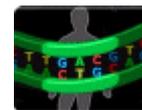


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 25 – Gennaio 2011**

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

Sommario

- Un polimorfismo a singolo nucleotide sull'esone 7 a livello del sito accettore di splicing del gene OAS1 determina la risposta dei pazienti con epatite C (HCV) alla terapia con interferone
- Il polimorfismo Q192R del gene paraoxonase-1 costituisce il principale determinante dell'efficacia clinica della terapia con clopidogrel
- Uno SNP nella tirosin chinasi 1 cdc42 attivata, influenza la terapia con interferone in pazienti affetti da epatite C
- Varianti genetiche del substrato del recettore insulinico-1 influenzano l'efficacia terapeutica degli antidiabetici orali
- Varianti genetiche del CYP2C19 e risposta a citalopram
- Effetto del polimorfismo NFE2L2 sull'associazione tra terapia estrogenica orale e rischio di tromboembolismo venoso in donne in postmenopausa

UN POLIMORFISMO A SINGOLO NUCLEOTIDE SULL'ESONE 7 A LIVELLO DEL SITO ACCETTORE DI SPLICING DEL GENE OAS1 DETERMINA LA RISPOSTA DEI PAZIENTI CON EPATITE C (HCV) ALLA TERAPIA CON INTERFERONE.

A cura della dott.ssa Greta Milani, Ospedale Luigi Sacco di Milano, U.O. Farmacologia Clinica.

L'infezione cronica con *Hepatitis C Virus*, denominato HCV colpisce oltre 175 milioni di persone in tutto il mondo ed è la principale causa di trapianto di fegato nei paesi occidentali.

Il trattamento dell'epatite C cronica attualmente raccomandato è rappresentato da Peg-Interferone-alfa-2a (INF) e ribavirina (RBV) per 24-48 settimane; tuttavia tale regime terapeutico è ben tollerato ed efficace solo nel 60% dei soggetti. In particolare, alti livelli sierici di RNA virale e genotipo 1 del virus sono stati associati ad una maggiore resistenza al trattamento farmacologico con INF. Inoltre, l'età avanzata, la fibrosi, la cronicità della patologia e fattori genetici possono influenzare in modo negativo l'esito della terapia.

L'attività biologica dell'INF è mediata da proteine antivirali intracellulari, come la 2'-5' oligoadenilato sintetasi (2'-5' OAS), la protein kinasi RNA dipendente (PKR) e la proteina MxA. L'attività svolta dalla proteina 2'-5' OAS è selettiva verso alcuni virus: l'enzima, attivato dal dsRNA virale, promuove l'attivazione di una ribonucleasi L che demolisce l'RNA messaggero virale. La famiglia di geni 2'-5' OAS comprende OAS1, OAS2, OAS3. In particolare, OAS1 è localizzato sul cromosoma umano 12q24.2 e codifica per le isoforme p42, p44, p46 e p48 dell'enzima, la sua sequenza non è strettamente conservata; è stato dimostrato in letteratura che variazioni genetiche a livello di questo gene influenzano la resistenza al trattamento antiretrovirale e, per conseguenza, la progressione della malattia.

Ci sono 8 SNPs a livello degli esoni, 24 SNPs negli introni, 3 nel promotore e 1 nella regione non tradotta al 5' del gene OAS1; più di 12 SNPs sono stati correlati alla modulazione dell'attività enzimatica. L'associazione genetica più forte è rappresentata dallo SNP sull'esone 7 del gene, in cui la sequenza AG

rappresenta la situazione "normale" per lo splicing ed è correlata ad una elevata attività enzimatica (p46); invece, la presenza della sequenza AA inibisce lo splicing e correla ad una bassa attività enzimatica (p48-p52). Questi dati rendono OAS1 un gene candidato ad influenzare l'infezione virale nell'ospite, la progressione della patologia e la risposta alla terapia con INF in pazienti con epatite B o C.

Gli autori di questo lavoro hanno analizzato il genotipo di 70 pazienti egiziani con HCV e 50 individui sani (controllo) per cercare di stabilire se lo SNP a livello dell'esone 7 SAS del gene umano OAS1 sia associato ad una minore risposta alla terapia con INF.

Tutti i partecipanti allo studio sono soggetti egiziani, non legati da vincoli di parentela, infettati da HCV genotipo 4a e in trattamento con INF + RBV. Prima di iniziare la terapia, i soggetti avevano mostrato elevati livelli di alanina nel siero per almeno sei mesi e nessuno aveva riportato disturbi o patologie metaboliche del fegato di varia causa; il trattamento INF + RBV ha avuto la durata di 48 settimane. Al termine della terapia, i pazienti sono stati seguiti per almeno 6 mesi. Sono stati definiti "responders" i soggetti che hanno avuto un valore di HCV RNA negativo per almeno 6 mesi dopo il termine della terapia combinata; tutti gli altri pazienti sono stati considerati "non responders" (NR), dato che non hanno mostrato una risposta virologica sostenuta (SVR).

Il DNA dei soggetti arruolati è stato estratto da sangue periferico; il genotipo dello SNP è stato valutato mediante amplificazione PCR e successiva digestione con enzimi di restrizione (RFLP).

La frequenza dello SNP analizzato nella popolazione è stata determinata per confronto tra gruppo di controllo e pazienti con HCV; le differenze statistiche tra i due gruppi sono state valutate tramite test del χ^2 , è stato così possibile determinare il punto in cui questo SNP è in grado di influenzare la risposta alla terapia con INF e l'outcome della patologia.

L'analisi univariata di tutti i fattori considerati ha dimostrato che i pazienti non avevano differenze significative per quanto riguarda età, sesso, BMI e carica virale; tuttavia i valori di alfa fetoproteina (AFP) sono significativamente maggiori nei soggetti NR rispetto ai pazienti con SVR. Inoltre, pazienti con grado F0 o F1 di fibrosi del fegato hanno una maggiore probabilità di ottenere una SVR rispetto a soggetti con grado avanzato di fibrosi, più predisposti a non avere risposta alla terapia.

Per verificare se lo SNP sia rappresentativo della popolazione egiziana, è stata comparata la frequenza allelica tra pazienti e soggetti sani: i risultati indicano che l'allele G è più frequente dell'allele A in entrambi i gruppi. La variante allelica GG risulta essere più frequente in pazienti con SVR, mentre quella AA è di gran lunga più presente nei soggetti NR (89%) rispetto a pazienti con SVR (11%); individui con genotipi AA e GA hanno livelli di fibrosi più alti rispetto ad individui con GG.

In questo studio è stato dimostrato che lo SNP a livello del sito accettore di splicing sull'esone 7 del gene OAS1 determina la risposta alla terapia con interferone e ribavirina in pazienti con HCV. Gli autori, in particolare, hanno supposto che le varianti alleliche GA e AA influenzino in maniera negativa la funzione soppressiva di OAS1 sulla replicazione virale di HCV: infatti gli indici di fibrosi sono risultati più alti nei soggetti con genotipo AA e GA rispetto a GG. OAS1 è quindi un possibile *marker* prognostico dell'outcome clinico e della risposta al trattamento.

Sarebbe opportuno ampliare la casistica per confermare questi dati e continuare gli studi sugli effetti dei diversi SNP dei geni OAS e la progressione delle patologie epatiche nei soggetti con HCV.

Conflitto di interesse: gli autori non dichiarano conflitti di interesse.

Parole chiave: interferone, OAS1, SNP, HCV.

Riferimento bibliografico:

El Awady MK, et al. J Gastroenterol Hepatol. 2010 Dec 23. [Epub ahead of print].
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1746.2010.06605.x/pdf>

IL POLIMORFISMO Q192R DEL GENE PARAOXONASE-1 COSTITUISCE IL PRINCIPALE DETERMINANTE DELL'EFFICACIA CLINICA DELLA TERAPIA CON CLOPIDOGREL

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

L'antiaggregante piastrinico clopidogrel, un antagonista recettoriale dell'ADP P2Y₁₂, è raccomandato dalle attuali linee guida per la prevenzione di eventi aterotrombotici in pazienti con malattia coronarica sottoposti a intervento coronarico percutaneo con impianto di stent. La grande variabilità interindividuale che si osserva nella risposta terapeutica al clopidogrel è di particolare rilevanza clinica in quanto una scarsa efficacia del trattamento si traduce in un'alto rischio di trombosi da stent, un evento avverso estremamente grave che frequentemente conduce ad infarto del miocardio o a morte. In un recente studio *genome-wide* è emerso che la variante CYP2C19*2 rende conto del 12% della variabilità interindividuale della risposta al clopidogrel. Secondo questo studio, l'età, l'indice di massa corporea ed il livello plasmatico di trigliceridi sarebbero responsabili di un ulteriore 10%, mentre il 78% della variabilità della risposta al clopidogrel sarebbe associata a fattori non ancora identificati (SIF-Farmacogenetica n° 10). Lo studio qui descritto si è posto l'obiettivo di identificare altre varianti genetiche in grado di influenzare la risposta clinica al clopidogrel e che possono spiegare la parte rimanente di variabilità interindividuale attribuibile a fattori genetici.

Il clopidogrel è un profarmaco tienopiridinico che necessita la conversione enzimatica nel suo metabolita tiolico attivo. Mediante l'utilizzo di un sistema di espressione *in vitro* di enzimi microsomiali epatici, gli autori di questo studio dimostrano che la bioattivazione di clopidogrel è un processo enzimatico suddiviso in due fasi distinte, nella quali l'enzima paraoxonasi-1 (PON-1) rappresenta il fattore limitante per la formazione del metabolita farmacologicamente attivo di clopidogrel. In particolare, nella prima fase il profarmaco viene ossidato a 2-oxo-clopidogrel ad opera degli enzimi Cyp3A4, Cyp3A5, Cyp2B6, Cyp1A2, Cyp1A1, Cyp2E1 con una efficienza enzimatica (V_{max}/K_m) rispettivamente di 16.02, 8.67, 2.61, 1.87, 0.88, 0.72 e 0.70 $\mu\text{l mg}^{-1} \text{min}^{-1}$. Nella seconda fase del processo di biotrasformazione di clopidogrel avviene l'apertura dell'anello γ -tiobutirrolattone del metabolita 2-oxo-clopidogrel con conseguente formazione del derivato tiolico farmacologicamente attivo. Questa reazione viene catalizzata dalle esterasi PON-1 e PON-3 con efficienza enzimatica, rispettivamente, di 0.36 e 0.030 $\mu\text{l mg}^{-1} \text{min}^{-1}$. Sulla base di questi dati *in vitro*, gli Autori hanno condotto un primo studio clinico in pazienti con malattia coronarica sottoposti a intervento coronarico percutaneo con impianto di stent e riceventi terapia antiplastrinica con clopidogrel al fine di valutare la relazione esistente tra il polimorfismo funzionale Q192R del gene PON-1, l'attività enzimatica PON-1 a livello plasmatico ed i parametri farmacocinetici di clopidogrel, rispettivamente con l'efficacia della terapia con clopidogrel ed il rischio di trombosi da stent. Successivamente, gli Autori hanno condotto un secondo studio indipendente di replicazione al fine di valutare la solidità dell'associazione tra il polimorfismo PON-1 Q192R e gli endpoint clinici considerati.

Il primo studio clinico comprendeva 41 pazienti con malattia coronarica che avevano manifestato trombosi da stent non fatale dopo intervento coronarico percutaneo e 71 pazienti di controllo senza trombosi da stent, selezionati in maniera random a partire da una coorte di 7719 pazienti. I risultati mostrano che i pazienti omozigoti per la variante 192Q del gene PON-1 presentano un maggior rischio di trombosi da stent rispetto ai portatori della variante 192R (OR: 3.6, 95% CI: 1.6-7.9; P=0.003). La distribuzione delle varianti per i geni CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5 e ABCB1, che studi precedenti avevano suggerito essere associate all'efficacia della terapia con clopidogrel, non differisce in maniera significativa tra i due gruppi di pazienti. Se si prende in considerazione non solo la presenza/assenza di trombosi da stent, ma anche il tempo di comparsa di tale evento avverso, l'hazard ratio (HR) risulta considerabilmente più elevato nei pazienti 192QR (HR: 4.41, 95% CI: 1.89-10.20, P=0.001) e 192QQ (HR: 12.82, 95% CI: 4.74-90.91, P<0.001), rispetto ai pazienti 192RR. Tra i fattori genetici considerati, il polimorfismo PON-1 Q192R è l'unico fattore associato alla comparsa di trombosi da stent (P<0.001), come evidenziato dalle analisi di regressione di Cox stepwise, univariata e multivariata. In modelli di analisi di regressione lineare stepwise, il polimorfismo PON-1 R192Q emerge inoltre quale unico fattore genetico associato all'attività plasmatica di paraoxonasi-1 (varianza spiegata, $R^2=0.805$, P<0.001), alla concentrazione plasmatica del metabolita attivo del clopidogrel ($R^2=0.809$, P<0.001) e all'inibizione dell'aggregazione piastrinica ($R^2=0.725$, P<0.001). Infine, in maniera analoga al polimorfismo PON-1 Q192R, il livello dell'enzima PON-1 a livello plasmatico, la concentrazione

plasmatica del metabolita attivo di clopidogrel e l'inibizione dell'aggregazione piastrinica, risultano forti predittori del rischio di trombosi da stent ($P < 0.001$).

Nello studio prospettico confermatario sono stati arruolati 1982 pazienti con malattia coronarica sottoposti a intervento coronarico percutaneo e riceventi terapia antiplastrinica con clopidogrel. I risultati ottenuti in questo secondo gruppo indipendente di pazienti confermano i risultati ottenuti nello studio pilota. Rispetto ai pazienti con genotipo 192RR, i pazienti omozigoti per la variante 192Q presentano un rischio più elevato di trombosi da stent fatale e non fatale (HR: 10.20, 95% CI: 4.39-71.43; $P < 0.001$) ed un maggior rischio di infarto del miocardio (HR: 4.93, 95% CI: 2.16-11.24; $P < 0.001$), come evidenziato dalle analisi univariate. Il genotipo 192QQ non risulta invece associato al rischio di stroke ischemico o morte per causa non vascolare, risultati consistenti con gli studi precedenti che avevano mostrato l'inefficacia della terapia con clopidogrel nel ridurre lo stroke o la morte per causa non vascolare.

Gli studi finora condotti avevano suggerito l'esistenza di una correlazione tra le varianti geniche CYP2C19*2, CYP3A4*1G, CYP3A5*3, CYP2C9*2 e CYP2C9*3, ABCB1 C3435T con la risposta clinica al trattamento con clopidogrel. Tuttavia, la piccola quota della variabilità interindividuale attribuita a questi markers genetici ed i risultati di un recente studio *genome wide*, che evidenziavano che l'83% della varianza individuale nella risposta al clopidogrel è attribuibile a fattori genetici, suggerivano il coinvolgimento di altri determinanti genetici non ancora identificati.

Da questo studio emerge che il polimorfismo funzionale Q192R del gene PON-1 è in grado di spiegare il 72.5% della variabilità interindividuale della risposta alla terapia con clopidogrel, in pazienti con malattia coronarica sottoposti a intervento coronarico percutaneo con impianto di stent. I pazienti 192QQ presentano un rischio considerevolmente aumentato di manifestare trombosi da stent rispetto ai portatori omozigoti per la variante 192R. La genotipizzazione per la variante Q192R del gene PON-1 potrebbe pertanto essere di utilità clinica per l'individuazione dei pazienti con malattia coronarica a maggior rischio di trombosi dopo intervento coronarico percutaneo con impianto di stent.

Parole chiave: Clopidogrel, malattia coronarica, intervento coronarico percutaneo, trombosi da stent, paraoxonase-1.

Riferimento bibliografico

[Bouman HJ](#), et al. Nat Med. 2010 Dec 19. [Epub ahead of print].

UNO SNP NELLA TIROSIN CHINASI 1 CDC42 ATTIVATA, INFLUENZA LA TERAPIA CON INTERFERONE IN PAZIENTI AFFETTI DA EPATITE C.

A cura delle Dott.sse Domenica L'Insalata e Sabrina Angelini

Il virus dell'epatite C (HCV) è causa di infezioni persistenti che possono determinare epatite cronica, cirrosi epatica e carcinoma epatocellulare. L'attuale regime terapeutico antivirale è rappresentato da interferone (IFN)- α peghilato, in combinazione con l'analogo nucleotidico ribavirina. Nonostante la ribavirina aumenti l'effetto dell'IFN, il grado di eradicazione dell'HCV è circa del 50% nei pazienti infetti, con genotipo di tipo 1b, e dell'80% per pazienti con altro genotipo. Numerosi fattori influenzano l'efficacia delle terapie a base di IFN, tra di essi età, sesso, fibrosi epatica, obesità, e la presenza di polimorfismi a singolo nucleotide in diversi geni, tra cui MxA, MBL, MAPKAPK3, IL28B.

L'ingresso del virus all'interno degli epatociti avviene attraverso un processo multifasico in cui Cdc42, una proteina ad attività GTPasica della famiglia Rho, è stata di recente ascritta come modulatore chiave. Si è visto che l'inibizione di Cdc42 con piccoli RNA interferenti specifici, riduce drasticamente il potere infettivo del virus. L'attività di Cdc42 è inibita dal legame con la tirosin chinasi non recettoriale ACK1, tuttavia non si sa ancora se l'espressione del gene ACK1 influenzi l'esito della terapia con IFN. In virtù di queste considerazioni, il presente studio ha esaminato l'associazione fra alcuni SNPs nei geni correlati alla proteina Cdc42 (CDC42 e ACK1) ed i differenti livelli di risposta alla terapia con IFN, attraverso un approccio tagging-SNP.

Sono stati esaminati 1203 pazienti (409 per generare l'ipotesi e 794 per la sua convalida) di etnia giapponese affetti da HCV cronica, in monoterapia con IFN- α [iniezioni giornaliere di 6 milioni di unità per 8 settimane, seguite da iniezioni (stessa dose) due volte a settimana per le successive 16 settimane] e 489 pazienti, trattati con PEG-IFN- α -2b (iniezione settimanale di 1.5 μ g/kg peso corporeo) in associazione con ribavirina orale per 48 settimane. Tutti i pazienti avevano mostrato positività agli anticorpi anti-HCV e all'RNA virale per un periodo superiore a 6 mesi. In base alla risposta i pazienti sono stati classificati nei due gruppi: 1) responsivi (SR), con livelli di alanina aminotransferasi nella norma e nessuna evidenza di viremia a 6 mesi dal completamento della terapia, e 2) non responsivi (NR); i pazienti responsivi andati incontro a recidiva sono stati esclusi dall'analisi. Utilizzando il database HapMap ed il programma Haploview, sono stati selezionati 4 SNPs per CDC42 e 13 SNPs per ACK1 (i criteri di selezione sono stati: coefficiente di linkage disequilibrium, $r^2 > 0.8$ e frequenza dell'allele minore superiore a 0.05).

Nel primo gruppo di 409 pazienti, 114 SR e 295 NR, lo SNP A/G sull'introne 11 del gene ACK1 (rs2278034) risulta associato all'*outcome* della terapia con IFN- α : gli individui omozigoti per il genotipo GG mostrano una migliore risposta alla monoterapia rispetto ai pazienti che presentano almeno un allele *wild-type* (GG vs AA+AG; $P = 0.00064$, OR = 0.18, 95% CI 0.06-0.53); tale associazione rimane significativa anche dopo correzione con il test di Bonferroni ($P < 0.01$). L'associazione osservata è stata confermata nel gruppo di convalida, rappresentato da 353 NR e 441 SR, ($P = 0.0022$, OR = 0.26, 95% CI 0.10-0.65). È stata inoltre effettuata un'analisi di regressione logistica multivariata comprendente i fattori: SNP rs2278034, sesso, livello di RNA virale e genotipo dell'HCV. Dall'analisi è emerso che, oltre ai livelli di RNA virale, lo SNP rs2278034 è indipendentemente associato con la risposta all'IFN ($P = 0.00016$, OR = 7.26, 95% CI 2.56-19.45). L'influenza della variante ACK1 rs2278034 è stata anche testata nel gruppo di pazienti in terapia combinata PEG-IFN e Ribavirina (237 NR e 252 SR). Da tale analisi tuttavia non è emersa alcuna correlazione con il genotipo di ACK1, neppure quando i pazienti sono stati ulteriormente distinti in due ulteriori sottogruppi considerando eventuali trattamenti precedenti alla combinazione PEG-IFN e Ribavirina (277 naïve e 212 non).

Gli autori hanno inoltre effettuato esperimenti di transfezione del gene ACK1 in repliconi cellulari HCV-N, dimostrando una netta riduzione della replicazione dell'RNA virale.

In conclusione, questo studio dimostra l'associazione fra lo SNP in ACK1 di rs2278034 e l'effetto della terapia con IFN in pazienti affetti da HCV. Questo SNP potrebbe rappresentare un utile marker clinico per prevedere la risposta all'IFN. Inoltre, ACK1 inibisce la replicazione dell'RNA in repliconi HCV-N, e potrebbe pertanto svolgere un ruolo molto importante nell'attivazione dell'attività antivirale.

Sfruttando il database pubblico HapMap si è visto che nella popolazione giapponese il livello di espressione del mRNA per ACK1 è più elevato nei soggetti omozigoti GG per l'rs2278034, rispetto agli individui AA ($P = 0.04$). I soggetti asiatici omozigoti GG presentano anche elevati livelli di espressione di geni stimolati dell'IFN, ma tale correlazione non si osserva per gli altri gruppi etnici. Lo SNP analizzato può quindi essere considerato un marcatore specifico per l'etnia asiatica. Tuttavia, saranno necessari ulteriori studi funzionali per chiarire se vi sia una reale influenza dello SNP intronico sulla trascrizione del gene ACK1.

Parole chiave: HCV, PEG-IFN, ribavirina, ACK1

Riferimento bibliografico

[Fujimoto Y](#), et al. J Hepatol. 2010 Nov 18. [Epub ahead of print].

VARIANTI GENETICHE DEL SUBSTRATO DEL RECETTORE INSULINICO-1 INFLUENZANO L'EFFICACIA TERAPEUTICA DEGLI ANTIDIABETICI ORALI

A cura del Dott. Vittorio Simeon

I farmaci antidiabetici maggiormente prescritti per il controllo dei livelli glicemici in pazienti diabetici di tipo II sono le sulfaniluree e le biguanidi. Nelle linee guida pubblicate dall'American Diabetes Association è

stato raccomandato per i pazienti con diabete mellito di tipo II un mantenimento dei livelli di emoglobina A1c (HbA1c, emoglobina glicosilata) al di sotto del 7%.

In aggiunta ai fattori individuali come età, sesso, co-medicazione e co-morbidità, il trattamento del diabete mellito di tipo II è influenzato da varianti genetiche che possono influenzare l'efficacia terapeutica dei farmaci antidiabetici. È stato dimostrato che varianti genetiche dell'enzima metabolizzante le sulfaniluree, il citocromo P450 2C9 (CYP2C9), sono in grado di influenzare la farmacocinetica di questi farmaci. Recentemente è stato dimostrato che l'allele loss-of-function di CYP2C9 comporta una riduzione dello 0,5% dei livelli di HbA1c in pazienti trattati con sulfaniluree. In più, un'ipoglicemia associata al trattamento con sulfaniluree, evento avverso comune in questo tipo di trattamento, può essere influenzato dalle varianti di CYP2C9 ed infatti i portatori degli alleli loss-of-function di CYP2C9 hanno manifestato un'ipoglicemia più severa. In aggiunta, anche polimorfismi a carico dei target farmacologici possono influenzare la risposta dei pazienti al trattamento con sulfaniluree.

Il substrato del recettore dell'insulina-1 (IRS-1) è il primo substrato endogeno del recettore dell'insulina ed è ubiquitario nei tessuti insulino-sensibili. Numerosi polimorfismi del gene di IRS-1 sono stati identificati e studiati in associazione con l'azione dell'insulina. Il polimorfismo rs1801278, che risulta in un cambiamento aminoacidico in posizione 972 Gly>Arg, è stato associato ad un incremento del rischio di diabete mellito di tipo II (odds ratio (OR)=1.25 [95% intervallo di confidenza (CI)=1.05 – 1.48]). In più, è stata riportata un'associazione tra la variante Arg⁹⁷² e il fallimento terapeutico delle sulfaniluree. Questi pazienti, nonostante avessero ricevuto una terapia combinata di sulfaniluree e metformina, avevano bisogno di una ulteriore dose di insulina per far fronte all'iperglicemia (glucosio plasmatico a digiuno > 300 mg/dl) (Sesti G et al., The Arg972 variant in insulin receptor substrate-1 is associated with an increased risk of secondary failure to sulfonylurea in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004 Jun;27(6):1394-8).

Nell'articolo pubblicato su *Diabetes, Obesity and Metabolism* da *Seeringer et al.*, è stata analizzata l'associazione del polimorfismo Arg⁹⁷² con l'efficacia terapeutica dei farmaci insulintropici in pazienti con diabete di tipo II (misurato come aumento di HbA1c).

È stata presa in analisi una popolazione di 281 pazienti diabetici in terapia con antidiabetici orali e/o insulina in mono e/o terapia combinata. La popolazione in studio è stata raggruppata in due differenti coorti a seconda del loro trattamento antidiabetico. Il gruppo insulintropico comprende tutti i pazienti che ricevevano sulfaniluree, glinidi e/o insulina in mono o terapia combinata, mentre il gruppo di controllo comprendeva i pazienti in terapia con farmaci non insulintropici come metformina, glitazoni e/o acarbiosio. Il gruppo di controllo è stato considerato come un controllo negativo per evidenziare se il genotipo di IRS-1 può avere un effetto anche nella terapia senza sulfaniluree. Inoltre, i pazienti che avevano cambiato da un precedente trattamento con antidiabetici orali ad un trattamento con insulina a mono o terapia combinata erano inclusi in un gruppo di fallimento terapeutico.

Lo studio è di tipo cross-sezionale e i livelli di HbA1c sono stati analizzati al time point di ingresso dei pazienti in studio. A questo time point è stata registrata la storia medica di ogni paziente ed è stato deciso clinicamente il cambiamento di terapia ad insulina ed il conseguente passaggio al "gruppo di fallimento terapeutico".

La variante Arg⁹⁷² è stata analizzata tramite reazione di restrizione enzimatica in seguito ad amplificazione per PCR (PCR-RFLPs) utilizzando l'enzima di restrizione SmaI. L'analisi delle varianti di CYP2C9 *2 e *3 è stata effettuata allo stesso modo, con successiva restrizione enzimatica con Sau96I e StyI rispettivamente per *2 e *3. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando SPSS. È stata effettuata un'analisi di regressione lineare dell'influenza dei livelli di HbA1c nei pazienti incluse le co-varianti; l'influenza del genotipo di IRS-1 su HbA1c è stata valutata effettuando un t-test di student non-parametrico.

I livelli medi di HbA1c erano più elevati nel gruppo di pazienti trattati con farmaci insulintropici se comparati con il gruppo trattato con farmaci non-insulintropici [7.7 ± 1.4 vs 6.7 ± 0.6 ; $p < 0.001$; ANOVA]. La frequenza allelica dell'allele Arg⁹⁷² era di 8.1% e la distribuzione genotipica era in equilibrio di Hardy-Weinberg.

Nel gruppo dei trattati con farmaci insulintropici, i portatori eterozigoti dell'allele Arg⁹⁷² avevano livelli di HbA1c più alti se comparati con i wild-type (8.3 ± 1.8 vs 7.6 ± 1.3 %; $p < 0.005$, test di t indipendente), mentre non era evidente alcuna differenza nel gruppo dei pazienti trattati con farmaci non insulintropici (6.4 ± 0.3 vs 6.7 ± 0.6 %; $p < 0.15$, test di t indipendente). Nel sottogruppo dei pazienti con un fallimento terapeutico delle sulfaniluree, (n=68) i portatori dell'allele Arg⁹⁷² mostravano allo stesso modo livelli medi di HbA1c

significativamente più alti rispetto ai pazienti non portatori (8.7 ± 1.3 vs $7.6 \pm 1.1\%$; $p=0.005$, test di t indipendente).

In aggiunta all'effetto genotipico, anche il valore medio delle concentrazioni di glucosio ematico a digiuno era in grado di influenzare significativamente i livelli di HbA1c ($p < 0.001$, modello di regressione lineare). Questa associazione può essere spiegata dal fatto che i livelli di HbA1c sono espressione dei livelli di glucosio ematico a lungo termine.

In conclusione, questi risultati supportano studi precedenti che indicavano come l'efficacia del trattamento con farmaci insulinotropici sembri essere influenzata dal polimorfismo Arg⁹⁷² di IRS-1. Lo studio di *Sesti et al.* del 2004 ha dimostrato che la frequenza del polimorfismo di IRS-1 è maggiore nei pazienti che non rispondevano al trattamento con sulfaniluree. *Sesti et al.* conclusero che i portatori della variante Arg⁹⁷² avevano un rischio di fallimento terapeutico da sulfaniluree maggiore rispetto ai portatori di Gly⁹⁷². Questi risultati sono in pieno accordo con lo studio pubblicato da *Seeringer et al.* Per avvalorare queste scoperte, sarebbero necessari ulteriori studi clinici prospettici atti a valutare l'influenza del genotipo sull'efficacia di vari regimi terapeutici per la cura del diabete mellito di tipo 2.

La presenza dell'allele Arg⁹⁷² di IRS-1 comporta livelli di HbA1c più alti nei pazienti diabetici trattati con farmaci insulinotropici

Conflitto d'interesse: gli Autori non dichiarano alcun conflitto di interesse

Parole chiave: IRS-1, diabete mellito di tipo II, sulfaniluree, insulina

Riferimento bibliografico:

[Seeringer et al.](#), Diabetes Obes Metab. 2010 Dec;12(12):1106-12

VARIANTI GENETICHE DEL CYP2C19 E RISPOSTA A CITALOPRAM

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

Meno del 50% dei pazienti depressi trattati con inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina raggiungono la completa remissione sintomatologica. Obiettivo dei test farmacogenomici per la determinazione della capacità metabolica è quello di identificare individui meglio predisposti a tollerare la terapia e/o alla risposta.

Citalopram è un inibitore molto selettivo della ricaptazione della serotonina e viene metabolizzato dal CYP2C19 e dal CYP3A4 e in misura minore dal CYP2D6. Studi precedenti hanno dimostrato il ruolo del citocromo P450 sul citalopram e studi farmacogenomici sulla remissione e risposta in seguito a trattamento con il farmaco sono stati fatti sulla popolazione dello studio STAR*D (*Sequenced Treatment Alternative to Relieve Depression Study*), incluse un'analisi di *genome-wide association* e analisi di geni candidati attesi influenzare farmacocinetica e farmacodinamica del citalopram. Le prime analisi sulla relazione tra i genotipi di CYP2C19 e 2D6 e la risposta al trattamento o la tolleranza verso citalopram non hanno dato alcuna associazione. Nel presente articolo gli autori presentano un'analisi indipendente tra le varianti dei geni CYP2C19 e 2D6 e la loro influenza su tolleranza e remissione dai sintomi della depressione in seguito a trattamento con citalopram, più nello specifico nei pazienti bianchi e non-ispatici dello studio STAR*D.

Disegno dello studio e partecipanti – Le caratteristiche della popolazione STAR*D sono state precedentemente descritte [*Rush AJ et al.*]. I partecipanti allo studio erano di età compresa tra 18 e 75 anni e affetti da disordini mentali. Lo stato sintomatico della patologia è stato misurato usando la scala del QIDS-C₁₆ (*16-item Quick Inventory of Depressive Symptomatology – Clinician Rating*). La tolleranza è stata definita come pazienti che continuano il trattamento con citalopram dopo il completamento del livello 1 dello studio STAR*D, nel quale i pazienti ricevevano citalopram come prima terapia. Al contrario, pazienti che manifestavano effetti collaterali o hanno cambiato la terapia sono stati considerati intolleranti. La remissione è stata definita da uno score di QIDS-C₁₆ ≤ 5 all'ultima visita clinica. Campioni di sangue intero sono stati collezionati da 1953 dei 4041 pazienti originariamente coinvolti nello STAR*D. I campioni validi per l'analisi del genotipo si sono rivelati 1914 e di questi, a causa di vari criteri di inclusione ed esclusione, sono

risultati aderenti allo studio 1503 soggetti, suddivisi in omogenee categorie etniche: bianchi non-ispatici (1074), bianchi ispanici (196) e neri (233).

Analisi del genotipo – Il genotipo del CYP2C19 (tranne che per l'isoforma *17) è stato analizzato usando xTAG Assay per P450-2C19 V2 che incorpora PCR e ASPE (multiplex allele-specific primer extension) con piattaforma Luminex 100 xMAP. Analisi diretta dei polimorfismi è stata compiuta per CYP2C19 681G>A (*2), 636G>A (*3), 1A>G (*4), 1297C>T (*5), 395G>A (*6), IVS5 + 2T>A e 358T>C (*8). Lo stesso tipo di tecnica è stata usata per l'analisi del genotipo CYP2D6 (tranne che per l'isoforma *41). Analisi diretta dei polimorfismi è stata fatta per -1584C>G (*2A), 100C>T (*4,*10), 124G>A (*12), 883G>C (*11), 1023C>T (*17), 1707T>del (*6), 1758G>T (*8/*14), 1846G>A (*4), 2549A>del (*3), 2613delAGA (*9), 2850C>T (*2/*17), 2935A>C (*7) e delezione del gene e duplicazione tandem sono state analizzate in seguito a PCR. I polimorfismi CYP2C19*17 e CYP2D6*41 sono stati analizzati con tecnologia 96 plex Illumina VeraCode, secondo protocollo.

Analisi statistica – Tutte le analisi di associazione sono state condotte per sottogruppi basati sull'etnia, con particolare enfasi per la popolazione bianca non-ispatica (*White non-Hispanic*, WNH). Tutte le varianti genetiche sono state testate per l'equilibrio di Hardy-Weinberg. Sia le associazioni delle categorie basate sul genotipo di CYP2C19 e CYP2D6 che le associazioni dei singoli polimorfismi con remissione e tolleranza sono state condotte tramite regressione logistica. Le categorie basate sul genotipo del CYP2C19 e del CYP2D6 sono le tradizionali: metabolizzatori lenti (*poor metabolizer* PM), intermedi (*intermediate metabolizer* IM), rapidi (*extensive metabolizer* EM) ed ultrarapidi (*ultrarapid metabolizer* URM); inoltre per il CYP2C19 sono state aggiunte due ulteriori categorie che sono IM+ (intermedio tra IM ed EM) ed EM+ (intermedio tra EM ed URM), per considerare l'incremento dell'attività dovuta alla presenza dell'allele *17. I pazienti sono stati assegnati ad una categoria basata sul genotipo a seconda dello score ottenuto sulla base dell'attività metabolica attesa dei diversi alleli.

Relazione tra le variazioni genetiche e tolleranza – La valutazione quantitativa dell'attività del CYP2C19 ha rivelato un trend di associazione tra una sua maggiore attività e lo sviluppo di tolleranza ($P = 0.06$, OR = 1.20, CI: 1.00-1.44). Nella popolazione WNH la presenza dell'allele inattivo *2 è associato ad una più bassa probabilità di sviluppare tolleranza ($P = 0.02$, OR = 0.60, 95% CI: 0.39-0.91). Quando tutti gli alleli inattivi vengono raggruppati in una singola categoria e ne viene valutato l'effetto, emerge una diminuzione della tolleranza ($P = 0.06$, OR = 0.66, 95% CI: 0.43-1.00). Anche considerando l'intera popolazione WNH con *baseline* QIDS ≥ 10 si osserva ancora che la maggiore attività di CYP2C19 è legata ad un maggior grado di tolleranza e la presenza dell'allele *2 è associato alla minore probabilità di svilupparla ($P = 0.02$, OR = 0.66, 95% CI: 0.47-0.92). Le categorie basate sul genotipo di CYP2D6 non sono risultate significativamente correlate alla tolleranza.

Relazioni tra le variazioni genetiche e remissione – Il genotipo del CYP2C19 è stato associato a remissione quando si restringe l'analisi alla popolazione WNH del sottogruppo classificato come tollerante a citalopram ($P = 0.03$). Siccome la tolleranza viene fortemente correlata alla remissione ($P < 0.0001$) l'analisi viene ripetuta con la tolleranza come covariata nello stesso sottogruppo di pazienti ($P = 0.05$, OR = 0.80, CI: 0.63-1.00). Inoltre, PM (portatori di due alleli inattivi) nel medesimo sottogruppo, presentano una maggiore probabilità di remissione ($P = 0.03$), in un'analisi a posteriori assumendo un modello recessivo. Tra i pazienti WNH tolleranti, i portatori dell'allele *17 presentavano una minor remissione ($P = 0.04$) e gli URM mostravano una relazione con la remissione ($P = 0.03$). Le categorie basate sul genotipo del CYP2D6 non risultano correlate al raggiungimento della remissione.

Variabilità combinata del CYP2C19 e CYP2D6 e remissione – L'analisi del chi-quadro dei CYP combinati con la remissione risulta significativa sia nell'intera popolazione WNH che nella popolazione aderente allo studio ($P = 0.025$ e $P = 0.013$, rispettivamente). I risultati mostrano che la remissione è più alta in pazienti IM. Il modello proposto dagli autori richiede di essere testato in una popolazione indipendente e deve essere perfezionato per determinare il modo ottimale di combinare i genotipi del CYP2C19 e CYP2D6 per predire gli *outcome* in seguito a trattamento con SSRI.

Esiste una associazione tra variazioni genetiche del CYP2C19 e sviluppo di tolleranza ed insorgenza di remissione in un'ampia popolazione di pazienti WNH trattati con citalopram. Generalmente pazienti portatori di genotipi associati ad una diminuzione del metabolismo mostrano la tendenza a tollerare in misura minore il trattamento con citalopram, sebbene non in modo significativo. Pazienti portatori dell'allele

CYP2C19*2 presentano tolleranza minore ($P = 0.02$). Pazienti PM e classificati come tolleranti vanno incontro più facilmente a remissione ($P = 0.03$).

Tale risultato emerge nonostante le limitazioni dovute all'assenza dei livelli di siero di citalopram nella popolazione in studio. Lo sviluppo di modelli più sofisticati potrebbe fornire predizioni accurate sulla risposta al farmaco e sul trattamento individuale più appropriato.

Parole chiave: citalopram, farmacogenomica, CYP2C19, CYP2D6, tolleranza, remissione

Riferimento bibliografico:

[Mrzsek DA](#), et al. *Pharmacogenet Genomics*. 2011 Jan;21(1):1-9.

EFFETTO DEL POLIMORFISMO NFE2L2 SULL'ASSOCIAZIONE TRA TERAPIA ESTROGENICA ORALE E RISCHIO DI TROMBOEMBOLISMO VENOSO IN DONNE IN POSTMENOPAUSA

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

La terapia estrogenica orale, ma non quella transdermica, aumenta il rischio di tromboembolia venosa (VTE) in donne in postmenopausa. L'ipotesi fisiopatologica più probabile è che la biodisponibilità degli estrogeni somministrati per via orale, che vanno quindi incontro all'effetto di primo passaggio epatico, possa aumentare in misura considerevole soprattutto in quelle pazienti che presentano un eccessivo metabolismo di fase I (bioattivazione degli estrogeni) e/o insufficiente metabolismo di fase II (inattivazione degli estrogeni). Tutto ciò porterebbe a induzione di resistenza alla proteina C attivata e aumento dell'attivazione della coagulazione del sangue con aumentato rischio di VTE. Inoltre, è stato suggerito che l'aumento di bioattivazione di estrogeni attraverso il metabolismo, in particolare l'espressione del citocromo P4503A5, potrebbe aumentare il rischio di trombosi (*Canonico, M. et al. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 93, 3082–3087-2008).

Nrf2 è un fattore di trascrizione codificato dal gene NFE2L2 ed è essenziale sia per la modulazione che per l'induzione del metabolismo di fase II. Il polimorfismo a singolo nucleotide rs6721961 è stato recentemente descritto come un polimorfismo funzionale nel promotore di NFE2L2 e porta alla sostituzione di una adenina con una citosina in un *antioxidant responsive element* a livello del promotore di NFE2L2. I geni di fase II sono implicati nella protezione cellulare a causa delle loro proprietà antiossidanti, il loro ruolo nella coniugazione dei metaboliti reattivi e il loro effetto inibitorio sull'infiammazione. È stato di recente dimostrato che rs6721961 può avere implicazioni cliniche, aumentando il rischio di danno polmonare acuto durante la terapia intensiva respiratoria.

Nello studio ESTHER è stato ipotizzato che l'alterazione del metabolismo di fase II per gli estrogeni possa anche aumentare il rischio di VTE, associato con l'uso di estrogeni per via orale. Il presente studio ha quindi valutato l'influenza del polimorfismo rs6721961 sull'associazione tra VTE e terapia ormonale, tenendo conto della via di somministrazione degli estrogeni.

Lo studio ESTHER è uno studio multicentrico francese, caso-controllo. La popolazione in studio è costituita da donne in postmenopausa di età tra i 45-70 anni, caucasiche che avevano avuto un primo episodio di VTE idiopatico, compresa la trombosi venosa profonda e l'embolia polmonare. Un totale di 161 casi (94 con embolie polmonari e 67 con trombosi venosa profonda) e 474 controlli sono stati genotipizzati. Le donne in terapia con estrogeni orali hanno ricevuto il 17 β -estradiolo, somministrato con una dose media di 1,5 mg/die. Le donne con estrogeno transdermico hanno ricevuto ≤ 50 mg di 17 β -estradiolo al giorno. La distribuzione del genotipo NFE2L2 nei soggetti di controllo era in equilibrio di Hardy-Weinberg. La frequenza del polimorfismo a singolo nucleotide rs6721961 (allele A) nei controlli era del 9,5% (intervallo di confidenza: 7,6-11,4). I risultati di questo studio confermano che la somministrazione di estrogeni per via orale aumenta il rischio di tromboembolia venosa (OR = 3,6, IC 95%: 2,0-6,4 e OR = 1,1, IC 95%: 0,7-1,7). Per i pazienti in terapia orale con estrogeni con NFE2L2 wild-type si è avuto un OR per VTE di 2,5 (IC 95%: 1,3-4,8) mentre aumentava a 17,9 (IC 95%: 3,7-85,7) nei pazienti con l'allele A del polimorfismo genetico rs6721961. Vi è quindi una significativa interazione tra la presenza dell'allele A e il rischio di VTE nelle pazienti in terapia con estrogeni per via orale ($P = 0,01$). Non è stata, invece, evidenziata alcuna significativa

interazione nelle pazienti in terapia con estrogeni transdermici (OR =0,9; 95% CI: 0,5-1,5 tra i pazienti senza allele A e OR = 2.1; 95% CI: 0,8-5,7 tra quelli con allele A).

Questo studio suggerisce quindi che il metabolismo di fase II dovrebbe essere ulteriormente approfondito per chiarire la fisiopatologia della VTE, tenendo conto anche di altri fattori di rischio come l'obesità, che è causa di stress ossidativo. Una potenziale limitazione di questo studio è che, essendo uno studio caso-controllo, definisce le associazioni, piuttosto che i rapporti di causa-effetto, e quindi ci potrebbero essere fattori sconosciuti che non sono stati controllati nella selezione dei pazienti. In questa analisi, il rischio elevato di VTE tra le pazienti in trattamento con estrogeni orali, che presentano anche il polimorfismo genetico, potrebbe essere spiegato anche sulla base di elevati livelli di rischio di VTE per fattori quali obesità, storia familiare di tromboembolia venosa, vene varicose o mutazioni trombogeniche. Tuttavia, la percentuale di donne che presentano questi fattori di rischio è stata simile nei sottogruppi, in presenza o assenza del polimorfismo genetico. In aggiunta, l'aggiustamento per alcuni di questi fattori di rischio non ha modificato il risultato. I risultati di questo studio possono essere utili per la gestione medica della terapia con estrogeni per via orale nelle donne in menopausa: dovranno essere confermati ed integrati da studi su donne che ricevono terapia estrogenica orale non solo per la cura dei sintomi in menopausa, ma anche per la contraccezione.

In conclusione, lo studio evidenzia un importante contributo del polimorfismo rs6721961 nel rischio di VTE e quindi è di fondamentale importanza che questo studio venga ad essere replicato in altri contesti, anche con studi prospettici, per confermarne l'impatto clinico.

Il polimorfismo funzionale rs6721961 nel gene NFE2L2 è un fattore di rischio significativo per il rischio di tromboembolia venosa indotta da terapia orale estrogenica sostitutiva nelle donne postmenopausali.

Conflitto d'interesse: Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interessi.

Parole chiave: Terapia estrogenica, polimorfismo a singolo nucleotide, tromboembolismo venoso.

Riferimento bibliografico:

[J Bouligand et al.](#) Clin Pharmacol Ther 2011;89:60-4

**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 Greta Milani (Azienda Ospedaliera – Polo Universitario “Luigi Sacco”, Milano) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Domenica L’Insalata (Università di Bologna) Dott.ssa Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (Seconda Università di Napoli) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna) Dott.ssa Virginia Paribello (Seconda Università di Napoli)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano) Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF

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

Contatti: webmaster@sifweb.org

**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.

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-Inforna" 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.