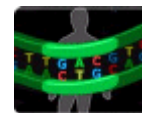


**SIF - FARMACOGENETICA****Newsletter Numero 54 – Settembre 2013**

---

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

---

**Sommario**

- Ruolo delle varianti geniche ereditarie di TPMT e COMT nella perdita di udito indotta da cisplatino nei pazienti pediatrici affetti da cancro
- L'interazione gene-gene tra i polimorfismi dei geni OCT2 e MATE1 influenza la clearance renale della metformina
- Erlotinib versus docetaxel come seconda linea di trattamento nei pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule *wild-type* per EGFR (TAILOR): studio randomizzato controllato
- Associazione tra i polimorfismi di CYP2C19 e le reazioni avverse respiratorie indotte da lansoprazolo in pazienti di età pediatrica
- Polimorfismo ERCCI rs3212986 come *marker* predittivo di risposta alla terapia neoadiuvante cisplatino/5-FU in pazienti affetti da cancro esofageo
- Influenza dei genotipi di CYP3A4 nell'outcome di pazienti affetti da carcinoma ovarico sieroso, trattati con chemioterapia di prima linea: implicazioni del profilo di attività di CYP3A4
- Polimorfismi intergenici del gene dell'anfiregulina come biomarcatori in pazienti con cancro del colon retto metastatico trattati con anti-EGFR ed irinotecano
- Gemfibrozil pregiudica l'assorbimento dell'Imatinib e inibisce la formazione dei suoi metaboliti principali CYP2C8-mediati

---

**RUOLO DELLE VARIANTI GENICHE EREDITARIE DI TPMT E COMT NELLA PERDITA DI UDITO INDOTTA DA CISPLATINO NEI PAZIENTI PEDIATRICI AFFETTI DA CANCRO**

A cura della Dott.ssa Alessandra Zanut e del Dott. Gabriele Stocco

Nonostante i risultati del trattamento dei tumori pediatrici siano migliorati nel tempo, l'aumento della sopravvivenza ha portato all'insorgenza di complicanze a lungo termine per più del 40% dei pazienti sopravvissuti. L'uso del chemioterapico cisplatino, componente fondamentale nei regimi di trattamento correntemente in uso per quasi tutti i tumori al cervello e solidi in pazienti pediatrici, è associato a gravi effetti avversi a livello uditivo. La perdita di udito bilaterale e irreversibile, conseguente a trattamenti con cisplatino ed i suoi derivati, ha un impatto particolarmente debilitante sullo sviluppo dei bambini, con possibili deficit permanenti nelle capacità linguistiche, ed una significativa diminuzione della qualità di vita. È importante notare che esiste una sostanziale variabilità interindividuale nell'incidenza di ototossicità fra i pazienti che ricevono terapia con cisplatino, e questo porta all'ipotesi che varianti genetiche possano contribuire al rischio di ototossicità indotta da questo farmaco. Studi di sensibilità al cisplatino in colture di

cellule linfoblastoidi ottenute da famiglie (HapMap) indicano che il 38-47% della variabilità nella citotossicità al farmaco è mediata da variazioni genetiche ereditarie, supportando fortemente la possibilità che esistano varianti farmacogenetiche associate alla risposta al cisplatino nei pazienti. Tuttavia, i risultati di studi di farmacogenetica con un approccio gene-candidato sono stati fin'ora incoerenti: ad esempio, la delezione di GSTM1 aumenta moderatamente il rischio di ototossicità nei sopravvissuti a cancro ai testicoli, ma non è risultata associata a perdita di udito correlato a cisplatino in pazienti pediatriche. In uno studio più recente, su circa 2.000 varianti in geni coinvolti nel metabolismo dei farmaci valutate in 166 pazienti oncologici pediatriche, le varianti germinali nei geni codificanti per gli enzimi tiopurina S-metiltransferasi (TPMT) e catecolo O-metiltransferasi (COMT) sono risultate fortemente associate con il rischio di danni all'udito correlati a cisplatino, e modelli predittivi basati su questi genotipi sono stati in grado di identificare il 92,9% dei pazienti a rischio (Pussegoda et al., *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2013). In seguito a questo studio, la Food and Drug Administration statunitense ha modificato il foglietto illustrativo del cisplatino indicando l'associazione di varianti genetiche di TPMT con ototossicità. Data la potenziale rilevanza di TPMT e COMT nella personalizzazione della terapia con cisplatino, è indispensabile validare queste associazioni farmacogenetiche nel contesto di altri protocolli clinici controllati in pazienti pediatriche. Pertanto, gli autori del presente articolo hanno cercato di determinare le associazioni delle varianti genetiche di TPMT e COMT con l'ototossicità indotta da cisplatino in protocolli di trattamento di tumori solidi e cerebrali pediatriche condotti in un'unica istituzione, con validazione sperimentale mediante l'uso di modelli sperimentali *in vitro* e *in vivo*.

Lo studio è stato condotto su 213 bambini con nuova diagnosi di medulloblastoma arruolati presso il St. Jude Children's Research Hospital di Memphis (USA) nei protocolli SJMB-96 (ClinicalTrials.gov: NCT00003211) o SJMB-03 (NCT00085202); il 70% di questi pazienti ha sviluppato ototossicità di grado pari a 1 o superiore, secondo la classificazione del National Cancer Institute statunitense (Common Terminology Criteria Adverse Events, CTCAE). Nella maggior parte dei pazienti l'ototossicità è insorta in un intervallo di tempo compreso tra 0,5 e 6 mesi dall'inizio del trattamento con cisplatino. In analisi univariate, il rischio di ototossicità è risultato inversamente associato con l'età del paziente alla diagnosi ( $P = 0,0128$ ), mentre etnia e genere non hanno dimostrato effetti significativi. L'ototossicità è risultata più frequente in pazienti che hanno ricevuto irradiazione craniale ad una dose superiore a 25 Gy, rispetto a pazienti trattati con un dosaggio radioterapico inferiore ( $P = 0,0010$ ); inoltre l'ototossicità è risultata più frequente in pazienti trattati con il protocollo SJMB-96 rispetto a quelli trattati con il successivo SJMB-03 ( $P = 0,0479$ ). Nei pazienti arruolati, gli SNPs più rilevanti di TPMT (ovvero rs1142345, rs1800462 ed rs1800460) sono stati caratterizzati tramite saggi PCR, mentre la variante rs12201199 dello stesso gene è stata caratterizzata tramite sequenziamento; gli SNP rs4818, rs4646316 e rs9332377 del gene COMT sono stati invece genotipizzati mediante il saggio ABI SNaPshot Multiplex.

I risultati delle analisi univariate condotte usando un modello genetico additivo non hanno indicato associazioni significative tra gli SNPs considerati di TPMT e COMT ed il rischio di ototossicità. In aggiunta sono state effettuate analisi multivariate includendo sia la variabili genetiche che quelle non genetiche significative all'univariata (età alla diagnosi, dosaggio dell'irradiazione craniale e trattamento con protocollo SJMB-96): anche l'analisi multivariata non ha mostrato alcuna associazione tra gli SNPs di TPMT e COMT e l'insorgenza di ototossicità. I pazienti arruolati nei protocolli SJMB-96 e SJMB-03 hanno ricevuto irradiazione craniale, un noto fattore di rischio per l'ototossicità e sono stati inoltre trattati con amifostina, agente otoprotettivo. Per escludere un possibile ruolo confondente di questi fattori sugli effetti delle varianti genetiche, il ruolo degli SNPs di TPMT e COMT è stato valutato anche in una coorte indipendente di 41 pazienti in trattamento al St. Jude, affetti da neuroblastoma e osteosarcoma, e trattati con regimi terapeutici contenenti cisplatino, che non hanno previsto l'uso di irradiazione craniale o la somministrazione di amifostina (protocolli St. Jude NB-97, NB-05, and OS-08). In questa seconda coorte, l'analisi di regressione ha dimostrato che l'ototossicità è risultata più severa in pazienti diagnosticati in età precoce ( $P = 0,0052$ ) e nei maschi ( $P = 0,0265$ ). Non si è invece rivelata alcuna associazione tra i genotipi di TPMT e COMT e l'insorgenza di tossicità uditive indotte da cisplatino, anche se il potere statistico è limitato a causa del basso numero di pazienti appartenenti a questa coorte. Infine, il danno uditivo indotto da cisplatino è stato valutato *in vivo* utilizzando topi con differente genotipo di TPMT: non sono state

osservate differenze nel danno uditivo tra topi knock-out per TPMT e topi wild-type. È stata inoltre esaminata la relazione tra le varianti genetiche di TPMT e COMT e la citotossicità indotta da cisplatino in linee cellulari linfoblastoidi (HapMap CEU and YRI). La sensibilità di queste linee al cisplatino, valutata in termini di IC<sub>50</sub>, non è risultata associata con i genotipi di TPMT e COMT e nemmeno con l'attività enzimatica di TPMT.

Questo studio ha esaminato in maniera esaustiva gli effetti di TPMT e COMT sulla perdita uditiva legata al trattamento con cisplatino in pazienti pediatriche trattati con protocolli oncologici di prima linea e in modelli di laboratorio, sia *in vitro* che *in vivo*. Gli autori non hanno osservato alcuna associazione delle varianti di TPMT o COMT con l'ototossicità, ed i risultati ottenuti contrastano dunque l'ipotesi che tali varianti siano informative riguardo al rischio ototossicità indotta clinicamente da cisplatino.

Lo studio indica che le varianti genetiche di TPMT e COMT non sono associate all'insorgenza di ototossicità dopo trattamento con cisplatino in pazienti pediatriche affetti da cancro e non influenzano il danno uditivo causato dal farmaco in modelli sperimentali.

**Parole chiave:** cisplatino, ototossicità, oncologia pediatrica, farmacogenomica, studio di associazione, replicazione.

**Riferimento bibliografico:**

[Yang JJ](#) et al. *Clin Pharmacol Ther.* 2013, 94(2):252-9.

---

## L'INTERAZIONE GENE-GENE TRA I POLIMORFISMI DEI GENI OCT2 E MATE1 INFLUENZA LA CLEARANCE RENALE DELLA METFORMINA

A cura della Dott.ssa Cheli Stefania

La metformina è una biguanide sintetica ampiamente utilizzata come farmaco anti-iperglicemizzante orale nel trattamento del diabete mellito di tipo 2. Il meccanismo d'azione di metformina non è stato ancora chiarito del tutto, sembra però che parte significativa della sua azione sia mediata attraverso l'inibizione del complesso 1 della catena respiratoria mitocondriale, con diminuzione della gluconeogenesi epatica e aumentato assorbimento di glucosio nei tessuti periferici. A pH fisiologico, la metformina si trova quasi interamente in forma di catione organico monoprotonato. La metformina plasmatica presenta un legame alle proteine praticamente trascurabile. A livello epatico la metformina è assorbita principalmente dal trasportatore di cationi organici 1 (OCT1, SLC22A1) ed in misura minore anche dal trasportatore OCT3 (SLC22A3). Nel fegato la metformina non è metabolizzata né escreta nella bile. Il trasporto basolaterale della metformina nelle cellule tubulari prossimali del rene viene invece mediato dal trasportatore OCT2 (SLC22A2). Tutti i trasportatori OCT sono sistemi di uniporto che mediano la diffusione facilitata bidirezionale di metformina. Sul lato apicale delle cellule tubulari renali i trasportatori antiporto H<sup>+</sup>/farmaco per l'estrusione di farmaci e tossine denominati MATE1 (SLC47A1) e MATE2 (SLC47A2) facilitano l'eliminazione nelle urine di metformina. Polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nei geni che codificano per i trasportatori OCT1, OCT2, MATE1 e MATE2 sono stati associati a risposte farmacodinamiche e farmacocinetiche alterate alla metformina.

Lo scopo principale di questo lavoro è stato quello di valutare gli effetti della variante c.808G>T (p.270Ala>Ser) nel gene OCT2 sull'escrezione renale di metformina in 50 volontari sani di origine caucasica; fino ad ora questo studio non era stato fatto in questa etnia per via della ridotta frequenza degli omozigoti della variante (0,5-2,5%) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>). Inoltre sono state valutate le interazioni gene-gene tra: OCT2 e MATE2 (c.808G>T in OCT2 e la variante g.-66T>C presente nel promotore di MATE1) e tra OCT2 ed OCT1 (c.808G>T in OCT2 e alleli con ridotta funzione in OCT1). Lo studio, su volontari sani è stato condotto in aperto (*open-label*). Lo studio è stato registrato nel *European Clinical Trial Database* (EudraCT no.: 2010-020374-41) e approvato dal *Danish Medicines Agency* (J. no.: 2612-

4303), Danish Data Protection Agency (J. no.: 2010-41-4721), e Regional Committee on Biomedical Research Ethics of Southern Denmark (Project ID: S-2010 0048). Sulla base del genotipo c.808G>T, cinquanta volontari sani caucasici estratti dalla biobanca "Pharmacogenomics Biobank of the University of Southern Denmark" hanno dato il consenso informato scritto per partecipare allo studio. Venticinque volontari erano *wild type* (G/G) (17 uomini e 8 donne), 20 erano eterozigoti (G/T) (12 uomini e 8 donne), e cinque erano omozigoti per la variante (T/T) (4 uomini e una donna). Dopo un digiuno notturno, i volontari hanno assunto una singola dose orale di metformina cloridrato (500 mg) pari a 390 mg di metformina di base e sono stati autorizzati ad assumere cibo a partire da 1 h dalla somministrazione del farmaco. Sono stati eseguiti prelievi di sangue e di urine a diversi intervalli di tempo. La funzione renale è stata valutata mediante la determinazione della creatinina plasmatica e i valori rilevati sono rientrati nel range di normalità. Le concentrazioni plasmatiche e urinarie di metformina sono state misurate utilizzando la cromatografia liquida ad alta prestazione. I genotipi sono stati determinati utilizzando sonde TaqMan in real-time o mediante sequenziamento diretto. Tutti i volontari hanno completato lo studio. I genotipi individuati nella coorte studiata sono risultati in equilibrio di *Hardy-Weinberg*. Non è stato trovato alcun *linkage disequilibrium* (LD) tra il polimorfismo c.808G>T (rs316019) nel gene OCT2 ed i polimorfismi nel gene OCT1. Un LD completo è stato invece trovato nel gene OCT1 tra le varianti c.1260GAT>del e c.1393G>A ( $r^2$  0,24) e tra le varianti c.1260GAT>del e il polimorfismo intronico rs622342 ( $r^2$  0,39). Tuttavia, nessuno degli alleli citati sopra è in perfetto LD ( $r^2 = 1$ ); questo significa che esistono più di due aplotipi e di conseguenza non è possibile predire alcun genotipo. Per quanto riguarda l'analisi farmacocinetica essa ha dato i seguenti risultati:

**OCT2.** La concentrazione plasmatica di metformina in funzione del tempo medio è stata valutata per i diversi genotipi della variante c.808G>T del gene OCT2. La concentrazione plasmatica massima ( $C_{max}$ ) e l'area sotto la curva di concentrazione plasmatica ( $AUC_{0-\infty}$ ) sono risultate inferiori nel gruppo degli omozigoti per la variante (circa il 18 e il 17%) rispetto agli eterozigoti ed agli omozigoti di riferimento. La *clearance* totale apparente dopo somministrazione orale ( $CL/F = Dose/AUC_{0-\infty}$ ), la *clearance* renale ( $CL_{ren}$ ), la *clearance* tubulare ( $CL_{sec}$ ), ed il volume apparente di distribuzione dopo somministrazione orale sono apparsi maggiori nel gruppo degli omozigoti per la variante (circa il 20, 12, 13, e 24%) rispetto agli eterozigoti ed agli omozigoti *wild type*. Nessuna differenza osservata tra i diversi gruppi è risultata però statisticamente significativa.

**OCT1.** I quattro alleli a ridotta funzione (RF) nel gene OCT1 (c.181C>T rs12208357, c.1201G>A rs34130495, c.1260GAT>del rs72552763 e c.1393G>A rs34059508) risultano in cinque aplotipi (H1-5) e sette diplotipi (combinazione specifica di due aplotipi). Il numero di alleli RF non ha statisticamente inciso sulla CL totale né su quella tubulare, neanche quando testati individualmente. Tuttavia, gli omozigoti per l'allele minore del polimorfismo intronico rs622342A>C hanno mostrato una  $CL_{ren}$  significativamente inferiore rispetto al genotipo di riferimento (AA: 33,1 l/h; CC: 26,5 l/h;  $P = 0,026$ ); stesso andamento è stato osservato anche per la  $CL_{sec}$  (AA: 26,5 l/h; CC: 20,4 l/h;  $P = 0,027$ ).

**MATE1.** Sia la  $CL_{ren}$  che la  $CL_{sec}$  non variano significativamente in funzione dei polimorfismi nel gene MATE1 (rs2289669 e rs2252281) quando testati singolarmente. Tuttavia i portatori omozigoti dell'allele minore rs2289669 hanno evidenziato una tendenza ad una diminuita  $CL_{ren}$  rispetto al genotipo di riferimento (GG: 33,3 l/h; AA: 29,6 l/h;  $P = 0,053$ ); risultati analoghi sono stati osservati per la  $CL_{sec}$  (GG: 26,7 l/h; AA: 23,0 l/h;  $P = 0,057$ ).

**INTERAZIONE GENE-GENE.** L'impatto sulla  $CL_{ren}$  di una possibile interazione OCT2-OCT1 è stato valutato in 49 volontari. Nessuna delle combinazioni testate di OCT2 c.808G>T e diplotipi di RF di OCT1, è risultata associata ad una diversa *clearance*.

La valutazione dell'interazione gene-gene tra OCT2 e MATE2 (c.808G>T nel gene OCT2 e g.-66T>C nel promotore del gene MATE1) ha evidenziato che negli individui omozigoti per il genotipo di riferimento del polimorfismo g.-66T>C, entrambe le *clearance* sono aumentate sia negli eterozigoti che negli omozigoti della variante c.808G>T ( $CL_{ren}$  GG, GT e TT rispettivamente 28,1, 34,5, e 44,8 l/h,  $p = 0,004$ , e  $CL_{sec}$  GG, GT, TT rispettivamente 21,4, 27,8 e 37,6 l/h,  $P = 0,005$ ). Negli individui eterozigoti per il SNP c.808G>T, la  $CL_{ren}$  e la  $CL_{sec}$  sono risultate ridotte negli eterozigoti della variante g.-66T>C rispetto al genotipo di riferimento [ $CL_{ren}$ : 34,5 vs 28,3 l/h ( $P = 0,022$ );  $CL_{sec}$  27,8 contro 21,6 l/h, rispettivamente ( $P = 0,022$ )]. La *clearance* non

è risultata ridotta nei volontari omozigoti per la variante g.-66T>C ed eterozigoti per c.808G> T. Negli individui omozigoti per la variante c.808G>T, la  $CL_{ren}$  e la  $CL_{sec}$  si presentano ridotte per gli eterozigoti della variante g.-66T>C rispetto agli individui con genotipo di riferimento [ $CL_{ren}$ : 448 vs 28,4 l/h ( $p = 0,007$ );  $CL_{sec}$  37,6 vs 21,5 l/h, rispettivamente ( $p = 0,008$ )].

Questi risultati suggeriscono che la variante c.808G>T nel gene OCT2 ha un effetto dominante sulla  $CL_{ren}$ . Inoltre, l'osservazione che negli individui eterozigoti od omozigoti per la variante c.808G>T, la  $CL_{ren}$  e  $CL_{sec}$  siano ridotte negli eterozigoti per la variante g.-66T>C del gene MATE1 suggerisce un coinvolgimento della variante g.-66T>C nella regolazione della trascrizione del gene MATE1 con conseguente ridotta attività del trasportatore; il polimorfismo g.-66T>C del gene MATE1 si contrappone all'aumento della *clearance* di metformina associato alla variante in c.808G>T nel gene OCT2. In accordo con i lavori pubblicati precedentemente il numero di varianti RF del gene OCT1 non influisce sul valore di  $CL_{ren}$ . Al contrario gli autori hanno osservato che la distribuzione di metformina ai compartimenti periferici non è influenzata dagli SNPs del gene OCT1 (rs34130495, rs622342) e del gene MATE1 (rs2289669, rs8065082).

In conclusione ulteriori studi sono necessari al fine di definire la rilevanza clinica dell'interazione OCT2-MATE1 nel trattamento dei pazienti con diabete mellito tipo 2.

Le variazioni genetiche presenti nel gene MATE1, G.-66T>C, contrastano l'aumentata *clearance* di metformina associata alla variante c.808G>T presente in OCT2.

Nonostante l'impatto della variante c.808 (G> T) sulla farmacocinetica di metformina sia già stato valutato precedentemente in vari studi e in una piccola meta-analisi, lo studio non è mai stato corretto per le altre varianti genetiche.

**Parole chiave:** metformina, diabete mellito di tipo 2, OCT1, MATE, clearance renale.

#### Riferimento bibliografico

[Christensen MM](#) et al. *Pharmacogenet Genomics* 2013, 23(10):526-34.

## ERLOTINIB VERSUS DOCETAXEL COME SECONDA LINEA DI TRATTAMENTO NEI PAZIENTI CON TUMORE POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE WILD-TYPE PER EGFR (TAILOR): STUDIO RANDOMIZZATO CONTROLLATO

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Al momento della diagnosi di tumore polmonare non a piccole cellule (*non-smallcell lung cancer*, NSCLC), la patologia è già avanzata nella maggior parte dei pazienti. I derivati del platino rappresentano la prima linea di trattamento per il NSCLC avanzato e sono stati approvati tre farmaci per il trattamento di seconda linea: il docetaxel è risultato efficace nel prolungare la *progression free survival* (PFS) e la *overall survival* (OS) in seconda linea in pazienti con NSCLC metastatico, ed il pemetrexed ha mostrato un'efficacia simile al docetaxel; nel 2005 uno studio ha mostrato un miglioramento della OS, della PFS e della qualità della vita con l'inibitore della tirosin kinasi dell'EGFR erlotinib rispetto al placebo, in pazienti precedentemente trattati e ritenuti non candidabili ad ulteriore chemioterapia. In tre studi sono state descritte mutazioni attivanti che rendono il NSCLC avanzato più sensibile agli inibitori della kinasi dell'EGFR gefitinib ed erlotinib. In questo momento, questi farmaci rappresentano il trattamento di scelta per i pazienti con mutazione dell'EGFR, sia in prima linea che nelle linee successive di trattamento. Comunque, la maggior parte dei pazienti è *wild-type* per l'EGFR, ed il ruolo degli inibitori delle tirosin kinasi in questi pazienti è ancora controverso. Almeno sei studi randomizzati hanno confrontato gli inibitori della tirosin kinasi dell'EGFR con la chemioterapia standard in pazienti con NSCLC, mostrando la stessa sopravvivenza con entrambi gli approcci. Nessun *trial*, tuttavia, era stato disegnato per valutare il beneficio del trattamento in base al genotipo dell'EGFR. Le analisi retrospettive secondo genotipo sono state anche limitate dall'alta

percentuale di pazienti con status dell'*EGFR* sconosciuto, in molti casi raggiungendo l'80% e oltre. Tra i due inibitori della kinasi dell'*EGFR* disponibili in commercio, solo l'erlotinib è approvato per i pazienti con *EGFR wild-type*. Poiché il beneficio varia ampiamente tra i pazienti con o senza mutazione, è importante stabilire quale trattamento di seconda linea sia preferibile.

È stato condotto uno studio multicentrico randomizzato, il *TArceva Italian Lung Optimization tRial* (TAILOR), per confrontare la terapia con erlotinib e la terapia con docetaxel in pazienti che hanno fallito la terapia di prima linea a base di platino e con *EGFR wild-type*.

In questo studio, condotto in 52 ospedali italiani, sono stati reclutati pazienti con NSCLC avanzato con *EGFR wild-type* in ricaduta o progressione dopo chemioterapia a base di platino, che non avevano ricevuto precedente trattamento con tassani o anti-*EGFR*, con *Eastern Cooperative Oncology Group performance status*  $\leq 2$  e funzioni vitali adeguate. Lo studio era stato inizialmente disegnato per valutare gli effetti del docetaxel e dell'erlotinib in base a *biomarkers* selezionati (amplificazione dell'*EGFR* ed espressione della proteina, mutazione del *KRAS*). Alla prima analisi ad interim, questi *biomarker* non sono risultati efficaci ed il *safety monitoring committee* ha raccomandato di modificare l'obiettivo primario in un confronto di efficacia tra i due gruppi. Con il cambiamento nel protocollo, lo studio ha mantenuto il potere voluto di individuare la differenza in termini di sopravvivenza tra i due gruppi di trattamento. I pazienti sono stati randomizzati nei due gruppi di trattamento secondo un rapporto 1:1 e stratificati per centro, stadio, tipo di chemioterapia di prima linea a base di platino (pemetrexed vs vinorelbina vs gemcitabina) e *performance status* (0-1 vs 2). A causa della natura dell'intervento, i pazienti ed i medici erano a conoscenza del trattamento ricevuto e somministrato, mentre chi analizzava i risultati non era informato. L'erlotinib è stato somministrato per os alla dose di 150 mg/die, ed in caso di tossicità di grado 3-4 il trattamento è stato interrotto fino a 15 giorni e/o la dose è stata ridotta a 100 mg. I pazienti in cui si sono ripresentati effetti avversi gravi dopo aver riassunto 150 mg, sono stati esclusi dallo studio. Il docetaxel è stato somministrato e.v. a 75 mg/m<sup>2</sup> ogni 21 giorni o 35 mg/m<sup>2</sup> al giorno 1, 8 e 15 ogni 28 giorni. In casi di effetti avversi gravi, le dosi sono state ridotte di un massimo del 50% per la dose di 75 mg/m<sup>2</sup> o al di sotto dei 30 mg/m<sup>2</sup> per la dose di 35 mg/m<sup>2</sup>. L'*endpoint* primario era rappresentato della OS e gli *endpoint* secondari erano la PFS, la proporzione di pazienti con risposta e la qualità della vita.

Dall'ottobre 2007 al marzo 2012, sono stati registrati 702 pazienti, di cui 540 sono stati genotipizzati e 222 sono stati arruolati (110 randomizzati a ricevere docetaxel e 112 a ricevere erlotinib). Il trattamento è stato interrotto per lo più per progressione di malattia o morte (70% nel gruppo docetaxel vs 88% nel gruppo erlotinib). Le altre cause di interruzione del trattamento, cioè decisione del medico o del paziente ed eventi avversi gravi correlati o meno alla terapia, erano simili nei due gruppi. Circa la metà dei pazienti in ogni gruppo ha ricevuto una terza linea di trattamento con vinorelbina, gemcitabina o pemetrexed. I pazienti in trattamento con docetaxel hanno ricevuto in media 3 cicli, con dose media per ciclo di 91 mg/m<sup>2</sup> per lo schema di dosaggio settimanale e 75 mg/m<sup>2</sup> per lo schema trisettimanale. I pazienti trattati con erlotinib hanno ricevuto in media 2 cicli, con dose media di 137 mg/die. Dopo un *follow-up* medio di 33 mesi, 196 pazienti hanno presentato progressione di malattia e 187 sono deceduti. L'OS media era di 8,2 mesi nel gruppo trattato con docetaxel e di 5,4 mesi nel gruppo trattato con erlotinib (*adjusted hazard ratio* [HR] 0.73, 95% CI 0.53–1.00;  $p=0,05$ ; *unadjusted* HR 0.78, 95% CI 0.51–1.05;  $p=0,10$ ). La sopravvivenza dopo un anno era del 39,6% vs 31,8%. La PFS media era di 2,9 mesi nel gruppo trattato con docetaxel e di 2,4 mesi nel gruppo trattato con erlotinib (*adjusted* HR 0.71, 95% CI 0.53–0.95;  $p=0,02$ ; *unadjusted* HR 0.72, 95% CI 0.55–0.94;  $p=0,01$ ). La PFS a 6 mesi era del 27,3% nel gruppo con docetaxel e 16,5% nel gruppo con erlotinib, mentre la sopravvivenza media dopo la progressione era di 3,2 mesi per il gruppo docetaxel e 2,5 mesi per il gruppo erlotinib. Un numero significativamente superiore di pazienti hanno avuto una risposta o raggiunto il controllo della malattia con docetaxel rispetto ai pazienti trattati con erlotinib: 15 pazienti in terapia con docetaxel vs 3 in terapia con erlotinib hanno avuto una risposta oggettiva ( $p=0,003$ ) e 43 nel gruppo docetaxel vs 26 nel gruppo erlotinib hanno raggiunto il controllo della malattia ( $p=0,007$ ). L'*outcome*, sia in termini di OS che di PFS, sembrava migliore in tutti i sottogruppi trattati con docetaxel rispetto all'erlotinib, anche se molte di queste differenze non erano statisticamente significative. Nell'analisi multivariata, solo il trattamento ed il *performance status* erano associati significativamente con l'OS e la PFS. Il 17% (18/104) dei pazienti trattati con docetaxel ed il 18% (19/107) di quelli trattati con

erlotinib hanno ritardato la terapia a causa di effetti tossici. Nel 22% dei pazienti del gruppo docetaxel (23/104) e nel 21% dei pazienti del gruppo erlotinib (23/107) hanno avuto una modifica della dose a causa di eventi avversi. Neutropenia, tossicità neurologici, alopecia, astenia e nausea erano più comuni nel gruppo docetaxel rispetto al gruppo erlotinib, mentre molti pazienti del gruppo erlotinib hanno presentato effetti tossici cutanei. Un paziente in ogni gruppo è deceduto per sequele legate alla terapia (diarrea di grado 4 nel gruppo erlotinib e neutropenia febbrile nel gruppo docetaxel). I dati relativi alla qualità della vita non sono stati ancora analizzati e verranno riportati separatamente.

I risultati di questo studio mostrano che la chemioterapia dovrebbe rimanere di scelta come seconda linea di trattamento in pazienti con NSCLC con *EGFR wild-type*. Il docetaxel è risultato migliore dell'erlotinib per tutti gli *outcome*. Altri 6 studi hanno confrontato la chemioterapia con gli inibitori della tirosin chinasi dell'EGFR, ed in tutti questi studi i risultati nella popolazione *wild-type* per l'EGFR erano statisticamente inconclusivi e clinicamente contraddittori. Inoltre, una metanalisi ha concluso che la PFS è più lunga nei pazienti con *EGFR wild-type* trattati con chemioterapia piuttosto che con inibitori delle tirosin chinasi, senza differenza nella OS. Anche come trattamento di prima linea, gli inibitori della tirosin chinasi sono risultati peggiori della chemioterapia quando aggiunti o confrontati ai regimi a base di platino in pazienti *wild-type* per l'EGFR. Inoltre, in un'analisi riguardante meno del 50% della popolazione dello studio SATURN, l'effetto dell'erlotinib sulla PFS è risultato molto inferiore nel sottogruppo di pazienti *wild-type* per l'EGFR (HR 0.78, 95% CI 0.63–0.96;  $p=0,01$ ) rispetto ai pazienti con *EGFR* mutato (HR 0.1, 95% CI 0.04–0.25;  $p=0,0001$ ). Il piccolo beneficio degli inibitori delle tirosin chinasi nei pazienti *wild-type* nello studio SATURN può essere messo in relazione con le risposte oggettive sporadiche osservate nello studio TAILOR ed in altri studi, e può suggerire due possibilità: o danni genetici sconosciuti hanno causato una risposta positiva all'erlotinib anche in assenza di mutazioni dell'EGFR, o mutazioni dell'EGFR non sono state individuate a causa di eterogeneità tumorale. Per valutare queste possibilità, è in programma l'esecuzione del sequenziamento in campioni di pazienti *responders* all'erlotinib dello studio TAILOR.

In conclusione, questo studio mostra che, nonostante né il docetaxel né l'erlotinib siano risolutivi nel trattamento di seconda linea del NSCLC, un approccio citotossico in questi pazienti rappresenta ancora l'opzione migliore in assenza di chiari *target* terapeutici.

Lo studio era stato originariamente disegnato per valutare gli effetti dell'espressione dell'EGFR, dell'amplificazione dell'EGFR e della mutazione del KRAS sull'*outcome*. A causa del cambiamento del protocollo, non è stato possibile valutare il ruolo predittivo delle mutazioni del KRAS.

**Conflitto di interessi:** alcuni degli autori sono stati consulenti per Eli-Lilly, Boehringer Ingelheim, Roche e Amgen.

**Parole chiave:** NSCLC, erlotinib, docetaxel, EGFR

#### Riferimento bibliografico

[Garassino MC](#) et al. *Lancet Oncol.* 2013, 14(10):981-8.

---

## ASSOCIAZIONE TRA I POLIMORFISMI DI CYP2C19 E LE REAZIONI AVVERSE RESPIRATORIE INDOTTE DA LANSOPRAZOLO IN PAZIENTI DI ETÀ PEDIATRICA

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Gli inibitori di pompa protonica (IPP) sono farmaci con potente azione inibente la secrezione acida gastrica e sono utilizzati nel trattamento del reflusso gastroesofageo e laringo-faringeo, delle ulcere e delle patologie ad esse correlate. Il trattamento a lungo termine con inibitori di pompa protonica è stato associato a numerose reazioni avverse inaspettate, tra cui fratture ossee, ridotto assorbimento della

vitamina B12, alterati livelli di magnesio, secrezione iperacida e tumori gastrici. Oltre a ciò, l'assunzione cronica di IPPs causa una riduzione dell'acidità del pH gastrico, responsabile dell'aumento del rischio di proliferazione batterica o virale nel tratto gastrointestinale superiore. Il reflusso o l'aspirazione del contenuto gastrico infetto può indurre un aumento della suscettibilità ad infezioni delle vie respiratorie superiori, come polmoniti acquisite in comunità e bronchiti. La farmacocinetica e la farmacodinamica degli inibitori di pompa protonica possono essere influenzate da varianti genetiche funzionali a carico del citocromo P450 (CYP)2C19. Infatti, i portatori di uno o più alleli responsabili di un deficit funzionale dell'enzima (alleli CYP2C19\*2, \*3, \*8, \*9) sono classificati come "metabolizzatori lenti" (PMs) od intermedi; i portatori di due alleli funzionali (allele CYP2C19\*1) sono considerati "metabolizzatori estensivi" (EMs); l'allele CYP2C19\*17 è associato ad un aumento dell'attività enzimatica e contribuisce al fenotipo del "metabolizzatore ultra-rapido". Un recente studio, condotto su pazienti di età pediatrica affetti da asma bronchiale scarsamente controllata, ha dimostrato come l'inserimento in terapia del lansoprazolo abbia indotto un aumento della frequenza di eventi avversi respiratori (infezioni alle vie respiratorie superiori, mal di gola e bronchiti). Obiettivo dello studio è stato quello di valutare la possibile associazione tra il genotipo di CYP2C19 e l'insorgenza di effetti avversi respiratori in una corte di pazienti di età pediatrica affetti da asma scarsamente controllata ed in trattamento con lansoprazolo.

Lo studio è stato condotto su 306 pazienti del trial clinico "The Study of Acid-Reflux in Childhood Asthma" (Holbrook et al, JAMA 2012;307:373-81). I pazienti hanno età compresa tra i 6 ed i 17 anni e sono affetti da asma scarsamente controllata con terapia a base di corticosteroidi inalatori. Ai pazienti sono stati somministrati lansoprazolo o placebo per 24 settimane. Sono stati valutati a) le variazioni del punteggio del questionario sul controllo dell'asma b) la frequenza degli episodi acuti di asma scarsamente controllata c) le alterazioni della spirometria d) la quantità di ossido nitrico esalato. Inoltre, sono state condotte interviste strutturate durante 7 visite programmate nel corso della terapia per valutare la presenza di infezioni alle vie respiratorie (raffreddore, mal di gola, bronchite, sinusite acuta etc.). Il DNA è stato estratto da saliva o da sangue periferico. Mediante analisi HRM (High Resolution Melting) è stata condotta la determinazione dei seguenti 5 polimorfismi del gene CYP2C19: G681A (rs4244285; \*2), G636A (rs4986893; \*3), T358C (rs41291556; \*8), G114A (rs17884712; \*9), e C806T (rs12248560; \*17). Le analisi farmacocinetiche sono state effettuate su 119 pazienti ai quali è stato estratto un campione di sangue 2-3 ore dopo la somministrazione del farmaco/placebo e prima del pasto. Le concentrazioni plasmatiche di lansoprazolo sono state quantificate tramite cromatografia liquida ad alta prestazione.

I campioni di DNA analizzati sono stati raccolti da 279 pazienti dei 306 partecipanti allo studio. I dati relativi al genotipo di CYP2C19 e alla frequenza delle reazioni avverse sono disponibili per 272 pazienti. Il rischio relativo (95% CI) di infezioni alle vie respiratorie superiori, mal di gola e bronchiti è rispettivamente di 1.30 (1.06-1.59, P = 0.012), 1.56 (1.20-2.03, P = 0.0007) e 5.11 (1.14-22.89, P = 0.0106) nei pazienti in terapia con lansoprazolo rispetto a quelli in trattamento con placebo. La frequenza di infezioni alle vie respiratorie superiori (URI) e di mal di gola (ST) è maggiore nei pazienti classificati come "metabolizzatori lenti" rispetto a quelli definiti come "metabolizzatori estensivi" (URI: 31/45, 69%, vs 55/91, 60%; ST: 30/45, 66%, vs 41/91, 45%). Tali frequenze sono inoltre superiori a quelle riscontrate nei pazienti in trattamento con placebo (URI: 65/136, 48%, P = .0039; ST: 51/136, 38%). L'OR per le infezioni alle vie respiratorie superiori è maggiore nei metabolizzatori lenti in terapia con lansoprazolo rispetto al placebo (OR=2.46, 95%CI 1.02-5.96; P=0.046). L'OR per le infezioni alle vie respiratorie superiori nei metabolizzatori estensivi di lansoprazolo è di 1.55 (95%CI 0.86-2.79) ma non risulta significativamente differente dal placebo (P=0.15). Dei 119 pazienti su cui è stata effettuata l'analisi farmacocinetica, 56 sono in trattamento con lansoprazolo mentre 63 assumono un placebo. Il valore medio  $\pm$  la deviazione standard delle concentrazioni plasmatiche di lansoprazolo risulta maggiore nei metabolizzatori lenti rispetto ai metabolizzatori estensivi ( $207 \pm 179$  vs  $132 \pm 141$  ng/mL; P = 0.04).

I risultati ottenuti nello studio sottolineano come l'aumentata frequenza delle reazioni avverse respiratorie si verifichi maggiormente nei pazienti classificati come "metabolizzatori lenti" di lansoprazolo, nei quali la ridotta clearance enzimatica risulta in elevate concentrazioni plasmatiche del farmaco. L'esposizione a dosi



superiori di lansoprazolo e la somministrazione cronica dello stesso sembrerebbero indurre una maggiore e prolungata soppressione della secrezione acida gastrica, generante un elevato grado di disbiosi. Il reflusso e l'aspirazione dei contenuti gastrici infetti favorirebbero, quindi, la suscettibilità ad infezioni respiratorie, soprattutto nei pazienti con fenotipo "metabolizzatore lento". In opposizione alla plausibilità di tale modello biologico, si riscontrano in letteratura evidenze che non supportano l'associazione tra la somministrazione cronica di inibitori di pompa protonica ed il manifestarsi di polmoniti acquisite in comunità. Tuttavia, è possibile che tale associazione sarebbe potuta emergere se i pazienti fossero stati stratificati per fenotipo di CYP2C19. *Limiti dello studio*: a) ridotta numerosità del campione, non sufficiente a contrastare l'ipotesi dell'ottenimento di risultati falsi positivi nello studio; b) prelievo di un solo campione di sangue dai pazienti per l'analisi farmacocinetica; c) informazioni relative alla frequenza degli eventi avversi respiratori basate sulle risposte fornite dai pazienti a questionari specifici e non tramite coltura di fluidi gastrici o lavaggi broncoalveolari; d) assenza di misurazione del pH gastrico in tutti i pazienti, prima e dopo il trattamento; e) mancanza di valutazione dell'aderenza alla terapia con lansoprazolo. Ulteriori studi sono inoltre necessari per valutare l'utilità clinica dello screening genetico per CYP2C19 nei pazienti in trattamento con inibitori di pompa protonica, ai fini di personalizzare il dosaggio e mitigare la comparsa di possibili reazioni avverse respiratorie, soprattutto nei pazienti di età pediatrica.

Le varianti genetiche di CYP2C19 sono associate alle reazioni avverse respiratorie correlate alla somministrazione di inibitori della pompa protonica in pazienti di età pediatrica.

**Parole chiave:** lansoprazolo, reazioni avverse respiratorie, CYP2C19

**Riferimento bibliografico:**

[Lima JJ](#) et al. *J Pediatr.* 2013;163(3):686-91.

---

## **POLIMORFISMO ERCCI RS3212986 COME MARKER PREDITTIVO DI RISPOSTA ALLA TERAPIA NEOADIUVANTE CISPLATINO/5-FU IN PAZIENTI AFFETTI DA CANCRO ESOFAGEO**

A cura della Dott.ssa Eleonora Turrini

Il cancro esofageo è all'ottavo posto tra i tumori nel mondo, è particolarmente aggressivo ed ha una sopravvivenza a medio e lungo termine estremamente bassa. Non ci sono risultati soddisfacenti sui benefici della terapia chemioterapica preoperatoria. Infatti, solo una minoranza di pazienti può beneficiare del trattamento neoadiuvante. La chemioterapia basata sull'associazione di cisplatino e 5-fluorouracile (5-FU) con o senza radioterapia rappresenta la principale strategia terapeutica contro questo tipo di tumore. Tra i geni polimorfi implicati nella risposta al cisplatino, 5-FU e radiazioni elenchiamo la famiglia della glutatione S-transferasi (GST), la timidilato sintasi (TS), geni del *pathway* per la riparazione dell'escissione di nucleotidi (NER) come ERCC1 e XPD, che hanno dimostrato avere un ruolo chiave in diversi tipi di tumore, probabilmente grazie al loro ruolo nella detossificazione, inattivazione e riparazione degli addotti del DNA. Scopo del presente studio è stato quello di valutare l'impatto predittivo e prognostico di alcuni polimorfismi nei geni GSTs, ERCC1, XPD/ERCC2 e TS, rilevanti per l'*outcome* clinico di pazienti affetti da cancro esofageo, in soggetti sottoposti a terapia preoperatoria o direttamente a resezione chirurgica. Questo è stato fatto nel tentativo di identificare quei pazienti che potrebbero ricevere maggiore beneficio dal trattamento neoadiuvante cisplatino/5-FU.

Il presente studio retrospettivo include 143 pazienti con diagnosi di tumore esofageo, trattamento e *follow up* presso l'istituto IRCCS di Padova. Di questi, 63 pazienti avevano ricevuto terapia neoadiuvante e 80 sono stati sottoposti direttamente a resezione chirurgica del tumore. Pazienti con coinvolgimento di linfonodi celiaci e/o cervicali (stadio IVA) sono stati inclusi in entrambi i gruppi di pazienti, mentre pazienti con metastasi viscerali (stadio IVB) sono stati inclusi solo nel gruppo sottoposto a terapia preoperatoria. Tutti i pazienti coinvolti nello studio hanno firmato il consenso e lo studio è stato approvato dal comitato etico della struttura. I pazienti sono stati classificati in accordo alla classificazione dell'Unione Contro il Cancro

TNM; adenocarcinoma (SDC) e carcinoma a cellule squamose (SCC) hanno rappresentato rispettivamente il 51 e 49% del totale dei tumori esofagei. Il *follow up* medio dei pazienti è stato di 20 mesi (3-54) e l'*overall survival* (OS) è stata calcolata dalla data della diagnosi fino alla morte o all'ultimo *follow up* del paziente. Pazienti sottoposti a terapia neoadiuvante presentavano un'età media di 62 anni (25-80 anni) e l'81% era di sesso maschile. In questo gruppo i pazienti classificati nel III e IV(A/B) stadio erano la maggioranza. 46 pazienti hanno subito anche intervento chirurgico, 4-8 settimane dopo l'ultimo ciclo di chemioterapia, mentre 17, a causa di risposta completa, rifiuto o impraticabilità dell'intervento, sono stati sottoposti esclusivamente alla chemioterapia; 6 pazienti hanno ricevuto terapia adiuvante. Nel gruppo degli 80 pazienti sottoposti a intervento chirurgico come terapia di prima linea, l'86% era di sesso maschile e l'età media 68 anni (39-86), il 33 % era allo stadio III e il 7% allo stadio IVA; 14 pazienti hanno ricevuto anche terapia adiuvante cisplatino/5-FU.

Tutti i 143 pazienti sono stati genotipizzati per 7 polimorfismi: per ERCC1 rs11615 e rs3212986, per XPD/ERCC2 rs1799793 e rs13181, per la famiglia GST sono stati valutati GSTM1 nullo, GSTT1 nullo e per GSTP1 rs1695. L'analisi di TS è stata fatta solo nei pazienti sottoposti a terapia neoadiuvante. Tutti i polimorfismi sono risultati in equilibrio di *Hardy-Weinberg* ad eccezione di GSTT1. La distribuzione dei polimorfismi nei due gruppi in studio è risultata comparabile ad eccezione di ERCC1 rs3212986 ( $P = 0.03$ ), ma quando l'analisi viene ristretta a pazienti la cui diagnosi è stata fatta allo stadio III o IV, le differenze nei due gruppi spariscono suggerendo che questo polimorfismo potrebbe avere un ruolo nella progressione del tumore. È stata esaminata anche la possibile differente distribuzione dei genotipi tra ADC e SCC, ma non trovando nessuna differenza significativa sono stati considerati come un unico gruppo. Per valutare l'associazione tra risposta terapeutica e polimorfismi, si sono classificate le possibili risposte secondo i criteri RECIST. Si parla di risposta completa (CR) ovvero assenza di tumore rilevabile, risposta parziale (PR) ovvero riduzione di almeno il 50% della massa tumorale, patologia stabile (SD) intendendo con ciò nessuna riduzione o una riduzione del tumore inferiore al 50% e progressione della malattia (PD), cioè qualsiasi progressione di stadio durante la terapia neoadiuvante. Su queste basi i pazienti sono stati classificati in responsivi (19 PR e 10 CR) e non responsivi (17 PD e 17 SD). Non sono state osservate differenze significative tra polimorfismi e CR o PR; mentre come atteso c'è una associazione significativa tra OS e risposta terapeutica, infatti per i responsivi equivale a 51 mesi, mentre per i non responsivi a soli 12 mesi ( $P < 0.001$ ). L'analisi dell'associazione tra genotipo e sopravvivenza effettuata tramite *Kaplan-Meier* rivela che ERCC1 rs3212986 è l'unico parametro associato significativamente a OS nel gruppo di pazienti sottoposti a terapia neoadiuvante ( $P = 0.0076$ ) e tale associazione rimane significativa anche dopo aggiustamento per test multiplo ( $P = 0.045$ ) e dopo analisi secondo il modello di Cox ( $P = 0.008$ ). Al contrario nessuna associazione è stata evidenziata tra OS e variazioni geniche nei geni di interesse nei pazienti del gruppo sottoposto direttamente a resezione chirurgica.

Il polimorfismo ERCC1 rs3212986 è risultato essere un buon *marker* predittivo per la risposta al trattamento neoadiuvante cisplatino/5-FU e potrebbe essere sfruttato per ottimizzare l'approccio terapeutico in pazienti affetti da cancro esofageo.

Data la complessità del *pathway* di riparazione del DNA, dovrà essere approfondito il ruolo dei polimorfismi in questi geni chiave e la risposta al trattamento con cisplatino e 5-FU, sebbene la letteratura supporti il legame tra l'espressione di ERCC1 nei tumori del tratto gastrointestinale e risposta ai regimi terapeutici a base di platino.

**Parole chiave:** cancro esofageo, cisplatino, 5-FU, terapia neoadiuvante, polimorfismo in ERCC1.

#### Riferimento bibliografico

[Rumiato E](#) et al. *Pharmacogenet Genomics*. 2013 Aug 18. [Epub ahead of print].

## **INFLUENZA DEI GENOTIPI DI CYP3A4 NELL'OUTCOME DI PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA OVARICO SIEROSO, TRATTATI CON CHEMIOTERAPIA DI PRIMA LINEA: IMPLICAZIONI DEL PROFILO DI ATTIVITÀ DI CYP3A4**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro ovarico (OC) è uno dei carcinomi più diffusi tra le donne di tutto il mondo con una stima di 225 mila nuovi casi e 140 mila morti ogni anno. Il trattamento standard prevede operazione chirurgica cito-riduttiva, seguita da chemioterapia di prima linea con platino (cisplatino o carboplatino) ed un agente taxano (paclitaxel e docetaxel); tuttavia, nonostante un approccio aggressivo, la sopravvivenza a 5 anni rimane intorno al 45%. Inoltre, sebbene l'80% delle pazienti inizialmente risponde al trattamento, successivamente si assiste a progressione della malattia e comparsa di resistenza al trattamento.

Ad oggi, la comparsa di resistenza non è stata ancora totalmente compresa e molti studi sono focalizzati a comprendere quali meccanismi biologici siano implicati nell'acquisizione di essa. Negli ultimi anni, un numero crescente di analisi ha mostrato come differenze inter-individuali nella risposta al trattamento e nella tossicità possano essere dovute a polimorfismi genetici nei geni codificanti per enzimi del metabolismo.

Tra questi, uno dei più importanti è sicuramente CYP3A4, un enzima chiave coinvolto nella metabolizzazione di numerosi composti esogeni ed endogeni tra cui agenti chemioterapici come tamoxifene o taxani.

L'attività di CYP3A4 mostra una variazione inter-individuale compresa tra i 10 e i 100 fold, influenzando quindi la risposta e la tossicità ai farmaci, nonché l'outcome terapeutico. Tra i polimorfismi più studiati per questo gene, vi sono CYP3A4\*1B e CYP3A4\*22. Considerando il ruolo che questi possono avere nella metabolizzazione degli agenti terapeutici, essi potrebbero ricoprire un ruolo importante nella risposta al trattamento di prima linea del cancro ovarico, influenzando quindi l'overall survival dei diversi pazienti.

Lo studio ha coinvolto 261 donne con carcinoma ovarico istologicamente confermato. Tra queste sono state escluse tutte quelle con tumore ovarico non sieroso e che non erano trattate con chemioterapia di prima linea dopo trattamento chirurgico cito-riduttivo (consistente in paclitaxel, 175mg/m<sup>2</sup>, e cisplatino 75mg/m<sup>2</sup> o carboplatino AUC 5-7.5 con intervalli di 21 giorni, per 6 cicli).

Il DNA, estratto da sangue, è stato genotipizzato per i polimorfismi CYP3A4\*22 C/T, rs35599367 e CYP3A4\*1B A/G, rs2740574. Per CYP3A4\*1B e CYP3A4\*22 la variante G e il genotipo CC rispettivamente, sono stati considerati come genotipi con profilo ad alta attività; il genotipo AA e la variante T per CYP3A4\*1B e CYP3A4\*22, rispettivamente, sono stati considerati come genotipi con profilo a bassa attività. I risultati non hanno mostrato differenze statisticamente significative rispetto ad età alla diagnosi, stadio clinico, sottotipo istologico, stato ormonale, ricaduta e sopravvivenza. Per quanto riguarda il tasso di overall survival (OS), ottenuto mediante metodo di Kaplan-Meier e test Breslow, è stato osservato che il tasso medio di sopravvivenza era statisticamente differente tra i pazienti con diversi genotipi per CYP3A4\*1B. In particolare, il gruppo di pazienti portatori della variante allelica G mostrava una sopravvivenza minore se comparata con pazienti con genotipo AA (103.93 e 134.44 mesi, rispettivamente,  $p = 0.010$ ); di conseguenza, gli individui con genotipo AG/GG mostravano una più bassa OS, conferendo una prognosi peggiore per i soggetti con variante allelica G. Utilizzando l'analisi multivariata di Cox, con l'età come covariata, si è riscontrata una diminuita OS, se comparata con quella di soggetti con genotipo AA (HR, 2.15; 95% CI, 1.03-4.52;  $p=0.043$ ).

Successivamente, è stato analizzato il tasso di OS in accordo con il profilo di attività di CYP3A4. Il gruppo dei pazienti con profilo ad alta attività avevano una diminuita sopravvivenza se comparati con i soggetti a bassa attività di CYP3A4 (101.6 e 134.44 mesi, rispettivamente,  $p = 0.012$ ); il tasso di sopravvivenza a 5 anni era del 68% e del 94% per pazienti con profilo ad alta attività e a bassa attività, rispettivamente. Ancora una volta, utilizzando la regressione di Cox con l'età come covariata è stato notato come individui con profilo ad alta attività avevano una diminuita sopravvivenza rispetto a quelli con bassa attività (HR, 2.29; CI 95%, 1.05-5.02;  $p = 0.038$ ): individui con genotipo CYP3A4\*1B G o CYP3A4\*22 CC (profilo ad alta attività) avevano un OS minore rispetto a quelli con genotipo CYP3A4\*1B AA o CYP3A4\*22 T (profilo ad bassa attività).

In conclusione, lo studio ha evidenziato come entrambi i polimorfismi, CYP3A4\*1B e CYP3A4\*22, possono alterare l'attività di CYP3A4 e influenzare di conseguenza la dose richiesta, la risposta e la tossicità a specifici farmaci con una ridotta finestra terapeutica, come gli agenti chemioterapici. La definizione del profilo di attività di CYP3A4 potrebbe quindi contribuire a delineare un profilo farmacogenetico per il cancro ovarico sieroso, implementando quindi il responso clinico di questi pazienti al regime standard di prima linea.

**Parole chiave:** cancro ovarico sieroso, chemioterapia con taxani e composti del platino, CYP3A4.

#### Riferimento bibliografico

[Assis J et al. Int J Clin Exp Med. 2013, 6\(7\):552-61.](#)

### **POLIMORFISMI INTERGENICI DEL GENE DELL'ANFIREGULINA COME BIOMARCATORI IN PAZIENTI CON CANCRO DEL COLON RETTO METASTATICO TRATTATI CON ANTI-EGFR ED IRINOTECANO**

A cura del Dott. Vittorio Simeon

La sopravvivenza dei pazienti con cancro metastatico del colon retto (mCRC) è migliorata nell'ultima decade grazie soprattutto alle nuove combinazioni di chemioterapici ed alle terapie target come cetuximab (Erbix) e panitumumab (Vectibix). Questi anticorpi monoclonali sono in grado di legare il recettore del fattore di crescita dell'epidermide (EGFR) competendo con il suo ligando naturale. L'attivazione di EGFR innesca l'accensione di diversi pathway come PI3K/AKT e Ras/Raf/Mek/Erk, che contribuiscono alla proliferazione cellulare, alla sopravvivenza, all'angiogenesi e allo sviluppo metastatico del tumore. Lo stato mutazionale di KRAS rimane il marker biologico di risposta maggiormente rilevante nella terapia anti-EGFR. Infatti KRAS mutato è un forte predittore di resistenza a questo tipo di terapia, anche se solamente la metà dei pazienti wild-type per KRAS beneficerà di questi trattamenti. Questo dato mette in evidenza la necessità di analizzare altri marcatori di risposta.

Mutazioni a carico di altri componenti a valle del pathway di EGFR (BRAF, NRAS e PIK3CA) sono state analizzate in un'ampia coorte di pazienti ([De Roock et al., 2010](#)). Questo studio ha confermato l'effetto negativo dello stato mutazionale di KRAS sull'outcome terapeutico e ha messo in evidenza alcune mutazioni a carico di BRAF, NRAS e PIK3CA, che potrebbero così ulteriormente discriminare una piccola percentuale di pazienti non responsivi. Altri studi hanno invece analizzato il ruolo del gene di EGFR e del suo ligando EGF ([Graziano et al., 2008](#); [Hu-Lieskovan et al., 2011](#)). Nonostante EGF sia il ligando naturale di EGFR, altri membri di questa famiglia, come l'anfiregulina (amphiregulin gene- AREG) e l'epiregulina (epiregulin gene - EREG), sono in grado di legare questo recettore. Lo studio di questi ligandi si è finora concentrato sulla misurazione dello staining immunoistochimico e sui livelli di mRNA; è invece del tutto sconosciuto il loro ruolo come marcatori farmacogenetici di risposta alla terapia.

Nello studio pubblicato da Sebio A et al. su *The Pharmacogenomics Journal* è stato analizzato il ruolo di numerosi polimorfismi di AREG e EREG in una popolazione di pazienti con cancro del colon retto metastatico refrattario con KRAS e BRAF wild-type, trattati con irinotecano ed inibitori di EGFR. In questa coorte sono stati inoltre analizzati polimorfismi a carico dei geni EGFR ed EGF, in modo tale da studiare parallelamente diverse componenti extracellulari del pathway di EGFR.

Sono stati reclutati in questo studio retrospettivo settantaquattro pazienti con mCRC refrattario. I dati clinici dei pazienti sono stati raccolti dalle rispettive cartelle cliniche. La risposta al trattamento è stata valutata ogni 2-4 mesi utilizzando i criteri RECIST (1.1) e è stata classificata in questo modo: risposta completa, risposta parziale, malattia stabile e malattia in progressione. Sono stati studiati 22 polimorfismi in 4 geni (EGFR, EGF, AREG e EREG) coinvolti nel pathway di EGFR. I polimorfismi sono stati studiati utilizzando l'analisi per TagSNP, selezionati utilizzando HapMap ed il software Haploview.

Il 54% dei pazienti è stato trattato in seconda linea, mentre il 32% in terza linea ed il 14% in quarta linea. Cinquantacinque pazienti (74%) ha raggiunto il controllo farmacologico della malattia (risposta completa, risposta parziale e malattia stabile) mentre 19 pazienti (26%) ha avuto una progressione della malattia. Non è stata osservata una differenza statisticamente significativa tra il controllo della malattia e la linea di trattamento. La mediana della sopravvivenza libera da progressione (PFS) è stata di 7.7 mesi (95% CI: 6.4 - 9.4) e della sopravvivenza generale (OS) di 18.8 mesi (95% CI: 11.2 - 21.5).

Nell'analisi di associazione tra la risposta e i determinanti genetici, solo i polimorfismi presenti nella regione genetica di AREG correlavano significativamente con il tasso di controllo della malattia: rs11942466 C>A, rs9996584 C>T e rs13104811 A>G. Dopo aver aggiustato per tutte le altre variabili cliniche rilevanti utilizzando un modello di regressione logistica, questi tre polimorfismi mantenevano la loro associazione statistica. Per rs11942466 C>A l'Odds Ratio (OR) era di 0.29 (95% CI: 0.07 - 0.94; P=0.038); per rs9996584 C>T era di 3.77 (95% CI: 1.05 - 16.88; P=0.041); mentre per rs13104811A>G l'OR non era calcolabile per mancanza di pazienti con genotipo GG (P=0.006).

L'analisi di associazione con la PFS ha evidenziato l'importanza degli SNPs in due geni, rs11942466 di AREG e rs712829 di EGFR. Anche in analisi multivariata, dopo aver aggiustato per le variabili cliniche, questi polimorfismi mantenevano la loro significatività statistica in associazione con la PFS. Per rs11942466 C>A, l'hazard ratio (HR) era di 6.03 (95% CI: 1.89 - 19.18; P=0.009), e per rs712829 G>T, l'HR era di 0.66 (95% CI: 0.46 - 0.96; P=0.025).

I due SNP associati alla PFS hanno mostrato una associazione significativa anche con la OS. In più, anche il polimorfismo rs9996584 C>T, presente nel gene AREG, risultava associato con l'OS. Nel modello multivariato, i tre SNP mantenevano la loro significatività anche dopo aver aggiustato per le variabili cliniche. L'HR era di 10 (95%CI: 3.01 - 33.64; P=0.001) per rs11942466 C>A, di 0.55 (95% CI: 0.35 - 0.87; P=0.0009) per rs9996584 C>T e di 0.67 (95% CI: 0.45 - 1.00; P=0.047) per rs712829 G>T.

Negli lavori precedenti che avevano avuto come scopo quello di definire il ruolo di alcuni biomarcatori farmacogenetici nella risposta alla terapia anti-EGFR, i risultati e la potenza degli studi non avevano permesso di chiarire in modo definitivo il ruolo dei polimorfismi funzionali di EGFR ed EGF. Alcuni dei risultati che suggerivano una associazione tra i marker genetici e l'outcome clinico ottenuti da alcuni gruppi di ricerca non erano stati replicati in altri studi successivi, incluso il presente lavoro. Nel presente studio focalizzato sull'analisi di pazienti mCRC con KRAS e BRAF wild-type, la maggior parte delle associazioni descritte in precedenza non sono state confermate, eccetto per il polimorfismo rs712829 di EGFR associato con la sopravvivenza. I risultati di questo studio possono essere quindi raggruppati tra quei lavori in cui il ruolo di EGFR ed EGF come marker rilevanti nella terapia anti-EGFR non viene evidenziato. In questo studio esplorativo sono stati identificati invece associazioni significative tra l'outcome clinico e le varianti genetiche presenti nella regione intergenica di due geni collegati (AREG e AREGB) sul braccio lungo del cromosoma 4 (4q13.3). Il meccanismo che potrebbe spiegare il ruolo predittivo e prognostico di queste varianti genetiche rimane non chiaro. Questi polimorfismi potrebbero essere in linkage disequilibrium con varianti genetiche funzionali presenti nella regione esonica e regolatoria di AREG. Da analisi *in silico* (RegulomeDB e F-SNP) è stato dimostrato che il polimorfismo rs9996584 C>T può influenzare la regolazione a livello trascrizionale andando ad alterare la sequenza di legame per PAX1.

Questa coorte sebbene racchiuda un piccolo numero di pazienti trattati con differenti linee chemioterapiche, rappresenta un'ampia coorte omogenea per quanto riguarda lo stato mutazionale di KRAS e BRAF.

Il lavoro di Sebio A et al propone i polimorfismi localizzati nella regione intergenica dei geni AREG/AREGB come potenziali biomarcatori per l'outcome in pazienti mCRC trattati con terapie anti-EGFR più chemioterapia a base di irinotecano. Questo studio non include una correzione statistica per test multipli e non c'è validazione dei risultati in una serie indipendente di pazienti. Di conseguenza, le ipotesi generate da questi risultati necessitano di validazione successiva ed approfondita in una coorte di pazienti indipendenti e più ampia.

I polimorfismi localizzati nella regione intergenica dei geni AREG/AREGB (rs11942466, rs9996584) sono potenziali biomarcatori per l'outcome clinico in pazienti con cancro del colon retto metastatico trattati con terapie anti-EGFR e chemioterapia a base di irinotecano

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

**Parole chiave:** anti-EGFR, irinotecano, cancro colon retto

#### Riferimento bibliografico

[Sebio A](#) et al., *Pharmacogenomics J.* 2013 Aug 20. doi: 10.1038/tpj.2013.29.

### GEMFIBROZIL PREGIUDICA L'ASSORBIMENTO DELL'IMATINIB E INIBISCE LA FORMAZIONE DEI SUOI METABOLITI PRINCIPALI CYP2C8-MEDIATI

A cura della Dott.ssa Virginia Paribello

L'imatinib è un inibitore delle tirosin-chinasi (TKI) utilizzato per il trattamento della leucemia mieloide cronica (MLC) e i tumori stromali gastrointestinali avanzati (GISTs). L'imatinib è rapidamente assorbito, ha una biodisponibilità orale del 97% e un'emivita ( $t_{1/2}$ ) di circa 18h. Il principale metabolita dell'imatinib è N-desmetilimatinib, che in vitro mostra un'attività farmacologica simile all'imatinib. Il citocromo P450 (CYP3A4) è considerato l'enzima principalmente coinvolto nella biotrasformazione dell'imatinib, tuttavia, studi recenti in vitro suggeriscono che il CYP2C8 partecipa alla N-demetilazione dell'imatinib (*Nebot N et al. Br J Pharmacol 161, 1059-1069, 2010 // Filppula AM et al. Drug Metab Dispos 41, 50-59, 2013*). Inoltre, l'imatinib è un inibitore irreversibile del CYP3A4 *in vitro*, quindi potrebbe inibire il proprio metabolismo CYP3A4-mediato in terapie con dosi ripetute. Pertanto, l'inibizione del CYP3A4 può incrementare il ruolo del CYP2C8 nella farmacocinetica dell'imatinib durante il trattamento. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare l'influenza del gemfibrozil sulla farmacocinetica di imatinib e del suo principale metabolita N-desmetilimatinib in soggetti sani dopo una singola dose di 200 mg di imatinib e attraverso un modello farmacocinetico valutare il contributo del CYP2C8 nel metabolismo dell'imatinib.

In questo studio randomizzato, crossover, in 10 soggetti sani sono stati somministrati 600 mg di gemfibrozil oppure placebo due volte al giorno per 6 giorni e 200 mg di imatinib al giorno dal terzo giorno, per studiare l'influenza del CYP2C8 sulla farmacocinetica dell'imatinib. Nessuno dei dieci volontari sani (8 uomini e 2 donne), di età  $24 \pm 3$  anni, peso  $72 \pm 13$  kg e con indice di massa corporea  $22 \pm 2$  kg/m<sup>2</sup>, era fumatore né faceva uso di contraccettivi orali. È stato stimato che il numero dei partecipanti era sufficiente per individuare una differenza del 30% dell' $AUC_{0-\infty}$  nell'imatinib con una potenza almeno dell'80% ( $\alpha$ -level: 5%). Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato Etico Committee di Helsinki and Uusimaa Hospital District e dal Finnish Medicines Agency. Lo studio è stato effettuato in due fasi con un periodo di washout di 2 settimane. Come pretrattamento, ogni partecipante ha assunto placebo o gemfibrozil 600mg due volte al giorno per 6 giorni. Il terzo giorno di studio, il gemfibrozil è stato assunto alle 08:00 e un'ora dopo, alle 9:00, è stata somministrata una singola dose orale di 200 mg di imatinib. I campioni di sangue, 9ml ciascuno, sono stati ottenuti 60 minuti prima del trattamento e a 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 e 96 ore dopo il trattamento con imatinib. I campioni sono stati raccolti in provette contenenti EDTA, il plasma separato entro 30 min e conservati a -70°C, fino al momento dell'analisi. Le concentrazioni di imatinib e N-desmetilimatinib sono state ottenute utilizzando l'Agilent1100 sistema di cromatografia liquida (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) associato ad un API3000 sistema di spettrometria di massa (Sciex Division di MDS, Toronto, Ontario, Canada). Le concentrazioni plasmatiche di gemfibrozil e gemfibrozil-1-O- $\beta$ -glucuronide sono stati determinati utilizzando l'API2000 QTRAP cromatografia liquida associato ad uno spettrometro di massa (Sciex Division di MDS). Le farmacocinetiche di imatinib e N-desmetilimatinib sono state definite attraverso le  $C_{max}$ , il tempo  $C_{max}(t_{max})$ ,  $C_{max}/C_{24 h}$ , l'area sotto la curva della concentrazione plasmatica/tempo ( $AUC_{0-12h}$ ,  $AUC_{0-96h}$  e  $AUC_{0-\infty}$ ) e  $t_{1/2}$ , determinate con MK Model, versione 5.0 (Biosoft,



Cambridge,UK). I dati clinici ottenuti per imatinib e N-desmetilimatinib sono stati applicati a un modello farmacocinetico di previsione (*Simcyp Population-Based Simulator, V12.00; Sheffield, UK*) per determinare il contributo del CYP2C8 nel metabolismo dell'imatinib.

I partecipanti sono stati sottoposti a genotipizzazione per gli alleli CYP2C8\*3 (c.416G>A, c.1196A>G), CYP2C8\*4 (c.792C>G) mediante genotipizzazione TaqMan (Life Technologies, Paisley, UK). Otto dei dieci partecipanti sono risultati portatori del genotipo CYP2C8\*1/\*1, uno è risultato eterozigote per l'allele CYP2C8\*3 e uno eterozigote per l'allele CYP2C8\*4.

Il gemfibrozil ha ridotto la concentrazione plasmatica  $AUC_{0-12h}$  dell'imatinib dal 35% al 23% ( $P<0,001$ ). Il gemfibrozil ha anche ridotto l'area sotto la curva  $C_{max}$  della concentrazione plasmatica/tempo ( $AUC_{0-\infty}$ ) di N-desmetilimatinib dal 56 al 48 % ( $P<0,001$ ), mentre l' $AUC_{0-\infty}$  di imatinib non è stata influenzata. Inoltre il gemfibrozil ha ridotto il rapporto  $C_{max}/C_{24h}$  di imatinib e di N-desmetilimatinib dal 44% al 17 % ( $P<0,05$ ), sottolineando la fluttuazione giornaliera della concentrazione plasmatica dell'imatinib con l'uso concomitante del gemfibrozil. I parametri farmacocinetici dell'imatinib e del N-desmetilimatinib nei CYP2C8\*3 e CYP2C8\*4 sono risultati simili ai non portatori degli alleli. I risultati ottenuti dimostrano che il gemfibrozil interferisce con il metabolismo dell'imatinib inibendo il CYP2C8 e la formazione di N-desmetilimatinib CYP2C8-mediata. Il gemfibrozil interferisce anche con l'assorbimento dell'imatinib probabilmente a causa dell'inibizione di un trasportatore importante quale OATP1B1. L'effetto inibitorio di gemfibrozil, sia in vitro che in vivo, su OATP1A2/OATP2B1 è ben documentata (*Shitara, Y et al. Pharmacol. Exp. Ther. 311,228-236-2004 // Nakagomi-Hagihara R et al. Xenobiotica. 37,474-486-2007*). Pertanto, questo studio dimostra per la prima volta che il CYP2C8 è importante nel metabolismo dell'imatinib e che l'espressione del trasportatore OATP1A2/OATP2B1 può essere rilevante per l'assorbimento dell'imatinib in vivo. Tuttavia per confermare l'importanza del CYP2C8 e dei trasportatori nell'assorbimento e nel metabolismo dell'imatinib sono necessari ulteriori dati sperimentali. Può essere necessaria una rivalutazione della dose di imatinib se gemfibrozil è somministrato contemporaneamente.

Gemfibrozil riduce l'N-desmetilimatinib e compromette l'assorbimento dell'imatinib determinando conseguenti fluttuazioni di concentrazione plasmatica dell'imatinib.

**Parole chiave:** Gemfibrozil, imatinib, CYP2C8, CYP3A4

#### Riferimento bibliografico

[Filippula AM](#) et al. *Clin Pharmacol Ther* 2013; 94: 383-93.



**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](mailto:sif.farmacologia@segr.it); [sif.informazione@segr.it](mailto:sif.informazione@segr.it); [sifcese@comm2000.it](mailto: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 - ISSN 2282-4758

[http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif\\_gruppo\\_farmacogen.php](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 Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) 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.ssa Alessandra Zanut (Università di Trieste) Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott.ssa Eleonora Turrini (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (Azienda Ospedaliera Polo Universitario "L. Sacco" di Milano)
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](mailto:webmaster@sifweb.org)**DISCLAIMER – Leggere attentamente**

SIF, Società Italiana di Farmacologia, si propone di pubblicare sul proprio sito internet [www.sifweb.org](http://www.sifweb.org) informazioni precise ed aggiornate, ma non si assume alcuna responsabilità né garantisce la completezza ed esaustività delle informazioni messe a disposizione. In particolare, SIF precisa che le risposte fornite ai quesiti medico / tossicologici sono fornite sulla base della raccolta di fonti bibliografiche esistenti (rispetto alle quali non si garantisce la esaustività). Pertanto, dalle risposte ai quesiti non devono essere tratte conclusioni se non un mero richiamo alle fonti presenti in letteratura. La SIF, inoltre, avvisa gli utenti che le informazioni contenute nel proprio sito e le risposte ai quesiti hanno finalità meramente divulgative, informative ed educative e non possono in alcun modo sostituire la necessità di consultare il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e più in generale le Istituzioni nazionali ed internazionali attive in materia. IL SITO INTERNET DI SIF E LE RISPOSTE AI QUESITI NON DEVONO IN ALCUN MODO ESSERE CONSIDERATI PARERI MEDICI. SIF, quindi, declina ogni responsabilità circa l'utilizzo del proprio sito, delle informazioni in esso contenute e delle risposte ai quesiti ed avverte l'utente che ogni e qualsiasi contenuto ed informazione del sito (comprese le risposte ai quesiti) sarà utilizzata sotto diretta e totale responsabilità dell'utente stesso. Né SIF, né alcuna altra parte implicata nella creazione, realizzazione e pubblicazione del sito internet di SIF e nelle redazioni delle risposte ai quesiti possono essere ritenute responsabili in alcun modo, né per alcun danno diretto, incidentale, conseguente o indiretto che deriva dall'accesso, uso o mancato uso di questo sito o di ogni altro ad esso collegato, o di qualunque errore od omissione nel loro contenuto. Le informazioni fornite nelle newsletters, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.sifweb.org>, sulle relative newsletters, e-mails, o qualsiasi dei progetti della SIF, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. La Società Italiana di Farmacologia, i suoi Soci od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentativo 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](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.