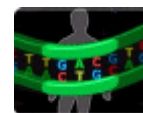




SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 81 – Febbraio 2016

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Evidenza di associazione tra gli SNPs in ABCB1 e CBR3, ma non in RAC2, NCF4, SLC28A3 o TOP2B, e cardiotoxicità cronica in una coorte di pazienti con tumore mammario trattati con antracicline
- Ipertensione indotta da sunitinib in pazienti con carcinoma a cellule renali metastatico portatori dell'allele rs4646437A di CYP3A4
- Polimorfismi di STAT3 possono predire una risposta sfavorevole alla terapia di prima linea a base di platino in donne con carcinoma ovarico epiteliale sieroso
- Coinvolgimento dei polimorfismi dei geni IL17A, IL17F E IL23R nella risposta al trattamento del carcinoma del colon-retto
- MicroRNA regolati da ipossia nel tumore gastro-esofageo

⇒ Immunomodulazione

- La risposta ai farmaci anti-TNF in pazienti giapponesi affetti da artrite reumatoide: uno studio di associazione *genome-wide*
- Le varianti genetiche TPMT e ITPA in pazienti lituani affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali: predominanza ed effetti avversi legati all'azatioprina

⇒ Neurologia

- Farmacogenetica e risposta al trattamento nella narcolessia di tipo 1: rilevanza dei polimorfismi del gene *drug transporter ABCB1*
- Varianti genetiche associate con la risposta al trattamento con litio nel disturbo bipolare: uno studio di associazione *genome-wide*

⇒ La metanalisi del mese

- Meta-analisi sull'efficacia della terapia con anticorpo monoclonale anti-EGFR nel tumore del colon retto metastatico: ruolo della mutazione KRAS G13D

ONCOLOGIA

EVIDENZA DI ASSOCIAZIONE TRA GLI SNP, IN ABCB1 E CBR3, MA NON IN RAC2, NCF4, SLC28A3 O TOP2B, E CARDIOTOSSICITÀ CRONICA IN UNA COORTE DI PAZIENTI CON TUMORE MAMMARIO TRATTATI CON ANTRACICLINE

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

Nell'era delle terapie mirate, la chemioterapia con antracicline rimane un'arma tra le più importanti nell'arsenale contro i diversi tipi di cancro. Una ben nota limitazione di questa terapia è l'effetto tossico che le antracicline possono avere a livello cardiaco, sia acuto che dopo diversi anni dal completamento della chemioterapia. La cardiomiopatia indotta da antracicline si manifesta principalmente come disfunzione sistolica, causando una riduzione della frazione di eiezione ventricolare sinistra (EF) ed un aumento della deformazione del miocardio. In letteratura, l'incidenza di cardiomiopatia indotta da antracicline negli adulti varia molto ed è stata riportata tra l'1 e il 7%. Le differenze nelle capacità dei pazienti di tollerare la chemioterapia con antracicline possono essere attribuite alla variazione genetica, in particolare alla presenza di comuni SNPs germinali. Nonostante diversi studi abbiano già valutato l'influenza della genetica dei pazienti sulla cardiomiopatia indotta da antracicline, non è stato validato alcun SNPs come marcatore clinicamente utile del rischio di cardiotoxicità. In questo lavoro è stata utilizzata una coorte di pazienti, con indicazione al trattamento con antracicline, per indagare biomarcatori fisiologici della cardiotoxicità cronica da esse indotta. Il successo della validazione di SNPs in grado di prevedere la suscettibilità di un paziente alla cardiomiopatia indotta da antracicline potrebbe consentire ai medici di fornire un trattamento genotipo-diretto al fine di ridurre al minimo gli effetti collaterali tossici.

Pazienti e metodi. È stato condotto uno studio osservazionale trasversale di cardiomiopatia indotta da antracicline in una coorte di donne reclutate presso l'università del Michigan Comprehensive Cancer Center. Le pazienti viste nel *Breast Oncology Program*, che avevano completato la chemioterapia neoadiuvante o adiuvante con un regime a base di doxorubicina per il cancro al seno allo stadio I-III e che avevano ricevuto la loro ultima dose almeno 12 mesi prima, potevano essere ammesse al reclutamento. Nessuna delle pazienti di questo studio aveva insufficienza cardiaca congestizia (CHF) prima del trattamento con doxorubicina, in quanto era una rigorosa controindicazione. Erano inammissibili le pazienti con un precedente o secondo tumore che richiedeva la chemioterapia o le radiazioni al petto, che avevano avuto una recidiva del tumore al seno o una metastasi, o che stavano assumendo trastuzumab al momento del reclutamento. Questo studio è stato approvato dal Consiglio di Revisione Istituzionale dell'Università del Michigan Medical School (MI, USA). Dopo che è stato ottenuto il consenso informato, gli individui sono stati sottoposti ad un esame fisico, un prelievo di sangue, raccolta delle urine ed un questionario sulla salute cardiovascolare. Il sangue e i campioni di urina sono stati analizzati per i biomarcatori fisiologici altamente specifici di deformazione del cuore, tra cui il peptide natriuretico cerebrale (BNP), la troponina e NT-proBNP. Gli individui con nota cardiomiopatia indotta da doxorubicina o con un biomarcatore anormale, un esame fisico, o un qualunque sintomo dell'inventario che suggerisse una disfunzione cardiaca, sono stati sottoposti ad ecocardiogramma e ammessi all'analisi secondaria di farmacogenetica. È stata condotta una vasta revisione delle cartelle cliniche per valutare le caratteristiche principali del paziente, della malattia e del trattamento, come l'età, le condizioni di comorbidità, lo stadio del cancro al seno e il trattamento ricevuto. Sono stati effettuati continui controlli di qualità dei dati. Tutti i dati clinici sono stati raccolti prima dell'analisi genetica.

Genotipizzazione. Un totale di 16 SNPs unici sono stati determinati utilizzando il Sequenom MassARRAY e altri otto SNPs d'interesse (ABCB1: rs1128503, RAC2: rs13058338, NCF4: RS 1.883.112, TOP2B: rs10865801, CYP3A4*22: rs35599367, ABCB4: rs1149222, CBR3: rs1056892, CYBA: rs4673) sono stati analizzati utilizzando il saggio di Applied Biosystems (CA, USA) Taqman® Allelic Discrimination.

Analisi statistica. Gli individui sono stati dicotomizzati in casi e controlli per testare l'associazione farmacogenetica con l'endpoint primario, la disfunzione sistolica è stata definita come $EF < 55\%$, mentre i pazienti con $EF \geq 55\%$ sono stati classificati come controlli. La soglia del 55% di EF è stata scelta sulla base

delle Linee guida della Società Americana di Ecocardiografia. Le caratteristiche demografiche sono state confrontate tra casi e controlli utilizzando il test esatto di Fisher per le variabili categoriche mentre per l'età, l'indice di massa corporea e la dose cumulativa di antracicline è stato usato il test di Wilcoxon della somma dei ranghi. Dei 24 SNPs inclusi nell'analisi, quattro sono stati selezionati a priori come ipotesi co-primaria basata su precedenti repliche di successo (RAC2 rs13058338, NCF4 rs1883112, SLC28A3 rs7853758) e su rationale biologico (TOP2B rs10865801). Sulla base della letteratura sono stati selezionati il modello genetico e la direzione dell'effetto per ogni ipotesi co-primaria. Data la direzione predefinita, l'analisi è stata studiata con un p-value unilaterale pari a $p=0.10$ (che è equivalente al comune $p=0.05$ per un test a due code). In quest'analisi sono stati effettuati quattro test di associazione unilaterali utilizzando una soglia di significatività opportunamente corretta di $\alpha=0,025$ ($0,10/4$). Uno screening secondario non corretto è stato effettuato includendo tutti gli SNPs per testare l'associazione con $EF<55\%$, assumendo un modello genetico additivo senza definire una direzione di effetto. Quest'analisi esplorativa, ipotesi-generatrice, non è stata sottoposta ad alcuna correzione statistica. Le analisi di associazione degli SNP sono state condotte utilizzando la regressione logistica univariata, seguita da una regressione multivariata per tutte le associazioni positive correggendo per le covariate di rilevanza clinica (età al momento dell'arruolamento, ipertensione, trattamento con trastuzumab, dose cumulativa di antracicline e radiazione del lato sinistro). Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando il software SAS® v9.3 (SAS, NC, USA) e R 3.0.2 (pacchetto di genetica).

Risultati. Tra i 293 soggetti reclutati nello studio, 166 sono stati sottoposti ad ecocardiogramma a causa della nota CHF indotta da antracicline o per un anormale biomarker indicativo di CHF. Di questi 166 ecocardiogrammi, sono stati identificati 19 casi di disfunzione sistolica ($EF<55\%$). La popolazione di pazienti era prevalentemente composta da bianchi non ispanici (95%) con un'età media di 50 anni al momento del trattamento con antracicline e 56 anni al momento del reclutamento nello studio. Oltre l'80% dei soggetti ha ricevuto radiazioni, con circa la metà di queste rivolte al lato sinistro del torace, e meno del 20% dei pazienti ha ricevuto trastuzumab. Nessun paziente ha ricevuto trastuzumab in concomitanza con doxorubicina e nessuno era in trattamento con trastuzumab al momento del reclutamento. Non sono state identificate differenze significative nei dati demografici, nel trattamento, o nei fattori clinici tra i casi ed i controlli ($p>0,05$). Un solo SNP ha fallito il controllo di qualità (CYP3A4*1B, rs12705060) ed è stato escluso lasciando 23 SNP per l'analisi. Nessuna delle quattro ipotesi co-primarie è risultata significativamente associata con $EF<55\%$ con il modello genetico selezionato e la direzione dell'effetto ($p>0,025$). La scelta del modello genetico non ha cambiato significativamente i risultati, e neanche la correzione per le covariate cliniche o l'analisi ristretta ai soli pazienti bianchi ($n=157$) ($p>0,02$). Tutti i 23 SNP candidati sono stati poi testati per un'associazione con $EF<55\%$ in un'analisi secondaria di screening farmacogenetico ipotizzando un effetto genetico additivo e utilizzando una soglia non corretta di significatività pari a $p<0,05$. In quest'analisi, la variante allelica di ABCB1 3435C>T (rs1045642) ha mostrato un effetto protettivo additivo (odds ratio [OR]=0.48; 95% CI: 0,23-1,00; $p=0,049$). Una seconda associazione è stata vista per la variante V244M in CBR3 (rs1056892), che aveva un rischio incrementato di $EF<55\%$ (OR=2.50; 95% CI: 1,22-5,11; $p=0,012$), ed un effetto ancora più forte nel modello genetico recessivo (OR=6.19; 95% CI: 1,94-19,76; $p=0,002$). Tutte le associazioni additive sono rimaste nominalmente significative anche dopo la correzione per le covariate cliniche ($p=0,048$, $p=0,012$, rispettivamente) e anche quando entrambe le variabili genetiche sono state incluse nel modello insieme alle covariate cliniche ($p=0,029$, $p=0,008$, rispettivamente).

Un'analisi secondaria di farmacogenetica ha rilevato un'associazione significativa tra due SNPs in ABCB1 e CBR3 e la disfunzione sistolica, tuttavia queste associazioni non corrette richiedono una replica aggiuntiva in coorti più grandi di pazienti con cardiotoxicità indotta da doxorubicina.

A causa della bassa potenza statistica di questo studio, è stato possibile concludere solo che le associazioni precedentemente riportate dall'analisi genetica non potevano essere convalidate in questa coorte, ma questo non significa che non siano vere.

Parole chiave: ABCB1, antraci cline, cardiotoxicità, CBR3, doxorubicina, NCF4, farmacogenetica, RAC2, SLC28A3, disfunzione sistolica, TOP2B

Riferimento bibliografico

Hertz DL et al. *Pharmacogenomics* 2016, 17(3):231-40.

IPERTENSIONE INDOTTA DA SUNITINIB IN PAZIENTI CON CARCINOMA A CELLULE RENALI METASTATICO PORTATORI DELL'ALLELE RS4646437A DI CYP3A4

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

L'inibitore tirosin-chinasico sunitinib viene ampiamente prescritto per il trattamento del carcinoma a cellule renali (mRCC). L'ampia variabilità inter-individuale nella risposta rende difficile prevedere l'*outcome* del singolo paziente. Inoltre, l'insorgenza di eventi avversi può richiedere una riduzione del dosaggio o una sospensione del farmaco tale da compromettere l'efficacia del trattamento. La variabilità può essere spiegata da diversi fattori tra cui il profilo genetico del paziente. Il sunitinib viene metabolizzato dal CYP3A4 nel metabolita attivo SU12662. È stata riscontrata una minore frequenza di tossicità di grado 3 e 4 nei portatori dell'allele A del rs4646437 del CYP3A4 rispetto ai *wild-type* (WT) GG in una coorte di 159 pazienti affetti da mRCC trattati con sunitinib (Urun et al. ASCO Meeting Abstr 2013).

Scopo di questo studio è stato quello di valutare la relazione tra rs4646437 del CYP3A4 ed il trattamento a base di sunitinib in un'ampia coorte di pazienti affetti da mRCC.

I dati ed i campioni di DNA di questa ampia coorte sono stati ottenuti da precedenti studi di farmacogenetica su pazienti arruolati tra il 2004 ed il 2010 ed in trattamento con sunitinib per mRCC. La tossicità del farmaco è stata valutata durante 4 cicli di trattamento di 6 settimane e misurata al basale, alla settimane 4 e 6 di ogni ciclo secondo la versione 3 o 4 del *National Cancer Institute-Common Terminology Criteria for Adverse Events* (NCI-CTCAE). Per l'efficacia è stata valutata la *progression free survival* (PFS) definita come tempo in mesi tra l'inizio del trattamento e la progressione di malattia secondo la versione 1 dei *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors* (RECIST). L'*overall survival* (OS) è stata definita come il tempo in mesi tra l'inizio del trattamento e la morte o l'ultima data di *follow-up*.

I pazienti eleggibili sono stati 287 di cui il 68% di sesso maschile. I portatori del genotipo *wild-type* GG erano 228, 55 gli eterozigoti AG e 7 i portatori del genotipo AA. La maggior parte dei pazienti non presentava tossicità al basale (solo 0-4,5% le tossicità di grado 1-3 e nessuna tossicità di grado 4). Una riduzione del dosaggio è stata necessaria nel 33% dei pazienti nei cicli 1-4. Tossicità di grado >2 è stata riscontrata nel 25% dei pazienti. Le tossicità di grado 3-4 riscontrate entro il 4 ciclo di sunitinib sono state trombocitopenia (7,7%), leucopenia (2,5%), mucosite (3,1%), sindrome mani-piedi (5,2%) ed ipertensione (13,6%). È stata osservata un'associazione significativa tra la presenza dell'allele A ed un aumento del rischio di ipertensione (OR=2,4; p=0,021). La PFS mediana era di 17 mesi e la OS di 29 mesi. Non è stata riscontrata differenza significativa tra la presenza dell'allele in studio e la sopravvivenza.

In questo studio è stata osservata un'associazione significativa tra la presenza dell'allele A del rs4545437 del CYP3A4 e l'aumento del rischio di ipertensione in pazienti con mRCC trattati con sunitinib. È la prima volta che questo SNP viene studiato in un'ampia coorte di pazienti, in cui è stata riscontrata un'ipertensione di grado 3-4 nel 14% dei casi, come nello studio di Urun et al. (Urun et al. ASCO Meeting Abstr 2013), pur non essendo stata confermata l'associazione tra la presenza del genotipo AG ed un rischio ridotto. La differenza nei risultati tra i due studi può essere spiegata in parte dal più ampio campione in studio (287 versus 159), dal più alto numero di portatori dell'allele A (20,6% versus 11,2%), dal ridotto numero di eventi avversi di grado > 2 (24,7% versus 52%). In base ai risultati di questo studio rimane difficile spiegare se i portatori dell'allele A presentino un'aumentata o una ridotta funzione dell'enzima. In entrambi i casi si potrebbe avere un aumento dell'esposizione al farmaco, con una conseguente maggiore inibizione del recettore del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGFR-2) e quindi un maggior rischio di ipertensione. Diversi studi hanno mostrato come un'aumentata esposizione sistemica al sunitinib ed al suo metabolita risulti in un aumento del rischio di ipertensione o di altre tossicità tipiche (Houk et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010, 66:357-71; Mizuno et al. *Drug Metab Pharmacokinet* 2012, 27:631-39; Nagata et al. *Biol Pharm Bull* 2015, 38:402-10; Noda et al. *Clin Genitourin Cancer* 2015, 13:350-358; Teo et al. *Pharmacogenomics J* 2015). L'SNP in studio non è stato associato con una diversa efficacia, al contrario di quanto osservato in altri studi su SNP

dell'ABCBI (Diekstra et al. *Eur Urol* 2015, 68:621-29; Diekstra et al. *Clin Pharmacol Ther* 2014, 96:81-9; Beuselinck et al. *Acta Oncol* 2014, 53:1413-22).

In conclusione, in questo studio i portatori dell'allele rs4646437A di *CYP3A4* hanno mostrato una maggiore frequenza di insorgenza di ipertensione. Sono necessarie ulteriori conferme a supporto dell'utilizzo di questo SNP come *biomarker* di tossicità da sunitinib.

Parole chiave: tumore a cellule renali, *CYP3A4*, sunitinib

Riferimento bibliografico

[Diekstra MH](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2016 Jan 26 [Epub ahead of print].

POLIMORFISMI DI STAT3 POSSONO PREDIRE UNA RISPOSTA SFAVOREVOLE ALLA TERAPIA DI PRIMA LINEA A BASE DI PLATINO IN DONNE CON CARCINOMA OVARICO EPITELIALE SIEROSO

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il carcinoma ovarico epiteliale (EOC) è la quinta causa di morte tra le donne americane, e circa l'80% dei casi presentano malattia sierosa in fase avanzata (stadio III/IV). Il trattamento standard per le pazienti affette da EOC avanzato è la resezione chirurgica, seguita da chemioterapia basata sul platino +/- paclitaxel. Delle pazienti trattate, circa il 70% presenta una risposta clinica completa (CR) e sono definite "chemiosensibili"; il restante 30% ha una risposta iniziale incompleta (IR) e vengono pertanto definite "chemioresistenti". Benché la chemioresistenza sia influenzata da numerosi fattori, tra i quali età, stadio tumorale, e grado, la farmacogenomica suggerisce che, sulla base dello specifico corredo genetico alcuni farmaci saranno maggiormente efficaci e sicuri per un determinato individuo. In passato è stato dimostrato che le varianti genetiche in geni implicati nella farmacocinetica e farmacodinamica del platino possono predire la risposta terapeutica e la tossicità nel carcinoma ovarico epiteliale; tuttavia, fino ad oggi non è stato ancora analizzata l'influenza di SNPs in geni legati alle cellule staminali cancerose (CSC, *cancer stem cell*). Infatti, recentemente è stato riportato che le CSC possono essere alla base della progressione del EOC e rappresentare un target farmacologico promettente. Date le suddette premesse, lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare l'associazione tra SNPs in geni *CSC-related* e la risposta alla chemioterapia di prima linea basata sul platino dopo resezione chirurgica.

A tale scopo, sono state arruolate 102 pazienti IR e 259 CR; sono stati selezionati 24 geni, che in base alla letteratura, risultavano coinvolti nella biologia o nella regolazione delle CSC ovariche e di questi sono stati analizzati 5509 polimorfismi. Le 361 pazienti avevano carcinoma ovarico sieroso in fase III o IV. Dalle analisi di associazione tra SNPs e risposta al trattamento, e in seguito ad aggiustamento per diversi parametri, 24 polimorfismi in 8 geni (ALDH1A1, COMT, ENG, ESRRB, LIN28, NOTCH1, PROM1 e STAT3) sono risultati significativamente associati; tra questi, STAT3 rs62075772 [OR: 2.42, 95%CI 1.47-3.98, p=0.0005] era il più significativo. In seguito ad aggiustamento per fattori prognostici addizionali (tra i quali malattia ad alto grado e malattia residua dopo resezione), i polimorfismi di STAT3 rimanevano statisticamente associati (p<0.005), ed in particolare lo SNP rs62075772 risultava associato con la chemioresistenza al platino [OR: 2.24, 95%CI 1.32-3.78, p=0.0027]. L'analisi a livello genico, ha mostrato che i geni STAT3 e NOTCH1 erano globalmente associati con la chemioresistenza alla terapia (AML p_{trend} =0.0006 e 0.03, rispettivamente). L'analisi degli aplotipi di STAT3 ha mostrato inoltre 6 blocchi aplotipici, di cui il blocco 4 -contenete rs62075772- era quello più fortemente associato con la risposta alla terapia (p=0.0054).

Successivamente, gli autori hanno valutato se l'espressione di STAT3 poteva essere associata con la risposta terapeutica. L'analisi dell'espressione sul tessuto tumorale di 316 pazienti ha rivelato che i livelli di espressione erano leggermente maggiori nei 93 casi IR comparati con i 223 CR; tuttavia questo dato non era significativo (p=0.15). Un risultato interessante sembra invece riguardare lo SNP rs1053004 (G>A), una

variante situata nell'ipotetico sito di legame del miR-423-5p nella 3'UTR di STAT3. Infatti, la presenza dell'allele A è risultata correlata con livelli minori di STAT3 (AA+GA vs GG, $p=0.043$).

Questo studio, di tipo osservazionale, insieme alle recenti evidenze che hanno mostrato il coinvolgimento di STAT3 nell'induzione di chemioresistenza nel trattamento con il platino, suggeriscono una rilevanza clinica dei polimorfismi germinali di STAT3 come fattori predittivi della risposta del carcinoma ovarico epiteliale alla terapia a base di platino nelle pazienti con nuova diagnosi. Lo studio ha senza dubbio diversi punti di forza. Tra questi vanno inclusi sicuramente l'originalità del lavoro e l'ampiezza della popolazione analizzata, soprattutto se raffrontata ad altri studi che hanno valutato gli SNP in geni CSC-relati e la risposta alla terapia. Inoltre va anche sottolineato che la popolazione era relativamente omogenea, essendo composta da sole donne con EOC sieroso avanzato. Tenendo in considerazione che il lavoro sembra essere solido dal punto di vista statistico, va sempre ricordato che esiste comunque la possibilità di falsi positivi e che questi dati hanno la necessità di essere replicati in una coorte indipendente.

In conclusione, lo studio fornisce la prima evidenza che i polimorfismi germinali di STAT3 e di altri geni CSC-relati possono influenzare la risposta alla terapia di prima linea basata sul platino, in pazienti affette da carcinoma ovarico epiteliale sieroso.

Parole chiave: cancro ovarico epiteliale sieroso, terapia basata sul platino, SNP di STAT3

Riferimento bibliografico

[Permeth-Wey J](#) et al. *Int J Cancer* 2016, 138(3):612-9.

COINVOLGIMENTO DEI POLIMORFISMI DEI GENI IL17A, IL17 F e IL23R NELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO DEL CARCINOMA DEL COLON-RETTO

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Le citochine sono fattori essenziali nell'innescare, sostenere e controllare la risposta immunitaria. La linea linfocitaria T-helper17 (Th17) che produce grandi quantità d'interleuchina (IL-)17 ha un ruolo sia nel promuovere sia nel contrastare il tumore. In tale contesto alcuni studi hanno dimostrato che l'isoforma IL-17A è iper-espressa, mentre IL-17F è down-regolata nel plasma e nei tessuti di pazienti con carcinoma del colon-retto (CRC). Gli autori di questo studio avevano in precedenza analizzato l'effetto di tre polimorfismi a singolo nucleotide: IL17F-rs763780, IL23R-rs10889677 e IL17A-G197A dimostrando che tali SNPs erano associati con lo sviluppo, la localizzazione e la progressione del CRC (*Tumour Biol.* 2014;35:6627-32). In particolare, il genotipo IL17A-197AA era associato con l'aumento della suscettibilità al tumore del colon. In questo studio, gli autori hanno testato l'associazione tra i polimorfismi summenzionati e il carcinoma del colon e del retto considerati separatamente e hanno analizzato anche il coinvolgimento dei tre SNPs nell'influenzare la risposta alla terapia e il grado di sopravvivenza in pazienti con CRC.

La popolazione in studio (45 donne e 55 uomini con età media di 58 anni) era rappresentata da 102 pazienti con CRC sporadico, arruolati presso il "Salah Azaiez hospital and Charles Nicolle hospital" di Tunisi. Il DNA genomico è stato isolato da sangue periferico mediante il metodo di estrazione fenolo/cloroformio e la genotipizzazione è stata eseguita utilizzando la tecnica di PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).

Il genotipo IL17F-AG/GG era più frequente nel gruppo di controllo mentre IL23R-AC/AA risultava più frequente nei pazienti con carcinoma del colon; nessuna associazione significativa dal punto di vista statistico è stata rilevata tra i genotipi e il carcinoma rettale. In particolare, il genotipo 17F-AG/GG era protettivo, mentre IL23R-AC/AA aumentava il rischio di sviluppare il carcinoma del colon. In seguito gli autori hanno studiato la possibile associazione tra i polimorfismi e la risposta alla terapia stratificando i pazienti in base al trattamento ricevuto: chirurgia radicale, chemioterapia neo-adiuvante, chemioterapia adiuvante e radioterapia. I pazienti *wild-type* per il polimorfismo IL17F, ossia con genotipo GG, erano quelli che rispondevano meglio al trattamento sia chirurgico sia chemioterapico. Al contrario i pazienti portatori del

polimorfismo IL17A, ossia con genotipo GA/AA erano non responsivi sia al trattamento chemioterapico sia al radioterapico. Con riferimento allo stadio del tumore CRC, la maggior parte dei pazienti con genotipo IL17A-GA/AA che erano in trattamento con chemio- o radio-terapia avevano un tumore in stadio avanzato e il genotipo GA/AA mostrava un effetto additivo con lo stadio tumorale nel determinare il rischio di fallimento terapeutico. Infine, i pazienti con genotipo IL17F-AA mostravano una sopravvivenza più lunga associata al trattamento con chemioterapia neoadiuvante e radioterapia preoperatoria rispetto a quelli sottoposti a chirurgia radicale e chemioterapia.

Questo studio suggerisce che il polimorfismo IL17A-G197A è correlato con un aumento del rischio di sviluppare CRC, mentre i polimorfismi dei geni IL17F-rs763780 e IL23R-rs10889677 influenzano lo sviluppo del tumore solo quando localizzato al colon. L'effetto del polimorfismo IL17F-rs763780 potrebbe essere dovuto all'azione di questa citochina sul fattore angiogenico VEGF. Infatti, alcuni studi condotti in precedenza avevano mostrato che i livelli di VEGF erano aumentati nel tessuto di topi con carcinoma del colon deficitari dell'isoforma IL17F (IL17F -/-) suggerendo che IL17F possa svolgere un ruolo protettivo nei confronti di questo tipo di tumore inibendo l'angiogenesi. Mentre i polimorfismi dei geni IL17A-G197A e IL17F-rs763780 hanno un ruolo (tra loro contrapposto) nel determinare il rischio di sviluppare il carcinoma al colon, il polimorfismo del gene IL23R-rs10889677 non sembra influenzare l'esito di nessun tipo di trattamento.

Questo studio suggerisce che il polimorfismo IL17F-A7488G ha un ruolo protettivo, mentre IL17A-G797A aumenta il rischio di sviluppare il carcinoma del colon-retto. Inoltre, i due polimorfismi sembrano interagire tra loro nel determinare l'esito del trattamento antitumorale.

Parole chiave: IL17A, IL17F, carcinoma colon rettale, chemioterapia, angiogenesi

Riferimento bibliografico

[Omrane I](#) et al. *PLoS One* 2015, 10(6):e0128911.

MICRORNA REGOLATI DA IPOSSIA NEL TUMORE GASTRO-ESOFAGEO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

L'ipossia è una condizione piuttosto comune nel microambiente dei tumori solidi. I geni regolati dall'ipossia sono noti per il loro coinvolgimento in molteplici processi biologici e cellulari, quali la proliferazione, l'angiogenesi, il metabolismo, l'immortalizzazione, la migrazione e in fenomeni clinici, come il fallimento della terapia e la compromissione della sopravvivenza. Si è visto che molti miRNA sono regolati da ipossia (HRM) e fattori inducenti l'ipossia (HIF). Lo scopo di questo studio è stato quello di identificare e validare HRM *in vitro*, e determinare le associazioni fra HRM e sopravvivenza e risposta alla terapia in pazienti con tumore gastro-esofageo (GEC).

Per realizzare questo studio sono stati arruolati 195 pazienti, così suddivisi: 129 aventi tumore locoregionale a cellule squamose esofagee (ESCC), di cui 86 sono stati inseriti nel gruppo di training e 43 a quello di validazione; e 66 aventi adenocarcinoma (AC) di esofago, giunzioni gastro-esofagee o stomaco, dei quali 44 hanno costituito il set di training e 22 quello di validazione. I primi hanno ricevuto somministrazioni di 5-fluorouracile con/senza cisplatino e radioterapia, i secondi sono stati trattati con chemioterapia (cisplatino, epirubicina e capecitabina) o 5-fluorouracile. Per lo studio sono anche state acquistate tre linee cellulari: una cellule squamose di tumore di esofago umano ESCC (OE21) e linee cellulari di adenocarcinoma alle giunzioni gastro-esofagee AC (OE19 e OE33). Per indurre l'ipossia nelle cellule, sono state incubate in una camera a tenuta stagna in cui erano presenti lo 0% di ossigeno, il 5% di CO₂ e il 95% di azoto, a 37°C per 24 ore.

L'analisi dei miRNA estratti dalle cellule subito dopo l'induzione di ipossia è stata effettuata mediante Affymetrix GeneChip miRNA 1.0 o 2.0 microarrays. Dopo la normalizzazione, sono stati scelti per la validazione in qPCR solo i miRNA il cui fold-change indicasse una sovraespressione di almeno 1.5 dal confronto fra i campioni trattati e non trattati delle 3 linee cellulari. L'esito clinico primario è stata la

sopravvivenza globale (OS), definita come il tempo intercorso fra la data della diagnosi istologica e la morte per ogni causa o l'ultimo follow-up; il secondo è stato posto come sopravvivenza specifica per la patologia (DSS), ovvero il tempo dalla diagnosi alla morte a causa di o con GEC, oppure l'ultimo giorno di follow-up; la risposta patologica completa (ypCR) è stata invece definita come la scomparsa di ogni cellula tumorale vitale residua nel campione asportato.

Per quanto riguarda la linea ESCC, 7 miRNA sono risultati sovraespressi e 6 sottoespressi, nelle linee AC, 10 sono risultati sovraespressi e 5 sottoespressi; è interessante notare che 5 miRNA (miR-210, miR-193b*, miR-200c*, miR-30b* e miR-1308) sono risultati sovraespressi in tutte le linee. I 12 miRNA sovraespressi sono poi stati validati in qPCR, ad esclusione del miR-1246 per il quale non era disponibile la specifica sonda TaqMan e che è quindi stato escluso dall'analisi; l'analisi di qPCR ha inoltre considerato 4 HRM candidati dalla letteratura: miR-93, miR-181b e miR-373, associati all'ipossia, e miR-620 che era stato visto precedentemente, essere coinvolto nella radioresistenza *in vitro*. I miRNA downregolati non sono stati ulteriormente analizzati.

L'efficienza della PCR è risultata sufficiente solo per 6 (miR-21, miR-27a-star, miR-210, miR-93, miR-181b and miR128) dei 15 miRNA considerati in questa analisi. La sovraespressione di miR-210 è stata confermata nella linea ESCC e questa induzione è risultata significativa ($p < 0.001$), mentre miR-128 non presentava differenze di espressione fra campioni trattati e controlli ($p = 0.29$). Nelle linee AC, si è riscontrata un'induzione rilevante per miR-210 ($p < 0.001$) e per miR-27a* ($p = 0.04$). miR-181b e miR-93, scelti dalla letteratura, non hanno mostrato differenze significative.

In seguito è stata valutata la correlazione fra gli HRM e l'esito clinico nei pazienti con ESCC e AC. Nel set di training di AC, miR-200c* si è rivelato inversamente associato con OS e DSS [OS: HR=2.76, 95% (CI)=1.19-6.44; $p = 0.019$ e DSS: HR=6.53, 95% CI=2.23-19.14; $p = 0.001$]; tuttavia questa scoperta non è stata confermata nel gruppo di validazione. Nel gruppo di validazione di ESCC, è emerso un decremento significativo per OS e DSS nei pazienti aventi l'espressione di miR-200c* superiore al cut-off [OS: HR=2.38, 95% CI=1.02-5.57; $p = 0.046$ e DSS: HR=3.20, 95% CI=1.13-9.08; $p = 0.029$]. Non sono state rilevate associazioni significative fra gli HRM e il responso patologico o radiologico nei gruppi di training ESCC e AC, tuttavia, nel set di validazione per ESCC, una sottoespressione, rispetto al cut-off, di miR-193b* è stata vista essere correlata con ypCR ($p = 0.039$).

Il ruolo clinico degli HRM deve ancora essere adeguatamente valutato. La regolazione ipossica di miR-210 è stata dimostrata in tre differenti linee di GEC, evidenziando una significativa induzione del miRNA nei campioni ipossici delle linee cellulari ESCC e AC. In studi paralleli, è stato confermato che miR-210 è sovraespresso in maniera ubiquitaria e preponderante nella risposta al processo di ipossia nei carcinomi all'esofago, gastrico, alla testa e al collo, al seno, alle ovaie e nel colon. È interessante notare che miR-210, miR-193b*, miR-200c*, miR-30b* e miR-1308 risultano sovraespressi nelle linee cellulari di questo studio, indicando che questi HRM possano essere indotti da componenti comuni della risposta mediata dall'ipossia.

Questo studio supporta l'influenza dell'ipossia sull'espressione dei miRNA *in vitro* e conferma il ruolo di miR-210 come un HRM universale.

Parole chiave: cancro gastroesofageo; microRNA; ipossia; miR-210

Riferimento bibliografico

[Winther M](#) et al. *Anticancer Res.* 2016, 36(2):721-30.

IMMUNOMODULAZIONE

LA RISPOSTA AI FARMACI ANTI-TNF IN PAZIENTI GIAPPONESI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE: UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE*

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

L'artrite reumatoide è una patologia autoimmune cronica a carico delle articolazioni sinoviali risultante in una progressiva perdita della funzionalità articolare. Il trattamento farmacologico di tale condizione si avvale sia di una terapia sintomatica, efficace nel ridurre l'infiammazione ed il dolore ad essa associato, che dei cosiddetti "farmaci di fondo", finalizzati a fermare, o quantomeno rallentare, la progressione della malattia. Tra i farmaci sintomatici più comunemente utilizzati si annoverano FANS, COXIBs e glucocorticoidi. I farmaci di fondo, detti anche DMARDs (dall'inglese "*Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs*") includono, invece, i sali d'oro, l'idrossiclorochina, la sulfasalazina, la ciclosporina A, il metotrexato, la leflunomide e i farmaci biologici. Nello specifico, tra gli agenti biologici, i farmaci anti-TNF sono emersi essere particolarmente efficaci nel controllo della progressione della malattia. Dati gli elevati costi e le reazioni avverse da essi indotti, tali farmaci sono stati approvati per la terapia dell'artrite reumatoide non responsiva ad uno o più farmaci di fondo tradizionali. Dalla pratica clinica emerge, tuttavia, come il 30-40% circa dei pazienti in trattamento con agenti anti-TNF non risponda o presenti una scarsa risposta anche a questi ultimi. Numerosi studi farmacogenetici sono stati quindi finalizzati ad identificare potenziali marker genetici predittivi della risposta agli agenti biologici anti-TNF in soggetti affetti da artrite reumatoide. Tuttavia, tali studi sono stati condotti principalmente con un approccio per geni candidati su pazienti di etnia caucasica e le evidenze da essi riportate sono emerse essere inconsistenti tra loro. Sulla base di tali limitazioni, l'obiettivo di questo studio di associazione *genome-wide* è stato quello di identificare eventuali fattori genetici predittivi della risposta a farmaci anti-TNF in pazienti giapponesi affetti da artrite reumatoide.

Questo studio di associazione è stato condotto su un campione di 487 pazienti arruolati sulla base dei seguenti criteri di inclusione: i) etnia giapponese; ii) diagnosi di artrite reumatoide effettuata tramite i criteri diagnostici dell' "*American College of Rheumatology*" (ACR) del 1987; iii) patologia non in remissione; iv) inizio di terapia con un farmaco anti-TNF, quale etanercept, infliximab o adalimumab, in pazienti naïve per tale classe di farmaci o in soggetti sottoposti a switching da un farmaco anti-TNF ad un altro appartenente alla stessa classe. La risposta alla terapia con agenti anti-TNF è stata valutata a 3 e a 6 mesi dall'inizio della somministrazione di tali farmaci mediante la misurazione della variazione dell'indice clinimetrico *Disease Activity Score* in 28 articolazioni (DAS28), rispettivamente a 3 e a 6 mesi rispetto al baseline (Δ DAS-3, Δ DAS-6). Il DNA germinale è stato estratto da campioni di sangue intero ed è stato genotipizzato per 1.133.484 SNPs tramite HumanOmni1-Quad BeadChip e Infinium HD Assay. È stata inoltre effettuata l'imputazione di genotipi di varianti non tipizzate mediante il software Impute2. Gli SNPs con frequenza dell'allele minore $\leq 1\%$ o al di fuori dell'equilibrio di Hardy Weimberg sono stati esclusi dall'analisi di associazione.

Dei 487 pazienti arruolati per lo studio, 444 sono risultati essere esaustivamente caratterizzati in termini di genotipi e risposta agli agenti anti-TNF, valutata a 3 e a 6 mesi dal baseline. I pazienti presentavano una durata media della malattia pari a $8,1 \pm 8,5$ anni e l'84% di questi era di sesso femminile. Il 94% dei soggetti era naïve al trattamento con farmaci anti-TNF e l'80% è risultato essere in terapia con farmaci anti-TNF in combinazione con metotrexato. La risposta agli agenti anti-TNF è emersa essere significativamente migliore a 6 mesi dal baseline rispetto a quella valutata a 3 mesi dall'inizio della somministrazione [Δ DAS-3 (media \pm sd): $1,50 \pm 1,01$, Δ DAS-6: $1,72 \pm 1,12$; $p=0,002$]. Variabili quali, DAS28 al baseline, uso concomitante di metotrexato e durata della terapia con anti-TNF sono risultate essere statisticamente associate alla risposta ad anti-TNF, valutata sia a 3 che a 6 mesi dal baseline ($p < 0,0005$). Dall'analisi di associazione *genome-wide*, è emerso un trend di associazione tra tre regioni genomiche indipendenti e la risposta a farmaci anti-TNF, valutata sia a 3 che a 6 mesi dal baseline. Nello specifico, le varianti rs284515 in posizione 6q15, rs75908454 in 6q27 e rs1679568 in 10q25.3 sono risultati essere i top SNPs nelle regioni genomiche di interesse correlate all'outcome in studio (rs284515: $p=6,6 \times 10^{-7}$; rs75908454: $p=6,3 \times 10^{-7}$; rs1679568: $p=8,1 \times 10^{-7}$). Tuttavia, si evidenzia come nessuna delle varianti genetiche analizzate abbia raggiunto la significatività statistica *genome-wide* nell'analisi di associazione ($p < 1,17 \times 10^{-8}$).

La variante rs284515 è localizzata sul cromosoma 6 in posizione 6q15, approssimativamente a 15 Kb a valle del gene MAP3K7 (*mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7*) e a 572 kb a monte del gene BACH2 (*basic leucine zipper transcription factor 2*). Nello specifico, il gene MAP3K7 codifica per il fattore di crescita trasformante-beta TAK1, noto per svolgere un ruolo chiave nella regolazione di diversi *pathways* di segnalazione coinvolti nell'infiammazione, tra cui p38 MAPK e NF- κ B. È stato, inoltre, recentemente dimostrato come una carenza di TAK1 determini una ridotta produzione di citochine pro-infiammatorie in colture di sinoviociti. Sulla base di tali evidenze, MAP3K7 è ad ora considerato un potenziale target

terapeutico nell'artrite reumatoide. Il gene BACH2 codifica, invece, per l'omonimo fattore di trascrizione che risulta essere implicato nell'inibizione di un *network* di geni che svolgono un ruolo critico per il funzionamento delle cellule T. È rilevante evidenziare come alcune varianti in tale locus siano state associate a diverse patologie autoimmuni, tra cui l'artrite reumatoide. La variante rs1679568 è localizzata, invece, nella regione 3' non tradotta (UTR) del gene GFRA1 (*Glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor alpha 1*) che codifica per la proteina GDNF, responsabile dell'attivazione dei recettori tirosin-chinasici RET. GDNF è prodotta dagli astrociti in risposta ad alcune citochine pro-infiammatorie, tra cui TNF α , e sembra inibire l'infiammazione mediata da IL-17 tramite la via NF- κ B. Un plausibile ruolo di tale gene nel modulare la risposta a farmaci anti-TNF è supportato da un recente studio di associazione *genome-wide*, che ha identificato una correlazione statisticamente significativa tra la variante intronica rs7070180 del gene GFRA1 e la risposta a farmaci anti-TNF in pazienti caucasici affetti da artrite reumatoide.

Le varianti rs284515, rs7590845 e rs1679568 sono i top SNPs localizzati in tre regioni cromosomiche potenzialmente correlate alla risposta ai farmaci biologici anti-TNF in pazienti giapponesi affetti da artrite reumatoide.

I risultati riportati in questo studio devono essere, tuttavia, interpretati alla luce delle seguenti limitazioni: i) la dimensione campionaria della coorte di pazienti arruolati nello studio è ridotta; ii) si sottolinea l'assenza di una coorte di replicazione; iii) essendo DAS28 un indice clinimetrico che funge da surrogato per la valutazione della risposta a farmaci anti-TNF, la misura della risposta a tali farmaci può non essere accurata: si evidenzia, tuttavia, che non esiste ad ora una modalità di valutazione della risposta a farmaci anti-TNF universalmente riconosciuta come *gold-standard*. Futuri studi, possibilmente multicentrici e prospettici, sono quindi necessari al fine di validare i risultati ivi riportati in più ampie ed omogenee popolazioni di pazienti di etnia giapponese affetti da artrite reumatoide ed in trattamento con farmaci anti-TNF.

Parole chiave: anti-TNF, artrite reumatoide, rs284515, rs7590845, rs1679568

Riferimento bibliografico

[Honne K](#) et al. *Arthritis Res Ther* 2016, 18(1):12.

LE VARIANTI GENETICHE TPMT E ITPA IN PAZIENTI LITUANI AFFETTI DA MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI: PREDOMINANZA ED EFFETTI AVVERSI LEGATI ALL'AZATIOPRINA

A cura delle Dott.sse Alessia Di Silvestre e Marianna Lucafò

Le tiopurine, come l' azatioprina (AZA) e la 6-mercaptopurina (6-MP), sono una classe di farmaci efficaci nel trattamento delle malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD). Durante il trattamento con tiopurine circa il 40% dei pazienti affetti da IBD manifesta effetti avversi, tra cui mielosoppressione ed epatotossicità. La variabilità interindividuale nello sviluppo della tossicità farmaco-indotta è, in parte, influenzata da polimorfismi dei geni coinvolti nel metabolismo delle tiopurine, in particolare dai polimorfismi della tiopurina metiltransferasi (TPMT) e dell'inosina trifosfato pirofosfatasi (ITPA).

Lo scopo di questo studio è di analizzare la frequenza dei polimorfismi di TPMT e ITPA in una coorte di pazienti lituani affetti da IBD e valutare l'associazione con gli effetti indesiderati dell'AZA. Pazienti con varianti inattivanti per TPMT (TPMT*2/rs1800462, *3A/rs1800460 e rs1142345, *3B rs1800460, *3C rs1142345) hanno una maggiore produzione di metaboliti attivi (nucleotidi tioguaninici). Polimorfismi nel gene di ITPA (rs1127354 e rs7270101) sono associati ad una maggiore concentrazione di metaboliti secondari delle tiopurine (nucleotidi metilati).

Nello studio sono stati arruolati, dal 2011 al 2014, 551 pazienti affetti da IBD (morbo di Crohn n=137; rettocolite ulcerosa n= 414) dal Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Clinics e dal Vilnius University Santariskes Clinics.

L'uso di AZA e gli effetti avversi sono stati valutati in maniera retrospettiva. Tutti i pazienti sono stati trattati

con dosi ad aumentare di farmaco al fine di ridurre il rischio di effetti avversi con una dose iniziale di 1 mg/kg. Tra gli effetti avversi dell'AZA sono stati osservati: leucopenia quando la conta dei globuli bianchi è $< 3.0 \times 10^9/\text{ml}$; trombocitopenia quando le piastrine sono $< 100 \times 10^9/\text{L}$; anemia (emoglobina $< 100 \text{ g/L}$) se diagnosticata durante la terapia con AZA; epatotossicità con livelli di alanina transaminasi (ALT) o aspartato aminotransferasi (AST) ≥ 2 ; pancreatite diagnosticata in presenza di sintomi clinici e aumento di amilasi nel siero tre volte superiore il limite massimo; la dispepsia è stata classificata sulla base dal giudizio clinico.

Tra i 551 pazienti, 82 (il 14.9%) sono stati trattati con AZA e gli effetti avversi al trattamento sono stati osservati in 24 pazienti (29.7%) tra cui, leucopenia (9.8%), epatotossicità (6.1%), dispepsia (6.1%) e pancreatite (3.6%). Nessuno dei polimorfismi studiati si discosta dall'equilibrio Hardy-Weinberg e non si osservano differenze statisticamente significative nella distribuzione allelica e genotipica tra morbo di Chron e rettocolite ulcerosa, quindi i due gruppi sono stati uniti per le analisi successive. Varianti alleliche del gene TPMT sono state osservate nel 3.7% dei pazienti in studio di cui: 3.1% per TPMT*3A, 0.5% per TPMT*3B, 0.1% per TPMT*3C, mentre non è stata osservata nessuna variante TPMT*2. Inoltre nella popolazione in studio sono stati osservati i genotipi TPMT*1/*3A nel 6.2%, TPMT*1/*3B nel 0.5%, TPMT*1/*3C nel 0.2% e TPMT*3A/*3B nel 0.4%.

Varianti alleliche per ITPA sono state osservate nel 10% dei pazienti in studio, dei quali il 19% sono portatori della variante in eterozigosi del genotipo rs1127354 (CA) mentre lo 0.4% in omozigosi (AA). Il 20.3% dei pazienti presenta un genotipo rs7270101 in eterozigosi (AC) e lo 0.4% in omozigosi (CC). La frequenza di alleli varianti TPMT è significativamente più alta tra i pazienti che hanno mostrato effetti indesiderati all'AZA rispetto a quelli che non hanno mostrato alcun effetto negativo al farmaco (20.8% e 6.9%, rispettivamente); inoltre, le varianti alleliche per TPMT sono associate ad un aumentato sviluppo di leucopenia ($P=0.01$) e mielotossicità ($P=0.001$). Varianti alleliche per ITPA non sono risultate essere associate a nessun effetto avverso in seguito a somministrazione di AZA.

I risultati ottenuti in questo studio evidenziano che la frequenza delle varianti alleliche di TPMT e ITPA in pazienti lituani affetti da IBD è simile a quella osservata nella popolazione caucasica del nord e dell'est Europa. I polimorfismi per TPMT sembrano essere correlati alla mielotossicità e leucopenia in seguito a trattamento con AZA, mentre le varianti per ITPA non sembrano essere associate agli effetti avversi studiati in questa popolazione.

In conclusione questo lavoro ha dimostrato che la frequenza delle varianti alleliche di TPMT e ITPA in pazienti lituani affetti da IBD è simile a quella osservata nella popolazione caucasica del nord e dell'est Europa e che polimorfismi per TPMT sono associati a tossicità da tiopurine.

Parole chiave: azatioprina, IBD, TPMT, ITPA, polimorfismo

Riferimento bibliografico

[Steponaitiene R](#) et al. *Adv Med Sci* 2015, 61(1):135-140.

NEUROLOGIA

FARMACOGENETICA E RISPOSTA AL TRATTAMENTO NELLA NARCOLESSIA DI TIPO 1: RILEVANZA DEI POLIMORFISMI DEL GENE *DRUG TRANSPORTER ABCB1*

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

La narcolessia di tipo 1 (NT1) è un disturbo cronico disabilitante caratterizzato da ipersonnolenza, eccessiva sonnolenza diurna (*excessive daytime sleepiness*, EDS), cataplessia (cioè improvvisa perdita del tono muscolare, scatenata dalle emozioni, durante lo stato di veglia), paralisi/allucinazioni durante il sonno e sonno notturno disturbato. La NT1 è patogeneticamente legata alla perdita dei neuroni ipotalamici ipocretinergici, di probabile origine autoimmune. Attualmente sono disponibili solo trattamenti sintomatici, con farmaci registrati e *off-label*. Tra i primi, il più usato è il modafinil, un agente che favorisce lo stato di

veglia con un meccanismo d'azione non ancora completamente noto, ma che include un aumento della concentrazione di dopamina, adrenalina ed istamina nell'ipotalamo. Il modafinil è considerato il trattamento farmacologico di prima linea dell'EDS nella NT1. Altri farmaci ampiamente utilizzati sono *off-label*; tra questi la venlafaxina, un inibitore della ricaptazione della serotonina/noradrenalina, che è considerato il trattamento di seconda linea per la cataplessia. La risposta interindividuale al trattamento è altamente variabile; questo comporta l'utilizzo di diverse associazioni di farmaci e di schemi di somministrazione molto variabili.

Uno dei principali *drug transporter*, ABCB1 (glicoproteina-P, P-gp) trasporta la venlafaxina e il modafinil con diversa affinità. I più frequenti SNPs del gene ABCB1, 1236C>T (rs1128503), 2677G>T/A (rs2032582) e 3435C>T (rs1045642), sono in forte *linkage disequilibrium*; quindi, nell'identificazione dei polimorfismi correlati agli effetti funzionali della P-gp gioca un ruolo importante l'analisi dell'aplotipo/diplotipo piuttosto che del singolo SNP. E' stato riportato in letteratura che il diplotipo eterozigote ABCB1 sembra influire sull'accumulo intracellulare di vincristina nel periodo post-dose precoce; questo dato supporta l'ipotesi dell'influenza del diplotipo CGC-TTT sull'efflusso e sull'accumulo intracellulare del farmaco.

Il presente studio ha lo scopo di investigare, nei pazienti con NT1, le relazioni tra la risposta clinica al modafinil e alla venlafaxina su EDS e cataplessia, rispettivamente, e la variabilità genetica del gene ABCB1.

Per lo studio sono stati reclutati 107 pazienti con NT1 (maschi/femmine, 64/43; età media, 38 ± 21 anni) che soddisfacevano i seguenti criteri di inclusione: diagnosi di NT1 sulla base dei criteri dell'*International Classification of Sleep Disorders*, trattamento cronico e stabile con modafinil e/o venlafaxina per almeno 3 mesi, assenza di comorbidità psichiatriche e di altri trattamenti per la NT1 e di altre malattie concomitanti. L'efficacia terapeutica della venlafaxina e del modafinil è stata valutata empiricamente da uno stesso medico, esperto di patologie del sonno, ed è stata determinata clinicamente sulla base di almeno due visite consecutive. La misura dell'efficacia del modafinil sull'EDS e della venlafaxina sulla cataplessia è stata classificata in maniera indipendente tramite la seguente scala di Likert: 1, *good responder* (da miglioramento importante a totale riduzione dei sintomi); 2, *responder moderato* (miglioramento intermedio); 3, *non responder* (effetto trascurabile).

Sono stati analizzati 3 SNPs che costituiscono la combinazione di aplotipi (1236C>T, 2677G>T/A e 3435C>T); la genotipizzazione degli SNPs è stata ottenuta tramite il kit *SnaPshot Multiplex System* (Life Technologies/Applied Biosystems).

Per tutti e 3 gli SNPs di ABCB1, l'allele più rappresentato era il *wild type*, con frequenza del 59% per 1236C>T, 58% per 2677G>T/A e 53% per 3435C>T, rispettivamente, mentre gli alleli varianti erano meno frequenti. Il diplotipo più rappresentato era l'eterozigote CGC-TTT, con una frequenza del 29,9%, seguito dal *wild-type* (19,6%).

Tra i 107 pazienti con NT1 che hanno ricevuto il modafinil (dose giornaliera da 100 a 400 mg), 31 sono stati classificati come *responders* e 76 come *non responders* (47 *responders* moderati e 29 *non responders*). L'efficacia del modafinil è stata inizialmente associata al polimorfismo 3435C>T di ABCB1 ($P=0,008$), con una tendenza positiva per il genotipo eterozigote 1236C>T e 2677G>T/A. Inoltre, la correzione per età, sesso, origine etnica e concomitante uso di venlafaxina ha confermato questa associazione tra i genotipi CC e TT di ABCB1 3435C>T ($P=0,023$) e ha mostrato ulteriori associazioni significative tra i genotipi CC e GG di ABCB1 1236C>T e ABCB1 2677G>T/A ($P=0,038$ e $P=0,019$, rispettivamente) e la risposta clinica al modafinil. Le varianti di aplotipo di ABCB1 analizzate hanno mostrato frequenze simili tra i gruppi *responder* e *nonresponder* al modafinil. Infine, il diplotipo ABCB1 ha mostrato un'associazione significativa tra i 3 principali diplotipi e l'efficacia clinica del modafinil. Dopo la correzione per età, sesso, origine etnica e concomitante uso di venlafaxina, l'analisi del diplotipo ABCB1 ha mostrato associazioni significative tra il diplotipo *wild-type* (CGC-CGC) e gli altri diplotipi con la risposta clinica al modafinil, con CGC-TTT (1236/2677/3435) più frequente nei *responders* al modafinil *versus* il gruppo dei *nonresponders* ($P = 0,013$). Tra i 64 pazienti con NT1 che assumevano venlafaxina (dose giornaliera da 37,5 a 150 mg), 19 sono stati classificati come *responders* e 45 come *nonresponders* (30 *responders* moderati e 15 *nonresponders*). Non è stata osservata nessuna associazione significativa con la risposta alla venlafaxina per i polimorfismi di ABCB1. Infine, non è stata trovata nessuna associazione significativa tra gli aplotipi o diplotipi ABCB1 e l'efficacia della venlafaxina.

Nel presente studio è stata evidenziata un'associazione significativa del diplotipo *ABCB1* CGC-TTT (1236/2677/3435) con la risposta al trattamento con modafinil. Al contrario, non è stata osservata alcuna associazione significativa con la risposta clinica alla venlafaxina; quest'ultimo risultato è probabilmente dovuto alla dimensione troppo piccola del campione preso in esame. La variabilità dell'espressione o della funzione della P-gp può alterare l'assorbimento, la distribuzione tissutale e l'escrezione dei farmaci. Studi precedenti hanno associato l'attività della P-gp con gli aplotipi *ABCB1*; inoltre, il diplotipo CGC-CGC (1236/2677/3435) è stato associato alla resistenza ai farmaci antiepilettici. Altri studi invece non hanno trovato correlazione tra i polimorfismi 1236C>T, 2677G>T/A e 3435C>T e la farmacocinetica di metadone, nortriptilina e paclitaxel. Questi dati contrastanti suggeriscono che la P-gp influenzi in maniera diversa il trasporto di ciascun substrato, probabilmente attraverso specifici siti di legame della P-gp. E' possibile quindi dedurre che i diplotipi del gene *ABCB1* possano influire sull'espressione e sulla funzione della P-gp, che a sua volta influenza la risposta clinica al modafinil nei pazienti con NT1. I risultati del presente studio mostrano quindi che il gene *ABCB1* è coinvolto nella risposta al trattamento farmacologico della NT1, come singolo SNP o come diplotipi, probabilmente attraverso una ridotta espressione ed attività della P-gp nella barriera emato-encefalica, che determina un ridotto efflusso ed una maggiore concentrazione cerebrale di farmaco. Limitazioni dello studio: primo, non è stata misurata la concentrazione plasmatica del modafinil e della venlafaxina; tuttavia, i livelli serici di questi due farmaci possono non riflettere le concentrazioni regionali encefaliche dei metaboliti attivi. Secondo, la dimensione del campione era ridotta, sebbene sufficientemente potente da rilevare differenze statistiche tra i sottogruppi dei pazienti con differente risposta al farmaco, almeno per quanto riguarda il modafinil. Terzo, non sono state raccolte misure oggettive della sonnolenza durante il trattamento con modafinil.

In conclusione, il presente studio mostra che le varianti 1236C>T, 2677G>T/A e 3435C>T di *ABCB1* sono associate alla risposta terapeutica al modafinil nei pazienti con narcolessia di tipo 1 e rappresentano pertanto un possibile fattore predittivo individuale per la farmacoresistenza in questa patologia.

Parole chiave: polimorfismi di *ABCB1*, efficacia farmacologica, modafinil, narcolessia di tipo 1, farmacogenetica.

Riferimento bibliografico:

[Moresco M](#) et al. *Clin Neuropharm* 2016, 39:18-23.

VARIANTI GENETICHE ASSOCIATE CON LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON LITIO NEL DISTURBO BIPOLARE: UNO STUDIO DI ASSOCIAZIONE *GENOME-WIDE*

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu e del Dott. Alessio Squassina

Il disturbo bipolare (DB) è una malattia psichiatrica cronica e invalidante caratterizzata dall'alternarsi di episodi di alterazioni del tono dell'umore con periodi di parziale o totale eutimia. Gli stabilizzanti dell'umore rappresentano la terapia di prima linea nel trattamento del DB. Il litio, in particolare, è un trattamento di prima scelta per via della sua azione di prevenzione delle recidive e del suo effetto protettivo nei confronti del rischio di comportamento suicidario. Tuttavia, la risposta al litio presenta notevole variabilità interindividuale e il 30% dei pazienti non risponde. Alcuni studi suggeriscono che la variabilità nella risposta al litio riconosca una base genetica. Infatti, i pazienti *responders* al litio hanno una maggiore probabilità di avere una storia familiare di DB e di risposta al litio rispetto ai *non-responders*. Negli ultimi anni, soltanto tre studi di *genome-wide association* (GWAS) hanno valutato l'associazione tra varianti genetiche e risposta al litio. Due di questi studi non hanno trovato risultati con significatività *genome-wide*, mentre il terzo ha riportato associazione tra la risposta al litio e un cluster di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) localizzato nella regione 3p24.1 in pazienti con DB di origine asiatica. Tuttavia, nessuno studio è riuscito a replicare questo risultato in pazienti di origine asiatica o europea.

Nel 2008, per facilitare la realizzazione di una coorte di pazienti di grandi dimensioni, caratterizzata per la risposta al litio mediante una scala validata e dall'alta riproducibilità, è stato fondato il Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen). Lo studio riporta i risultati del GWAS sulla risposta al litio realizzato dal ConLiGen su un campione di 2563 pazienti con DB arruolati presso 22 centri membri del ConLiGen in 4 continenti (Europa, America, Asia e Australia).

I campioni sono stati raccolti e genotipizzati in due sessioni. Per questo motivo, i dati sono stati analizzati come due distinti GWAS. I criteri di inclusione comprendevano: 1) diagnosi di DB in accordo con i criteri del DSM III o del DSM IV; e 2) monoterapia con litio da almeno 6 mesi. Il GWAS 1 comprendeva, dopo le analisi di controllo qualità, 1162 individui, il GWAS 2 1401 individui. La risposta al trattamento a lungo termine con sali di litio è stata valutata mediante la scala Retrospective Criteria of Long-Term Treatment Response in Research Subjects with Bipolar Disorder (scala di Alda). La scala misura il grado di miglioramento nel corso del trattamento con litio (*A score*, range 0-10), corretto mediante cinque criteri (*B score*) che valutano fattori potenzialmente confondenti, ognuno dei quali riceve un punteggio da 0 a 2. Il *total score* (TS) viene ottenuto sottraendo il B score dall'*A score*, e ponendo uguali a 0 i punteggi negativi. Pertanto, il TS varia da 0 a 10.

La risposta al litio è stata analizzata come tratto dicotomico (considerando i pazienti con $TS \geq 7$ come *responders*) o continuo (considerando l'*A score* ed escludendo i soggetti con *B score* > 4), utilizzando i criteri che un precedente studio ha identificato come quelli in grado di offrire la maggiore riproducibilità nell'applicazione della scala (Manchia M. et al., PLoS One 2013; 8: e65636). Gli SNP significativi nel GWAS sono stati inoltre genotipizzati in un campione indipendente seguito in modo prospettico per due anni, che includeva 73 pazienti con DB.

Le analisi di associazione sono state condotte separatamente nel campione di origine europea e in quello di origine asiatica. Le analisi sono state controllate per il tipo di piattaforma utilizzata per il *genotyping* e per la stratificazione della popolazione. I risultati dei due GWAS sono stati combinati con una meta-analisi.

Su un totale di 3193 soggetti genotipizzati, 2563 sono stati disponibili per le analisi dopo il controllo di qualità. Nei due GWAS, analizzati separatamente, nessuno SNP ha superato la soglia di significatività considerata valida per gli studi *genome-wide* ($p < 5 \times 10^{-8}$). Tuttavia, i due GWAS hanno mostrato consistenza nella direzione dell'associazione: per il fenotipo continuo, su 606 SNP indipendenti con $p < 0.001$ nel GWAS 1, per 326 (54%) lo stesso allele è risultato associato nel GWAS 2.

Quando i due studi sono stati combinati, l'analisi effettuata sul fenotipo continuo ha evidenziato quattro SNP in forte *linkage disequilibrium* a livello del cromosoma 21 associati con la risposta al litio con significatività *genome-wide* ($p = 3.31 \times 10^{-9}$). L'analisi effettuata sul fenotipo dicotomico ha mostrato per questi quattro SNP un'associazione nominale significativa ($p = 0.01$). La regione cromosomica associata non contiene geni che codifichino per proteine note. In questa regione sono stati però identificati due *long non-coding RNA*: AL157359.4 e AL157359.3. Due SNP (rs74795342 e rs75222709) sono localizzati nella regione intronica del gene AL157359.3, mentre gli altri due SNP (rs79663003 e rs78015114) si trovano nella regione compresa tra i due geni.

Le analisi effettuate sul solo sottocampione di origine europea hanno confermato l'associazione osservata nell'intero campione, mentre nel sottocampione di origine asiatica nessuno SNP è risultato associato alla risposta al litio con significatività *genome-wide*.

Per superare i possibili *bias* legati alla valutazione retrospettiva della risposta al litio, i quattro SNP risultati associati sono stati genotipizzati in un piccolo campione indipendente di 73 pazienti seguiti in maniera prospettica. In questo campione, l'allele associato ad una migliore risposta al litio è risultato associato ad un minor numero di recidive rispetto all'altro allele ($p = 0.03$, *hazard ratio* = 3.8).

Lo studio suggerisce quindi l'associazione di varianti geniche localizzate a livello di due *long non-coding RNA*, trascritti potenzialmente coinvolti in numerosi processi biologici e, in particolare, nella regolazione dell'espressione genica, e la risposta al trattamento con sali di litio. Tra i limiti dello studio vi sono la valutazione della risposta al litio in maniera retrospettiva e la *sample size* relativamente limitata, seppure lo studio abbia utilizzato il campione più grande mai reclutato finora per un GWAS condotto su pazienti con DB caratterizzati per la risposta al litio.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra varianti genetiche di due geni che codificano per long non-coding RNA e la risposta ai sali di litio in pazienti con disturbo bipolare.

Parole chiave: litio, disturbo bipolare, AL157359.3, AL157359.4

Riferimento bibliografico

Hou L et al. *Lancet* 2016 Jan 21 [Epub ahead of print].

LA METANALISI DEL MESE

META-ANALISI SULL'EFFICACIA DELLA TERAPIA CON ANTICORPO MONOCLONALE ANTI-EGFR NEL TUMORE DEL COLON RETTO METASTATICO: RUOLO DELLA MUTAZIONE KRAS G13D

A cura del Dott. Vittorio Simeon

Il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR), a monte del *pathway* delle MAP chinasi (*mitogen-activated protein kinase* - MAPK), gioca un ruolo molto importante nella progressione del cancro del colon retto metastatico (mCRC). La sua disfunzione comporta l'attivazione del *pathway* MAPK e la successiva crescita e proliferazione delle cellule tumorali. Cetuximab e panitumumab sono due anticorpi monoclonali (mAbs) anti-EGFR, in grado di bloccare il recettore e di conseguenza l'attivazione del *pathway* MAPK. La resistenza primaria a questa terapia è dovuta principalmente all'attivazione costitutiva del *pathway* MAPK a causa delle mutazioni nei geni a valle. In particolare, le mutazioni a carico degli esoni 2, 3 e 4 degli oncogeni *KRAS* e *NRAS* (presenti in circa il 50% dei tumori mCRC) sono predittive della resistenza alla terapia anti-EGFR. Sulla base di queste evidenze, lo screening di routine per le mutazioni dei geni *RAS* è raccomandata nelle linee guida per il trattamento del mCRC, con l'utilizzo degli anti-EGFR limitato esclusivamente ai tumori *wild-type* per i geni *RAS*. Le mutazioni più frequenti sono presenti sul codone 12 (G12D e G12V) e 13 (G13D) del gene *KRAS*. Tipicamente il confronto nella valutazione dell'efficacia degli anti-EGFR è stato effettuato tra pazienti *wild-type* (*RAS WT*) e pazienti portatori di mutazione (*RAS MT*), ma mai differenziando per le singole mutazioni. Ciò è principalmente dovuto alla scarsa numerosità campionaria degli studi attualmente pubblicati. Sta tuttavia emergendo l'ipotesi che le differenti mutazioni di *RAS* possano non essere equivalenti l'una con l'altra dal punto di vista biologico e clinico, suggerendo la necessità di valutarne l'effetto nei pazienti in maniera separata. Sono state descritte, sia in studi osservazionali che in meta-analisi già pubblicate, differenze prognostiche tra i pazienti portatori delle mutazioni nel gene *KRAS* al codone 12 e al codone 13. Quando paragonate a tutte le altre mutazioni, quella al codone 12 è associata ad un'elevata mortalità mentre l'impatto della mutazione al codone 13 è meno chiaro. Inoltre, questo potenziale effetto prognostico potrebbe essere dovuto alla differenza di beneficio derivante dalla terapia anti-EGFR con mAbs. Per rispondere a questo quesito clinico, Rowland e colleghi hanno recentemente condotto una meta-analisi su trial clinici randomizzati (RCT), pubblicata su *European Journal of Cancer*, per valutare quantitativamente l'efficacia della terapia mAbs anti-EGFR tra i pazienti portatori della mutazione *KRAS G13D* e i portatori di altre mutazioni in *KRAS* (*KRAS MTs*).

I criteri di eleggibilità degli studi per la revisione sistematica erano: RCTs di comparazione sull'aggiunta dell'anti-EGFR alla terapia di base; pazienti mCRC con stato mutazionale di *KRAS* noto (WT, G13D o MTs); dati sufficienti al follow-up con sopravvivenza generale (OS) e libera da progressione (PFS). È stato calcolato l'hazard ratio (HR) con relativo intervallo di confidenza (CI) per valutare la differenza di efficacia del trattamento con anti-EGFR. L'eterogeneità tra gli studi è stata valutata utilizzando la statistica Q di Cochrane e I².

Sono stati inclusi nell'analisi finale otto sotto-studi di farmacogenomica provenienti da RCT, riportati in 6 articoli scientifici. Su 5967 pazienti analizzati per lo stato mutazionale di *KRAS*, 444 erano portatori di *KRAS G13D* (7.4%). Tutti gli studi comparavano l'aggiunta di mAbs anti-EGFR alla terapia di base, 5 valutavano il cetuximab e 3 il panitumumab. Nell'analisi dell'OS, l'HR associato all'aggiunta di anti-EGFR era di 1.06 (95% CI 0.96 – 1.17) per i pazienti *KRAS MTs*, 1.08 (95% CI 0.73 – 1.60) per i pazienti *KRAS G13D*, e 0.85 (95% CI 0.76 – 0.95) per i pazienti *KRAS WT*. Nell'analisi della PFS, l'HR associato all'aggiunta di anti-EGFR era di 1.07 (95% CI 0.92 – 1.26) per i pazienti *KRAS MTs*, 0.96 (95% CI 0.73 – 1.27) per i pazienti *KRAS G13D*, e 0.68 (95% CI 0.54 – 0.85) per i pazienti *KRAS WT*.

La potenza statistica della presente meta-analisi non era sufficiente per analizzare l'efficacia della terapia anti-EGFR tra i pazienti WT, G13D e MTs nei vari sotto-gruppi clinici: differente terapia di base

(oxalipatino, irinotecano, no chemioterapia), anticorpo anti-EGFR utilizzato (cetuximab, panitumumab), e linea di terapia (prima, seconda o successiva).

Recenti ed interessanti risultati (sia *in-vitro* che da studi osservazionali) avevano spinto i ricercatori ad effettuare questa meta-analisi di RCT per chiarire se effettivamente potesse esserci differenza nella risposta alla terapia anti-EGFR tra i diversi gruppi di mutazione per *KRAS*. Considerando i dati preliminari da cui è partito questo studio, è importante prendere in considerazione alcune importanti limitazioni. Fondamentalmente, mentre dati pre-clinici (*in vitro*) possono essere utili per chiarire dei meccanismi molecolari, appare difficile estrapolare da questi dati conclusioni cliniche solide. Inoltre, il rischio di falsi positivi negli studi osservazionali è elevato. In conclusione, nonostante dati speculativi possano suggerire una differenza plausibile nell'impatto del trattamento tra differenti gruppi di mutazione per *RAS*, questa meta-analisi di trial clinici randomizzati ha dimostrato che non ci sono sufficienti evidenze per concludere che l'efficacia degli mAbs anti-EGFR è diversa tra pazienti mCRC portatori della mutazione G13D o delle altre (MTs). Di conseguenza, questi risultati supportano le correnti linee guida per lo screening dello stato mutazionale di *KRAS* e confermano che l'uso degli anticorpi monoclonali anti-EGFR dovrebbe rimanere limitato ai soli pazienti con tumore *RAS* WT.

È fondamentale effettuare lo screening delle mutazioni nei geni *RAS* in pazienti con cancro del colon retto metastatico. L'utilizzo degli anticorpi monoclonali anti-EGFR dovrebbe rimanere limitato ai soli pazienti con tumore *RAS* WT.

Conflitto d'interesse: CSK è membro del comitato consultivo di Amgen e Merck Serono. GK è membro onorario del comitato consultivo di Bayer. Gli altri autori non dichiarano alcun conflitto di interesse.

Parole chiave: EGFR, *KRAS*, mCRC

Riferimento bibliografico

[Rowland A](#) et al. *Eur J Cancer* 2016, 55:122-30.



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.informazione@segr.it; sif.farmacologia@segr.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

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)

Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Carginin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Stefania Cheli (AO Polo Universitario "L. Sacco" di Milano) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Alessia Di Silvestre (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Marianna Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna) Dott. Vittorio Simeon (IRCCS – CROB) Dott. Alessio Squassina (Università di Cagliari)

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 od altre parti ed essa connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione di "SIF-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.