



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

Sommario

- Farmacogenetica del fluticasone propionato: polimorfismo *CYP3A4*22* e controllo dell'asma in pediatria
- Impatto prognostico dei polimorfismi di VEGF- α in pazienti con tumore della mammella HER2 positivo
- Impatto dei polimorfismi nei geni SLC2A2, SLC2A5 e KHK sui fenotipi metabolici in individui ipertesi
- Polimorfismi in geni coinvolti nella biogenesi dei microRNA e *outcome* clinico in pazienti affetti da carcinoma della vescica non-muscolo-invasivo
- Variabilità nei geni per le UDP-glucuronosiltransferasi e il metabolismo della morfina: osservazioni da uno studio multicentrico "cross-sectional" in pazienti con cancro avanzato e dolore
- Delezione in omozigosi dei geni dell'enzima Glutazione S-Transferasi e ricadute in pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta: nuovo disegno sperimentale in un'ampia coorte Italiana (Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica)
- Il polimorfismo A1220G del gene codificante per il recettore dei glucocorticoidi predispone a severi effetti tossici collaterali durante la terapia della leucemia linfoblastica acuta in pazienti di età pediatrica
- Gli effetti di SNPs folato-relati sugli aspetti clinico-patologici, risposta a trattamento neo-adiuvante e sopravvivenza in pazienti affetti da cancro al seno pre- e post-menopausa
- Un polimorfismo del gene del recettore della serotonina 2A (HTR2A) predice la risposta al trattamento con venlafaxina XR nel disturbo d'ansia generalizzato

FARMACOGENETICA DEL FLUTICASONE PROPIONATO: POLIMORFISMO *CYP3A4*22* E CONTROLLO DELL'ASMA IN PEDIATRIA

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

I glucocorticoidi inalatori rappresentano il trattamento più efficace per il controllo dell'asma cronica, e sono i farmaci più prescritti per ridurre l'infiammazione delle vie aeree e l'iper-reattività bronchiale. Tuttavia, molti pazienti presentano uno scarso controllo della sintomatologia, e queste differenze possono essere spiegate, almeno in parte, da variazioni individuali della farmacocinetica o della farmacogenetica.

Il fluticasone propionato (FP), glucocorticoide sintetico trifluorinato, rappresenta uno dei glucocorticoidi inalatori più utilizzato per il trattamento dell'asma, probabilmente per l'elevata potenza immunosoppressiva.

L'attività biologica del FP termina per biotrasformazione per lo più ad opera del CYP3A4, 3A5 e 3A7. Il CYP3A5 è l'isoforma predominante a livello polmonare, mentre il CYP3A4 è presente a livello epatico ma non viene solitamente espresso a livello polmonare. Il CYP3A7 è l'isoforma predominante nel fegato fetale ed è rilevabile in campioni polmonari fino a 35 anni. Questi dati suggeriscono che il CYP3A5 e 3A7 potrebbero essere responsabili della biotrasformazione locale del FP e la variabilità interindividuale nella risposta all'FP potrebbe essere spiegata dalle variazioni in questi enzimi. Recentemente è stato trovato che un SNP a livello del *CYP3A5* (*CYP3A5*3*) riduce la biotrasformazione della lovastatina, prolungandone l'emivita e l'azione farmacologica. È stato ipotizzato che il *CYP3A5*3* possa essere associato con una ridotta attività catalitica a livello polmonare, aumentando la concentrazione locale di FP e migliorando il controllo dell'asma in bambini trattati. Inoltre, una ridotta attività dei CYP3A4 e CYP3A7 potrebbe essere associata ad un migliore controllo della patologia.

In questo studio, è stata valutata la relazione tra le variazioni alleliche nei geni coinvolti nel metabolismo del fluticasone propionato ed il controllo dell'asma in pazienti pediatrici.

Sono stati ottenuti campioni di saliva da bambini di età da 2 a 17 anni, con diagnosi confermata di asma. I soggetti sono stati reclutati presso il dipartimento di emergenza ed il reparto di pediatria di Salt Lake City nello Utah. Dati sulle condizioni mediche croniche, l'uso di farmaci concomitanti e disturbi principali sono stati raccolti prima dell'analisi del genotipo. Il controllo dell'asma in ogni soggetto è stato valutato usando un questionario basato su linee guida modificate dal *National Heart Lung and Blood Institute's Expert Panel Report 3*, che evita le variazioni di abilità del bambino nel collaborare ai test di funzionalità polmonare. Il questionario poneva 5 domande ai bambini o ai genitori, riguardanti il livello di controllo dell'asma, quantificato con un punteggio da 0 (ben controllato) fino a 15 (poco controllato).

Tutte le analisi del genotipo sono state condotte presso il laboratorio della *Division of Clinical Pharmacology and Medical Toxicology* del *Children's Mercy Hospitals and Clinics* di Kansas City. È stata eseguita l'analisi di 9 SNP del *CYP3A* sul cromosoma 7, comprendente i geni *CYP3A4*, *CYP3A5* e *CYP3A7*.

Sono stati raccolti campioni di saliva da 734 soggetti, per lo più maschi (61%) e bianchi non ispanici (53%), con età media di 8.8 ± 4.3 anni. Un totale di 413 bambini (il 56%) ha ricevuto una terapia giornaliera con glucocorticoidi inalatori, e nel 65% dei casi si trattava di terapia con FP. Non sono state riscontrate differenze in termini di età, sesso o etnia tra il gruppo in terapia con FP ed il resto della coorte, e nonostante una corrispondenza in termini di altezza (123.2 ± 24.1 cm vs 126.2 ± 28.4 cm; $P=0.50$), il peso medio è risultato essere più basso nel gruppo trattato con FP (31.7 ± 21.2 kg vs 37.3 ± 21.7 kg; $P=0.003$). Nei 268 bambini in terapia giornaliera con FP è stato riscontrato un punteggio medio di controllo dell'asma di 4 (range 0-15). L'FP è stato l'unico glucocorticoide inalatorio per cui la dimensione del campione è stata sufficiente per studiare la distribuzione delle varianti alleliche dei 9 SNP del gene *CYP3A*. La genotipizzazione è stata possibile per tutti i pazienti trattati con FP, e gli SNP del *CYP3A* sono stati confrontati con il punteggio di controllo dell'asma. Le varianti del *CYP3A5* sono state osservate nel 28% dei soggetti in terapia giornaliera con FP. Non è stata osservata associazione tra la presenza degli alleli *CYP3A5*3* ($P=0.50$), *CYP3A5*6*, ($P=0.90$) e *CYP3A5*1D* ($P=1$) ed il punteggio di controllo dell'asma. Nemmeno lo studio delle varianti alleliche *CYP3A7*2* ed rs2740565 localizzato a valle del *CYP3A7* (6 nucleotidi al 5' dell'esone 14 del *CYP3A7.1L*) ha mostrato un'associazione con il controllo dell'asma. Nessuna associazione è stata, infine, trovata nei soggetti con rs2246709 o rs4646437 del *CYP3A4*. Solamente la presenza dell'allele T del *CYP3A4*22* è stata associata ad una differenza significativa nel punteggio di controllo dell'asma, registrando in questi soggetti un valore più basso e quindi un miglioramento della patologia, in confronto ai soggetti con il genotipo C/C (C/T 2.9 ± 2.2 vs C/C 5.0 ± 3.7 ; $P=0.02$). I 20 soggetti con la variante allelica *CYP3A4*22* hanno raggiunto un punteggio di controllo dell'asma significativamente più basso rispetto ai 247 soggetti senza questo SNP (da 0 a 6 nei soggetti con l'allele T del *CYP3A4*22*, da 0 a 15 nei bambini con genotipo C/C). La presenza della variante T è stata associata con una riduzione di 2.1 punti nel punteggio medio. Non sono stati riscontrati soggetti omozigoti per l'allele T.

In questo studio sono state valutate le varianti del gene *CYP3A* che possono spiegare, almeno in parte, la variabilità nella risposta terapeutica al fluticasone propionato inalatorio in bambini asmatici. Nonostante la predominanza del *CYP3A5* e del *CYP3A7* nel tessuto polmonare umano, non è stata trovata un'associazione tra i vari polimorfismi di questi geni ed il controllo dell'asma. La presenza del *CYP3A4*22*, polimorfismo che determina una minore espressione dell'mRNA del CYP3A4 ed una ridotta attività enzimatica, è stata associata ad un migliore controllo dell'asma, pur essendo questo enzima un costituente minore del CYP3A a

livello polmonare. La ridotta attività enzimatica polmonare probabilmente prolunga la presenza dell'FP a livello delle vie aeree, aumentando l'efficacia del farmaco. La ridotta espressione epatica di CYP3A4 potrebbe, inoltre, risultare in una più elevata concentrazione sistemica del farmaco, ma questo effetto dipende dalla quantità di farmaco disponibile a livello sistemico dopo l'inalazione.

La ridotta attività enzimatica del *CYP3A4*22* è stata associata in altri studi a tossicità dose-correlata da ciclosporina, ad una ridotta richiesta di tacrolimus nei trapiantati di rene e ad una maggiore efficacia clinica delle statine alle dosi convenzionali.

In questo studio, molti soggetti nel gruppo *CYP3A4*22* hanno mostrato un buon controllo dell'asma, con un punteggio pari a 0. Questo risultato è in accordo con l'ipotesi che la riduzione dell'attività enzimatica del *CYP3A4*22* possa aumentare l'esposizione delle vie aeree all'FP. Sebbene evidente, le basi fisiologiche di questa associazione rimangono poco chiare. Una possibile spiegazione potrebbe essere un ridotto metabolismo di primo passaggio di una dose di FP inalatorio eventualmente assorbita per via enterale, causato da una ridotta attività del CYP3A4 epatico in presenza del *CYP3A4*22*. In alternativa, l'associazione potrebbe essere conseguenza del *linkage disequilibrium* (LD) con un altro SNP che regola l'espressione del CYP3A nei polmoni. La presenza del gene *CYP3A7* in stretta vicinanza al *CYP3A4* lo rende un probabile candidato. Comunque, è anche possibile un LD con il *CYP3A5*. Numerose evidenze suggeriscono che le varianti sia nelle regioni codificanti che in quelle non codificanti possono avere implicazioni funzionali. Le varianti possono alterare i livelli di mRNA e proteine, con cambiamenti del fenotipo. Difetti nella trascrizione, *splicing* alternativo del gene trascritto e alterazioni del processamento dell'RNA sono possibili meccanismi tramite i quali SNP intronici possono portare a proteine anomale mal funzionanti. Ulteriori studi sono necessari per quantificare l'impatto di questo SNP sull'attività del CYP3A4 e la biotrasformazione dell'FP. Anche senza questi studi addizionali, comunque, la correlazione tra *CYP3A4*22* ed un migliore controllo dell'asma con FP inalatorio potrebbe migliorare la scelta di farmaci per la terapia dei pazienti con patologia severa. Per i glucocorticoidi metabolizzati da altri CYP, meccanismi simili coinvolgenti i *CYP3A5* e *CYP3A7* potrebbero aumentarne l'efficacia. Per esempio, il beclometasone dipropionato è metabolizzato per lo più dal CYP3A5, i cui livelli di espressione sono ridotti in individui con *CYP3A5*3*, portando ad un incremento di efficacia. In questo studio, comunque, un numero insufficiente di soggetti sono stati trattati con altri glucocorticoidi inalatori, e non è stata possibile l'analisi della correlazione tra specifici SNP inattivanti ed il controllo dell'asma.

In conclusione, questo studio suggerisce che i pazienti con ridotta attività del CYP3A4 possono avere un migliore controllo dell'asma con FP inalatorio. Sono necessari studi clinici più ampi ed in altre popolazioni di pazienti asmatici per confermare questi dati.

Lo studio presenta diversi limiti. Non è stata misurata direttamente l'espressione o l'attività del CYP3A; comunque, studi precedenti avevano mostrato che l'SNP *CYP3A4*22* riduce il livello di mRNA e l'attività enzimatica in vivo. Inoltre, non è stata misurata la funzione polmonare e quindi non è stato possibile una misura oggettiva del controllo dell'asma, anche se i test di funzione polmonare potrebbero non riflettere accuratamente l'impatto dell'asma sulla salute globale dell'individuo e sul livello di funzione quotidiano. Inoltre, la spirometria standard richiede la collaborazione del paziente, spesso difficile ottenere in questa età.

Parole chiave: fluticasone propionato, asma, *CYP3A*

Riferimento bibliografico

[Stockmann C](#) et al. *J Pediatrics* 2013 Jan 3 [Epub ahead of print].

IMPATTO PROGNOSTICO DEI POLIMORFISMI DI VEGF-A IN PAZIENTI CON TUMORE DELLA MAMMELLA HER2 POSITIVO

A cura delle Dott.sse Marzia Del Re e Irene Del Re

Il fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF) è un potente fattore di crescita angiogenico; il legame del VEGF al suo recettore (VEGFR) induce permeabilità vascolare, proliferazione di cellule endoteliali, migrazione e sopravvivenza, per questo motivo il VEGF è essenziale nei processi di angiogenesi tumorale. Il

recettore per il fattore di crescita epidermico di tipo 2 (HER2) risulta iperespresso nel 15-30% dei tumori della mammella ed è associato a progressione e ad una prognosi negativa di malattia. Sono stati identificati vari polimorfismi (SNPs) nel gene del VEGF- α associati sia all'espressione del gene stesso che allo sviluppo del tumore della mammella, alla prognosi ed ai livelli di VEGF- α nel plasma. Data l'importanza rivestita dal VEGF, lo scopo di questo studio è quello di valutare il possibile impatto prognostico dei polimorfismi del VEGF- α nel tumore della mammella HER2 positivo.

Nello studio di Maae et al. (*Anticancer Res* 2012) sono state reclutate, tra il 2004 e il 2009, 116 pazienti affette da tumore della mammella HER2 positivo, in pre- ed in post-menopausa. In accordo con le linee guida del Danish Breast Cancer Group, le pazienti sono state trattate con una chemio-radioterapia adiuvante che prevedeva l'utilizzo di trastuzumab associato a ciclofosfamide, epirubicina e 5-fluorouracile oppure docetaxel. Il DNA delle pazienti per le analisi degli SNPs è stato estratto da sangue periferico e gli SNPs sono stati analizzati utilizzando un Real Time 7900 HT. I polimorfismi del VEGF- α selezionati in base alle evidenze in letteratura erano: -7C>T, -2578C>A, -1498T>C, -1154G>A, -634G>C, +936C>T.

A causa dell'età delle pazienti, del loro *performance status*, della volontà o dell'espressione di HER2 non nota, il 21.6% delle pazienti non ha ricevuto la chemioterapia adiuvante ed il 34.5% non è stato trattato con trastuzumab, mentre il 61.2% è stato trattato con il solo trastuzumab o in associazione a lapatinib. I polimorfismi -2578C>A e -1498T>C sono risultati in completo *linkage disequilibrium*. Le dimensioni medie del tumore erano maggiori in quelle pazienti portatrici dei genotipi -2578CC (rispetto a -2578CA e -2578AA) e -634CC (rispetto a -634CG e 634GG), mentre non sono state osservate associazione con gli altri SNPs -1154G>A, -7C>T o +963C>T e dimensioni del tumore. Nell'analisi univariata il genotipo -2578CC sembrerebbe conferire una prognosi peggiore rispetto ai genotipi -2578CA e -2578AA analizzati in combinazione ($p=0.028$), ed il genotipo -634CC risulta avere un'associazione significativa con una prognosi peggiore rispetto ai genotipi -634CG e -634GG, sia da soli che in combinazione ($p=0.006$ e $p=0.001$ rispettivamente). Anche per il genotipo -7CC è stata trovata una correlazione con prognosi infausta rispetto ai genotipi -7CT e -7TT ($p=0.015$). Non sono state osservate associazioni tra SNPs, grado del tumore e presenza di metastasi nei linfonodi ascellari ($p>0,174$).

I genotipi -2578CC e -634CC risultano significativamente associati alla dimensione del tumore ($p\leq 0,014$). Nell'analisi univariata i genotipi -2578CC, -634CC, -7CC risultano essere associati ad un tempo più breve di sopravvivenza in assenza di recidiva, mentre nell'analisi *cox* multivariata solo il -634CC risulta essere un fattore prognostico indipendente.

Nel tumore della mammella è necessario lo sviluppo di biomarcatori che permettano la selezione dei pazienti che possono maggiormente beneficiare di un trattamento, soprattutto visto che la terapia antitumorale è molto costosa e si associa molto spesso a gravi tossicità. Il lavoro di Maae *et al.* (*Anticancer Res* 2012) ha esaminato il potenziale ruolo prognostico nel tumore della mammella HER2 positivo di alcuni polimorfismi del VEGF presenti nella linea germinale, dando per certo che i genotipi siano gli stessi della linea somatica e valutandoli solo su 116 pazienti. Sarebbe importante, per la validazione di questo biomarcatore, riprodurre i risultati su una popolazione di numero maggiore e più omogenea dal punto di vista della stadiazione istopatologica della malattia.

Parole chiave: angiogenesi, VEGF, polimorfismi, biomarcatore, tumore della mammella HER2+

Riferimento bibliografico

[Maae E](#) et al. *Anticancer Res* 2012, 32(9):3619-27.

IMPATTO DEI POLIMORFISMI NEI GENI SLC2A2, SLC2A5 E KHK SUI FENOTIPI METABOLICI IN INDIVIDUI IPERTESI

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

Recenti studi hanno associato l'assunzione di elevati quantitativi di zucchero aggiunto, specialmente quello delle bibite, ad un incremento del rischio di sviluppare obesità, iperuricemia, ipertensione, sindrome

metabolica, diabete di tipo 2 e malattie cardiovascolari. Studi sperimentali hanno dimostrato che il consumo di fruttosio stimola la lipogenesi, aumenta i livelli di trigliceridi e apoB, aumenta la pressione arteriosa, diminuisce la sensibilità all'insulina e sopprime i livelli di lectina. Il fruttosio è inoltre l'unico zucchero naturale in grado di aumentare i livelli di acido urico, che sono stati dimostrati avere un ruolo significativo nel causare ipertensione e malattie cardiovascolari e, poiché è in grado di indurre svariati effetti metabolici avversi, viene suggerito il suo coinvolgimento nell'obesità oltre che nei già citati effetti cardiovascolari. Gli autori hanno ipotizzato che polimorfismi in geni coinvolti nel trasporto e metabolismo del fruttosio potrebbero influenzare il fenotipo metabolico di soggetti ipertesi. I trasportatori del fruttosio sono principalmente GLUT5 e GLUT2, codificati rispettivamente dai geni SLC2A5 e SLC2A2. È stato inoltre valutato l'enzima chetoesochinasi, responsabile dell'iniziale metabolismo del fruttosio e codificato dal gene KHK. Scopo del presente lavoro è quindi la valutazione del ruolo di polimorfismi in questi geni sulla variabilità dei fenotipi metabolici e sui livelli di acido urico.

La popolazione in studio comprende pazienti appartenenti allo Studio di Valutazione Farmacogenomica e Risposte Antiipertensive (PEAR) e Studi dell'Epidemiologia Genetica delle Risposte ad Antiipertensivi I e II (GERA). I tre studi indagano se i polimorfismi genetici sono in grado di predire la variabilità interindividuale nella pressione sanguigna e risposte metaboliche avverse a farmaci antiipertensivi. Dallo studio sono stati esclusi pazienti con diabete mellito, epatopatie e nefropatie. I pazienti dello studio PEAR assumevano come terapia antiipertensiva atenololo e idroclorotiazide, anche i pazienti dello studio GERA I assumevano idroclorotiazide, mentre in GERA II condesartan. Tutti e tre gli studi hanno presentato un periodo di *wash-out* di un mese per i pazienti per raggiungere una *baseline* prima dell'inizio della terapia antiipertensiva. La coorte di riferimento è rappresentata dai pazienti PEAR, mentre GER I e II sono stati utilizzati come coorte di confronto per i 3 geni di interesse. Dato il significativo legame sperimentale tra fruttosio ed acido urico, il fenotipo avverso primario è stato indicato dal livello di acido urico nel siero a digiuno (SUA), mentre per fenotipi secondari si considerano i livelli di trigliceridi (TG) ed il livello di lipoproteine ad alta densità (HDL). Le analisi sono state stratificate per razza. L'interazione tra sesso e polimorfismi è stata analizzata per i livelli di SUA e HDL, a causa della nota influenza del sesso su questi parametri metabolici.

237 pazienti euroamericani e 167 afroamericani appartenenti allo studio PEAR sono stati genotipizzati e le etnie coinvolte nello studio sono state quella afroamericana ed euroamericana; GERA I ha genotipizzato 194 afroamericani e 196 euroamericani, mentre GERA II 193 e 198, rispettivamente. I pazienti appartenenti ai tre studi hanno caratteristiche simili per pressione diastolica (DBP), pressione sistolica (SBP) e indice di massa corporea (BMI). I livelli di TG sono il parametro che presenta la maggiore variabilità.

SUA – Il polimorfismo SLC2A5 rs5438 è stato associato a variazione nei livelli di SUA e mostra un'associazione significativa con il sesso ($P = 0.0011$) portando quindi ad una analisi stratificata per sesso. Una variazione dalla *baseline* dei livelli di SUA è significativa solo per euroamericani maschi. 21 o 17.1 % uomini bianchi sono portatori dell'allele minore, la cui presenza è stata associata a livelli di acido urico maggiori di 1,1 mg/dL. I pazienti dello studio di confronto GERA I non hanno mostrato nessuna associazione significativa tra questo polimorfismo ed il sesso. Non è stato possibile effettuare l'analisi nei pazienti appartenenti a GERA II, in quanto i dati relativi ai livelli di acido urico non erano presenti.

HDL – Due polimorfismi di SLC2A2 sono stati associati a variazioni nei livelli di HDL significative tra gli euroamericani. Individui portatori di una copia dell'allele minore o per rs5398 o per rs8192675 hanno mostrato livelli di HDL più bassi di 4 mg/dL (A/A 51.0 mg/dL, A/G 47.0 mg/dL, G/G 41.5 mg/dL, $P = 0.0034$). Anche nei pazienti GERA, l'omozigosi per l'allele minore di rs8192675 mostrava una diminuzione dei livelli di HDL di circa 6 mg/dL (A/A 47.6 mg/dL, A/G 48.6 mg/dL, G/G 41.9 mg/dL, $P = 0.0315$).

TG – Dopo correzione per età, BMI e sesso, 4 polimorfismi (SLC2A5: rs11924032, rs5398 ed rs8192675; SLC2A5 rs12086036) sono stati associati a variazioni nei livelli di TG con $P \leq 0.005$. Le associazioni per tutti e 3 i polimorfismi di SLC2A2 sono state osservate solo in pazienti euroamericani. La presenza dell'allele minore per tutti e 3 i polimorfismi ha un effetto additivo sui livelli di TG. Per ogni copia presente si ha un incremento di 30 mg/dL. Nessuna di queste associazioni è stata però replicata nelle coorti dei pazienti GERA. Per il polimorfismo SLC2A5 rs12086036 l'associazione con i livelli di TG è stata trovata soltanto nella popolazione afroamericana. Due copie dell'allele minore incrementano i livelli di TG di circa 95 mg/dL. Non sono presenti dati relativi a questo polimorfismo nello studio GERA, quindi non è stato possibile confermare i risultati nella coorte di controllo.

L'associazione tra il polimorfismo SLC2A2 rs8192675 ed i livelli di HDL, emersa nella coorte PEAR e confermata nella coorte di confronto GERA, suggeriscono che tale polimorfismo potrebbe avere un ruolo chiave nell'influenzare i livelli di HDL, quindi nel rischio metabolico di malattie cardiovascolari.

Studi più approfonditi sono necessari per confermare in una popolazione più ampia l'impatto dei polimorfismi nei geni SLC2A2, SLC2A5 e KHK nello sviluppo di sindromi metaboliche avverse correlate a disturbi cardiovascolari. Polimorfismi in questi geni possono quindi rivelarsi come geni chiave candidati per studi futuri, data anche la recente evidenza di un coinvolgimento di SLC2A2 nello sviluppo di diabete mellito di tipo 2.

Parole chiave: livelli di HDL, polimorfismi, SLC2A2, SLC2A5, KHK, effetti metabolici avversi, disturbi cardiovascolari

Riferimento bibliografico

[Le MT](#) et al. *PLoS One* 2013, 8(1):e52062.

POLIMORFISMI IN GENI COINVOLTI NELLA BIOGENESI DEI MICRORNA E OUTCOME CLINICO IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA DELLA VESCICA NON-MUSCOLO-INVASIVO

A cura della Dott.ssa Sabrina Angelini

La prognosi del carcinoma della vescica non-muscolo-invasivo (NMIBC) è piuttosto variabile, come dimostra il tasso di recidiva nel 30-80% dei pazienti e la progressione entro 5 anni nel 45% dei casi. L'impianto delle cellule tumorali subito dopo la resezione transuretrale (TUR, *transurethral resection*, il trattamento standard per NMIBC) è responsabile di molte recidive precoci. L'immunoterapia intravesicale con *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) rappresenta il miglior trattamento adiuvante dopo TUR nel prevenire recidive e nel ritardare la progressione. La risposta completa a questo regime terapeutico (TUR più BCG) avviene nel 36-71% dei pazienti affetti da NMIBC tuttavia, circa un terzo dei pazienti *responder* successivamente sviluppa recidiva o progredisce verso una malattia muscolo-invasiva. Quest'ultimo aspetto fa sì che sia importante identificare nuovi ed efficaci biomarcatori di risposta alla terapia con BCG e dell'*outcome* del NMIBC. Gli autori hanno ipotizzato che variazioni genetiche nei geni coinvolti nella biogenesi dei miRNA possono essere associate alla prognosi del NMIBC.

In virtù di questo sono stati genotipizzati 76 polimorfismi in 8 geni (Illumina Infinium II iSelect) coinvolti nella biogenesi dei miRNA, in 421 pazienti (bianchi, non-ispatici) affetti da NMIBC di nuova diagnosi. Due polimorfismi, *DDX20* rs197412 e *RNASEN* rs12186785, sono risultati associati, anche dopo correzione multipla, al rischio di recidiva nel sottogruppo dei pazienti trattati con solo TUR (HR = 0.58, 95% CI = 0.40-0.82, $P = 0.002$ e HR = 2.15, 95% CI = 1.25-3.68, $P = 0.005$ rispettivamente). Di questi 421 pazienti 85 sono andati in progressione; due polimorfismi nel gene *DGCR8* sono risultati associati, anche dopo correzione multipla, ad un aumentato rischio di progressione. In particolare l'omozigosi per la variante *DGCR8* rs2073778 è associato ad un rischio 4 volte maggiore di progressione, rispetto al genotipo wild-type (HR = 4.00, 95% CI = 1.53-10.46, $P = 0.005$), così come il polimorfismo *DGCR8* rs720012 è associato ad un rischio quasi 4 volte maggiore di progressione (HR = 3.97, 95% CI = 1.52-10.36, $P = 0.005$).

Per convalidare le associazioni identificate con il rischio di recidiva nel gruppo in trattamento con solo TUR (*DDX20* rs197412 e *RNASEN* rs12186785) è stato analizzato un secondo gruppo di 586 pazienti. In questo gruppo solamente il polimorfismo *DDX20* rs197412 è risultato associato, con una significatività borderline (HR = 0.71, 95% CI = 0.47-1.06, $P = 0.09$) al rischio di recidiva. Tale associazione si conferma quando l'analisi viene effettuata sulle due popolazioni raggruppate (HR = 0.62, 95% CI = 0.48-0.81, $P = 0.00077$).

Sono anche state condotte analisi di associazione tra aplotipi e rischio di recidiva dopo TUR e rischio di progressione. Due aplotipi che coinvolgono il gene *DDX20* ed uno nel gene *RNASEN* sono risultati associati ad un alterato rischio di recidiva. In particolare gli aplotipi VWV e VVW nel gene *DDX20* (rs197412, rs197383, rs563002 – V = variante allelica, W = wild-type) sono associati a una riduzione del rischio di recidiva rispetto all'aplotipo WWW (HR = 0.67 IC 95% = 0.45 – 1.00 $P = 0.049$ e HR = 0.56 IC 95% = 0.32

– 0.98 $P = 0.04$ rispettivamente). L'aplotipo VW nel gene *RNASEN* (rs12186785 e rs 639174) è associato ad un aumentato rischio di recidiva rispetto all'aplotipo WW (HR = 1.87; 95% CI = 1.87-3.03, $P = 0.012$).

In conclusione questo studio ha evidenziato che alcuni polimorfismi in geni coinvolti nella biogenesi dei miRNA rappresentano potenziali marcatori predittivi dell'esito del trattamento del NMIBC.

I meccanismi biologici attraverso i quali queste varianti geniche influenzano l'andamento clinico dei tumori alla vescica sono attualmente sconosciuti. Questo rende necessario ulteriori studi, più ampi ed indipendenti del valore prognostico e predittivo di queste varianti, nonché la loro caratterizzazione funzionale.

Parole chiave: carcinoma della vescica non-muscolo-invasivo; resezione transuretrale; immunoterapia intravesicale con *Bacillus Calmette-Guérin*; *DDX20*; *RNASEN*; *DGCR8*

Riferimento bibliografico

[Ke HL](#) et al. *Carcinogenesis* 2013 Feb 6 [Epub ahead of print].

VARIABILITÀ NEI GENI PER LE UDP-GLUCURONOSILTRANSFERASI E IL METABOLISMO DELLA MORFINA: OSSERVAZIONI DA UNO STUDIO MULTICENTRICO *CROSS-SECTIONAL* IN PAZIENTI CON CANCRO AVANZATO E DOLORE

A cura del Dott. Gabriele Stocco

La morfina è uno degli analgesici più utilizzati per il trattamento del dolore acuto in pazienti con cancro, ma la dose necessaria per ottenere un sollievo soddisfacente dal dolore varia considerevolmente fra individui. Le concentrazioni seriche di morfina e dei suoi metaboliti morfina-6-glucoronide (M6G) e morfina-3-glucoronide (M3G) presentano una considerevole variabilità nei pazienti in terapia cronica con morfina. Questa variabilità potrebbe influenzare gli effetti clinici della morfina in quanto M6G presenta un'azione analgesica nota, mentre M3G è privo di attività analgesica e potrebbe avere azione iperalgesica. La variabilità interindividuale nella farmacocinetica della morfina quindi potrebbe contribuire a differenza interindividuali nel sollievo dal dolore e negli effetti avversi indotti dalla somministrazione di morfina.

Diversi fattori demografici e fisiopatologici possono influenzare la farmacocinetica della morfina, compresi la via di somministrazione, la funzionalità renale e l'età. La morfina viene metabolizzata principalmente attraverso la glucuronazione, catalizzata da enzimi della famiglia delle UDP-glucuronosiltransferasi (UGT) ed i rapporti fra la concentrazione plasmatica del metabolita e quello del farmaco libero (rapporto metabolico) sono utilizzati spesso per valutare i processi metabolici a carico della morfina. L'organo principalmente responsabile della glucuronazione è il fegato e, in misura minore, l'intestino. La morfina somministrata per via orale è soggetta dunque ad un intenso metabolismo di primo passaggio ed i rapporti metabolici sono circa tre volte più alti dopo somministrazione orale, in confronto a somministrazione parenterale.

UGT2B7 è ritenuto l'isoenzima della famiglia UGT maggiormente coinvolto nel metabolismo della morfina e sebbene siano già stati valutati effetti di suoi polimorfismi genetici sulla glucuronazione della morfina, i risultati riportati sono finora inconsistenti. Due studi condotti su pazienti con cancro hanno riportato che i rapporti metabolici della morfina non sono influenzati da polimorfismi nel gene UGT2B7. Tuttavia, in uno studio in pazienti in cui la morfina era somministrata per il trattamento del dolore non-oncologico, due polimorfismi di UGT2B7, c.-161T>C e c.-802T>C, che sono in *linkage disequilibrium* completo fra loro, sono stati associati con una riduzione dei rapporti metabolici della morfina. È stato dimostrato che polimorfismi del promotore influenzano la trascrizione di UGT2B7 in vitro e i rapporti metabolici in pazienti con anemia falciforme trattati con morfina. Sebbene diverse isoforme di UGT possano contribuire nella formazione di M3G, sono poche quelle che catalizzano la formazione di M6G. È stato riportato che l'enzima UGT1A1 ricombinante catalizza la formazione sia di M6G che M3G in vitro. Il microsatellite (polimorfismo di ripetizione) TA nel promotore di UGT1A1, c.-53(TA)₆>(TA)_{5/7} riduce l'attività trascrizionale del gene e, assieme al polimorfismo c.-3275T>G, è stato associato alla sindrome di Gilbert ed a un'aumentata incidenza di tossicità durante il trattamento con irinotecano. Tuttavia, studi precedenti non hanno dimostrato un ruolo di questo microsatellite sui rapporti metabolici della morfina impiegata per il

trattamento del dolore in pazienti con cancro. Anche UGT1A8 catalizza la glucuronazione della morfina a M6G e l'mRNA di UGT1A8 è stato identificato in culture primarie di epatociti umani, tuttavia non ci sono studi sugli effetti di UGT1A8 sulla glucuronazione della morfina.

L'obiettivo di questo lavoro è determinare il contributo della variabilità nota nei geni UGT2B7, UGT1A8 e UGT1A1, combinato a quello di fattori clinici, alla variazione nei rapporti metabolici della morfina in pazienti con dolore da cancro allo stadio avanzato.

Tutti i pazienti arruolati erano inclusi nel protocollo di studio europeo multicentrico sulla farmacogenetica degli oppioidi (*European Pharmacogenetic Opioid Study*, EPOS). I criteri di inclusione consistevano in: età di 18 anni o maggiore, malattia oncologica verificata, trattamento con oppioidi per dolore corrispondente ad almeno il grado III della scala WHO per almeno 3 giorni. Fra i 2294 pazienti inclusi nel protocollo EPOS, 865 hanno utilizzato la morfina come oppioide principale e sono stati inclusi in questo studio; di questi, 759 sono stati considerati nell'analisi statistica (i restanti sono stati esclusi in quanto di etnia non bianca o per inadeguatezza dei dati raccolti) e fra questi 635 hanno ricevuto terapia cronica con morfina per via orale, mentre 124 per via parenterale. L'età media è risultata pari a circa 62 anni e la diagnosi ha compreso un gruppo eterogeneo di patologie oncologiche, fra cui le più frequenti sono risultate il cancro del polmone, quello gastrointestinale e della mammella. Quarantuno polimorfismi nei geni UGT2B7, UGT1A1 e UGT1A8 sono stati analizzati, selezionati sulla base di effetti riportati in letteratura sull'attività della proteina o sulla trascrizione oppure in quanto tag SNP per altre varianti dei geni rispettivi. I polimorfismi sono stati genotipizzati in gran parte con la metodica Sequenom (MassARRAY Iplex Gold Assay). Fra i polimorfismi genotipizzati, 18 non hanno superato i controlli di qualità; dei 23 polimorfismi rimanenti, 11 sono risultati altamente in *linkage disequilibrium* (correlazione fra i risultati della genotipizzazione > 95%) con altri polimorfismi caratterizzati e sono stati quindi esclusi. Sono dunque rimasti 12 SNPs, 10 suddivisi fra tre distinti gruppi di aplotipi e due come singoli SNPs. Due gruppi di aplotipi (*haplotype blocks* 1 e 2) sono risultati localizzati nei geni UGT1A1 ed UGT1A8 (che condividono il promotore) ed uno (*haplotype block* 3) nel gene UGT2B7, comprendendo rispettivamente 4, 3 e 6 aplotipi. Due aplotipi in UGT1A1/UGT1A8 (1a ed 1d) sono risultati associati ad una riduzione dei rapporti metabolici M6G/morfina e M3G/morfina, dopo somministrazione del farmaco per via orale (p-value corretto per *false discovery rate* rispettivamente 0,056 e 0,077), mentre nessun effetto è stato identificato per varianti/aplotipi del gene UGT2B7. Circa il 10% dei pazienti è risultato omozigote per l'aplotipo 1a, mentre il 29% è risultato omozigote per l'aplotipo 1d. L'eterozigosi per uno di questi aplotipi, in confronto all'omozigosi, ha determinato un aumento dei rapporti metabolici di circa il 22%, aumento che passava al 50% se questi aplotipi erano assenti. Da notare che *Haplotype block 1* è composto di polimorfismi situati subito prima dell'esone 1 di UGT1A1 e all'estremo 3'- dell'introne 1 di UGT1A8.

Delle variabili cliniche (età, genere, BMI, funzionalità renale, stato funzionale misurato con la scala Kamofsky e presenza di metastasi epatiche), la funzionalità renale è risultata dare il contributo maggiore alla variabilità nei rapporti metabolici della morfina. Il trattamento concomitante con paracetamolo è risultato associato a rapporti metabolici aumentati dopo somministrazione orale di morfina. Il meccanismo molecolare non è del tutto chiaro, tuttavia è possibile che il paracetamolo induca gli enzimi UGT, modificando la farmacocinetica della morfina, determinando una conversione più efficiente a M6G e M3G e conseguentemente rapporti metabolici più alti.

Polimorfismi dei geni UGT assieme a fattori clinici influenzano il metabolismo della morfina in pazienti con cancro allo stadio avanzato e trattati con morfina per via orale. Al momento non sono chiare le implicazioni di queste osservazioni sulla risposta clinica al trattamento.

Parole chiave: morfina-3-glucoronide, morfina-6-glucoronide, morfina, polimorfismi, UDP-glucuronosil transferasi

Riferimento bibliografico

[Fladvad T](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2013, 23(3):117-26.

DELEZIONE IN OMOZIGOSI DEI GENI DELL'ENZIMA GLUTATIONE S-TRANSFERASI E RICADUTE IN PAZIENTI PEDIATRICI CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA: NUOVO DISEGNO SPERIMENTALE IN UN'AMPIA COORTE ITALIANA (ASSOCIAZIONE ITALIANA EMATOLOGIA ONCOLOGIA PEDIATRICA)

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Oggi, più dell'80% dei pazienti pediatrici affetti da leucemia linfoblastica acuta (ALL) ha la possibilità di sopravvivere al cancro a lungo termine e diventare adulto sano a tutti gli effetti. Nonostante i continui progressi degli ultimi cinquanta anni dove la poli-chemioterapia adattata al rischio ha permesso l'aumento dei tassi di sopravvivenza, le ricadute rimangono la causa principale di fallimento terapeutico. La scelta della dose ottimale della terapia in prima linea con regimi più aggressivi in pazienti con patologia poco responsiva e con aggressività ridotta e minore tossicità in pazienti responsivi è considerata il miglior approccio per migliorare la riuscita terapeutica dei pazienti.

L'ALL è una patologia molto eterogenea con numerosi sottotipi caratterizzati da alterazioni genetiche nelle cellule leucemiche dei pazienti, i cui valori prognostici sono generalmente noti (traslocazioni cromosomiche sfavorevoli t[9;22] e t[4;11]) e considerati per la stratificazione del rischio e del trattamento. Al contrario, i polimorfismi dei geni che influenzano la cinetica e il meccanismo d'azione dei farmaci non sono generalmente tenuti in considerazione nei protocolli clinici, con l'eccezione delle varianti delle tiopurine s-metiltransferasi utilizzate per modulare il dosaggio delle 6-mercaptopurine. Queste caratteristiche genetiche potrebbero inficiare l'efficacia del trattamento e dovrebbero quindi essere considerate come candidate per una stratificazione ottimale del rischio e per la personalizzazione della terapia. Gli enzimi metabolizzatori glutatione s-transferasi (GSTs) sono in grado di detossificare un ampio range di farmaci, inclusi quelli normalmente impiegati nei regimi chemioterapici. È noto che elevati livelli di espressione delle proteine GST, con alti livelli di glutatione, sono stati associati allo sviluppo di farmaco-resistenza in varie linee e tessuti tumorali, come conseguenza dell'aumentato metabolismo e ridotta biodisponibilità degli agenti antitumorali.

Circa il 42-60% e il 13-26% della popolazione Caucasica presenta una delezione in omozigosi (genotipo nullo) rispettivamente di GST-M1 e GST-T1. Le delezioni in GST-M1 e GST-T1 sono state in precedenza proposte come variabili di suscettibilità alla patologia e di *outcome* clinico nei bambini con ALL, sebbene i dati riportati in numerosi studi abbiano risultati controversi ed in conflitto tra loro.

La ricerca farmacogenomica si scontra spesso con la necessità di studiare ampie coorti per raggiungere un adeguato potere statistico e la difficoltà di reperire un adeguato numero di campioni e le relative risorse economiche per svolgere le analisi genetiche.

A questo scopo nello studio pubblicato da Franca R, Rebora P, Basso G et al. su *Pharmacogenomics* è stato proposto un disegno di studio a due fasi che permette di analizzare le informazioni provenienti da un'ampia coorte (fase 1) e le informazioni provenienti soltanto da un gruppo selezionato (fase 2) dalla stessa coorte allo stesso tempo. Questo studio farmacogenetico a due fasi aveva come scopo principale quello di analizzare l'influenza delle delezioni di GST-M1 e GST-T1 sull'*outcome* clinico in un'ampia coorte di bambini con ALL appartenenti al protocollo clinico AIEOP-BFM ALL 2000.

Sono stati reclutati 1999 pazienti consecutivi di nuova diagnosi con ALL cromosoma Philadelphia negativo nei centri Italiani AIEOP tra il settembre 2000 e luglio 2006. I pazienti sono stati trattati in accordo con il protocollo clinico AIEOP-BFM ALL 2000 (ClinicalTrials.gov n. NCT00613457). Tenendo conto dei livelli di malattia minima residua (MRD), della risposta agli steroidi nella prima settimana (con prednisone), della resistenza alla terapia di induzione e della presenza di traslocazioni cromosomiche t[9;22] e t[4;11], i pazienti sono stati divisi in gruppi di rischio standard (515; 25.76%), medio (1173; 58.68%) ed alto (311; 15.56%), e trattati secondo criteri aggiustati e regimi polichemioterapici. Tra i pazienti in studio, 306 hanno sviluppato ricadute (15.3%), di cui 28 nel gruppo di rischio standard, 186 nel gruppo medio e 92 nel gruppo ad alto rischio.

Il disegno dello studio ha previsto un frazionamento della popolazione per permettere l'analisi di genotipizzazione: il gruppo dei pazienti con ricadute è stato analizzato totalmente (100%), mentre sono stati selezionati in modo casuale il 13% del gruppo di rischio standard, il 26% del gruppo medio e il 64% del gruppo ad alto rischio, con una sottopopolazione totale di 460 pazienti in remissione. Questo frazionamento della popolazione è stato stabilito sulla base di uno studio pilota di 164 pazienti genotipati e varia in

proporzione alla variabilità genetica riportata all'interno di ogni gruppo di rischio, massimizzando in questo modo la precisione della stima dell'effetto del genotipo sull'*outcome*. A causa di quest'ottimizzazione, la sotto-coorte non è rappresentativa dell'intera coorte e per questo il metodo in seguito adottato per l'analisi statistica introduce dei pesi in modo da recuperare tale rappresentatività. In pratica, ogni individuo genotipato è considerato come rappresentante degli individui non genotipati della stessa stratificazione di rischio. Questo è effettuato bilanciando con pesi uguali all'inverso della probabilità di ogni paziente di essere campionato. Il DNA di soli 251 pazienti in ricaduta e 363 in remissione è stato estratto dai blasti immaturi da aspirato midollare alla diagnosi e la genotipizzazione di GST-T1 e GST-M1 è stata eseguita mediante multiplex PCR.

L'analisi del rischio effettuata tramite modello di COX ha evidenziato come nel gruppo di rischio standard, il genotipo nullo di GST-T1 ha un impatto significativo sulle ricadute con un incremento del rischio maggiore di 4 volte se comparato con i pazienti non mutati per questo gene ($p=0.045$; HR: 4.62; 95% CI: 1.04 – 20.6). Un ruolo simile per GST-T1 è stato osservato anche nel gruppo dei pazienti responsivi al prednisone ($p=0.041$; HR: 1.62; 95% CI: 1.02 – 2.58), mentre un ruolo protettivo della delezione di GST-M1 è stato osservato nel gruppo dei pazienti poco responsivi al prednisone ($p=0.026$; HR: 0.45; 95% CI: 0.23 – 0.91). Gli altri studi farmacogenetici con lo scopo di valutare il ruolo delle delezioni di GST-M1 e GST-T1 con l'*outcome* clinico hanno tutti evidenziato risultati contrastanti, dovuti alla scarsa numerosità, all'insufficiente potere statistico, alla presenza di fenotipi complessi e alla differenza nelle procedure terapeutiche. All'interno dello studio AIEOP-BFM ALL 2000, 306 bambini hanno avuto ricadute. Sebbene il tasso di ricadute aumenti con il crescere del rischio, 214 ricadute sono state registrate nei pazienti trattati con protocolli a bassa intensità (28 nel gruppo standard e 186 nel gruppo di rischio medio), indicando che l'attuale stratificazione del rischio, basata principalmente sulla MRD, può essere ancora migliorata. I risultati di questo studio suggeriscono che l'effetto avverso del genotipo nullo di GST-T1 potrebbe avere un interesse predittivo principalmente in pazienti con fattori prognostici migliori. Un recente report di PharmGKB sui genotipi di GST-T1 evidenzia la correlazione tra il genotipo nullo e la tossicità legata al trattamento antineoplastico. Questa tossicità può causare l'interruzione o la discontinuazione della chemioterapia, aumentando il rischio di ricaduta e portando a una scarsa prognosi.

Esperimenti in linee cellulari derivate da ALL hanno mostrato che una sovra-espressione di GST-M1 inibisce l'apoptosi indotta da desametasone portando a una down-regolazione del *pathway* di p38-MAPK con conseguente attivazione della proteina pro-apoptotica Bim. Gli autori dello studio pubblicato su *Pharmacogenomics* ipotizzano che nei soggetti portatori del gene nullo di GST-M1 questa regolazione negativa non avvenga, con la conseguenza che i blasti di questi pazienti sono maggiormente predisposti a un ambiente apoptotico. Il genotipo nullo diviene quindi condizione favorevole soprattutto per quei pazienti con fattori clinici sfavorevoli, come appunto nel caso della scarsa risposta ai glucocorticoidi.

In conclusione, i risultati di questo studio suggeriscono che i genotipi di GST-M1 e GST-T1 possono essere rilevanti nella valutazione del rischio di ricaduta in specifici sottogruppi di pazienti. Se i risultati di questo studio dovessero essere confermati, i polimorfismi di questi due geni potrebbero essere considerati come fattori prognostici utili per la stratificazione del rischio adottati per il trial AIEOP-BFM ALL 2000. Questi dati sono da considerarsi preliminari e richiedono ulteriore conferma in coorti di validazione comparabili. Inoltre, sarebbe di estremo interesse prendere in considerazione il contributo di altri determinanti farmacogenetici.

I genotipi nulli di GST-M1 e GST-T1 possono essere rilevanti nella valutazione del rischio di ricaduta in specifici sottogruppi di pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta Ph-.

Parole chiave: GST-M1, GST-T1, prednisone, ricaduta, ALL.

Riferimento bibliografico

[Franca R](#) et al. *Pharmacogenomics* 2012, 13(16):1905-16.

IL POLIMORFISMO A1220G DEL GENE CODIFICANTE PER IL RECETTORE DEI GLUCOCORTICOIDI PREDISPONE A SEVERI EFFETTI TOSSICI COLLATERALI DURANTE LA TERAPIA DELLA LEUCEMIA LINFOBLASTICA ACUTA IN PAZIENTI DI ETÀ PEDIATRICA

A cura della Dott.ssa Sarah Carginin

La leucemia linfoblastica acuta (LLA) è una patologia linfoproliferativa, originata da un primitivo disordine dell'emopoiesi, che si manifesta con una proliferazione neoplastica della linea linfoide. È la forma più frequente di neoplasia in età pediatrica, costituendo più di un terzo di tutti i tumori dell'infanzia e circa il 75% dei casi di leucemia acuta. I glucocorticoidi sono farmaci essenziali nella fase iniziale del trattamento della LLA, in quanto inducono apoptosi dei blasti. Negli ultimi anni, con la progressiva intensificazione della terapia ed il graduale miglioramento dei risultati, si è dimostrato che la risposta al trattamento con glucocorticoidi è di fatto il fattore prognostico indipendente più importante. Tuttavia, le reazioni avverse dovute alla somministrazione di glucocorticoidi risultano essere severe e frequenti. Dalla letteratura è noto il ruolo svolto da polimorfismi del gene codificante per il recettore dei glucocorticoidi (GR) nell'influenzare l'intensità della sensibilità ai glucocorticoidi, sia aumentandola (A1220G) che diminuendola (aplotipo TthIII1/ER22/23EK/9beta). Obiettivo dello studio è stato quello di valutare il ruolo del polimorfismo A1220G nel gene GR come fattore predittivo della risposta clinica e della sopravvivenza in pazienti di età pediatrica in terapia per leucemia linfoblastica acuta.

Lo studio è stato condotto retrospettivamente su una coorte di 346 pazienti di età pediatrica (1-18 anni, di cui 196 di sesso maschile), affetti da LLA e sottoposti a trattamento chemioterapico tra il 1989 ed il 2004. Ogni paziente arruolato ha ricevuto glucocorticoidi nella fase iniziale della terapia (60 mg/m² di prednisone oppure 10 mg/m² di desametasone); la dose massima di prednisone è stata somministrata entro il ventottesimo giorno e ridotta poi gradualmente nei nove giorni successivi. L'analisi degli effetti avversi da glucocorticoidi si è basata sulla valutazione dei seguenti parametri: epatotossicità, alterazioni del metabolismo glucidico, encefalopatia/psicosi, ipertensione ed analisi dei parametri ossei ed oftalmici. I fattori prognostici considerati sono stati sesso, età, risposta alla terapia con prednisone al giorno 8 di trattamento e tasso di sopravvivenza libera da malattia a 5 anni. I pazienti sono stati stratificati per sesso e per età (3 gruppi: <2 anni, 2-11 anni e 12-18 anni). Il DNA è stato estratto da sangue periferico e genotipizzato per il polimorfismo A1220G tramite PCR allele-specifica.

Dei 346 pazienti reclutati nello studio, 32 sono eterozigoti per A1220G e nessuno omozigote 1220GG. L'epatotossicità è significativamente più frequente nei portatori della variante 1220G (10/32) rispetto ai non-portatori (35/314) [31.3% vs 11.2%; OR=3.6, 95%CI 1.58-8.27; P=0.004]. Anche le alterazioni del metabolismo glucidico risultano essere più frequenti nei pazienti eterozigoti (6/32) che nei soggetti *wild-type* (8/314) [18.8% vs. 3.7 %, OR = 8.8, 95 %CI 2.84-2.73; P= 0.001]. Non viene, invece, individuata una differenza significativa tra portatori e non-portatori dell'allele 1220G nella frequenza di ipertensione [9/32 *carriers* vs 57/314 *non-carriers*, P=0.171] e nell'incidenza di encefalopatie/psicosi [2/32 *carriers* vs 27/314 *non-carriers*, P=1.0]. Inoltre, i pazienti eterozigoti sono più a rischio di soffrire di almeno una tossicità rispetto ai *wild-type* [65.7% vs. 34.1 %, P=0.001] ed hanno una probabilità maggiore rispetto ai non-portatori dell'allele 1220G di presentare una combinazione di due tossicità [21.7% vs. 6.7 %, P= 0.009] o di tre o più tossicità [9.4% vs 1.3%, P=0.02]. I pazienti con genotipo eterozigote presentano un tasso di sopravvivenza libera da malattia a 5 anni maggiore rispetto ai pazienti con genotipo *wild-type* [eterozigoti (93.1%) vs *wild-type* (71.9%), P=0.012]. Il tasso di risposta al trattamento con prednisone è del 100% nei pazienti eterozigoti e del 91.7% nei soggetti *wild-type*.

Studi precedenti hanno evidenziato che i portatori della variante A1220G del recettore dei glucocorticoidi, rispetto ai soggetti *wild-type*, hanno un maggior beneficio dal trattamento con alte dosi di glucocorticoidi, in termini di efficacia terapeutica. Questo studio evidenzia, per la prima volta, che la variante A1220G influenza sia la sopravvivenza che il rischio di comparsa di reazioni avverse, principalmente epatotossicità ed alterazione del metabolismo glucidico. Per tale ragione, gli Autori suggeriscono che i pazienti portatori della variante A1220G necessitino di un attento monitoraggio della funzionalità epatica e del grado di controllo del metabolismo glucidico. A fronte delle attuali evidenze che suggeriscono un ruolo del polimorfismo A1220G come fattore sia predittivo che prognostico, ampi studi prospettici sono necessari per confermare la sua rilevanza clinica.

In conclusione, il polimorfismo A1220G determina un aumento dell'efficacia terapeutica al trattamento con glucocorticoidi e della sopravvivenza nei pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta, ma predispone ad un rischio maggiore di epatotossicità e di alterazione del metabolismo glucidico.

Parole chiave: leucemia linfoblastica acuta, glucocorticoidi, A1220G, tossicità.

Riferimento bibliografico:

[Eipel OT](#) et al. *Int J Hematol* 2013 Jan 26 [Epub ahead of print].

GLI EFFETTI DI SNPS FOLATO-RELATI SUGLI ASPETTI CLINICO-PATOLOGICI, RISPOSTA A TRATTAMENTO NEO-ADIUVANTE E SOPRAVVIVENZA IN PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO AL SENO PRE- E POST-MENOPAUSA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al seno rimane al giorno d'oggi, una delle principali cause di decesso tra le morti cancro-relate; l'ostacolo principale per la cura di questa malattia è sicuramente la grande variabilità nella risposta al trattamento che si registra anche tra donne dalle stesse caratteristiche biologiche e grado tumorale.

L'identificazione di ulteriori markers molecolari associati con i tipi di tumore con comportamento più aggressivo e con una prognosi sfavorevole, potrebbe quindi rappresentare uno strumento per la scelta del trattamento e per implementare la sopravvivenza dei pazienti.

Il presente studio è focalizzato su polimorfismi a singolo nucleotide nei geni folato-relati e coinvolti nella disponibilità di gruppi metile e nella sintesi e riparazione del DNA; in particolare, MTHFR rs1801133 (677C>T), rs1801131 (1298A>C), MTR rs1805087 (2756A>G), MTRR rs1801394 (66A>G), DHFR rs70991108 (del19); MTHFD1 rs2236225 (1958G>A), TS rs34743033 (28-bp repeat), rs16430 (1494del6), RFC1 rs1051266 (80G>A), DNMT3B rs2424913 (149C>T). L'analisi è stata volta a valutare la relazione tra i suddetti polimorfismi con le caratteristiche clinico-patologiche, la risposta terapeutica a chemioterapia neo-adiuvante ed il loro potenziale impatto terapeutico sulla prognosi in pazienti affetti da cancro al seno pre- o post- menopausa nella popolazione della Russia occidentale-Siberiana.

Lo studio ha coinvolto 300 pazienti trattate tra il 1998 e il 2008; il 45% (n= 134) di esse erano in stato pre-menopausale mentre il 55% (n=166) in stato post-menopausale. Lo stato pre-menopausale è stato definito come l'occorrenza del ciclo mestruale negli ultimi 5 anni prima della partecipazione allo studio; stato post-menopausale come naturale menopausa o cicli irregolari con tipica sintomatologia climaterica. Tra tutti i casi, 210 erano sotto regime chemioterapico con antracicline neo-adiuvanti (FAC) o non-contenente antracicline (CMF), mentre 90 pazienti non avevano ricevuto trattamenti pre-operatori. I regimi erano una combinazione di 5-fluorouracile (500mg/m², giorni 1 e 8), adriamicina (50mg/m², giorni 1 e 8) e ciclofosfamide (500mg/m², giorni 1 e 14) in 77 pazienti e fluorouracile (600mg/m², giorni 1 e 8), metotrexato (40mg/m², giorni 1 e 8) e ciclofosfamide (100mg/m², giorni 1 e 14) in 133 donne. Le pazienti hanno ricevuto in media 4 cicli di terapia (range 1-6) ad intervalli di 21 o 28 giorni. La risposta terapeutica è stata assegnata utilizzando le linee guida per i tumori solidi: pazienti con una risposta patologica completa o parziale sono stati analizzati insieme come buoni responsivi mentre pazienti con tumore stabile, o in progressione come non responsivi.

Per prima cosa, in tutti i soggetti, è stata analizzata la relazione tra ogni SNP ed i fattori clinico-patologici, tra cui età, dimensione tumorale, coinvolgimento di linfonodi, istologia tumorale, stato del recettore estrogenico e progestinico, stratificati in base allo stato menopausale; il genotipo per i polimorfismi di MTHFR, MTR, DHFR, TS e RFC è stato determinato con successo in tutti i pazienti, mentre per gli SNPs di MTRR e DNMT3b sono in 299 casi.

Associazione degli SNPs folato relati con le caratteristiche clinico-patologiche dei pazienti

I risultati hanno mostrato che le portatrici di MTHFR 677 CT erano meno frequenti tra le donne con una dimensione tumorale inferiore a 5 cm (41.2% versus 26.4%, P=0.04) specialmente tra le pazienti in stato post-menopausale (48.1% versus 24.1%, P= 0.03). L'associazione è rimasta significativa combinando i genotipi degli SNPs di MTHFR (MTHFR 677CT+MTHFR 677TT) con la dimensione tumorale (OR=0.54,

P=0.04); una significativa differenza è stata inoltre osservata nella distribuzione dell'inserzione di 6bp in omozigosi per il gene TS, tra i sottogruppi patologici dei pazienti (20.8% in T3–T4 versus 8.2% in T1–T2; P=0.004); questa differenza era maggiormente pronunciata nel gruppo di soggetti in menopausa (P=0.006). Inoltre è stato osservato come donne con almeno una variante polimorfica per TS (149del6) avessero una grandezza tumorale maggiore (OR=2.78, CI: 1.12–7.02, P=0.01). RFC1 rs1051266 ha mostrato una differenza significativa nella frequenza tra pazienti con o senza coinvolgimento di linfonodi in base allo stato menopausale; RFC1 80A era inoltre associato anche con il rischio di metastasi dei linfonodi tra i casi in post-menopausa se comparato con le pazienti portatrici dell'allele 80G (OR=2.7, CI:1.14–6.45, P=0.01). In tutti i soggetti, pazienti con MTHFR 677CT avevano una maggiore possibilità di essere ER-positivo rispetto a pazienti MTHFR 677CC (P=0.03); un'associazione significativa è stata riscontrata anche tra presenza del recettore estrogenico e genotipo omozigote ins6/ins6 per il gene TS tra le donne in pre-menopausa. Non sono state riscontrate ulteriori associazioni.

SNPs e risposta terapeutica a chemioterapia neo-adiuvante

Le pazienti incluse in questo studio avevano ricevuto chemioterapia basata su antracicline (FAC) o CMF come chemioterapia neo-adiuvante. Su 300 pazienti, solo 203 erano valutabili per la risposta, includendo 128 (63.1%) pazienti trattate con CMF e 75 (36.9%) con FAC; di queste, 102 (50.3%) sono state considerate responsive, mentre 101 (49.7%) non responsive. Nessuna relazione statisticamente significativa è stata osservata tra gli SNPs selezionati e la risposta a chemioterapia neo-adiuvante.

SNPs e sopravvivenza a cancro al seno

Al momento dell'analisi finale, 62 pazienti avevano mostrato progressione, 202 erano in vita, mentre per le rimanenti 36 non si avevano dati dei successivi follow-up.

In tutte le pazienti, solo i genotipi di MTHFR 667C>T rs1801133 erano associati significativamente dal punto di vista statistico con PFS (*progression free survival*); in particolare, la sopravvivenza era migliore in pazienti con genotipo MTHFR 677TT rispetto alle pazienti con genotipo *wild-type* (log rank=1.98, P=0.047). Quando le pazienti sono poi state stratificate in base allo stato menopausale, è stato osservato che l'effetto per la PFS era derivato soprattutto dalla componente di pazienti pre-menopausa. Donne in pre-menopausa portatrici di MTHFR 677 TT avevano un tempo di sopravvivenza significativamente aumentato rispetto a quelle con genotipo omozigote *wild-type* 677CC (log rank=1.00, P=0.027).

Anche la variante 1958AA del gene MTHFD1 è stata osservata essere associata con un aumentato rischio di scarso *outcome* in pazienti in pre-menopausa (log rank=2.83, P=0.004).

La successiva analisi multivariata di Cox con aggiustamento per età, stato nodale, e istologia tumorale ha indicato che solamente lo SNP MTHFD1 (1958G>A) era un fattore prognostico indipendente per la sopravvivenza in pazienti pre-menopausali; né MTHFR (677C>T), né MTHFD1 (1958G>A) erano invece fattori prognostici nelle donne in stato post-menopausale.

In conclusione, questo studio ha dimostrato come, in un'omogenea popolazione etnica della regione Siberiana occidentale della Russia, affetta da cancro al seno in pre-menopausa e trattata con chemioterapia neo-adiuvante, i polimorfismi MTHFR 677C>T e MTHFD1 1958G>A siano inversamente associati con la PFS, e che, in particolare il genotipo MTHFD1 1958AA potrebbe essere un fattore prognostico per PFS nello stesso gruppo di pazienti

Parole chiave: tumore al seno, chemioterapia neo-adiuvante, geni folato-relati.

Riferimento bibliografico

[Babyskhina N](#) et al. *Gene* 2013 Jan 4 [Epub ahead of print].

UN POLIMORFISMO DEL GENE DEL RECETTORE DELLA SEROTONINA 2A (HTR2A) PREDICE LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON VENLAFAXINA XR NEL DISTURBO D'ANSIA GENERALIZZATO

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

Il disturbo d'ansia generalizzato (GAD) è una malattia cronica e persistente. Ad oggi, i farmaci antidepressivi rappresentano la terapia di elezione. La risposta a questo tipo di trattamento ha una grande

variabilità, che va dal 40-70% e spesso circa un terzo dei pazienti GAD hanno ricadute (Andrews G et al. *Bull World Health Organ* 2000, 78: 446–454; Pollack MH et al. *J Clin Psychiatry* 2009, 70: 32–38).

Le basi neurobiologiche dei meccanismi di risposta al trattamento rimangono sconosciute, tuttavia crescenti evidenze suggeriscono che fattori genetici influenzano la risposta al trattamento e alla tollerabilità dei farmaci. La maggior parte degli studi farmacogenetici per i farmaci antidepressivi sono stati effettuati su popolazioni con disturbo depressivo maggiore (MDD), mentre solo pochi reports esistono per i disturbi d'ansia generalizzati. Dati recenti associano un ruolo potenziale del gene codificante il recettore 2A della serotonina (HTR2A) alla risposta al trattamento ai farmaci antidepressivi in MDD (Rush AJ et al. *Control Clin Trials* 2004, 25: 119–142; McMahon FJ et al. *Am J Hum Genet* 2006, 78: 804–814).

Altri gruppi hanno confermato in modo indipendente questa associazione in diversi studi che documentano il ruolo della variante rs7997012 in HTR2A nella risposta al trattamento antidepressivo in MDD.

Analizzando questi dati, gli autori di questo studio hanno ipotizzato che il polimorfismo rs7997012 nel gene HTR2A possa essere predittivo dell'esito del trattamento in pazienti GAD trattati con venlafaxina XR. La risposta al trattamento è stata valutata in 156 pazienti (europei-americani (EA) n = 112; afro-americani (AA) n = 41; altri n = 3) che hanno partecipato per 18 mesi ad uno studio clinico aperto con venlafaxina XR per il GAD, utilizzando, come scala di valutazione del GAD, la *Hamilton Anxiety Scale* (HAM-A) e come misura secondaria di risposta la *Clinical Global Impression of Improvement* (CGI-I) a 6 mesi di trattamento. I pazienti sono stati reclutati presso la University of Pennsylvania Medical Center, con l'approvazione e la sorveglianza da parte dell'Institutional Review Board of the University of Pennsylvania.

Lo studio comprendeva tre fasi di trattamento:

Fase I : 6 mesi con venlafaxina XR (VEN) fase di trattamento a vari dosaggi (75-225mg al giorno);

Fase II: 6 mesi, in doppio cieco, randomizzato, placebo-controllo;

Fase III: 6 mesi randomizzato, in doppio cieco, placebo-controllo in fase di recidiva.

La metodologia dettagliata della sperimentazione clinica è descritta in Rickels K et al. *Arch Gen Psychiatry* 2010;67: 1274–1281. I pazienti dovevano avere più di 18 anni e soddisfare i criteri per il GAD del Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali, quarta edizione, (DSM-IV). I pazienti dovevano avere dei sintomi sufficienti per richiedere una terapia farmacologica, compreso un punteggio di almeno 20 per l'*Hamilton Anxiety Scale* (HAM-A) al basale e più di 4 per il *Clinical Global Impression-Severity* (CGI-S). I pazienti sono stati valutati anche con l'*Hamilton Depression Scale* (HAM-D) per escludere i pazienti più gravemente depressi e con tendenze suicide. La salute del paziente è stata determinata con visita medica, storia personale, esami di laboratorio ed elettrocardiogramma. I criteri di esclusione sono stati: storia attuale o passata di disturbo bipolare, schizofrenia, altri disturbi psicotici o demenza, episodi di depressione maggiore negli ultimi 6 mesi, dipendenza da droghe nel corso degli ultimi 6 mesi. Analisi delle urine per le benzodiazepine (BZ), oppiacei e tetraidrocannabinolo sono state condotte a intervalli regolari. La genotipizzazione della variante rs7997012 in HTR2A è stata effettuata utilizzando Applied Biosystems (ABI) (Foster City, CA, USA). Le distribuzioni genotipiche erano in equilibrio Hardy-Weinberg.

I pazienti con almeno un G-allele hanno mostrato una significativa riduzione del punteggio HAM-A confrontandoli con il gruppo A/A dopo 6 mesi di trattamento (A/A group mean HAM-A: 11.38, s.e.:1.64; G/A + G/G group mean HAM-A: 6.58, s.e.:0.71; P=0,0086). L'analisi esplorativa ha dimostrato che la differenza tra i gruppi è risultata statisticamente significativa già alla settimana 12 (P=0,057), alla settimana 16 (P=0,021) e alla settimana 20 (P=0,036). E' stata osservata una significativa associazione alla risposta (HAM-A) e al miglioramento (CGI-I) dopo 6 mesi di trattamento. I pazienti con una o due copie del G-allele rs7997012 hanno risposto in modo significativo rispetto ai pazienti con un A/A genotipo (P=0,02; odds ratio,OR:3.35) e hanno mostrato un maggiore miglioramento a 6 mesi (P=0,002, OR:4.98). La frequenza del G-allele differiva in modo significativo tra *responder* (70%) e *non-responder* (56%) a 6 mesi (P=0,05) secondo la scala HAM-A come misura di *outcomes*. Allo stesso modo, il G-allele era significativamente associato ad un maggiore miglioramento (P=0,01) anche con il CGI-I. Associando un effetto dominante al G-allele e un effetto recessivo all'A-allele, il miglioramento differiva significativamente tra i due gruppi (P=0,001, OR:4.72). Tendenze simili sono state osservate anche per la remissione dei sintomi, anche se non statisticamente significative.

In questo studio sono presenti diversi limiti. I campioni di DNA sono stati raccolti retrospettivamente. E' stato studiato solo uno SNP nel gene HTR2A, basandosi sull'ipotesi che questo fosse prioritario, ma è

possibile che altre varianti o aplotipi possano avere un effetto importante sulla risposta al trattamento con farmaci antidepressivi. Una differenza principale tra questo studio rispetto ad altri precedenti è stato l'uso di un campione di mista etnicità.

In conclusione, si dimostra per la prima volta in questo studio un effetto farmacogenetico della variante rs7997012 in HTR2A nel disturbo d'ansia generalizzato, supportando l'ipotesi che varianti nel gene HTR2A possano predire gli *outcomes* nel trattamento con farmaci antidepressivi, indipendentemente dai criteri diagnostici di DSM-IV. I risultati di questo studio, quindi, confermano che i pazienti con il polimorfismo a singolo nucleotide rs7997012 in HTR2A ottengono i migliori risultati dal trattamento. È interessante ancora notare che questo effetto farmacogenetico risulta statisticamente significativo nel tempo, con una differenza media in HAM-A tra il gruppo A/A e il gruppo G/A - G/G da 4,8 a 6 mesi. Mentre McMahon et al. hanno osservato una migliore risultato con l'A-allele, i risultati di questo studio, unitamente a Lucae et al. (*Eur Neuropsychopharmacol* 2010; 20: 65–68) e Horstmann et al. (*Neuropsychopharmacology* 2010; 35: 727–740), suggeriscono che il G-allele predice un migliore risultato. Studi futuri con maggiori campioni sono necessari per caratterizzare ulteriormente questo effetto nel trattamento con antidepressivi in GAD.

Lo SNP rs7997012 nel gene HTR2A, in particolare l'allele-G, è risultato significativamente associato a miglioramento nel trattamento con antidepressivi nel disturbo d'ansia generalizzato.

Parole chiave: HTR2A, disturbo d'ansia, venlafaxina, rs7997012.

Riferimento bibliografico

[Lohoff FW](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2013, 13:21–26.



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 Sabrina Angelini (Università di Bologna) Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Irene Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Marzia Del Re (Università di Pisa) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Virginia Paribello (Università di Salerno) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna)

	Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB)
	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste)
	Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna)
Supervisione	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
	Prof. Armando Genazzani (Università del Piemonte Orientale)

Archivio SIF-Farmacogenetica Edicola Virtuale SIF
<http://edicola.sifweb.org/edicola/farmacogenetica/pagina/archivio>

Contatti: webmaster@sifweb.org

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@segr.it con oggetto: CANCELLA.
