



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

Sommario

- Analisi dei polimorfismi del recettore Fcγ IIIa e IIa: mancanza di correlazione con il risultato clinico in pazienti con tumore al seno trattati con trastuzumab
- Polimorfismi genetici del CYP2D6 aumentano il rischio di ricadute di carcinoma della mammella in pazienti in terapia adiuvante con tamoxifene
- Ruolo del polimorfismo G172T del gene RAD51 nell'*outcome* clinico di pazienti affetti da cancro alla cervice in trattamento con chemio radioterapia
- Analisi di associazione *genome-wide* implica il coinvolgimento di otto loci nella risposta al tocilizumab per il trattamento dell'artrite reumatoide
- Varianti genetiche del *pathway* PI3K/PTEN/AKT/mTOR predicono il rischio di ricorrenza nei tumori della testa e del collo e la risposta alla chemioprevenzione con acido 13-cis-retinoico
- Miglioramento della sopravvivenza con inibitori di MEK nel melanoma BRAF-mutato
- Impatto del polimorfismo Arg389Gly dei recettori β1-adrenergici sulla risposta di bisoprololo e carvedilolo sul battito cardiaco in pazienti con scompenso

La metanalisi del mese

Associazione tra polimorfismi nel gene XRCC1 e l'esito clinico dei pazienti con carcinoma polmonare dopo trattamento con derivati del platino: una meta-analisi

ANALISI DEI POLIMORFISMI DEL RECETTORE Fcγ IIIA E IIa: MANCANZA DI CORRELAZIONE CON IL RISULTATO CLINICO IN PAZIENTI CON TUMORE AL SENO TRATTATI CON TRASTUZUMAB

A cura della Dott.ssa Elisa Paolicchi

L'amplificazione del gene Her2 è la caratteristica chiave della patogenesi e dell'aggressività biologica nel 25% circa dei tumori al seno. Trastuzumab, un anticorpo IgG1 umanizzato monoclonale anti-Her2, è noto per migliorare significativamente il risultato clinico nel tumore al seno Her2 positivo, sia precoce che avanzato. Sebbene il meccanismo di azione del trastuzumab non sia ancora completamente chiaro, modelli preclinici suggeriscono che il blocco del recettore del fattore di crescita, possa causare la downregolazione di PI3K/AKT e quindi l'inibizione della proliferazione cellulare e l'arresto del ciclo cellulare. Altri meccanismi suggeriscono l'inibizione dell'angiogenesi e della riparazione del DNA.

Un altro meccanismo di azione del trastuzumab proposto è l'induzione della citotossicità cellulare anticorpo dipendente, in cui la porzione Fc del trastuzumab interagisce con il recettore Fc γ (Fc γ R) sulle cellule immunitarie portando alla distruzione delle cellule tumorali. In letteratura sono state riportate tre classi del Fc γ R [Fc γ RI (CD46), Fc γ RII (CD32), Fc γ RIII (CD16a)]. Alcuni Fc γ R presentano polimorfismi allelici che conferiscono diverse proprietà funzionali. Evidenze cliniche supportano un'associazione tra il genotipo FCGR3A/2A e il risultato clinico in pazienti trattati con l'anticorpo monoclonale rituximab nel trattamento del linfoma e cetuximab per il tumore del colon-retto. Inoltre due studi hanno riportato l'associazione tra almeno un polimorfismo di Fc γ R e il risultato clinico. L'obiettivo dello studio è quello di chiarire ulteriormente se i genotipi di FCGR3A e FCGR2A siano correlati con la risposta clinica nei pazienti trattati con trastuzumab.

Il DNA genomico è stato ottenuto da pazienti trattati nello studio *Breast Cancer International research Group* (BCIRG) 006. Questo studio adiuvante comparava due bracci contenenti trastuzumab con un braccio controllo non contenente trastuzumab per il trattamento del tumore al seno Her-2 positivo di diagnosi precoce. A 3222 pazienti è stato assegnato casualmente 1 dei 3 bracci di trattamento: (i) AC-T: 4 cicli ogni 3 settimane di doxorubicina+ciclofosfamide seguita da 4 cicli ogni 3 settimane di docetaxel, (ii) AC-TH: AC-T + trastuzumab o (iii) TCH: 6 cicli ogni 3 settimane di docetaxel, carboplatin e trastuzumab. Delle 3222 pazienti, 1189 sono state genotipizzate per FCGR3A e 1218 per FCGR2A. 177 partecipanti in *PolyomX e Canadian breast Cancer foundation* (CBCF) sono state arruolate dal 2001 al 2007. Tutte le partecipanti avevano tumore al seno Her2 positivo e avevano ricevuto almeno un ciclo di trastuzumab. Il 29% è stato genotipizzato per FCGR3A 158V/F e il 30% per FCGR2A 131H/R. Il DNA è stato estratto da sangue intero e da siero con il QIAamp DNA Blood mini kit (Qiagen) e usato per la nested PCR di amplificazione delle regioni contenenti gli SNPs FCGR3A 158 V/F e FCGR2A 131 H/R. Il prodotto di PCR è stato sequenziato e analizzato con massARRAY analizzatore.

L'endpoint è stato investigare la correlazione tra i genotipi di FCGR3A e FCGR2A e il risultato clinico in pazienti trattati con trastuzumab. Tale associazione potrebbe validare un ruolo per Fc γ R nell'attività antitumorale del trastuzumab.

In 50 pazienti su 53 totali è stata verificata l'iperespressione ed amplificazione di HER2. Per il gruppo BCIRG006 non sono state identificate significative differenze in DFS tra il gruppo FCGR3A V/V, V/F e F/F e il gruppo FCGR2A H/H, H/R e R/R, per caratteristiche tumorali e per tipo di trattamento (AC-T, TCH e AC-TH). Non sono state identificate differenze anche quando il gruppo AC-T è stato analizzato separatamente, per valutare se il genotipo potesse essere un fattore prognostico indipendente, né nella sopravvivenza globale, quando venivano confrontati i due genotipi FCGR3A/2A. I genotipi non avevano significativa correlazione neppure quando sono stati comparati i bracci di trattamento contenenti trastuzumab con AC-T. Anche nelle 53 pazienti non sono state identificate significative differenze tra i tre genotipi di FCGR3A E FCGR2A in ognuna delle combinazioni precedentemente elencate. Invece, lo stato menopausale, e la presenza di metastasi viscerali, differivano significativamente tra i genotipi in entrambi gli SNPs (stato menopausale: χ^2 , $P=0.0448$ for FCGR3A and $P=0.0287$ for FCGR2A; stato del recettore ormonale: FCGR3A: V/V recettore estrogenico e/o recettore progestinico più frequente rispetto agli altri genotipi χ^2 , $P = 0.0488$; la presenza di metastasi viscerali: FCGR2A: metastasi viscerali meno frequenti nel genotipo H/R rispetto agli altri, χ^2 , $P = 0.013$).

Trastuzumab oltre che agire su Her2 è responsabile dell'interazione con Fc γ R sulle cellule immunitarie e questo potrebbe rappresentare un potenziale meccanismo di azione nel tumore al seno Her2 positivo. Questo studio è stato effettuato con l'obiettivo di determinare se differenze nell'affinità di Fc γ R, risultanti dagli SNP in FCGR3A e FCGR2A, potessero avere un impatto sul risultato clinico di pazienti trattati con una terapia a base di trastuzumab. Tre precedenti studi retrospettivi che hanno investigato la correlazione dei genotipi di FCGR3A/2A con il risultato clinico, hanno mostrato risultati contrastanti, probabilmente perché presentavano un limitato numero di campioni. L'attuale studio, invece, coinvolge una più ampia analisi retrospettiva. Non sono state identificate correlazioni statisticamente significative tra FCGR3A e FCGR2A e DFS nelle 1286 pazienti con tumore al seno di precoce diagnosi, né nella coorte di 53 donne con tumore al seno metastatico. Questi risultati però non escludono completamente la possibilità che il trastuzumab agisca in parte su ADCC/Fc γ R; suggeriscono solo che le differenze nell'affinità tra Fc-Fc γ R attribuita agli SNPs studiati, non hanno un impatto sul risultato clinico.

I polimorfismi dei due recettori considerati nello studio non mostrano significative associazioni con il risultato clinico. Questa è la più ampia analisi che valuti l'associazione tra i genotipi FCGR3A/2A ed il

risultato clinico in pazienti con tumore al seno Her2 positivo trattati con trastuzumab. In contrasto con i precedenti studi, non sono state trovate significative correlazioni tra i genotipi FCGR3A/2A e DFS in terapia adiuvante e PFS nelle pazienti con tumore metastatico. Questi dati non supportano l'ipotesi che ci siano differenze di affinità di FcγR relative a questi polimorfismi il cui risultato possa avere un impatto nel risultato clinico in pazienti trattati con trastuzumab. E' comunque necessaria una conferma in uno studio prospettico per escludere del tutto il ruolo di ADCC/FcγR nel trattamento del tumore al seno con anticorpi anti-Her2.

Parole chiave: tumore al seno, trastuzumab, FcγR, FCGR3A, FCGR2A, polimorfismo a singolo nucleotide

Riferimento bibliografico

[Hurvitz SA](#) et al. *Clin Cancer Res* 2012, 18(12):3478-86.

POLIMORFISMI GENETICI DEL *CYP2D6* AUMENTANO IL RISCHIO DI RICADUTE DI CARCINOMA DELLA MAMMELLA IN PAZIENTI IN TERAPIA ADIUVANTE CON TAMOXIFENE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il tamoxifene, modulatore selettivo del recettore degli estrogeni, viene utilizzato come terapia ormonale adiuvante per prevenire le ricadute in pazienti con carcinoma della mammella positivo per il recettore degli estrogeni (ER+) e come prevenzione primaria in donne ad alto rischio. Tuttavia, nonostante la terapia ormonale, un terzo delle pazienti sviluppa una ricaduta.

Il tamoxifene è un profarmaco, convertito nei metaboliti attivi 4-idrossitamoxifene ed endoxifene dagli enzimi del citocromo P450. Questi metaboliti, in particolare l'endoxifene, hanno un'attività anti-estrogenica 30-100 volte più potente di quella del tamoxifene. Il *CYP2D6* gioca un ruolo importante nella trasformazione del tamoxifene in endoxifene e sono state descritte più di 100 varianti alleliche del gene che codifica questo enzima. La variante più comune nella popolazione caucasica è l'allele non funzionale *4, mentre in Asia è l'allele *10 con ridotta funzione. Nella popolazione indiana l'allele con ridotta funzione *10 è il più rappresentato, seguito dal *4 e dal *5 non funzionali. I soggetti portatori di una variante con ridotta funzione possono avere livelli ridotti di endoxifene, tali da comportare un fallimento della terapia.

Studi precedenti eseguiti su pazienti caucasiche ed asiatiche, riguardanti l'influenza delle varianti del *CYP2D6* sull'*outcome* del trattamento adiuvante con tamoxifene, hanno riportato risultati contrastanti. Inoltre non sono stati eseguiti studi sulla popolazione indiana, in cui la frequenza di distribuzione dei polimorfismi varia. In questo studio è stata, quindi, valutata l'influenza dei polimorfismi del *CYP2D6* sull'*outcome* di pazienti Indiane in terapia adiuvante con tamoxifene.

Sono state reclutate, tra aprile 2010 e luglio 2011, 141 pazienti con carcinoma della mammella in terapia adiuvante con tamoxifene da almeno un anno o che avevano ricevuto la terapia per cinque anni. Sono state escluse le pazienti in terapia con farmaci inibitori del *CYP2D6*, come amiodarone, bupropione, fluoxetina, paroxetina e sertralina. Le pazienti sono state seguite durante il periodo dello studio per lo sviluppo di ricaduta e di eventuali effetti avversi, come le vampate di calore. Il DNA estratto dai campioni ematici delle pazienti è stato utilizzato per genotipizzare gli alleli *1, *2, *4, *5 e *10 del *CYP2D6*. L'*activity score* dell'enzima *CYP2D6*, proposto da Borges, è stato utilizzato per determinare l'attività enzimatica: all'allele *1 e *2 è stato assegnato valore 1, all'allele *10 valore 0.5 ed al *4 e *5 valore 0.

Delle 141 pazienti reclutate, solo su 132 è stato possibile eseguire la genotipizzazione, a causa della perdita di alcuni campioni. Il 16.7% delle pazienti ha avuto una ricaduta della malattia, locale o a distanza. Non sono state rilevate differenze tra le caratteristiche delle pazienti con e senza ricaduta della malattia, tranne una ridotta frequenza di effetti avversi nelle pazienti con ricaduta. L'8.3% delle pazienti in studio presentava un *activity score* del *CYP2D6* ≤ 0.5 , mentre la rimanente percentuale aveva uno *score* ≥ 0.5 . Sono stati effettuati confronti tra il gruppo con *activity score* ≤ 0.5 ed il gruppo con *activity score* ≥ 1 : un basso *activity score* è risultato associato significativamente con la ricaduta di malattia, a differenza di un *activity score* alto (odds ratio—12.37; 95% CI—3.23, 47.33; $P < 0.001$). La sopravvivenza media libera da malattia è risultata significativamente più breve nel gruppo con *activity score* ≤ 0.5 (52.68 \pm 10.58 mesi; 95% CI—31.95, 73.42)

in confronto a quella del gruppo con *activity score* ≥ 1 (122.21 ± 6.89 mesi; 95% CI—108.69, 135.72; $P < 0.001$). Le vampate di calore sono state registrate con maggiore frequenza nelle pazienti senza ricadute, ma non è stata trovata un'associazione statisticamente significativa tra l'*activity score* del CYP2D6 e questo effetto del tamoxifene. Ulteriori valutazioni sono state effettuate prendendo in considerazione le pazienti con tumore della mammella ER+: in questo gruppo di 67 pazienti, 10 hanno sviluppato una ricaduta. Anche in questo caso è stata trovata un'associazione significativa tra l'*activity score* ≤ 0.5 ed il rischio di ricaduta (OR—7.71; 95% CI—1.29, 45.91; $P = 0.039$) ed una breve sopravvivenza libera da ricadute (31.8 ± 5.47 mesi; 95% CI—21.07, 42.53; $P = 0.003$).

La terapia ormonale adiuvante con tamoxifene o con inibitori dell'aromatasi riduce la frequenza di ricadute e migliora la sopravvivenza globale in pazienti con carcinoma della mammella. Il tasso di ricaduta a 15 anni con tamoxifene è del 33 %, indicando che non è efficace in tutte le pazienti. La resistenza al tamoxifene può essere causata da diversi fattori, quali variazioni nell'espressione dell'ER α o ER β , alterazioni delle proteine co-regolatorie o influenze di chinasi delle vie di trasduzione del segnale. Anche i polimorfismi del CYP2D6 o l'assunzione concomitante di farmaci che inibiscono il CYP2D6 possono causare il fallimento della terapia. Studi sull'influenza dei polimorfismi del CYP2D6 hanno ottenuto risultati contrastanti e l'effetto può variare tra le diverse popolazioni a causa di influenze genetiche ed ambientali. Lo scopo di questo studio è quello di determinare l'influenza dei polimorfismi del CYP2D6 sull'*outcome* di pazienti indiane in terapia adiuvante con tamoxifene. I fattori che possono influenzare la frequenza di ricadute, quali l'età, le dimensioni del tumore, lo stato linfonodale, la presenza di metastasi, la chemio e la radioterapia, non erano diversi tra le pazienti con e senza ricaduta, riducendo i potenziali fattori di confondimento. La distribuzione allelica del CYP2D6 in questo studio non differiva dalla frequenza stabilita nella popolazione Indiana. Pazienti in terapia con tamoxifene con *activity score* ≤ 0.5 hanno mostrato un aumento statisticamente significativo del rischio di ricadute ed una più breve sopravvivenza libera da ricadute, suggerendo che le pazienti con ridotta attività enzimatica possano avere una prognosi peggiore rispetto ai pazienti con attività normale. L'*Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) trial* ed lo studio *Breast International Group (BIG) 1-98* hanno mostrato la superiorità degli inibitori dell'aromatasi rispetto al tamoxifene nella terapia adiuvante di donne in post-menopausa con carcinoma della mammella ormono-sensibile. Tuttavia questi studi non prendevano in considerazione la variabilità di risposta al tamoxifene in relazione ai polimorfismi del CYP2D6. Punglia et al. e Yu et al. hanno utilizzato i dati rispettivamente del BIG 1-98 e dell'ATAC trial ed hanno dimostrato, tramite la tecnica del modello di Markov, che la sopravvivenza libera da malattia a 5 anni era simile tra i pazienti *wild-type* per il CYP2D6 in terapia con tamoxifene ed i pazienti non selezionati per genotipo in terapia con letrozolo (Punglia et al. *J Natl Cancer Inst* 2008, 100:642–648; Yu et al. *PLoS ONE* 2010, 5:e15649). Quindi, la terapia con tamoxifene basata sullo stato di metabolizzatore è risultata essere efficace come la terapia con inibitori dell'aromatasi, senza gli effetti avversi di questi ultimi. Sono stati, inoltre, condotti studi nel tentativo di personalizzare la terapia con tamoxifene: nello studio di Irvine et al. nei i pazienti con attività enzimatica intermedia o scarsa la dose di tamoxifene è stata aumentata a 40 mg/die, mentre è rimasta di 20 mg/die nei pazienti con attività elevata; dopo 4 mesi i livelli plasmatici di endoxifene non sono risultati significativamente diversi tra i pazienti con attività intermedia e quelli con attività elevata, mentre sono rimasti bassi nei pazienti con attività enzimatica scarsa (Irvine et al. *J Clin Oncol* 2011, 29:3232–3239). Barginear et al., invece, hanno aumentato la dose a 30 mg/die in pazienti con livelli sierici di endoxifene < 40 nmol/l e/o *score* di attività pari a 0: i livelli plasmatici degli isomeri attivi sono aumentati nel 90% dei pazienti che hanno ricevuto una dose superiore del farmaco (Barginear et al. *Clin Pharmacol Ther* 2011, 90:605–611). Questi studi dimostrano la fattibilità di una terapia personalizzata con tamoxifene guidata dal genotipo CYP2D6 o dalla concentrazione di endoxifene. Inoltre, per superare l'incertezza della terapia con tamoxifene legata ai polimorfismi del CYP2D6, è stato sviluppato un nuovo farmaco a base di endoxifene e sono stati condotti studi di fase 1 per dimostrarne la sicurezza e la tollerabilità: dopo somministrazione orale di 4 mg/die di endoxifene la concentrazione plasmatica è risultata simile a quella dei soggetti con elevata attività del CYP2D6 e non sono stati osservati effetti avversi gravi alle dosi utilizzate nello studio.

In conclusione, questo studio dimostra che la ridotta attività enzimatica del CYP2D6, dovuta a polimorfismi genetici, è associata con *outcome* peggiore in pazienti con carcinoma della mammella in terapia adiuvante con tamoxifene: infatti, le pazienti con ridotta attività del CYP2D6 presentano un rischio di ricadute aumentato ed una sopravvivenza libera da malattia ridotta.

Limiti dello studio sono il piccolo numero di pazienti con ridotta attività enzimatica, a causa della bassa frequenza di questi alleli, ed il breve periodo di follow-up. Studi futuri, pertanto, dovrebbero essere eseguiti su un più ampio numero di pazienti seguite per un periodo più prolungato.

Parole chiave: tamoxifene, carcinoma della mammella, *CYP2D6*

Riferimento bibliografico

[Damodaran SE](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012, 70(1):75-81.

RUOLO DEL POLIMORFISMO G172T DEL GENE RAD51 NELL'OUTCOME CLINICO DI PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO ALLA CERVICE IN TRATTAMENTO CON CHEMIO RADIOTERAPIA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro alla cervice è il terzo più comune tipo di cancro nella donna dopo quello al seno e al colon retto, con un'incidenza di 500.000 nuove diagnosi ogni anno.

Studi epidemiologici e molecolari hanno mostrato come il papillomavirus umano (HPV) sia un agente eziologico necessario per lo sviluppo del tumore cervicale e che il fumo potrebbe essere un cofattore consistente (Medeiros et al. *Eur J Cancer Prev* 2005, 14(5),467–471; Silva et al. *J Oncol* 2011, 953469).

Il trattamento del cancro alla cervice è cambiato nel tempo; studi randomizzati hanno mostrato che un approccio combinato, includente cisplatino, 5-fluorouracile, chemioterapia e radioterapia, può migliorare *survival*, *progression-free survival* e tasso di ricorrenza in pazienti con cancro localmente avanzato (Keys et al. *N Engl J Med* 1999, 340(15):1154–61; Morris et al. *N Engl J Med* 1999, 340 (15), 1137–43; Rose et al. *N Engl J Med* 1999, 340(15):1144–53). In questi casi l'uso della radioterapia e della chemioterapia basata su cisplatino è diventato ad oggi il trattamento standard.

Le cellule sono esposte continuamente ad una varietà di agenti genotossici che possono produrre un ampio *range* di lesioni al DNA; la risposta della cellula a questo danno e la capacità di mantenere la stabilità genomica mediante riparazione del DNA è cruciale per prevenire l'iniziazione e la prevenzione del cancro.

Una delle proteine fondamentali in questi processi è RAD51, coinvolta nella ricombinazione omologa (processo di riparazione del DNA impiegato nei casi di rottura di entrambi i filamenti).

Ad oggi sono noti 143 polimorfismi nel gene codificante per RAD51; solo un numero limitato è situato in regioni codificanti e nessuno ha una frequenza dell'allele minore (MAF) >5%, suggerendo di fatto che la struttura proteica potrebbe essere geneticamente conservativa. Lo SNP rs1801321 (G172T) è tuttavia riportato essere associato con una trascrizione genica alterata (Hasselbach et al. *Eur J Gynaecol Oncol* 2005, 26(6):589–598); non vi sono attualmente studi che abbiano valutato il ruolo di questo polimorfismo nell'eziologia del cancro cervicale.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto dello SNP rs1801321 nella risposta al trattamento di soggetti affetti da cancro alla cervice.

L'analisi ha coinvolto 193 pazienti di etnia Caucasica; le pazienti sono state selezionate in modo *random* tra quelle sottoposte ad un protocollo chemioterapico consistente in chemioterapia basata su platino in combinazione con radioterapia.

L'età media dei soggetti era di 49.24 anni (standard deviation, SD = 11.21) con una età media alla diagnosi di 48 anni; il 73.6 % aveva mostrato una risposta completa, il 16.6% parziale, il 5.2% era rimasto stabile ed il 3.1% era andato incontro a progressione (per l'1.5% dei casi non si avevano informazioni).

Tutte le pazienti sono state genotipizzate per lo SNP rs1801321 mediante Taqman™ Allelic Discrimination; le frequenze alleliche ottenute per GG, GT, TT erano rispettivamente 0.32, 0.43 e 0.25. non vi erano differenze statisticamente significative nella distribuzione genotipica dal punto di vista delle caratteristiche clinico-patologiche, della risposta a trattamento (parziale e completo, P = 0.508), ricorrenza (sì e no, P = 0.150) e stadio tumorale (I/II e III/IV, P = 0.250). Per quanto riguarda i valori di *overall survival* trovati mediante metodo di Kaplan-Meier e Log-Rank test, è stato osservato che il tasso medio di sopravvivenza era statisticamente differente in accordo con il genotipo. In particolare il gruppo di pazienti portatori della variante T aveva un valore medio di *survival* più alto rispetto agli altri (102.3 mesi vs 86.4 mesi; P = 0.020);

di conseguenza pazienti con genotipo TT o GT mostravano un più alto *overall survival*. Utilizzando il modello multivariato di Cox, i precedenti risultati sono stati ulteriormente confermati; nello specifico, pazienti portatori dell'allele T mostravano un aumentato *overall survival*, quando comparati con soggetti con genotipo GG, con stadio tumorale, età e presenza di linfonodi come covarianti [HR 0.373; 95% CI 0.181-0.770; P = 0.008]

Tali osservazioni hanno spinto gli autori all'ipotesi che individui RAD51 172TT possano avere una ridotta funzionalità cellulare di riparazione del danno o presentare un'aumentata sensibilità agli agenti chemioterapeutici, supportando così l'osservazione che il genotipo TT possa avere un effetto protettivo sull'*outcome* clinico di pazienti con cancro alla cervice.

In conclusione, questo è il primo studio che ha permesso di valutare il ruolo del polimorfismo rs10801321 G172T del gene codificante per RAD51 nella prognosi e nell'*outcome* clinico di pazienti affetti da cancro alla cervice.

I risultati mostrano che l'allele T potrebbe avere un ruolo protettivo; in particolare, pazienti portatori della variante T (TT e GT) sembrano essere associati con un più alto valore di *overall survival* rispetto a soggetti con diverso genotipo.

Parole chiave: Cancro alla cervice, chemioterapia basata sul platino e radioterapia, RAD51

Riferimento bibliografico

[Nogueira A](#) et al. *Gene* 2012, 504(2):279-83.

ANALISI DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE* IMPLICA IL COINVOLGIMENTO DI OTTO LOCI NELLA RISPOSTA AL TOCILIZUMAB PER IL TRATTAMENTO DELL'ARTRITE REUMATOIDE

A cura della Dott.ssa Sara De Iudicibus e del Dott. Gabriele Stocco

L'artrite reumatoide è una malattia cronica autoimmune che interessa circa l'1% della popolazione adulta. Si manifesta come un'infiammazione delle articolazioni sinoviali, che può portare alla loro distruzione con conseguente disabilità. L'artrite reumatoide ha un'eziologia complessa, che comprende una componente genetica e uno dei fattori genetici più forti è HLA-DRB1 e più specificamente una combinazione di alleli denominata "epitopo condiviso". Circa il 75% dei pazienti presenta autoanticorpi, chiamati anche fattore reumatoide o anticorpi anti peptidi ciclici citrullinati, condizione denominata come sieropositività; nei pazienti sieropositivi, altri 31 fattori genetici sono stati identificati come associati allo sviluppo di artrite reumatoide. Farmaci antireumatici che modificano l'andamento della malattia (*disease-modifying antirheumatic drugs*, DMARDs) come il metotressato sono utilizzati per il trattamento dell'artrite reumatoide. Terapie di seconda linea comprendono invece agenti biologici fra cui molecole antagoniste del TNF- α , l'anticorpo rituximab per la sua azione di deplezione dei linfociti B o tocilizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il recettore per l'interleuchina 6 (IL-6). Nei pazienti con artrite reumatoide, si presenta un'eterogeneità considerabile per quanto riguarda la risposta ad una determinata terapia e biomarcatori genetici potrebbero essere utili per identificare pazienti con una maggiore probabilità di risposta. Nell'ambito dei farmaci biologici, la ricerca di biomarcatori associati alla risposta alle terapie anti-TNF- α o al rituximab si è basata finora soprattutto sull'approccio a geni candidati, considerando loci di suscettibilità nota o ipotetica oppure geni coinvolti nel bersaglio molecolare dei farmaci; questi studi tuttavia non hanno individuato dei biomarkers validati predittivi della risposta a ciascuna di queste terapie.

Nella presente analisi, uno studio di associazione con approccio *genome-wide* è stato realizzato per identificare polimorfismi genetici in grado di predire la risposta al tocilizumab. La ricerca ha considerato 1683 pazienti con artrite reumatoide, arruolati in 6 diversi studi clinici di fase III per l'efficacia e la sicurezza del tocilizumab (alla dose di 4 o 8 mg/kg), somministrato ogni 4 settimane, per un totale di almeno 24 settimane e in confronto a con terapia DMARDs, in genere effettuata con metotressato. I DNA dei pazienti sono stati genotipizzati utilizzando diverse versioni, a seconda del trial clinico considerato, di arrays Bead-Chip prodotti dalla ditta Illumina. Per l'analisi statistica sono stati impiegati modelli lineari o di regressione

logistica per i fenotipi clinici considerati, opportunamente aggiustati per le covariate: valore al baseline del fenotipo clinico in esame, dose di farmaco, gruppo etnico di appartenenza del paziente e trial clinico. Oltre a quest'analisi univariata, per la valutazione di polimorfismi con effetti di epistasi è stato impiegato un approccio di analisi multivariata con selezione delle variabili, che può essere utilizzato quando il numero di dimensioni dei dati in considerazione è più grande del numero di pazienti arruolati; il metodo impiegato è basato su calcoli di regressione penalizzata e denominato LASSO. Lo studio è stato organizzato dividendo i pazienti in due gruppi, uno formati dai primi (in ordine temporale) 4 studi (coorte ROTA), per un totale di 1157 pazienti ed un secondo gruppo di validazione, che ha raggruppato i due studi più recenti (coorte LM), con un totale di 526 pazienti. I fenotipi clinici principali considerati sono state le variazioni di indici che misurano lo stato di attività della malattia ed in particolare il *Disease Activity Score* (DAS) e l'*American College of Rheumatology 20% improvement criteria* (ACR20). L'analisi ha selezionato SNPs nella coorte ROTA associati a cambiamenti degli indici DAS e ACR20, considerando 4 tipi di significatività: $p < 10^{-5}$ in pazienti caucasici (il gruppo etnico più rappresentato), $p < 10^{-4}$ in pazienti caucasici e contemporaneamente *p-value* inferiore considerando tutto i pazienti, SNP selezionati dall'analisi LASSO considerando solo i pazienti caucasici oppure SNP selezionati dall'analisi LASSO considerando tutti i pazienti; la validazione è stata fatta nella coorte LM, considerando un *p-value* < 0.05 e la condizione della stessa direzionalità per l'effetto del genotipo sulla risposta alla terapia (l'analisi multivariata di selezione LASSO non è stata eseguita nella coorte di validazione). Questo approccio ha identificato tre gruppi di marcatori significativi: 4 SNP con significatività assoluta a livello *genome-wide* ($p < 10^{-7}$) in almeno una delle analisi; SNP significativi secondo tutti e quattro i criteri; SNP significativi per almeno un criterio e validati nella coorte di validazione. Fra gli SNPs significativi a livello *genome-wide*, nessuno è stato validato nella coorte di validazione. Gli SNP significativi secondo tutti e quattro i criteri hanno portato all'identificazione di due geni di potenziale interesse SPTL3 e MYOB18: per identificarne le varianti causali, questi sono stati completamente sequenziati e gli SNPs identificati (rispettivamente 1100 ed 1333) sono stati genotipizzati nelle coorti in esame. Infine sono stati individuati SNPs significativi per almeno un criterio e che sono stati validati nella coorte LM: 8 SNPs sono stati identificati, tutti mediante l'analisi LASSO nella coorte *discovery* (ROTA). Questi 8 polimorfismi non sono stati identificati precedentemente come rilevanti per lo sviluppo di artrite reumatoide o associati in qualche modo alla risposta alla terapia farmacologica di questa patologia. Nessuno di questi SNPs è coinvolto in maniera ovvia con il *pathway* dell'IL-6. Inoltre, per quanto sia stata registrata una differenza evidente nella risposta alla terapia con tocilizumab in pazienti portatori dei vari alleli dei polimorfismi individuati, la porzione di variabilità del fenotipo spiegata da ciascun polimorfismo è bassa ($< 2\%$) per cui di dubbia utilità clinica. Può essere di interesse che fra gli 8 loci identificati, ci siano due geni che codifichino per lectine C, CLEC2D e CD69 (noto anche come CLEC2C), coinvolte nelle attività delle cellule NK; studi funzionali sono tuttavia necessari per chiarire la rilevanza di questa osservazione per prevedere al risposta al tocilizumab nell'artrite reumatoide o per comprendere meglio i suoi effetti terapeutici in questa patologia. Questo studio illustra la complessità di analisi di associazione *genome-wide* nel contesto di trial clinici: nonostante l'arruolamento di più di 1600 pazienti, compresi in 6 trial clinici controllati e condotti con rigore metodologico, sia dal punto di vista clinico che sperimentale, è stato possibile individuare solo un piccolo numero loci con un'associazione debole in termini di intensità dell'effetto e di forza statistica e solo putativa dal punto di vista del meccanismo molecolare. Questi risultati indicano che la risposta al trattamento nei pazienti con artrite reumatoide è probabilmente complessa, anche per un farmaco biologico, con bersagli molecolari mirati e definiti, come l'anticorpo monoclonale tocilizumab.

Questo studio dimostra che è improbabile che esista un determinante genetico forte per la risposta al tocilizumab nell'artrite reumatoide ed illustra la complessità di condurre studi di associazione *genome-wide* nel contesto di trials clinici per una malattia autoimmune eterogenea come l'artrite reumatoide.

Parole chiave: genetica; genoma; tocilizumab; artrite reumatoide

Riferimento bibliografico

[Wang J et al. *Pharmacogenomics J* 2012 Apr 10 \[Epub ahead of print\].](#)

VARIANTI GENETICHE DEL PATHWAY PI3K/PTEN/AKT/mTOR PREDICONO IL RISCHIO DI RICORRENZA NEI TUMORI DELLA TESTA E DEL COLLO E LA RISPOSTA ALLA CHEMIOPREVENZIONE CON ACIDO 13-cis-RETINOICO

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il carcinoma a cellule squamose della testa e del collo (HNSCC) ha una stima annua di diagnosi di circa 600 mila nuovi casi in tutto il mondo. Il trattamento degli stadi precoci di questa patologia (I e II) con intervento chirurgico con o senza radioterapia ha dato esito positivo nel circa 60-80% dei pazienti, raggiungendo una prognosi favorevole per il lungo termine. Lo sviluppo di tumore primario secondario (*second primary tumours*, SPT) o ricorrenza del tumore primario si presenta in circa il 20% dei pazienti durante i cinque anni di terapia. A causa di questo forte rischio nei pazienti con HNSCC, in numerosi studi è stata proposta la chemio prevenzione a base di retinoidi per ridurre o eliminare il presentarsi di questi eventi. In un recente trial clinico sull'acido 13-cis-retinoico (13-cRA) utilizzato la prevenzione di SPT in 103 pazienti con HNSCC liberi da malattia al momento dell'arruolamento, è stata osservata una significativa riduzione di SPT grazie al trattamento con 13-cRA (Hong WK et al. *N Engl J Med* 1990, 323(12):795-801; Benner SE et al. *J Natl Cancer Inst* 1994, 86(2):140-1). Questi risultati hanno portato ad uno studio di fase III con l'utilizzo di una bassa dose di 13-cRA in 1190 pazienti con HNSCC in fase precoce trattamento (Khuri FR et al. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98(7):441-50). I risultati di questo studio, al contrario del precedente, non hanno mostrato alcuna differenza di incidenza di SPT e ricorrenza di malattia tra il gruppo placebo e quello di trattamento. Durante l'analisi di follow-up, il gruppo di Hildebrandt ha identificato varianti genetiche comuni nei geni RXRA, JAK2, CDC25C e TSC1, in grado di identificare sia pazienti ad alto rischio di SPT e ricorrenza che predire una risposta positiva al 13-cRA. Il 13-cRA ed altri retinoidi esplicano il loro effetto attraverso i recettori retinoidi RAR e RXR. È noto che i recettori RAR sono down-regolati nei tumori della testa e del collo ed un meccanismo alla base di questa inibizione è la fosforilazione guidata da AKT. In più, retinolo e retinoidi sono in grado di attivare direttamente il *pathway* PI3K/PTEN/AKT/mTOR in diversi tipi cellulari. Data l'importanza di questo *pathway* nello sviluppo del cancro e nella sua progressione, in quest'articolo pubblicato su *Clinical Cancer Research* da Hildebrandt et al. è stato analizzato l'effetto delle variazioni genetiche di questo *pathway* nel predire il rischio di SPT e di ricorrenza della malattia in pazienti con HNSCC ed in trattamento chemio preventivo con 13-cRA.

I pazienti inclusi nello studio erano tutti HNSCC di fase I e II arruolati nel trial *Retinoid Head and Neck Second Primary* e randomizzati per ricevere sia una dose giornaliera di 30 mg di 13-cRA o un placebo per una durata complessiva di tre anni. Di 440 pazienti inclusi nell'analisi, 215 erano randomizzati al braccio placebo, e 225 erano selezionati per ricevere la chemio prevenzione. I pazienti per essere arruolati nel trial dovevano essere liberi da malattia da almeno sedici settimane in seguito alla chirurgia e/o trattamento radioterapico. L'*endpoint* primario era il verificarsi di SPT o ricorrenza di malattia nei quattro anni di follow-up. SPT era definito come: diagnosi di nuovo cancro con differente tipologia istologica; cancro della stessa tipologia ma con manifestazione a più di tre anni in seguito al trattamento del primo tumore; cancro distante dal sito del primo tumore da più di 2 cm di epitelio clinicamente normale. La ricorrenza di malattia era definita come ogni tumore istologicamente simile in 2 cm dalla sede o nei tre anni dal primo tumore.

L'analisi genotipica è stata eseguita, dopo estrazione di DNA da sangue periferico, utilizzando un array custom iSelect dell'Illumina, generato per analizzare sia tagging aploipici che SNP funzionali da geni in 12 *pathway* collegati allo sviluppo del cancro. Un totale di 9465 SNPs sono stati genotipati in 440 campioni di DNA. Dopo analisi del controllo della qualità, il numero finale di SNPs è stato di 8347. Analisi successive hanno evidenziato l'importanza di 20 geni del *pathway* PI3K/PTEN/AKT/mTOR, riducendo il numero di SNPs a 137.

È stato calcolato per ogni SNP l'*Hazard Ratio* (HR) e l'intervallo di confidenza al 95% (95% CI) verso l'*outcome* SPT o ricorrenza utilizzando un modello di Cox aggiustato per età, sesso, etnia, fumo, sito e stadio del tumore. Al fine di comparare la sopravvivenza libera da malattia, sono stati utilizzati le curve di Kaplan-Meier e il test log-rank. In seguito sono stati definiti come "genotipi ad alto rischio" quelli che erano in grado di aumentare significativamente il rischio di SPT o di ricorrenza di malattia nei pazienti randomizzati nel braccio placebo. Sono state costruite le curve ROC e le corrispondenti aree sotto la curva (AUC) per diversi modelli di rischio, che includevano la combinazione di caratteristiche epidemiologiche, cliniche e dei fattori genetici dei pazienti.

Dall'analisi dei 137 SNPs nel gruppo di 215 pazienti con placebo, un totale di 22 SNP aumentavano significativamente il rischio di sviluppare SPT o ricorrenza. Di particolare interesse erano 15 loci genotipici presenti nella maggior parte della popolazione con un rischio incrementato da 1.56 a 3.57 volte. In particolare, 10 erano presenti nel gene TSC1 e il più significativo di questi era rs7040593 (HR, 3.03; 95% CI, 1.37 – 6.67). Degli altri 7 loci genetici, presenti in misura minore all'interno della popolazione, il polimorfismo rs4972842 del gene PDK1 mostrava il rischio maggiore di sviluppare SPT/ricorrenza (HR, 5.16; 95% CI, 2.21 – 12.03). Altro incremento significativo era osservato nei locus genetici di AKT2, PIK3CD e PTEN. Successivamente è stato determinato l'effetto del trattamento 13-cRA comparato con il gruppo placebo per i portatori dei genotipi ad alto rischio. Dei 22 loci genetici, 6 di questi erano anche associati significativamente ad un beneficio per i pazienti che ricevevano chemioprevenzione con 13-cRA. Due loci di TSC1 erano in *linkage disequilibrium* (rs4962225 e rs7035940) e comportavano una riduzione del rischio di SPT/ricorrenza del 43% (HR, 0.57; 95% CI, 0.37 – 0.88). Questa riduzione significativa del rischio di incidenza si rispecchiava anche in un aumento di più di 17.9 mesi liberi da malattia. Una riduzione del rischio simile era evidente per gli altri polimorfismi di TSC1, rispettivamente rs739442 (HR, 0.49; 95% CI, 0.27 – 0.87) e rs7874234 (HR, 0.59; 95% CI, 0.38 – 0.92). Una riduzione significativa era osservata anche per i polimorfismi rs4129341 di PIK3CD (HR, 0.48; 95% CI, 0.26 – 0.87) e rs1234221 di PTEN (HR, 0.56; 95% CI, 0.34 – 0.94). Al fine di poter valutare al meglio la potenza di questi 5 loci genetici ad alto rischio (placebo) e ad alto beneficio (13-cRA) nell'identificazione dei pazienti HNSCC ad elevato rischio di SPT e ricorrenza, sono stati costruiti tre modelli di predizione del rischio basati sui dati del gruppo placebo. Il primo modello includeva le variabili epidemiologiche e cliniche associate al rischio elevato. La corrispondente AUC era del 65.5% ed era significativamente incrementata al 76.3% ($p < 0.001$) con l'aggiunta dei loci genetici (RXRA:rs3118570, JAK2:rs1887427, e CDC25C:rs6596428) precedentemente analizzati dallo stesso gruppo di lavoro (Lee JJ et al., *Cancer Prev Res.* 2011, 4(2):185-93). L'AUC risultava significativamente aumentata ($p = 0.002$) di 3.2% con un valore finale di 79.5% dopo l'inclusione nel modello dei cinque loci genetici selezionati in questo lavoro.

Questi risultati suggeriscono che le variazioni genetiche di questo importante *pathway* di *signaling* cellulare possono essere utilizzate come bio-marcatore per selezionare i pazienti con HNSCC che devono ricevere chemio prevenzione con 13-cRA. In particolare, i loci genetici alto rischio/alto beneficio sono molto frequenti suggerendo che la maggioranza della popolazione di pazienti potrebbe essere classificata in questo gruppo e indirizzata alla ricezione di 13-cRA. Inoltre, questi risultati suggeriscono che la combinazione con inibitori di *pathway* in aggiunta al 13-cRA potrebbe creare un beneficio nella riduzione del rischio di SPT/ricorrenza e anche nella risposta alla terapia. Saranno necessari successivi studi per testare questa ipotesi *in vitro*, nel determinare se questi agenti siano in grado di lavorare sinergicamente con 13-cRA e se possano essere utilizzati in trial clinici al fine di prevenire SPT/ricorrenze.

Un'AUC maggiore dell'80% è considerata come eccellente per la sua abilità discriminatoria, e il modello proposto in questo studio, con il 79,5%, ha un grosso potenziale nell'identificazione dei pazienti con HNSCC ad elevato rischio di ricorrenze. Sono necessari modelli più approfonditi di validazione e calibrazione per determinare se questo modello possa essere appropriato per la pratica clinica.

La selezione dei pazienti prima della chemio prevenzione con 13-cRA permetterebbe di evitare l'esposizione ad eventi avversi gravi ed inutili nel caso dovesse esistere un basso rischio di SPT o di ricorrenze, e soprattutto nel caso in cui l'intervento non sia in grado di dare alcun beneficio ai pazienti. Questo studio ha dimostrato che le variazioni genetiche del pathway PI3K/PTEN/AKT/mTOR sono in grado di modulare il rischio individuale di ricorrenza della malattia e di predire la risposta chemio preventiva al 13-cRA. Questi risultati possono essere molto utili nel disegnare futuri trial clinici di 13-cRA e determinare se o meno un paziente con HNSCC possa essere un candidato alla chemio prevenzione con 13-cRA.

Le variazioni genetiche del pathway PI3K/PTEN/AKT/mTOR (TSC1: rs739442, rs7874234, rs4962225 e rs7035940; PIK3CD: rs4129341; PTEN: rs1234221) sono in grado di modulare il rischio individuale di ricaduta così come nel predire la risposta chemio preventiva al 13-cRA.

Conflitto d'interesse: lo studio è stato supportato dal NIH Americana.

Parole chiave: carcinoma della testa e del collo, 13-cis- acido retinoico

Riferimento bibliografico:

[Hildebrandt MA](#) et al. *Clin Cancer Res* 2012, 18(13):3705-13.

MIGLIORAMENTO DELLA SOPRAVVIVENZA CON INIBITORI DI MEK NEL MELANOMA BRAF-MUTATO

A cura della Dott.ssa Valentina Boscaro

Ogni anno nel mondo vengono diagnosticati circa 160000 nuovi casi di melanoma e sono circa 48000 i decessi ad esso correlati; tra i tumori in pazienti sotto i 40 anni, l'incidenza di melanoma è secondo solo al carcinoma della mammella per le donne e alle leucemie per gli uomini.

Prima del 2010, nessuna terapia sistemica era in grado di migliorare l'*overall survival* (OS) in pazienti con melanoma metastatico e solo miglioramenti modesti erano stati osservati con terapie adiuvanti a base di interferon. Negli ultimi anni, l'ipilimumab, anticorpo monoclonale diretto contro CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*) e il vemurafenib, un inibitore selettivo di BRAF, si sono mostrati in grado di migliorare la sopravvivenza di pazienti con melanoma metastatico in *trial* clinici (Robert C et al, *N Engl J Med* 2011, 364: 2517-26; Hodi FS et al. *N Engl J Med* 2010, 363:711-23; Chapman PB et al. *N Engl J Med* 2011, 364: 2507-26; [SIF-Farmacogenetica](#) n° 30, 2011). Le mutazioni attivanti di BRAF sono state descritte per la prima volta nel 2002 e sono state identificate in circa il 50% dei pazienti con melanoma avanzato; le mutazioni più comuni, V600E e V600K, tengono conto del 95% delle mutazioni di BRAF in pazienti tumorali. Il *pathway* delle MAP chinasi è in grado di regolare proliferazione e sopravvivenza cellulare in diversi tumori e in modelli preclinici di melanoma umano è stato dimostrato come inibitori selettivi di BRAF e MEK inibiscano la crescita e inducano la morte cellulare in tumori con mutazioni di BRAF.

In *trial* di fase I e II il trametinib (GSK1120212), piccola molecola somministrabile per os, inibitore selettivo di MEK1 e MEK2, si è dimostrato in grado di indurre regressione e stabilizzazione del tumore in pazienti con melanoma con mutazione V600E o V600K di BRAF.

Gli autori presentano in questo articolo i risultati di uno studio di fase III, randomizzato, controllato, in aperto, iniziato quando sia il vemurafenib che l'ipilimumab non erano ancora stati approvati.

Tra dicembre 2010 e luglio 2011, sono stati screenati 1022 pazienti per mutazioni di BRAF V600E e V600K; criteri di inclusione erano: melanoma non operabile, confermato istologicamente, di stadio IIIC e IV, con mutazione V600E o V600K, età superiore a 18 anni, tumore misurabile, *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) *performance status* di 0 (completamente attivo) e 1 (ambulatoriale o attività fisica faticosa limitata), funzioni organiche adeguate. I pazienti potevano aver ricevuto precedentemente un regime chemioterapico, ad eccezione di inibitori di BRAF o MEK e di ipilimumab. Potevano partecipare allo studio pazienti con metastasi cerebrali stabili, mentre sono stati esclusi pazienti con storia di patologie cardiovascolari o polmonari clinicamente significative, con evidenze o rischio di occlusione della vena retinica o grave retinopatia centrale.

L'*end-point* primario dello studio era il *progression-free survival* (PFS); *end-point* secondari erano OS, il tasso di risposta totale, la durata della risposta e la sicurezza.

Il principale criterio di esclusione è stato l'esito negativo del test mutazionale; dei 1022 pazienti, i 322 eleggibili sono stati assegnati in rapporto 2:1 a ricevere trametinib 2mg/die per os (214 pazienti, età media 55 anni, 120 – 56% - maschi) o un chemioterapico per via endovenosa (108 pazienti, età media 54 anni, 53 – 49% - maschi) ogni 3 settimane: dacarbazina (1000mg/m² di superficie corporea) o in alternativa paclitaxel (175mg/m²) a discrezione del medico. I pazienti sono stati stratificati in base al valore basale di lattato deidrogenasi (normale o elevato) e al precedente trattamento chemioterapico per malattia avanzata (sì o no). Le caratteristiche basali dei pazienti dei due gruppi erano ben bilanciate, ma più pazienti nel gruppo trametinib avevano una patologia di stadio M1c, caratterizzato da metastasi in siti diversi da pelle, linfonodi, o polmone o in qualsiasi sito con livelli di lattato deidrogenasi elevati, o 3 o più siti di malattia.

Al momento dell'analisi primaria, 195 pazienti (61%) sono andati incontro a progressione di malattia o morti; in accordo ad un emendamento al protocollo, adottato il 16 febbraio 2012, la commissione indipendente di monitoraggio dei dati e della sicurezza e il comitato di direzione dello studio hanno concluso che sia il PFS che l'OS erano significativamente più lunghi nel gruppo trametinib rispetto al gruppo chemioterapia ed è stato permesso il *crossover* immediato al gruppo trametinib.

Il PFS è stato di 4,8 mesi nel gruppo trametinib e di 1,5 mesi nel gruppo chemioterapia (HR per progressione di malattia o morte nel gruppo trametinib 0,45, 95% CI 0,33-0,63, $p < 0,001$); c'è stato un miglioramento significativo del PSF in tutti i sottogruppi di pazienti, eccetto per quelli con mutazione V600K e di età uguale o superiore a 65 anni. A 6 mesi il tasso di sopravvivenza totale era dell'81% nel gruppo trametinib e del 67% del gruppo chemioterapia (HR per morte nel gruppo trametinib 0,54, 95% CI 0,32-0,92, $p = 0,01$), nonostante 51 dei 108 pazienti (47%) del gruppo chemioterapia fossero passati al gruppo trametinib. Al momento di questo report, l'OS medio non è stato raggiunto; dopo la terapia in studio, l'8% dei pazienti nel gruppo trametinib e il 6% del gruppo chemioterapia hanno ricevuto vemurafenib e rispettivamente il 5% e nessuno l'ipilimumab. La frequenza di risposta, definita come risposta completa o parziale in accordo a RECIST, è stata del 22% nel gruppo trametinib e l'8% nel gruppo chemioterapia; la durata media di risposta è stata di 5,5 mesi nel primo gruppo (in 47 pazienti), mentre non è stata raggiunta nel secondo gruppo (in 9 pazienti). Gli eventi avversi sono stati valutati in 310 pazienti che hanno ricevuto almeno una dose del farmaco in studio. Nel gruppo trametinib gli eventi avversi più comuni sono stati rash (meno dell'8% di grado 3 o 4), diarrea, edema periferico, fatica e dermatiti acneiformi; in 14 pazienti (7%) è stata osservata una riduzione della frazione di eiezione (11 pazienti) o una disfunzione del ventricolo sinistro (3) e 2 pazienti hanno avuto eventi cardiaci gravi di grado 3, considerati farmaco-dipendenti, che hanno portato all'interruzione della terapia. Non sono stati riportati casi di occlusione della vena retinica, il 9% dei pazienti ha manifestato disturbi visivi, prevalentemente visione offuscata (4%) ed è stato registrato un caso di corioretinopatia. Non sono stati diagnosticati casi di carcinoma cutaneo a cellule squamose o lesioni cutanee iperproliferative. Gli eventi avversi hanno causato l'interruzione della terapia nel 35% dei pazienti e la riduzione della dose nel 27%.

La scoperta delle mutazioni attivanti di BRAF nel melanoma e in altri carcinomi ha fornito le basi per sviluppare *targeted-therapy* a livello molecolare; il vemurafenib e il trametinib si sono mostrati in grado di ridurre il PFS e l'OS in modo simile, rispetto alla chemioterapia, in pazienti con melanoma BRAF-mutato, mentre la frequenza di risposta al trametinib è risultata inferiore rispetto a quella osservata per il vemurafenib (Chapman PB et al., *N Engl J Med* 2011, 364: 2507-16; *SIF-Farmacogenetica* n° 30, 2011). E' quindi necessario che i due farmaci vengano confrontati direttamente in un *trial* randomizzato per capire l'eventuale superiorità di un farmaco, anche se ad oggi non sono note le basi molecolari che potrebbero giustificare il minor grado di regressione tumorale osservato con un MEK inibitore rispetto a quello osservato con un inibitore di BRAF.

E' interessante sottolineare il differente profilo di tossicità tra i due farmaci: sebbene i rash siano comuni con entrambi, la natura di quelli osservati con il trametinib è papulopustolare, mentre le lesioni indotte da vemurafenib sono ipercheratotiche e maculopapulari; inoltre nella popolazione in studio non sono comparsi carcinomi cutanei a cellule squamose, riportati invece nei due *trial* del vemurafenib (Chapman PB et al., *N Engl J Med* 2011, 364: 2507-16; *SIF-Farmacogenetica* n° 30, 2011). E' da evidenziare come in un modello preclinico di carcinoma a cellule squamose indotto chimicamente, gli inibitori di BRAF accelerano la crescita delle lesioni cutanee, mentre l'aggiunta di un inibitore di MEK è stata in grado di prevenire la comparsa del carcinoma. L'attenzione è stata quindi spostata alla possibilità di combinare i due inibitori, sia per incrementare l'efficacia, sia per ridurre la tossicità; in particolare viste le evidenze che la resistenza agli inibitori di BRAF sia associata a riattivazione di MEK e ERK, il trametinib è stato associato a una piccola coorte di pazienti resistenti agli inibitori di BRAF, ma non è stata osservata alcuna risposta; si dovrà quindi investigare clinicamente se la terapia con MEK-inibitori, seguita da quella con BRAF-inibitori al momento della comparsa di resistenza, possa essere una sequenza efficace. Mentre gli inibitori selettivi di BRAF sembrano essere efficaci solo nel trattamento di carcinomi BRAF-mutati, dati preclinici e limitati dati clinici suggeriscono che i MEK-inibitori possano essere efficaci in uno spettro più ampio di tumori con altri *driver* oncogenici.

In conclusione, il trametinib è in grado di migliorare il PFS e l'OS, rispetto alla chemioterapia, in pazienti con melanoma con mutazione di BRAF V600E o V600K. Ulteriori studi sono necessari per determinare il ruolo ottimale del trametinib nel trattamento del melanoma metastatico

Nell'editoriale a cura di Sausville si sottolinea l'importanza dell'identificazione di target farmacologici a valle dei recettori per i fattori di crescita e del *pathway* RAS – RAF – MEK per il tumore, vista la presenza di mutazioni di BRAF; sono però necessari ulteriori studi per comprendere come questo *pathway* sia collegato

al mantenimento della vitalità delle cellule tumorali e alla regressione clinica del tumore. Attualmente i MEK-inibitori sono in studio anche in altri tipi di tumore con mutazioni di RAS, RAF, MEK e ERK; se si riveleranno efficaci si confermerà ancora una volta come per ottenere il migliore risultato sia necessaria un'attenta strategia per far combaciare un nuovo farmaco oncologico con una popolazione target definita a livello molecolare.

Parole chiave: trametinib, MEK, BRAF, melanoma metastatico

Riferimenti bibliografici

[Flaherty KT](#) et al. *N Engl J Med* 2012 Jun 4 [Epub ahead of print].

[Sausville E](#) *N Engl J Med* 2012 Jun 4 [Epub ahead of print].

IMPATTO DEL POLIMORFISMO ARG389GLY DEI RECETTORI B1-ADRENERGICI SULLA RISPOSTA DI BISOPROLOLO E CARVEDILOLO SUL BATTITO CARDIACO IN PAZIENTI CON SCOMPENSO CARDIACO

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Diversi farmaci beta-bloccanti sono stati approvati, sia in Europa che in Nord America, per la terapia dello scompenso cardiaco. Già da anni, trials clinici sull'utilizzo dei betabloccanti in pazienti con scompenso cardiaco e frazione di eiezione ventricolare (FEV) ridotta hanno dimostrato una riduzione della mortalità del 30% e delle ospedalizzazioni del 40%, con conseguente maggiore longevità. In questo contesto, lo studio CIBIS-ELD (*Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study in Elderly*) ha paragonato due dei più importanti betabloccanti, bisoprololo e carvedilolo.

Il bisoprololo è un betabloccante β_1 -selettivo, mentre il carvedilolo è un betabloccante non selettivo, con azione anche α_1 -bloccante. Nel CIBIS-ELD, di superiorità bisoprololo versus carvedilolo, è stata valutata e confrontata la tollerabilità di questi due farmaci e la loro efficacia nel raggiungimento e nel mantenimento della dose target dopo 12 settimane di terapia.

In questo studio in doppio cieco sono stati arruolati 883 pazienti con scompenso cardiaco cronico di classe NYHA \geq II e/o frazione di eiezione ventricolare sinistra \leq 45%, di età superiore a 65 anni, in 41 centri Europei (21 centri in Germania, 15 in Serbia, 4 in Slovenia e 1 in Montenegro). Tutti i pazienti hanno fornito consenso informato scritto. Successivamente i pazienti sono stati randomizzati per ricevere bisoprololo oppure carvedilolo. La dose di farmaco è stata definita in visite bisettimanali per raggiungere la dose target indicata dalle linee guida, ossia 10 mg die di bisoprololo in un'unica somministrazione e 25 mg di carvedilolo x 2 die nelle prime 6 settimane (50 mg x 2 die nelle prime 8 settimane per pazienti con un peso corporeo superiore a 85 Kg). A questa prima fase di titolazione ha fatto seguito una fase di mantenimento di 4 settimane e al termine di questa una nuova visita ambulatoriale. Ad ogni visita è stata valutata la titolazione e la tollerabilità attraverso interviste orali, indagini cliniche e registrazioni di ECG.

Dei 883 pazienti arruolati in CIBIS-ELD, 528 pazienti (421 con ritmo sinusale, 107 con fibrillazione atriale) sono stati inseriti in un sottostudio di farmacogenetica, prospettico, per valutare l'impatto del polimorfismo Arg389Gly sull'effetto della riduzione della frequenza cardiaca per azione dei due beta-bloccanti. I criteri di inclusione per questo sottostudio sono stati:

- ottenere consenso informato scritto;
- disponibilità di campioni di DNA di sufficiente qualità;
- disponibilità di almeno un elettrocardiogramma (ECG) durante il trattamento randomizzato (in media sono stati disponibili per paziente 4.4 ECG durante il trattamento randomizzato, in aggiunta all'ECG obbligatorio iniziale);
- paziente con ritmo sinusale (n=421) o con atriale fibrillazione (n=107) al basale (sono stati esclusi i pazienti con pacemaker).

Le frequenze dei genotipi Arg/Arg (n=284), Arg/Gly (n=200) e Gly/Gly (n=44) sono state del 53.8%, 37.9% e 8,3%, rispettivamente, e sono risultate in conformità con i dati pubblicati per i soggetti caucasici (circa il 40% dei caucasici sono eterozigoti ed il 7% omozigoti per la variante più rara Gly389). La genotipizzazione

di ADRB1 (rs1801253) per sequenziamento è stata eseguita da una società autorizzata (BioGlobe, Amburgo, Germania) e circa il 10% dei campioni è stato anche sottoposto a genotipizzazione con RFLP (polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione) utilizzando tecniche standard per confermare la tecnica (F. Tesson et al. *CARDIGENE Group. J Mol Cell Cardiol* 1999, 31, 1025–1032).

Inoltre, i pazienti sono stati sottoposti a genotipizzazione anche per il gene epatico CYP2D6 (per i nove alleli più frequenti) e per il polimorfismo β 1-adrenergico Ser49Gly (H.D. Dungen et al. *Clin Res Cardiol* 2008, 97, 578–586), ma nessuna associazione è stata osservata tra questi polimorfismi e la risposta del bisoprololo e del carvedilolo sulla frequenza cardiaca.

Nel sottostudio di farmacogenetica è stato valutato se il polimorfismo ADRB1-Arg389Gly influenzi gli effetti dei due beta-bloccanti e gli eventuali *outcomes* clinici.

I pazienti con ritmo sinusale hanno risposto al bisoprololo e carvedilolo, indipendentemente dal genotipo. I pazienti con fibrillazione atriale omozigoti per Arg389 hanno avuto una risposta ridotta al carvedilolo rispetto ai portatori di almeno un allele Gly389 (differenza media 12 bpm, $P < 0,00001$). La minore efficacia della variante Gly389 è stata attribuita al minore accoppiamento del recettore alla *G α s* (D.A. Mason et al. *J Biol Chem* 274, 12670–12674 /1999). Circa il 50% dei pazienti nella coorte totale erano omozigoti per Arg/Arg, e il 20% aveva fibrillazione atriale. Di conseguenza, il gruppo interessato comprende il 10% della coorte totale con insufficienza cardiaca.

Il carvedilolo fino alla dose di $2 \times 12,5$ mg non ha ridotto la frequenza cardiaca nei pazienti omozigoti Arg389Arg. Interessante è stata la risposta immediata al carvedilolo che non differiva tra i genotipi. I risultati hanno evidenziato che il polimorfismo Arg389Gly ha un forte impatto sulla frequenza cardiaca per la risposta al carvedilolo, ma non per il bisoprololo, in pazienti con insufficienza cardiaca e fibrillazione atriale.

In conclusione, i dati dimostrano che la frequenza cardiaca è modulata dal polimorfismo β 1-adrenergico di Arg389Gly, riducendo gli effetti del carvedilolo nei pazienti con insufficienza cardiaca e fibrillazione atriale. Questo studio dimostra che il genotipo ADRB1 ha un impatto importante sugli effetti di riduzione della frequenza cardiaca per il carvedilolo, ma non ha alcun effetto per il bisoprololo. Inoltre è il primo trial prospettico che in modo specifico confronta l'impatto del genotipo sulla risposta al battito cardiaco in pazienti con insufficienza cardiaca di due diversi beta-bloccanti con diversi profili farmacologici.

In pazienti omozigoti per l'allele ADRB1 Arg389 con insufficienza cardiaca e fibrillazione atriale si ha un minor o nullo abbassamento della frequenza cardiaca, rispetto al basale, in risposta alle dosi comunemente usate di carvedilolo.

Parole chiave: bisoprololo, carvedilolo, scompenso cardiaco, battito cardiaco, recettori β 1-adrenergici

Riferimento bibliografico

[Rau T](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2012, 92(1):21-8.

La metanalisi del mese

ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI NEL GENE XRCC1 E L'ESITO CLINICO DEI PAZIENTI CON CARCINOMA POLMONARE DOPO TRATTAMENTO CON DERIVATI DEL PLATINO: UNA META-ANALISI

A cura del Dott. Salvatore Terrazzino

I derivati del platino, i cui membri principali sono il cisplatino, il carboplatino e l'oxaliplatino, sono i farmaci antitumorali più frequentemente utilizzati nel trattamento del carcinoma polmonare avanzato. L'azione citotossica di tali farmaci deriva dalla loro capacità di formare addotti covalenti con il DNA con conseguente arresto del ciclo cellulare e morte apoptotica della cellula. La proteina *X-ray repair cross-complementing group 1* (XRCC1) ha un ruolo chiave nel processo di riparazione del DNA per escissione di basi. Pertanto, i polimorfismi genici in grado di alterare l'attività o il grado d'espressione della proteina XRCC1 potrebbero

influenzare la risposta al trattamento con derivati del platino ed avere un impatto sulla sopravvivenza dei pazienti. Diversi studi clinici hanno esplorato il valore predittivo/prognostico delle varianti funzionali rs25487G>A (Arg399Gln) e rs1799782C>T (Arg194Trp) del gene XRCC1, tuttavia i risultati ottenuti sono discordanti. Gli Autori di questo studio hanno condotto una revisione sistematica con meta-analisi degli studi farmacogenetici per chiarire il ruolo dei polimorfismi XRCC1 quali fattori predittivi della risposta e della sopravvivenza, in pazienti con carcinoma polmonare dopo trattamento con derivati del platino.

La ricerca degli studi è stata effettuata mediante consultazione delle banche dati PubMed, EMBASE e CNKI (China National Knowledge Infrastructure), utilizzando la seguente combinazione di parole chiavi: "XRCC1 or X-ray repair cross complementing protein 1" and "lung cancer or lung neoplasms" and "SNP or polymorphism". I criteri d'inclusione sono stati i seguenti:

- 1) pazienti con carcinoma al polmone in fase avanzata o metastatica in trattamento con qualsiasi derivato del platino;
- 2) pazienti con carcinoma istologicamente o patologicamente confermato;
- 3) presentazione di dati riguardanti la risposta obiettiva oppure la sopravvivenza;
- 4) genotipizzazione per i polimorfismi XRCC1 Arg194Trp o Arg399Gln.

La ricerca ha individuato 22 studi, pubblicati tra il 2004 ed il 2011, che soddisfacevano i criteri di inclusione. Tra questi, 16 studi erano stati condotti in pazienti asiatici e 6 studi in pazienti caucasici. La dimensione del campione di ogni studio era compresa tra 53 e 257 pazienti (mediana 115). Dieci studi comprendenti 1145 pazienti avevano valutato l'associazione del polimorfismo XRCC1 rs1799782C>T (Arg194Trp) con la risposta obiettiva al trattamento con derivati del platino. I risultati dell'analisi aggregata evidenziano che i pazienti portatori dell'allele rs1799782T (194Trp) hanno una probabilità maggiore di risposta obiettiva rispetto ai pazienti con genotipo CC (CT vs CC: OR 2.54, 95%CI: 1.95-3.31; TT vs CC: OR 2.06, 95%CI 1.39-3.06; CT+TT vs CC, 2.42, 95%CI 1.88-3.10). L'analisi riguardante l'associazione del polimorfismo rs1799782C>T con la sopravvivenza non è stata eseguita per l'assenza di almeno tre studi disponibili.

Complessivamente 10 studi, comprendenti 1021 pazienti, avevano considerato l'associazione del polimorfismo rs25487G>A (Arg399Gln) con la risposta obiettiva. I risultati dell'analisi aggregata mostrano che i portatori dell'allele rs25487A (399Gln) presentano una minore probabilità di risposta rispetto ai portatori del genotipo rs25487GG (GA vs GG: 0.67, 95% CI 0.50-0.90; AA vs GG: OR 0.43, 95%CI 0.25-0.73; GA+AA vs GG: OR 0.63, 95%CI 0.49-0.83). Inoltre, dell'analisi aggregata di 8 studi, comprendenti 1288 pazienti, risulta che la variante rs25487A, in eterozigosi oppure in omozigosi, determina un rischio maggiore di mortalità (GA vs GG: HR 1.23, 95% CI 1.06-1.44; AA vs GG HR 2.03, 95% CI 1.20-3.45). Nel modello genetico dominante (GA+AA vs GG), che comprendeva unicamente 3 studi (n=428 pazienti), non è stata raggiunta una significatività statistica con la sopravvivenza (HR 1.18, 95% CI 0.93-1.50). Infine, dell'analisi aggregata di 4 studi che comprendevano 371 pazienti emerge che i portatori di 2 fattori genetici di rischio (genotipo rs1799782CC e presenza dell'allele rs25487A) presentano una minore probabilità di risposta obiettiva rispetto ai pazienti con zero fattori di rischio (OR 0.37, 95% CI 0.22-0.65). In tutte le analisi condotte non è stata rilevata una eterogeneità tra gli studi statisticamente significativa ed il test di Begg's ha escluso la presenza di bias di pubblicazione.

I risultati di questa meta-analisi supportano l'ipotesi di un ruolo predittivo dei polimorfismi XRCC1 rs25487G>A e rs1799782C>T nella risposta clinica al trattamento con derivati del platino, in pazienti con carcinoma polmonare avanzato. Occorre tuttavia usare cautela nell'interpretazione dei risultati, tenendo presente che la meta-analisi non ha preso in considerazione il tipo istologico della neoplasia polmonare e che gli studi inclusi differivano per disegno clinico e protocollo chemioterapico utilizzato. Inoltre, occorre tener conto che in alcuni studi i pazienti avevano ricevuto anche radioterapia, ed è noto che i polimorfismi del gene XRCC1 possono essere implicati nella risposta al trattamento radiante. Infine, la maggior parte degli studi inclusi comprendeva pazienti di origine asiatica e la mancanza di un numero sufficiente di studi non ha permesso di eseguire le analisi limitatamente ai pazienti di etnia caucasica o di valutare l'associazione con la sopravvivenza libera da progressione. Dalla presente meta-analisi emerge pertanto la necessità di condurre ulteriori studi prospettici sia per confermare il ruolo predittivo e prognostico dei polimorfismi XRCC1 nei pazienti di origine caucasica, sia per valutare l'associazione della combinazione dei genotipi XRCC1 con la sopravvivenza.

In conclusione, i pazienti con carcinoma polmonare avanzato che portano l'allele XRCC1 rs1799782T o il genotipo XRCC1 rs25487GG possono maggiormente beneficiare del trattamento con derivati del platino.

Parole chiave: carcinoma polmonare, derivati del platino, polimorfismi XRCC1, risposta obiettiva, sopravvivenza, meta-analisi

Riferimento bibliografico

Cui Z et al. *BMC Cancer* 2012; 12:71.

*La newsletter di SIF-Farmacogenetica va in ferie.
Auguri di buone vacanze a tutti i nostri lettori.
Arrivederci a settembre.*



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

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

SIF – FARMACOGENETICA

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

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

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

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 Valentina Boscaro (Università di Torino) Dott.ssa Sara De Iudicibus (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa) Dott.ssa Virginia Paribello (Università di Salerno) Dott.ssa Gloria Ravagnini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB) Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
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

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 ed altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-Farmacogenetica" senza precedente autorizzazione scritta della Società Italiana di Farmacologia.

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13.

Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96).

Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@sigr.it con oggetto: CANCELLA.
