



## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 86 – Luglio 2016

---

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

---

#### Sommario

##### ⇒ Oncologia

- La farmacogenetica della risposta alla chemioterapia a base di platino in pazienti affetti da NSCLC: uno studio farmacogenetico e una meta-analisi dei dati di letteratura
- Lo screening dei polimorfismi del gene DPYD per prevenire la neutropenia in pazienti oncologici trattati con fluoropirimidine è costo-efficace
- Identificazione di miRNA associati con sopravvivenza e risposta farmacologica in pazienti con cancro ovarico sieroso ad alto grado, in trattamento con chemioterapia adiuvante: un'analisi retrospettiva usando biopsie tumorali
- Associazione fra profiling di microRNA tumorali con l'esito clinico in pazienti affetti da carcinoma uroteliale avanzato in trattamento di prima linea con chemioterapia a base di platino

##### ⇒ Neurologia

- Studio di farmacogenetica sugli effetti extrapiramidali acuti indotti da antipsicotici in pazienti al primo episodio di psicosi: ruolo dei geni candidati dei sistemi dopaminergico, serotoninergico e glutamatergico
- Gene *CHRNA7* e risposta agli inibitori della colinesterasi in una coorte italiana di pazienti con malattia di Alzheimer
- Farmacogenetica degli effetti collaterali legati al citalopram nei bambini con depressione e/o disturbi d'ansia

##### ⇒ Immunomodulazione

- Un metodo semplice per genotipizzare TPMT e ITPA tramite analisi multiplex HRM in pazienti trattati con tiopurine

##### ⇒ Diabetologia

- Una variante missense del gene *GLP1R* è associata con la risposta al trattamento con gliptine

##### ⇒ La metanalisi del mese

- Le mutazioni R882 del gene *DNMT3A* predicono una prognosi peggiore in pazienti con AML: meta-analisi su 4474 pazienti

**ONCOLOGIA****LA FARMACOGENETICA DELLA RISPOSTA ALLA CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO IN PAZIENTI AFFETTI DA NSCLC: UNO STUDIO FARMACOGENETICO E UNA META-ANALISI DEI DATI DI LETTERATURA**

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il carcinoma polmonare rappresenta la più frequente causa di morte correlata a tumore a livello globale. Il più comune sottotipo istologico di tumore al polmone (85% dei casi) è rappresentato dal tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC). La chemioterapia a base di platino costituisce ad oggi il trattamento di prima linea per il trattamento del NSCLC in stadio avanzato. Tuttavia, si evince dalla pratica clinica una forte variabilità inter-individuale in termini di risposta e resistenza a tale approccio chemioterapico. In tale contesto, numerosi studi farmacogenetici hanno evidenziato come la variabilità genetica individuale possa modulare la risposta al trattamento chemioterapico a base di platino. Nello specifico, molti di quegli studi si sono focalizzati sull'analisi della correlazione tra specifiche varianti in geni coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA (quali ad esempio ERCC1, XPD, XRCC1 e MDR1) e la risposta alla chemioterapia a base di platino, senza tuttavia ottenere risultati concordanti. Alla luce dell'inconsistenza delle evidenze disponibili, gli obiettivi di questo studio sono stati quelli di: i) validare in un ampio campione di pazienti affetti da NSCLC il ruolo di varianti emerse dalla letteratura come potenziali fattori genetici predittivi della risposta alla chemioterapia a base di platino; ii) condurre una meta-analisi delle evidenze in letteratura riguardo alla farmacogenetica della chemioterapia a base di platino in soggetti affetti da NSCLC.

*Studio farmacogenetico:* Sono stati inclusi nello studio 1024 pazienti di etnia cinese affetti da NSCLC e in trattamento con chemioterapici a base di platino. La risposta alla chemioterapia è stata valutata secondo i criteri RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*). Nello specifico, sono stati definiti *responders* i pazienti con risposta completa o parziale alla terapia mentre sono stati identificati come *non-responders* i soggetti con malattia stabile o in progressione. Il DNA germinale è stato estratto da campioni di sangue intero ed è stato genotipizzato per 13 varianti genetiche tramite il sistema Sequenom MassARRAY. L'analisi di associazione tra le varianti in studio e la risposta alla terapia è stata effettuata tramite regressione logistica, ponendo la soglia di significatività statistica pari a 0,05.

*Meta-analisi:* La ricerca bibliografica è stata eseguita interrogando la banche dati PubMed, ISI Web of Knowledge and Cochrane Library. Sono stati inclusi nella meta-analisi tutti gli studi riportanti le distribuzioni genotipiche per il gruppo dei *responders* e dei *non-responders* relative a qualsiasi variante genetica analizzata in correlazione alla risposta alla chemioterapia a base di platino in pazienti affetti da NSCLC. Gli odds ratios (ORs) aggregati nonché i rispettivi intervalli di confidenza al 95% (95% IC) sono stati calcolati tramite test statistico Z. L'eventuale presenza di eterogeneità tra gli studi inclusi nella meta-analisi è stata valutata tramite test Q di Cochran. In tale contesto, in presenza di eterogeneità tra gli studi, gli ORs aggregati ed i rispettivi IC 95% sono stati ottenuti applicando il modello ad effetti casuali. Al contrario, in caso di assenza di eterogeneità tra gli studi, è stato adottato il modello ad effetti fissi. Eventuali *bias* di pubblicazione sono stati stimati tramite *funnel plots*, test di Begg e test di Egger.

*Studio Farmacogenetico:* Dei 1024 pazienti arruolati per lo studio, 237 (≈23%) sono risultati essere responsivi al trattamento con chemioterapici a base di platino. Tra 13 le varianti selezionate, 8 sono state determinate con successo (GSTP1 rs1695, XPG rs17655 e rs1047768, ERCC1 rs11615, XPD rs13181, MDR1 rs1045642, MDR1 rs2032582 e XRCC1 rs25487). Di queste, unicamente la variante XRCC1 rs25487 (G1196A) è emersa essere associata alla risposta alla chemioterapia a base di platino con un  $P_{\text{value}} < 0,05$ . Nello specifico, i portatori dei genotipi GA e AA sono risultati essere maggiormente responsivi al trattamento chemioterapico a base di platino rispetto ai soggetti con genotipo GG (GG vs GA+AA: OR 0,72; 95% IC: 0,53-0,96;  $P=0,028$ ). Sono state, inoltre, condotte delle sottoanalisi stratificando i pazienti per sesso, età (<55 anni; ≥55 anni), abitudine al fumo, istologia del tumore e regime chemioterapico. Dall'analisi stratificata è emerso come le varianti GSTP1 rs1695 e XPG rs1047768 siano associate con un  $P_{\text{value}} < 0,05$  all'outcome in studio nei soggetti di età inferiore ai 55 anni (rispettivamente,  $P_{\text{mod dom}}=0,005$ ;  $P_{\text{mod dom}}=0,016$ ).

Analogamente, lo SNP ERCC1 rs11615 è emerso essere correlato alla risposta nei soggetti di età  $\geq 55$  anni ( $P_{\text{mod dom}}=0,028$ ). MDR1 rs1045642, MDR1 rs2032582 e XPD rs13181 sono risultate associate nei soggetti di sesso femminile (rispettivamente,  $P_{\text{mod add}}=0,048$ ;  $P_{\text{mod rec}}=0,017$ ;  $P_{\text{mod dom}}=0,040$ ) mentre XRCC1 rs25487 lo è risultata essere nel sottogruppo dei fumatori ( $P_{\text{mod dom}}=0,024$ ). ERCC1 rs11615 e XPG rs1047768 sono emerse essere correlate alla risposta nei pazienti con adenocarcinoma ( $P_{\text{mod add}}=0,009$ ;  $P_{\text{mod add}}=0,001$ ), mentre le varianti XRCC1 rs25487 e MDR1 rs1045642 lo sono risultate essere nel sottogruppo dei soggetti in trattamento con navelbina e platino ( $P_{\text{mod dom}}=0,035$ ;  $P_{\text{mod rec}}=0,001$ ).

*Meta-analisi:* Dopo revisione sistematica della letteratura, sono stati inclusi nella meta-analisi 39 pubblicazioni nonché lo studio farmacogenetico ivi condotto. Nel complesso, sono 13 varianti in 8 geni ad essere state analizzate in associazione alla risposta alla chemioterapia a base di platino negli studi inclusi nella meta-analisi. Di queste, solo le varianti XRCC1 C580T e XRCC3 C18067T sono risultate essere associate in maniera statisticamente significativa alla risposta alla chemioterapia a base di platino (rispettivamente, OR=0,54, 95%. IC: 0,37-0,80,  $P=0,002$ ; OR=0,69, 95%. IC: 0,52-0,91,  $P=0,009$ ). Stratificando i pazienti per etnia e regime chemioterapico, è emersa una correlazione significativa tra la risposta alla chemioterapia a base di platino e le varianti XPD rs13181, XRCC3 C18067T e MDR1 rs2032582/rs25487, rispettivamente, nei pazienti asiatici, in quelli caucasici ed in quelli trattati con chemioterapia a base di cisplatino.

La variante XRCC1 rs25487 (G1196A) è l'unica risultata essere associata alla risposta a chemioterapia a base di platino in pazienti affetti da NSCLC nello studio farmacogenetico. Dalla meta-analisi emerge, invece, come solo gli SNP XRCC1 C580T e XRCC3 C18067T siano correlati in maniera statisticamente significativa all'outcome in studio. Nello specifico, i geni XRCC1 e XRCC3 appartengono alla famiglia dei geni NER (*Nucleotide Excision Repair*), implicati nei meccanismi di riparazione del DNA per escissione di nucleotidi. Tutte e tre le varianti in studio (G1196A, C580T e C18067T) sono SNPs missenso che risultano in un'aumentata espressione ed attività dei geni XRCC1 e XRCC3. È noto dalla letteratura che all'aumentare dell'attività di questi geni, consegue una minor risposta alla chemioterapia da parte dei pazienti.

*Limiti dello studio:* i) si evidenzia che, a causa di problemi tecnici nella fase di genotipizzazione, non è stato possibile agli Autori includere nella meta-analisi i dati di genotipizzazione relativi alla variante XRCC1 C580T ottenuti nella coorte dei 1024 pazienti arruolati per lo studio farmacogenetico; ii) data la natura confermativa dello studio farmacogenetico e nonostante le varianti incluse nell'analisi di associazione per lo studio farmacogenetico siano state 8, non è stata effettuata una correzione per test multipli. A dispetto di quanto concludono gli Autori e noti i limiti intrinseci allo studio, si rendono necessari ulteriori studi atti a chiarire il ruolo delle varianti XRCC1 C580T/ G1196A e XRCC3 C18067T come fattori genetici predittivi della risposta alla chemioterapia a base di platino in pazienti affetti da NSCLC.

Le varianti XRCC1 C580T/ G1196A e XRCC3 C18067T sono potenziali fattori genetici predittivi della risposta a chemioterapia a base di platino in pazienti affetti da NSCLC.

**Parole chiave:** NSCLC, chemioterapia a base di platino, XRCC1, XRCC3

#### Riferimento bibliografico

[Chen J](#) et al. *Oncotarget* 2016 May 29.

## LO SCREENING DEI POLIMORFISMI DEL GENE DPYD PER PREVENIRE LA NEUTROPENIA IN PAZIENTI ONCOLOGICI TRATTATI CON FLUOROPIRIMIDINE È COSTO-EFFICACE

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Le fluoropirimidine (5-FU e il suo profarmaco capecitabina) sono farmaci molto utilizzati per il trattamento di pazienti affetti da varie forme tumorali. Il trattamento è associato a reazioni avverse, talora gravi e pericolose per la vita del paziente e la tossicità di grado moderato-severo può dipendere dalla presenza di tre

polimorfismi nel gene che codifica per la diidropirimidina deidrogenasi (DPYD), enzima chiave nel metabolismo del 5-FU, che degrada l'80-85% della dose di farmaco somministrata.

Il *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* raccomanda di eseguire il test di genotipizzazione per identificare tre polimorfismi (DPYD\*2A, 2846A>T e DPYD\*13) per i quali è stata dimostrata un'associazione con le reazioni avverse da 5-FU.

L'applicazione di tale test (come per le altre analisi farmacogenetiche) stenta a occupare lo spazio che meriterebbe nella pratica clinica anche a causa della mancanza di analisi di costo-efficacia.

Lo scopo di questo studio è stato mettere a confronto il costo dello screening delle tre varianti DPYD associate alla tossicità da fluoropirimidine e la spesa derivante dal trattamento della neutropenia di grado severo in pazienti trattati con tali chemioterapici.

Sono stati presi in considerazione i pazienti, trattati con protocolli chemioterapici a base di 5-FU o capecitabina per i quali era stata registrata l'evenienza di neutropenia di grado  $\geq 3$ . I costi per la gestione della reazione avversa sono stati calcolati sulla base delle azioni intraprese mentre i livelli dei neutrofili rimanevano bassi. Essi comprendevano i costi (in euro) per i farmaci somministrati, le analisi (biochimiche e strumentali) e l'ospedalizzazione. Per calcolare la spesa sostenuta per lo screening genetico invece, sono stati presi in esame i costi dei reagenti insieme a quelli per il personale di laboratorio.

La genotipizzazione è stata eseguita mediante real-time PCR con TaqMan probe e il DNA è stato estratto tramite la tecnica "rapid cell lysis" (Life Technologies) che consente di estrarre il DNA in 30-60 minuti con un costo di 2-8 euro per campione.

Per quest'analisi di costo-efficacia sono stati arruolati venti pazienti con cancro al colon e al retto trattati con quattro protocolli chemioterapici (capecitabina e oxaliplatino, 5-FU e oxaliplatino, 5-FU e oxaliplatino più anticorpo monoclonale, 5-FU e irinotecano) che avevano manifestato neutropenia di grado  $\geq 3$ . Il costo medio per il trattamento di tale tossicità era di 3044,18 euro, mentre la spesa sostenuta per lo screening dei tre polimorfismi DPYD era di 6400 euro per 1000 pazienti. Di conseguenza, gli autori hanno stimato che se l'incidenza di neutropenia fosse stata ridotta in 2,21 casi ogni 1000 pazienti grazie allo screening preventivo dei tre polimorfismi del gene DPYD, tale analisi farmacogenetica si sarebbe rivelata costo-efficace.

Gli autori di questo lavoro hanno descritto un metodo di screening rapido e conveniente per l'identificazione dei tre polimorfismi nel gene DPYD associati a tossicità severa da fluoropirimidine. In particolare l'impiego di una metodica di estrazione del DNA molto rapida ed economica e la riduzione del volume totale di reazione per la real-time PCR ha consentito di ridurre sensibilmente i costi di genotipizzazione.

È stato stimato che almeno cinque pazienti su 100 con reazioni avverse di grado severo sono portatori della variante DPYD\*2A e sempre 5/100 della 2846A>T. Di conseguenza, almeno il 10% delle reazioni avverse potrebbero essere evitate grazie all'analisi farmacogenetica di tali polimorfismi.

E' importante considerare che l'aggiunta degli altri farmaci chemioterapici spesso associati alle fluoropirimidine si traduce in un aumento dell'evenienza di tossicità e, in particolare, la frequenza di neutropenia di grado severo per i trattamenti combinati a base di fluoropirimidina è stata stimata ricadere in un range che va dal 5 al 44%. L'analisi farmaco-economica condotta è stata eseguita considerando solo la neutropenia tra le reazioni avverse associate al trattamento con fluoropirimidine, ma esiste l'evenienza di altre reazioni tossiche anche molto gravi associate a tale chemioterapia, quindi, il costo della gestione delle tossicità da fluoropirimidina è stato sottostimato. Inoltre, un'altra variante (1236G>A/Hap3) potrebbe essere inclusa nell'analisi di genotipizzazione. Questo SNP è stato trovato in circa il 7,3% di pazienti manifestanti tossicità e, se aggiunto ai tre già validati, potrebbe rendere l'analisi farmacogenetica ancora più efficace, anche dal punto di vista economico.

Lo screening dei tre polimorfismi del gene DPYD raccomandati per prevenire la tossicità da fluoropirimidine eseguito combinando l'utilizzo di real-time PCR con un metodo rapido ed economico di estrazione del DNA è costo-efficace per tutti i trattamenti chemioterapici a base di fluoropirimidina.

**Parole chiave:** DPYD, fluoropirimidine, neutropenia severa, costo-efficacia

#### Riferimento bibliografico

[Cortejoso L](#) et al. *Pharmacogenomics* 2016,17(9):979-84

## **IDENTIFICAZIONE DI miRNA ASSOCIATI CON SOPRAVVIVENZA E RISPOSTA FARMACOLOGICA IN PAZIENTI CON CANCRO OVARICO SIEROSO AD ALTO GRADO, IN TRATTAMENTO CON CHEMIOTERAPIA ADIUVANTE: UN'ANALISI RETROSPETTIVA USANDO BIOPSIE TUMORALI**

*A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini*

Benché siano stati notevoli i progressi della ricerca, il management clinico del cancro ovarico sieroso ad alto grado (HGS-EOC) manca ancora di biomarkers molecolari ed istologici affidabili, in grado di guidare il medico nella scelta terapeutica ottimale. Per le pazienti inoperabili, la migliore strategia terapeutica è rappresentata dalla chemioterapia neoadiuvante basata sul platino (NACT). Tuttavia circa il 15-20% delle donne con EOC avanzato non risponde a NACT e presenta un tumore progressivamente resistente che conduce a morte in pochi mesi dalla diagnosi. Questo cambiamento nella risposta clinica è indice di alterazioni della biologia cellulare del tumore, che fino ad oggi nei HGS-EOC è stata poco studiata. L'idea alla base di questo studio nasce dal lavoro di Beltrame et al (Beltrame L et al, *Ann Oncol* 2015), che riportava come i profili genomico e trascrittomico di tumori epiteliali ovarici si evolsero nel tempo dopo uno o più cicli di chemioterapia.

In questa analisi, sono stati arruolati 82 pazienti con HGS-EOC (di grado III e IV) in regime NACT e di cui erano disponibili le biopsie della laparoscopia iniziale, prima della chemioterapia, e dopo 4 cicli di terapia basata sul platino. Per identificare potenziali miRNA implicati nell'evoluzione della malattia sono stati analizzati 457 miRNA in array. L'analisi non supervisionata ha messo in evidenza 2 clusters separati composti rispettivamente da 57 e 107 biopsie. In particolare, il cluster 1 era principalmente formato da biopsie laparoscopiche pre-trattamento ( $p=0.0001$ ) mentre il secondo conteneva soprattutto biopsie post-trattamento. Questi risultati sono in accordo con l'ipotesi che le cellule tumorali esposte a carboplatino subiscono rapidi cambiamenti molecolari e modificano la risposta alla terapia. Successivamente, sono stati individuati 256 miRNA con livelli di espressione comparabili tra biopsie pre e post-trattamento (identificate come CEM, comparable expressed miRNA) e 113 miRNA differenzialmente espressi (DEM). Sulla base del ruolo di questi miRNA nella resistenza al platino, l'attenzione è stata focalizzata su 5 famiglie di miRNA: miR-199, miR-181, let-7, miR-29, miR-30, per un totale di 22 miRNA. Per valutare la loro potenziale correlazione con le variabili cliniche, tali miRNA sono stati validati in qRT-PCR. In particolare, miR-199a-3p e 5p erano associati con OS e PFS ( $p<0.005$ ) mentre miR-199b-5p solo con OS. Let-7a-5p era associato con PFS ( $p<0.01$ ), mentre let-7g-5p con OS ( $p=0.04$ ) e PFS ( $p=0.01$ ); analogamente, miR-181a-5p con OS ( $p<0.0001$ ) e PFS ( $p<0.0001$ ).

Per esaminare ulteriormente la rilevanza clinica di questi miRNA, i loro livelli di espressione sono stati valutati in pazienti con differenti intervalli liberi da platino (IPF) o tumore residuo dopo operazione. I risultati hanno mostrato che le pazienti con IPF < di 6 mesi presentavano livelli di espressione più alti per miR-181a-5p ( $p<0.001$ ), miR-199a-5p ( $p=0.004$ ), e miR-199a-3p ( $p=0.003$ ), rispetto alle donne con IPF compreso tra i 6 e i 12 mesi o > di 12 mesi. Analogamente le biopsie tumorali di pazienti con tumore residuo dopo resezione presentavano livelli significativamente più elevati degli stessi miRNA.

Infine, sulla base di un precedente lavoro (Parikh A et al, *Nat Commun* 2014) gli autori hanno valutato la concomitante espressione di miR-181a-5p e Smad2 fosforilato, osservando un'associazione significativa con una scarsa prognosi. In particolare, pazienti con alti livelli di miR-181a-5p e Smad2 avevano una PFS mediana di 10 mesi rispetto ai 22 mesi dei soggetti con bassa espressione di miR-181a-5p e Smad2 (OR=12.5; 95%CI 5.6-27.9); le differenze nell'OS erano simili: OS mediana =16 mesi vs 46.5 mesi (OR=17.1; 95%CI 6.7-43.8). L'analisi di Cox ha evidenziato che miR-181a-5p e Smad2 erano le variabili cliniche che meglio identificavano il rischio di ricaduta o morte; let-7g-5p era associato con OS [HR=1.1, 95%CI 1.04-1.23,  $p=0.0021$ ] e il tumore residuo >1cm era associato con PFS [HR=7.33, 95%CI 1.5-38.85,  $p=0.001$ ].

Lo studio ha come punto di forza quello di aver considerato biopsie seriali dello stesso paziente, permettendo quindi di dipingere un "ritratto molecolare" fedele dell'evoluzione tumorale nel corso del trattamento chemioterapico e di individuare i miRNA con potenziale significato prognostico.

In conclusione, lo studio ha mostrato che i miR-199a-3p,-5p, 181a-5p e let7g-5p erano significativamente associati con PFS ed OS; inoltre ha confermato che alti livelli di miR-181a-5p e Smad2 possono identificare pazienti con scarsa prognosi.

**Parole chiave:** HGS-EOC, chemioterapia adiuvante, miR-199, miR-181a-5p, let7g-5p

#### Riferimento bibliografico

[Petrillo M](#) et al, *Ann Oncol* 2016 27(4):625-34

## ASSOCIAZIONE FRA PROFILING DI MICRORNA TUMORALI CON L'ESITO CLINICO IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA UROTELIALE AVANZATO IN TRATTAMENTO DI PRIMA LINEA CON CHEMIOTERAPIA A BASE DI PLATINO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il carcinoma uroteliale (UC) metastatico risulta incurabile nella maggior parte dei pazienti, aventi, in media, un decorso privo di ricadute (PFS) e una sopravvivenza globale (OS) di 8 e 14 mesi rispettivamente, dopo chemioterapia a base di platino. Questo tipo di terapia comporta una risposta globale di circa il 50%, con picchi di risposta considerevole in alcuni sottogruppi. I miRNA, che possono avere funzioni di oncogeni o oncosoppressori, sono altamente conservati e la loro espressione nei campioni paraffinati è comparabile a quella dei campioni freschi congelati. È stato dimostrato che l'espressione dei miRNA sia alterata in UC ed è risultata correlata con la risposta ai farmaci a base di platino in molte altre patologie quali il tumore polmonare-non-microcitico, quello ovarico e quello della vescica. Inoltre, i fattori di trascrizione (TF) hanno un ruolo critico a monte nel sovra-regolare i geni mediando quindi il processo di carcinogenesi e la risposta alla terapia. Insieme, i miRNA e i TF, modificano l'espressione dei geni a valle o a monte degli stessi. Lo studio oggetto di questo studio si basa sull'ipotesi che un pannello di miR e di TF espressi nel tessuto tumorale di pazienti UC possa essere associato con una PFS duratura in pazienti affetti da UC metastatico e in trattamento con composti derivanti dal platino.

Per verificare tale ipotesi, sono stati analizzati i tessuti tumorali, conservati in paraffina, di 83 pazienti affetti da UC localmente avanzato o metastatico trattato primariamente con terapie a base di platino, dai quali è stato estratto l'RNA, poi retrotrascritto a cDNA in RT-PCR. Mediante ricerca *in silico*, sono stati selezionati i miRNA più frequentemente citati in associazione con i termini vescica, cancro, metastasi e trattamenti con cisplatino e ne sono stati selezionati 14: miR-21, miR-106b, miR-10b, miR-146a, miR-146b, miR-371, miR-372, miR-373, miR-1224, miR-1248, miR-200c, Let-7i, miR-27a, e miR-26b. Per determinare quali TF fossero associati con questo pannello di miR, è stato utilizzato l'algoritmo Transcription Regulation, e ne sono stati selezionati 6 (RELA, SMAD4, FOXO3, E2F1 and TWIST1). Nei pannelli di analisi sono stati inseriti come controlli RNU48 per i miRNA e GAPDH per i TF. La PFS è stata definita come tempo intercorso fra il primo giorno di trattamento del tumore metastatico fino al giorno in cui si è evidenziata una progressione o in cui è avvenuta la morte; è stata preferita all'OS in quanto identifica meglio i benefici derivanti dalla terapia, al contrario della sopravvivenza che è affetta da correlazioni non dovute solo alla terapia (tossicità, o comorbidità).

Per determinare l'attività del cisplatino, basandosi sul calcolo della concentrazione che inibiva il 50% della crescita cellulare (GI50), sono state eseguite curve dose-risposta su 8 linee cellulari UC: 647V, J82, RT112, RT4, T24, TCC-SUP, UMUC3 and VMCUB1, analizzandole con GraphPad Prism.

Dal confronto fra gli 83 pazienti tumorali e 8 campioni di tessuto vescicale sano, è emerso che solo l'incrementato livello di espressione di miR-21 e miR-372 è significativamente associato ad una ridotta PFS ( $P < 0.05$ ), sia nell'analisi univariata che in quella multivariata. La presenza di E2F1 sopra la media è risultata significativamente associata con la PFS ( $P < 0.05$ ), e il suo alto livello contribuirebbe al raggiungimento di un esito clinico sfavorevole. Se si combinano insieme le caratteristiche significative emerse nelle precedenti analisi, si può constatare che elevati livelli di E2F1 ( $P = 0.01$ , HR: 1.95) e alti valori di espressione di miR-21 ( $P = 0.01$ , HR: 2.01) e miR-372 ( $P = 0.05$ , HR: 1.70) sono associati a ridotta PFS.

Nonostante sia noto il coinvolgimento dei miR nella progressione tumorale, il meccanismo d'azione regolativo dello sviluppo del cancro o della risposta al trattamento, è ancora parzialmente conosciuto. E' noto che alcuni miRNA agirebbero sia come oncogeni che come oncosoppressori; inoltre, un singolo miRNA può avere come target molteplici mRNA e ciascun mRNA può essere regolato da diversi miRNA. Il miR-21 è stato dimostrato essere up-regolato nel tessuto tumorale, suggerendo quindi una probabile azione da oncogene. Nonostante le osservazioni fornite dagli autori circa la correlazione fra PFS e miR-21, la sensibilità al cisplatino delle linee cellulari UC *in vitro* non varia in base ai livelli di miR-21, suggerendo quindi che il livelli di questo miRNA siano prognostici ma non predittivi nel setting della miglior chemioterapia per i pazienti con UC. Questo studio presenta inoltre alcune limitazioni, fra cui il numero piuttosto ridotto di pazienti, il fatto che le analisi di chemio-sensibilità siano state condotte solo su linee cellulari, il pannello di miR non ne includeva alcuni potenzialmente rilevanti, ed inoltre il tessuto tumorale utilizzato derivava dalla sede primaria e non da quella metastatica.

In conclusione, i dati di questo studio mostrano che alti livelli di E2F1, miR-21 e miR-372 sono associati ad una ridotta PFS in pazienti affetti da UC in trattamento con cisplatino, suggerendo quindi un possibile ruolo prognostico di tali biomarkers.

**Parole Chiave:** miRNA, carcinoma uroteliale, *outcome*, cisplatino

#### Riferimento bibliografico

[Bellmunt J](#) et al. *Br J Cancer* 2016, 115(1): 12-9

## NEUROLOGIA

### STUDIO DI FARMACOGENETICA SUGLI EFFETTI EXTRAPIRAMIDALI ACUTI INDOTTI DA ANTIPSICOTICI IN PAZIENTI AL PRIMO EPISODIO DI PSICOSI: RUOLO DEI GENI CANDIDATI DEI SISTEMI DOPAMINERGICO, SEROTONINERGICO E GLUTAMATERGICO

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

L'utilizzo degli antipsicotici nel trattamento della schizofrenia è limitato dalla comparsa di importanti effetti avversi. In particolare, i sintomi extrapiramidali (EPS) sono effetti avversi dall'impatto rilevante, che richiedono frequentemente di intervenire con ulteriori trattamenti. Gli effetti extrapiramidali possono essere classificati in effetti acuti (che insorgono all'inizio del trattamento o dopo un aumento della dose) ed effetti tardivi (che si presentano, come la discinesia tardiva, dopo un trattamento prolungato). Gli EPS acuti includono l'acatisia, la distonia acuta e il parkinsonismo. Anche se questi effetti avversi generalmente rispondono ad una riduzione della dose o ad un trattamento farmacologico, essi rappresentano una delle cause principali della scarsa aderenza al trattamento con antipsicotici. Gli EPS sono stati associati a varianti genetiche a livello di geni implicati nella neurotrasmissione, inclusi geni che codificano per enzimi o trasportatori implicati nei sistemi dopaminergico, serotoninergico e glutamatergico. La maggior parte degli studi effettuati finora è stata condotta in pazienti con schizofrenia cronica. Pertanto, i risultati potrebbero non essere estendibili a pazienti al primo episodio di psicosi, dal momento che questi pazienti hanno una minore o nessuna esposizione precedente agli antipsicotici, tendono ad essere trattati con un dosaggio inferiore di antipsicotici e sembrano essere più sensibili allo sviluppo degli EPS. Lo scopo di questo studio è stato quello di investigare se il rischio di EPS possa essere correlato a varianti geniche di geni candidati appartenenti ai sistemi dopaminergico, serotoninergico e glutamatergico in una coorte naturalistica di pazienti al primo episodio di psicosi.

Il campione comprendeva 113 pazienti al primo episodio di psicosi reclutati presso 16 centri in Spagna. I criteri di inclusione comprendevano: età tra 7 e 35 anni; esordio dei sintomi psicotici (della durata di almeno una settimana) negli ultimi 12 mesi. I criteri di esclusione comprendevano: ritardo mentale diagnosticato in

accordo con i criteri del DSM-IV; storia di trauma cranico con perdita di coscienza; comorbidità con una malattia organica con ripercussioni sullo stato mentale. Inoltre, i pazienti non dovevano essere in trattamento con antipsicotici da più di 12 mesi. Per evitare un *bias* legato alle differenze nella capacità di indurre EPS da parte di antipsicotici a bassa o alta potenza, sono stati inclusi solo pazienti in trattamento con antipsicotici ad alta potenza (amisulpride, paliperidone, risperidone e ziprasidone). La valutazione degli EPS è stata effettuata utilizzando (a) la segnalazione spontanea delle reazioni avverse, e (b) la valutazione sistematica degli effetti avversi tramite l'esame obiettivo e l'impiego di due scale somministrate ad ogni visita di follow-up (*baseline*, a 2 e a 6 mesi): la *Scale of the Udvalf for Klinske Undersogelser* e la *Simpson-Angus Scale*. Inoltre, sono stati registrati i trattamenti aggiuntivi necessari o le modifiche nel dosaggio o nell'assunzione degli antipsicotici occorsi in seguito allo sviluppo di EPS. La presenza di EPS è stata definita in base a uno *score* > 3 alla *Simpson-Angus Scale* o ad una segnalazione spontanea di EPS nel database di farmacovigilanza. Per lo studio sono stati selezionati geni appartenenti alle *pathway* della trasmissione dopaminergica, serotoninergica e glutamatergica, precedentemente associati con risposta agli antipsicotici o effetti avversi. In queste regioni candidate gli autori hanno genotipizzato 202 polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), utilizzando strategie che includevano selezione di tag SNP, di varianti funzionali e di varianti precedentemente associate con malattie psichiatriche. L'associazione tra SNP e EPS è stata analizzata utilizzando modelli di regressione logistica multivariata corretti per le covariate età, sesso, dosaggio degli antipsicotici, utilizzo in combinazione di più antipsicotici e trattamenti concomitanti. Inoltre, gli autori hanno valutato la presenza di interazioni SNPxSNP e interazioni con le covariate mediante algoritmi in grado di calcolare il guadagno di informazione dato dalla combinazione delle diverse variabili.

Dopo la correzione per test multipli, quattro SNP sono risultati associati con gli EPS: HTR2A rs9567733 ( $p = 4 \times 10E-05$ ), SLC18A2 rs363341 ( $p = 5 \times 10E-05$ ), GRIK3 rs1334802 ( $p = 6 \times 10E-05$ ) e DRD2 rs1124491 ( $p = 1 \times 10E-04$ ). Inoltre, gli autori hanno individuato una interazione tra geni del sistema dopaminergico (*DRD2* e *SLC18A2*), glutamatergico (*GRIK3*, *GRIN2A* e *HSPG2*) e il dosaggio della terapia con antipsicotici.

Il blocco dei recettori dopaminergici D2 è una proprietà comune a tutti gli antipsicotici. Lo SNP del gene DRD2 individuato da questo studio come correlato allo sviluppo di EPS (rs1124491) è in forte *linkage disequilibrium* con rs1800497, una variante associata da studi precedenti con una riduzione del 40% della densità di recettori D2 nello striato. Un altro dei geni associati con lo sviluppo di EPS dal presente studio, SLC18A2, codifica per un transporter monoaminico vescicolare inibito dalla tetrabenazina, un farmaco utilizzato per il trattamento di diversi disordini del movimento, tra i quali la discinesia tardiva. Inoltre, diverse varianti a livello di questo gene sono state recentemente associate con la discinesia tardiva.

Tra i limiti dello studio vi sono la dimensione del campione limitata (che ha comportato un potere statistico insufficiente per identificare varianti con *effect size* piccolo o medio) e la scelta di utilizzare un approccio di geni candidati. Tra i punti di forza vi sono l'inclusione di pazienti al primo episodio di psicosi trattati con antipsicotici ad alta potenza e la disponibilità di dati clinici riguardanti il dosaggio, le combinazioni di antipsicotici e i trattamenti concomitanti.

In conclusione, i risultati dello studio suggeriscono il coinvolgimento di varianti di geni appartenenti ai sistemi di trasmissione dopaminergica, serotoninergica e glutamatergica nello sviluppo di sintomi extrapiramidali indotti da antipsicotici in pazienti al primo episodio di psicosi.

**Parole chiave:** antipsicotici, psicosi, sintomi extrapiramidali, *DRD2*, *SLC18A2*, *HTR2A*, *GRIK3*

#### Riferimento bibliografico

[Mas S](#) et al. *Pharmacogenomics J* 2016 Jun 7 [Epub ahead of print]

## GENE *CHRNA7* E RISPOSTA AGLI INIBITORI DELLA COLINESTERASI IN UNA COORTE ITALIANA DI PAZIENTI CON MALATTIA DI ALZHEIMER

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

E' stato dimostrato che le varianti del gene *CHRNA7* influiscono sulla suscettibilità alla malattia di Alzheimer (*Alzheimer's disease*, AD), sul rischio di conversione da *mild cognitive impairment* ad AD e sulla risposta clinica agli inibitori delle colinesterasi (ChEI). Questo gene, localizzato sul cromosoma 15q14, codifica per l' $\alpha 7$ -nAChR, la maggiore subunità del recettore dell'acetilcolina nel sistema nervoso centrale, importante nella neurotrasmissione colinergica. Tale recettore potrebbe essere coinvolto nella patogenesi dell'AD, in quanto lega con alta affinità l'amiloide tossica  $\beta_{42}$ , determinandone l'internalizzazione e l'accumulo. Inoltre, è stato ipotizzato che il deposito dell'amiloide- $\beta_{42}$  potrebbe a sua volta aumentare l'espressione dell' $\alpha 7$ -nAChR inducendo un *loop a feedback* positivo. Questo gene è pertanto un candidato plausibile per esplorare i fattori genetici coinvolti nella risposta differenziale al trattamento con ChEI.

Un recente studio ha riportato l'associazione dell'allele APOE4 e rs6494223, una variante intronica del gene *CHRNA7*, con la risposta agli ChEI in una popolazione di 177 pazienti Brasiliani con AD. Un altro studio ha riportato, in una popolazione Cinese, un'associazione tra la variante rs8024987 dello stesso gene e la risposta agli ChEI. Il presente studio ha lo scopo di replicare questi risultati per rs6494223 e rs8024987 e di testare l'influenza del gene *CHRNA7* sulla risposta agli ChEI a livello di gene, valutando il contributo singolo e complessivo di 84 varianti.

La popolazione consisteva di un gruppo di pazienti Italiani affetti da AD di grado medio o severo in terapia con ChEI. I pazienti sono stati genotipizzati con *Illumina Human 660W-Quad BeadChips*. Il gruppo consisteva di 169 pazienti, all'interno dei quali è stata selezionata una coorte caratterizzata da pazienti con *mild AD* (*Mini-Mental State Examination*, MMSE, al *baseline*  $\geq 20$ ). I pazienti sono stati classificati come *responders* (R) (*response 1*) se  $\Delta\text{MMSE} \geq 0$  (differenza dell'MMSE tra il punteggio rilevato al sesto mese di *follow-up* e quello registrato al *baseline*) e *non-responders* (NR) se  $\Delta\text{MMSE} < 0$ . In base a tale criterio il gruppo di pazienti è risultato composto da 77 R e 92 NR, mentre il gruppo con *mild AD* (n = 100) da 42 R e 58 NR.

Successivamente, è stata definita una più rigida classificazione per quanto concerne la risposta terapeutica (*response 2*), che identificava i pazienti come R quando avevano  $\Delta\text{MMSE} \geq 2$  a sei mesi di *follow-up* (n = 33) e NR gli altri (n = 136).

Dall'analisi dei dati è emerso che il sesso maschile era associato alla *response 1* al trattamento nella coorte con *mild AD* (p = 0,03, OR = 2,62, 95% CI 1,15-6,12) e che un minore punteggio all'MMSE al *baseline* caratterizzava i pazienti R sia nella coorte con *mild AD* (p = 0,0189), che nella coorte completa (p = 0,03). Per quanto riguarda la *response 2*, è stato osservato che l'età dei pazienti all'inizio del trattamento era maggiore nei pazienti R rispetto a quelli NR (p = 0,003). In accordo ai dati di un precedente studio, i portatori di *APOE $\epsilon$ 4* avevano una risposta clinica peggiore rispetto a coloro senza l'allele  $\epsilon 4$  (OR = 0,47, 95% CI 0,19-1,07, p = 0,1), anche se i risultati non erano statisticamente significativi.

Non è stata osservata nessuna associazione di rs6494223 e rs8024987 con la risposta agli ChEI. Per studiare ulteriormente l'impatto di rs8024987 sull'effetto della terapia farmacologica sono state confrontate le donne che usavano galantamina e portatrici del genotipo GG o GC con le donne che usavano farmaci diversi dalla galantamina e portatrici del genotipo CC. Non è stata osservata alcuna associazione significativa, anche se è stata rilevata una tendenza ad una migliore risposta al farmaco nelle donne trattate con galantamina GG o GC rispetto alle donne non portatrici di questi genotipi e non trattate con galantamina, in accordo con un precedente studio.

In conclusione, dal presente studio non emerge alcuna associazione significativa tra gli SNPs rs6494223 e rs8024987 del gene *CHRNA7* e la risposta clinica agli inibitori della colinesterasi in una popolazione Italiana di pazienti con malattia di Alzheimer.

Gli Autori ritengono che il gene *CHRNA7* dovrebbe essere oggetto di ulteriori ricerche, allo scopo a) di studiarlo in un più ampio contesto di interazioni con altri geni del *pathway* dell'acetilcolina, b) di caratterizzare il suo ruolo nella farmacoterapia personalizzata con ChEI e c) di realizzare studi su campioni più ampi di popolazione che aumenterebbero il potere statistico dei dati.

**Parole chiave:** recettore nicotinico alfa7 per l'acetilcolina, malattia di Alzheimer, biomarkers, inibitori della colinesterasi, farmacogenetica

**Riferimento bibliografico**

Clarelli F et al. *J Alzheimers Dis* 2016, 52: 1203-08

**FARMACOGENETICA DEGLI EFFETTI COLLATERALI LEGATI AL CITALOPRAM NEI BAMBINI CON DEPRESSIONE E/O DISTURBI D'ANSIA**

A cura della Dott.ssa Stefania Cheli

Gli antidepressivi (AD<sub>s</sub>) sono ampiamente prescritti per la depressione ed i disturbi d'ansia nei bambini e negli adolescenti ma studi clinici suggeriscono che solo il 50-60% dei pazienti risponde ad ogni singolo AD, inoltre, l'esperienza clinica suggerisce che i tassi di risposta sono ancora più bassi. Oltre alla difficoltà nell'identificare un trattamento efficace, l'uso di AD è spesso associato ad eccessive reazioni avverse. Sono stati riportati eventi avversi gravi a seguito del trattamento con gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI), tra questi suicidalità, aggressività, ipervigilanza, agitazione e mania indotta da antidepressivi (AIM). Ad oggi non vi è ancora un'evidenza robusta e coerente di un gene candidato o di uno specifico polimorfismo che risulti associato con la risposta ad AD o con i profili degli effetti collaterali (EC) nella popolazione pediatrica. In questo studio, è stato utilizzato un approccio di farmacogenetica per individuare le variazioni genetiche in grado d'influenzare la suscettibilità agli EC legati al citalopram. Inoltre gli autori testano l'ipotesi che varianti genetiche nei geni candidati relativi alla serotonina (5-HT) possano conferire una protezione o un effetto sul rischio di eventi avversi correlati al citalopram.

**Soggetti.** I dati presentati in questo lavoro sono stati raccolti come parte di un trial di 8 settimane, open-label sull'efficacia, che è stato già descritto in letteratura (Kronenberg et al 2007; Schirman et al. 2010). I criteri d'idoneità sono stati: età compresa tra i 7 e 18 anni, origine ebraica-israeliana e una diagnosi di depressione maggiore/distimia o disturbo d'ansia secondo i criteri del manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali (DSM-IV-TR). La diagnosi doveva essere almeno di moderata gravità con uno score  $\geq$ C4 della scala *Clinical Global Impression* (CGI-S), che corrisponde ad un livello compatibile con le linee guida accettate per l'uso di AD in bambini e adolescenti. Criteri di esclusione consistevano in: ritardo mentale, sindrome cerebrale organica, disturbi dello spettro autistico, una storia di ipomania o mania, psicosi, disturbi legati al cibo, deficit di attenzione e disturbo d'iperattività (ADHD) e abuso di sostanze. Gli autori si sono concentrati su una popolazione pediatrica *naïve* al trattamento, nel tentativo di reclutare un campione omogeneo con un particolare riguardo alle precedenti esposizioni agli AD. Inoltre, non è stata consentita alcuna co-medicazione per tutto il periodo di studio (8 settimane). I pazienti che, al momento del reclutamento, ricevevano una psicoterapia sono stati esclusi anche per valutare l'impatto esclusivo del farmaco.

**Valutazione.** I soggetti sono stati valutati all'ammissione e a 2, 4, 6 e 8 settimane. La valutazione diagnostica è stata condotta utilizzando la versione ebraica del programma d'intervista diagnostica dei disturbi psicopatologici (attuali e pregressi) in bambini e adolescenti (K-SADS-PL). La gravità clinica globale e il miglioramento sono stati valutati utilizzando la scala CGI-S e con la sottoscala CGI-I, rispettivamente. Misure continue di depressione ed ansia sono state ottenute impiegando la scala di valutazione della depressione nei bambini (CDRS-R) e il questionario "SCARED" (*Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders*), utilizzato per valutare la presenza di disturbi d'ansia in età infantile. Inoltre, gli EC sono stati valutati dal medico utilizzando "SSRI Side effect Profile Inventory" (SEPI), un questionario messo a punto per questo studio in modo da individuare gli eventuali EC e la loro gravità. Il questionario SEPI comprende 24 dei più comuni EC noti per gli SSRI ed è già stato descritto in precedenza (Kronenberg et al. 2007). Ogni EC è stato valutato su una scala a 5 punti, da 0 (nessun EC) e 4 (molto grave). **Procedura.** Lo studio è stato approvato dal *Schneider Children's Hospital Review Board* e dal Comitato di Studi in Genetica Umana del Ministero della Salute Israeliano. Il Consenso informato è stato ottenuto da tutti i partecipanti e dai loro genitori. Dopo un accertamento diagnostico di conferma, tutti i soggetti hanno ricevuto citalopram ed hanno visitato uno psichiatra una volta la settimana. Gli EC sono stati valutati settimanalmente tramite domande dirette. L'avvio del dosaggio per tutti i pazienti è stato di 10 mg al giorno di citalopram per una settimana, e poi aumentato a 20 mg al giorno fino alla 4° settimana. Se il grado di miglioramento era minimo (CGI-I<sub>3</sub>), allora il dosaggio di citalopram era aumentato da 20 a 40 mg al giorno nella 5° settimana. Sia i pazienti che i medici erano in cieco per il genotipo. **Analisi genetica.** Selezione del gene candidato. In questo studio sono stati scelti tre geni (5-HTR2A, 5-HTR1Db, 5-HTR2C) considerati

importanti nei vari pathway neurobiologici associati all'attività serotoninergica. Precedentemente alla prima dose di citalopram, sono stati raccolti 9 ml di sangue intero da cui è stato estratto il DNA con un Kit commerciale (Roche Diagnostics, Basilea, Svizzera). Su questo è stata effettuata la genotipizzazione del polimorfismo T102C (rs6313), il più studiato nel gene 5-HTR2A, G861C (rs6296) in 5-HTR1Db e del polimorfismo non-sinonimo G68C (Ser23Cys) (rs6318) in 5-HTR2C. **Analisi dei dati.** Per l'analisi statistica, un EC è stato considerato se: (1) c'era un qualsiasi report di almeno una gravità moderata, o (2) almeno due segnalazioni di lieve entità, o (3) qualsiasi EC che è stato segnalato su l'ultimo follow-up prima che un paziente si fosse prematuramente ritirato dallo studio, indipendentemente dal motivo del ritiro. L'associazione tra genotipo ed EC è stato valutato utilizzando l'analisi univariata ( $\chi^2$ ). Tutti i test erano a due code e il livello di significatività è stato fissato a 0,05. La correzione di Bonferroni è stata utilizzata per minimizzare i possibili falsi positivi. Inoltre, affinché un'associazione fosse considerata putativa, il genotipo eterozigote doveva indicare un livello intermedio di associazione rispetto ai due genotipi omozigoti.

**Popolazione in studio.** In tutto 107 soggetti hanno soddisfatto i criteri di ammissibilità, di questi 95 hanno accettato di partecipare e 87 sono stati inclusi nell'analisi finale. Otto soggetti non sono stati inclusi a causa di una violazione del protocollo o di abbandono prima che fosse condotto il primo follow-up. Dieci soggetti hanno interrotto/abbandonato a causa di EC e sono stati inclusi nell'ultima analisi. Il campione comprendeva il 44% di maschi. L'età media era di  $14.07 \pm 2.67$  anni. Ventinove bambini (33%) erano sotto i 13 anni d'età. Per quanto riguarda la provenienza etnica, la proporzione di soggetti con 2 o più nonni aschenaziti era del 65%. Per quanto riguarda la diagnosi, 36 soggetti (41%) hanno avuto solo ansia, 30 (35%) un disturbo depressivo e 21 (24%) aveva depressione e disturbi d'ansia in comorbidità. Dei bambini con depressione, 24 avevano depressione maggiore (MDD), 4 distimia e 2 avevano doppia depressione. Per quaranta bambini dello studio (47%), la dose finale del farmaco è stata di 40 mg al giorno. **EC per sesso, età, tipo di disturbo, dose di farmaco.** Gli EC sono stati raggruppati nelle seguenti categorie: EC neurologici, gastrointestinali, agitazione, disturbi del sonno ed EC sessuali. Dieci pazienti si sono ritirati dallo studio a causa degli EC; quattro hanno sviluppato sintomi simili ad acatisia, vale a dire, grave irrequietezza motoria o psicologica; tre pazienti hanno riportato distorsioni percettive o allucinazioni; due bambini hanno sviluppato ipomania; e un soggetto ha riportato gravi disturbi gastrointestinali e insonnia. Tuttavia, la maggior parte delle segnalazioni di EC riportate erano da lievi a moderate e non hanno influenzato l'aderenza al farmaco. L'irrequietezza è stata più comune nei ragazzi (maschi:femminile 42.1vs18,7%;  $\chi^2=5.61$ ,  $df=1$ ,  $p=0,018$ ). Non è stata trovata alcuna correlazione con l'età o la dose finale di citalopram, né alcun'altra relazione tra il profilo di EC e sesso, età, diagnosi o dose. Non sono state riscontrate differenze tra i gruppi con MDD concomitante e disturbi d'ansia rispetto a quelli con un'unica MDD o disturbo d'ansia per quanto riguarda l'età, il sesso, la dose di citalopram finale o profilo di EC. **EC correlati al genotipo.** Sono stati osservati tassi più alti EC di agitazione nei soggetti con genotipo CC in 5-HTR1Db (rs6296) rispetto a quelli con genotipo CG o GG (CC:CG:GG 71,4vs39,3vs22,7%,  $\chi^2=7.34$ ,  $df=2$ ,  $p=0,025$ ). Analogamente, sono stati rilevati maggiori tassi d'irrequietezza nei soggetti con genotipo CC del SNP in 5-HTR1Db rispetto a quelli CG o GG (CC:CG:GG 71,4vs33,3 vs18,1%,  $\chi^2=8.99$ ,  $df=2$ ,  $p=0,011$ ). Solo questa differenza è rimasta significativa anche dopo correzione di Bonferroni per i tre geni serotoninergici.

Questo studio suggerisce che il polimorfismo G861C (rs6296) nel gene 5-HTR1Db possa essere coinvolto nell'irrequietezza dei bambini e degli adolescenti trattati con citalopram per depressione e/o ansia.

Limiti dello studio: la dimensione relativamente piccola del campione, la mancanza di un braccio di controllo con placebo, la natura open-label dello studio e il potenziale di stratificazione per popolazione. Inoltre non ci sono dati sull'aderenza al trattamento né sulla concentrazione del farmaco, cosicché una non-risposta potrebbe essere attribuita al genotipo quando in realtà vi è il rischio che possa essere dovuta alla mancanza di aderenza o di rapida clearance.

**Parole chiave:** bambini e adolescenti, citalopram, depressione, ansia, farmacogenetica

#### Riferimento bibliografico

[Amitai M](#) et al. *J Neural Transm (Vienna)* 2016 Jun 20 [Epub ahead of print]

**IMMUNOMODULAZIONE****UN METODO SEMPLICE PER GENOTIPIZZARE TPMT E ITPA TRAMITE ANALISI MULTIPLEX HRM IN PAZIENTI TRATTATI CON TIOPURINE**

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

I farmaci tiopurinici, che includono l'immunosoppressore azatioprina (AZA) e gli agenti antitumorali 6-mercaptopurina (6MP) e 6-tioguanina (6TG), sono largamente utilizzati per il trattamento di malattie infiammatorie croniche come le malattie croniche intestinali (IBD), patologie ematologiche, trapianti e leucemie. La tiopurina metiltransferasi (TPMT) e l'inosina trifosfatasi (ITPA) sono enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci tiopurinici. TPMT è essenziale nella biotrasformazione delle tiopurine in quanto catalizza la S-metilazione delle tiopurine. L'aumentato rischio di effetti avversi da AZA e 6MP dipende dall'accumulo dei nucleotidi tioguaninici (6TGN), la cui concentrazione è inversamente proporzionale all'attività di TPMT. L'attività di questo enzima è influenzata da variazioni di sequenza nel gene *TPMT*: circa lo 0.3% della popolazione ha un'attività non percepibile di TPMT, l'11% sono eterozigoti per TPMT e presentano un'attività ridotta dell'enzima.

Sono note 37 mutazioni alleliche per TPMT, ma solo 3, nell'80-95% delle diverse popolazioni nel mondo, sono responsabili della mancata attività di TPMT: TPMT\*2 (c.238G>C), TPMT\*3A (una combinazione di c.460G>A, p.Ala154Thr, rs1800460 nell'esone 6 con c.719A>G, p.Tyr240Cys, rs1142345 nell'esone 9) e TPMT\*3C (c.719A>G).

L'ITPA catalizza l'idrolisi dell'inosina trifosfato (ITP) in inosina monofosfato (IMP) prevenendo l'accumulo di ITP tossico. Due mutazioni sono state identificate nella ridotta attività dell'ITPA: p.P32T (c.94C>A, rs1127354) e IVS2+21A>C (rs7270101). La maggiore variabilità è causata dalla mutazione esonica c.94C>A, che comporta una mancata attività enzimatica di ITPA negli eritrociti e linfociti, in circa 1 su 50 caucasici.

Lo scopo di questo studio è sostituire i metodi standard per il rilevamento di mutazioni (RFLP, SSCP, DHPLC, sequenziamento Sanger), i quali sono test laboriosi e costosi, con una metodologia più veloce, economica e sensibile come la genotipizzazione tramite la high resolution melting multiplex (HRM).

Lo studio è stato condotto sul DNA di 100 pazienti affetti da IBD dell'Istituto of Genetica Umana Polish Academy of Sciences di Poznan trattati con farmaci tiopurinici. Per la validazione della metodologia HRM multiplex, sono stati utilizzati due campioni di controllo con alleli TPMT\*1/\*2 e TPMT\*3A/\*3A. Il DNA di tutti i pazienti era stato già analizzato per gli alleli TPMT\*2, TPMT\*3A, TPMT\*3C e ITPA c.94C>A tramite analisi di RFLP e sequenziamento.

Sono stati disegnati dei primer per c.238G>C, c.460G>A e c.719A>G del gene *TPMT* e per c.94C>A del gene *ITPA*. L'analisi HRM multiplex è stata condotta con due gruppi di primer: il primo gruppo di primer, c.460G>A e c.719A>G, di TPMT ha mostrato tre differenti profili di melting sull'esone 9 e cinque sull'esone 6. Sequenziando i campioni che mostrano i tre differenti profili si è osservata la presenza di tre genotipi A/A, A/G e G/G in posizione c.719, A/A, A/G e G/G nel locus c.460. I due profili aggiuntivi sono causati dal polimorfismo c.474C>T (rs2842934, p.Ile158Ile) che si trova vicino a c.460G>A, ma data la vicinanza non è possibile disegnare un primer per l'analisi c.460 escludendo la posizione c.474 del gene di *TPMT*. Il secondo gruppo di primer comprende c.238G>C del gene *TPMT* e c.94C>A del gene *ITPA*. In corrispondenza dell'esone 4 del gene *TPMT*, è stato osservato un solo profilo di melting differente rispetto alle altre analisi, e il sequenziamento del frammento di DNA in questione ha dimostrato che si tratta di una sostituzione in eterozigosi c.238G>C. L'analisi dell'esone 2 del gene *ITPA* ha rilevato tre diversi profili di melting: T/T, T/C e C/C in posizione c.94.

I genotipi identificati con analisi HRM multiplex per il gene *TPMT* degli alleli c.238G>C, c.460G>A e c.719A>G e c.94C>A del gene *ITPA* mostrano un'accuratezza del 100% per l'intero gruppo in studio confrontato con i risultati ottenuti tramite RFLP e sequenziamento di DNA.

La metodologia descritta permette l'analisi simultanea delle varianti geniche di TPMT (c.238G>C, c.460G>A e c.719A>G) e ITPA (c.94C>A). I risultati mostrano un'accuratezza del 100% per l'intero gruppo studiato. L'analisi tramite HRM multiplex può essere usata come metodo diagnostico alternativo, più economico, efficiente e sensibile comparato alle tecniche convenzionali per la genotipizzazione di TPMT\*2, TPMT\*3 e ITPA c. c.94C>A.

**Parole chiave:** farmaci tiopurinici, TPMT, ITPA, polimorfismi, HRMA, sensibilità, accuratezza

#### Riferimento bibliografico

[Skrzypczak-Zielinska M](#) et al. *Mol Diagn Ther* 2016 Jun 15 [Epub ahead of print]

## DIABETOLOGIA

### UNA VARIANTE MISSENSE DEL GENE GLP1R È ASSOCIATA CON LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON GLIPTINE

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Le gliptine agiscono inibendo l'enzima dipeptidil peptidasi-4 con conseguente aumento dei peptidi endogeni *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) e *glucose-dependent insulinotropic peptide* (GIP). Pertanto i recettori per il GLP-1 ed il GIP (GLP1R e GIPR) sono target indiretti delle gliptine ed hanno un ruolo cruciale per l'effetto antidiabetico. La variante *GLP1R rs6923761* (Gly168Ser) è stata associata con una ridotta secrezione di insulina in soggetti senza diabete (*Sathananthan A, et al. Diabetes Care 2010; 33: 2074–2076*) mentre l'allele A del *GIPR rs10423928* rappresenta un fattore di rischio per l'insorgenza di diabete. È stato ipotizzato che queste varianti geniche possano essere associate con un ridotto effetto delle gliptine.

In questo studio è stata valutata la correlazione tra le varianti *GLP1R rs6923761* (Gly168Ser) e *GIPR rs10423928* e l'effetto antidiabetico delle gliptine.

Sono stati arruolati 140 pazienti (72 uomini e 68 donne) affetti da diabete di tipo 2 e trattati con sitagliptin (n=92) o vildagliptin (n=48), entrambi alla dose di 100 mg/die, in aggiunta alla metformina (n=100) o alla combinazione di metformina/sulfanilurea (n=40). Sono stati selezionati pazienti con livelli di emoglobina glicata (HbA1c) al basale tra 7 e 12%. Sono stati invece esclusi pazienti affetti da patologie tumorali, altri disturbi endocrini, malattia renale cronica di stadio 3-5, severa disfunzione epatica e patologie sistemiche infiammatorie.

Obiettivo primario dello studio è stata la valutazione della riduzione dei livelli di HbA1c dopo 6 mesi di trattamento continuo con gliptine.

Nella popolazione in studio l'età media era di 56,8 anni e il *body mass index* (BMI) di 32.3. L'HbA1c media è stata ridotta da un livello al baseline di 8.04% a 7.33% dopo 6 mesi di trattamento (p<0,001). Non è stata riscontrata una differenza significativa nella riduzione di HbA1c rispetto al sesso (p=0,23), al tipo di gliptina usata (p=0,59), alla terapia antidiabetica concomitante (p=0,88), o al centro clinico di provenienza (p=0,20). La variante *GLP1R Gly168Ser* è risultata significativamente associata con la riduzione dell'HbA1c (p=0,011), con un effetto via via minore dagli omozigoti Gly/Gly agli omozigoti Ser/Ser (p=0,018). La differenza tra la riduzione di HbA1c nei portatori dell'allele Gly e gli omozigoti Ser/Ser è risultata significativa (0,008), mentre la riduzione assoluta di HbA1c dopo 6 mesi di trattamento non è risultata significativa nel gruppo Ser/Ser (p=0,30). Nessuna differenza significativa è stata osservata nei portatori della variante *GIPR rs10423928*.

I risultati di questo studio mostrano come la variante *missense GLP1R Gly168Ser* sia associata con una ridotta risposta al trattamento con gliptine, con una minore riduzione di HbA1c negli omozigoti Ser/Ser rispetto ai portatori dell'allele Gly. Fino ad ora solo 2 varianti hanno mostrato un effetto simile: la variante *TCF7L2 rs7903146 C>T* è stata associata con una minore riduzione di HbA1c dopo trattamento con

linagliptin (in particolare negli omozigoti T rispetto agli omozigoti C; *Zimdahl H et al. Diabetologia 2014; 57: 1869–1875*); la variante *rs7202877 T>G*, localizzata in prossimità dei geni codificanti il chimotripsinogeno (*CTRB1/CTRB2*), è stata associata con una ridotta risposta alle gliptine (in particolare i portatori dell'allele G rispetto agli omozigoti T; *'t Hart LM, et al. Diabetes 2013; 62: 3275–3281*). Uno studio recente su 88 pazienti spagnoli con diabete di tipo 2 non ha mostrato un'associazione significativa tra il genotipo *GLP1R Gly168Ser* e la risposta all'agonista del recettore GLP-1 liraglutide (*de Luis DA et al. J Diabetes Complications 2015; 29: 595–598*). Pochi studi hanno esaminato il possibile meccanismo con cui le varianti del *GLP1R* possano influenzare la via di segnalazione del GLP-1 (*Fortin JP et al. J Pharmacol Exp Ther 2010; 332: 274–280; Koole C et al. Mol Pharmacol 2011; 80: 486–497*). In uno studio in vitro è stato osservato come la variante 168Ser sia associata ad una ridotta espressione del recettore sulla superficie cellulare rispetto alla variante Gly168.

In conclusione, questo studio mostra una relazione tra la presenza della variante *missense GLP1R Gly168Ser* ed una ridotta risposta al trattamento con gliptine.

Un limite dello studio è rappresentato dal numero relativamente piccolo di pazienti coinvolti, pur in presenza di un potere statistico sufficiente ad osservare differenze significative. Inoltre, sono stati arruolati solo pazienti in trattamento con altri antidiabetici poiché il farmaco presenta solo l'indicazione in associazione nei paesi coinvolti nello studio. Tuttavia una revisione sistematica recente ha mostrato che ci sono minime differenze negli effetti delle gliptine quando somministrati da soli o in combinazione (*Esposito K et al. BMJ Open 2015; 5: e005892*).

**Parole chiave:** diabete, *GLP1R*, *GIPR*, gliptine

#### Riferimento bibliografico

[Javorský M et al. Diabetes Obes Metab 2016 May 10 \[Epub ahead of print\]](#)

## LA METANALISI DEL MESE

### LE MUTAZIONI R882 DEL GENE DNMT3A PREDICONO UNA PROGNOSI PEGGIORE IN PAZIENTI CON AML: META-ANALISI SU 4474 PAZIENTI

A cura del Dott. Vittorio Simeon

La leucemia mieloide acuta (AML) è una patologia clinicamente e biologicamente eterogenea, caratterizzata da un'espansione clonale rapida ed aggressiva delle cellule progenitrici mieloidi del midollo osseo. L'AML si presenta solitamente con un ampio spettro di anomalie citogenetiche, molte di queste sono in grado di influenzare la prognosi. Recentemente, sono state identificate, ed associate all'esito clinico dei pazienti, numerose mutazioni genetiche e alterazioni epigenetiche a carico del processo di genesi leucemica. Tra queste le alterazioni del gene DNMT3A (DNA-methyltransferase 3 alpha), responsabile della metilazione *de novo* del DNA genomico, sembrano avere un ruolo importante nell'eziologia di varie patologie, inclusa l'AML. DNMT3A è uno dei geni con la più alta frequenza di mutazioni nei pazienti con AML. Infatti, circa il 20% dei pazienti è portatore di mutazioni a carico del gene DNMT3A, di cui circa il 60% in eterozigosi all'arginina in posizione 882 (R882). Sono state identificate ben quattro tipi di mutazione, R882C (arginina → cisteina), R882H (arginina → istidina), R882S (arginina → serina), e R882P (arginina → fenilalanina), tutte comportano una perdita della normale funzione di metilazione della proteina. Di conseguenza, le mutazioni a carico del gene DNMT3A sono solitamente classificate come mutazioni R882 o non-R882.

C'è molta discussione in letteratura sulla potenzialità clinica delle mutazioni R882 DNMT3A di predire la prognosi dell'AML. A tale scopo, la meta-analisi pubblicata su *Medicine* da *Yuan XQ e colleghi* ha l'obiettivo di studiare e valutare, in maniera sistematica, il valore prognostico di queste mutazioni nei pazienti con AML.

La ricerca sistematica è stata condotta utilizzando i motori di ricerca PubMed, Embase, Web of Science, ClinicalTrials e Cochrane Library con i seguenti termini di ricerca: "AML", "Leucemia Mieloide Acuta" e "DNMT3A" e "R882", "Arginine 882". I criteri di inclusione prevedevano: studi su mutazioni R882 ed effetto prognostico nei pazienti adulti con AML; presenza di dati di sopravvivenza generale (OS) e tempo libero da ricadute (RFS).

È stato calcolato l'Hazard Ratio (HR) aggregato con il rispettivo intervallo di confidenza al 95% (95% CI) utilizzando il metodo inverso della varianza nella popolazione totale e nei sottogruppi. In caso di eterogeneità gli HRs sono stati calcolati con un modello ad effetti casuali invece del modello ad effetti fissi. Nei vari processi di selezione degli studi, di analisi e di scrittura del lavoro sono state seguite le linee guida PRISMA.

Delle 50 pubblicazioni selezionate dopo ricerca delle parole chiave, ben 42 di queste sono state escluse (1 review, 13 duplicati, 28 non rispettavano i criteri di inclusione).

Sono stati inclusi nella meta-analisi otto studi, con un totale di 4474 pazienti di cui 694 con mutazioni R882. La RFS è stata calcolata da 6 studi con un totale di 3915 pazienti, di cui 631 con mutazioni R882 e 3284 pazienti senza mutazioni R882. In base al modello ad effetti-fissi, è stata osservata una RFS peggiore per i pazienti AML con mutazioni R882, se comparati con i pazienti senza mutazioni R882 (HR=1.4, 95%CI =1.24 – 1.59, p<0.001).

L'analisi della OS è stata invece effettuata su 8 studi con un totale di 4474 pazienti, di cui 694 con mutazioni R882 e 3780 senza mutazioni R882. Con un modello ad effetti casuali, i pazienti portatori delle mutazioni R882 presentavano un'evidente riduzione del tempo di sopravvivenza rispetto ai pazienti non portatori delle mutazioni R882 (HR=1.47, 95%CI =1.17 – 1.86, p=0.001).

Dato che l'età rappresenta uno dei fattori in grado di influenzare maggiormente la prognosi dei pazienti con AML, è stata effettuata un'analisi di sottogruppo dividendo i pazienti con età minore o maggiore di 60 anni. Nell'analisi di sottogruppo, è stata osservata una RFS e OS peggiore per i pazienti portatori di mutazioni R882 rispetto ai pazienti senza mutazioni R882, sia nel sottogruppo di età < 60 (RFS: HR=1.44, 95%CI =1.25 – 1.66, p<0.001; OS: HR=1.48, 95%CI =1.15 – 1.90, p=0.002) che di età ≥ 60 (RFS: HR=2.03, 95%CI =1.40 – 2.93, p<0.001; OS: HR=1.85, 95%CI =1.36 – 2.53, p<0.001).

La citogenetica è un altro importante fattore in grado di influenzare drasticamente l'*outcome* clinico dei pazienti. Per questo motivo è stata condotta un'ulteriore analisi di sottogruppo suddividendo i pazienti in citogeneticamente normali (CN-AML) e non normali (non-CN-AML). In entrambi i gruppi le mutazioni R882 comportano una prognosi peggiore sia come RFS che come OS [(CN-AML; RFS: HR=1.52, 95%CI =1.26 – 1.83, p<0.001; OS: HR=1.67, 95%CI =1.16 – 2.41, p=0.006), (non-CN-AML; RFS: HR=1.96, 95%CI =1.20 – 3.21, p=0.006; OS: HR=2.51, 95%CI =1.52 – 4.15, p=0.0038)].

Questa meta-analisi ben condotta e su un ampio numero di pazienti ha comunque delle limitazioni da prendere in considerazione. Prima di tutto, l'eterogeneità tra gli studi è sicuramente un fattore limitante, costringendo gli autori a ricorrere ad analisi con modello ad effetti casuali. L'età, la citogenetica, il tempo di follow-up e la regione di origine dei pazienti sono tra i fattori che hanno contribuito ad aumentare l'eterogeneità tra gli studi. In secondo luogo, non tutti i lavori riportavano in maniera completa e sistematica tutte le informazioni utili per effettuare la meta-analisi per sottogruppi, comportando una riduzione del numero di pazienti e di conseguenza della potenza dello studio.

In conclusione, i risultati di questa meta-analisi mostrano una prognosi peggiore per i pazienti AML portatori delle mutazioni R882 DNMT3A, sia come RFS che come OS. Questo è particolarmente evidente per i sottogruppi in analisi per età e per stato citogenetico.

Questi risultati possono contribuire ad aumentare la capacità predittiva nella prognosi delle AML. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi, con un numero maggiore di pazienti e la possibilità di analizzare i dati individuali, per validare il significato prognostico delle mutazioni R882 del gene DNMT3A nei pazienti con AML.

Le mutazioni a carico del gene DNMT3A in posizione R882 predicono una prognosi peggiore nei pazienti con AML, sia come tempo libero da ricadute che come sopravvivenza generale.

**Parole chiave:** DNMT3A, R882, AML, RFS, OS

**Riferimento bibliografico**

Yuan XQ et al. *Medicine* 2016, 95(18):e3519

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

*La redazione*



**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](mailto:sif.informazione@segr.it); [sif.farmacologia@segr.it](mailto: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](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 Cargin (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)

**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 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@sgr.it](mailto:sif.farmacologia@sgr.it) con oggetto: CANCELLA.

---

---