of non-small cell lung cancer patients. *Med.Oncol.*, 23: 489-498, 2006.

38. Ryu, J. S., Hong, Y. C., Han, H. S., Lee, J. E., Kim, S., Park, Y. M., Kim, Y. C., and Hwang, T. S. Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer*, 44: 311-316, 2004.

I TAXANI

Il metabolismo ossidativo dei taxani è mediato da diverse isoforme del citocromo P-450, fra cui le isoforme 3A4 e 3A5, caratterizzate da una marcata variabilità inter-individuale, in termini di espressione e attività enzimatica, che può modificare la bio-disponibilità degli stessi taxani. Anche se non completamente chiarita, la causa di questa variabilità può essere ricercata nella presenza di polimorfismi genetici. In particolare, con la sigla CYP3A4*1B viene identificato un polimorfismo (-392 A>G) localizzato a livello della regione regolatoria non tradotta in 5' del gene, che sembra essere correlato ad un aumento del livello di espressione della proteina e dell'efficienza del metabolismo ossidativi ad essa associato^{4,5}. In riferimento all'isoforma CYP3A5, il polimorfismo CYP3A5*3 (6986A>G), situato nell'introne 3 del gene, risulta associato ai livelli di espressione enzimatica. In particolare, l'assenza del polimorfismo (variante CYP3A5*1) in almeno uno dei due alleli portati dal paziente, si riflette in un drammatico incremento del livello di espressione del citocromo CYP3A5, che lo porta a rappresentare il 50% del contenuto totale di enzimi epatici della sottofamiglia CYP3A. La variabilità inter-etnica nella prevalenza di tale polimorfismo può essere associata, quindi, a differenze nel grado di espressione di questa isoforma in diversi gruppi etnici⁶. E' stato riportato come tali variazioni genetiche, e il relativo cambio di espressione e attività degli enzimi corrispondenti, si possano riflettere, infine, in una alterazione del metabolismo dei composti e farmaci substrati di CYP3A4 e CYP3A5, tra cui appunto i taxani, con potenziali conseguenze sulla tossicità prodotta nel paziente⁷⁻¹¹.

I taxani rappresentano inoltre un substrato per il trasportatore di membrana glicoproteina-P (P-gp), appartenente alla famiglia delle *ATP binding cassette proteins* e codificato dal gene ABCB1. Alterazioni genetiche del gene ABCB1, associate a variazioni dell'attività e/o dell'espressione di tale trasportatore, possono causare oscillazioni nei livelli intracellulari di farmaco con conseguenze sul suo potere citotossico^{12,13}. In particolare, il polimorfismo 3435C>T nell'esone 26 del gene, è risultato associato a variazioni nel livello di espressione di P-gp¹⁴⁻¹⁶ e nell'efficienza di trasporto intra-cellulare delle molecole che ne costituiscono un substrato, come ad esempio la digossina¹⁷. Il polimorfismo 3435C>T del gene ABCB1, è stato inoltre implicato nello sviluppo di effetti tossici associati alla chemioterapia con taxani. In particolare, in un'analisi condotta su 58 pazienti con tumori solidi trattati con docetaxel, i pazienti portatori del genotipo 3435TT sono risultati esposti ad una maggiore tossicità ematologica¹⁰. Inoltre, uno studio effettuato su 26 pazienti con tumori solidi in fase avanzata, trattati con paclitaxel, ha evidenziato che gli individui portatori di almeno un allele variante 3435T presentavano un significativo aumento del rischio di sviluppare neutropenia e neuropatia periferica associate alla terapia¹⁸. Alcuni autori hanno suggerito inoltre un effetto del polimorfismo 1236 C>T situato nell'esone 12 del gene ABCB1 e in *linkage disequilibrium* con la variazione 3435C>T, sulla stabilità dell'mRNA e, conseguentemente, sull'espressione genica¹⁹. A supporto di un'associazione tra la mutazione 3435C>T e la farmacocinetica dei taxani sono stati pubblicati recentemente due studi clinici, che suggeriscono un possibile ruolo del polimorfismo nell'influenzare la *clearance* del docetaxel e del paclitaxel^{20,21}. Tali associazioni giustificano la probabile implicazione dei polimorfismi a carico del gene ABCB1 nell'esposizione sistemica al farmaco e quindi nello sviluppo di effetti tossici conseguenti alla terapia.

Riferimenti bibliografici

- Kuehl, P., Zhang, J., Lin, Y., Lamba, J., Assem, M., Schuetz, J., Watkins, P. B., Daly, A., Wrighton, S. A., Hall, S. D., Maurel, P., Relling, M., Brimer, C., Yasuda, K., Venkataramanan, R., Strom, S., Thummel, K., Boguski, M. S., and Schuetz, E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet JID* - 9216904, 27: 383-391, 2001.
- Goto, M., Masuda, S., Kiuchi, T., Ogura, Y., Oike, F., Okuda, M., Tanaka, K., and Inui, K. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics*, 14: 471-478, 2004.
- Hesselink, D. A., van Gelder, T., van Schaik, R. H., Balk, A. H., van, d. H., I, van Dam, T., van der, W. M., Weimar, W., and Mathot, R. A. Population pharmacokinetics of cyclosporine in kidney and heart transplant recipients and the influence of ethnicity and genetic polymorphisms in the MDR-1, CYP3A4, and CYP3A5 genes. *Clin.Pharmacol.Ther.*, 76: 545-556, 2004.
- Min, D. I. and Ellingrod, V. L. Association of the CYP3A4*1B 5'-flanking region polymorphism with cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther.Drug Monit.*, 25: 305-309, 2003.
- Tran, A., Jullien, V., Alexandre, J., Rey, E., Rabillon, F., Girre, V., Dieras, V., Pons, G., Goldwasser, F., and Treluyer, J. M. Pharmacokinetics and toxicity of docetaxel: role of CYP3A, MDR1, and GST polymorphisms. *Clin.Pharmacol.Ther.*, 79: 570-580, 2006.
- Zheng, H., Webber, S., Zeevi, A., Schuetz, E., Zhang, J., Bowman, P., Boyle, G., Law, Y., Miller, S., Lamba, J., and Burckart, G. J. Tacrolimus dosing in pediatric heart transplant patients is related to CYP3A5 and MDR1 gene polymorphisms. *Am.J.Transplant.*, 3: 477-483, 2003.
- Kamazawa, S., Kigawa, J., Kanamori, Y., Itamochi, H., Sato, S., Iba, T., and Terakawa, N. Multidrug resistance gene-1 is a useful predictor of Paclitaxel-based chemotherapy for patients with ovarian cancer. *Gynecol Oncol JID* - 0365304, 86: 171-176, 2002.
- Yeh, J. J., Hsu, W. H., Wang, J. J., Ho, S. T., and Kao, A. Predicting chemotherapy response to paclitaxel-based therapy in advanced non-small-cell lung cancer with P-glycoprotein expression. *Respiration JID* - 0137356, 70: 32-35, 2003.

14. Hitzl, M., Drescher, S., van der, K. H., Schaffeler, E., Fischer, J., Schwab, M., Eichelbaum, M., and Fromm, M. F. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics*, *11*: 293-298, 2001.
15. Hoffmeyer, S., Burk, O., von Richter, O., Arnold, H. P., Brockmoller, J., John, A., Cascorbi, I., Gerloff, T., Roots, I., Eichelbaum, M., and Brinkmann, U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, *97*: 3473-3478, 2000.
16. Wang, D., Johnson, A. D., Papp, A. C., Kroetz, D. L., and Sadee, W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet.Genomics*, *15*: 693-704, 2005.
17. John, A., Kopke, K., Gerloff, T., Mai, I., Rietbrock, S., Meisel, C., Hoffmeyer, S., Kerb, R., Fromm, M. F., Brinkmann, U., Eichelbaum, M., Brockmoller, J., Cascorbi, I., and Roots, I. Modulation of steady-state kinetics of digoxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. *Clin.Pharmacol.Ther.*, *72*: 584-594, 2002.
18. Sissung, T. M., Mross, K., Steinberg, S. M., Behringer, D., Figg, W. D., Sparreboom, A., and Mielke, S. Association of ABCB1 genotypes with paclitaxel-mediated peripheral neuropathy and neutropenia. *Eur.J.Cancer*, *42*: 2893-2896, 2006.
19. Frittitta, L., Ercolino, T., Bozzali, M., Argiolas, A., Graci, S., Santagati, M. G., Spampinato, D., Di Paola, R., Cisternino, C., Tassi, V., Vigneri, R., Pizzuti, A., and Trischitta, V. A cluster of three single nucleotide polymorphisms in the 3'-untranslated region of human glycoprotein PC-1 gene stabilizes PC-1 mRNA and is associated with increased PC-1 protein content and insulin resistance-related abnormalities. *Diabetes*, *50*: 1952-1955, 2001.
20. Bosch, T. M., Huitema, A. D., Doodeman, V. D., Jansen, R., Witteveen, E., Smit, W. M., Jansen, R. L., van Herpen, C. M., Soesan, M., Beijnen, J. H., and Schellens, J. H. Pharmacogenetic screening of CYP3A and ABCB1 in relation to population pharmacokinetics of docetaxel. *Clin.Cancer Res.*, *12*: 5786-5793, 2006.
21. Yamaguchi, H., Hishinuma, T., Endo, N., Tsukamoto, H., Kishikawa, Y., Sato, M., Murai, Y., Hiratsuka, M., Ito, K., Okamura, C., Yaegashi, N., Suzuki, N., Tomioka, Y., and Goto, J. Genetic variation in ABCB1 influences paclitaxel pharmacokinetics in Japanese patients with ovarian cancer. *Int.J.Gynecol.Cancer*, *16*: 979-985, 2006.