

**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 15 – Febbraio 2010**

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

Sommario

- Polimorfismi del gene CYP19 variano la risposta alla terapia neoadiuvante con inibitori dell'aromatasi in pazienti con cancro alla mammella
- L'espressione del microRNA 34a correla con lo SNP 309 del gene MDM2 e la *treatment-free survival* nella leucemia linfocitica cronica
- *Markers* farmacogenetici di tossicità a seguito di chemioterapia nel trattamento del cancro al colon retto avanzato: il *trial* randomizzato FOCUS
- Predittori molecolari di *outcome* con gefitinib e docetaxel nel carcinoma del polmone non a piccole cellule precedentemente trattato: dati dallo studio randomizzato di fase III INTEREST (*The Iressa NSCLC Trial Evaluating Response and Survival versus Taxotere trial*)
- Associazione dei polimorfismi del recettore del fattore di crescita epidermico, tossicità cutanea e esito del trattamento in pazienti con carcinoma a cellule squamose dell'area testa-collo trattati con cetuximab-docetaxel
- I polimorfismi del gene *SLCO1B1* che codifica un polipeptide di trasporto degli anioni organici sono determinanti genetici della *clearance* plasmatica del metotrexato

POLIMORFISMI DEL GENE CYP19 VARIANO LA RISPOSTA ALLA TERAPIA NEOADIUVANTE CON INIBITORI DELL'AROMATASI IN PAZIENTI CON CANCRO ALLA MAMMELLA

A cura delle Dott.sse Greta Milani e Cristina Tonello

Il cancro al seno è il tumore più comune tra le donne, e la maggior parte delle pazienti in postmenopausa ha tumori che sono candidati per la terapia endocrina (ER positivi).

Nelle donne in post menopausa, la principale fonte di estrogeni è rappresentata dalla sintesi periferica di estrone (E1) e di estradiolo (E2) ad opera dell'aromatasi (citocromo P450, CYP19A1), l'enzima che converte gli androgeni in estrogeni. Pertanto il blocco dell'enzima rappresenta il trattamento principale per le pazienti di cancro alla mammella in post menopausa, con tumori ER+.

Gli inibitori dell'aromatasi (AI) di terza generazione, tra cui l'exemestane, derivato steroideo, l'anastrozolo e il letrozolo, agenti non steroidei, sono potenti e specifici inibitori dell'enzima che vengono utilizzati nel trattamento della malattia metastatica e come terapia neoadiuvante precoce nel tumore al seno. La risposta alla terapia, però, è molto varia: dalla non efficacia alle tossicità severe. Negli ultimi dieci anni, gli AI sono diventati l'obiettivo principale della ricerca nel campo della prevenzione per le donne in postmenopausa ad alto rischio di sviluppare la patologia.

In diversi studi sono stati analizzati alcuni polimorfismi del gene CYP19 per la loro possibile associazione con l'efficacia terapeutica degli AI e con i livelli di ormoni sessuali o con il rischio di patologie estrogeno-dipendenti. Anche se i risultati di questi studi sono controversi, tutti suggeriscono un ruolo importante delle variazioni genetiche sulla funzionalità dell'aromatasi e, di conseguenza, sulla produzione di estrogeni.

Lo studio è stato condotto su DNA estratti da tessuto tumorale (mammella) e tessuto normale di 52 donne di Edimburgo, in trattamento adiuvante con AI (anastrozolo 1mg/die), dopo misurazione dei livelli dell'attività di aromatasi E1 ed E2 nel tumore, oltre che le dimensioni della massa tumorale prima e dopo il trattamento.

In uno studio precedente di risequenziamento del gene dell'aromatasi di 240 pazienti, di quattro etnie differenti, sono stati individuati 88 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) e 44 aplotipi.

In questo lavoro, il risequenziamento del gene è stato effettuato sui DNA isolati dal tumore e dal tessuto sano, prima e dopo il trattamento con AI, ed ha riguardato gli esoni codificanti, gli esoni non codificanti a monte, le giunzioni esone-introne e parte delle regioni introniche. Le analisi sono state eseguite su campioni di DNA a etnia nota e su 60 DNA di pazienti caucasiche di uno studio precedente. Mediante queste analisi, gli autori hanno individuato 48 SNP significativi, di cui 4 *de novo*, senza alcuna differenza tra tessuto normale e tumore; solo 4 SNP, tra cui His128Arg, sono stati osservati solo sul DNA isolato dalla mammella. Per identificare gli SNP nel tessuto tumorale della mammella che potrebbero portare ad una variazione della risposta alla terapia, è stato condotto uno studio di associazione genotipo- fenotipo su 45 pazienti trattati con tre AI differenti: è stata descritta una diminuzione dei valori di E1 e di E2 e della stessa massa tumorale. Gli autori, tuttavia, non hanno individuato differenze significative tra i tre trattamenti farmacologici sui fenotipi di interesse; l'analisi statistica è stata fatta su dati combinati dei tre farmaci.

Due SNP, localizzati a monte dell'esone 1.1 del gene (rs6493497 e rs7176005), sono stati significativamente associati al cambiamento dell'attività dell'aromatasi. In particolare, i pazienti portatori di queste due varianti alleliche manifestano una maggiore inibizione dell'attività dell'aromatasi.

Le stesse varianti sono state associate al cambiamento dei livelli di E1 e ad un'attività basale maggiore dell'enzima, anche se tali differenze non sono risultate significative.

Gli autori hanno mostrato che i due SNP rs6493497 e rs7176005 sono in *linkage disequilibrium* e che altri due SNP, situati a monte dell'esone 1.f, sono significativamente associati con l'attività dell'aromatasi.

Lo studio degli aplotipi invece non ha evidenziato associazioni significative con i fenotipi di interesse.

Poiché questi SNP sono stati associati a più fenotipi connessi con l'attività e l'inibizione dell'aromatasi, in seguito è stato effettuato uno studio di follow-up, genotipizzando altri 200 campioni di DNA estratto da pazienti con cancro alla mammella, in trattamento con anastrozolo.

Gli autori hanno dimostrato una correlazione tra gli SNP e i valori di E2, prima e dopo la terapia. Per meglio caratterizzare questi polimorfismi, sono stati eseguiti dei test di genomica funzionale: l'espressione dell'esone a livello del tessuto tumorale della mammella è bassa, i legami DNA-proteine sono maggiori negli individui *wild type* rispetto ai mutati e la presenza dei genotipi AT e AC porta ad un aumento dell'attività trascrizionale del gene.

Gli SNP (rs6493497 e rs7176005) descritti in questo lavoro provocano un aumento della trascrizione dell'aromatasi e quindi un incremento dell'attività del gene, con maggiore produzione di estrogeni; e quindi hanno un importante ruolo funzionale nel determinare la risposta alla terapia con AI.

Sorprendentemente la presenza dei polimorfismi porta ad un'azione maggiore degli AI: questo fatto è probabilmente dovuto alla maggiore espressione dell'enzima e quindi ad una maggiore disponibilità del bersaglio molecolare di questi farmaci.

Sarebbe interessante, come dichiarato dagli stessi autori, valutare se i campioni di tumore contenenti tali SNP abbiano un'espressione di CYP19 diversa dai campioni *wild type*; inoltre si potrebbe indagare l'eventuale ruolo di questi SNP come fattore di rischio del cancro alla mammella, in coorti indipendenti.

Parole chiave: inibitori dell'aromatasi, CYP19, *breast cancer*

Riferimento bibliografico

[Wang L](#) et al. *Cancer Res* 2010, 70(1):319-28.

L'ESPRESSIONE DEL MICRORNA 34A CORRELA CON LO SNP 309 DEL GENE *MDM2* E LA *TREATMENT-FREE SURVIVAL* NELLA LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

I microRNA (miRNA) sono piccole molecole di RNA non codificante che si appaiano con un alto grado di omologia al trascritto (mRNA) del gene bersaglio, attivandone la degradazione o il silenziamento. I miRNA giocano un ruolo importante nella leucemia e nei tumori solidi, e rappresentano una grande opportunità per future strategie terapeutiche. Recentemente la famiglia del miR-34, costituita da tre membri, *a*, *b*, e *c*, è stata descritta come un target del p53. L'*overexpression* del miR-34 può portare ad effetti p53 simili (senescenza, apoptosi, arresto del ciclo cellulare). Le funzioni del p53 sono strettamente controllate principalmente dall'ubiquitina ligasi MDM2. Il promotore del gene è caratterizzato da uno SNP (T \Rightarrow G 309) che sembra aumentare l'espressione di MDM2, riducendo così la funzione tumore soppressore del p53.

Nella leucemia linfocitica cronica (B-CLL) la delezione del p53 ha effetti drammatici infatti è responsabile di resistenza alla terapia e mediana di sopravvivenza complessiva ridotta da 111 a 32 mesi. Nella B-CLL è presente soltanto il mi-R34a, mentre il 34b e 34c non sono espressi, e studi recenti hanno confermato la dipendenza dell'espressione di miR-34a dallo status del p53 nella malattia. Tuttavia la ragione della bassa espressione di miR-34a nelle cellule B-CLL p53 *wild-type* ed il suo ruolo nello sviluppo e progressione della malattia non è ancora stato studiato.

In questo studio gli autori hanno monitorato l'espressione di 7 miRNA (miR-16, 21, 29b, 34a, 150, 155, e 331 per i quali è stata dimostrata una deregolazione nella B-CLL), nel modello murino transgenico *TCL1a*, che meglio rappresenta la B-CLL. Lo sviluppo della B-CLL in *TCL1a* infatti può essere suddiviso in due fasi, pre-leucemica e leucemica, distinzione che permette di valutare i miRNA nelle differenti fasi della malattia. Solamente l'espressione del miR-34a è risultata alterata, ed in particolare *up-regolata* di almeno 20 volte nella fase leucemica, ma non in quella pre-leucemica.

Successivamente gli autori hanno confermato il dato nell'uomo. L'espressione di miR-34a è risultata 4,6 volte maggiore nelle cellule B-CLL, purificate dal sangue di 75 pazienti affetti da B-CLL, rispetto alla frazione cellulare CD19+ B purificate da cinque donatori sani. Nei pazienti si è osservata una notevole variabilità nell'espressione di miR-34a e, dalla loro stratificazione in base allo status di p53, è emerso che questa era riconducibile solamente alla coorte di pazienti con p53 *wild-type*, mentre i livelli di espressione nelle cellule B-CLL dei pazienti con p53 mutato o delezione sul cromosoma 17 erano significativamente più bassi. Alla luce di questa osservazione gli autori hanno indagato l'impatto di altri regolatori di p53 sull'espressione miR-34a, con particolare attenzione ai pazienti p53 *wild-type*. In particolare si sono focalizzati sul ruolo del polimorfismo a livello del promotore di *MDM2*, indicato come SNP309, recentemente implicato nella *overall* e *treatment-free survival* (OS e TFS). Nello specifico, la ridotta espressione della proteina *MDM2* e l'attenuata funzione di p53 associata alla presenza dello SNP309 ha un valore prognostico negativo.

Dopo stratificazione dei pazienti in accordo al genotipo *MDM2* [SNP_GG ($n = 18$), GT ($n = 25$) e *wild-type*_TT ($n = 32$)] il livello di espressione di miR 34a è risultato significativamente più basso nel gruppo omozigote SNP, rispetto al *wild-type* ($P = 0.011$), ma non rispetto agli eterozigoti ($P = 0.0125$). Escludendo i pazienti con delezione o mutazione di p53 la significatività aumenta (GG vs GT $P = 0.049$; GG vs TT $P = 0.0002$). In considerazione di questo risultato il livello di espressione di miR-34a è stato proposto come marker di *pathway* p53 deregolato. Per confermare il dato è stato definito un gruppo "p53 attenuato" che comprende pazienti con genotipo *MDM2* GG, mutazioni a p53, delezioni 17p e 11q. L'analisi ha evidenziato che l'espressione di miR34a in questo gruppo è significativamente ridotta rispetto al gruppo di pazienti con "p53 non attenuato" ($P < 0.001$).

L'analisi di Kaplan-Meier, inoltre, rivela un TFS significativamente ridotto sia nei pazienti con mutazioni o delezione di p53 (mediana: 25 mesi vs 110 mesi; $P = 0.003$), sia nel gruppo p53 attenuato (mediana 45 mesi vs 118 mesi; $P = 0.011$). Per stabilire il valore prognostico del livello di espressione di miR-34a sul PFS i pazienti sono stati stratificati in due gruppi di espressione: bassa [Youden index calculation (Yic) $< 2,4$; $n = 38$] e alta (Yic $\geq 2,4$; $n = 37$). Incredibilmente, l'espressione di miR-34a da sola è in grado di distinguere tra

pazienti B-CLL ad alto e basso rischi inoltre, si osserva un valore di TFS significativamente ridotto nel gruppo a bassa espressione (mediana: 48 mesi vs 140 mesi; $P = 0.003$).

In conclusione, il livello di espressione di miR-34a correla con lo SNP309 che caratterizza il gene *MDM2* ed il *treatment-free survival* nei pazienti affetti da B-CLL.

Nel complesso, miR-34a può essere considerato un valido surrogato della funzione di p53 offrendo risvolti importanti per future strategie terapeutiche nella B-CLL.

Parole chiave: B-CLL; miR-34a, MDM2

Riferimento bibliografico

[Asslaber D](#) et al. *Blood* 2010 Jan 20 [Epub ahead of print].

MARKERS FARMACOGENETICI DI TOSSICITÀ A SEGUITO DI CHEMIOTERAPIA NEL TRATTAMENTO DEL CANCRO AL COLON RETTO AVANZATO: IL TRIAL RANDOMIZZATO FOCUS

A cura delle Dott.sse Gloria Ravegnini e Sabrina Angelini

FOCUS [*Fluorouracile, Oxaliplatino, CPT-11: Use and Sequencing*] è il più grande *trial* randomizzato su pazienti affetti da cancro al colon-retto metastatizzato. I pazienti partecipanti a tale studio sono stati randomizzati a ricevere sequenze differenti di chemioterapici, che includevano fluorouracile (FU) da solo, FU/irinotecan (FU/ir) e FU/oxaliplatino (FU/ox). Sulla [newsletter n°13](#) di SIF-Farmacogenetica è stato riportato un *paper by* Richman et al., [*J Clin Oncol* 2009, 27(35):5931-7] in cui, utilizzando la casistica FOCUS è stato valutato il significato prognostico delle mutazioni di *KRAS* e *BRAF* per benefici da irinotecan e oxaliplatino.

Questa stessa casistica è stata sfruttata per identificare marcatori farmacogenetici di insorgenza di tossicità. La casistica comprende 2135 pazienti, arruolati in studio tra il 2000 ed il 2003, e randomizzati in 3 diversi gruppi terapeutici: gruppi A e B, terapia di prima linea con FU da solo seguito, al momento della progressione da irinotecan (IR) soltanto (A) o da una associazione (B), che rappresentava il trattamento di prima scelta nel gruppo C. Nei gruppi B e C, la terapia di associazione era randomizzata tra FU/ir e FU/ox.

In questo studio sono stati indagati 10 polimorfismi in 9 geni coinvolti in riparazione del DNA e metabolismo dei farmaci. In particolare, sono stati selezionati geni che, in studi precedenti, avevano riportato una potenziale predizione di tossicità da FU, irinotecan o oxaliplatino. Tra questi figurano DPYD, TYMS, MTHFR, GSTP1, MLH1, XRCC1, ERCC2, ABCB1, UGT1A1. Gli *end-point* clinici utilizzati sono stati tossicità **primaria** (riduzione e/o *delay* della dose a seguito di tossicità entro le prime 12 settimane di trattamento) e **secondaria** [qualsiasi episodio di tossicità di grado ≥ 3 secondo il CTCAE (*Common Toxicity Criteria for Adverse Events*) durante le prime 12 settimane di trattamento]. Su questi dati sono state effettuate due tipi di analisi: *within-treatment* e *between-treatment*.

Nell'analisi *within-treatment* è stata valutata l'associazione tra tossicità e genotipo di pazienti che ricevevano lo stesso regime di trattamento (FU da solo, FU/ir, FU/ox, e IR da solo) o regimi a base di IR (FU/ir e IR). Utilizzando l'*end-point* tossicità primaria, nessuno dei polimorfismi analizzati ha evidenziato un'associazione significativa, con $P \leq 0.01$, con il regime terapeutico assegnato. Una debole associazione lineare è stata osservata con il genotipo di XRCC1 (R399Q; G \rightarrow A) e la tossicità osservata nei regimi terapeutici a base di IR (incidenza di tossicità per genotipo: GG/35% > GA/43% > AA/48% %, $P = 0.045$).

Utilizzando l'*end-point* tossicità secondaria si è osservata un'associazione significativa tra il genotipo di ERCC2 (K751Q; A \rightarrow C) e la tossicità data da IR (incidenza di tossicità per genotipo: AA/79% > AC/70% > CC/46% %, $P=0.003$). Una debole associazione è stata inoltre riscontrata tra genotipo di GSTP1 (I105V; A \rightarrow G) e la tossicità da FU/ir (incidenza di tossicità per genotipo: AA/53% > AG/69% > GG/62% %, $P = 0.039$) e regimi a base di IR (incidenza di tossicità per genotipo: AA/58% > AG/71% > GG/64% %, $P=0.05$).

L'analisi *between-treatment* ha riguardato i trattamenti con oxaliplatino e irinotecan, per i quali è stata valutata l'influenza del genotipo dei pazienti sulla tossicità, sia primaria che secondaria, nei pazienti randomizzati a FU da solo *versus* FU/ox o FU/ir. L'analisi ha evidenziato che l'aggiunta di irinotecan al FU incrementa sia la tossicità primaria ($P = 0.006$) che la secondaria ($P = 0.007$). Lo stesso si osserva a seguito della introduzione di oxaliplatino ($P < 0.001$ per entrambe). In entrambi i casi, la tossicità osservata con l'aggiunta di oxaliplatino o irinotecan al FU non mostra interazioni significative con alcun genotipo.

In conclusione, lo studio FOCUS identifica i geni XRCC1, ERCC2 e GSTP1 come potenziali *marker* della tossicità da irinotecan, da valutare in ulteriori studi. L'analisi non ha invece evidenziato il coinvolgimento di UGT1A1*28 nella tossicità osservata a seguito di trattamento con irinotecan.

Quest'ultima conclusione ha risvolti importanti, che gli stessi autori sottolineano. Dal 2005 la FDA, in caso di prescrizione di irinotecan raccomanda la genotipizzazione di UGT1A1*28 e, in caso di pazienti con la variante allelica, consiglia di considerarli per la riduzione della dose. Tale raccomandazione nasce dai risultati di due studi che hanno riscontrato l'instaurarsi di tossicità in 8 dei 13 pazienti con variante allelica, su un totale di 132. La mancata associazione osservata in questo studio, e corroborata da ulteriori due studi americani, conferma che l'influenza di UGT1A1*28 sulla tossicità da irinotecan non è completamente chiara e, al massimo, di effetto modesto. Questo rende discutibile la genotipizzazione di routine di UGT1A1*28 nella pratica clinica.

Parole chiave: carcinoma coloretale; irinotecan, XRCC1, ERCC2, GSTP1 e UGT1A1

Riferimento bibliografico

[Braun MS](#) et al. *J Clin Oncol* 2009, 27(33):5519-28.

PREDITTORI MOLECOLARI DI *OUTCOME* CON GEFITINIB E DOCETAXEL NEL CARCINOMA DEL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE PRECEDENTEMENTE TRATTATO: DATI DALLO STUDIO RANDOMIZZATO DI FASE III INTEREST (*the Iressa NSCLC Trial Evaluating Response and Survival versus Taxotere trial*)

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Il gefitinib è un inibitore tirosin chinasi del recettore EGFR (EGFR-TKI), dimostratosi efficace e ben tollerato in pazienti con carcinoma del polmone non a piccole cellule (NSCLC) pretrattato; una maggiore frequenza di risposta a EGFR-TKI è stata osservata in pazienti con tumore esprimente la proteina EGFR, in quelli con un alto numero di copie di *EGFR* o mutazioni attivanti sull'esone 19 e 21 del gene.

Nello studio ISEL (*Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer*), in cui il gefitinib veniva confrontato a placebo in pazienti pretrattati con NSCLC, sia l'espressione della proteina EGFR che l'alto numero di copie di *EGFR* sono risultati predittori degli effetti dell'EGFR-TKI sulla sopravvivenza; i dati non erano sufficienti per stabilire una correlazione tra stato mutazionale di *EGFR* e sopravvivenza, anche se i pazienti trattati con gefitinib con mutazioni di *EGFR* hanno una più alta frequenza di risposta oggettiva (ORR) (Hirsch FR et al, *J Clin Oncol* 2006, 24: 5034-42). Dallo studio BR.21 del *National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group* (NCIC CTG), confrontante erlotinib verso placebo, è emersa una maggiore sopravvivenza nei pazienti con alto numero di copie di *EGFR*, non correlata invece all'espressione della proteina EGFR e alle mutazioni attivanti di *EGFR* (Shepherd FA et al, *New Eng J Med* 2005, 353:123-32).

Lo studio INTEREST, che ha reclutato pazienti in 149 centri di 24 paesi tra Europa, Asia e America tra il 1 marzo 2004 e il 17 febbraio 2006, ha dimostrato che il gefitinib (250mg/die os) non è inferiore al docetaxel (75mg/m² ev ogni 3 settimane) in termini di *overall survival* (OS) in pazienti con NSCLC avanzato pretrattati con platino; il *progression free-survival* (PFS), l'ORR e la frequenza di miglioramento dei sintomi patologia-correlati erano simili in entrambi i gruppi. Il gefitinib è stato associato a miglior tollerabilità e qualità della vita (Kim ES et al, *Lancet* 2008, 372: 1809-18).

In questo lavoro vengono presentati i dati relativi a un'analisi predefinita volta a stabilire la relazione tra biomarker EGFR e *outcome* clinici dopo trattamento con gefitinib o docetaxel dallo studio INTEREST.

Lo studio INTEREST, randomizzato, multicentrico, di fase III, in aperto, ha reclutato 1466 pazienti (maschi 954 – 65,1%) con NSCLC metastatico o localmente avanzato, che erano andati incontro a progressione o ricorrente dopo almeno un precedente regime chemioterapico a base di platino (fino a un massimo di due). L'obiettivo principale dello studio era confrontare l'OS tra gefitinib e docetaxel, usando due analisi coprimarie: stabilire la non inferiorità nella popolazione totale e la superiorità nei pazienti con alto numero di copie di *EGFR*. Inoltre lo studio si proponeva di stabilire la correlazione tra l'efficacia di gefitinib e docetaxel e l'espressione della proteina EGFR e lo stato mutazionale dei geni *EGFR* e *KRAS*. L'alto numero di copie di EGFR, analizzata mediante il metodo FISH, è definita come alta polisomia (≥ 4 copie in $\geq 40\%$ cellule) o amplificazione genica (presenza di *cluster* genici, un gene: rapporto cromosoma per cellula ≥ 2 ; oppure ≥ 15 copie di *EGFR* per cellula in $\geq 10\%$ cellule analizzate). Il tumore è stato definito positivo per l'espressione di EGFR, stabilita mediante immunistochemica, se più del 10% delle cellule sono colorate. Le mutazioni del gene *EGFR* sono state investigate attraverso sequenziamento genico degli esoni 18 e 21 del cromosoma 7: i tumori sono stati considerati positivi se la mutazione veniva determinata in entrambe le direzioni in almeno uno di 3 prodotti di PCR indipendenti derivanti da un campione di DNA del tumore. Le mutazioni del gene *KRAS* sono state determinate attraverso il sistema di mutazioni refrattarie all'amplificazione per determinare mutazioni nei codoni 12 e 13 del gene; il tumore è stato considerato positivo se veniva determinata qualsiasi mutazione. Tutti i *biomarker* sono stati analizzati in cieco rispetto agli *outcome* clinici e al trattamento randomizzato.

Dei 1466 pazienti assegnati a un trattamento, 453 (31%) avevano un campione di tessuto utilizzabile per l'analisi di almeno un *biomarker* e 253 (17%) per tutti e 4; dal punto di vista demografico e clinico, questi pazienti erano rappresentativi dell'intera popolazione, anche se vi è una minor presenza di pazienti asiatici (15% vs 22%) e solo l'1,8% dei pazienti con campione utilizzabile per l'analisi di *KRAS* erano asiatici, perché in Cina il test non era disponibile. La maggior parte dei pazienti con alto numero di copie di EGFR erano anche positivi per l'espressione della proteina (97 di 117 – 83%) e 24 dei 39 pazienti con mutazioni di *EGFR* avevano anche un alto numero di copie ed erano positivi per l'espressione di EGFR. Per tutti i sottogruppi analizzati, la sopravvivenza era simile per i due trattamenti.

Per quanto riguarda il numero di copie di *EGFR*, su 374 campioni, 174 (47%) hanno un alto numero di copie di *EGFR* (121 – 32% per alta polisomia, 53 – 14% - per amplificazione genica); l'OS e il PFS sono simili per i due trattamenti sia nel gruppo ad alto numero di copie (gefitinib vs docetaxel: HR=1,09, 95% CI 0,78-1,51, $p=0,62$ per OS, HR=0,84, 95% CI 0,59-1,19, $p=0,33$ per PFS) che in quello a basso numero (HR=0,93, 95% CI 0,68-1,26, $p=0,64$ per OS, HR=1,30, 95% CI 0,93-1,83, $p=0,12$ per PFS). ORR è più alto nei pazienti con alto numero di copie trattati con gefitinib rispetto a docetaxel [13% (10 di 77) vs 7,4% (6 di 81), $p=0,04$].

L'espressione della proteina EGFR è stata rilevata nel 75% dei pazienti valutabili (284 di 380); non si sono osservate differenze in OS, PFS e ORR tra i trattamenti in pazienti con tumori positivi o negativi per l'espressione della proteina EGFR.

Il 15% (44 di 297) dei pazienti valutabili presentavano mutazioni positive di *EGFR*: in 22 campioni è stata osservata una delezione dell'esone 19, in 16 la mutazione L858R sull'esone 21, in due quella G719A sull'esone 18 e in 4 altre mutazioni. Nei pazienti con tumori positivi per mutazioni di *EGFR* la sopravvivenza è maggiore per entrambi i trattamenti (gefitinib 14,2 vs docetaxel 16,6 mesi) rispetto alla popolazione totale (gefitinib 7,6 vs docetaxel 8,0 mesi) e alla popolazione *wild-type* (gefitinib 6,4 vs docetaxel 6,0 mesi), ma non ci sono differenze significative tra i due trattamenti. Tra i pazienti con mutazioni di *EGFR*, sia il PFS che l'ORR sono maggiori per il gefitinib rispetto al docetaxel [PFS: HR=0,16, 95% CI 0,05-0,49, $p=0,001$; ORR: 42,1% (8 di 19)], ma non nei pazienti *wild-type* [PFS: HR=1,24, 95% CI 0,94-1,64, $p=0,14$; ORR: 21,1% (4 di 19)].

Lo stato mutazionale di *KRAS* è stato valutato in 275 pazienti, di cui 49 (18%) erano positivi; non sono state osservate differenze significative tra i trattamenti in termini di OS, PFS e ORR in funzione delle mutazioni di *KRAS* e nessuna evidenza che le mutazioni di tale gene siano un fattore predittivo per un diverso effetto sulla sopravvivenza tra gefitinib e docetaxel.

In conclusione la sopravvivenza è simile per il gefitinib e il docetaxel in tutti i sottogruppi analizzati; nessun *biomarker* EGFR-correlato sembra essere un fattore predittivo di miglior sopravvivenza del gefitinib verso il docetaxel, ma sembrano invece fattori predittivi di maggior beneficio da entrambi i farmaci verso la miglior terapia di supporto o fattori di buona prognosi. Questo dato contrasta con quanto osservato in studi precedenti; le differenze possono essere spiegate dal fatto che il gefitinib viene confrontato al docetaxel e non al placebo e alla possibile influenza dei trattamenti successivi a cui i pazienti sono stati sottoposti in caso di progressione della malattia, per cui molti pazienti hanno ricevuto entrambi i trattamenti, ma in sequenza diversa. Per quanto riguarda gli *end-point* secondari, PFS e ORR, il gefitinib sembra apportare maggiori benefici rispetto al docetaxel nei pazienti con tumore positivo per le mutazioni o con alto numero di copie di *EGFR*.

Il gefitinib può quindi portare a un OS simile al docetaxel in un *range* ampio di sottogruppi clinici, con vantaggi in termini di tollerabilità e qualità della vita rispetto agli agenti chemioterapici, e più facile utilizzo, visto la somministrazione orale. I *biomarker* di EGFR, come lo stato mutazionale, possono essere utilizzati per identificare i pazienti con maggior benefici da gefitinib in termini di PFS e ORR.

L'editoriale di accompagnamento, a cura di Govindan e Siteinan, sottolinea l'importanza dell'introduzione in terapia degli inibitori del recettore per l'*epidermal growth factor* nel trattamento di NSCLC avanzato, gefitinib e erlotinib, i cui benefici sono prevalenti in alcuni sottogruppi di pazienti (non fumatori, asiatici, donne, istologia di adenocarcinoma) e in quelli con mutazioni attivanti del dominio tirosin chinasi (TK) del recettore. L'attenzione è stata focalizzata su altri *biomarker*, come quelli analizzati nello studio sopra riportato, al fine di meglio identificare i pazienti che potrebbero rispondere agli EGFR-TKI. Tre recenti studi (INTEREST, IPASS [*Iressa Pan-Asia Study* – Fukuoka M et al, *J Clin Oncol* 2009, 27: 408s] e SATURN [*Sequential Tarceva in Unresectable NSCLC* – Cappuzzo F et al, *J Clin Oncol* 2009, 27: 407s]) sottolineano come le mutazioni EGFR TK meglio identificano i pazienti che possono trarre benefici dal trattamento, se misurati in termini di PFS. Con la disponibilità di farmaci di seconda linea sempre più efficaci, almeno per una porzione significativa di pazienti che interrompono la terapia in studio, PFS dovrebbe diventare l'*end-point* primario, poiché gli effetti di *cross-over* dei pazienti che ricevono l'altra terapia al momento della progressione possono modificare l'interpretazione degli effetti su OS. In tutti gli studi citati, l'espressione della proteina EGFR, il numero di copie di *EGFR* e le mutazioni di *k-ras* non si sono dimostrati utili nell'identificare i pazienti che avrebbero un significativo prolungamento di PFS se trattati con EGFR-TKI. È emerso inoltre come tra le mutazioni di *EGFR*, quelle associate a miglior risposta siano le delezioni dell'esone 19 e L858R.

La mancanza di effetti su OS apre il problema della sequenzialità della terapia: nessuno studio ad oggi è stato disegnato con l'obiettivo di risolvere questo problema nei pazienti con mutazioni di *EGFR*.

L'era dell'utilizzo di *targeted therapy* in pazienti non selezionati sta per terminare. Il tumore del polmone non a piccole cellule deve essere visto non come una singola malattia, ma come diversi sottogruppi con caratteristiche uniche. La sfida è fornire il giusto farmaco alla giusta popolazione: una volta definiti dose e tossicità, l'obiettivo deve essere identificare i pazienti che più beneficranno della terapia. Studi non randomizzati di fase precoce, con numero ragionevole di pazienti, devono essere principalmente focalizzati nell'identificare *biomarker* predittivi e di potenza sufficiente da individuare il piccolo numero di pazienti che risponderà al trattamento. Una volta identificato un *biomarker*, gli studi randomizzati dovranno stabilire l'impatto di nuove terapie su questa popolazione maggiormente sensibile e il miglior schema terapeutico (sequenza, nuove combinazioni). Queste conoscenze andranno poi applicate a NSCLC operato in fase precoce per migliorare continuamente la cura in popolazioni definite.

Gli editorialisti concludono sottolineando come sia il momento di modificare l'approccio alla terapia e far diventare pratica la lezione imparata.

Conflitti di interesse: gli autori dichiarano di aver ricevuto finanziamenti da ditte farmaceutiche.

Parole chiave: gefitinib, docetaxel, NSCLC, *biomarker* EGFR-correlati

Riferimento bibliografico

Douillard JY et al. *J Clin Oncol* 2010, 28(5): 744-752.

Govindan R and Siteman AJ *J Clin Oncol* 2010, 28(5): 713-15.

ASSOCIAZIONE DEI POLIMORFISMI DEL RECETTORE DEL FATTORE DI CRESCITA EPIDERMICO, TOSSICITÀ CUTANEA E ESITO DEL TRATTAMENTO IN PAZIENTI CON CARCINOMA A CELLULE SQUAMOSE DELL'AREA TESTA-COLLO TRATTATI CON CETUXIMAB-DOCETAXEL

A cura della Dott.ssa Marzia Del Re e dei Dott. Antonello Di Paolo e Guido Bocci

Il recettore per il fattore di crescita epidermico (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) ed i suoi ligandi svolgono un ruolo fondamentale nella trasduzione del segnale coinvolto nella proliferazione cellulare, nel processo di metastatizzazione e nella riparazione del DNA. Inoltre l'aumento di espressione di EGFR nel tessuto tumorale è frequentemente associato ad un basso grado di risposta al trattamento. In particolare, nel carcinoma a cellule squamose della regione testa-collo (SCCHN) l'aumento di espressione di EGFR è associata a minor risposta al trattamento, riduzione del tempo libero da malattia e minor sopravvivenza totale (OS). Per questi motivi l'analisi dell'EGFR, intesa come espressione della proteina, mutazioni geniche dell'EGFR o della sua via di trasduzione, può fornire informazioni utili per il trattamento del SCCHN. Il cetuximab, un anticorpo monoclonale chimerico che ha come bersaglio l'EGFR, ha mostrato un'efficacia clinica significativa nel trattamento del SCCHN ed è in grado di aumentare il tempo di sopravvivenza libera da tumore (PFS) e la OS. Tuttavia la tossicità cutanea dipendente dall'inibizione di EGFR può essere di grave entità e limitare, quindi, la qualità di vita del paziente. Per questa ragione Klinghammer e colleghi hanno analizzato la correlazione tra rash cutaneo indotto da cetuximab e due polimorfismi di EGFR funzionalmente in grado di aumentare l'espressione di EGFR: un microsatellite consistente nella ripetizione dinucleotidica CA nel primo introne denominata *simple sequence repeat* (CA-SSR) ed un polimorfismo a singolo nucleotide 1562G>A (R521K) nel tredicesimo esone.

Sono stati arruolati 84 pazienti da sottoporre a trattamento con cetuximab/docetaxel in uno studio clinico multicentrico di fase II. I criteri di inclusione dei pazienti erano: a) conferma istologica di SCCHN metastatico, b) progressione del tumore dopo un trattamento radio-chemioterapico contenente oxaliplatino oppure dopo chemioterapia contenente platino, c) nessun altro trattamento dopo fallimento della chemioterapia con platino, d) performance status da 0 a 1. I pazienti hanno ricevuto un massimo di 6 cicli consistenti in docetaxel alla dose di 35 mg/m² somministrato al giorno 1, 8 e 15, ogni 4 settimane in assenza di progressione tumorale o tossicità grave. Il cetuximab è stato somministrato alla dose iniziale di 400 mg/m², seguita da una dose settimanale di 250 mg/m² fino a progressione tumorale o tossicità grave. La valutazione clinica del tumore è stata effettuata ogni 8 settimane e l'esito della risposta al trattamento è stato determinato sulla base dei criteri RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*). La tossicità cutanea è stata valutata secondo i criteri del *National Cancer Institute* ed è stato considerato il grado di tossicità più grave registrato durante il primo ciclo di trattamento. Il DNA genomico per lo studio delle mutazioni è stato estratto da tessuto paraffinato e sottoposto ad amplificazione e successiva analisi mediante endonucleasi di restrizione (PCR-RFLP) per la valutazione del polimorfismo 1562G>A e a sequenziamento per l'analisi di CA-SSR. L'influenza dei polimorfismi di EGFR sulla durata e gravità della tossicità cutanea e sulla percentuale di remissioni parziali (PR) e stabilizzazioni di malattia (SD) è stata calcolata utilizzando il test di Fisher ed il livello di significatività era fissato a $P < 0,05$. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software StatView (version 5.0.1, SAS Institute, Inc.).

L'analisi del polimorfismo 1562G>A mostra che il genotipo più comune era quello *wild-type* (G/G) e che 27 degli 84 pazienti mostravano il genotipo polimorfico, dei quali 4 erano omozigoti (A/A) e 23 eterozigoti (G/A). Non è stata riscontrata alcuna associazione significativa tra genotipo e sesso, età, localizzazione o stadio iniziale del tumore. Il numero di ripetizioni CA nella regione promotore di EGFR era compreso tra 14 e 21. È stata osservata una predominanza di 16 ripetizioni CA ed in particolare la distribuzione allelica era la seguente: 33%, 16-CA; 17,6%, 15-CA; 16,7%, 17-CA; 12,7%, 20-CA; 9,8%, 18-CA; 4,9%, 19-CA; 3,9%, 21-CA; e 0,9%, 14-CA. Nei pazienti studiati il numero di ripetizioni CA-SSR non era associato alla tossicità cutanea, mentre la presenza dell'allele A (A/A o G/A) del polimorfismo 1562G>A è risultata

significativamente associata ad una bassa incidenza di tossicità cutanea >1 , al contrario di quanto osservato per il genotipo omozigote G/G ($P=0,024$). E' stata inoltre dimostrata un'associazione tra tossicità cutanea ed efficacia del trattamento: nei pazienti senza rash cutaneo, le percentuali di PR e PR+SD erano pari al 7% e 28%, per quelli con tossicità di grado 1 13% e 63% , per i pazienti con tossicità >1 14% e 67%. Anche se è stata osservata una tendenza verso una più lunga PFS ed OS per i pazienti che avevano manifestato un rash cutaneo di qualsiasi entità, il solo grado di tossicità cutanea non ha avuto influenza significativa su PFS ed OS. Nel gruppo di pazienti portatori dell'allele A del polimorfismo 1562G>A (A/A o G/A) PR e PR+SD erano del 7% e 44% in confronto al 17% e 67% nei pazienti con il genotipo G. Inoltre, il genotipo A era associato ad un PFS più breve ma non influenzava significativamente l'OS, probabilmente a causa della bassa consistenza numerica della popolazione studiata. Per il rash cutaneo non è stata osservata un'associazione tra il genotipo CA-SSR e PR+SD ($P=0,49$), PFS (log-rank: $P=0,36$) ed OS (log-rank: $P=0,69$).

In questo studio K. Klinghammer e colleghi dimostrano l'esistenza di una correlazione tra genotipo G/G del polimorfismo 1562G>A e maggior sviluppo della tossicità cutanea legata al trattamento con cetuximab in pazienti con tumore dell'area testa-collo. Non è stata osservata un'associazione significativa tra tossicità legata al trattamento e la ripetizione dinucleotidica CA nel primo introne denominata *simple sequence repeat* CA-SSR.

Benché si ipotizzi che la causa di questa correlazione, nei pazienti che presentano il genotipo variante A del polimorfismo 1562G>A, sia rappresentato dalla sostituzione di un aminoacido (Arg521Lys) a livello del sito di legame tra anticorpo ed EGFR, che comporterebbe una riduzione di affinità tra i due e quindi il minor rischio di tossicità e PFS ed OS più brevi, i meccanismi molecolari alla base di questa associazione rimangono ancora da chiarire. I risultati riportati da K. Klinghammer e colleghi, se approfonditi e confermati da ulteriori studi clinici, potranno essere molto importanti nella messa a punto di schemi terapeutici personalizzati.

Parole chiave: cetuximab, tumore dell'area testa-collo, EGFR, polimorfismi, tossicità

Riferimento bibliografico

[Klinghammer K](#) et al. *Clin Cancer Res* 2010, 16(1):304-10.

I POLIMORFISMI DEL GENE *SLCO1B1* CHE CODIFICA UN POLIPEPTIDE DI TRASPORTO DEGLI ANIONI ORGANICI SONO DETERMINANTI GENETICI DELLA CLEARANCE PLASMATICA DEL METOTREXATO

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

Il metotrexato è un antagonista della sintesi dell'acido folico utilizzato come agente chemioterapico per il trattamento di molte forme tumorali, tra cui la leucemia linfoblastica acuta (LLA). Gli studi di farmacogenetica hanno finora fornito informazioni contrastanti riguardo il ruolo di polimorfismi in geni candidati come fattori predittivi della variabilità farmacocinetica e farmacodinamica interindividuale del metotrexato. In questo contesto, gli Autori hanno eseguito un'analisi degli SNPs a livello dell'intero genoma in pazienti pediatriche con nuova diagnosi LLA al fine di individuare le varianti geniche coinvolte nella *clearance* plasmatica del metotrexato.

Mediante l'utilizzo di una piattaforma tecnologica Affymetrix, è stata inizialmente eseguita l'analisi di 500568 SNPs in una coorte esplorativa che comprendeva 434 bambini affetti da LLA (età mediana 5.92 anni, range 1.02-18.85). Questi pazienti avevano ricevuto, durante la fase di consolidamento della terapia farmacologica, un totale di 3014 cicli di metotrexato. Il farmaco era stato somministrato per via sistemica ad una dose compresa tra 2-5 g/m² secondo tre diverse schedule di trattamento. Dall'analisi sono stati esclusi gli SNPs che non raggiungevano una percentuale di rilevazione (*call rate*) pari al 95% (n= 29314), sia quelli che possedevano una frequenza dell'allele meno rappresentato inferiore all'1% (n=63110), come pure gli SNPs

che non rispettavano l'equilibrio di Hardy-Weinberg (n=10944). I 10 SNPs identificati nella coorte esplorativa sono stati validati in una coorte indipendente che comprendeva 206 pazienti (età mediana 5.10 anni, range 1.17-18.67). La significatività statistica è stata posta a $P < 10^{-7}$ nella studio esplorativo e a $P < 0.05$ nello studio di validazione.

Dallo studio esplorativo emerge che i polimorfismi rs11045879 ($P = 1.7 \times 10^{-10}$) e rs4149081 ($P = 1.7 \times 10^{-9}$) del gene SLCO1B1, codificante un polipeptide di trasporto degli anioni organici, sono le varianti associate in maniera più consistente alla *clearance* plasmatica del metotrexato. Allo scopo di validare questi risultati, è stata eseguita nella coorte di validazione l'analisi di 10 SNPs del gene SLCO1B1, inclusi i polimorfismi rs11045879 e rs4149081. I risultati ottenuti nella coorte di validazione confermano l'associazione dei polimorfismi rs11045879 ($P=0.018$) e rs4149081 ($P=0.017$) con la *clearance* del metotrexato, ed evidenziano un'associazione significativa anche degli altri 8 polimorfismi del gene SLCO1B1 analizzati ($P < 0.05$). Dall'analisi di regressione lineare con metodologia *stepwise*, 5 SNPs del gene SLCO1B1 (rs4149081, rs10841753, rs11045818, rs2900476, rs17328763) risultano fattori indipendenti predittivi della *clearance* di metotrexato. Globalmente, tali SNPs spiegano il 9.3% della variabilità nella *clearance* del metotrexato riscontrata nella coorte esplorativa, e l'11.3% della variabilità osservata nella coorte di validazione. Il contributo dei fattori clinici a tale variabilità risulta di gran lunga inferiore, fatta eccezione per il regime chemioterapico utilizzato che da solo è in grado di spiegare il 17.9% della variabilità osservata nella coorte esplorativa ed il 9.3% della variabilità nella coorte di validazione (origine etnica: 2.1% e 1.6%; sesso: 0.01% e 3.3%; creatinina sierica: 3.2% e 1.9%, rispettivamente nella coorte esplorativa e nello coorte di validazione). La tossicità gastrointestinale (mucositi di grado 3 e 4) e le infezioni sono gli eventi avversi più frequenti associati al trattamento chemioterapico con metotrexato. I polimorfismi rs11045879 (OR: 16.4; 95%CI: 8.7-26.7; $p=0.004$) e rs4149081 (OR 15.3; 95% CI 7.9-24.6, $P=.03$) del gene SLCO1B1 risultano associati alla tossicità gastrointestinale, mentre non vengono identificate varianti del gene SLCO1B1 associate alla comparsa di infezione.

I risultati di questo studio mostrano che i polimorfismi del gene SLCO1B1 sono fattori rilevanti nella *clearance* plasmatica del metotrexato e nell'insorgenza di effetti avversi in pazienti pediatriche con nuova diagnosi di leucemia linfoblastica acuta. In particolare, cinque polimorfismi del gene SLCO1B1 spiegano circa il 10% della variabilità osservata nella *clearance* plasmatica del metotrexato, mentre due varianti dello stesso gene sono associate all'insorgenza di tossicità gastrointestinale.

Gli Autori di questo studio mostrano per la prima volta, attraverso l'utilizzo di un approccio *genome-wide* che le varianti polimorfiche del gene SLCO1B1 sono importanti determinanti genetici della variabilità interindividuale che si osserva nella *clearance* del metotrexato. Il gene SLCO1B1 codifica per un trasportatore di efflusso degli anioni organici, localizzato a livello della membrana basolaterale degli epatociti, ed il suo ruolo nella *clearance* plasmatica del metotrexato è stato recentemente dimostrato in un modello animale di topo transgenico (van de Steeg et al., *Drug Metab. Dispos.* 2009; 37(2):277-281). Il limitato contributo delle varianti del gene SLCO1B1 alla variabilità osservata nella *clearance* del metotrexato suggerisce tuttavia il coinvolgimento di altri geni polimorfici.

Parole chiavi: leucemia linfoblastica acuta, metotrexato, genome wide scan, SLCO1B1.

Riferimento bibliografico

[Treviño LR et al. J Clin Oncol 2009, 27\(35\):5972-8.](#)

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 Finanziamento della ricerca scientifica e della Università, 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: 02-29520311.

sif.farmacologia@sigr.it; sif.informazione@sigr.it; sifcese@comm2000.it.

**GRUPPO DI LAVORO SULLA FARMACOGENETICA
della SOCIETA' ITALIANA DI FARMACOLOGIA**

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. Guido Bocci (Università di Pisa) Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott. Antonello Di Paolo (Università di Pisa) Dott.ssa Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Cristina Tonello (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: sif@unito.it

DISCLAIMER – Leggere attentamente

Gli autori e redattori del Gruppo di Lavoro sulla Farmacogenetica sono Farmacologi, Medici, Farmacisti e Biologi, e quanto riportato deriva da affidabili ed autorevoli fonti e studi scientifici, accompagnato dai relativi estratti o riferimenti bibliografici alle pubblicazioni. In ogni caso, le informazioni fornite, 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/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php, sulle relative newsletter, 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. Il servizio è totalmente gratuito e non esistono conflitti di interesse o finalità di lucro. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione della newsletter “SIF – Farmacogenetica” senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

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