

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 35 – Dicembre 2011**

---

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

---

**Sommario**

- Il polimorfismo P1 c.313A>G del Glutatione S-transferasi potrebbe essere utile per predire la risposta alla doxorubicina nei pazienti con tumore alla mammella
- Biomarcatori polimorfici associati a neuropatia cronica periferica grave in pazienti con tumore al colon in trattamento con oxaliplatino
- Polimorfismi genetici in metilene-tetraidrofolato reductasi e tossicità a chemio radiazioni 5-FU-based nel cancro rettale
- Un'ampia indagine gene-candidato identifica il polimorfismo KCNE1 D85N come possibile modulatore della torsione di punta indotta da farmaci
- Influenza di polimorfismi su *ABCB1* e *ABCC3* sulla sopravvivenza dopo chemioterapia in pazienti affetti da osteosarcoma
- Polimorfismi della Metalloproteinasi di Matrice 2 ed *outcome* in pazienti Cinesi con tumore del polmone non a piccole cellule trattato con chemioterapia di prima linea a base di platino

**La metanalisi del mese**

- Genotipi associati a ridotta attività enzimatica CYP2C19 e rischio di eventi cardiovascolari in pazienti in trattamento con clopidogrel dopo intervento coronarico percutaneo: risultati di una metanalisi

---

**IL POLIMORFISMO P1 C.313A>G DEL GLUTATIONE S-TRANSFERASI POTREBBE ESSERE UTILE PER PREDIRE LA RISPOSTA ALLA DOXORUBICINA NEI PAZIENTI CON TUMORE ALLA MAMMELLA**

Dott.ssa Elisa Paolicchi e del Dott. Francesco Crea

Le Antracicline, nonostante gli effetti tossici piuttosto gravi a livello del midollo osseo e cardiovascolare, sono comunemente usate nel trattamento del tumore alla mammella. L'enzima, Glutatione S-transferasi (GST) catalizza la detossificazione dei farmaci chemioterapici e dei loro metaboliti, attraverso la coniugazione con il glutatione. Alcuni polimorfismi di GST sono stati associati con la risposta al trattamento in pazienti con tumore alla mammella. I geni *GSTM1* e *GSTT1* presentano un polimorfismo caratterizzato dalla delezione della maggior parte della regione codificante del gene, che risulta nella perdita di attività dell'enzima. *GSTP1* c.313A>G, determina la sostituzione dell'aminoacido isoleucina con la valina (Ile105Val), l'enzima contenente la Val presenta una minore attività rispetto a quello contenente la Ile. Il genotipo *GSTP1* G/G e la delezione omozigote di *GSTM1* e *GSTT1* sono associati ad una migliore

sopravvivenza in pazienti con tumore alla mammella. Pazienti omozigoti per GSTA1\*B presentano un aumento della sopravvivenza globale.

L'obiettivo dello studio è di valutare i polimorfismi GSTM1, GSTT1, GSTP1 c.313A>G (rs1695), GSTA1 g. 52608687A>G (rs3957357) e GSTA1 g.52609185C>A (rs4715332) in pazienti con tumore alla mammella trattati con doxorubicina "versus" docetaxel e l'espressione di questi geni nel tessuto tumorale della mammella.

Lo studio randomizzato a due bracci si è svolto presso l'Ospedale clinico San Carlos di Madrid in Spagna. Sono stati arruolati 159 pazienti secondo i seguenti criteri d'inclusione: la diagnosi di tumore alla mammella localmente avanzato e il trattamento in prima linea con chemioterapia. È stato escluso dallo studio chi aveva malattie cardiache, frazione di eiezione ventricolare sinistra <55%, neuropatia sensoriale di grado 2 o maggiore e altre malattie o condizioni mediche gravi. Dopo randomizzazione, ai pazienti sono stati assegnati 4 cicli di doxorubicina (75 mg/m<sup>2</sup>) o di docetaxel (100 mg/m<sup>2</sup>) ogni 3 settimane, seguiti poi da chirurgia. La resistenza a chemioterapia è stata valutata attraverso il "Residual breast Cancer Burden" (RCB).

L'endpoint primario di questo studio era quello di verificare possibili associazioni tra i polimorfismi di GSTT1, GSTM1, GSTA1 e GSTP1 con la risposta al trattamento (docetaxel o doxorubicina) in pazienti con tumore alla mammella. L'endpoint secondario era quello di valutare l'espressione di GSTs nel tessuto tumorale della mammella.

Tutte le donne incluse nello studio erano caucasiche. La media dell'età alla diagnosi era 52,43 anni (DS 13,21). Tra le 159 pazienti, 74 (46,5%) erano GSTM1 null e 30 (18,9%) erano GSTT1 null. La genotipizzazione di GSTP1 c.313A>G ha identificato 65 A/A (40,9%), 75 A/G (47,2%) e 19 G/G (11,9%). Per GSTA1, 44 donne erano \*A/\*A (27,7%), 87 erano \*A/\*B (54,7%) e 28 erano \*B/\*B (17,6%). 86 pazienti sono state trattati con doxorubicina e 73 con docetaxel. Nell'analisi uni-variata, RCB III era associato con i recettori estrogenici e progestinici (RE P=0,027, RP P=0,029) nei pazienti trattati con doxorubicina, non sono state identificate correlazioni nel braccio di trattamento con docetaxel. Nel braccio doxorubicina i pazienti con GSTP1 c.313 GG presentavano un più basso rischio alla chemioresistenza (OR 0,101; CI 0.012-0,818; P=0,013) e un più basso RCB (P=0,016). Su 67 biopsie, 10 (14,9%) erano "basal-like", 13 (19,4%) "Claudin-low", 9 (13,4%) Her2 positivi, 12 (17,9%) "luminal A", 17 (25,4%) "luminal B" e 6 (9%) "normal-like". L'espressione di GSTA1, GSTT1 e GSTM1 non differisce tra i sottotipi molecolari di tumore alla mammella. L'espressione di GSTP1 invece varia notevolmente tra i sottotipi molecolari (P=0,0001), nei tumori "luminal A e B" è più basso e più alto nei tumori "basal-like", Claudin-low", Her2-positivi e "normal-like". I valori dell'espressione di GSTP1 misurati con la Q-PCR e quelli con i microarray correlano reciprocamente (Pearson correlation coefficient, 0,809; CI 0,689; P<0,0001).

Romero A et al. hanno studiato la possibile associazione tra i polimorfismi di GSTT1, GSTM1, GSTA1 e GSTP1 e la risposta al trattamento in pazienti con tumore alla mammella localmente avanzato. I pazienti GG per GSTP1 presentavano un più basso rischio alla chemioresistenza con doxorubicina ma non con docetaxel. Studi in letteratura, dimostrano che varianti alleliche di GSTP1, presentano diverse attività specifiche nella coniugazione del glutatione ad agenti chemioterapici *in vitro*. Questo risultato è coerente con l'ipotesi che le differenze di attività dei diversi GST, determinerebbero l'efficacia al trattamento, in particolare nei farmaci che esercitano il loro meccanismo di azione attraverso la generazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS). Per quanto riguarda i genotipi di GSTM1, GSTT1, GSTA1 e la risposta al trattamento, non hanno trovato una significativa associazione. Questo risultato è in disaccordo con gli studi in letteratura e questo può essere dovuto alla differenza di popolazione tra il loro studio e quelli riportati. In questo studio non sono state identificate associazioni tra i genotipi di GST e la risposta al docetaxel. Il polimorfismo GSTP1 c.313A>G è l'unico che presenta una forte associazione con l'efficacia della doxorubicina, questo potrebbe essere dovuto ad una sorta di specializzazione tra i GST che catalizzano la coniugazione del glutatione ridotto e i composti elettrofili. La Doxorubicina, contiene un chinone che può essere ridotto a semichinone e in presenza di molecole dell'ossigeno, generare l'anione superossido. Questo processo risulta nella formazione di un numero significativo di ROS che mediano l'ossidazione delle proteine e la perossidazione dei lipidi, oltre che la formazione di basi propenali. GSTP1 è particolarmente attivo nel catalizzare le reazioni con i derivati propenali, mentre GSTA1 e GSTM1 sono più attivi con i prodotti di perossidazione lipidica. Questi dati suggeriscono che diversi GST, possono avere diverse affinità per diversi farmaci e loro metaboliti, quindi i polimorfismi di GST sono potenziali modificatori della risposta al trattamento, in modo

specifico per una terapia. Molti studi dimostrano che GSTP1 è espresso maggiormente nel tessuto del tumore alla mammella. Romero A et al. specificano che l'espressione di GSTP1, varia significativamente nei diversi sottotipi molecolari del tumore alla mammella. Il relativo beneficio delle antracicline non è stato testato per ogni specifico sottotipo molecolare e nello stesso modo potrebbe essere valutato l'uso clinico potenziale di fattori predittivi tra i vari sottotipi molecolari del tumore alla mammella. Per concludere, i dati di Romero A et al suggeriscono che gli enzimi GST potrebbe essere considerati come modificatori della risposta al trattamento. In modo particolare, GSTP1 potrebbe costituire un altro biomarker che contribuisca all'individualizzazione della terapia basata sulle antracicline.

STP1 c.313A>G è associato con un più basso rischio di chemioresistenza da doxorubicina. L'aspetto innovativo dello studio è quello di tentare di stabilire il valore predittivo del polimorfismo GSTP1 c.313A>G in pazienti trattati in monochemioterapia con doxorubicina.

Dallo studio è inoltre emerso che:

1. In analisi multi-variata, i pazienti omozigoti GG per GSTP1 c.313A>G avevano un più basso rischio di chemioresistenza quando trattati con doxorubicina (OR 0,106; CI: 0,012-0,898; P=0,040);
2. non sono state trovate associazioni nel braccio dei pazienti trattati con docetaxel;
3. l'espressione di GSTP1 variava significativamente tra i vari sottotipi molecolari;
4. GSTP1 potrebbe contribuire alla individualizzazione della terapia basata sulle antracicline.

**Parole chiave:** Tumore alla mammella, GSTP1, doxorubicina

#### Riferimento bibliografico

Romero A et al. *Ann Oncol.* 2011 Nov 2. [Epub ahead of print]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22052985>

## BIOMARCATORI POLIMORFICI ASSOCIATI A NEUROPATIA CRONICA PERIFERICA GRAVE IN PAZIENTI CON TUMORE AL COLON IN TRATTAMENTO CON OXALIPLATINO

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e della Dott.ssa Santa Mundi

Il trattamento adiuvante e di prima linea nei pazienti con tumore avanzato del colon-retto (CRC) prevede l'utilizzo di una chemioterapia basata sulla combinazione di oxaliplatino o irinotecano in associazione ad una fluoropirimidina (FOLFOX o FOLFIRI), con l'aggiunta o meno di leucovorin. Il principale problema nell'utilizzo di un trattamento contenente oxaliplatino è lo sviluppo di una neuropatia cumulativa periferica (OXCPN), dipendente da vari fattori, tra cui schedula di trattamento, tempo di infusione, dose di oxaliplatino, neuropatia periferica pregressa. Nel tentativo di identificare altri fattori di rischio per lo sviluppo della OXCPN, molti studi hanno esaminato il ruolo di varianti geniche di enzimi collegati al metabolismo dell'oxaliplatino. L'enzima maggiormente studiato è la glutatione-S-transferasi, isoforma P1 (GSTP1) ma i risultati di associazione tra varianti genetiche e neurotossicità sono molto discordanti. Inoltre, anche geni coinvolti nel meccanismo di riparazione del DNA, o fattori di crescita epidermici sono stati esaminati nell'intento di identificare polimorfismi associati con la OXCPN, ma senza particolari evidenze. A questo scopo Hong-Hee Won et al. (Cancer, 2011) hanno condotto uno studio di *genome wide association* (GWA) per identificare potenziali marcatori per la OXCPN.

Nello studio condotto da Hong-Hee Won et al., è stata messa a punto un'analisi di tipo GWA su DNA estratto da sangue periferico di 96 pazienti in trattamento adiuvante con FOLFOX, ed i dati risultanti sono stati validati su altri 247 pazienti che ricevevano oxaliplatino come prima linea chemioterapica per la malattia avanzata. Il grado di OXCPN è stato valutato attraverso una visita neurologica e classificato in base ai criteri del National Cancer Institute, mentre le analisi dei polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) sono state effettuate con Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0. Gli SNPs identificati nella prima fase dello studio sono stati in seguito validati con il sistema MassARRAY (Sequenom, Inc, San Diego, California). L'associazione tra ogni SNP e lo sviluppo di OXCPN è stata analizzata con il test di Fisher. Dalle analisi condotte sul DNA dei 96 pazienti arruolati inizialmente sono risultati significativamente

associati a sviluppo di OXCPN 9 SNPs su 32 geni: precursore 1 della tachichinina [TAC1]; *forkhead box C1* [FOXC1]; integrina alfa 1 [ITGA1]; acilfosfatasi 2 [ACYP2]; gene deleto nelle cellule di leucemia linfocitica cronica [DLEU7]; gene 4 per la traslocazione delle cellule B [BTG4]; inibitore 1 della proteina chinasi II calcio/calmodulina-dipendente [CAMK2N1]; fenilalanina-tRNA sintetasi 2 [FARS2].

L'associazione statisticamente più significativa è stata identificata per lo SNP rs10486003 nel gene TAC1 in entrambi i gruppi di pazienti analizzati. A conferma di questo dato, è noto infatti che il gene TAC1 codifica per 4 prodotti ormonali (sostanza P, neurochinina A, neuropeptide K e Y) che possono funzionare come neurotrasmettitori ed interagire con i recettori neurali e le cellule muscolari lisce. Gli SNPs rs10486003, rs2338, rs830884, rs843748 e rs797519 hanno mostrato un valore statisticamente significativo solo all'analisi di regressione multipla.

Lo SNP rs10486003 del gene TAC1, ha mostrato un'associazione statisticamente significativa con lo sviluppo di OXCPN grave e sembrerebbe quindi essere un buon marcatore poiché il gene TAC1 è implicato nella formazione di peptidi neurotrasmettitori.

I geni analizzati in questo studio potrebbero essere promettenti nuovi biomarcatori per l'identificazione del rischio di sviluppare OXCPN. Il polimorfismo del gene TAC1 potrebbe essere utilizzato come fattore di rischio dello sviluppo di neurotossicità da oxaliplatino dopo un'opportuna validazione prospettica in studi clinici più ampi.

**Parole chiave:** neurotossicità, polimorfismi, oxaliplatino, tumore del colon

#### Riferimento bibliografico

Won HH et al. *Cancer* 2011 Oct 21 [Epub ahead of print]  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22020760>

---

## POLIMORFISMI GENETICI IN METILENETETRAIDROFOLATO REDUTTASI E TOSSICITÀ A CHEMIO RADIAZIONI 5-FU-BASED NEL CANCRO RETTALE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

La chemio-radiazione *5-FU-based* rappresenta al momento la *gold standard therapy* per il trattamento del cancro rettale localmente avanzato. Il trattamento preoperatorio era associato a rischi più bassi di ricorrenze localizzate e a tossicità minore se comparato con la sola chemioterapia (RT) o con chemio radiazioni postoperatorie (CRT). *Downstaging* patologico (DS) o una risposta patologica completa (pCR) in seguito a CRT preoperatoria sono state correlate con una miglior *survival* e minor ricorrenze; le percentuali di pCRT e DS osservate con CRT 5-FU-based sono state del 10-20% e 50-60% rispettivamente.

Il 5-fluorouracile è un metabolita di un analogo pirimidinico che inibisce la sintesi del DNA e dell'RNA; il meccanismo d'azione principale consiste nell'inibizione della timidilato sintasi (TS) tramite un metabolita attivo, fluorodeossiuridina monofosfato (FdUMP), il quale forma un complesso inattivo ternario con TS e 5-10-metilenetetraidrofolato (MTHF); l'inibizione ottimale della TS richiede un elevato livello di MTHF che è regolato dall'enzima metilenetetraidrofolato reduttasi (MTHFR). Come conseguenza di ciò si presume che le attività di TS e MTHFR possano essere i maggiori determinanti della risposta a 5-FU; date tali premesse, in questo studio sono stati presi in considerazione polimorfismi genetici con impatto funzionale sull'attività e/o sull'espressione di entrambi i geni.

Un polimorfismo situato in una regione enhancer del promotore (TSER) di TS, costituito da ripetizioni in tandem di 28 bp è implicato nell'espressione dell'mRNA di TS e nell'efficienza traslazionale; gli alleli più comuni sono la doppia ripetizione 2R (TSER\*2) e la tripla 3R (TSER\*3). TSER\*3 in omozigosi sembra essere associato ad una risposta diminuita a CRT *5-FU-based*. Sulla base di queste premesse è stato condotto uno studio prospettico non randomizzato usando la genotipizzazione di TYMS per pazienti trattati con CRT *5-FU based* con cancro rettale localizzato e metastatico. Soggetti con TSER \*2\*2 o \*2\*3 considerati "good risk" per un outcome favorevole al 5-FU sono stati trattati con CRT standard; pazienti denominati "poor risk", con TSER \*3\*3 o \*3\*4, che, con scarse probabilità avrebbero mostrato una buona risposta al 5-FU,

sono stati trattati con irinotecan in aggiunta a 5-FU\CRT; è stato sviluppato uno studio retrospettivo farmaco genetico complementare volto ad investigare SNPs in geni coinvolti nei *pathways* del 5-FU e dell'irinotecan per stabilire un loro possibile ruolo nel predire outcome o tossicità.

I criteri di esclusione dei soggetti sono stati: radiazioni pelviche antecedenti, presenza di tumori nei 5 anni precedenti lo studio (con esclusione del cancro alla pelle e alla cervice), allergia all'irinotecan o al 5-FU.

Pazienti con almeno un allele \*2 (\*2\*2 , \*2\*3 , \*2\*4) sono stati assegnati al gruppo 1 e trattati con la terapia preoperatoria CRT standard: la radioterapia ha previsto un totale di 45-50 Gy; parallelamente è stata somministrata una dose di 225mg/m<sup>2</sup> di 5-FU in infusione intravenosa giornaliera; a pazienti con genotipo \*3\*3 o \*3\*4, assegnati al gruppo 2, in aggiunta è stata somministrato irinotecan intravena alla dose di 50mg/m<sup>2</sup> per 5 settimane. Il downstaging clinico e la resezione della lesione primaria sono stati effettuati 6-10 settimane dopo il completamento della terapia preoperatoria.

Sono stati studiati un pannello di nove polimorfismi, TYMS G>C rs2853542, rs 2853533, G>A rs2847153, MTHFR 677C>T rs1801133, 1298 A>C rs1801131, DPYD\*2A rs3918290; in aggiunta per l'irinotecano UGT1A1(TA)<sub>n</sub> rs8175347, -3156G>A rs10929302, ABCC1 rs3765129, SLCO1B1 rs2306283. Per gli SNPs di MTHFR 677C>T e 1298 A>C sono stati analizzati anche l'aplotipo (4 aplotipi, TC 0.38%, CA 35.9%, CC 32.4%, TA 31.3%)

Tutti gli SNPs sono risultati in HWE sia per l'intera popolazione (n = 131) che per la sola popolazione di etnia caucasica (n = 111); è stata valutata la relazione tra varianti genetiche ed incidenza di tossicità (grado 3 e 4), risposta tumorale (misurata come ypT0 – risposta tumorale completa definita come assenza del tumore dal retto – e come DS - decremento nella fase T del tumore primario), overall e disease-free survival.

Della popolazione totale, n = 131, 96 soggetti sono stati assegnati al gruppo 1 in base alla genotipizzazione per TYMS TSER e trattati con 5-FU + RT, 35 soggetti al gruppo 2 e trattati con 5-FU + RT+ Irinotecan.

Per quanto riguarda la risposta alla terapia, l'outcome terapeutico è stato assegnato tramite quattro variabili: DS tumorale, ypT0, OS e RFS. Nessuno dei polimorfismi è risultato associato significativamente con questi parametri.

Per quanto riguarda la tossicità, grado 3-4, nel gruppo 1, il diplotipo per MTHFR (CA-TA) è risultato significativamente correlato al tasso più elevato di incidenza di eventi di grado 3 o 4 (p = 0.006); successivamente il genotipo di MTHFR, aplotipi e diplotipi sono stati analizzati rispetto ad eventi di tossicità 5-FU-specifici come diarrea e mucositi. Lo SNP MTHFR 1298 A>C è risultato significativamente associato con tali eventi (p = 0.005), con pazienti con genotipo A\A se comparati con portatori di A\C o C\C (OR = 4.71; 95% CI = 1.63, 13.59); benché non significativo, il genotipo 677 C\C tende ad essere un fattore protettivo rispetto ad eventi tossici di grado 3 o 4. In accordo con questi risultati, l'aplotipo MTHFR CC (677C-1298C) si è mostrato essere associato con un'incidenza più bassa di eventi tossici (p = 0.005; OR = 0.21; 95% CI = 0.074, 0.61); al contrario, i diplotipi CA-TA e TA-TA hanno un rischio più elevato di sviluppare tossicità (p = 0.003; OR = 7.75; 95% CI = 2.67, 22.47).

Nessun polimorfismo analizzato è risultato associato né con l'outcome né con tossicità a irinotecan.

In conclusione i risultati suggeriscono che i polimorfismi genetici di MTHFR sono predittivi per la tossicità di grado 3-4 (diarrea e mucositi) quando il 5-FU è somministrato come unico agente ma non in combinazione ad irinotecan.

**Parole chiave:** Cancro rettale, terapia 5-FU based, MTHFR

#### Riferimento bibliografico

Thomas F et al. *Br J Cancer* 2011 Nov 1

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Br+J+Cancer%5BJour%5D+AND+2011%5Bpdat%5D+AND+Thomas+F%5Bauthor%5D&cmd=detailssearch>

**UN'AMPIA INDAGINE GENE-CANDIDATO IDENTIFICA IL POLIMORFISMO KCNE1 D85N COME POSSIBILE MODULATORE DELLA TORSIONE DI PUNTA INDOTTA DA FARMACI**

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

La sindrome del QT lungo indotta da farmaci (diLQTS, *drug-induced long QT syndrome*) è una reazione avversa dal forte impatto clinico e regolatorio. I farmaci che più comunemente inducono diLQTS sono gli antiaritmici di classe III, sebbene molti altri farmaci, non esclusivamente prescritti per indicazioni cardiovascolari, siano stati associati a questa reazione avversa. La manifestazione clinica della diLQTS, nota come Torsione di Punta (TdP, *Torades de Pointes*), è stata una delle principali responsabili di ritiro dal commercio dei farmaci. Sebbene l'insorgenza di TdP sia difficilmente prevedibile, sono stati identificati numerosi fattori di rischio, com

disturbi idro-elettrolitici (es., ipokaliemia), sesso femminile e disfunzioni d'organo (es., scompenso cardiaco).

Esiste anche una variante genetica di diLQT, causata da mutazioni nei canali ionici o nei geni associati, che si manifesta clinicamente con la TdP. Una delle ipotesi formulate per la comparsa di diLQTS è la presenza di varianti ereditate in geni che controllano l'intervallo QT; infatti lo screening di questi geni ha identificato mutazioni nel 5-15% dei soggetti affetti da diLQTS. Una seconda ipotesi è che varianti geniche comuni modulino il rischio di diLQTS e piccoli studi hanno identificato tali varianti. Scopo del presente lavoro è stato la valutazione di varianti in geni chiave che controllano le proprietà elettriche cardiache modificando il rischio di diLQTS.

I pazienti in studio sono stati 176 (128 femmine, 48 maschi, età media  $63 \pm 17$  anni) dal nord America o dall'Europa, ma tutti di discendenza europea, affetti da diLQTS, definita come comparsa documentata di TdP durante il trattamento con un farmaco con riconosciuta capacità di prolungare l'intervallo QT. La diagnosi è stata accertata da cardiologi specializzati in elettrofisiologia all'interno dei 7 centri partecipanti allo studio. Sono state raccolte tutte le informazioni cliniche e demografiche, con particolare attenzione all'ipokaliemia e farmaci concomitanti. Inoltre, sono stati raccolti i campioni ematici per le analisi genetiche, previo ottenimento del consenso informato. Il gruppo di controllo consisteva di 207 pazienti derivanti dallo studio all'Università di Vanderbilt, secondo il protocollo approvato. Sono stati usati come controlli 837 soggetti arruolati nello studio KORA (cooperative Health Reseach in the Region of Augsburg), tutti di discendenza europea. Per la validazione dei risultati sono stati, inoltre, analizzati 57 pazienti affetti da diLQTS già inclusi nello studio DARE (Drug Induced Arrhythmia Risk Evaluation).

Sono stati studiati 18 geni candidato, che includono geni correlati ad aritmia cardiaca o ad importanti subunità funzionali e geni associati all'intervallo QT sulla base di studi *genome wide*. Un totale di 1.424 SNPs sono stati genotipizzati grazie all'approccio del *tagging SNPs* (1.386) basato su HapMap, oltre a 38 SNPs non-sinonimi con una frequenza allelica  $\geq 1\%$  precedentemente riportati nei 18 geni candidati. La genotipizzazione per i casi, i controlli sotto trattamento farmacologico ed i controlli dello studio KORA è stata eseguita usando custom assay Illumina GoldenGate su piattaforma Illumina 500GX. Circa 70 SNPs sono stati rimossi prima dell'analisi, perché monomorfici o con una frequenza allelica  $< 1\%$ . L'equilibrio di Hardy Weinberg è stato calcolato per tutti gli SNPs restanti, ma non sono stati esclusi SNP che non rispettano tale equilibrio. Sono emersi due polimorfismi dallo studio, uno in un gene che codifica per un canale del potassio, KCNE1, ed uno relativo ad un canale del calcio di tipo L, CACNA1C. Per la validazione dei risultati ottenuti per KCNE1 D85N (rs1805128) ulteriori 57 casi della popolazione dello studio DARE e 211 controlli sono stati genotipizzati tramite sequenziamento diretto. Tale popolazione è stata utilizzata anche per confermare i risultati ottenuti per CACNA1C (rs7295250) utilizzando un array Illumina.

Tra i 176 pazienti arruolati, il farmaco maggiormente associato a TdP è stato il sotalolo ( $n=52$ ), seguito da chinidina ( $n=18$ ) ed amiodarone ( $n=17$ ). Antiaritmici ( $n=107$ ), antipsicotici ( $n=14$ ) e antibiotici ( $n=12$ ) hanno causato il 76% dei casi di TdP. In 28 casi, i pazienti assumevano una terapia di combinazione con due o più farmaci. Per i pazienti per i quali erano disponibili i dati laboratoristici-strumentali, è stata riscontrata ipokaliemia nel 19.3% dei soggetti. L'intervallo QT, corretto per la frequenza cardiaca, era prolungato in misura statisticamente significativa rispetto ai controlli. Per gli studi di associazione dei vari SNPs la significatività è stata considerata per valori di  $P \leq 0.01$  ed i test di associazione hanno previsto l'utilizzo della regressione logistica aggiustata per età e sesso. Confrontando pazienti affetti da diLQTS e controlli esposti ai farmaci, lo SNP rs7295250 del gene CACNA1C ha mostrato il  $P$  più significativo [OR=1.88, 95%CI=1.30-2.71,  $P = 7.62 \times 10^{-4}$ ]. Il maggiore effetto è stato rilevato per rs1805128 che è stato significativamente associato con diLQTS [OR=9.92, 95%CI=2.36-41.80,  $P = 1.77 \times 10^{-3}$ ], con differenza significativa nella frequenza allelica tra pazienti affetti da diLQTS e controlli comunque esposti ai farmaci: 8.6% vs 2.9%. In parallelo, è stata valutata la popolazione affetta da diLQT rispetto alla popolazione di controllo e la variante

che assume maggiore significatività è quella relativa a rs1805128 [OR=8.88, 95%CI=3.26-24.17,  $P = 1.95 \times 10^{-5}$ ]. La differenza tra casi e controlli è stata di 8.6% vs 1.8%. Lo SNP rs7295250 mostra in questo caso una associazione più debole nella popolazione affetta da diLQTS rispetto i controlli [OR=1.56, 95%CI=1.18-2.07,  $P = 1.77 \times 10^{-3}$ ]. Per validare ulteriormente l'associazione degli SNPs rs1805128 e rs7295250 con diLQTS, tali SNP sono stati analizzati nella popolazione dello studio DARE (57 pazienti affetti da diLQTS vs 211 controlli). Lo SNP rs1805128 mostra un trend nella stessa direzione dei risultati ottenuti (3.5% vs 1.4% nei controlli) [OR=1.5, 95%CI=0.35-6.57,  $P = 0.58$ ], mentre per rs7295250 non è stato possibile replicare il risultato della popolazione in studio.

L'approccio genomico ha identificato come la suscettibilità di un allele in un canale chiave del potassio a livello cardiaco (KCNE1) possa essere associata con la reazione avversa a farmaci nota come Torsione di Punta. Lo SNP rs1805128 del gene KCNE1 è risultato predittivo per diLQTS. Tale variante allelica era presente nell'8.6% dei casi verso 2.9% dei controlli esposti a farmaci e verso l'1.8% della popolazione di controllo. Nella coorte di controllo, utilizzata per la validazione, la variante allelica era presente nel 3.5% dei casi verso 1.4% nei controlli.

Per quel che riguarda i limiti dello studio, gli autori dichiarano che i risultati ottenuti si limitano ad una popolazione di origine europea e non è quindi possibile trarre conclusioni per le altre etnie. Lo scopo dell'utilizzo di due gruppi di controllo e dello step di validazione sulla popolazione DARE era quello di minimizzare il rischio di falsi positivi, sebbene il numero ristretto della popolazione abbia ridotto notevolmente la potenza statistica dello studio. La mancanza di dati clinici e strumentali per una parte della popolazione in studio non ha permesso un'analisi dettagliata, necessaria per comprendere appieno l'associazione tra rs1805128 e diLQTS.

**Parole chiave:** geni-candidato, morte improvvisa, SNP, Torsione di Punta, reazioni avverse a farmaci

#### Riferimento bibliografico

Kääb S et al. *Circ Cardiovasc Genet* 2011 Nov 18. [Epub ahead of print]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22100668>

---

## INFLUENZA DI POLIMORFISMI SU *ABCB1* E *ABCC3* SULLA SOPRAVVIVENZA DOPO CHEMIOTERAPIA IN PAZIENTI EFFETTI DA OSTEOSARCOMA

A cura della Dott.ssa Sabrina Angelini

Il trattamento standard dell'osteosarcoma si basa su una terapia neoadiuvante, combinazione di cisplatino, adriamicina e metotrexato, prima della resezione chirurgica del tumore primario, e chemioterapia post-operatoria comprendente vincristina e ciclofosfamide. Nonostante l'aggressività del trattamento circa il 30% dei pazienti sviluppa recidive o metastasi. Uno studio ha evidenziato una associazione tra uno SNP nel gene ERCC2 e la risposta al cisplatino, ciò nonostante gran parte della variabilità interindividuale nella risposta terapeutica rimane inspiegabile. Studi di farmacogenetica hanno evidenziato che polimorfismi in geni legati al metabolismo ed al trasporto dei farmaci possono avere un effetto importante sulla farmacocinetica e farmacodinamica.

In questo studio è stato indagato un panel esaustivo di SNPs e CNVs caratterizzanti i molteplici geni del metabolismo e del trasporto dei diversi farmaci impiegati nel trattamento dell'osteosarcoma e la loro associazione con la risposta al trattamento.

Complessivamente sono stati analizzati 366 polimorfismi (VeraCode, Illumina) in 24 geni i cui prodotti sono segnalati come essere coinvolti nel metabolismo o uptake o eflusso dei cinque farmaci cisplatino, adriamicina, metotrexato, vincristina e ciclofosfamide, sulla base delle informazioni disponibili sul *Pharmacogenomics Knowledge database PharmaGKB* (<http://www.pharmgkb.com>). Sono compresi i trasportatori ABCA3, ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC3, ABCC4, ABCG2, ABCC6, SLC31A1, SLCO6A1, SLC19A1; gli enzimi del metabolismo di fase I MPO, SOD1, ALDH1A1, CYP3A4,3A5, 2A6,

2B6, 2C8, 2C19, 2C9, e quelli di fase II GSTM1, GSTP1 e GSTT1. L'analisi è stata effettuata su 102 pazienti (età mediana alla diagnosi 14 anni; range 3-34), di cui il 21% presenta metastasi alla diagnosi, mentre il 22% le ha sviluppate durante il follow-up. Quest'ultimo è stato di 231 mesi (range 3-303). Il tasso di *responder* alla terapia è stato del 54% e la sopravvivenza mediana di 219 mesi.

Delle variabili cliniche analizzate, la presenza di metastasi alla diagnosi è risultata associata ad un significativo aumentato rischio di morte (HR = 2.92, 95% CI = 1,35-6,28,  $P = 0,006$ ).

Quattro SNPs in due diversi geni sono risultati associati all'*overall survival*. In particolare, l'allele T dello SNP sinonimo (G1013G) nel gene ABCC3 (rs4148416) è associato ad un significativo aumento del rischio di morte (HR = 8.14, 95% CI = 2.73 – 20.2,  $P = 5.1 \times 10^{-5}$ ). In particolare, la stima del tasso di sopravvivenza a cinque anni è del 78% nei pazienti con genotipo rs4148416 - CC - rispetto al 20% dei pazienti eterozigoti. Lo SNP intronico G (rs4148737) in ABCB1 è associato a ridotta aspettativa di vita (HR = 3,66, IC 95% = 1,85-6,11,  $P = 6.9 \times 10^{-5}$ ). La stima del tasso di sopravvivenza a cinque anni è del 93% nei pazienti con genotipo rs4148737 - AA - rispetto al 38% dei pazienti omozigoti per l'allele G. Due alleli minori di altri due polimorfismi su ABCB1 (rs1128503 e rs10276036, in completo *linkage disequilibrium*) risultano associati con una migliore aspettativa di vita (HR = 0.24, IC 95% = 0,11-0,47,  $P = 7.9 \times 10^{-5}$ ). Per questi due polimorfismi la stima del tasso di sopravvivenza a cinque anni è del 49% nei pazienti omozigoti per l'allele *wild-type* rispetto al 100% per i pazienti omozigoti per l'allele minore. I risultati non cambiano dopo correzione del dato per la variabile clinica metastasi alla diagnosi [HR = 7.25, 95% CI = 2.62 – 20.1,  $P = 1.4 \times 10^{-4}$  per ABCC3 - rs4148416; HR = 2.83, 95% CI = 1.56 – 5.12,  $P = 6.1 \times 10^{-4}$  per ABCB1 rs4148416 e HR = 0.27, 95% CI = 0.13 – 0.54,  $P = 2.3 \times 10^{-4}$  per ABCB1 rs1128503 e rs10276036] e dopo correzione per test multipli. Risultati analoghi sono stati ottenuti in relazione alla sopravvivenza libera da eventi [HR = 6.33, 95% CI = 1.79 – 12.7,  $P = 2.8 \times 10^{-4}$  per ABCC3 - rs4148416; HR = 2.60, 95% CI = 1.24 – 3.22,  $P = 5.1 \times 10^{-4}$  per ABCB1 rs4148416 e HR = 0.42, 95% CI = 0.29 – 0.81,  $P = 2.1 \times 10^{-3}$  per ABCB1 rs1128503 e rs10276036].

Gli Autori hanno anche indagato l'influenza degli aplotipi di ABCB1 - rs1045642 / rs2032582 / rs1128503, descritti come avere un ruolo funzionale in diversi studi. Nella popolazione in studio si sono osservati due aplotipi frequenti, uno dato dalla combinazione dei tre alleli *wild-type* -CGC, frequenza 0.47 - e uno dato dalla combinazione dei tre alleli rari - TTT frequenza 0.39. L'aplotipo TTT è associato con una migliore sopravvivenza (HR = 0,31, IC 95% = 0,15-0,62,  $P = 0,001$ ). Gli altri aplotipi hanno una frequenza molto bassa e non sono stati associati in modo significativo alla sopravvivenza. Tuttavia, l'Hazard Ratio stimato per i due aplotipi con l'allele raro T - rs1128503 (CGT e CTT) evidenzia un effetto protettivo (HR = 0,38 e  $9,7 \times 10^{-6}$ , rispettivamente) in contrasto con gli altri due aplotipi con l'allele *wild-type* (TGC e TTC, HR = 1.26 e 1.95, rispettivamente). Questo dato suggerisce che in realtà l'analisi dell'aplotipo non è più informativa rispetto all'analisi del singolo polimorfismo ABCB1 rs1128503.

In conclusione questo studio identifica una associazione tra quattro SNPs in due trasportatori - ABCC3 (rs4148416) e ABCB1 (rs4148737, rs1128503 e rs10276036)- e l'aspettativa di vita.

La conferma/validazione di questi risultati in una popolazione indipendente e più ampia potrebbe rappresentare un valido marcatore prognostico in pazienti affetti da osteosarcoma.

**Parole chiave:** osteosarcoma; ABCC3, ABCB1

#### Riferimento bibliografico

Caronia D et al. *PLoS One* 2011, 6(10):e26091

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Plos+One%5BJour%5D+AND+2011%5Bpdatt%5D+AND+Caronia+D%5Bauthor%5D&cmd=detailsearch>

## POLIMORFISMI DELLA METALLOPROTEINASI DI MATRICE 2 ED *OUTCOME* IN PAZIENTI CINESI CON TUMORE DEL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE TRATTATO CON CHEMIOTERAPIA DI PRIMA LINEA A BASE DI PLATINO

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il platino (cisplatino o carboplatino) è stato ampiamente utilizzato, in combinazione con navelbina, gemcitabina o paclitaxel, come chemioterapia di prima linea nel tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) avanzato. Diversi studi hanno sottolineato una grande variabilità inter-individuale nell'efficacia e nella tossicità della terapia a base di platino e l'identificazione di marcatori predittivi per una terapia personalizzata ottimale rimane una sfida nel trattamento del NSCLC. La metalloproteinasi di matrice 2 (MMP-2), nota anche come gelatinasi A, è il principale mediatore della degradazione della matrice extracellulare (ECM) e gioca un ruolo sempre più critico nella ricerca farmacogenetica per il trattamento del NSCLC. Nel tumore polmonare, l'MMP-2 attivata può conferire resistenza all'apoptosi, interferendo con il segnale di morte Fas-mediato, e può modulare in modo diretto l'attività di diversi fattori di crescita, come l'IGF-1, l'EGF e l'FGF. Inoltre, diversi studi hanno dimostrato che l'MMP-2 gioca un ruolo importante nel recupero della mielosoppressione indotta da chemioterapia, non solo promuovendo la migrazione delle cellule staminali ematopoietiche attraverso l'ECM ma anche facilitando il rilascio di fattori di regolazione fondamentali (TNF- $\alpha$ , IGF e TGF- $\beta$ ) nel microambiente midollare. Questo suggerisce il potenziale impatto dell'MMP-2 sull'incidenza e la severità della tossicità ematologica da farmaci.

In questo lavoro, gli autori hanno valutato l'associazione tra 16 tag-polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) del gene MMP-2 e l'efficacia e la tossicità di grado 3 e 4 della chemioterapia a base di platino in pazienti Cinesi con NSCLC di stadio III/IV.

Sono stati arruolati 663 Cinesi con diagnosi istologica di NSCLC di stadio III/IV ottenuta in tre ospedali cinesi (Shanghai Chest Hospital, Shanghai Zhongshan Hospital e Shanghai Changhai Hospital) nel periodo tra Marzo 2005 e Gennaio 2010. Per identificare i pazienti eleggibili sono stati utilizzati i seguenti criteri: 1) consenso informato disponibile ed aderenza al trattamento; 2) età  $\geq 18$  anni; 3) diagnosi di NSCLC di stadio III/IV confermata istologicamente con la presenza di lesione misurabile e valutabile; 4) pazienti ricevuti chemioterapia di prima linea a base di platino (non preceduta da chirurgia, radioterapia, chemio-radioterapia concomitante); 5) nessun altro tumore maligno nei 5 anni precedenti, ad eccezione di tumore cutaneo non-melanoma trattato, carcinoma in situ della cervice trattato, o qualsiasi altro tumore maligno "curato"; 6) un valore dell'Eastern Cooperative Oncology Group performance status compreso tra 0 e 2; 7) conta assoluta di neutrofili  $\geq 1.5 \times 10^9/L$ , conta piastrinica  $\geq 100 \times 10^9/L$ , creatinina sierica 1.5 volte inferiore al limite superiore del valore normale, clearance della creatinina  $\geq 60$  mL/minute, ALT ed AST 1.5 volte inferiori al limite superiore dei valori normali; 8) assenza di scompenso cardiaco congestizio o di aritmie cardiache che richiedano terapia medica; 9) assenza di infezioni non controllate; 10) nessun altro fattore medico o psicologico che possa influenzare il trattamento. Tutti i pazienti arruolati nello studio erano inoperabili, ed hanno quindi ricevuto 2-6 cicli di chemioterapia di prima linea a base di platino come segue: 75 mg/m<sup>2</sup> di cisplatino o carboplatino somministrati al giorno 1 ogni 3 settimane, in combinazione con 25 mg/m<sup>2</sup> di navelbina al giorno 1 e 8 ogni 3 settimane, o 1250 mg/m<sup>2</sup> di gemcitabina al giorno 1 e 8 ogni 3 settimane, o 175 mg/m<sup>2</sup> di paclitaxel al giorno 1 ogni 3 settimane, o 75 mg/m<sup>2</sup> di docetaxel al giorno 1 ogni 3 settimane. I campioni di sangue sono stati ottenuti al momento del reclutamento dei pazienti e l'estrazione del DNA è stata eseguita usando il QIAamp DNA Maxi Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). Tutti i SNP selezionati sono stati genotipizzati usando l'iSelect HD BeadChip (Illumina, San Diego, Calif) e la polymerase chain reaction-SNaPshot per i 3 polimorfismi falliti.

Le reazioni avverse sono state valutate 2 volte a settimana secondo i criteri del National Cancer Institute's Common Toxicity Criteria, versione 3.0, e comprendevano neutropenia, anemia, trombocitopenia, nausea e vomito. La tossicità ematologica grave comprendeva neutropenia, anemia e trombocitopenia di grado 3 e 4, mentre la tossicità gastrointestinale grave comprendeva nausea e vomito di grado 3 e 4. Le risposte al trattamento sono state valutate dopo i primi 2 cicli di terapia secondo le linee guida del Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (versione 1.0), che classifica le risposte in 4 categorie: risposta completa (CR), risposta parziale (PR), malattia stabile (SD), e malattia progressiva (PD). Il tasso di risposta corrisponde alla percentuale di pazienti con CR e PR, mentre il beneficio clinico (CR+PR+SD) rappresenta l'assenza di PD. La sopravvivenza libera da malattia (PFS) è stata calcolata dalla data di inizio della terapia alla data di progressione della malattia o di morte o dell'ultimo follow-up libero da progressione. La sopravvivenza globale (OS) è stata calcolata dalla data della prima chemioterapia alla data di morte o dell'ultimo follow-up.

Dei 663 pazienti arruolati, la tossicità ematologica è stata valutata in 646 pazienti, quella gastrointestinale in 642 pazienti, e la risposta oggettiva è stata valutata in 657 pazienti. Al momento della raccolta finale dei dati (Marzo 2011), la mediana del follow-up era di 32 mesi, la PFS mediana di 6,5 mesi e la sopravvivenza mediana di 18,4 mesi, simile ai valori riportati in letteratura. Tutti i 16 tag-SNP valutati erano in equilibrio di Hardy-Weinberg ( $P > 0.05$ ). Non è stata riscontrata una significativa associazione tra i polimorfismi e le caratteristiche osservate nei pazienti. È stata eseguita una serie completa di associazioni tra i singoli polimorfismi ed ogni tossicità severa, tramite regressione logistica multivariata. Dei 16 polimorfismi, 7 con una  $P < 0,05$  all'analisi univariata, sono stati esaminati ulteriormente con la regressione multivariata ed hanno mantenuto un'associazione significativa con la neutropenia di grado 3 e 4. In particolare le varianti omozigoti rs1477017, rs17301608, rs12934241, rs1992116 e rs11639960 hanno mostrato un aumento del rischio, mentre le varianti omozigoti rs243847 e rs243844 un effetto protettivo nei confronti della neutropenia. Tra queste varianti, la correlazione più significativa è stata osservata tra la variante omozigote rs12934241 ed il rischio di neutropenia di grado 3 e 4 (con un'incidenza del 50% nel genotipo C/C vs un'incidenza del 12.3% nel genotipo T/T, un'OR dell'8.33; 95% CI, 2.89-24.01;  $P = 0,0014$ , rimanendo significativo dopo la correzione di Bonferroni). Quindi sono state eseguite ulteriori analisi di stratificazione per sottogruppi caratteristici di pazienti (età  $\leq 58$  o  $> 58$  anni, uomini o donne, non fumatori o fumatori, stadio IIIB o IV, adenocarcinoma o carcinoma a cellule squamose, pazienti in trattamento con cisplatino-avelbina o cisplatino-gemcitabina o carboplatino-paclitaxel). La variante rs12934241 ha mostrato una influenza maggiore sull'insorgenza di neutropenia severa nel gruppo cisplatino-gemcitabina piuttosto che negli altri 2 regimi (cisplatino-gemcitabina, 80% vs 3.3%; OR, 8.39; 95%,  $P = 1.6 \times 10^{-4}$ ; confronto tra platino-gemcitabina o platino-altri agenti  $P = 0.003$ ). Inoltre è stata osservata un'associazione significativa tra rs1992116 e la tossicità ematologica severa ( $P = 0.017$ ), la neutropenia ( $P = 0.033$ ), e l'anemia ( $P = 0.002$ ). Non è stata osservata associazione significativa tra i polimorfismi dell'MMP-2 e la trombocitopenia o la tossicità gastrointestinale di grado 3 o 4. L'associazione tra i polimorfismi MMP-2 e l'efficacia del trattamento (percentuale di risposta, efficacia clinica, PFS, OS), è stata valutata usando la regressione logistica univariata o la regressione del rischio proporzionale di Cox. Sebbene 2 polimorfismi hanno mostrato una correlazione marginale con la PFS (per rs865094,  $P = 0.091$ ; e per rs243843,  $P = 0.071$ ), non è stata riscontrata un'associazione significativa tra i polimorfismi MMP-2 e l'efficacia del trattamento. Per rs12934241, la variante con la significatività maggiore nell'analisi delle tossicità, la variante omozigote ha mostrato più lunghe PFS e OS degli omozigoti wild-type, anche se non significativamente (PFS: Hazard Ratio=0.92 e  $P = 0.330$ ; OS: Hazard Ratio=0.94;  $P = 0.452$ ). Il polimorfismo rs12934241 è stato osservato in Linkage Disequilibrium (LD) con rs1477017, rs17301608, e rs1992116 ( $0.993 < D' < 1.000$ ;  $0.304 < r^2 < 0.494$ ), tutti associati significativamente con la neutropenia severa chemioterapia-associata. LD è stato osservato anche per rs11639960, rs17301608, e rs1477017 ( $0.765 < D' < 0.986$ ;  $0.404 < r^2 < 0.687$ ). Inoltre, rs243847 e rs243844, entrambi con effetto protettivo sulla neutropenia, sono risultati correlati tra di loro ( $r^2 = 0.416$ ).

Studi epidemiologici indicano che le variazioni nella sequenza dell'MMP-2 possono influenzare fortemente il rischio di diverse malattie. Recentemente è stato riportato che i polimorfismi rs1477017, rs17301608, e rs11639960 sono associati con un aumento del rischio di carcinoma prostatico. È stato inoltre dimostrato che i polimorfismi rs1992116, rs1477017, e rs17301608 influenzano fortemente l'outcome di pazienti che hanno subito uno stroke. Diversi studi dimostrano che 2 varianti (rs243866 and rs243865) nella regione promoter del gene hanno un'associazione significativa con il rischio di tumore al polmone ed allo stomaco. Non ci sono tuttavia lavori focalizzati sul ruolo dei polimorfismi dell'MMP-2 sulla tossicità farmaco-indotta. In questo studio è stata valutata l'associazione tra i polimorfismi dell'MMP-2 sulla tossicità e l'efficacia di trattamenti chemioterapici. È stata riscontrata un'associazione significativa tra 7 polimorfismi dell'MMP-2 e la neutropenia severa, in particolare per l'rs12934241 con un'aumento dell'incidenza al 50% nel genotipo C/C rispetto al 12.3% del genotipo T/T. È importante sottolineare che è stata osservata un'influenza più forte di questo polimorfismo sulla neutropenia nel sottogruppo trattato con cisplatino e gemcitabina ( $P = 0.003$ ). Questo potrebbe essere dovuto ad un ruolo più importante dell'MMP-2 nel meccanismo citotossico di farmaci che danneggiano il DNA (come gemcitabina) piuttosto che nella citotossicità da farmaci aventi altri target (avelbina e paclitaxel che interferiscono con la polimerizzazione dei microtubuli). La scoperta che l'MMP-2 gioca un ruolo importante nel reclutamento delle cellule progenitrici ematopoietiche e nella modulazione del microambiente midollare suggerisce che la variante rs12934241 porta ad una inibizione dell'MMP-2 e ad un alterato recupero dalla soppressione midollare da chemioterapia. Nonostante i polimorfismi dell'MMP-2 abbiano mostrato un'associazione significativa con l'incidenza delle

reazioni avverse, non sono stati associati a variazioni significative dell'efficacia del trattamento a base di platino, suggerendo un diverso meccanismo della funzione dell'MMP-2 tra le cellule tumorali e le cellule normali. Una recente metanalisi ha analizzato il significato prognostico dell'espressione dell'MMP-2 nelle cellule tumorali e nelle cellule stromali di pazienti con NSCLC: da questa metanalisi è emerso che l'espressione dell'MMP-2 sulle cellule tumorali rappresenta un fattore prognostico negativo, al contrario dell'espressione nelle cellule stromali. Nonostante sia interessante la scoperta di una nuova associazione tra i polimorfismi MMP-2 e la neutropenia severa, questo studio è limitato dalla mancanza di una convalida in una popolazione indipendente e dalle dimensioni ridotte del campione nell'analisi dei sottogruppi, che può portare alla mancata rilevazione degli effetti di SNP a bassa penetranza sulle tossicità a bassa incidenza. Inoltre, per il numero limitato di pazienti, non è stato possibile valutare altri regimi terapeutici importanti, come platino-docetaxel. Comunque, nel caso delle analisi stratificate dell'rs12934241 e della neutropenia severa il campione era abbastanza grande. Data la diversa frequenza dei polimorfismi dell'MMP-2 in popolazioni di etnie diverse e considerando la natura retrospettiva del presente studio, è auspicabile che vengano eseguiti studi prospettici indipendenti in diverse popolazioni.

In conclusione in questo studio è emersa un'associazione significativa tra diversi polimorfismi dell'MMP-2 (in particolare la variante rs12934241) e la neutropenia severa, in Cinesi Han con NSCLC trattati con chemioterapia di prima linea a base di platino. Dato che la neutropenia severa influenza enormemente la qualità di vita dei pazienti, nonché la terapia e la sopravvivenza, poterne prevedere il rischio con biomarkers, come questi polimorfismi, avrebbe una grande ricaduta sul piano clinico consentendo di avvicinarci ad una terapia personalizzata per il NSCLC.

**Parole chiave:** terapia a base di platino, tumore non a piccole cellule, MMP-2

#### Riferimento bibliografico

Zhao X et al. *Cancer* 2011, Nov 9 [Epub ahead of print]  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22072145>

### LA METANALISI DEL MESE

#### GENOTIPI ASSOCIATI A RIDOTTA ATTIVITÀ ENZIMATICA CYP2C19 E RISCHIO DI EVENTI CARDIOVASCOLARI IN PAZIENTI IN TRATTAMENTO CON CLOPIDOGREL DOPO INTERVENTO CORONARICO PERCUTANEO: RISULTATI DI UNA METANALISI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Il clopidogrel, il farmaco di maggior impiego nella prevenzione di eventi di origine aterotrombotica in pazienti affetti da infarto miocardico o da sindrome coronarica acuta, agisce come antiaggregante piastrinico attraverso il blocco irreversibile dei recettori P2Y12 per l'adenosina difosfato. Il clopidogrel è un profarmaco che viene convertito nel suo metabolita attivo ad opera degli isoenzimi epatici del citocromo P450, ed in particolare dal CYP2C19. La farmacocinetica del metabolita attivo di clopidogrel e gli effetti antiplastrinici, misurati con metodiche di aggregazione piastrinica *ex-vivo*, variano a seconda del genotipo del CYP2C19. I soggetti portatori delle varianti CYP2C19\*2 e CYP2C19\*3 (alleli *loss-of-function*, associati ad una riduzione dell'attività enzimatica) presentano livelli più bassi di metabolita attivo ed una diminuita inibizione piastrinica. Nel marzo del 2010, la US Food and Drug Administration (FDA) ha aggiunto nella scheda tecnica di clopidogrel un *boxed warning* che allerta medici e pazienti sulla possibilità che il farmaco può risultare meno efficace nei metabolizzatori lenti per CYP2C19, ovvero nei soggetti portatori di 2 alleli *loss-of-function*. Gli autori di questo studio hanno condotto una revisione sistematica con metanalisi degli studi pubblicati al fine di stabilire se la presenza di 1 solo allele *loss-of-function* CYP2C19 fosse sufficiente per determinare un aumento del rischio di eventi cardiovascolari avversi in pazienti in trattamento antiaggregante con clopidogrel.

La ricerca è stata condotta consultando le banche dati elettroniche MEDLINE, Cochrane Database of Systematic Reviews e EMBASE, utilizzando le parole chiavi "clopidogrel e CYP2C19". Tra i 31 studi potenzialmente rilevanti, nella metanalisi sono stati inclusi in totale 9 studi (n pazienti= 9685) che avevano riportato dati riguardanti l'esito clinico del trattamento antiaggregante.

Il 91.2% dei pazienti era stato sottoposto al trattamento con clopidogrel in seguito ad intervento coronarico percutaneo. Dei pazienti considerati (n=9685), l'8.9% aveva manifestato l'endpoint primario composito di morte cardiovascolare, infarto del miocardio o stroke ischemico. I risultati della metanalisi hanno evidenziato che i portatori di 1 allele *loss-of-function* CYP2C19, che rappresentavano il 26.3% di tutta la popolazione considerata, presentavano un aumento significativo del rischio di morte cardiovascolare, infarto del miocardio o stroke ischemico (HR: 1.55; 95% CI: 1.11-2.17, P=0.01). Analogamente, i portatori di 2 alleli *loss-of-function* CYP2C19, che rappresentavano il 2.2% del totale, risultavano a rischio maggiore di manifestare l'endpoint composito rispetto ai pazienti *wild-type* (HR: 1.76; 95% CI: 1.24-2.50, P=0.002). Tra i 9 studi selezionati, sei studi comprendenti 5894 pazienti avevano riportato dati riguardanti l'impatto del polimorfismo CYP2C19 sul rischio di trombosi da stent. Complessivamente, 84 pazienti (1.42% del totale) avevano manifestato trombosi da stent. I risultati della metanalisi hanno evidenziato che sia i pazienti portatori di 1 solo allele *loss-of-function* CYP2C19 (HR: 2.67; 95% CI, 1.69-4.22; P<0.0001) che i soggetti con 2 alleli *loss-of-function* (HR: 3.97; 95% CI, 1.75-9.02; P=0.001) risultavano a rischio maggiore di manifestare trombosi da stent, rispetto ai pazienti *wild-type*.

La presenza di 1 solo allele *loss-of-function* CYP2C19 è sufficiente per determinare un aumento del rischio di eventi cardiovascolari, in modo particolare trombosi da stent, in pazienti in trattamento antiaggregante con clopidogrel dopo intervento coronarico percutaneo.

La rilevanza dei polimorfismi funzionali del gene CYP2C19 nella risposta al trattamento antiaggregante con clopidogrel è stata sostanzialmente confermata dai risultati di una metanalisi più recente (Zabalza M et al., Heart 2012; 98:100-108) che hanno evidenziano l'importanza di considerare non solo gli alleli *loss-of-function* CYP2C19 ma anche gli alleli *gain-of-function*, quali la variante CYP2C19\*17, associati ad un aumento dell'espressione e dell'attività enzimatica. I risultati di questa metanalisi, comprendente 4 studi per un totale di 6584 pazienti, hanno infatti evidenziato che la variante CYP2C19\*17 è associata ad una riduzione del rischio di eventi cardiovascolari avversi (HR: 0.75; 95% CI: 0.66-0.87) ed un aumentato rischio di sanguinamento maggiore (HR:1.26; 95%CI: 1.05-1.50) in pazienti con malattia coronarica in trattamento con clopidogrel. Occorre tuttavia sottolineare che i polimorfismi CYP2C19 spiegherebbero solo una piccola parte della variabilità della risposta *in vitro* al clopidogrel, mentre il polimorfismo funzionale Q192R del gene paraoxonase-1 (PON-1) sarebbe in grado, secondo un recente studio, di spiegare il 72.5% della variabilità interindividuale dell'inibizione dell'aggregazione piastrinica indotta da clopidogrel, in pazienti con malattia coronarica (SIF-Farmacogenetica n° 25). Ampi studi prospettici che comprendano sia i polimorfismi PON-1 Q192R che CYP2C19 (CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17) sono pertanto necessari al fine di determinare il dosaggio ottimale di clopidogrel su base genetica. Il raggiungimento di tale obiettivo sarebbe di particolare importanza non solo, ovviamente, da un punto di vista clinico ma anche ai fini della riduzione dei costi a carico del Servizio Sanitario Nazionale, tenuto conto dell'ampio utilizzo di clopidogrel e della sua recente scadenza brevettuale.

**Conflitto d'interesse:** gli autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da aziende farmaceutiche

**Parole chiave:** clopidogrel, CYP2C19, intervento coronarico percutaneo, malattia cardiovascolare, trombosi da stent, metanalisi

#### Riferimento bibliografico

Mega JL et al. *JAMA*. 2010, 304(16):1821-30

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20978260>

**La redazione di SIF-Farmacogenetica augura a tutti i suoi lettori  
un Sereno Natale ed un Felice Anno Nuovo**



### **Sostieni la Società Italiana di Farmacologia**

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF. È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori. Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311. [sif.farmacologia@sigr.it](mailto:sif.farmacologia@sigr.it); [sif.informazione@sigr.it](mailto:sif.informazione@sigr.it); [sifcese@comm2000.it](mailto:sifcese@comm2000.it).

### **SIF – FARMACOGENETICA**

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

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

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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott. Francesco Crea (Università di Pisa) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Santa Mundi (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

#### **Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF**

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

Contatti: [webmaster@sifweb.org](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.

---

---