



SIF - FARMACOGENETICA



Newsletter Numero 100 – Novembre 2017

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

Sommario

⇒ Oncologia

- Alti livelli di espressione di *tug1* sono associati alla chemioresistenza e ad una prognosi infausta nel carcinoma squamoso esofageo
- Chemioterapia a base di capecitabina in un paziente con nuovo genotipo DPYD e assenza di attività di diidropirimidina deidrogenasi
- Un modello basato sull'espressione dei microRNA è associato con l'*outcome* in pazienti affetti da leucemia mieloide acuta pediatrica
- La caratterizzazione delle mutazioni a carico del gene EGFR condotte esclusivamente nel DNA tumorale circolante estratto dal plasma di pazienti affetti da NSCLC può guidare la scelta del trattamento farmacologico?

⇒ Neurologia

- Farmacogenetica del metilfenidato nei bambini con sindrome da deficit di attenzione e iperattività: effetti a lungo termine
- Associazione dei polimorfismi della β -arrestina 2 con la risposta al trattamento con antidepressivi in pazienti con depressione

⇒ Immunomodulazione

- Varianti di geni implicate nel *pathway* dell'interferone di tipo 1 e nell'attivazione delle cellule B modulano la risposta EULAR al rituximab a 24 settimane, nell'artrite reumatoide
- Polimorfismi genetici predicono la risposta al trattamento con gli anti-TNF nella malattia di Crohn

⇒ Antimicrobici

- Influenza dei geni *ABCB11* e *HNF4 α* sulle concentrazioni plasmatiche di daclatasvir: dati preliminari di farmacogenetica dallo studio Kinetic-C

⇒ La metanalisi del mese

- Analisi di polimorfismi localizzati sui geni di riparazione del DNA come fattori genetici predittivi dell'efficacia di chemioterapici a base di cisplatino in pazienti affetti da tumore ai polmoni non a piccole cellule: una meta-analisi di rete

ONCOLOGIA**ALTI LIVELLI DI ESPRESSIONE DI TUG1 SONO ASSOCIATI ALLA CHEMIORESISTENZA E AD UNA PROGNOSI INFAUSTA NEL CARCINOMA SQUAMOSO ESOFAGEO**

A cura della Dott.ssa Giulia Sammarini

Il tumore esofageo si classifica come 8° per incidenza e 6° come mortalità fra tutti i tumori maligni mondiali. La Cina rappresenta un'area di alta incidenza per questo carcinoma, e ogni anno vengono diagnosticati 477.900 nuovi casi e nel 2015 ci sono state 375.000 morti. Istologicamente, il carcinoma esofageo può essere classificato come a cellule squamose (ESCC) o adenocarcinoma (EADC), il primo è insensibile alla chemio-radioterapia e, quindi, la sua prognosi è peggiore rispetto all'EADC. Per questo, identificare i meccanismi molecolari che causano la formazione e la progressione del cancro esofageo, e determinare gli appropriati target terapeutici e indici prognostici per la patologia sono punti di interesse fondamentali e necessari.

Circa il 93% del DNA genomico umano può essere trascritto in RNA, di cui solo il 2% viene tradotto in proteina e il restante 98% viene chiamato RNA non codificante. I lunghi RNA non codificanti (lncRNA) sono molecole di RNA con una lunghezza di trascritto di più di 200 nucleotidi, che non codificano per proteine, ma regolano i livelli di espressione genica agendo sull'RNA (regolazione epigenetica, regolazione trascrizionale e post-trascrizionale). Gli lncRNA possono interferire con l'espressione dei geni a valle, oppure inibendo la RNA polimerasi II o mediando il rimodellamento cromatinico o la modificazione istonica. Possono diventare a doppio filamento combinandosi con i trascritti dei geni codificanti proteine, ed interferire ulteriormente con la scissione dell'mRNA, e formando differenti forme di splicing possono generare siRNA endogeni sotto controllo dell'enzima Dicer per regolare i livelli di espressione genica. Combinandosi con specifiche proteine, gli lncRNA sono in grado di regolare l'attività della stessa, possono fungere da componenti strutturali formando complessi acidi nucleici-proteine, possono variare la localizzazione citoplasmatica delle proteine legandosi ad esse, e possono servire come precursori delle molecole di miRNA per la trascrizione. Un'anomala espressione dei lncRNA è stata riscontrata in numerosi tipi tumorali, per esempio, H19 è stato il primo ad essere associato al cancro e la sua iper-espressione è stata trovata nei tumori del fegato, della vescica e del seno, e funziona come un oncogene. Il gene taurino up-regolato (TUG1) è stato scoperto per la prima volta nelle cellule retiniche di topi appena nati coltivate in vitro. È un lncRNA che può essere collegato e presentato in un gruppo poliA. Recentemente, è stata confermata la sua iper-regolazione, che comporta proliferazione delle cellule cancerose, nel tumore al colon-retto, in quello epatocellulare, nel carcinoma uroteliale della vescica e nell'osteosarcoma. Nonostante ciò, è stato osservato che questo lncRNA sia down-regolato nel cancro al polmone non a piccole cellule (NSCLC) e nei gliomi, con una probabile funzione di oncosoppressore. Mediante questo studio gli autori hanno determinato i pattern di espressione di TUG1 nei tessuti di ESCC e, in parallelo, in quelli sani.

Sono stati raccolti 218 coppie di tessuto, tumorale e normale, di pazienti affetti da ESCC primario (171 uomini e 47 donne). I pazienti hanno ricevuto almeno due cicli di chemioterapia a base di platino combinati con 5-fluorouracile (5FU) o paclitaxel e i pazienti sono stati classificati come sensibili (risposta completa e parziale) o resistenti (stabilità o progressione della patologia) sulle basi della loro risposta clinica alla chemioterapia.

È stato estratto RNA mediante trizol e poi è stato convertito in cDNA per l'analisi in qPCR. Per le analisi statistiche sono stati impiegati il software SPSS versione 20.0 per Windows, e i test t, Chi-quadro e Fisher's exact, mentre la correlazione con OS è stata determinata utilizzando le curve di Kaplan-Meier.

I livelli relativi di espressione di TUG1 sono risultati significativamente alti nei tessuti tumorali rispetto agli adiacenti tessuti sani (P= 0.001), così come è avvenuto paragonando le età, dove erano più alti negli under

65 (P= 0.046) e in coloro che sono risultati sensibili al trattamento (P= 0.005). Analizzando l'espressione di TUG1 è stato inoltre osservato che un'alta espressione è associata a resistenza alla terapia (P= 0.013). È stato anche dimostrato che l'espressione di TUG1 è inversamente correlata con la sopravvivenza globale: i pazienti con un'alta espressione hanno quindi una minor OS rispetto a quelli con bassa (P= 0.002). Dall'analisi multivariata è emerso che l'espressione di TUG1 è considerabile come un fattore predittivo indipendente per una bassa sopravvivenza nei pazienti con ESCC (HR= 1.403, 95 % CI: 1.012–1.946, P= 0.042), così come la presenza di metastasi linfonodali (LNM, HR= 1.832, 95 % CI: 1.111–3.022, P= 0.018) e la stadiazione TNM (HR= 1.488, 95 % CI: 1.016–2.178, P= 0.041). In seguito sono state eseguite analisi stratificate fra l'espressione di TUG1 e OS nei pazienti con ESCC di tipo ulcerativo, gradi 1 e 2 istologici, piccola dimensione tumorale e risposta alla terapia (P< 0.05). Fra questi pazienti, un'alta espressione corrisponde a un minor tempo di sopravvivenza, e questo dato indica che una up-regolazione di TUG1 gioca un ruolo importante nella progressione e nella resistenza alla chemioterapia nei pazienti con ESCC, comportando una prognosi scarsa.

In generale, possiamo dire che la deregolazione dei lncRNA si associ a vari processi patologici. È stato dimostrato che TUG1 sia regolato da p53 wild-type e che si trovi up-regolato se stimolato da p53 attivato in risposta a danno al DNA. Poiché la diminuzione della capacità di auto-riparazione causata dalla mutazione del gene p53 è uno step importante nella progressione dell'ESCC, l'espressione anomala di TUG1 è probabilmente associata alla mutazione p53 durante la progressione dell'ESCC. TUG1 è stato inoltre trovato iper-regolato nei pazienti resistenti alla chemioterapia, indicando il fatto che TUG1 possa svolgere un ruolo nello sviluppo di resistenza, poiché la sua up-regolazione iper-attiva il pathway di segnalazione di PIK3/AKT, che concorre alla resistenza ai trattamenti chemioterapici.

In conclusione, TUG1 è iper-regolato nei tessuti ESCC, soprattutto nei pazienti over 65 e in quelli resistenti alla chemioterapia. Inoltre, un'alta espressione di questo lncRNA è collegata a resistenza alla terapia, poiché pazienti con alta espressione hanno una prognosi significativamente più infausta rispetto a quelli con bassa espressione.

Parole chiave: TUG1, lncRNA, chemioterapia, ESCC

Riferimento bibliografico

[Jiang L](#) et al. *Cancer Chemother Pharmacol* 2016, 78(2): 333-9.

CHEMIOTERAPIA A BASE DI CAPECITABINA IN UN PAZIENTE CON NUOVO GENOTIPO DPYD E ASSENZA DI ATTIVITÀ DI DIIDROPIRIMIDINA DEIDROGENASI

A cura della Dott.ssa Valeria Conti

Le fluoropirimidine, 5-Fluorouracile (5-FU) e il suo pro-farmaco capecitabina, sono chemioterapici utilizzati nella terapia dei tumori solidi, come quelli del tratto gastrointestinale e della mammella. La maggior parte della dose somministrata (80-90%) è inattivata nel fegato dalla DiidroPirimidina Deidrogenasi (DPD), enzima che rappresenta la tappa limitante del catabolismo del farmaco. L'attività della DPD è però molto variabile nella popolazione generale e il 3-5% degli individui ha un deficit enzimatico parziale al quale si associa un aumento del rischio di tossicità da fluoropirimidina. Quattro polimorfismi nel gene DPYD che codifica per la DPD (DPYD*2A, c.1679T>G, c.2846A>T e c.1236G>A/aplotipoB3) comportano parziale riduzione o totale perdita dell'attività dell'enzima e sono associati all'evenienza di reazioni avverse come mielosoppressione, neurotossicità e diarrea, anche di grado severo. Per i pazienti portatori di queste varianti può essere indicata una riduzione della dose di 5-FU o, nel caso in cui le varianti siano presenti in omozigosi, una terapia antitumorale alternativa. Tuttavia, l'identificazione dei polimorfismi summenzionati spiega solo in parte la tossicità associata alla terapia. Pertanto, è importante associare allo screening farmacogenetico un'analisi di tipo farmacocinetico e una caratterizzazione fenotipica basata sulla stima indiretta dell'attività della DPD.

Inoltre, è stato suggerito che altri polimorfismi del gene DPYD e in altri geni coinvolti nella farmacodinamica e farmacocinetica delle fluoropirimidine potrebbero contribuire alla variabilità della risposta terapeutica.

In questo studio è descritto il caso di un paziente eterozigote DPYD*2A identificato mediante screening farmacogenetico di routine. Campioni di sangue intero sono stati utilizzati per lo screening genetico e per caratterizzare il fenotipo del paziente mediante saggio di attività enzimatica in HPLC. Per l'analisi farmacocinetica, campioni di plasma e urina sono stati collezionati all'inizio e nell'arco di dieci ore dalla somministrazione del farmaco. In tali campioni sono stati misurati i livelli di capecitabina e dei suoi metaboliti 5'-dFCR, 5'-dFUR, 5-FU, FUH₂, FUPA e FBAL mediante HPLC-MS/MS.

Il paziente eterozigote DPYD*2A, affetto da adenocarcinoma del sigma era stato sottoposto a resezione del sigma e poi destinato a terapia adiuvante con capecitabina 1000mg/m² due volte al giorno per quattordici giorni e con oxaliplatino 130mg/m² ogni tre settimane per otto cicli di terapia (protocollo XELOX standard). Il saggio eseguito su sangue periferico per la determinazione dell'attività della DPD ha rilevato un deficit completo di attività enzimatica. Per questo motivo era stata pianificata una terapia a dosi drasticamente ridotte di capecitabina (150 mg nei giorni 1 e 6 dei primi due cicli (0,8% della dose calcolata) e oxaliplatino alle dosi standard. Dopo la prima somministrazione di capecitabina, è stata eseguita un'analisi farmacocinetica prima di procedere con la seconda somministrazione e dal terzo ciclo in poi, il farmaco è stato somministrato ai giorni 1, 6 e 11. Utilizzando questo schema terapeutico, la capecitabina è stata ben tollerata senza l'insorgenza di reazioni avverse tipiche come diarrea, sindrome mano-piede e leucopenia. Purtroppo, durante il primo ciclo il paziente ha manifestato neurotossicità con grave neuropatia sensoriale attribuibile verosimilmente a oxaliplatino. Tale tossicità è peggiorata fino al grado 3 durante il secondo ciclo, quindi dal terzo ciclo in poi la dose di oxaliplatino è stata ridotta del 75%.

La presenza del polimorfismo DPYD*2A in eterozigosi non spiega il deficit completo di attività enzimatica evidenziato dalle concentrazioni elevate di uracile e timina nel plasma e nelle urine del paziente. Per questo motivo, gli autori hanno esteso l'analisi di genotipizzazione mediante lo screening dei 23 esoni codificanti e delle regioni introniche fiancheggianti identificando l'amplificazione degli esoni 17 e 18 che rappresenta il primo caso descritto in letteratura. Uno studio precedente aveva riportato l'identificazione dell'amplificazione degli esoni 9-12 in eterozigosi associata a deficit severo dell'attività di DPD (*Biochim Biophys Acta* 2017;1863:721–30).

In caso di deficit completo della DPD, il trattamento con fluoropirimidine è controindicato. Tuttavia, questi antitumorali sono molto efficaci e necessari in pazienti con prognosi sfavorevole per i quali può essere molto difficile trovare un'alternativa terapeutica altrettanto efficace. Gli autori di questo studio sono riusciti a sfruttare l'efficacia della capecitabina adattando lo schema terapeutico alle caratteristiche genetiche del paziente associate a deficit completo dell'enzima essenziale per il metabolismo delle fluoropirimidine.

La presenza di un deficit di attività di DPD è un marcatore accreditato di tossicità da fluoropirimidina. Il caso clinico descritto in questo studio conferma l'importanza dell'analisi farmacogenetica da eseguire prima della somministrazione del farmaco e rimarca l'importanza di associare allo screening genetico l'analisi farmacocinetica e un'accurata caratterizzazione fenotipica.

Parole chiave: capecitabina, diidropirimidina deidrogenasi, deficit enzimatico, fluoropirimidine

Riferimento bibliografico

[Henricks LM](#) et al. *Int J Cancer* 2017, 142(2): 424-430.

UN MODELLO BASATO SULL'ESPRESSIONE DEI MICRORNA È ASSOCIATO CON L'OUTCOME IN PAZIENTI AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA PEDIATRICA

A cura della Dott.ssa Gloria Ravegnini

La leucemia mieloide acuta (AML) comprende circa il 25% di tutte le leucemie pediatriche; circa l'80% di pazienti raggiungono una risposta completa dopo chemioterapia di induzione, il 40% dei quali va incontro a recidiva. Normalmente, i pazienti con AML vengono suddivisi in categorie di rischio sulla base di specifiche alterazioni cromosomiche, tuttavia il 60% dei bambini con AML che non hanno un profilo mutazionale specifico non sono soggetti a categorizzazione per la scelta della terapia. In questo contesto, il rischio di recidiva non può essere determinato e di conseguenza l'identificazione di biomarcatori addizionali e di nuovi target terapeutici si pone tra gli obiettivi principali della ricerca. Recentemente, è stato osservato che ogni sottotipo di AML ha un proprio e distintivo profilo di espressione di miRNA e tali pattern di espressione possono essere associati con *outcome* clinici sfavorevoli. Lo scopo di questo studio è stato quello di analizzare approfonditamente il profilo di miRNA in pazienti pediatriche affetti da AML, identificare potenziali geni deregolati e stimare l'utilità dei miRNA nella predizione dell'*outcome* clinico.

La coorte di *discovery* (DC) consisteva di 654 pazienti arruolati nei trial AAML0531 (n=528), AAML03P1 (n=71) e CCG-2961 (n=38); successivamente i risultati sono stati validati su 666 pazienti, facenti parte del trial AAML1031. L'analisi dell'espressione di miRNA nella DC ha permesso di identificare 4 sottogruppi di pazienti, caratterizzati da pattern di miRNA distintivi, arricchiti da alterazioni citogenetiche e molecolari e associati con l'*outcome*.

Allo scopo di identificare i miRNA, la cui espressione era correlata con l'*outcome*, è stata applicata l'analisi di regressione di Cox suddividendo i pazienti in due gruppi (bassa espressione/alta espressione) per ciascun miRNA. Nella coorte di *discovery*, questa analisi ha rivelato che 216 e 80 miRNA erano associati rispettivamente con la sopravvivenza libera da eventi –EFS– (HR, 0.509-0.795/ 1.27-2.04) e OS (HR, 0.482-0.730/ 1.36-2.32), indipendentemente dai fattori di rischio convenzionali. La stessa analisi è stata ripetuta nella coorte di validazione che ha confermato che 12 e 5 miRNA erano associati rispettivamente con EFS (HR, 0.03-0.789/ 1.46-3.30) e OS (HR, 0.03-0.766/ 1.45-2.52), indipendentemente dai fattori di rischio convenzionali.

Avendo osservato diversi miRNA associati con l'*outcome*, gli autori hanno sviluppato un modello di predizione di EFS, basato sulla combinazione di molteplici miRNA; per generare il modello sono stati impiegati 425 pazienti della DC (n=due terzi del totale), e successivamente testato nei rimanenti casi della coorte (n=212, corrispondente ad un terzo) e nella coorte di validazione.

Il modello risultante –identificato come AMLmiR36– era composto da 36 miRNA, di cui 16 up- e 20 down-regolati in pazienti che avevano mostrato un evento. Per dimostrare la potenzialità clinica di AMLmiR36, gli autori hanno usato quest'ultimo per creare un schema di stratificazione del rischio basato sui miRNA, in cui i pazienti venivano suddivisi in 3 gruppi, mediante uno score (basso, medio ed elevato). Questo metodo di stratificazione è risultato significativamente associato con EFS (p<0.001): individui con elevato score AMLmiR36 mostravano *outcome* inferiori (HR, 3.66; 95%CI 2.77-4.83; EFS a 5 anni, 9.3%; OS a 5 anni, 29.6%, p<0.001), mentre quelli con score minori avevano *outcome* superiori (HR, 0.265; 95%CI 0.16-0.43; EFS a 5 anni, 84.4%; OS a 5 anni, 90.3%, p<0.001).

Infine, sono stati analizzati i miRNA deregolati che erano associati con il fallimento della chemioterapia di induzione (IF) o recidiva. Sono stati identificati 41 miRNA deregolati tra i pazienti responsivi e non (Wilcoxon test, q>0.05). L'analisi è stata ripetuta nella coorte AAML1031 e confermato che 5 miRNA (miR-466, -5683, -106a-3p, 20b-3p, 106a-5p) erano significativamente più abbondanti nei pazienti con IF, mentre miR-365a-3p, -199-3p e 199a-3p risultavano down-regolati. Nei pazienti con IF, 209 miRNA era deregolati tra i pazienti refrattari e quelli di nuova diagnosi, mentre 156 erano deregolati tra i pazienti recidivati post-induzione e quelli di nuova diagnosi. Da quest'ultima analisi è emerso inoltre che miR-106a-3p e 106a-5p erano altamente espressi nel contesto dei pazienti resistenti al trattamento (refrattari e recidivati post-induzione) ed erano significativamente associati con EFS ed OS più corte. Questi due miRNA potrebbero essere coinvolti nella resistenza farmacologica, modulando l'espressione di geni coinvolti nella fosforilazione ossidativa, processo che risulta altamente ridotto nelle linee cellulari resistenti ai trattamenti.

Lo studio, ha coinvolto un totale di 1362 campioni, arruolati nell'ambito di quattro trials differenti; esso ha quindi un potere statistico molto elevato ed i risultati ottenuti nel primo step di *discovery* sono supportati dalla validazione una coorte di pazienti robusta ed indipendente.

In conclusione, in questo studio è stato messo a punto un modello basato sull'espressione di miRNA – AMLmiR36- in grado di stratificare i pazienti in base al rischio. Sono stati, inoltre, identificati due miRNA, miR106a-3p e -5p associati con il fallimento della chemioterapia di induzione.

Parole chiave: AML, chemioterapia di induzione, miR-106

Riferimento bibliografico

[Lim E](#) et al. *J Clin Oncol* 2017 Oct 25 [Epub ahead of print].

LA CARATTERIZZAZIONE DELLE MUTAZIONI A CARICO DEL GENE EGFR CONDOTTE ESCLUSIVAMENTE NEL DNA TUMORALE CIRCOLANTE ESTRATTO DAL PLASMA DI PAZIENTI AFFETTI DA NSCLC PUÒ GUIDARE LA SCELTA DEL TRATTAMENTO FARMACOLOGICO?

A cura della Dott.ssa Eleonora Rofi

I benefici clinici a cui vanno incontro i pazienti affetti da tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC) quando trattati con inibitori tirosin-chinasici (EGFR-TKIs) sono ben noti. Inoltre, le analisi eseguite su biopsie tissutali per la caratterizzazione delle alterazioni molecolari a carico del gene EGFR sono entrate nella pratica clinica routinaria. Tuttavia, circa il 5-20% dei pazienti affetti da NSCLC non possono essere sottoposti ad una biopsia tissutale oppure le quantità di tumore tissutale prelevate non sono sufficienti per poter eseguire le analisi genetiche. Molti studi hanno valutato la possibilità di poter isolare il DNA tumorale circolante (cftDNA) dal siero o dal plasma dei pazienti con NSCLC e, successivamente, analizzare le mutazioni a carico di EGFR. In particolare, 3 meta-analisi hanno riportato tassi di sensibilità e di specificità che vanno dal 60% al 97% (Luo J et al. *Sci Rep* 2014, 4:6269; Mao C et al. *Medicine* (Baltimore) 2015, 94(21):e775; Wu Y et al. *Lung Cancer* 2015, 88(3):246-53). L'Agenzia europea per i medicinali (EMA) ha autorizzato il trattamento con EGFR-TKIs in prima linea dei pazienti risultati EGFR positivi in seguito ad analisi su cftDNA esclusivamente quando la caratterizzazione delle alterazioni geniche non può essere effettuata su tessuto bioptico. Inoltre, solo recentemente la Food and Drug Administration (FDA) ha ampliato l'utilizzo di dispositivi diagnostici in vitro (COBAS Mutation Test v2) anche per analisi da eseguire su cftDNA plasmatico.

Tuttavia, in letteratura tutti gli studi che prendono in considerazione la caratterizzazione delle alterazioni del gene EGFR su cftDNA hanno focalizzato la loro attenzione su una popolazione selezionata di pazienti con NSCLC. Infatti, in questi studi i pazienti arruolati sono stati sottoposti a biopsia tissutale e provengono, inoltre, da trials clinici, in cui le analisi sono state eseguite in maniera retrospettiva. Non sono presenti in letteratura studi in cui sono stati arruolati pazienti trattati con EGFR-TKIs sulla base di risultati ottenuti unicamente da test eseguiti sul sangue. Pertanto, resta ancora da stabilire quale sia l'utilità clinica di analizzare le alterazioni a carico di EGFR esclusivamente su cftDNA estratto dal plasma di pazienti affetti da NSCLC e non precedentemente trattati.

Sono stati analizzati prospettivamente, per la ricerca di mutazioni a carico di EGFR, 1138 pazienti affetti da NSCLC. In particolare, 1033 pazienti sono stati arruolati al momento in cui è stata effettuata la diagnosi, mentre 105 pazienti in seguito a progressione di malattia dopo trattamento con EGFR-TKIs. La mancanza di tessuto bioptico sul quale eseguire le analisi genetiche ha rappresentato il criterio di inclusione principale. Inoltre, sono stati retrospettivamente raccolti i dati clinici di 18 pazienti EGFR-positivi. Per ogni paziente, il plasma è stato prelevato all'inizio della prima linea di trattamento ed il cftDNA successivamente estratto è stato analizzato e quantificato utilizzando un peculiare sistema di Real-Time PCR (PNA-Q-PCR) per la ricerca delle mutazioni di EGFR.

Validazione e caratterizzazione della metodica utilizzata

Gli autori di questo studio hanno sviluppato uno specifico saggio per poter eseguire la genotipizzazione delle mutazioni di EGFR su cftDNA estratto da siero o da plasma, basato sull'utilizzo del sistema Real-Time

PCR accoppiato a sonde molecolari (dette peptide nucleic acid, o PNAs) in grado di catturare il DNA wild-type "riconoscendolo" in base alla sequenza di basi che lo compongono e, quindi, inibirne l'amplificazione (PNA-Q-PCR). Tale saggio può caratterizzare le mutazioni di EGFR più importanti in tempi relativamente brevi (24-48h); inoltre, è poco costoso (il costo dei consumabili e dei reagenti necessari per poter effettuare l'analisi su un singolo campione si aggira intorno a 60 euro), è semplice, sensibile e consente di poter quantificare in maniera sia relativa sia assoluta gli alleli mutati.

La validazione diagnostica del saggio è stata effettuata analizzando il cftDNA di 268 pazienti affetti da NSCLC non precedentemente trattati e paragonando il risultato con quello ottenuto dall'analisi eseguita su tessuto. Il confronto ha mostrato una sensibilità pari al 75.9% (CI=68.9-81.7) ed una specificità del 100% (CI=96.2-100). In particolare, tale saggio ha consentito la caratterizzazione delle mutazioni di EGFR con una sensibilità maggiore utilizzando come materiale di partenza il plasma e non il siero (70.0%; CI=62.7-73.4); mentre la specificità è risultata del 100% in entrambi i casi.

Caratteristiche cliniche dei pazienti al momento della diagnosi

Dei 1033 pazienti affetti da NSCLC arruolati nello studio, sono stati prospettivamente analizzati i campioni plasmatici provenienti da 1026 pazienti (7 pazienti sono stati esclusi dallo studio a causa di una quantità insufficiente di materiale plasmatico raccolto). In particolare, per nessuno di questi pazienti era stato possibile effettuare una biopsia tissutale o la quantità di materiale biotico a disposizione non era sufficiente per poter effettuare l'analisi genetica. La maggior parte dei pazienti era di genere maschile (55.8%) e mediamente fumatrice (46.8%). Al momento della diagnosi, le mutazioni a carico degli esoni 19 e 21 del gene EGFR sono state caratterizzate nel cftDNA di 113 (11%) pazienti, prevalentemente di genere femminile (66.4%) e non fumatrici (63.7%). In particolare, 75 pazienti sono risultati portatori di delezioni a carico dell'esone 19, mentre 38 presentavano mutazioni puntiformi a carico dell'esone 21 (p.L858R 35/38; p.L861Q 3/38). Inoltre, tutti i campioni analizzati anche per la mutazione di resistenza EGFR p.T790M sono risultati negativi.

Caratterizzazione del cftDNA dei campioni valutati al momento della diagnosi

La concentrazione del DNA è stata quantificata usando il sistema Qubit in un sottogruppo di pazienti sia EGFR-positivi (n=40) sia EGFR-negativi (n=40). Anche se non statisticamente significativa, la concentrazione mediana del cftDNA dei pazienti EGFR-positivi è risultata maggiore rispetto a quella dei pazienti EGFR-negativi. Inoltre, è stato possibile determinare la concentrazione assoluta dell'allele mutato in 145 campioni risultati positivi (relativi a 90 pazienti EGFR-positivi). Il range era compreso fra 2.5 e 2528.5 pg/μL e più del 60% dei campioni avevano una quantità minore di 10 pg di allele mutato/μL.

Il carico mutazionale è stato determinato in 149 campioni relativi a 91 pazienti EGFR-positivi. Il range era compreso fra lo 0.005% ed il 43.87% e più del 50% dei campioni avevano un valore inferiore allo 0.25%. In particolare, il carico mutazionale è risultato essere maggiore nei campioni positivi per le delezioni a carico dell'esone 19 rispetto a quelli positivi per mutazioni a carico dell'esone 21 (0.26% vs. 0.07%; p = 0.013). In aggiunta, il carico mutazionale nei campioni positivi ha mostrato una correlazione statisticamente significativa con la concentrazione assoluta degli alleli mutati (p < 0.001).

Caratterizzazione delle mutazioni a carico del gene EGFR nel cftDNA di campioni valutati al momento della progressione con EGFR-TKIs

Sono stati analizzati i campioni di sangue di 105 pazienti con NSCLC progrediti in seguito a trattamento con EGFR-TKIs. Nel dettaglio, 59 (56.2%) casi sono risultati positivi per le mutazioni attivanti di EGFR, mentre la mutazione di resistenza p.T790M era presente in 37 (35.2%) casi. La mutazione p.T790M è stata riscontrata in presenza delle mutazioni a carico degli esoni 19 e 21 in, rispettivamente, 30 e 6 casi.

Similmente a quanto caratterizzato per le mutazioni attivanti, le concentrazioni assolute e le frazioni alleliche della p.T790M hanno mostrato un'ampia variazione nei campioni positivi. Le concentrazioni assolute e relative delle mutazioni attivanti sono risultate significativamente più alte nei pazienti positivi e progrediti al trattamento con EGFR-TKIs rispetto a quelle valutate nei pazienti positivi al momento della diagnosi.

Efficacia clinica del trattamento con EGFR-TKIs

Gli autori di questo studio hanno, infine, retrospettivamente raccolto le informazioni cliniche di 18 pazienti trattati con EGFR-TKIs e le hanno valutate esclusivamente rispetto alle informazioni genetiche ottenute

dalle analisi effettuate sul sangue. In particolare, 13 (72.2%) pazienti hanno avuto una risposta parziale di malattia. Per 8 pazienti è stato possibile anche ottenere dati relativi alla durata della risposta (range 5-18 mesi e PFS mediana 11 mesi). I due pazienti mutati per la p.L858R sono progrediti, rispettivamente, dopo 5 e 8 mesi; viceversa, i pazienti positivi per delezioni a carico dell'esone 19 sono progrediti dopo 7 mesi.

Pertanto, i risultati hanno dimostrato la robustezza, in termini sia di specificità sia di sensibilità, della tecnica PNA-Q-PCR nella caratterizzazione delle alterazioni a carico del gene EGFR su campioni plasmatici. Difatti, la frequenza relativa delle alterazioni negli esoni 19 e 21 è paragonabile a quella riportata dalla maggior parte degli studi europei in cui le analisi farmacogenetiche sono state condotte su biopsie tissutali. Le mutazioni identificate analizzando esclusivamente i campioni plasmatici di pazienti affetti da NSCLC sono risultate correlabili alle caratteristiche e agli outcomes clinici mostrati da pazienti in trattamento con EGFR-TKIs e sottoposti a biopsia tissutale.

I risultati di questo studio, condotto per la prima volta su larga scala, hanno dimostrato come la biopsia liquida possa aiutare i clinici a selezionare i pazienti affetti da NSCLC, che potrebbero andare incontro ad un trattamento con farmaci EGFR-TKIs, quando non può essere effettuata una biopsia tissutale oppure le quantità di tumore tissutale prelevate non sono sufficienti per poter eseguire le analisi genetiche.

Parole chiave: cftDNA, biopsia tissutale, mutazioni geniche, EGFR, NSCLC, PNA-Q-PCR

Riferimento bibliografico

[Mayo-de-Las-Casas C](#) et al. *Ann Oncol* 2017, 28(9): 2248-55.

NEUROLOGIA

FARMACOGENETICA DEL METILFENIDATO NEI BAMBINI CON SINDROME DA DEFICIT DI ATTENZIONE E IPERATTIVITÀ: EFFETTI A LUNGO TERMINE

A cura della Dott.ssa Donatella Carretta

L'*attention-deficit/hyperactivity disorder* (ADHD) è una condizione frequente, legata allo sviluppo neurologico, che colpisce circa il 5% dei bambini e degli adolescenti. Circa il 65% dei bambini con ADHD è anche sintomatico in età adulta. I sintomi dell'ADHD consistono in livelli inadeguati di attenzione e/o iperattività e impulsività. Inoltre, più del 65% dei pazienti con ADHD presenta comorbidità psichiatriche (depressione, ansia e disturbi dell'apprendimento).

Gli stimolanti sono i farmaci più efficaci per i sintomi dell'ADHD e il metilfenidato (MPH) è spesso il farmaco di prima scelta. Tuttavia, circa il 35% dei pazienti non risponde al trattamento o presenta effetti collaterali. L'ADHD è un disturbo in cui entrano in gioco fattori di rischio genetici e ambientali. La forte componente genetica, dimostrata da numerosi studi, porta a supporre che l'ADHD abbia un'ereditabilità media del 76%. I risultati degli studi di farmacogenetica sono stati finora inconcludenti. Lo scopo del presente studio è esaminare il ruolo di alcuni geni di rischio nella risposta al MPH in bambini con ADHD e valutare l'efficacia del farmaco durante 12 mesi di *follow-up*.

Lo studio è prospettico e osservazionale ed è stato realizzato su pazienti spagnoli caucasici con ADHD di età compresa tra i 6 e i 18 anni, diagnosticati secondo i criteri del DSM e trattati con MPH in una tra due formulazioni: la formulazione *immediate-release* o quella *extended-release*/entrambe le formulazioni. L'efficacia clinica è stata valutata tramite la *Clinical Global Impression-Severity* (CGI-S) *scale* e la *Children's Global Assessment Scale* (CGAS). Sono stati registrati i seguenti effetti collaterali: perdita di appetito,

insonnia, problemi gastroenterici, cefalea, disturbi cognitivi, emotivi e comportamentali. Le valutazioni sono state eseguite al *baseline* e dopo 3, 6 e 12 mesi di trattamento con MPH.

Sono stati analizzati 44 polimorfismi di 18 geni noti per essere associati all'ADHD. Gli SNPs sono stati genotipizzati tramite *TaqMan on-demand or pre-designed SNP genotyping assays system* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). I polimorfismi VNTR sono stati identificati usando *fragment analysis*.

Dei 238 pazienti con ADHD inclusi nello studio, 208 sono arrivati all'analisi finale e 176 hanno completato i 12 mesi di *follow-up*. Il 27% era *naive* per il trattamento; il 41% dei pazienti che già assumeva MPH riportava una risposta scarsa o parziale all'ingresso nello studio.

E' stato registrato un miglioramento significativo della risposta nel tempo, come valutato tramite le scale CGI-S e CGAS ($p < 0,001$).

Il precedente trattamento con MPH e MPH *extended-release* da solo/entrambe le formulazioni è stato predittivo della risposta positiva secondo la CGI-S e CGAS ($p < 0,001$).

In CGI-S sono stati rilevati effetti recessivi per *DRD4 promoter duplication* e *ADGRL3 rs1868790*, che sono risultati essere associati ad un miglioramento significativo ($p = 0,001$ e $p = 0,026$, rispettivamente) e un effetto dominante per *SLC6A3 rs2550948* e *SNAP25 rs3746544*, con un miglioramento significativo dei sintomi ($p = 0,011$ e $p = 0,018$, rispettivamente). Inoltre, è stata osservata un'interazione tra *SLC6A3 intron 8 VNTR* e il trattamento nel tempo ($p = 0,010$).

Infine, non è stata rilevata alcuna associazione significativa tra i punteggi CGAS e le varianti genetiche, sebbene sia stata osservata un'interazione tra *DRD2 rs1800497* e il trattamento a lungo termine ($p = 0,024$).

I valori delle scale CGI-S e CGAS sono migliorati in misura significativa nel tempo, anche se l'effetto è stato modesto, probabilmente a causa del fatto che il 73% dei pazienti era già in trattamento prima dell'inizio dello studio. In accordo a precedenti studi, il sottotipo di ADHD non è stato un fattore significativo nella risposta al trattamento. Inoltre, i pazienti che già assumevano la terapia e i pazienti che hanno assunto il MPH *extended-release* o entrambe le formulazioni hanno avuto la risposta migliore al trattamento per tutti i parametri considerati (scale CGI-S e CGAS). Questi dati suggeriscono che la formulazione *extended-release* potrebbe avere determinato una migliore nella risposta al MPH per l'aumento di aderenza alla terapia. Il dosaggio è stato un fattore significativo solo per CGAS. In CGI-S, la significatività statistica potrebbe non essere stata raggiunta a causa della dimensione insufficiente del campione.

I presenti dati mostrano il coinvolgimento dei geni *SLC6A3* e *DRD4*, che sono già stati ampiamente associati alla risposta al MPH in precedenti studi della letteratura.

Un'associazione significativa alla risposta al MPH è stata rilevata per i geni *SNAP25* e *ADGRL3*, implicati nel neurosviluppo. Nonostante il ruolo di questi geni nell'ambito della suscettibilità all'ADHD sia stato ampiamente studiato, solo pochi lavori hanno indagato tali geni in termini di efficacia del trattamento con MPH. Contini e coll. hanno valutato lo stesso polimorfismo di *SNAP25* (rs3746544) negli adulti con ADHD, senza però identificarne alcun effetto.

In letteratura inoltre, sono riportati dati inconsistenti per quanto concerne *ADGRL3* e la risposta al MPH. Nel presente studio, le associazioni tra rs6551665 e rs6858066 e la risposta al MPH non sono state confermate; gli autori hanno invece riportato un'associazione, in precedenza non segnalata, tra rs1868790 e la risposta al MPH.

Uno dei punti di forza del presente studio risiede nella metodologia di valutazione dei sintomi in risposta alla terapia; sono, infatti, state utilizzate 2 scale che hanno fornito informazioni più dettagliate e hanno permesso di registrare l'eterogeneità dell'effetto terapeutico. Inoltre, la risposta al MPH è stata valutata nell'ambito della pratica clinica di routine, evidenziando il ruolo dei fattori genetici in una situazione clinica reale.

Un limite dello studio consiste nella determinazione dei punteggi della risposta clinica, effettuata tramite le scale CGI-S e CGAS: i punteggi, infatti, sono stati registrati dal medico e, nonostante si siano basati su quello che i genitori e i bambini hanno riportato, non sono esenti dal rischio di soggettività da parte del medico stesso.

Un altro limite dello studio è che il 73% dei pazienti era già in trattamento prima dell'inizio dello studio, quindi con una migliore risposta clinica al *baseline*; pertanto hanno avuto un miglioramento clinico contenuto alla fine del periodo dello studio.

In conclusione, il presente studio mostra, in pazienti affetti da ADHD, un effetto moderato dei geni *SLC6A3*, *DRD4*, *SNAP25* e *ADGRL3* nella risposta alla terapia con metilfenidato e un'interazione tra la risposta al trattamento e i genotipi di *SLC6A3* e *DRD2* a 12 mesi.

Parole chiave: farmacogenetica, metilfenidato, ADHD, *SLC6A3*, *DRD4*, *SNAP25*, *ADGRL3*, *DRD2*.

Riferimento bibliografico

[Gomez-Sanchez CI](#) et al. *Sci Rep* 2017, 7(1):10391.

ASSOCIAZIONE DEI POLIMORFISMI DELLA β -ARRESTINA 2 CON LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON ANTIDEPRESSIVI IN PAZIENTI CON DEPRESSIONE

A cura della Dott.ssa Claudia Pisanu

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), il disturbo depressivo maggiore (DDM) è la causa più importante di disabilità a livello mondiale e interessa oltre 300 milioni di persone. Oltre il 65% dei pazienti con diagnosi di DDM non va incontro a remissione in seguito ad una prima linea di trattamento con antidepressivi. La spiegazione può essere dovuta, almeno in parte, alla variabilità della presentazione clinica e del *background* genetico dei pazienti affetti da DDM. Lo studio dei polimorfismi genetici in grado di influenzare la risposta agli antidepressivi potrebbe aiutare a identificare dei marker di risposta a specifici farmaci. Le proteine β -arrestina 1 (codificata dal gene *ARBB1*) e β -arrestina 2 (codificata dal gene *ARBB2*) sono espresse in maniera ubiquitaria e sono coinvolte nelle *pathway* di segnalazione dei recettori accoppiati a proteina G (GPCR). Le β -arrestine potrebbero esercitare un ruolo nella farmacogenetica dei farmaci psicotropi, in particolare degli antidepressivi. Infatti, interagiscono con numerosi GPCR, ad esempio serotoninergici e dopaminergici, che sono stati implicati nella patofisiologia del DDM. I livelli di β -arrestina 1 e β -arrestina 2 sono risultati ridotti nei leucociti di pazienti depressi, ed è stata osservata una normalizzazione dei loro livelli in seguito al trattamento con antidepressivi. È stato suggerito che la normalizzazione dei livelli sia dovuta a una stabilizzazione della forma ubiquitinata della β -arrestina 1 e alla degradazione della forma ubiquitinata della β -arrestina 2. In particolare, è stato osservato che la β -arrestina 2 influenza gli effetti antidepressivi della fluoxetina in un modello di depressione murino. Inoltre, diversi recettori monoaminergici implicati nella patofisiologia del DDM e negli effetti degli antidepressivi interagiscono preferenzialmente con la β -arrestina 2.

Sulla base di queste evidenze, gli autori dello studio hanno analizzato l'associazione tra cinque polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) del gene *ARBB2* e la risposta agli antidepressivi in una coorte di 569 pazienti con un episodio di depressione maggiore in corso. I pazienti sono stati reclutati tramite uno studio di coorte prospettico della durata di sei mesi, naturalistico, *real-world*, multicentrico (studio METADAP). I pazienti con episodio di depressione maggiore sono stati trattati dallo psichiatra di riferimento e valutati prima dell'inizio e durante il trattamento con antidepressivi (dopo 1, 3 e 6 mesi di trattamento).

I criteri d'inclusione comprendevano: età compresa tra 18 e 65 anni, diagnosi di episodio di depressione maggiore nel contesto di un DDM in base alla Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI), uno score di almeno 18 alla Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) e necessità dell'inizio di un nuovo trattamento con antidepressivi. I criteri di esclusione comprendevano: diagnosi di disturbo bipolare, disturbi psicotici, abuso o dipendenza da sostanze, gravidanza, allattamento, patologie cerebrali organiche o patologie mediche non stabili. Inoltre, sono stati esclusi i pazienti in terapia con antipsicotici o

stabilizzanti dell'umore prima del *baseline* o che avessero assunto tali farmaci per almeno quattro mesi nel corso dell'anno precedente.

Dei 569 pazienti inclusi il 91% era di origine caucasica, il 7% afroamericana e il 2% asiatica. Per ciascun paziente lo psichiatra ha scelto un trattamento in monoterapia con un antidepressivo appartenente a una tra le seguenti quattro classi: inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI), inibitori della serotonina e della noradrenalina (SNRI), antidepressivi triciclici (TCA) e altri antidepressivi. Le classi più frequentemente prescritte sono state SSRI (n = 220) e SNRI (n = 219). Nel caso si sia resa necessaria una variazione del regime terapeutico durante il *follow-up*, il paziente è uscito dallo studio. Tuttavia, il protocollo ammetteva una re-inclusione con il nuovo trattamento antidepressivo. Un paziente è stato definito *responder* in caso presentasse una riduzione dello *score* HDRS pari ad almeno il 50% al *follow-up* rispetto al *baseline*. Un paziente è stato definito in remissione in presenza di uno *score* HDRS ≤ 7 . La valutazione della risposta è stata effettuata in cieco rispetto ai risultati della genotipizzazione.

Cinque SNP localizzati nel gene *ARBB2* (rs3786047, rs4522461, rs1045280, rs2036657 e rs4790694) sono stati genotipizzati su DNA genomico estratto da linfociti. I tre SNP rs3786047, rs1045280 e rs2036657 formavano un blocco aplo-tipico e sono stati analizzati assieme, mentre gli SNP rs4522461 e rs4790694 sono stati analizzati indipendentemente. È stato considerato significativo un p-value corretto secondo Bonferroni pari a 0,017 (= 0,05 / 3). La relazione tra genotipo e *score* HDRS nei sei mesi di *follow-up* è stata valutata utilizzando sia analisi bivariate sia un modello di regressione lineare a effetti misti (*mixed-effects*), corretto per età, sesso, etnia, durata del DDM, durata di precedenti trattamenti con antidepressivi, periodo libero da assunzione di antidepressivi prima dell'inclusione e classe dell'antidepressivo assunto per il presente studio.

L'età media dei pazienti inclusi è stata di 46,2 anni, e la maggior parte erano donne (69,6%). Dei 569 pazienti inclusi nell'analisi, 123 sono usciti dallo studio dopo 1 mese, 246 dopo 3 mesi e 348 dopo 6 mesi. Le ragioni principali dei *drop-out* sono state: cambiamento dell'antidepressivo, utilizzo di farmaci in violazione del protocollo e perdita al *follow-up*.

Non è stata riscontrata un'associazione significativa tra i tre aplo-tipi più frequenti del blocco rs3786047 - rs1045280 - rs2036657 e la risposta agli antidepressivi.

Nelle analisi bivariate, per lo SNP rs4522461 i pazienti con genotipo GG/GT rispetto ai pazienti con genotipo TT hanno mostrato uno *score* HDRS più alto dopo il primo mese di trattamento (p = 0,02) e una minore percentuale di miglioramento dello *score* HDRS rispetto al *baseline* (p = 0,02). Tuttavia, i risultati erano significativi solo a livello nominale e non secondo la soglia corretta per test multipli (p = 0,017).

Per lo SNP rs4790694, i pazienti con genotipo AA/AC rispetto a quelli con genotipo CC hanno mostrato uno *score* HDRS più alto dopo 1 mese di trattamento (p = 0,002), un ridotto miglioramento dello *score* HDRS rispetto al *baseline* (p = 0,005) e un *trend* per una minore percentuale di *responder* dopo 1 mese di trattamento (34% vs 44%, p = 0,051). Dopo 6 mesi di trattamento, i pazienti con genotipo AA/AC presentavano ancora uno *score* HDRS più alto (p = 0,01) e una minore percentuale di miglioramento dello *score* rispetto al *baseline* (p = 0,005). Inoltre, il gruppo dei pazienti con genotipo AA/AC presentava una minore percentuale di *responder* (p = 0,014) e di pazienti in remissione (p = 0,0017). L'associazione dei genotipi AA/AC con uno *score* HDRS più alto dopo 6 mesi di trattamento è stata confermata anche dal modello di regressione lineare a effetti misti, corretto per le variabili demografiche e cliniche confondenti (p = 0,02).

Lo SNP rs4790694 è stato associato da studi precedenti con la dipendenza da nicotina. Tuttavia, nello studio attuale non è stata osservata nessuna differenza nel consumo di tabacco in base al genotipo del polimorfismo.

I due SNP rs4522461 e rs4790694 sono localizzati, rispettivamente, in un introne e nella regione 3'UTR del gene *ARBB2*. Pertanto, potrebbero essere implicati nella regolazione trascrizionale del gene o essere in *linkage disequilibrium* (LD) con uno SNP funzionale.

Tra i limiti dello studio vi sono la percentuale relativamente elevata di *drop-out*, il numero limitato di pazienti *carrier* del genotipo TT dello SNP rs452246 (n = 18), l'inclusione di pazienti di origine etnica diversa e l'inclusione di pazienti che assumevano benzodiazepine (che potrebbero influenzare lo *score* HDRS, in particolare la valutazione dell'ansia e del sonno).

In conclusione, lo studio suggerisce un'associazione tra gli SNP rs4522461 e rs4790694 del gene ARBB2 e la risposta agli antidepressivi nei pazienti disturbo depressivo maggiore.

Parole chiave: antidepressivi, disturbo depressivo maggiore, *ARRB2*

Riferimento bibliografico

[Petit AC](#) et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2018, 81: 74-9.

IMMUNOMODULAZIONE

VARIANTI DI GENI IMPLICATE NEL PATHWAY DELL'INTERFERONE DI TIPO 1 E NELL'ATTIVAZIONE DELLE CELLULE B MODULANO LA RISPOSTA EULAR AL RITUXIMAB A 24 SETTIMANE, NELL'ARTRITE REUMATOIDE

A cura della Dott.ssa Sarah Allegra

L'artrite reumatoide è un complesso disturbo autoimmune sistemico che coinvolge fattori ambientali, genetici e stocastici. Il rituximab (RTX) è un anticorpo monoclonale chimerico anti-CD20 diretto contro le cellule B, efficace per il trattamento dell'artrite reumatoide refrattaria ai bloccanti del fattore di necrosi tumorale. Attualmente non è disponibile un programma di medicina personalizzata per i pazienti che ricevono farmaci biologici, tra cui il RTX, poiché è difficile identificare coloro che non risponderanno al trattamento e la causa della variabilità interindividuale riportata. Per migliorare questa situazione, è necessaria l'identificazione di fattori prognostici di risposta alla terapia.

Recentemente è stato osservato che il pathway dell'interferone di tipo 1 (IFN-1) è potenzialmente in grado di influenzare la risposta al RTX. Infatti è stato rilevato che l'unica distinzione tra i pazienti che rispondono o meno al RTX, alla ventiquattresima settimana (W24), è il cambiamento farmacodinamico nell'espressione di un gruppo selettivo di geni regolati dall'IFN-1. Diversi geni codificano le proteine chiave del sistema IFN-1: il fattore di regolazione IFN 5 e 7 (IRF5/7), la tirosina chinasi 2 (TYK2), il trasduttore e attivatore del segnale di trascrizione 4 (STAT4) e l'osteopontina (SPP1). Questi geni svolgono un ruolo nel rischio di varie malattie autoimmuni tra cui l'artrite reumatoide. In questo lavoro, gli autori hanno cercato di verificare se le varianti dei geni *IRF5/7*, *TYK2*, *STAT4* e *SPP1* potrebbero modulare la risposta EULAR (European League Against Rheumatism) al RTX in pazienti con artrite reumatoide.

In questo studio retrospettivo e multicentrico, sono stati inclusi tutti i pazienti dello studio SMART (uno studio di rieducazione con MabThera (rituximab) nei pazienti con artrite reumatoide che hanno fallito alla terapia anti-TNF α) che hanno acconsentito alle analisi genetiche. Sono stati arruolati 224 pazienti che soddisfano il criterio dell'American College of Rheumatology (1987) per artrite reumatoide con inadeguata risposta, intolleranza o controindicazione anti-TNF α , che valuta l'efficacia e la sicurezza di due dosi di RTX per il trattamento dopo un ciclo di RTX (1000 mg nei giorni 1 e 15). Solo i corticosteroidi e gli antiinfiammatori non steroidei sono stati autorizzati, se a dosi stabili. Il livello del fattore di attivazione delle cellule B (BAFF) è stato misurato all'inizio della terapia con RTX utilizzando il Quantikine ELISA (R & D Systems). Tutti i pazienti sono stati sottoposti a genotipizzazione per i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) dei geni *IRF5* (rs2004640), *IRF7* (rs1131665), *STAT4* (rs7574865), *TYK2* (rs2304256, rs280519 e

rs12720356), *SPP1* (rs11439060 e rs9138) e *TNFSF13B* o *BAFF* (rs9514828). Infine sono state svolte le valutazioni statistiche e il valore $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Tra i 224 pazienti con artrite reumatoide inclusi nello studio SMART, 115 hanno dato il consenso per l'analisi genetica: 92 (80%) erano donne, l'età media era $55,50 \pm 11,15$ anni, 93 (80,9%) avevano anticorpi anti-CCP (peptide citrullinato anti-ciclico) e 82 (71,3%) erano positivi per il fattore reumatoide (RF). La media DAS28-CRP (Disease Activity Score in 28 articolazioni con proteina C reattiva) era di 5.68 ± 0.90 all'inizio della terapia con RTX e 3.94 ± 1.07 alla W24, con una variazione media di -1.74 ± 1.14 . Alla W24, 30 (26,3%) pazienti hanno avuto una buona risposta al trattamento, 62 (54,4%) una risposta moderata e 22 (19,3%) non hanno risposto. L'analisi univariata ha mostrato un aumento della frequenza dell'allele minore per *IRF5* rs2004640, *IRF7* rs1131665 e *SPP1* rs9138 in coloro in cui è stata registrata una risposta buona o moderata al trattamento alla W24 ($p < 0,20$). L'analisi multivariata ha rivelato una combinazione allelica delle tre varianti distinte *IRF5* rs2004640, *SPP1* rs9138 e *TNFSF13B* rs9514828 fortemente associata alla risposta EULAR al RTX a W24, indipendentemente dagli stati anticorpi anti-CCP dei pazienti, definiti dall'omozigosi per l'allele comune di *SPP1* rs9138 (genotipo A / A) e *TNFSF13B* rs9514828 (genotipo C / C) e con almeno un allele raro di *IRF5* rs2004640 (genotipo G / T o G / G). Questa combinazione allelica predittiva è stata trovata in 69 di coloro in cui è stata registrata una risposta buona o moderata al trattamento (75,0%) rispetto a 7 che non hanno risposto (31,8%) ($p = 3,27 \times 10^{-5}$, OR 9,85 (95% CI 3,47-30,74)).

I risultati suggeriscono una possibile associazione tra la combinazione allelica dei polimorfismi *IRF5* rs2004640, *SPP1* rs9138 e *TNFSF13B* rs9514828 e la risposta a RTX. *IRF5* rs2004640 è noto essere in linkage disequilibrium completo con un polimorfismo del promotore di 5 bp (CGGGG inserzione/delezione) correlato con i livelli di mRNA di geni indotti da IFN. *SPP1* rs9138 influenza il livello di osteopontina, una fosfoproteina glicosilata della matrice extracellulare implicata nella produzione di IFN-1. Inoltre, l'allele minore di *TNFSF13B* rs9514828 è stato associato ad una maggiore trascrizione di BAFF. La combinazione genotipica individuata potrebbe essere correlata anche al profilo di sicurezza di RTX. Infatti, una maggiore efficacia del RTX potrebbe essere associata ad un più forte esaurimento delle cellule B, che a sua volta potrebbe essere correlato ad un rischio maggiore di eventi infettivi. Pertanto sono necessari ulteriori studi che non solo confermino il ruolo predittivo delle varianti identificate nella risposta al trattamento con RTX ma che valutino il ruolo delle varianti *IRF5* rs2004640, *SPP1* rs9138 e *TNFSF13B* rs9514828, singolarmente o in combinazione, nella comparsa di eventi avversi dopo trattamento con RTX.

La combinazione allelica *IRF5* rs2004640, *SPP1* rs9138 and *TNFSF13B* rs9514828 è risultata associata alla risposta al rituximab dopo 24 settimane di trattamento, in pazienti con artrite reumatoide.

Parole chiave: artrite reumatoide, rituximab, *IRF*, *SPP1*, *TNFSF13B*

Riferimento bibliografico

[Juge PA](#) et al. *RMD Open* 2017, 3(2):e000448.

POLIMORFISMI GENETICI PREDICONO LA RISPOSTA AL TRATTAMENTO CON GLI ANTI-TNF NELLA MALATTIA DI CROHN

A cura delle Dott.sse Debora Curci e Marianna Lucafò

La malattia di Crohn (MC) è caratterizzata da un'inflammatione cronica transmurale che, in genere, colpisce l'ileo terminale o il colon ma può presentarsi a qualsiasi livello dell'apparato gastroenterico.

A oggi, i farmaci biologici anti-TNF α , in particolare l'infliximab, l'adalimumab e il certolizumab pegol, vengono utilizzati per l'induzione ed il mantenimento della remissione e possono essere utilizzati da soli o in combinazione con altri immunomodulatori. Tuttavia il loro utilizzo è limitato dalla possibilità di gravi

eventi avversi e dagli alti costi della terapia. Riuscire quindi ad individuare i pazienti che non rispondono al trattamento con gli anti-TNF α diventa di fondamentale importanza sia dal punto di vista clinico che economico.

Al fine di prevedere la risposta al trattamento farmacologico, potrebbe essere utile avvalersi di test genetici. Se da un lato sono noti i geni associati alla patogenesi della MC, pochi sono i dati a disposizione sulla predizione della risposta agli anti-TNF α . Polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nei geni associati alla MC potrebbero, infatti, influenzare la risposta farmacologica.

Lo scopo di questo lavoro è di esaminare una serie di SNP nei geni associati alla MC per determinare se c'è una correlazione con la risposta agli anti-TNF α e poter così personalizzare la terapia.

Lo studio è stato approvato dal consiglio di revisione istituzionale dell'Università di Louisville ed è stato condotto su 121 pazienti prevalentemente caucasici di cui: il 17.4% sono *non-responder* e l'82.6% sono *responder*. Di quest'ultimi il 25% va successivamente incontro a perdita di risposta terapeutica. I pazienti hanno un follow-up di 12 mesi dall'inizio della terapia.

Sulla base dei dati riportati in letteratura sono stati valutati 7 SNPs associati a 5 geni: ATG16L1 (rs10210302, T300A rs2241880), Fas ligando (-843 rs763110), IBD5 (rs2522057), FCGR3A (rs396991), e TNF (-308 rs1800629, -238 rs361525).

Modelli logistici di regressione multivariata sono stati sviluppati per gli SNPs del gene Fas-ligando (rs763110), del TNF (rs1800629) e della loro combinazione. Questi modelli includono: i dati relativi al genotipo per ciascuno di questi due SNP, la classificazione di Montreal relativa all'andamento della malattia e la classificazione di Montreal delle malattie perianali.

La valutazione degli SNP è stata eseguita tramite *TaqMan predesigned genotyping assays* (Life Technologies®, Carlsbad CA).

Confrontando i genotipi dei *responder* e dei *non-responder* è emersa una differenza significativa nei genotipi di Fas ligando SNP rs763110: pazienti con un genotipo CC (rispetto ai pazienti con genotipo TC o TT) hanno una maggior probabilità di non rispondere al trattamento con gli anti-TNF α , ($P = 0.009$, OR = 4.30, 95%CI: 1.45-12.80). Lo SNP del gene TNF, il -308 (rs1800629), ha mostrato una correlazione significativa con la risposta farmacologica quando si confrontano i genotipi AA e GA rispetto al genotipo GG ($P = 0.049$, OR = 2.88, 95%CI: 1.01-8.22).

I genotipi AA e GA dello SNP -238 rs361525 sono significativamente predittivi della non-risposta al trattamento rispetto al genotipo GG. I pazienti che presentavano genotipo CC dello SNP rs763110 e genotipi AA o GA per rs1800629 avevano una probabilità circa 5 volte maggiore di essere *non-responder* ($P = 0.015$, OR = 4.76, 95%CI: 1.35-16.77). Nessuna differenza significativa è stata osservata per gli SNP nei geni ATG16L1, IBD5 e FCGR3A.

In questo lavoro sono stati identificati due SNPs funzionali, rs763110 e rs1800629 associati alla mancata risposta al trattamento con anti-TNF α in pazienti con malattia di Crohn. La genotipizzazione di questi SNP potrebbe aiutare a definire quali pazienti con MC possono beneficiare della terapia e consentire così un miglioramento in termini di costo-efficacia del trattamento.

Parole chiave: malattia di crohn, fattore di necrosi tumorale alfa (TNF α), anti-TNF α ; Fas ligando; risposta terapeutica; polimorfismo a singolo nucleotide; genotipo

Riferimento bibliografico

[Netz U](#) et al. *World J Gastroenterol* 2017, 23(27): 4958-67.

ANTIMICROBICI

INFLUENZA DEI GENI *ABCB11* E *HNF4A* SULLE CONCENTRAZIONI PLASMATICHE DI DACLATASVIR: DATI PRELIMINARI DI FARMACOGENETICA DALLO STUDIO KINETIC-C

A cura della Dott.ssa Lucia Gozzo

I nuovi farmaci antivirali ad azione diretta (*direct-acting antiviral drugs*, DAA) per il trattamento dell'epatite C hanno aumentato la possibilità di ottenere una risposta virologica sostenuta (SVR) fino a quasi il 100% (Gonzalez-Grande R et al. *World J Gastroenterol* 2016, 22:1421–32). Il daclatasvir è un inibitore della proteina non strutturale NS5A e la sua efficacia è stata dimostrata anche in pazienti che in precedenza avevano fallito il trattamento con inibitori delle proteasi (PI) di I generazione (Boglione L et al. *Infection* 2016, 45: 103–6). Il monitoraggio delle concentrazioni plasmatiche di daclatasvir è importante per evitare la selezione di varianti resistenti. Il farmaco è un substrato della glicoproteina-P (gp-P) codificata dal gene *ABCB1*, ed SNP di questo gene possono influenzarne le concentrazioni plasmatiche. Inoltre, SNP del gene *ABCB11*, che codifica la pompa di efflusso dei sali biliari (*biliary salt export pump* BSEP, anche nota come "*gp-P sister*" per l'alta omologia dei due trasportatori) influenzano l'esposizione al daclatasvir e ad altri DAA (Cusato J et al. *Biomed Pharmacother* 2015, 69: 63–9; Cusato J et al. *J Pharm Pharm Sci* 2015; 18:171–6). Scopo di questo studio è stato quello di valutare l'associazione tra polimorfismi dei trasportatori [*ABCB1* 3435 C>T (*rs1045642*), 1236 C>T (*rs1128503*), *ABCB1* 2677 G>T (*rs2032582*), *ABCB11* 1131 T>C (*rs2287622*)], e dei fattori nucleari [*HNF4α* (*hepatocyte nuclear factor 4α*) 975 C>G (*rs1884613*)] e la farmacocinetica del daclatasvir a 2 settimane e un mese di terapia.

Sono stati arruolati 81 pazienti affetti da HCV (genotipo 1a, 1b, 3 o 4) con fibrosi grave o cirrosi e trattati con daclatasvir (60 mg/die) e sofosbuvir, con o senza ribavirina. I dati di farmacocinetica erano disponibili per 52 dei pazienti arruolati. L'età media era di 50 anni, nel 17,6% dei casi erano uomini, il 37% cirrotici, il BMI medio era pari a 24, l'HCV-RNA 6.2 log UI/mL, il valore di ALT 94 UI/mL, l'albumina 40 UI/mL, l'emoglobina 15,2 g/dL, l'ematocrito 44,4%, il volume corpuscolare medio 90,7 fL ed il tasso di filtrazione glomerulare 115,2 mL/min. Il 28,8% dei pazienti era in trattamento con ribavirina le cui concentrazioni medie erano pari a 1.248 e 1.414 ng/mL a 2 settimane ed 1 mese, rispettivamente. Le concentrazioni medie di daclatasvir erano pari a 181 e 212 ng/mL a 2 settimane ed un mese. Tutti i pazienti avevano ottenuto l'SVR. La presenza del polimorfismo *HNF4α* 975 C>G ha influenzato le concentrazioni plasmatiche di daclatasvir: a 2 settimane i pazienti con genotipo CC presentavano una concentrazione media di 170 ng/mL, mentre nei pazienti con genotipo CG/GG era di 92 ng/mL (P = 0,009); ad un mese, i pazienti con genotipo CC avevano livelli pari a 212 ng/mL mentre i pazienti con genotipo CG/GG avevano livelli pari a 90 ng/mL (P = 0,006). All'analisi multivariata, l'età, il BMI e l'ematocrito sono risultati predittivi delle concentrazioni di daclatasvir a 2 settimane, mentre ad 1 mese i genotipi *ABCB11* 1131 CC e *HNF4α* CG/GG sono risultati determinanti.

Questo studio dimostra per la prima volta la presenza di un'associazione tra polimorfismi genetici e le concentrazioni di daclatasvir. Il farmaco è substrato della gp-P e non sono presenti in letteratura dati sulla BSEP. L'*HNF4α* è un fattore di trascrizione che modula l'espressione di geni epatici, inclusi l'*ABCB1*. Uno studio ha dimostrato che uno *small interfering RNA* riduce i livelli di mRNA *HNF4α* ed i livelli di mRNA di altri geni, inclusi *ABCB1* e *ABCB11* (Kamiyama Y et al. *Drug Metab Pharmacokinet* 2007, 22: 287–98). In precedenza era stata, inoltre, messa in evidenza un'associazione tra polimorfismi del gene *HNF4α* sui livelli di efavirenz e raltegravir (Cusato J et al. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 47: 117–23; Calcagno A, Cusato J et al. *J Antimicrob Chemother* 2013, 69: 241–5).

In conclusione, questo studio mostra un aumento delle concentrazioni di daclatasvir in pazienti portatori del genotipo CC del gene *HNF4α*. Ulteriori studi su coorti di pazienti più ampie sono necessari per confermare questi risultati preliminari.

Limite dello studio è rappresentato dal basso numero di pazienti arruolati.

Parole chiave: epatite C, *ABCB11*, *HNF4A*, daclatasvir

Riferimento bibliografico

Cusato J et al. *J Antimicrob Chemother* 2017, 72(10): 2846-9.

LA METANALISI DEL MESE

ANALISI DI POLIMORFISMI LOCALIZZATI SUI GENI DI RIPARAZIONE DEL DNA COME FATTORI GENETICI PREDITTIVI DELL'EFFICACIA DI CHEMIOTERAPICI A BASE DI CISPLATINO IN PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE AI POLMONI NON A PICCOLE CELLULE: UNA META-ANALISI DI RETE

A cura della Dott.ssa Sarah Cargnin

Il tumore ai polmoni non a piccole cellule (NSCLC) è la patologia con più alto tasso di mortalità a livello globale. Tra i fattori eziologici noti si annoverano l'abitudine al fumo, il consumo di alcool, l'esposizione all'inquinamento ambientale e ad agenti cancerogeni nonché una suscettibilità genetica al carcinoma polmonare. Ad oggi, l'approccio terapeutico farmacologico più utilizzato in pratica clinica prevede la somministrazione di chemioterapici a base di platino, risultanti in un tasso di remissione dalla malattia superiore al 40%. Nello specifico, i composti a base di platino agiscono alterando la struttura del DNA ed inibendone la sua replicazione e trascrizione. Essendo noto come in tale contesto intervengano alcuni meccanismi fisiologici di riparazione del danno al DNA, quali sono l'escissione di singole basi (BER) e l'escissione di singoli nucleotidi (NER), si ipotizza come la variabilità individuale in termini di meccanismi di riparazione del DNA possa modulare l'efficacia di tali chemioterapici in pazienti oncologici. Dalla letteratura emergono numerosi studi farmacogenetici finalizzati all'analisi della correlazione tra l'efficacia dei regimi chemioterapici a base di cisplatino in pazienti affetti da NSCLC e SNPs localizzati su geni coinvolti nei meccanismi BER e NER, quali sono ERCC1, XRCC1, XPD e XPG. Tuttavia, si evidenzia come i risultati di associazione genetica riportati dai singoli studi siano contrastanti tra loro. Alla luce di quanto detto, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di riassumere in maniera quantitativa mediante meta-analisi di rete l'effetto di 14 SNPs in 8 geni coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA come fattori predittivi dell'efficacia dei chemioterapici a base di cisplatino in pazienti affetti da NSCLC.

La ricerca bibliografica è stata condotta sui databases di PubMed e Cochrane nel mese di febbraio del 2017. Sono stati definiti come eleggibili tutti gli studi di coorte in cui: i) le varianti in analisi fossero localizzate sui geni ERCC1, XRCC1, XPD, XPG, XPA, XRCC3, APE1 e RRM1; ii) i pazienti arruolati fossero affetti da NSCLC di grado III-IV della classificazione TNM e non sottoposti a resezione chirurgica del tumore e/o a radioterapia prima dell'inizio del trattamento farmacologico; iii) l'*outcome* di interesse fosse il tasso di risposta globale. Sono stati esclusi i) gli studi con dati incompleti, ii) i duplicati, iii) le reviews, lettere o abstracts congressuali, iv) lavori pubblicati in lingua diversa dall'inglese e v) studi condotti non su campioni umani. Sono stati raccolti per ciascun studio eleggibile i dati relativi a: i) paese d'origine, etnia, sesso ed età dei pazienti inclusi; ii) metodo di genotipizzazione utilizzato e iii) tipologia di composto a base di platino somministrato. La qualità degli studi inclusi nella presente meta-analisi è stata valutata tramite i criteri "Critical Appraisal Skills Program" (CASP). Al fine di stimare quantitativamente la correlazione tra i 14 SNPs in oggetto e l'efficacia dei chemioterapici a base di cisplatino è stata condotta una meta-analisi ad effetti fissi o random a seconda, rispettivamente, dell'assenza o presenza di eterogeneità tra gli studi. È stato poi costruito un plot di rete per i 14 SNPs in esame dove ogni nodo rappresenta uno SNP, la dimensione del nodo è direttamente proporzionale alla dimensione campionaria globale in cui è stata valutata la stima meta-analitica per quello specifico SNP e lo spessore della linea che collega due nodi rappresenta il numero di

studi che hanno incluso nell'analisi quelle due varianti. Infine, con l'obiettivo di stimare quali siano le varianti genetiche più fortemente predittive dell'efficacia dei chemioterapici a base di platino è stata effettuata una meta-analisi di rete bayesiana in cui la gerarchia tra le varianti è stata valutata mediante curve SUCRA ("surface under the cumulative ranking curve").

Dalla ricerca bibliografica sono emersi 730 risultati e dopo esclusione di 101 studi non eleggibili, sono stati screenati per testo intero i rimanenti 629 lavori. Di questi, 26 studi di coorte sono stati inclusi nella presente meta-analisi. Nello specifico, si tratta di lavori pubblicati dal 2004 al 2015, di cui 11 sono stati condotti su pazienti di etnia caucasica e 15 su soggetti asiatici. Dalla meta-analisi condotta nel modello genetico dominante è emersa una correlazione statisticamente significativa tra il tasso di risposta globale (ORR) a chemioterapici a base di platino e le varianti ERCC1 rs11615 (OR 0.73, 95% CI 0.56-0.93), XRCC1 rs25487 (OR 1.29, 95% CI 1.07-1.54), XRCC1 rs1799782 (OR 1.37, 95% CI 1.07-1.75) e XPD rs13181 (OR 0.81, 95% CI 0.66-0.99). Il plot di rete ivi costruito mostra graficamente come per la variante XRCC1 rs25487 la dimensione campionaria globale su cui è stata effettuata la stima meta-analitica è la maggiore (N pazienti=1237). Osservando lo spessore delle linee di collegamento tra i nodi (SNPs), si evince come nella maggior parte degli studi siano state effettuate comparazioni dirette delle varianti ERCC1 rs11615 versus XPD rs13181, XPD rs1799793 versus XPD rs13181, ed ERCC1 rs11615 versus XPD rs1799793. Infine, dalle curve SUCRA non si riscontrano differenze statisticamente significative tra le varianti in studio in termini di grado di predittività della risposta ai composti del platino.

Dalla presente meta-analisi di rete emerge come le varianti ERCC1 rs11615, XRCC1 rs25487, XRCC1 rs1799782 e XPD rs13181 siano correlate in maniera statisticamente significativa al tasso di risposta globale ai composti del platino in pazienti affetti da NSCLC.

Tuttavia è rilevante sottolineare alcune potenziali criticità metodologiche riscontrate nella conduzione di questo lavoro: i) le linee guida PRISMA per il reporting di revisioni sistematiche e meta-analisi non sono state seguite nella stesura del lavoro e ciò mina la riproducibilità del metodo; ii) gli Autori del presente lavoro non specificano se i 14 SNPs selezionati per essere analizzati nella meta-analisi siano stati scelti *a priori* ed in maniera soggettiva dagli stessi o, al contrario, se siano tutti gli SNPs localizzati nei geni candidati di interesse che siano stati studiati in almeno due studi primari come potenziali fattori predittivi della risposta ai composti del platino; iii) non sono riportate né discusse le stime meta-analitiche di associazione genetica nei modelli genetici recessivo e allelico; iv) in presenza di eterogeneità tra gli studi (ad esempio nel caso della variante XRCC1 rs25487) sarebbe stato interessante effettuare delle analisi per sottogruppi (ad es. per etnia) al fine di determinare le potenziali cause dell'eterogeneità riscontrata. A fronte di tali limiti metodologici, si rendono necessari ulteriori studi finalizzati a validare le evidenze ivi riscontrate.

Parole chiave: geni di riparazione del DNA, NSCLC, composti del platino

Riferimento bibliografico

[Yu SN](#) et al. *J Cell Biochem* 2017, 118(12):4782-91



Sostieni la Società Italiana di Farmacologia

La Società Italiana di Farmacologia è tra i beneficiari dei proventi del 5 per mille dell'IRPEF.

È sufficiente apporre la propria firma ed indicare, sulla dichiarazione dei redditi, nel riquadro associazioni di volontariato, onlus, associazioni di promozione sociale e da altre fondazioni e associazioni riconosciute, il Codice Fiscale della SIF che è 97053420150, per destinare tali fondi a Borse di studio SIF per giovani ricercatori.

Per maggiori informazioni, contattare la segreteria SIF: tel. 02-29520311.

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

SIF – FARMACOGENETICA**Newsletter del Gruppo di lavoro sulla Farmacogenetica della Società Italiana di Farmacologia**

Registrazione del Tribunale di Milano n° 180 data 31/03/2010 ISSN 2282-4758

http://www.sifweb.org/gruppilavoro/sif_gruppo_farmacogen.php

Direttore	Prof. Emilio Clementi (Università di Milano)
Vice-Direttore	Prof. Diego Fornasari (Università di Milano)
Coordinatore	Dott.ssa Valentina Boscaro (Università di Torino)
Caporedattori	Dott. Gabriele Stocco (Università di Trieste) Dott. Salvatore Terrazzino (Università del Piemonte Orientale)
Web Editor	Dott. Federico Casale (Università di Torino)
Hanno contribuito a questo numero:	Dott.ssa Sarah Allegra (Università di Torino) Dott.ssa Donatella Carretta (Università di Bologna) Dott.ssa Sarah Cargnin (Università del Piemonte Orientale) Dott.ssa Valeria Conti (Università di Salerno) Dott.ssa Debora Curci (Università di Trieste) Dott.ssa Lucia Gozzo (Università di Catania) Dott.ssa Raffaella Lucafò (Università di Trieste) Dott.ssa Claudia Pisanu (Università di Cagliari) Dott.ssa Gloria Ravegnini (Università di Bologna) Dott.ssa Eleonora Rofi (Università di Pisa) 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

DISCLAIMER – Leggere attentamente

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

RICEZIONE NEWSLETTER

Nella consapevolezza che le e-mail indesiderate sono oggetto di disturbo, vi informiamo che il vostro indirizzo viene conservato e trattato nel rispetto del DL 196/03 ed in qualsiasi momento potrà esserne richiesta la modifica o cancellazione come previsto dall'articolo 13. Tutti i destinatari della e-mail sono in copia nascosta (Privacy L. 75/96).

Qualora non intendeste ricevere ulteriori comunicazioni vi preghiamo di inviare una risposta all'indirizzo sif.farmacologia@segr.it con oggetto: CANCELLA.