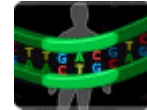


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 23 - Novembre 2010**

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

Sommario

- Modello di probabilità della risposta virologica sostenuta al trattamento con Interferone pegilato e Ribavirina in pazienti coinfectati HCV/HIV
- Importanza del rapporto plasmatico Diidrouracile/Uracile nel predire la tossicità dipendente dal 5-fluorouracile in pazienti con tumore colo rettale
- Farmacogenomica della *catecol-O*-metiltrasferasi e risposta agli inibitori selettivi del reuptake della serotonina
- Associazione tra polimorfismi di ABCB1, sopravvivenza e citotossicità in vitro in pazienti affetti da de novo leucemia mieloide acuta con cariotipo normale
- Un polimorfismo della Timidilato Sintasi influisce sulla risposta alla terapia chemioterapica preoperatoria con 5-Fluorouracile in pazienti con cancro rettale
- Polimorfismi genetici e rischio cardiovascolare degli antinfiammatori non steroidei

MODELLO DI PROBABILITÀ DELLA RISPOSTA VIROLOGICA SOSTENUTA AL TRATTAMENTO CON INTERFERONE PEGILATO E RIBAVIRINA IN PAZIENTI COINFETTATI HCV/HIV

A cura della Dott.ssa Greta Milani

L'epatite C è un'infezione del fegato causata dal *Hepatitis C Virus*, denominato HCV; questo virus causa la morte delle cellule epatiche (necrosi epatica), che vengono sostituite da un nuovo tessuto di riparazione-cicatrizzazione, provocando una fibrosi epatica progressiva, fino alla cirrosi epatica. Una volta penetrato nel fegato, il virus causa una epatite acuta che però, nella maggior parte dei casi, è asintomatica. Ciò fa sì che la malattia possa divenire cronica (nell'80% dei casi) senza che il paziente se ne accorga e possa quindi curarla precocemente; generalmente i danni al fegato non si presentano se non dopo 10-30 anni dall'infezione. L'infezione cronica con HCV colpisce oltre 175 milioni di persone in tutto il mondo ed è la principale causa di trapianto di fegato nei paesi occidentali. Le infezioni da HCV e da *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) condividono percorsi di trasmissione e causano infezioni croniche; per questo motivo sono frequenti i casi di coinfezione: in tutto il mondo il 20% dei pazienti HIV positivi sono infettati cronicamente anche per HCV, la percentuale di coinfezione sale fino al 90% nei soggetti che hanno assunto droghe endovena. Il trattamento dell'epatite C cronica attualmente utilizzato che offre i maggiori vantaggi è rappresentato da un ciclo di 6-18 mesi di Peg-Interferone-alfa-2a (PegIFN- α -2a) e ribavirina (RBV); tuttavia tale regime terapeutico è ben tollerato ed efficace solo nel 60% dei soggetti. La terapia combinata PegIFN- α -2a e RBV presenta tutti i comuni effetti collaterali dell'interferone, quali disturbi respiratori (tosse, dispnea, sintomi influenzali), cutanei (rash, prurito), astenia, nausea e anoressia, insonnia e alterazioni dell'equilibrio tiroideo. L'effetto collaterale più importante e più preoccupante attribuibile alla RBV è quello di una anemia emolitica e la teratogenicità. L'identificazione di fattori predittivi di successo terapeutico è particolarmente importante nella popolazione con coinfezione, al fine di scegliere i migliori candidati al trattamento ed

evitare che questi soggetti rimangano senza terapia, come succede attualmente nella maggior parte dei centri di cura. È noto che i pazienti infetti da HCV di genotipo 2 o 3, livelli sierici di HCV basale molto bassi e fibrosi epatica nulla hanno probabilità maggiori di rispondere meglio alla terapia a base di interferone rispetto a coloro che sono infettati dal genotipo 1 e non presentano queste caratteristiche. Recentemente sono stati pubblicati in letteratura tre studi indipendenti di associazione, mediante genomewide, di alcuni polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) a livello del gene IL28 che sono strettamente correlati all'outcome della terapia in pazienti infettati con HCV. (Ge D, 2009; Tanaka Y, 2009; Rauch A, 2010). Lo SNP più importante è risultato essere lo *rs 12979860*, si trova sul cromosoma 19: in pazienti HCV-positivi il genotipo CC aumenta la percentuale di risposta virologica sostenuta (SVR) alla terapia di almeno 2 volte rispetto ai portatori della variante in eterozigosi e omozigosi (CT e TT). Risultati simili sono stati dimostrati recentemente in soggetti co-infettati con HIV e HCV.

Per costruire un indice predittivo di SVR, utile nella pratica clinica, gli autori di questo studio hanno deciso di valutare una popolazione di 245 soggetti co-infettati da HIV e HCV.

I soggetti arruolati sono stati suddivisi in due gruppi, secondo l'ospedale di riferimento: la coorte di derivazione comprende 159 pazienti in cura presso l'ospedale Carlos III di Madrid (64,9% dei pazienti totali); la coorte di validazione, che include due diversi ospedali, viene usata per validare l'accuratezza dell'indice di SVR in un gruppo indipendente di pazienti (86 soggetti, 35,1%).

I soggetti arruolati nei due gruppi hanno caratteristiche basali pressoché simili, ad eccezione della rigidità epatica e dei livelli sierici di HCV RNA: tali valori sono risultati più alti nella coorte di validazione.

Tutti i soggetti hanno ricevuto un trattamento con PegIFN- α -2 a dosi standard e RBV, secondo il peso corporeo; è stato valutato il genotipo del SNP più significativo a livello del gene IL28 in tutti i partecipanti allo studio. Le somministrazioni della terapia sono state fatte seguendo le linee guida internazionali e in base alla risposta virologica valutata alla quarta settimana di trattamento: pazienti con genotipo HCV 1 o 4 hanno ricevuto il farmaco per 48 o 72 settimane, mentre soggetti con genotipo 3 di HCV sono stati trattati per 24 o 48 settimane; nelle coorti dello studio non erano presenti pazienti con HCV di genotipo 2. Sono state applicate precocemente le regole di stop della terapia per i soggetti con risposta virologica sub ottimale misurata a 12 e 24 settimane. In caso di ricaduta dopo aver sospeso la terapia per indice di SVR subottimali, i pazienti sono stati classificati come non responders al trattamento; inoltre, soggetti che hanno interrotto la cura o con scarsa compliance sono stati esclusi dallo studio.

Per tutti i pazienti, le misurazioni dei livelli sierici di HCV RNA sono state effettuate mediante un saggio Real Time PCR (COBAS, TaqMan, Roche); mentre il genotipo del virus è stato determinato tramite un kit commerciale che riduce al minimo le possibilità di misclassificazione (Versant HCV Genotype, Siemens).

Il livello di fibrosi epatica è stato valutato su tutti i partecipanti allo studio tramite una metodica non invasiva, l'elastografia transiente (FibroScan, Echosens).

Per i soggetti arruolati nella coorte di derivazione, il genotipo dello SNP *rs12979860* è stato determinato in cieco utilizzando sonde TaqMan presso il *Duke Institute for Genome Science and Policy*; i genotipi dei pazienti della coorte di validazione, invece, sono stati ottenuti con metodica similare presso l'Unità di Immunogenetica dell'Università di Jaen.

In questo studio, gli autori hanno considerato come genotipo HCV i genotipi 1-4 rispetto a 2-3, e per quanto riguarda lo SNP *rs12979860* le varianti CT o TT rispetto alla variante CC.

Secondo queste definizioni, tutte le variabili sono risultate inversamente associate con SVR; l'associazione negativa maggiore è stata rilevata nelle varianti CT/TT per lo SNP, di seguito i genotipi HCV 1 e 4, alti livelli sierici di HCV RNA ed infine un'elevata fibrosi epatica.

Tutti questi parametri sono stati utilizzati per costruire un indice predittivo (*Prometheus*), che gli autori hanno reso disponibile on line, in cui è possibile calcolare la probabilità di ottenere una SVR nel paziente secondo il modello in cui sono presenti i parametri sopra descritti.

I valori ottenuti da questo indice predittivo sono stati simili nella coorte di derivazione e in quella di validazione. Gli autori, inoltre, sottolineano che questo modello è stato ottenuto in una popolazione di pazienti co-infettati: l'uso di tale formula in pazienti HCV positivi dovrebbe portare a previsioni ancora più precise; tuttavia non si può escludere che l'infezione da HIV possa, da sola, avere un impatto sulla performance del modello.

La possibilità di prevedere la risposta a PegIFN- α -2 e RBV prima di iniziare la terapia è molto importante per poter identificare a priori soggetti HIV-HCV che possano beneficiare del trattamento. Il modello di previsione di SVR qui presentato è basato su 4 parametri di base, che non richiedono indagini invasive, può avere un grande valore nelle decisioni cliniche di trattamento di pazienti co-infettati HIV-HCV.

L'uso della corrente terapia per l'epatite C può essere consigliato per i soggetti che non hanno fibrosi epatica avanzata quando ci sono buone probabilità di risposta. Invece, nei soggetti con una moderata fibrosi epatica e classificati dal modello come non responders, si dovrebbe seguire un nuovo trattamento antiretrovirale più appropriato.

Sarebbe opportuno condurre altri studi con pazienti HIV-positivi o HCV-positivi, in modo da confrontare ed eventualmente confermare la validità del modello anche in pazienti non co-infettati dai due virus. Inoltre, andrebbe valutata l'applicabilità dell'indice predittivo proposto dagli autori in un gruppo di pazienti con HCV di genotipo 2, non ammessi nelle coorti di questo lavoro.

Parole chiave: Epatite C, interferone, ribavirina, SNP, co-infezione HIV- HCV

Riferimento bibliografico

[Medrano J](#) et al. *Clin Infect Dis* 2010, 51(10): 1209-16

IMPORTANZA DEL RAPPORTO PLASMATICO DIIDROURACILE/URACILE NEL PREDIRE LA TOSSICITÀ DIPENDENTE DAL 5-FLUOROURACILE IN PAZIENTI CON TUMORE COLORETTALE

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

Il 5-fluorouracile (5-FU) ed i suoi profarmaci, come la capecitabina, sono i farmaci maggiormente utilizzati nella terapia dei tumori colorettali. La comparsa di reazioni avverse come neutropenia, mucosite, diarrea ed hand-foot syndrome limita la durata e la dose del trattamento. La diidropirimidina deidrogenasi (DPD) è l'enzima che catalizza la tappa limitante del metabolismo del 5-FU ed una eventuale carenza di questo enzima ne riduce il catabolismo, risultandone un aumento di esposizione al farmaco e comparsa di tossicità. La carenza di DPD è stata riscontrata nel 30-60% dei pazienti con tossicità indotta da 5-FU ed è associata a mutazioni nel gene della DPD. La più frequente tra queste è una mutazione intronica G>A nel sito di splicing dell'esone 14, denominata IVS14+1G>A. Poiché il deficit DPD diminuisce il catabolismo dell'uracile (U) a 5,6-diidrouracile (UH₂), l'accumulo di U può essere rilevato nel plasma. Per questa ragione lo studio esamina la correlazione tra livelli plasmatici di UH₂ e U e la tossicità riscontrata in pazienti trattati con 5-FU in associazione all'analisi genetica della mutazione DPD IVS14+1G>A.

Kristensen et al. hanno valutato, in 68 pazienti trattati con chemioterapia contenente 5-FU, il rapporto UH₂/U nei livelli plasmatici e la presenza della mutazione IVS14+1G>A nei pazienti che avevano manifestato tossicità. Inoltre, come controllo, il rapporto UH₂/U è stato calcolato anche in 100 volontari sani. I pazienti arruolati nello studio hanno ricevuto uno dei tre seguenti schemi terapeutici: leucovorin+5-FU, FOLFOX 4, capecitabina. Le tossicità manifestatesi al primo ed al secondo ciclo di chemioterapia sono state registrate secondo il *Common Terminology Criteria for Adverse Events Scale*, versione 3.0.

Il rapporto UH₂/U e la concentrazione di 5-FU plasmatici sono stati analizzati tramite HPLC, mentre la mutazione IVS14+1G>A è stata analizzata tramite PCR-RFLP su DNA estratto da sangue periferico.

Il 35% dei pazienti ha sviluppato tossicità tra il primo ed il secondo ciclo di terapia: il 71% di questi, trattati con leucovorin+5-FU, ha manifestato una tossicità di grado III-IV. In nessuno dei pazienti è stato necessario interrompere il trattamento, ma in tre di loro è stata ridotta la dose dal 10 al 50%.

Il rapporto UH₂/U in 100 controlli sani e 44 pazienti con tumore coloretale senza tossicità è stato confrontato con quello dei 24 pazienti che avevano sviluppato tossicità dopo la somministrazione di 5-FU; è stato osservato che il rapporto plasmatico UH₂/U dei pazienti con tossicità era molto inferiore rispetto a quello dei controlli sani (3.2 vs 7.1, P = 0,009) e la media del rapporto UH₂/U diminuiva con l'aumentare del grado di tossicità. L'analisi della mutazione IVS14+1G>A nei 24 pazienti con tossicità ha rivelato un paziente con genotipo eterozigote GA e tossicità midollare di grado II.

Il rapporto UH₂/U plasmatico nei 24 pazienti con tossicità dopo somministrazione con 5-FU era significativamente più basso rispetto ai controlli. Dei 9 pazienti che hanno manifestato tossicità grado III-IV, uno risultava essere portatore del genotipo GA per la mutazione IVS14+1G>A.

La valutazione del rapporto plasmatico UH₂/U è un metodo utile e relativamente semplice per predire lo sviluppo di tossicità in pazienti affetti da carenza enzimatica DPD, eventualmente in associazione alla genotipizzazione di IVS14+1G>A. Tale valutazione dovrebbe essere comunque associata a esame delle altre mutazioni del gene DPD associate a riduzione dell'attività enzimatica DPD.

Parole chiave: 5-FU, DPD, diidrouracile/uracile, mutazioni, tossicità

Riferimento bibliografico

[Kristensen MH](#) et al. *J Int Med Res* 2010, 38(4): 1313-23

FARMACOGENOMICA DELLA CATECOL-O-METILTRASFERASI E RISPOSTA AGLI INIBITORI SELETTIVI DEL REUPTAKE DELLA SEROTONINA

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il disturbo depressivo maggiore (*major depressive disorder*, MDD) è un grave problema clinico con una incidenza negli Stati Uniti di circa il 16%. Gli inibitori selettivi del reuptake della serotonina (SSRI) sono la classe di antidepressivi maggiormente prescritta. L'efficacia però è soggetta ad ampie variazioni individuali nella risposta agli SSRI, con frequenza di remissione inferiore al 50%. Le monoamine biologicamente attive, come la norepinefrina e la serotonina, contribuiscono alla regolazione del comportamento e delle emozioni. Decenni fa, Schildkraut propose una teoria dello "sbilanciamento chimico" suggerendo che diminuiti livelli di queste monoamine potevano incrementare il rischio di depressione. La catecol-O-metiltransferasi (COMT) catalizza la O-metilazione dei neurotrasmettitori catecolaminici, per questo, variazioni nell'attività della COMT possono, in teoria, modulare l'efficacia degli antidepressivi. Il gene COMT è stato clonato nel 1989, mappa sul cromosoma 22q11, in una regione di estremo interesse per numerosi disturbi psichiatrici. Da questo singolo gene, grazie alla presenza di un doppio promotore, vengono codificate due isoforme: una solubile citoplasmatica ed una legata alle membrane. Il promotore "prossimale" che codifica per la COMT solubile citoplasmatica è collocato nell'introne 2, mentre il promotore distale che codifica per la COMT legata alle membrane è situato al terminale 5' del gene. La COMT legata alla membrana ha una sequenza di 50 aminoacidi idrofobici alla sua estremità N-terminale e si ipotizza possa essere l'isoforma predominante nel cervello. Studi genetici sul gene COMT e il possibile ruolo nel rischio di patologie come depressione e cancro della mammella sono datati di oltre 30 anni.

Nel recente lavoro pubblicato da Ji Y et al. su *The Pharmacogenomics Journal*, è stato investigato il possibile ruolo delle variazioni genetiche di COMT nella risposta alla terapia con SSRI del MDD.

In tutto, sono stati analizzati 23 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) lungo il gene COMT (28kb), selezionati mediante approccio di *tagging* aplo tipico o *linkage disequilibrium*. L'analisi è stata effettuata in una popolazione di 1914 pazienti appartenenti allo studio STAR*D (*Sequenced Treatment Alternative Relieve Depression*) [Howland RH. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv* 2008, 46: 21-24; Zisook S et al. *J Clin Psychiatry* 2008, 69: 1184-1185; Trivedi MH et al. *Am J Psychiatry* 2006, 163: 28-40]. L'*outcome* primario dello studio STAR*D era la remissione dopo terapia con citalopram indicata come uno score di QIDS-C (*quick inventory of depressive symptomatology-clinician-rated*) inferiore o uguale a 5 dopo l'ultima visita. Quest'analisi è stata approfondita in una coorte di replicazione di 422 pazienti appartenenti allo studio Mayo Clinic PGRN - *Pharmacogenetics Research Network* - Citalopram/Escitalopram *Pharmacogenomic Study*. I pazienti appartenenti al Mayo Clinic erano in terapia con citalopram o escitalopram e dovevano avere uno score maggiore di 14 nella HRD-D17 (17-item *Hamilton Depression Rating Scale*) per essere ammessi allo studio.

Campioni con un *call rate* inferiore al 90%, con segnalazione ambigua o dati sui pazienti insufficienti sono stati rimossi dall'analisi. L'analisi di Hardy-Weinberg è stata effettuata per l'intera popolazione, e anche tra i differenti gruppi etnici. Per fenotipi binari (remissione vs non-remissione) è stato effettuato un test di associazione tra remissione alla malattia e ogni singolo SNP, anche per i vari sottogruppi etnici. È stato calcolato il *p-value* per ogni SNP, sulla base di un modello di regressione logistica assumendo un effetto allele additivo sull'odds di remissione.

Dei 1903 pazienti genotipati con successo, 33 avevano dati fenotipici inadeguati per cui sono stati analizzati 1870 pazienti, suddivisibili in 1232 Bianchi non Ispanici (WNI), 287 Neri (B), 238 Bianchi Ispanici (WH) e 113 di "altra" etnicità *self-reported*. Dei pazienti STAR*D genotipati, vi erano 541 WNI con remissione (44% dei soggetti WNI), 93 Neri con remissione (32% dei soggetti Neri) e 78 WH con remissione (33% dei soggetti WH). L'associazione degli SNPs di COMT con lo stato di remissione dei pazienti STAR*D ha messo in evidenza due polimorfismi: 5'-FR(-485)C/T (rs13306278) e 3'-FR(23) (rs9332381).

Lo SNP 5'-FR(-485)C/T (rs13306278), localizzato nel promotore distale di COMT, sembrava essere associato alla mancanza di remissione (*p-value* non aggiustato=0.038) in soggetti WNI, con un odds ratio (OR) allele specifico di 0.78 (intervallo di confidenza 95%, 0.62-0.99). Un simile trend di associazione era inoltre presente per lo stesso SNP nei soggetti WH, con un OR di 0.56 (intervallo di confidenza 95%, 0.26-1.18). Invece, questo SNP aveva una frequenza allelica particolarmente bassa (2-3%) nei soggetti neri e non era associato a remissione.

Lo SNP 3'-FR(23) (rs9332381), mostrava una associazione significativa (*p-value*=0.006) con remissione in soggetti WNI, con un OR di 1.71 (intervallo di confidenza 95%, 1.16-2.51), ma non era significativo negli altri due gruppi etnici.

È stata approfondita l'analisi del singolo SNP rs13306278 nella coorte di validazione Mayo PGRN SSRI. Assumendo un effetto additivo dell'allele, l'OR fra il polimorfismo e lo stato di remissione era di 0.68 (intervallo di confidenza 95%, 0.42-1.09). Sebbene questo risultato non era statisticamente significativo (*p*=0.11), cosa non sorprendente dato il numero ristretto in analisi rispetto allo studio STRA*D (422 pazienti), il trend di associazione osservato era lo stesso.

È stato inoltre condotto uno studio funzionale per caratterizzare il polimorfismo rs13306278. Tramite saggio EMS (*Electromobility Shift*) è stato dimostrato che il cambio nucleotidico nella posizione -485 C>T comportava una riduzione del legame degli estratti nucleari all'oligonucleotide con ipotizzabile conseguente riduzione di espressione della COMT legata alla membrana.

Da questi risultati è stato possibile concludere che la presenza del polimorfismo SNP rs13306278 è associato ad una riduzione della remissione dalla depressione dopo terapia con SSRI. In questa valutazione finale è però importante considerare un'ulteriore associazione di questo polimorfismo con alti valori basali di QIDS score, indicando una grave depressione già prima dell'ingresso nello studio. Questi risultati suggeriscono quindi che la bassa frequenza di remissione associata a questo SNP può essere, almeno parzialmente, un riflesso di una depressione più grave. In letteratura esistono tuttavia risultati discordanti, come ad esempio uno studio di associazione genome-wide per la risposta al citalopram nel disturbo depressivo maggiore in cui non è stata evidenziata nessuna associazione tra il polimorfismo rs13306278 e la remissione dalla malattia (Garriock HA et al. *Biol Psychiatry* 2010, 67: 133-138.). Data quindi la presenza di dati discordanti, è di assoluta importanza approfondire e replicare studi di associazione di questo SNP con la severità della depressione e la prognosi, in seguito anche ad altre forme di terapia.

La presenza del polimorfismo SNP rs13306278 del gene COMT è associato ad una riduzione della remissione dalla depressione dopo terapia con SSRI.

Parole chiave: COMT, disturbo depressivo maggiore, SSRI

Riferimento bibliografico

Ji Y et al. *Pharmacogenomics J* 2010 Sep 28. [Epub ahead of print]

ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI DI ABCB1, SOPRAVVIVENZA E CITOTOSSICITÀ *IN VITRO* IN PAZIENTI AFFETTI DA *DE NOVO* LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA CON CARIOTIPO NORMALE

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

Nella leucemia mieloide acuta (*acute myeloid leukemia*, AML) le aberrazioni genetiche sono fattori prognostici importanti. Negli ultimi anni le mutazioni a carico dei geni FLT3 (*fms-related Tyrosin kinase 3*) e NPM1 (*nucleophosmin*) sono stati proposti come marcatori dell'*outcome* clinico e della sopravvivenza in pazienti affetti da *de novo* AML con cariotipo normale. Inoltre, l'*internal tandem duplication* (ITD) con FLT3 si verifica nel 30% dei casi di AML con cariotipo normale e correla con un peggior *outcome* clinico, mentre l'assenza di questa mutazione e la presenza della mutazione di NPM1 è associata ad una prognosi favorevole. Nonostante la presenza di questi marcatori la guida alla terapia individuale del paziente necessita di ulteriori marcatori. Lo sviluppo di resistenza alla terapia farmacologica è un ostacolo rilevante per un trattamento farmacologico di successo nei pazienti affetti da AML. L'aumento dell'espressione della glicoproteina-P, codificata dal gene ABCB1, è riconosciuta come uno dei principali responsabili dell'insorgenza di resistenza, poiché media l'efflusso di farmaci citotossici dalla cellula, tra cui antracicline, alcaloidi della vinca ed epipodofillotossine, usati di norma nel trattamento della AML. Svartati SNPs a carico di ABCB1 sono stati associati con alterata espressione o alterato fenotipo di ABCB1: A1308T, G1199A (rs2229109), C1236T (rs1128503), G2677T/A (rs2032582) e C3435T (rs1045642).

Scopo del presente lavoro è stato quello di indagare l'influenza di differenti SNPs a carico di ABCB1 e dello stato di mutazione di FLT3-ITD e NPM1 sulla risposta e sull'*overall survival* (OS) di pazienti affetti da *de novo* AML con cariotipo normale. Gli autori hanno inoltre valutato la relazione degli SNPs di ABCB1 con la suscettibilità ad AML e la citotossicità *in vitro* di alcuni farmaci in cellule isolate da pazienti affetti da AML.

Popolazione e studio del genotipo - La popolazione in studio comprendeva 100 pazienti degli ospedali universitari Linköping e Karolinska (Svezia), affetti da *de novo* AML con cariotipo normale (età media 63 anni, 52% maschi e 48% femmine). Sono stati esclusi dallo studio pazienti con recidive o affetti da leucemie secondarie. I pazienti erano trattati secondo le linee guide nazionali con antracicline o mitoxantrone in combinazione con citarabina con un *follow-up* di 4 anni. La risposta dopo il trattamento è stata valutata sulla base della remissione morfologica completa (*complete remission*, CR) o non raggiunta (non-CR). Inoltre, 400 volontari sani, confrontabili per età e sesso alla popolazione di pazienti (età media 60 anni, 51% maschi e 49% femmine), sono stati inclusi nello studio per valutare gli SNPs di ABCB1 come determinanti di suscettibilità allo sviluppo di AML. Gli SNPs di ABCB1 sono stati determinati attraverso *pyrosequencing*, mentre le mutazioni a carico di NPM1 e FLT3-ITD grazie all'analisi dei frammenti in seguito a PCR.

Citotossicità in vitro - Le cellule leucemiche di 56 pazienti sono state isolate e incubate per 4 giorni con Ara-C (20 μ M), daunorubicina (0.2 μ M), etoposide (20 μ M) o mitoxantrone (0.1 μ M). La citotossicità è stata saggiata attraverso bioluminescenza e la sopravvivenza cellulare espressa in percentuale di cellule vive nel trattato a confronto con il controllo non trattato.

Analisi statistica - Per confrontare i genotipi e la distribuzione allelica tra pazienti e controlli, così come per valutare CR e non-CR, è stato utilizzato il test di Fisher. Per l'analisi della sopravvivenza sono state utilizzate le curve di Kaplan-Meier e il long-rank test per determinarne la significatività. L'analisi multivariata è stata eseguita mediante il modello di regressione di Cox. Per l'analisi *in vitro* della diversa sensibilità ai differenti farmaci di trattamento è stato applicato il t-test di Student.

Differenze del genotipo di ABCB1 tra pazienti affetti da AML e controlli - Non è stata riscontrata nessuna differenza significativa tra pazienti affetti da *de novo* AML e i 400 controlli sani per gli SNPs di ABCB1 analizzati, tutti in equilibrio di Hardy-Weinberg. Inoltre per lo SNP A1308T tutti i 500 individui sono risultati *wild type*. Non si è evidenziata nessuna differenza significativa nella distribuzione del genotipo di ABCB1 in relazione allo stato di mutazione di FLT3-ITD o NPM1.

Correlazione delle mutazioni e degli SNP di ABCB1 con CR - Dei 100 pazienti, 72 raggiungevano la CR, mentre 24 non la raggiungevano (non è stato possibile valutare 3 dei soggetti in studio). Non si è osservata nessuna correlazione tra gli SNPs di ABCB1 e la risposta dei pazienti affetti da AML e nemmeno in

presenza di mutazioni a carico di FLT3. Invece le mutazioni a carico di NPM1 sono risultate correlate alla CR ($P = 0.04$); dei 39 pazienti portatori della mutazione, l'85% raggiungeva CR, mentre solo il 66% dei soggetti *wild type* raggiungevano CR.

Influenza delle mutazioni e degli SNP di ABCB1 sulla sopravvivenza – In accordo con studi precedenti, pazienti NPM1-positivi e FLT3-ITD-negativi mostrano migliore OS, rispetto agli altri pazienti ($P = 0.06$). Per lo SNP G1199A rs2229109 pazienti portatori degli alleli GG o GA presentavano una sopravvivenza rispettivamente di 1.2 e 0.9 anni, rispetto all'unico paziente portatore del genotipo AA che la presentava di soli 16 giorni. Per lo SNP C1236T rs1128503, i pazienti omozigoti *wild type* CC presentavano una sopravvivenza più breve (0.9 anni) rispetto ai portatori degli altri due genotipi CT e TT (1.3 e 1.8 anni, rispettivamente) ($P = 0.03$). Per quel che riguarda lo SNP G2677T/A rs2032582, i pazienti portatori di almeno un allele A, essendo solo 4 sul totale, sono stati esclusi dall'analisi; mentre pazienti portatori del genotipo GG hanno mostrato una sopravvivenza più breve, 0.7 anni, rispetto ai portatori dei genotipi GT, 1.2 anni, e TT, 1.7 anni ($P = 0.02$). Lo SNP C3435T rs1045642 non ha mostrato nessuna correlazione significativa con la sopravvivenza. L'analisi mediante modello di Cox ha evidenziato un effetto significativo di entrambi gli SNP, rs1128503 e rs2032582, sulla sopravvivenza (HR = 0.24, 95% IC; $P = 0.005$ e HR = 0.22, 95% IC; $P = 0.003$, rispettivamente). NPM1 e FLT3-ITD sono risultati fattori indipendenti per la sopravvivenza nel modello per rs1128503 e si conferma la stessa indicazione nel modello per rs2032582. L'età si è dimostrata una variabile significativa in entrambi i modelli ($P = 0.003$ e $P = 0.002$, rispettivamente). G1199A rs2229109 ha perso la sua significatività nell'analisi multivariata.

Influenza degli SNP di ABCB1 sulla citotossicità delle cellule leucemiche in vitro – Gli autori hanno deciso di confrontare cellule *wild type* per le mutazioni di FLT3 e portatrici dei genotipi correlati ad una migliore sopravvivenza con le cellule dei pazienti portatori di tutti gli altri genotipi. Per cellule di pazienti portatori del genotipo TT per lo SNP rs1128503 e TT per rs2032582 c'era una differenza significativa in termini di maggiore suscettibilità per cellule esposte a mitoxantrone ($P = 0.02$) e una significatività *border-line* per cellule esposte a trattamento con etoposide e daunorubicina ($P = 0.07$ e $P = 0.09$, rispettivamente), ma non per la citarabina. Gli SNPs rs2229109 e rs1045642 non influenzavano la citotossicità *in vitro*, ma solo due soggetti dai quali sono state isolate le cellule erano eterozigoti per lo SNP rs2229109, quindi è richiesta cautela nell'interpretazione dei dati.

In conclusione, lo studio suggerisce che alcuni SNP di ABCB1, come rs1128503 e rs2032582, influenzano la sopravvivenza di pazienti affetti da *de novo* AML con cariotipo normale in seguito a chemioterapia e potrebbero fornire informazioni utili per l'individualizzazione della terapia. I risultati sottolineano che pazienti omozigoti TT per rs1128503 e TT per rs2032582 beneficiano maggiormente del trattamento standard con antracicline e citarabina. Al contrario, pazienti omozigoti polimorfi CC per rs1128503 e GG per rs2032582 presentano una prognosi peggiore se trattati con il regime chemioterapico standard.

Le osservazioni cliniche dell'effetto degli SNPs rs1128503 e rs2032582 sono inoltre supportati dai dati di citotossicità ottenuti *in vitro*, in quanto cellule leucemiche derivate da pazienti con miglior prognosi hanno una vitalità significativamente più bassa in seguito a trattamento. Lo studio degli SNPs a carico di ABCB1 potrebbe quindi essere considerato come biomarcatore prognostico nella valutazione della risposta terapeutica.

Parole chiave: leucemia mieloide acuta, antracicline, ABCB1 and SNPs

Riferimento bibliografico

[Green H](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2010 Oct 12. [Epub ahead of print]

UN POLIMORFISMO DELLA TIMIDILATO SINTASI INFLUISCE SULLA RISPOSTA ALLA TERAPIA CHEMIOTERAPICA PREOPERATORIA CON 5-FLUOROURACILE IN PAZIENTI CON CANCRO RETTALE

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

La terapia preoperatoria con chemioradiazioni (CRT) seguita da una completa excisione mesorettale, è diventata la procedura standard per migliorare il controllo e la sopravvivenza di pazienti con cancro colonrettale localizzato. Per valutare l'impatto della risposta tumorale dopo CRT preoperatoria sono stati assegnati il grado di regressione (TRG) e il downstaging tumorale e nodale, poichè sono correlati con la sopravvivenza o con fallimento terapeutico. Considerando quanto sia importante riuscire ad identificare markers che permettano di predire il responso patologico tumorale, un valido approccio per identificare predittori è l'analisi di polimorfismi genetici di geni codificanti per enzimi implicati nel metabolismo di farmaci.

La timidilato sintasi, TS, è un enzima essenziale per la proliferazione cellulare e la sintesi di DNA; essendo alta la sua attività durante la rapida proliferazione delle cellule, essa viene quindi ad essere un target ideale per agenti chemoterapeutici.

Il 5-Fluorouracile (5-FU) esercita la sua azione inibendo proprio la TS, e di conseguenza è ipotizzabile che i livelli tissutali di tale gene possano modulare efficacia e tossicità dei farmaci citotossici sia in cellule tumorali che normali.

In questo studio sono stati presi in considerazione SNPs a carico del promotore come potenziali markers di outcome terapeutico in pazienti con cancro colon-rettale: in particolare sono stati analizzati 2 SNPs, quello costituito da una ripetizione in tandem di 28bp presente in 2 (2R) o 3 (3R) copie, e la sostituzione G>C al nucleotide 12 nella terza ripetizione (3R).

Nello studio sono stati arruolati 44 pazienti affetti da adeno-carcinoma rettale in stadio avanzato ma privi di metastasi; tutti i pazienti in fase preoperatoria sono stati trattati con terapia radiante e cicli intravenosi di 5-FU e leucovorina nella prima e nella quinta settimana di radiazioni; tra la sesta e l'ottava è stato effettuato l'intervento chirurgico.

La quantificazione dei livelli di espressione di TS è stata condotta mediante tecnica immunocistochimica, valutando l'intensità dello staining (da 0 a 3) e l'estensione (focale o diffuso); un grado tra 0 e 1 è stato definito a bassa intensità, tra 2 e 3 ad alta intensità. Il DNA genomico è stato estratto, ed analizzato per gli SNPs mediante PCR e sequenziamento; successivamente i soggetti sono stati suddivisi in due gruppi, ad alta espressione H, (2R/3RG, 3RC/3RG e 3RG/3RG) o bassa espressione L (2R/2R, 2R/3RC e 3RC/3RC). Mediante test di Fisher e chi quadrato è stata analizzata l'associazione tra TS staining, SNPs e responso tumorale (pazienti con TRG tra 1 e 2 sono considerati responsivi, tra 3 e 5 non responsivi).

I dati ottenuti hanno messo in evidenza che 18 pazienti hanno dato un buona risposta (40,9%) e 26 uno scarso outcome (59,1%); per quanto riguarda la tandem repetition, nel 34 % dei casi (n = 15) si aveva il genotipo 2R/3R e nel 66% (n = 29) 3R/3R; per il secondo SNPs, l'11,3% (n = 5) è risultato essere 2R/3RC, il 22,7% (n = 10) 2R/3RG, il 20,5% (n = 9) 3RC/3RC, il 25% (n = 11) 3RG/3RG

Alti livelli di espressione genica sono stati riscontrati in 8 dei 15 pazienti con 2R/3R (53,3%) e in 18 su 29 di quelli con 3R/3R (62,1%); considerando lo SNP G>C, il tasso di alta espressione della TS era del 35,7% nel gruppo L (2R/3RC e 3RC/3RC) e del 70% nel gruppo H (3RC/3RG e 3RG/3RG) ($p = 0,031$). Successivamente è stata valutata l'associazione dell'espressione e del genotipo con la risposta a CRT. Per fare questo sono state definiti " T ed N downstaging" (T downstaging è stata definita come classificazione patologica T post-trattamento più bassa rispetto alla classificazione T pretrattamento; N downstaging è stata definita come una patologia pretrattamento nodulo-positiva convertita in nodulo-negativa dopo il trattamento). Per quanto riguarda la tandem repetition, 2R/3R ha mostrato un trend verso un più alto T ed N downstaging, TRG 1 e 2, ed un responso patologico completo rispetto 3R/3R; il gruppo L ha mostrato una più alta incidenza di T ed N downstaging rispetto al gruppo H (2R/3RC e 3RC/3RC vs 2R/3RG, 3RC/3RG e 3RG/3RG) (92,9% vs 40% e 85,7%vs 46,7% rispettivamente; $p = 0,001$ e $p = 0,014$ rispettivamente); la sostituzione G>C è risultata associata con un più favorevole TRG e con un responso patologico completo rispetto al wild-type.

In conclusione, lo studio suggerisce che lo SNP nella tandem repetition 3R influisce l'espressione della Timidilato sintasi e la risposta al trattamento preoperatorio CRT 5FU-based in pazienti affetti da cancro colon-rettale.

Considerando come l'outcome a trattamento dipenda da molti fattori, gli stessi autori suggeriscono che è necessario poter ampliare la popolazione in studio e concentrarsi anche su altri polimorfismi genetici per poter predire meglio gli effetti del trattamento preoperatorio CRT in pazienti con cancro colon rettale.

Parole chiave: cancro colon rettale, terapia preoperatoria CRT 5FU based, TS

Riferimento bibliografico

[Hur H](#) et al. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2010 Oct 5. [Epub ahead of print]

POLIMORFISMI GENETICI E RISCHIO CARDIOVASCOLARE DEGLI ANTINFIAMMATORI NON STEROIDEI

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

La sicurezza cardiovascolare degli inibitori selettivi della ciclossigenasi-2 (COX2) e degli antinfiammatori non steroidei non selettivi (NSAID) è di notevole interesse, ma l'incidenza degli eventi avversi è bassa. È stato quindi ipotizzato che alcune varianti genetiche possano influenzare la sicurezza cardiovascolare di questi farmaci e recenti studi hanno evidenziato come polimorfismi di geni coinvolti nella sintesi e nel metabolismo delle prostaglandine possano influenzare la risposta agli NSAID (Griffoni C et al. *J Cell Mol Med* 2007, 11:327-38; Helmersson J et al. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2009, 80:51-6, Lee Cr et al. *Pharmacogenet Genomics* 2007, 17:145-60).

Obiettivo di questo studio è stato quindi indagare potenziali interazioni tra polimorfismi a singolo nucleotide e esposizione a NSAID che potessero aumentare il rischio cardiovascolare di questa classe di farmaci.

Sono stati selezionati 460 pazienti dalla coorte del *Recurrence and Inflammation in the Acute Coronary Syndromes Study*, condotto tra il 2001-2003 in diversi centri canadesi (Bogaty P et al. *J Am Coll Cardiol* 2008, 51:2339-46); i pazienti erano reclutati entro 24h dalla comparsa dei sintomi di una sindrome coronarica acuta (ACS), incluso l'infarto del miocardio (malessere o dolore toracico caratteristico con aumento della creatina chinasi MB $\geq 1,5$ volte il limite superiore o troponina cardiaca positiva) e l'angina instabile (un episodio di durata ≥ 10 min o ≥ 2 episodi di durata ≥ 5 minuti nelle 24h di malessere o dolore toracico a riposo o con minimo esercizio e ≥ 1 di queste caratteristiche: variazioni ischemiche elettrocardiografiche, troponina cardiaca I o T positiva per necrosi cardiaca con creatina chinasi, ma sotto la soglia della definizione di infarto miocardico, storia di patologie cardiovascolari o diabete). All'inizio dello studio sono stati registrati i dati demografici e le informazioni cliniche, il ricorso a procedure cardiache invasive, i farmaci assunti, inclusi NSAID (anche uso breve nei 10 giorni precedenti, non considerato invece l'uso di aspirina a basse dosi).

Sono stati presi in considerazione 11 SNP del gene *prostaglandin-endoperoxide synthase-1* (PTGS1) e 14 SNP del gene *prostaglandin-endoperoxide synthase -2* (PTGS2), codificanti rispettivamente per la ciclossigenasi 1 e 2, ma anche i polimorfismi del gene *prostaglandin I₂ synthase* (PTGIS), che facilita l'isomerizzazione della prostaglandina H₂ a prostaciclina, il più potente inibitore dell'aggregazione piastrinica e potente vasodilatatore, di geni regolanti le metalloproteasi di matrice (MMP1, MMP3 e MMP9) e di geni coinvolti nel metabolismo di NSAID, come il CYP2C9, per un totale di 69 SNP (12 per PTGIS, 20 per MMP1, 8 per MMP3, 17 per MMP9 e 12 per CYP2C9). Sono stati selezionati altri 21 SNP in 12 geni associati a patologie cardiovascolari, come la proteina C-reattiva (CRP, rs1205), l'angiotensinogeno (AGT, rs943580, rs699), l'interleuchina 18 (IL18, rs543810, rs360722), klotho (KL; rs211247), i recettori per gli estrogeni (ESR1; rs3853248 e ESR2; rs71454455, rs3020450), l'endotelina-1 (EDN1; rs9369217, rs93808973, rs5370), l'apolipoproteina E (APOE; rs429359, rs7412), la paraoxonasi-1 (PON; rs854542), la resistina (RETN; rs3219177), la fosfolipasi A2 gruppo VII (PLA2G7; rs1805018), la trombomodulina (THBD; rs13306848) e il locus del cromosoma 9 recentemente identificato (9p21.3; rs10757274).

Sono stati identificati 115 pazienti con ACS trattati, nei 10 giorni precedenti l'ospedalizzazione, con rofecoxib (n=43), celecoxib (n=49) o NSAID (n=23, di cui 7 ibuprofene, 7 naprossene, 4 diclofenac, 2 mesalamina, 1 floctafenina, 1 meloxicam e 1 alti dosi di aspirina), paragonati a 345 pazienti con ACS non trattati con antinfiammatori. Le caratteristiche basali dei pazienti erano paragonabili nei due gruppi (esposti: età media 64,5 anni, maschi 79 – 68,7%; non esposti: età media 64,7 anni, maschi 237 – 68,7%); i pazienti esposti erano più frequentemente ipertesi e meno con insufficienza cardiaca congestizia, mentre era simile la percentuale di trattati con alte dosi di aspirina (esposti 52,2%, non esposti 48,7%).

Dei 115 SNP analizzati, 105 sono stati genotipizzati con successo in oltre il 90,0% dei pazienti, di cui 99 in equilibrio con i pazienti non esposti secondo la legge di Hardy-Weinberg; le eccezioni sono rappresentate dai geni AGT (rs699, p=0.0345; rs943580, p=0.0191), CYP2C9 (rs9332197, p=0.0320), endotelina-1 (rs9369217, p=0.0141), MMP1 (rs2408489, p=0.0001) e paraoxonasi-1 (rs854543, p=0.0357).

Nei pazienti esposti a qualsiasi antinfiammatorio, sono stati identificati 9 SNP che interagiscono direttamente con l'esposizione ai farmaci: le associazioni più significative sono state osservate per 2 polimorfismi a carico di PTGS1 (rs10306135: OR 7,33, 95% CI 1,46-36,88, p=0,016; rs12353214: OR 4,77, 95% CI 1,14-19,99, p=0,033), le altre sono state con 2 SNP nel gene MMP1, 2 SNP in AGT, 1 SNP nel cromosoma 9p21.3, 1 SNP in klotho e 1 SNP in CRP (rs1205). Analizzando i pazienti trattati con rofecoxib e celecoxib, l'interazione tra esposizione a inibitori COX-2 e genotipo è stata rilevata per 5 SNP: le associazioni più significative sono state osservate per i due polimorfismi di PTGS1 (rs10306135: OR 6,94, 95% CI 1,35-35,65, p=0,016; rs12353214: OR 7,11, 95% CI 1,38 to 36,74, p=0,019) e per CRP (rs1205: OR 2,94, 95% CI 1,41-6,11, p=0,004), osservate anche nei pazienti esposti a qualsiasi antinfiammatorio, selettivo e non, ma anche 2 SNP per PTGS2 (rs4648276: OR 1,80, 95% CI 1,05-3,10, p=0,034; rs20417: OR 1,69, 95% CI 1,02-2,81, p=0,044), non riscontrabile nei pazienti trattati con tutti gli antinfiammatori.

In conclusione, questi risultati suggeriscono come la variabilità genetica, in particolare i polimorfismi a carico dei geni PTGS1 e CRP, possa contribuire al rischio di ACS in pazienti esposti a antinfiammatori non steroidei.

Poiché lo studio presenta diverse limitazioni (tra cui lo studio dei soli casi e il rischio di falsi-positivi per i metodi statistici usati), sono necessari ulteriori studi caso-controllo e di coorte per confermare le possibili interazioni farmaco-gene in grado di influenzare il rischio di eventi cardiovascolari nei pazienti trattati con questa classe di farmaci.

Parole chiave: antinfiammatori non steroidei, SNP, eventi cardiovascolari

Riferimento bibliografico

[St Germaine CG](#) et al. *Am J Cardiol* 2010, 105: 1740-45

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@segr.it; sif.informazione@segr.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. 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. Vittorio Simeon (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Contatti: sif@unito.it

DISCLAIMER – Leggere attentamente

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet 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-Informa" 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.