



## SIF - FARMACOGENETICA



### Newsletter Numero 96 – Giugno 2017

---

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

---

#### Sommario

##### ⇒ Oncologia

- Varianti genetiche del *pathway* dell'ipossia predicono la sopravvivenza di pazienti con cancro al polmone non a piccole cellule riceventi chemioterapia basata sul platino
- Polimorfismi su enzimi del metabolismo di farmaci/xenobiotici e sul TP53 ed esito clinico in pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule avanzato

##### ⇒ Neurologia

- Farmacogenomica ed efficacia della terapia a lungo termine con risperidone in bambini e adolescenti autistici thailandesi
- Geni correlati all'esocitosi e risposta al trattamento con metilfenidato in adulti con ADHD
- Sindrome di astinenza tardiva associata all'uso della carbamazepina in gravidanza in un neonato metabolizzatore lento del CYP2C9
- Associazione di polimorfismi regolatori del gene *TPH2* con una maggiore riduzione dei sintomi depressivi nei bambini e negli adolescenti trattati con fluoxetina

##### ⇒ Immunomodulazione

- Associazione della variante genetica del *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (G-308A) con l'attività della metalloproteinasi-9 e il danneggiamento delle articolazioni in pazienti affetti da artrite reumatoide precoce

##### ⇒ Infettivologia

- Fattori genetici e clinici associati con la disfunzione renale tubulare in uno studio di coorte su pazienti HIV-positivi

##### ⇒ La Metanalisi del mese

- Analisi dell'impatto della delezione del gene BIM sulla risposta al trattamento chemioterapico antitumorale in pazienti affetti da tumore al polmone mutato per EGFR: una revisione sistematica della letteratura e meta-analisi di dati individuali

**ONCOLOGIA****VARIANTI GENETICHE DEL PATHWAY DELL'IPPOSSIA PREDICONO LA SOPRAVVIVENZA DI PAZIENTI CON CANCRO AL POLMONE NON A PICCOLE CELLULE RICEVENTI CHEMIOTERAPIA BASATA SUL PLATINO**

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

Il cancro al polmone non a piccole cellule (NSCLC) è una delle principali cause di morte nel mondo, con tassi di incidenza e mortalità destinati a crescere negli anni futuri. Molti fattori clinici sono associati al NSCLC, tra i quali stadio TMN, sesso e comorbidità; analogamente, numerosi biomarcatori sono stati correlati con i tassi di sopravvivenza nel tumore al polmone, come mutazioni a carico del DNA e alterazioni dei livelli di metilazione. Benchè i progressi compiuti negli ultimi anni siano stati numerosi, è necessario identificare nuovi marcatori potenzialmente associati con la risposta farmacologica. L'ipossia rappresenta un elemento caratteristico dei tumori solidi ed è spesso associata con gli stadi tumorali avanzati e con uno scarso outcome clinico. Date le suddette premesse, lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare se polimorfismi a singolo nucleotide di geni implicati nel pathway dell'ipossia sono associati con la sopravvivenza in pazienti NSCLC in stadio avanzato e in trattamento con chemioterapia.

Nello studio sono stati arruolati un totale di 880 pazienti con NSCLC istologicamente confermato (stadio III e IV); i pazienti erano in trattamento di prima linea con chemioterapia basata sul platino, associata o non con radioterapia. Dopo un'accurata revisione della letteratura sono stati selezionati 42 geni coinvolti nel pathway ipossico e analizzati un totale di 598 *tagging* SNP. Degli 880 pazienti, 602 rappresentavano il *discovery* set (gruppo I) mentre 278 il gruppo di validazione (gruppo II). Il gruppo I aveva una età media di 61 anni ed era composto dal 54.2% di uomini e dal 45.8% di donne. Di questi, il 18.8% non aveva mai fumato; tutti i pazienti erano in trattamento con chemioterapia basata sul platino ed il 40.4% avevano ricevuto anche radioterapia. Il follow-up medio è stato di 43.9 mesi e il 76.2% dei pazienti erano morti al termine del follow-up con un tempo di sopravvivenza medio (MST) di 11.8 mesi. Per quanto riguarda il gruppo 2, l'età media era di 63 anni, con il 57.6% di uomini e il 42.4% di donne. Il 46% dei pazienti aveva ricevuto radioterapia; il follow-up medio è stato di 34.5 mesi e il 73% dei pazienti era deceduto al termine di tale periodo, con un MST medio di 15.8 mesi

Nel gruppo di *discovery*, dei 357 SNP risultati analizzabili, sono stati identificati 40 SNP in 20 geni che hanno raggiunto un valore di significatività ( $p < 0.05$ ) nell'analisi di associazione con overall survival (OS). Poiché il trattamento poteva aver influenzato i risultati, gli autori hanno stratificato la popolazione in pazienti riceventi la sola chemioterapia e quelli in trattamento con chemioterapia e radioterapia. Per i soggetti trattati con la sola chemioterapia, 37 SNP in 23 geni mostravano un  $p < 0.05$ ; per quelli in trattamento chemioterapico + radioterapia 44 SNP in 18 geni avevano un  $p < 0.05$ . L'analisi multivariata, aggiustata per età, sesso, razza, pacchetti di sigarette/anno e stadio, ha evidenziato che 3 SNP avevano mantenuto la significatività nel gruppo in trattamento con chemioterapia (RPA1 rs2270412 e EXO1 rs9350 e rs4658535; essendo in 2 SNPS del gene EXO1 in forte LD gli autori hanno successivamente analizzato unicamente EXO1 rs9350). Nello specifico pazienti con genotipo rs2270412 AA+GA mostravano un tempo di sopravvivenza minore (*discovery* set: HR=1.36, 95%CI: 1.06-1.75; *validation* set: HR=1.65, 95%CI: 1.12-2.42; coorte totale: HR=1.42, 95%CI: 1.16-1.74,  $p=0.001$ ). Per quanto riguarda EXO1 rs9350, il genotipo AA+AG era significativamente associato ad una migliore sopravvivenza (*discovery* set: HR=0.74, 95%CI: 0.58-0.96; *validation* set: HR=0.62, 95%CI: 0.41-0.96; coorte totale: HR=0.70, 95%CI: 0.56-0.87,  $p=0.001$ ). Nell'analisi di Kaplan-Meier, pazienti con genotipo RPA1 rs2270412 AA+GA avevano un MST significativamente inferiore rispetto a quello dei pazienti con genotipo GG (coorte totale: 10.5 mesi vs 12.7 mesi,  $p=0.004$ ), mentre i pazienti con EXO1 rs9350 GG mostravano un MST minore di quelli con genotipo AG+AA (coorte totale: 11.5 mesi vs 13.2 mesi,  $p=0.009$ ). Questi SNP non sono risultati statisticamente significativi nei pazienti trattati con chemioterapia + radioterapia.

Successivamente è stato valutato l'effetto cumulativo dei genotipi di rischio sommando il loro numero per ogni paziente. I soggetti portatori dei genotipi RPA1 rs2270412 GG e EXO1 rs9350 AA+GA sono stati

considerati come riferimento. Nel gruppo in trattamento con la sola chemioterapia, pazienti con uno dei genotipi sfavorevoli (RPA1 rs2270412 AA+GA o EXO1 rs9350 GG) mostravano un rischio di morte aumentato di 1.26 volte (95%CI: 0.96-1.65,  $p=0.09$ , nella coorte totale), mentre pazienti con entrambi i genotipi sfavorevoli avevano un rischio di morte aumentato di 2.02 volte (95%CI: 1.50-2.71,  $p=3.16E-06$ ).

Questi stessi SNP, mostravano un effetto opposto in pazienti trattati con chemio-radioterapia. In particolare, pazienti con uno o due genotipi di rischio avevano un rischio di morte inferiore (HR=0.73, 95%CI: 0.52-1.02,  $p=0.06$ ; HR=0.78, 95%CI: 0.53-1.16,  $p=0.22$ ). Nelle curve di Kaplan-Meier, pazienti con uno o due genotipi di rischio avevano MST rispettivamente di 12.7 e 8.9 mesi, rispetto al gruppo di riferimento con un MST di 13.2 mesi

Questo è il primo studio che ha tentato di valutare in maniera esaustiva l'associazione tra polimorfismi in geni implicati nell'ipossia con la sopravvivenza in pazienti affetti da tumore al polmone non a piccole cellule, in trattamento con chemioterapia basata sul platino. E' interessante osservare che le associazioni identificate nei pazienti trattati con la sola chemioterapia hanno una direzione opposta a quelle osservate nei pazienti trattati con chemio-radioterapia. Studi di replicazione sono pertanto necessari per confermare i risultati di questo studio, così come studi funzionali per comprendere il ruolo dei polimorfismi identificati.

In conclusione, questo studio supporta l'associazione delle varianti RPA1 rs2270412 e EXO1 rs9350 con la sopravvivenza dei pazienti con cancro al polmone non a piccole cellule dopo chemioterapia basata sul platino.

**Parole chiave:** NSCLC, chemioterapia basata sul platino, *pathway* dell'ipossia

#### Riferimento bibliografico

[Li R](#) et al. *Carcinogenesis* 2017, 38: 419-24.

## POLIMORFISMI SU ENZIMI DEL METABOLISMO DI FARMACI/XENOBIOTICI E SUL TP53 ED ESITO CLINICO IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA POLMONARE NON A PICCOLE CELLULE AVANZATO

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il tumore al polmone è la prima causa di morte nel mondo. I pazienti con carcinoma non a piccole cellule (NSCLC) rappresentano la percentuale maggiore fra quelli affetti da cancro polmonare, e sono trattati prevalentemente con chemioterapia a base di platino. La maggior parte di questi pazienti è costituita da fumatori, e il fumo di sigarette è noto per la sua capacità di incrementare i livelli di addotti al DNA carcinogenici, trasformando il tumore nella sua forma più aggressiva, mutando e inattivando i geni tumore-soppressori (TP53) e riducendo la sopravvivenza. È stato osservato, nel tumore al polmone, un alto livello dell'espressione di CYP2E1, coinvolto nel metabolismo delle nitrosammine, del benzene, di molti composti chemioterapici ed è fra i responsabili della resistenza farmacologica. Gli alleli e i polimorfismi più comuni di questo gene sono CYP2E1\*5B (RsaI/PstI C1053T/C1293C) e CYP2E1\*6 (DraI T7632A); le varianti alleliche hanno una minor attività rispetto al corrispondente *wild-type*. Inoltre, uno dei membri della famiglia della glutatione S-trasferasi (GST), GST Omega 1 (GSTO1), gioca un ruolo fondamentale nell'apoptosi e può fungere come un serbatoio di glutatione intracellulare che protegge dallo stress ossidativo. La normale attività del TP53 -correlato all'arresto del ciclo cellulare, alla riparazione del DNA, e all'incremento dell'apoptosi come strumento di difesa verso un incrementato stress ossidativo- è necessaria per la sensibilità delle cellule ai trattamenti chemioterapici, per cui una sua alterazione può condurre a farmacoresistenza. I composti a base di tabacco possono indurre mutazioni a carico del gene oncosoppressore TP53 e fra le più comuni si trova Arg72Pro, la cui variante allelica causa una diminuzione dell'apoptosi.

In questo studio, lo scopo è stato quello di determinare le associazioni, da soli o in combinazione, dei polimorfismi CYP2E1\*5B, CYP2E1\*6, CYP2E1\*7B, GSTO1 (A140D), e TP53 (Arg72Pro) con la risposta alla terapia a base di platino e la sopravvivenza di pazienti affetti da NSCLC in stadio avanzato. A causa delle complessità dei *pathway* coinvolti e delle possibili interazioni attivanti/disattivanti la codifica di

enzimi, sono state analizzate anche le interazioni con i polimorfismi CYP1A1 (Ile462Val), CYP1B1 (Asn453Ser), su GSTM1, GSTP1 (Ile105Val), GSTP1 (Ala114Val), e su GSTT1, già precedentemente genotipizzati sugli stessi pazienti arruolati per questo studio.

In tutto, sono stati arruolati 137 pazienti con NSCLC di III o IV stadio e trattati con platino-chemioterapia (125 uomini e 12 donne). Il gruppo responsivo è stato definito come quello avente una risposta completa (CR) o parziale (PR), mentre quello non responsivo è stato formato con coloro che fossero risultati stabili (SD) o in progressione (PD).

È stato estratto il DNA linfocitico, le analisi sono state eseguite mediante PCR-RFLP e sono stati determinati i vari polimorfismi secondo metodi differenti.

Su 137 pazienti, solo 42 hanno risposto al trattamento, mentre 95 (69%) no. Sono state valutate le distribuzioni genotipiche in base alle caratteristiche dei pazienti e non sono risultate correlate a età, sesso, storia tumorale, stato alla diagnosi e fumo. I pazienti con la variante Pro/Pro su TP53 sono risultati molto più resistenti al trattamento farmacologico rispetto alla controparte Arg/Arg (100% vs 66%) o rispetto a Arg/Arg e Arg/Pro (100% vs 68%), anche se con significatività marginale ( $P=0.066$  e  $P=0.071$ ). Non sono state riscontrate associazioni significative fra le risposte dei genotipi ed età, sesso, storia tumorale, regime terapeutico, stato alla diagnosi e fumo. Durante i follow-up, sono deceduti 58 pazienti (42%), ma non sono state osservate relazioni fra i genotipi CYP, GST, e TP53 e la sopravvivenza calcolata secondo la funzione Kaplan-Meier.

Sono state inoltre valutate le interazioni fra i geni con siti polimorfici studiati nel precedente arruolamento, CYP (CYP1A1 e CYP1B1) e GST (GSTM1, GSTP1, e GSTT1), e il regime terapeutico, ma non sono state riscontrate associazioni significative. Tuttavia, due di questi hanno dimostrato un alterato periodo di sopravvivenza: i pazienti portatori di TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) e CYP1A1 (Ile/Val, Val/Val) hanno una sopravvivenza di breve durata (media: 15.6 mesi) se confrontati con coloro che hanno il genotipo wild-type (media: 19.4 mesi) ( $P=0.480$ ). In modo analogo coloro che hanno entrambe le varianti genotipiche per TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) e GSTO1 (A/D, D/D) hanno una minor sopravvivenza (media: 18.4 mesi), se paragonati ai genotipi wild-type (media: 22.7 mesi) ( $P=0.560$ ). Il rischio di morte nei portatori delle varianti genotipiche combinate di TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) e CYP1A1 (Ile/Val, Val/Val) aumenta significativamente se comparata con il genotipo wild-type (HR, 6.03; 95% CI, 1.39-26.04,  $P=0.016$ ); mentre l'altra combinazione presenta notevoli, seppur non significative, aumenti nel valore di HR associato a morte per coloro che hanno CYP2E1\*7B (\*1A/\*7B) e TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) (HR, 2.70; 95% CI, 0.80-9.08,  $P=0.108$ ) e GSTO1 (A/D, D/D) e TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) (HR, 2.52; 95% CI, 0.75-8.49,  $P=0.137$ ).

Questo è il primo studio che mette in correlazione gli effetti della combinazione dei polimorfismi su TP53 (Arg72Pro), CYP e GST e l'outcome clinico dei pazienti affetti da carcinoma non a piccole cellule avanzato; sono stati eseguiti studi sui singoli polimorfismi ma i risultati sono finora piuttosto contrastanti e poco chiari. Nel presente studio, la combinazione delle varianti genotipiche di TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) e CYP1A1 (Ile/Val, Val/Val) ha mostrato un ruolo determinante nella prognosi -infausta- della sopravvivenza dei pazienti con NSCLC avanzato.

Concludendo, in questo studio è stato dimostrato che la combinazione delle varianti genotipiche di TP53 (Arg/Pro, Pro/Pro) e CYP1A1 (Ile/Val, Val/Val) è associata ad una peggior prognosi nei pazienti affetti da NSCLC avanzato in trattamento con platino-chemioterapici.

**Parole chiave:** enzimi del metabolismo, TP53, SNP, risposta alla chemioterapia, NSCLC

#### Riferimento bibliografico

[Karacaoglan V et al. Turk J Med Sci 2017, 47\(2\):554-56](#)

## FARMACOGENOMICA ED EFFICACIA DELLA TERAPIA A LUNGO TERMINE CON RISPERIDONE IN BAMBINI E ADOLESCENTI AUTISTICI TAILANDESI

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'autismo è una patologia legata ad un anomalo sviluppo neuronale. I sintomi principali consistono nella compromissione delle abilità di interazione sociale e comunicazione, comportamenti ripetitivi e interessi limitati. Tuttavia, nell'autismo sono presenti molti altri sintomi, quali iperattività o inattenzione, aggressività, comportamenti ripetitivi e stereotipie motorie. Recentemente, la FDA ha approvato due farmaci, il risperidone e l'aripiprazolo, per il trattamento farmacologico dell'autismo. Il risperidone è un antipsicotico atipico. È un antagonista dei recettori della dopamina tipo 1 (D1, D5) e tipo 2 (D2, D3 e D4). Inoltre, è anche un antagonista ad alta affinità dei recettori serotoninergici tipo 2 (5HT2), adrenergici  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$  e istaminergici H1. Il risperidone blocca i seguenti *pathways* del sistema nervoso centrale: mesolimbico, limbico della corteccia prefrontale e tuberoinfundibulare, determinando così anche l'aumento della secrezione di prolattina. Inoltre, l'effetto antagonista a livello di 5-HT2A è utile per inibire l'aggressività. Nonostante il risperidone sia un trattamento efficace per la gestione dei sintomi dell'autismo e migliori i punteggi della *clinical global impression* (CGI), alcuni pazienti hanno uno scarso o assente miglioramento. Vi sono diversi studi di farmacogenetica che mostrano un'associazione tra varianti genetiche ed efficacia del risperidone; per esempio, i polimorfismi genetici di *CYP2D6*, *CYP3A5* e *MDR1* giocano un ruolo nella farmacocinetica del risperidone. Tuttavia, i risultati sono controversi ed inoltre molti studi sono stati effettuati su campioni di piccole dimensioni.

Lo scopo del presente studio è valutare l'associazione di fattori farmacogenetici ed efficacia clinica della terapia con risperidone (protratta per un lungo periodo) in bambini e adolescenti autistici. Per l'analisi sono stati selezionati geni che giocano un ruolo nella farmacocinetica (*ABCB1* e *CYP2D6*) e nella farmacodinamica (*DRD2*, *DRD3* e *HTR2A*) del risperidone.

Sono stati reclutati 82 pazienti autistici che ricevevano risperidone da più di un anno, diagnosticati in accordo con i criteri del DSM-IV e valutati con punteggi della scala Clinical Global Impression (CGI), aggressività, iperattività e comportamenti ripetitivi. L'efficacia del trattamento è stata valutata tramite punteggio della *CGI-Improvement scale* (CGI-I), da 0 a 4 (0=assenza di sintomi, 4=maggiore gravità dei sintomi). I pazienti con sintomi clinici stabili erano definiti coloro che avevano un punteggio 0 per aggressività, iperattività e comportamenti ripetitivi. I risultati clinici complessivi stabili erano definiti come un miglioramento della CGI e stabilità dei principali punteggi dell'aggressività. In tal modo, i pazienti che non miglioravano e avevano sintomi (CGI=5 o CGI=4 e punteggio di aggressività, iperattività e comportamenti ripetitivi  $\geq 1$ ) erano raggruppati come sintomi non-stabili. I pazienti che presentavano un miglioramento clinico, ma che avevano ancora sintomi aggressivi (CGI=1-3 e aggressività  $\geq 1$ ) erano anch'essi classificati come non-stabili.

La genotipizzazione dei polimorfismi *DRD2* rs1800497 (Taq IA) e rs1799978 (-241A>G), *DRD3* rs6280 (25T>C) e *HTR2A* rs6311 (-1438G>A) è stata effettuata tramite *TaqMan® SNP Genotyping assay* (Life Technologies, USA). I polimorfismi *ABCB1* rs1045642 (3435C>T), rs2032582 (2677G>T/A) e rs1128503 (1236C>T) sono stati analizzati tramite *TaqMan® Drug Metabolism Genotyping assay* (Life Technologies, USA). Infine, i polimorfismi di *CYP2D6* sono stati genotipizzati usando il *multiplex Polymerase Chain Reaction* (PCR) e *multiplex Allele Specific Primer Extension* (ASPE) by *xTAG® CYP2D6 Kit v3* (Luminex Molecular Diagnostics, Inc., CA, USA).

Le concentrazioni plasmatiche del risperidone e del 9-idrossirisperidone sono state misurate usando il metodo della cromatografia liquida-spettrometria di massa- spettrometria di massa.

Il campione in esame era costituito da 82 pazienti autistici (maschi 90,24%, femmine 9,76%), età media di 11 anni (IQR: 9,00-14,00) e mediana della durata del trattamento con risperidone di 67,90 mesi (IQR: 52,53-90,93). La maggior parte dei pazienti aveva una diagnosi di autismo (91,36%), circa il 6% di disturbo pervasivo dello sviluppo non altrimenti specificato e solo l'1,23% diagnosi di malattia di Rett e di Asperger. La patologia psichiatrica addizionale predominante era l'*attention deficit hyperactivity disorder* (ADHD) (23,17%). Tra i pazienti, 52 (64,20%) ricevevano anche altri farmaci: metilfenidato (35,37%), valproato di sodio (21,95%) e sertralina (6,10%). La concentrazione mediana di risperidone era 0,94 ng/ml (IQR: 0,25-4,06) e di 9-OH-risperidone 8,08 ng/ml (IQR: 3,88-20,13), mentre la concentrazione della parte attiva era 9,60 ng/ml (IQR: 4,19-24,73).

La maggior parte dei pazienti hanno raggiunto sintomi clinici stabili (89,02%, 71,95% e 70,89% per aggressività, iperattività e sintomi ripetitivi, rispettivamente). I pazienti hanno mostrato, per quanto riguarda il punteggio CGI-I, un notevole miglioramento (4,48%), un miglioramento minimo (76,12%), nessun cambiamento (14,92%) e minimo peggioramento (4,48%). Sintomi clinici stabili erano presenti in 67 pazienti (81,71%), mentre 15 (18,29%) sono stati classificati come non-stabili.

Solo *DRD2* Taq 1A era associato in misura significativa al risultato clinico complessivo. I pazienti del gruppo dei sintomi non-stabili avevano frequenze di *DRD2* Taq1A *non-wildtype* (TT e CT) significativamente più alte del gruppo clinicamente stabile ( $P=0,048$ ). Nessun altro polimorfismo genetico farmacocinetico e farmacodinamico è risultato associato in maniera significativa ai sintomi clinici. Tuttavia, l'attività di CYP2D6, stimata sulla base del genotipo, ha mostrato un effetto significativo sul livello di risperidone e sul rapporto metabolico del risperidone e il suo metabolita ( $P=0,019$  e  $P=0,041$ ).

Infine, l'aplotipo ACCTCAT (rs6311, rs1045642, rs1128503, rs1800497, rs4436578, rs1799978, rs6280) era significativamente associato al risultato clinico non-stabile ( $\chi^2=6,642$ ,  $P=0,010$ ).

La dose mediana di risperidone e il livello di 9-OH-risperidone erano significativamente più alti nel gruppo di pazienti con sintomi non-stabili rispetto al gruppo stabile ( $P=0,013$  e  $P=0,044$ , rispettivamente). Il livello mediano di prolattina era 12,10 ng/ml (IQR: 9,30-18,80). I livelli di prolattina erano significativamente più alti nel gruppo non-stabile rispetto al gruppo stabile ( $P=0,030$ ), ma non mostravano correlazione con le concentrazioni plasmatiche di risperidone e del suo metabolita.

Il presente studio mostra un ruolo dell'allele *DRD2* Taq 1A T (A1) nei sintomi non-stabili dei pazienti autistici trattati con risperidone per un lungo periodo. Il risperidone è un antagonista ad alta affinità del recettore della dopamina tipo 2. Pertanto, l'alterazione di questo recettore potrebbe influire sulla risposta al farmaco. L'impatto del polimorfismo *DRD2* Taq 1A sulla densità dei recettori per la dopamina D2 rimane controversa. Alcuni studi riportano che l'allele A1 sia in grado di influire sull'espressione dei recettori per la dopamina D2 riducendone la densità. Tuttavia, altri studi non hanno confermato tale associazione. Nel presente studio l'allele A1 sembra indicare una riduzione dei recettori per la dopamina, in quanto mostra un'associazione con i sintomi non-stabili. Si può speculare che la riduzione dei recettori per la dopamina implichi un legame minore del risperidone al recettore D2 e quindi una bassa efficacia. Al contrario, altri studi mostrano che il polimorfismo Taq 1A non ha effetto sull'efficacia terapeutica del risperidone nei pazienti schizofrenici. Tuttavia, i risultati del presente studio sono in accordo con uno studio sulla prolattina e polimorfismo di *DRD2* che mostra come le concentrazioni di prolattina in pazienti con l'allele A1 sono significativamente più bassi rispetto ai portatori dell'altro allele, indicando bassa densità di recettori D2.

La principale limitazione del presente studio è il ridotto numero di pazienti reclutato, specie nel gruppo non-stabile, che ha limitato il confronto di molti geni candidati.

In conclusione, il presente studio mostra, in una popolazione di bambini e adolescenti autistici thailandesi, che il gruppo di pazienti con sintomi non-stabili ha frequenze di *DRD2* Taq1A *non-wildtype* (TT e CT) significativamente più alte rispetto al gruppo di pazienti clinicamente stabili, mentre gli altri polimorfismi esaminati non mostrano associazioni significative.

**Parole chiave:** risperidone, *DRD2*, autismo, polimorfismo, farmacogenetica

#### Riferimento bibliografico

[Nuntamool N](#) et al. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2017 May 4 [Epub ahead of print].

## GENI CORRELATI ALL'ESOCITOSI E RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON METILFENIDATO IN ADULTI CON ADHD

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Il trattamento farmacologico di prima linea negli adulti con disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD) è rappresentato da farmaci psicostimolanti, in particolare da metilfenidato (MPH). Nonostante l'MPH sia considerato un farmaco efficace e ben tollerato, esiste una notevole variabilità interindividuale nella dose richiesta, nella tollerabilità e nella risposta al farmaco. Pertanto, sarebbe di grande rilevanza

identificare dei predittori clinici e genetici dell'*outcome* del trattamento con MPH. La maggioranza degli studi di farmacogenetica su questo farmaco è stata condotta nella popolazione pediatrica e soltanto sei studi sono stati effettuati sulla popolazione adulta. Questi studi, che hanno mostrato perlopiù risultati non significativi, si sono focalizzati su geni coinvolti nella farmacodinamica dell'MPH, in particolare sull'inibizione del *reuptake* della dopamina e della noradrenalina nei neuroni presinaptici tramite il blocco dei loro trasportatori (DAT e NET, rispettivamente), con il conseguente aumento dei livelli di questi neurotrasmettitori. Tuttavia, gli studi effettuati non supportano l'ipotesi che varianti genetiche localizzate a livello del gene che codifica per il trasportatore DAT possano giocare un ruolo nel determinare la variabilità interindividuale nella risposta all'MPH.

Studi recenti suggeriscono che l'MPH possa interferire con il traffico vescicolare e che le proteine del complesso SNARE (recettori per *Soluble NSF Attachment Protein*) possano giocare un ruolo nella farmacogenetica dell'ADHD. I componenti principali del complesso SNARE sono le proteine syntaxin-1A, vescicle-associated membrane protein 2 (VAMP2 o sinaptobrevina) e synaptosomal-associated protein 25 kDa (SNAP-25). Il complesso formato da queste proteine svolge una funzione essenziale per il traffico vescicolare e l'esocitosi dei neurotrasmettitori. Per il funzionamento di questo complesso è necessaria la presenza di proteine regolatorie, come la sinaptogamina 1 (Syt1), che funge da sensore per gli ioni calcio e svolge un ruolo chiave nell'esocitosi innescata da questo ione. L'unico gene che codifica per un componente del complesso SNARE investigato da studi sulla farmacogenetica dell'ADHD è *SNAP25*, per il quale sono stati riportati risultati contrastanti. Lo SNP rs3746544 è stato associato con la risposta all'MPH nei bambini e negli adolescenti, mentre lo SNP rs1051312 soltanto nei bambini. Altri studi hanno riportato risultati negativi.

Gli autori del presente studio hanno valutato il ruolo di varianti di geni coinvolti nell'esocitosi dei neurotrasmettitori sulla risposta all'MPH a rilascio immediato (IR-MPH) dopo un protocollo di trattamento a breve termine e la persistenza al trattamento (protocollo a lungo termine) in un campione naturalistico di adulti con ADHD. I geni selezionati codificano per due componenti del complesso SNARE (*STX1A*: rs2228608 e *VAMP2*: 26bp Ins/Del) e la proteina regolatoria associata Syt1 (*SYT1*, rs1880867 e rs2251214).

Il campione comprendeva 272 adulti con ADHD trattati con MPH (111 dei quali valutati anche per la persistenza al trattamento con MPH in un *follow-up* a 7 anni) reclutati presso l'Hospital de Clinicas di Porto Alegre, Brasile. I criteri di inclusione erano: a) essere brasiliani bianchi di origine europea, b) età  $\geq 18$  anni, c) diagnosi di ADHD in accordo con i criteri del DMS-IV, e d) eleggibili per trattamento con IR-MPH. I criteri di esclusione comprendevano: a) controindicazioni al trattamento con IR-MPH, b) terapia con farmaci psicostimolanti in corso, c) evidenza di un disturbo neurologico in grado di alterare i processi cognitivi, d) anamnesi positiva per psicosi, ed e) quoziente intellettuale  $< 70$ . L'utilizzo concomitante di altri farmaci psicotropi era ammesso nei pazienti con comorbidità psichiatriche.

I pazienti inclusi nello studio hanno ricevuto una dose giornaliera iniziale di 10 mg di MPH. La dose è stata aumentata settimanalmente fino al controllo dei sintomi o al verificarsi di effetti avversi rilevanti. La dose finale media per i pazienti che hanno completato il protocollo di trattamento a breve termine è stata di 0,51 ( $\pm 0,21$ ) mg kg<sup>-1</sup>. L'*endpoint* del protocollo a breve termine è stato definito a 30 giorni dall'inizio del trattamento con IR-MPH. La risposta è stata valutata in base alla percezione del paziente della severità dei sintomi (*Swanson, Nolan and Pelham Rating Scale*, v. 4) e in base al giudizio dello psichiatra (*Clinical Global Impression-Improvement*, CGI-I). La valutazione della risposta al trattamento è stata effettuata considerando gli *score* prima dell'inizio del trattamento con IR-MPH (*baseline*) e all'*endpoint*. Sono stati definiti *responder* i pazienti che presentavano: *score* di uno o due punti sulla scala CGI-I (miglioramento molto importante o importante, rispettivamente), riduzione dei sintomi dell'ADHD pari ad almeno il 30% nello *score* SNAP-IV e 1 punto o meno sui sintomi dell'ADHD nello *score* SNAP-IV all'*endpoint*. I pazienti che non incontravano tutti questi criteri sono stati definiti *non-responder*. Inoltre, come *outcome* secondario sono stati considerati gli *score* della scala SNAP-IV relativamente agli *item* che valutano *subset* di sintomi dell'ADHD (inattenzione, iperattività/impulsività) e la dimensione del disturbo oppositivo provocatorio. La persistenza al trattamento è stata valutata in un *follow-up* a 7 anni (protocollo a lungo termine), considerando come *outcome* il numero di mesi di trattamento con IR-MPH nei precedenti sette anni.

I quattro SNP selezionati sono stati genotipizzati con tecnica TaqMan su DNA estratto da un prelievo di sangue. L'associazione tra SNP e risposta all'IR-MPH è stata valutata utilizzando modelli di regressione logistica e lineare, considerando il solo modello dominante. Le caratteristiche demografiche e cliniche

valutate includevano sesso, età, utilizzo concomitante di altri farmaci psicotropi, dose di IR-MPH, severità dei sintomi al *baseline*, sottotipo di ADHD e altre condizioni in comorbidità. Per le analisi che hanno considerato la persistenza al trattamento come *outcome*, è stato considerato come covariata il periodo intercorso tra la valutazione della risposta per il protocollo a breve termine e la visita di *follow-up*. La correzione per test multipli è stata effettuata utilizzando il metodo del *false discovery rate*.

Tra i pazienti che avevano completato il protocollo a breve termine, 191 (71,7%) sono stati classificati come *responder*. Lo SNP rs2251214 del gene *SYT1* è risultato associato alla risposta all'IR-MPH. In particolare, l'allele A è risultato più frequente tra i *responder* rispetto al genotipo GG [ $p = 0,006$ ,  $p_{FDR} = 0,028$ , *odds ratio* (OR) = 0,42]. Lo SNP rs1880867 del gene *SYT1* ha mostrato un *trend* di associazione ( $p = 0,052$ , OR = 0,48). Nessun altro SNP è risultato associato alla risposta.

Le analisi che hanno valutato *subset* di sintomi dell'ADHD hanno mostrato un'associazione tra lo SNP rs2251214 e la riduzione dei sintomi di inattenzione e di disturbo oppositivo provocatorio ( $p = 0,007$ ,  $p_{FDR} = 0,028$  e  $p = 0,017$ ,  $p_{FDR} = 0,048$ , rispettivamente). Lo SNP rs2251214 è risultato associato anche alla persistenza al trattamento sia nel protocollo a breve termine ( $p = 0,018$ ,  $p_{FDR} = 0,048$ , OR = 0,59) che in quello a lungo termine ( $p = 0,002$ ,  $p_{FDR} = 0,016$ ).

Lo studio ha valutato per la prima volta l'influenza di varianti di geni che codificano per componenti del complesso SNARE diversi da *SNAP25* e la risposta all'MPH, mostrando un'associazione tra lo SNP rs2251214 del gene *SYT1*, la risposta al farmaco e la persistenza al trattamento.

I limiti dello studio comprendono il design naturalistico, la dimensione del campione moderata e la mancanza di informazioni in merito al possibile ruolo funzionale delle varianti del gene *SYT1*.

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra lo SNP rs2251214 del gene *SYT1* e la risposta al metilfenidato in pazienti adulti con ADHD.

**Parole chiave:** metilfenidato, ADHD, *SYT1*

#### Riferimento bibliografico

da [Silva BS](#) et al. *Mol Psychiatry* 2017 May 2 [Epub ahead of print].

## SINDROME DI ASTINENZA TARDIVA ASSOCIATA ALL'USO DELLA CARBAMAZEPINA IN GRAVIDANZA IN UN NEONATO METABOLIZZATORE LENTO DEL CYP2C9

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

La sindrome da astinenza neonatale più frequentemente diagnosticata è associata alla sospensione di oppioidi assunti dalla madre durante la gravidanza. Tuttavia, tale sindrome è stata riscontrata anche in seguito alla sospensione di altri farmaci come antidepressivi, benzodiazepine e antiepilettici.

Tra questi, la carbamazepina (CBZ) è uno dei farmaci più comunemente prescritti in Europa alle donne in età fertile nonostante sia potenzialmente teratogena e tossica per il sistema nervoso centrale e per l'apparato gastrointestinale del neonato. A oggi, non esistono dati di letteratura sui sintomi di astinenza in neonati da madri che abbiano assunto la CBZ durante la gravidanza.

La CBZ è metabolizzata nel fegato dai citocromi (CYP) 2C9, 3A e solo l'1% è escreta in forma immodificata. Sia il metabolismo materno sia infantile della CBZ può essere influenzato da polimorfismi genetici che modulano l'attività enzimatica del CYP2C9 e che identificano i fenotipi di metabolizzatore normale, intermedio e lento. I polimorfismi più comunemente associati a una ridotta attività enzimatica sono l'SNP CYP2C9\*2 (rs1799853, g.3608C>T) e l'SNP CYP2C9\*3 (rs1057910, g.42614A>C).

In questo studio gli autori hanno descritto il primo caso di sindrome da astinenza neonatale a insorgenza tardiva e di lunga durata dopo assunzione di CBZ in gravidanza analizzando anche i fattori genetici potenzialmente coinvolti.

Il neonato era nato alla trentasettesima settimana di gestazione con taglio cesareo da madre in trattamento antiepilettico con CBZ dall'età di 12 anni, alla dose giornaliera di 800 mg poi aumentata a 900 mg a causa di

una crisi epilettica insorta quattro giorni prima del parto. La madre non presentava comorbidità né assumeva altri farmaci.

Un'ora e trenta minuti dopo la nascita, il neonato presentava dispnea ingravescente e ansia respiratoria con grave desaturazione dell'ossigeno che ne ha reso necessaria l'intubazione. Il terzo giorno di vita ha sviluppato chiari segni clinici di una sindrome da astinenza (irritabilità, pianto incoercibile, sonnolenza, difficoltà ad alimentarsi e vomito). Sono state escluse infezioni, disturbi cardiaci e digestivi e, considerata l'anamnesi farmacologica della madre, è stata fatta diagnosi di sindrome da astinenza neonatale. Dopo somministrazione di morfina a dosi gradualmente ridotte (come da linee guida), il quadro sintomatologico si era poi progressivamente risolto dopo sedici giorni.

La scala di Finnegan (generalmente impiegata per la sindrome da astinenza neonatale da oppioidi) ha rivelato l'esistenza di un corteo sintomatologico compatibile con una sindrome di astinenza di grado severo. Mediante applicazione dell'algoritmo di Naranjo, è stato stimato un probabile nesso di causalità farmaco/reazione avversa con uno scoring di 6.

L'analisi farmacogenetica basata sullo screening dei polimorfismi CYP2C9-\*2 e-\*3, ha mostrato che il neonato era un eterozigote composto (\*2/\*3; g.3608CT, g.42614AC), quindi portatore delle due varianti alleliche associate a riduzione dell'attività del CYP2C9 che identificano lo status di metabolizzatore lento.

La madre era omozigote per la presenza del polimorfismo CYP2C9\*2, genotipo anch'esso compatibile con il fenotipo di metabolizzatore lento. Poiché i livelli di attività enzimatica del CYP2C9 erano normali, gli autori hanno ipotizzato che l'induzione del CYP2C9 mediante la CBZ (auto-induttore enzimatico) assunta dalla donna possa aver compensato l'effetto del genotipo. Inoltre, i livelli plasmatici di CBZ nella donna erano nel range terapeutico durante la gravidanza (30 mmol / L e 24 mmol / L; valori normali: 17-42 mmol / L per la dose giornaliera assunta).

I risultati del test farmacogenetico possono spiegare la ridotta eliminazione della CBZ, gli alti livelli plasmatici del farmaco e l'insorgenza tardiva e prolungata dei sintomi di astinenza riscontrati nel neonato.

In conclusione, il genotipo CYP2C9\*2/\*3 è associato al fenotipo di metabolizzatore lento della CBZ. La presenza di queste varianti alleliche ha causato la ridotta eliminazione del farmaco e l'insorgenza di sintomi di astinenza a insorgenza tardiva e di lunga durata.

Questo è il primo case report descritto in letteratura che analizza i fattori genetici predisponenti l'insorgenza della sindrome di astinenza neonatale correlata all'uso della CBZ in gravidanza. Lo studio suggerisce l'utilità dell'introduzione nella pratica clinica del test farmacogenetico basato sullo screening del CYP2C9 per l'identificazione precoce dei neonati a rischio.

**Parole chiave:** sindrome da astinenza neonatale, carbamazepina, CYP2C9

#### Riferimento bibliografico

[Passia E](#) et al. *Front Pharmacol* 2017, 8:217.

---

## ASSOCIAZIONE DI POLIMORFISMI REGOLATORI DEL GENE *TPH2* CON UNA MAGGIORE RIDUZIONE DEI SINTOMI DEPRESSIVI NEI BAMBINI E NEGLI ADOLESCENTI TRATTATI CON FLUOXETINA

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

Gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI), come la fluoxetina, sono tra i farmaci di prima linea per diverse malattie psichiatriche tra cui il disturbo depressivo maggiore (MDD), il disturbo ossessivo-compulsivo (OCD) e il disturbo d'ansia generalizzato (GAD). Inoltre, sia l'efficacia che la sicurezza della fluoxetina sono stati dimostrati sia nei bambini e negli adolescenti.

La variabilità genetica nei geni associati al sistema serotoninergico del sistema nervoso centrale ha un impatto significativo sia sulla suscettibilità a questi disturbi psichiatrici che sulla risposta ai farmaci antidepressivi. Il gene *TPH2* è uno dei più importanti candidati serotoninergici nel MDD e nella farmacogenetica della risposta antidepressiva. Questo gene codifica per la triptofano idrossilasi (TPH), l'enzima che catalizza la fase di limitazione del tasso di biosintesi della serotonina. È stato riscontrato che il

trattamento a lungo termine con fluoxetina è associato all'aumento dell'espressione di mRNA di *TPH2*, contemporaneamente all'effetto antidepressivo. Infatti, numerose terapie antidepressive influenzano l'espressione del gene *TPH2*.

Diversi polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) di *TPH2* sono stati associati alla risposta antidepressiva al trattamento con SSRI. In uno studio precedente in cui sono stati valutati 47 geni candidati, *TPH2* rs4570625 (-703G> T) è stato associato al miglioramento clinico dopo il trattamento con fluoxetina (Mas et al., 2016). Esso si trova nella regione promotore di *TPH2* ed è stato associato a grave depressione (Gao et al., 2012), OCD (Mössner et al., 2006) e ansia (Chi et al., 2013). Per quanto riguarda il trattamento antidepressivo, è stato correlato alla risposta di citalopram e escitalopram in popolazioni indipendenti (Rotberg et al., 2013; Su et al., 2016). Tuttavia, è stata riportata anche la mancanza di influenza di questo polimorfismo sulla trascrizione di *TPH2* (Scheuch et al., 2007).

Sulla base di ciò, gli autori hanno deciso di studiare la variabilità genetica che potrebbe influenzare l'espressione di *TPH2* e quindi la risposta agli antidepressivi. A tal fine, hanno valutato l'influenza dei polimorfismi regolatori ad alto *linkage disequilibrium* (LD) con rs4570625, specificatamente localizzati a livello dei siti di legame per fattori di trascrizione (TFBS) del gene *TPH2*, sul miglioramento clinico nei bambini e negli adolescenti trattati con fluoxetina.

Sono stati reclutati 83 bambini e adolescenti che hanno ricevuto il trattamento antidepressivo per la prima volta, con fluoxetina. Ai pazienti sono state diagnosticate MDD, OCD o GAD secondo il manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali-IV (DSM-IV) (American Psychiatric Association, 1994). I criteri di esclusione sono stati: ritardo mentale, malattia somatica o neurologica, autismo, disturbi psicotici e etnia non caucasica. Le informazioni sulla gravità della malattia sono state ottenute nella fase iniziale dello studio attraverso la valutazione di diverse scale cliniche, rivalutate dopo un trattamento fluoxetina di 12 settimane. Il miglioramento clinico valutato utilizzando la scala *Children's Depression Inventory* (CDI) è stato precedentemente associato a un marker genetico *TPH2* nella popolazione pediatrica. I bambini depressi sono stati definiti come quelli con un punteggio CDI  $\geq 19$ . Le differenze tra punteggi ottenuti all'inizio della terapia e dopo 12 settimane di trattamento sono stati calcolati con la seguente formula:  $dCDI = CDI_{Settimana\ 0} - CDI_{Settimana\ 12}$ . I campioni di sangue dai partecipanti sono stati raccolti in EDTA. Il DNA genomico è stato estratto utilizzando il kit di isolamento del DNA MagNA Pure LC e un sistema LC MagNA Pure (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germania). Un totale di sei SNP sono stati analizzati: rs58344694, rs11178997, rs11179002, rs17110489, rs60032326 e rs34517220 (TaqMan, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) mediante real-time PCR (Applied Biosystems, Warrington, Regno Unito).

Il punteggio medio di base ottenuto nelle scale CDI era elevato (media  $\pm$  SD = 26,1  $\pm$  9,7), in accordo con la condizione patologica dei pazienti. Dopo 12 settimane di trattamento con fluoxetina, i punteggi della scala CDI si sono notevolmente ridotti (media  $\pm$  SD = 17,2  $\pm$  10,1). Sono state rilevate differenze significative nelle riduzioni dei punteggi CDI nei pazienti con diagnosi diverse (media  $\pm$  SD: 10,5  $\pm$  7,9 in MDD vs 5,7  $\pm$  8,9 in OCD vs 5,6  $\pm$  4,7 in GAD, P value = 0,021) e correlazioni significative tra i punteggi basali CDI e la risposta clinica ( $r = 0,37$ , P value = 0,001); ciò indica che i pazienti con peggiori punteggi basali tendono ad avere una risposta migliore.

Tre SNPs, rs11179002, rs60032326 e rs34517220, sono stati significativamente associati ad un miglioramento clinico più elevato dopo il trattamento con fluoxetina. Il miglioramento più significativo è stato osservato nei pazienti con genotipo omozigote mutato (GG) dello SNP rs34517220, che hanno mostrato una riduzione di punteggio più elevata sulla scala CDI rispetto ai *carriers* di almeno un allele *wild-type* (AA/AG) (rispettivamente 20,7  $\pm$  3,1 vs 7,6  $\pm$  0,8; P value = 0,0000007). Inoltre, il miglioramento è stato osservato anche in coloro con genotipo omozigote mutato per rs60032326 (21,7  $\pm$  1,2 vs 8,4  $\pm$  0,9, P value = 0,006) e nei *carriers* di almeno un allele mutato dello SNP rs11179002 (9,4  $\pm$  1,1 e 16,8  $\pm$  3,9 rispettivamente vs 6,4  $\pm$  1,2; P value = 0,00059). L'analisi dell'aplotipo, inclusi i tre SNPs associati (rs11179002-rs60032326-rs34517220) da soli o in combinazione con rs4570625, hanno mostrato risultati significativi: negli aplotipi TGG e TTGG sono risultate riduzioni di punteggio più elevate sulla scala CDI (P value = 0,0041).

I polimorfismi rs11179002, rs60032326 e rs34517220 sono stati significativamente associati ad un miglioramento clinico più elevato dopo il trattamento con fluoxetina nei pazienti pediatrici e adolescenti.

L'associazione più forte è stata trovata per rs34517220: i pazienti con genotipo omozigote mutato hanno mostrato una riduzione di punteggio più elevata sulla scala CDI rispetto agli altri genotipi. Questa è la prima volta che viene valutato il polimorfismo rs34517220, una variante intronica che si trova in un TFBS di *TPH2* per due fattori di trascrizione (TFs) rilevanti: Foxa1 e Foxa2. Questi TFs si legano alla cromatina strettamente condensata nei promotori e nelle regioni *enhancer*, facilitando così l'accesso di altri TFs che regolano l'espressione di geni bersaglio distinti nei progenitori neuronali e nei neuroni immaturi. Foxa1 e Foxa2 sembrano essenziali nello sviluppo di neuroni serotonergici; la coespressione diretta di Foxa2, insieme a Gata2 e Mash1, aumenta sinergicamente il differenziamento dei neuroni serotonergici delle cellule staminali embrionali (Nefzger et al., 2011). Inoltre, è stato recentemente riportato che i fibroblasti umani possono essere direttamente convertiti in neuroni serotonergici indotti dall'espressione di Foxa2, in questo caso insieme a Ascl1, Lmx1b e FEV (Xu et al., 2016). La mancanza di inclusione di Foxa2 porta ad una drastica riduzione del numero di neuroni serotonergici. *TPH2* rs34517220 potrebbe dunque alterare l'espressione del gene modificando il legame di Foxa1 e Foxa2, suggerendo che questa sia la variante genetica funzionale fondamentale legata alla risposta alla fluoxetina. Anche i polimorfismi rs11179002 e rs60032326 sono stati associati al miglioramento clinico; questi SNPs potrebbero avere un effetto funzionale anche sulla trascrizione di *TPH2* poiché si trovano in siti di legame per differenti TFs compresi Chd1, Polr2a, Egr1 e Stat1.

La limitazione principale del presente studio è il numero limitato di pazienti inclusi. Tuttavia, è importante evidenziare l'omogeneità della coorte arruolata in termini di età e trattamento, in quanto tutti i partecipanti inclusi nello studio erano bambini e adolescenti e ricevevano per la prima volta il trattamento antidepressivo.

I polimorfismi rs11179002, rs60032326 e rs34517220 sono stati, per la prima volta in letteratura, associati in modo significativo con una maggiore riduzione dei sintomi depressivi nei bambini e negli adolescenti trattati con fluoxetina. *TPH2* rs34517220, in particolare, potrebbe essere la variante funzionale fondamentale legata alla risposta alla fluoxetina, in quanto potenzialmente in grado di alterare la trascrizione del gene modificando il sito di legame per due importanti fattori di trascrizione nei neuroni serotonergici: Foxa1 e Foxa2.

**Parole chiave:** fluoxetina, depressione, *TPH2*

#### Riferimento bibliografico

[Gassó P et al. \*Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry\* 2017, 77: 236-40.](#)

## IMMUNOMODULAZIONE

### ASSOCIAZIONE DELLA VARIANTE GENETICA DEL TUMOR NECROSIS FACTOR- $\alpha$ (G-308A) CON L'ATTIVITÀ DELLA METALLOPROTEINASI-9 E IL DANNEGGIAMENTO DELLE ARTICOLAZIONI IN PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE PRECOCE

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

L'artrite reumatoide (RA) è una patologia infiammatoria cronica, caratterizzata da una patogenesi multifattoriale, da variazioni nella presentazione clinica e da una prognosi incerta. La distruzione della cartilagine delle articolazioni è la principale caratteristica morfologica della RA che si manifesta nei primi stadi della malattia con andamento progressivo. Comprendere quali sono i fattori responsabili dell'avanzamento della malattia e poterli monitorare è di grande importanza nella pratica clinica dell'RA.

I meccanismi cellulari e molecolari alla base della malattia non sono del tutto chiari: alti livelli di citochine pro-infiammatorie come l'interleuchina 1 e il tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) sono presenti nella sinovia di pazienti con diversi tipi di artrite cronica. Il TNF- $\alpha$  induce un aumento di espressione delle

metalloproteinasi (MMP), specialmente MMP-13, MMP-2 e MMP-9. Inoltre, il TNF- $\alpha$  induce la produzione di MMP-9 in modo dose- e tempo-dipendente, aumentando sia l'espressione che l'attività della MMP-9.

Il polimorfismo a singolo nucleotide nel gene del TNF- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ -G308A, rs1800629) è caratterizzato dalla sostituzione di una guanina (G) con un'adenina (A) in posizione -308 nella regione del promotore del gene, variante che determina un aumento dell'espressione della citochina.

Lo scopo di questo studio è di valutare l'associazione tra TNF- $\alpha$ -G308A con i livelli di MMP-9 nei pazienti affetti da RA, in particolare nel liquido sinoviale, come indicatore di cambiamenti del danneggiamento delle giunzioni delle articolazioni e valutarne il ruolo nella progressione della patologia.

Lo studio è stato condotto su 72 pazienti affetti da RA da almeno sei mesi e trattati con metotressato a una dose settimanale media di  $15.75 \pm 4.76$  mg, e da 62 pazienti definiti controllo affetti da osteoartrite. In base alla presenza dell'allele TNF- $\alpha$ -G308A, i pazienti affetti da RA sono stati ulteriormente divisi nel gruppo A, aventi genotipo GA o AA (n=34), e gruppo G con genotipo GG (*wild type*; n=38).

L'attività della MMP-9 è stata valutata sia nel plasma che nel liquido sinoviale e risulta significativamente più alta nei pazienti affetti da RA rispetto al gruppo di controllo ( $p < 0.01$  e  $p < 0.001$ , rispettivamente).

Il gruppo A di pazienti affetti da RA mostrano livelli di attività di MMP-9 più elevata sia nel plasma che nel liquido sinoviale rispetto al gruppo di pazienti G (*wild type*), sebbene risulti significativa solo l'attività di MMP-9 nel liquido sinoviale (gruppo A vs gruppo G  $19.38 \pm 14.61$  vs  $18 \pm 9.81$ ,  $p < 0.05$ ).

La valutazione quantitativa del grado di danneggiamento delle giunzioni è stata effettuata tramite l'indice Larsen nei gruppi di pazienti A e G, prima dell'inizio del trattamento e dopo un anno dalla terapia con metotressato. I risultati mostrano che l'indice Larsen è molto più alto all'esordio nel gruppo A rispetto al gruppo G ( $47.78 \pm 21.74$  vs.  $21.73 \pm 13.31$ ,  $p < 0.01$ ) e tale differenza nei due gruppi è mantenuta anche dopo trattamento con metotressato ( $60.22 \pm 23.21$  vs.  $27.45 \pm 14.57$ ,  $p < 0.001$ ). Inoltre anche il valore  $\Delta$ LS, cambio annuale nell'indice Larsen, è molto più alto nei pazienti del gruppo A rispetto ai pazienti del gruppo G ( $10.44 \pm 4.95$  vs.  $5.73 \pm 2.72$ ,  $p < 0.05$ ).

I risultati ottenuti da questo studio sono importanti per l'identificazione di nuovi fattori predittivi, come il TNF- $\alpha$ -G308A e l'attività di MMP-9 nel liquido sinoviale di pazienti affetti da RA. Infatti, l'aumentata attività del MMP-9 in pazienti affetti da RA con genotipo GA o AA rappresenta un importante fattore per la selezione di pazienti per il trattamento con inibitori di TNF- $\alpha$ .

**Parole chiave:** metalloproteasi-9, artrite reumatoide, polimorfismo a singolo nucleotide, tumor necrosis factor- $\alpha$

#### Riferimento bibliografico

[Stojanovic S](#) et al. *Clin Rheumatol* 2017, 36(7): 1479-85

## INFETTIVOLOGIA

### FATTORI GENETICI E CLINICI ASSOCIATI CON LA DISFUNZIONE RENALE TUBULARE IN UNO STUDIO DI COORTE SU PAZIENTI HIV-POSITIVI

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

Il tenofovir disoproxil fumarato (TDF), un pro-farmaco del tenofovir, inibitore della trascrittasi inversa ampiamente usato nel trattamento dell'infezione da HIV ed eliminato per escrezione renale. Sebbene abbia un buon profilo di sicurezza, il farmaco può dare nefrotossicità solitamente lieve ma sono stati registrati casi di insufficienza renale in alcuni pazienti (Hamzah L et al. *Aids* 2015, 29(14):1831-6; Hall AM et al. *Am J Kidney Dis* 2011, 57(5):773-80). Il meccanismo alla base di questo effetto non è completamente noto. Un danno mitocondriale alle cellule del tubulo renale prossimale è stato osservato in pazienti con disfunzione renale indotta da tenofovir (*kidney tubular dysfunction*, KTD) (Maggi P et al. *AIDS rev* 2012, 14(1):37-53). Il farmaco viene secreto nel lume tubulare attraverso l'azione di pompe, in particolare dalle *Multidrug-Resistance Proteins 2* (MRP2), MRP4 e MRP7 codificate dai geni *ABCC2*, *ABCC4* e *ABCC10*,

rispettivamente (Rungtivasuwan K et al. *Antimicrob Agents Chemother* 2015, 59(6):3240–5; Rodríguez-Nóvoa S et al. *Clin Infect Dis* 2009, 48(11):e108–16). Pertanto, le varianti genetiche che influenzano l'attività di trasporto possono essere implicate nell'accumulo di tenofovir nelle cellule e nella KTD da tenofovir. Studi precedenti hanno mostrato che gli SNP di questi geni sono associati con più alti livelli plasmatici di farmaco (Likansakul S et al. *PLoS One* 2016, 11(1):e0147724; Achhra AC et al. *Curr HIV/AIDS rep* 2016, 13(3):149–57; Nishijima T et al. *Clin Infect Dis* 2012, 55(11):1558–67; Pushpakom SP et al. *J Infect Dis* 2011, 204(1):145–53), in particolare, il genotipo CC dell'rs717620 dell'*ABCC2* (Manosuthi W et al. *J Antimicrob Chemother* 2014, 69(8):2195–201). Uno studio di Kiser et al., inoltre, ha mostrato che la presenza della variante *ABCC4* 3463A →G era associata con una ridotta clearance renale. Infine, due SNP del gene *ABCC10* (rs9349256 e rs2125739) sono stati associati significativamente con KTD (Pushpakom SP et al. *J Infect Dis* 2011, 204(1):145–53).

In questo studio, monocentrico, retrospettivo, osservazionale, sono stati valutati i maggiori determinanti di KTD associata all'uso di TDF, inclusa la correlazione con i polimorfismi dei geni *ABCC2* (rs717620), *ABCC4* (rs1751034) e *ABCC10* (rs2125739).

Sono stati arruolati, tra aprile 2013 e giugno 2016, 158 pazienti trattati con regimi anti-retrovirali a base di TDF e seguiti per un periodo di *follow-up* di 66 mesi. L'insorgenza di KTD è stata osservata in 42 pazienti (26.6%). Non è stata riscontrata una differenza significativa in termini di età, sesso ed etnia, tra i gruppi con e senza KTD. I pazienti con KTD presentavano una durata di terapia più lunga rispetto ai pazienti senza KTD ( $p=0.034$ ), anche se la durata dei regimi contenenti TDF non era statisticamente significativa ( $p=0.090$ ). La funzione renale al basale risultava simile, e non sono state riscontrate differenze in termini di patologie associate quali ipertensione e diabete, mentre una più elevata prevalenza di patologie dell'osso (osteopenia ed osteoporosi) era presente in pazienti con KTD ( $p=0.002$ ). È stata osservata una differenza statisticamente significativa nella distribuzione delle varianti rs1751034 dell'*ABCC4* in pazienti affetti da KTD rispetto ai pazienti senza KTD, in particolare il genotipo GG ( $p=0.01$ ). Nessuna differenza significativa è stata osservata per i portatori di *ABCC2* rs717620 e rs21125739 dell'*ABCC10*. Per quanto riguarda le variabili cliniche, un'associazione significativa è stata riscontrata tra la malattia ossea e la KTD, mentre una correlazione inversa è stata osservata tra i livelli di HIV-RNA al basale ( $p=0.002$ ) ed il trattamento con regime iniziale a base di TDF ( $p=0.004$ ). Nell'analisi multivariata l'associazione con il genotipo GG non era più significativa ( $p=0.193$ ) mentre l'associazione con la malattia ossea si è mantenuta ( $p=0.007$ ).

Lo studio, condotto su una coorte di pazienti HIV positivi trattati con TDF, ha mostrato un aumento della prevalenza di KTD nei pazienti con la variante rs1751034 di *ABCC4*, in particolare per il genotipo GG, anche se la significatività non è stata confermata nell'analisi multivariata. Il meccanismo alla base di quest'associazione non è noto. È stata inoltre riscontrata un'associazione con la malattia ossea (osteopenia/osteoporosi), confermata nell'analisi multivariata. Studi precedenti (Hamzah L et al. *Aids* 2015, 29(14):1785–92; Casado JL et al. *Aids* 2016, 30(9):1423–31; Calmy A et al. *J Infect Dis* 2009, 200(11):1746–54) hanno mostrato un'associazione tra il trattamento con TDF e una ridotta densità ossea o malattia ossea.

In conclusione, è stata osservata un'associazione tra la variante rs1751034 dell'*ABCC4* e la KTD in uno studio monocentrico su pazienti con HIV trattati con TDF. Un'associazione forte è stata trovata anche con la malattia ossea. Pertanto, dovrebbe essere posta attenzione alla presenza di queste 2 co-morbidità e cercare di gestire i soggetti affetti in tempi utili.

Limiti dello studio sono rappresentati dal disegno retrospettivo, che non consente di ottenere dati non registrati in precedenza; inoltre, la coorte singola con un numero limitato di pazienti non consente di estendere i risultati ottenuti ad altre coorti, in particolare ai pazienti non caucasici.

**Parole chiave:** disfunzione renale, *ABCC4*, tenofovir disoproxil fumarato

#### Riferimento bibliografico

[Salvaggio SE](#) et al. *BMC Infect Dis* 2017, 17: 396.

## LA METANALISI DEL MESE

### **ANALISI DELL'IMPATTO DELLA DELEZIONE DEL GENE BIM SULLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CHEMIOTERAPICO ANTITUMORALE IN PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE AL POLMONE MUTATO PER EGFR: UNA REVISIONE SISTEMATICA DELLA LETTERATURA E META-ANALISI DI DATI INDIVIDUALI**

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Gli inibitori delle tirosin chinasi dell'EGFR (EGFR-TKIs), come erlotinib, gefitinib e lapatinib, costituiscono i farmaci di prima linea per il trattamento del tumore al polmone non a piccole cellule (NSCLC) con mutazione EGFR. Nonostante la presenza della mutazione di EGFR sia fortemente predittiva di un elevato tasso di risposta tra i pazienti trattati, il 30% circa dei pazienti in terapia con EGFR-TKIs non manifesta una buona risposta clinica al trattamento. Sono diversi i meccanismi biologici potenzialmente sottesi all'eterogeneità nella risposta ai EGFR-TKIs. In particolare, è emerso come una ridotta espressione/funzione di BIM (BCL2L11), una proteina pro-apoptotica "up" regolata in seguito al trattamento con TKI, sia fortemente correlata al fenomeno della resistenza a tali farmaci in modelli preclinici. Nello specifico, è stata individuata una delezione nel gene BIM risultante nella traduzione di isoforme non-apoptopiche, plausibilmente responsabili della resistenza agli EGFR-TKIs. Tale delezione ha una frequenza pari al 12,3% nelle popolazioni est-asiatiche mentre sembra essere quasi del tutto assente nelle popolazioni caucasiche. Nonostante alcuni studi abbiano analizzato la correlazione tra la delezione del gene BIM e la risposta al trattamento ai TKI in pazienti affetti da NSCLC mutato per EGFR, i risultati ad oggi disponibili sono contrastanti. Al fine di ottenere una stima globale dell'effetto di BIM sulla risposta agli EGFR-TKIs, sono state precedentemente condotte delle meta-analisi su dati aggregati. L'obiettivo del presente lavoro, invece, è stato quello di condurre una meta-analisi collaborativa utilizzando i dati individuali dei pazienti arruolati in studi, pubblicati o non, il cui scopo primario fosse quello di analizzare l'associazione tra la delezione di BIM e la progressione libera da malattia (PFS) o la sopravvivenza globale (OS) in pazienti affetti da NSCLC ed in trattamento con EGFR-TKIs. Tale approccio meta-analitico, a differenza di quello tradizionale basato sulla sintesi quantitativa di dati aggregati, offre alcuni vantaggi statistici e clinici, tra cui la possibilità di i) identificare pazienti arruolati in due o più studi consecutivi, permettendone l'esclusione, ii) fare un up-date dei dati clinici dei pazienti rispetto a quelli riportati negli studi primari, iii) riformulare nuovi criteri di inclusione/esclusione dei pazienti, iv) calcolare ed incorporare nella meta-analisi i dati di studi non pubblicati in letteratura, riducendo così il rischio di *bias* di pubblicazione.

La ricerca bibliografica è stata condotta utilizzando una combinazione booleana di parole chiave sui motori di ricerca PubMed e Embase. Non sono state applicate restrizioni linguistiche nella ricerca e sono stati considerati eleggibili gli studi i) di coorte, prospettici o retrospettivi, ii) che includessero pazienti affetti da NSCLC in stadio avanzato (IIIA/B/IV) o con recidiva post-operatoria e di cui fosse noto il genotipo per la delezione di BIM, iii) in cui EGFR-TKI fosse dato in monoterapia e iv) dove l'*outcome* primario fosse la PFS o l'OS. Sono stati esclusi i case-studies, le meta-analisi, le revisioni della letteratura e gli articoli di commento. Due Autori hanno screenato in maniera indipendente i lavori emersi dalla ricerca bibliografica sia per titolo ed abstract che, successivamente, per testo intero. La qualità degli studi è stata valutata tramite i criteri "Cochrane Risk of Bias Tool". Essendo la rete dei ricercatori specializzati nell'ambito molto ristretta in Est-Asia, gli Autori della meta-analisi sono riusciti, inoltre, ad ottenere dati di interesse relativi a pazienti arruolati per 3 studi clinici mai pubblicati in letteratura. L'invito a partecipare alla meta-analisi collaborativa è stato mandato agli Autori di tutti gli studi primari. È stato poi loro inviato un template in Microsoft Excel in cui compilare, per ogni paziente da loro arruolato negli studi primari, i campi relativi a tutte le variabili cliniche di interesse per la conduzione della meta-analisi. L'*outcome* primario valutato nella meta-analisi è stato la PFS, definita come il periodo temporale intercorso tra la data di inizio della terapia con TKIs e la data di interruzione della terapia o l'evidenza di progressione tumorale. L'*outcome* secondario valutato è stato, invece, la OS, definita come la durata del periodo intercorso tra l'inizio della terapia di prima linea (chemioterapia antitumorale o TKIs) e la data del decesso del paziente per qualsiasi causa. È stata condotta

una regressione multivariata di Cox al fine di stimare l'associazione globale tra la delezione di BIM e la PFS o OS. Essendo mancanti i dati individuali relativi pazienti arruolati per alcuni studi primari inclusi nella meta-analisi, è stata effettuata anche una meta-analisi su dati aggregati utilizzando un modello ad effetti random.

Sono 2563 gli articoli rilevati tramite ricerca bibliografica computerizzata. Dopo rimozione dei duplicati ed esclusione dei lavori sulla base dei criteri di inclusione prestabiliti, 10 studi sono stati inclusi nella meta-analisi. Per 3 di questi 10 lavori, gli Autori della meta-analisi non hanno ricevuto i dati individuali dei pazienti in essi arruolati. Grazie, invece, alla collaborazione di altri ricercatori asiatici specializzati nell'ambito, sono stati inclusi nella meta-analisi i dati di pazienti arruolati per 3 studi mai pubblicati in letteratura. Nel complesso, sono 1200 i pazienti per i quali erano disponibili i dati individuali clinici e genetici. Il 96,4% dei pazienti è risultato essere in trattamento con gefitinib o erlotinib a dosi standard. Dall'analisi statistica, non sono emerse differenze statisticamente significative in termini di caratteristiche cliniche tra i portatori della delezione di BIM e i soggetti wild-type. Dall'analisi di Kaplan-Meier si è evinto come i portatori della delezione di BIM avessero una PFS mediana significativamente inferiore rispetto ai pazienti wild-type (rispettivamente: 9,2 mesi vs 11,0 mesi,  $P=0,002$ ). Tra le variabili cliniche fortemente predittive della PFS si annoverano il fenotipo per EGFR ( $P<0,0005$ ), sesso ( $P<0,0005$ ), abitudine al fumo ( $P=0,024$ ), stadiazione del tumore ( $P<0,005$ ) ed etnia ( $P<0,0005$ ). Stratificando i pazienti per etnia (Coreani vs non-Coreani), è emerso come la delezione di BIM risulti essere un fattore predittivo di ridotta PFS solo nei soggetti di etnia non-coreana (Cinesi e Giapponesi). La delezione di BIM non è, invece, emersa essere predittiva della OS ( $P=0,115$ ) nell'intera coorte di soggetti in studio. Tuttavia, unicamente nel sottogruppo di pazienti di etnia non-coreana, si è evinta una differenza statisticamente significativa in termini di OS tra i portatori della delezione e i soggetti wild-type (rispettivamente: 25,7 vs 30,5 mesi,  $P=0,042$ ). Infine, dalla meta-analisi effettuata su dati aggregati ( $N$  studi=13), la presenza della delezione di BIM è risultata essere statisticamente associata ad un aumento del rischio di progressione tumorale rispetto ai soggetti wild-type (HR 1,51, 95% CI 1,06-2,13,  $P=0,02$ ) in tutte le coorti in studio. Essendo forte l'eterogeneità tra gli studi evidenziata dalla meta-analisi su dati aggregati, sono state effettuate delle analisi per sottogruppi che hanno evidenziato una forte omogeneità nel sottogruppo di pazienti di etnia non coreana. A supporto dei risultati ottenuti nella meta-analisi su dati individuali, dalla meta-analisi su dati aggregati si evince nuovamente una correlazione statisticamente significativa tra la delezione di BIM e la PFS unicamente nel sottogruppo di pazienti non coreani.

I risultati della presente meta-analisi suggeriscono come la delezione di BIM possa rappresentare o meno un fattore di rischio in termini di sopravvivenza dei pazienti affetti da NSCLC a seconda dell'etnia. Tali diversità nell'effetto possono essere dovute, almeno in parte, a: i) differenze nei protocolli di trattamento chemioterapico utilizzati a seconda nei diversi Paesi; ii) diversi background genetici: è, infatti, possibile che altre varianti in *linkage disequilibrium* con la delezione di BIM siano presenti solo nei soggetti di origine cinese o giapponese e non in quelli di etnia coreana. Essendo emersa una forte correlazione tra la presenza della delezione di BIM e una riduzione sia del PFS che dell'OS solo nei soggetti asiatici di etnia non-coreana, gli Autori suggeriscono come la genotipizzazione per tale variante possa rappresentare un utile strumento prognostico in tali popolazioni.

Dalla presente meta-analisi emerge come la delezione del gene BIM sia correlata in maniera statisticamente significativa ad una ridotta progressione libera da malattia in pazienti cinesi e giapponesi affetti da NSCLC con mutazione EGFR ed in trattamento con inibitori delle tirosin-chinasi dell'EGFR.

**Parole chiave:** EGFR-TKIs, NSCLC, BIM

#### **Riferimento bibliografico**

[Soh SX](#) et al. *Oncotarget* 2017, 8(25): 41474-86.



### 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 Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Sarah Cargin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Raffaella Franco (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Giulia Sammarini (Università di Bologna)

#### 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@segr.it](mailto:sif.farmacologia@segr.it) con oggetto: CANCELLA.

---