



Azienda Ospedaliera "Maggiore della Carità"
Università degli studi del Piemonte Orientale
Divisione Universitaria di Radioterapia
Direttore Prof. Marco Krengli



Ruolo dei polimorfismi del DNA mitocondriale nello sviluppo della tossicità sottocutanea tardiva radioindotta in pazienti affette da tumore mammario radiotrattate dopo chirurgia conservativa

S.Terrazzino¹, L.Deantonio^{2,3}, S.Cargnin¹, **L.Donis**³, C.Pisani³, L.Masini³, G.Gambaro³, P.L.Canonico¹, A.A. Genazzani¹, M.Krengli^{2,3}

¹Dipartimento di Scienze del Farmaco e Centro di Ricerca Interdipartimentale di Farmacogenetica e Farmacogenomica (CRIFF), Università degli studi del Piemonte Orientale, Novara. ²Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università degli studi del Piemonte Orientale, Novara. ³Radioterapia A.O.U. "Maggiore della Carità", Novara.



La diversa suscettibilità dei tessuti sani al danno radioindotto ha una genesi multifattoriale, dipende da:

- ✓ caratteristiche di trattamento (dose totale, frazionamento, tecnica)^{1,2}
- ✓ fattori clinici (età, stile di vita, comorbidità)³
- ✓ **componenti genetiche** (polimorfismi nucleotidici del DNA nucleare (SNPs))

Prediction of normal tissue radiosensitivity from

Radiotherapy and Oncology 103 (2012) 199–205

Chri
Dep



Genetic predi
Common
in breast
Salvatore Te
Pier Luigi C

Clinical Investigation: Breast Cancer

**Common Variants of GSTP1, GSTA1, and TGFβ1
are Associated With the Risk of Radiation-Induced
Fibrosis in Breast Cancer Patients**

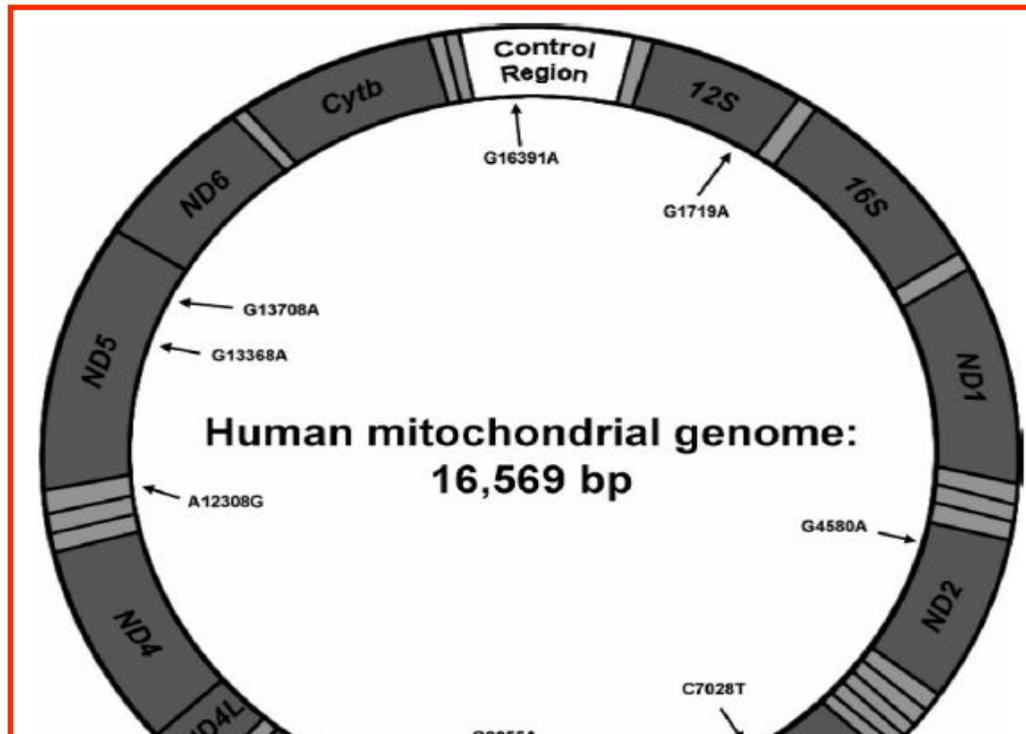
Salvatore Terrazzino, Ph.D.,* Pierdaniele La Mattina, M.D.,†
Giuseppina Gambaro, M.D.,† Laura Masini, M.D.,† Pierfrancesco Franco, M.D.,†
Pier Luigi Canonico, M.D.,* Armando A. Genazzani, M.D.,* and Marco Krenagli, M.D.‡

*DISCAFF and Centro di Ricerca Interdipartimentale di Farmacogenetica e Farmacogenomica, †DMCS and BRMA,
University of Piemonte Orientale "Avogadro"; and ‡Department of Radiotherapy, University Hospital Maggiore della
Carità, Novara, Italy

Received Mar 17, 2011, and in revised form Jun 8, 2011. Accepted for publication Jun 29, 2011

International Journal of
Radiation Oncology
biology • physics
www.redjournal.org

Componenti genetiche: polimorfismi nucleotidici del DNA mitocondriale (mtDNA)



- ✓ doppia elica circolare
- ✓ 37 geni
- ✓ 13 codificano per enzimi della catena respiratoria



✓ polimorfismi nucleotidici potrebbero alterare la respirazione mitocondriale determinando un aumento della produzione di specie

Involvement of Mitochondrial DNA Sequence Variations and Respiratory Activity in Late Complications following

Radiogenomics

Evaluating the role of mitochondrial DNA variation to the genetic predisposition to radiation-induced toxicity



Laura Fachal^a, Ana Mosquera-Miguel^b, Antonio Gómez-Caamaño^c, Manuel Sánchez-García^d, Patricia Calvo^c, Ramón Lobato-Busto^d, Antonio Salas^{b,*}, Ana Vega^{a,*}



- ✓ Studio condotto in collaborazione con il dipartimento di Scienze del Farmaco
- ✓ Individuazione di correlazione tra polimorfismi genici del mtDNA e rischio di sviluppare fibrosi sottocutanea di grado moderato o severo in 286 pazienti affette da carcinoma mammario e sottoposte a radioterapia adiuvante dopo chirurgia conservativa

- ✓ 286 pazienti arruolate
- ✓ diagnosi di carcinoma mammario
- ✓ quadrantectomia e radioterapia adiuvante (50 Gy + boost su letto chir)
- ✓ tra il 1989 ed il 2009



- ✓ valutazione tossicità sottocutanea tardiva radioindotta (fibrosi) con riferimento alla scala LENT-SOMA
- ✓ 2 gruppi: pz con tossicità tardiva moderata/severa (fibrosi G2-G3: 51pz) e pz con tossicità assente/lieve (fibrosi G0-G1: 235 pz)
- ✓ follow up mediano 117 mesi

- ✓ prelievo di sangue periferico, conservato in frigorifero a 4°C fino all'analisi
- ✓ analisi di mtDNA effettuata mediante polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLPA)

HAPLO GROUP	G1719A	G4580A	C7028T	G9055A	A10398G	A12308G	G13368A	G13708A
H	G	G	C	G	A	A	G	G
I	A	G	T	G	G	A	G	G
J	G	G	T	G	G	A	G	A
K	G	G	T	A	G	G	G	G
T	G	G	T	G	A	A	A	G
U	G	G	T	G	A	G	G	G
V	G	A	T	G	A	A	G	G
W	G	G	T	G	A	A	G	G
X	A	G	T	G	A	A	G	G

Aplogruppi che rappresentano il 95% della popolazione caucasica

Polymorphism	PCR – Primers		Annealing	Restriction	Allele sizes
G1719A	G1719A	G4580A	C7028T	G9055A	
G4580A					
C7028T					
G9055A					
A10398G	A10398G	G12308A	G13368A	G13708A	
A12308G					
G13368A					
G13708A					

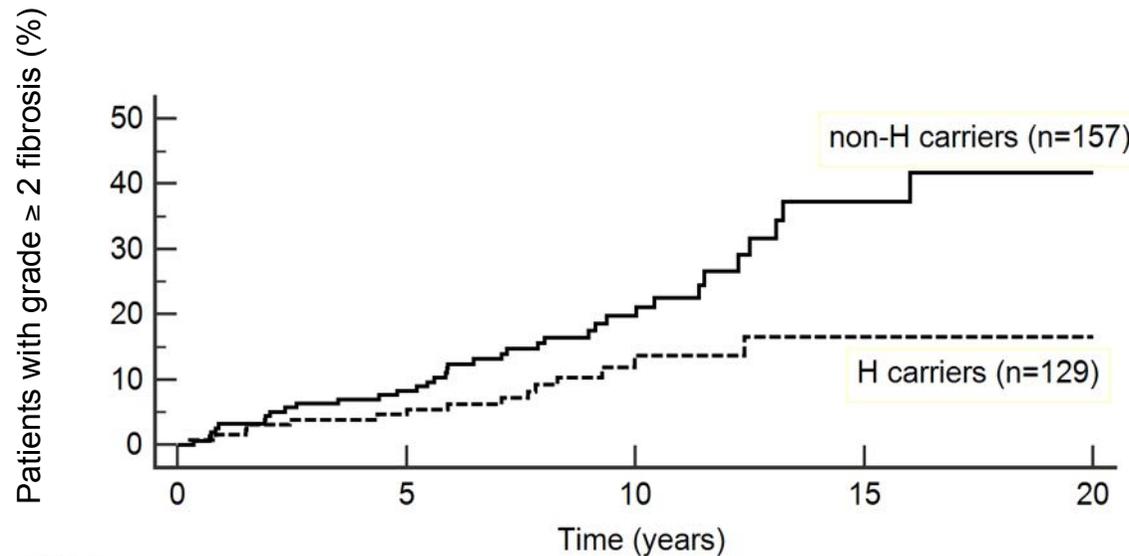
Genotipizzazione eseguita mediante PCR seguita da digestione con enzimi di restrizione (PCR-RFLP)

Prodotti della digestione enzimatica separati mediante corsa elettroforetica su gel d' agarosio

Variable	HR (95% CI)	P value
Haplogroup		
H	1 (reference)	
J	2.82 (1.22-6.53)	0.016
K	1.59 (0.45-5.64)	0.47
T	1.34 (0.51-3.56)	0.56
U	2.88 (1.21-6.90)	0.017
V	1.54 (0.34-6.96)	0.58
IXW	1.26 (0.36-4.42)	0.72
Other	2.18 (0.78-6.11)	0.14
BMI	1.01 (0.94-1.10)	0.73
Breast diameter	1.08 (0.95-1.23)	0.22
Dose/fraction, Gy		
2	1 (reference)	
1.8	0.23 (0.03-1.84)	0.17
Acute skin toxicity, RTOG grade		
0-1	1 (reference)	
2-3	1.54 (0.84-2.81)	0.16
Post-surgical complications		
None	1 (reference)	
Seromas and hematomas	0.50 (0.19-1.28)	0.15
Radiation quality		
X-rays	1 (reference)	
-rays	0.31 (0.07-1.39)	0.13
Adjuvant treatment		
None	1 (reference)	
Chemotherapy (C)	1.13 (0.40-3.19)	0.82
Hormone Therapy (HT)	1.43 (0.57-3.56)	0.44
C+HT	1.84 (0.66-5.13)	0.24

- ✓ Nessuna delle variabili cliniche emerge come fattore predittivo indipendente di fibrosi di grado ≥ 2 ($p < 0,05$)
- ✓ Aplograppo J (vs H, HR 2,82, $p=0,016$) e aplograppo U (vs H, HR 2,88, $P=0,017$) conferiscono più alto rischio di fibrosi di grado ≥ 2

Curva di Kaplan-Meier



Number at risk						
Group: non-H	157	140	61	16	6	
Group: H	129	120	48	9	3	

La probabilità cumulativa di fibrosi di grado ≥ 2 è funzione del tempo in relazione alla presenza o assenza dell'aplogruppo H

Aplogruppo H associato con minor rischio di fibrosi di grado ≥ 2 (log-rank test: **P= 0.018**)

Analisi di regressione multivariata di Cox corretta per i fattori clinici (BMI, diametro mammario, trattamenti adiuvanti, frazionamento, tipo di radiazioni utilizzato, grado di tossicità acuta)

Haplogroup	G0-1 (Controls) n (%)	G2-3 (Cases) n (%)	HR* (95% CI)	P value
H				
No	121 (51.5)	36 (70.6)	1 (reference)	0.027
Yes	114 (48.5)	15 (29.4)	0.50 (0.27-0.92)	
J				
No	217 (92.3)	42 (82.4)	1 (reference)	0.056
Yes	18 (7.7)	9 (17.6)	2.06 (0.99-4.29)	
K				
No	223 (94.9)	48 (94.4)	1 (reference)	0.96
Yes	12 (5.1)	3 (5.9)	1.03 (0.32-3.38)	
T				
No	209 (88.9)	45 (88.2)	1 (reference)	0.73
Yes	26 (11.1)	6 (11.8)	0.85 (0.35-2.06)	
U				
No	214 (91.1)	43 (84.3)	1 (reference)	0.061
Yes	21 (8.9)	8 (15.7)	2.10 (0.97-4.53)	
V				
No	228 (97.3)	49 (96.1)	1 (reference)	1.00
Yes	7 (3.0)	2 (3.9)	1.00 (0.23-4.28)	
IXW				
No	216 (91.9)	48 (90.2)	1 (reference)	0.70
Yes	19 (7.7)	3 (5.9)	0.79 (0.24-2.60)	
Other				
No	217 (92.3)	46 (90.2)	1 (reference)	0.41
Yes	18 (7.7)	5 (9.8)	1.49 (0.58-3.82)	

Pazienti portatrici dell'aplogruppo H hanno più basso rischio di sviluppare fibrosi di grado ≥ 2

- evidenza di un ruolo protettivo dell'aplogruppo H nei confronti dello sviluppo della fibrosi radioindotta in pazienti trattate per carcinoma mammario
- i polimorfismi del mtDNA potrebbero spiegare, almeno in parte, le differenze interindividuali nello sviluppo della tossicità tardiva radioindotta
- studi prospettici su larga scala sono necessari per chiarire il valore di questi dati e consentire l'uso dell'aplogruppo del mtDNA come biomarcatore predittivo della tossicità allo scopo di individuare strategie di trattamento sempre più individualizzate



Grazie per l'attenzione