

Bibliografia

Boige V, et al. JAMA Oncol 2016;2:655-62

Cecchin E et al. Drug Resist Updat 2018;39:18-40

Del Re M et al. Pharmacogenomics J 2019;19:556-63

Henricks LM et al. Lancet Oncol 2018;19:1459-67

Iachetta F, et al. Br J Cancer 2019;120:834-9

Ruzzo A, et al. Br J Cancer 2017;117:1269-77

https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/fluorouracil-fluorouracil-related-substances-article-31-referral-new-testing-treatment_en.pdf

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE

A cura del Gruppo di Lavoro di AIOM - SIF

Ringraziamenti

L'identificazione e la conferma delle varianti DPD associate a tossicità è il risultato di ricerche finanziate da AIRC, Istituto Toscano Tumori, Ministero dell'Università, Istruzione e Ricerca, Finanziamenti Europei Horizon2020 e regione Friuli Venezia Giulia

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE DPD E FLUOROPIRIMIDINE

1. Indicazioni cliniche

Le fluoropirimidine* (5-FU, capecitabina, tegafur) possono provocare gravi tossicità gastrointestinali ed ematologiche riconducibili principalmente a deficit di *clearance*. L'enzima principale del loro catabolismo è la diidropirimidina deidrogenasi (DPD) il cui gene codificante DPYD presenta varianti alleliche associate a ridotta attività enzimatica. Al fine di prevenire reazioni avverse potenzialmente molto gravi, l'EMA Pharmacovigilance Risk Assessment Committee nella nota del 13/3/2020 (EMA/125891/2020) raccomanda l'esecuzione del test DPD a tutti i pazienti candidati a trattamento con fluoropirimidine. Il gruppo di lavoro raccomanda, pertanto, di eseguire l'analisi delle seguenti mutazioni: c.1236G>A (c.1129-5923C>G), c.1679T>G, c.1905+1G>A e c.2846A>T (*Lancet Oncol* 2018;19:1459-67).

Nel caso che il paziente dovesse comunque mostrare tossicità dopo l'inizio del trattamento può essere utile valutare varianti aggiuntive come c.2194G>A (*JAMA Oncol* 2016;2:655-62; *Br J Cancer* 2017;117:1269-77; *Lancet Oncol* 2018;19:1459-67; *Pharmacogenomics J* 2019;19:556-63; *Br J Cancer* 2019;120:834-9).

2. Materiale biologico e documentazione necessaria per l'analisi molecolare

L'analisi molecolare del gene DPYD viene effettuata su DNA germinale estratto da sangue periferico (3 ml) raccolto in provetta con anticoagulante (EDTA). Il campione può essere conservato in provetta chiusa, sterile e a temperatura ambiente per un periodo massimo di 48 ore, a +4 °C fino a 5 giorni o congelato a -20°C per analisi oltre il quinto giorno.

Il campione deve essere accompagnato da:

- richiesta su ricettario SSN o idonea documentazione (per i pazienti ricoverati nei DH delle strutture richiedenti) che riporti la seguente dicitura "analisi molecolare DPYD per trattamento con fluoropirimidine";
- scheda riassuntiva del regime chemioterapico con fluoropirimidine e di altre terapie concomitanti per valutare eventuali interazioni farmacologiche a carico di DPD. In caso di analisi effettuate dopo l'inizio del trattamento, indicare le tossicità che si sono manifestate.
- consenso informato, ove previsto dalle procedure interne delle Istituzioni richiedenti il test.

3. Esecuzione del test

L'estrazione e l'analisi del DNA devono essere effettuate con procedura validata per uso diagnostico e conforme alle normative in vigore (CE-IVD). Le mutazioni DPYD oggetto di analisi sono: c.1236G>A (rs56038477), c.1679T>G (rs55886062), c.1905+1G>A (rs3918290), c.2194G>A (rs1801160) e c.2846A>T (rs67376798). Ogni ulteriore gene/mutazioni analizzate non sono raccomandate al fine di un utilizzo clinico.

4. Refertazione

Il referto, conforme a modelli prestabiliti in uso nei laboratori eroganti le analisi, dovrebbe contenere le seguenti informazioni:

- anagrafica del paziente, indicazione della struttura e del medico richiedente l'analisi;
- matrice utilizzata per l'analisi, metodica impiegata per la sua esecuzione e indicazione delle varianti alleliche esaminate;
- risultati dell'analisi.

Il referto deve essere firmato del farmacologo clinico o, in sua assenza, dal direttore del laboratorio o suo delegato. Sarà aggiunta una nota interpretativa al test comprendente la riduzione di dose suggerita con riferimento alla raccomandazione (Tabella 1). La modifica della dose dovrà, inoltre, considerare anche eventuali trattamenti concomitanti; l'entità delle interazioni farmaco-metaboliche sarà oggetto di consulenza da parte del farmacologo clinico o, in sua assenza, di professionista con comprovata esperienza.

5. Requisiti minimi dei laboratori

È richiesto quanto segue:

- strumentazione idonea per analisi di acidi nucleici da campioni biologici;
- certificazione del laboratorio UNI EN ISO 9001:2015;
- comprovata esperienza e competenza del personale per l'esecuzione e interpretazione del test.

* Nota: Non è indicato il test DPD nei pazienti candidati a trattamento con trifluridina/tipiracile poiché non soggetta a metabolismo a carico della DPD.

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE UGT1A1 E IRINOTECANO

1. Indicazioni cliniche

L'irinotecano può causare gravi tossicità gastrointestinali ed ematologiche riconducibili principalmente a deficit di *clearance* (*Drug Resist Updat* 2018;39:18-40). L'enzima principale del catabolismo dell'irinotecano è l'uridina glucuronosiltransferasi isoforma 1A1 (UGT1A1) che coniuga il metabolita attivo SN-38 con acido glucuronico. Il gene UGT1A1 presenta una variante allelica principale della regione promoter ([TA]₇TAA, UGT1A1*28, rs8175347) associata a bassa attività trascrizionale e ridotta attività enzimatica. Al fine di prevenire reazioni avverse potenzialmente molto gravi, l'analisi farmacogenetica UGT1A1 è raccomandabile:

- prima della terapia con irinotecano ogni qualvolta, a giudizio dell'oncologo, il trattamento venga proposto ad un paziente con caratteristiche cliniche (comorbidità, PS, stadio di malattia) che lascino supporre un limitato impatto in termini di sopravvivenza e/o risposta e/o sia elevato il rapporto rischio/beneficio;
- durante la terapia con irinotecano nei casi di tossicità gastrointestinale di grado ≥3 e/o ematologica di grado 4 (NCI-CTCAE v.4.0) e comunque in tutti i casi di tossicità gravi inattese.

2. Materiale biologico e documentazione necessaria per l'analisi molecolare

L'analisi molecolare del gene UGT1A1 viene effettuata su DNA germinale estratto da sangue periferico (3 ml) raccolto in provetta con anticoagulante (EDTA). Il campione può essere conservato in provetta chiusa, sterile e a temperatura ambiente per un periodo massimo di 48 ore, a +4 °C fino a 5 giorni o congelato a -20°C per analisi oltre il quinto giorno.

Il campione deve essere accompagnato da:

- richiesta su ricettario SSN o idonea documentazione (per i pazienti ricoverati nei DH delle strutture richiedenti) che riporti la seguente dicitura "analisi molecolare UGT1A1 per trattamento con irinotecano";
- scheda riassuntiva del regime chemioterapico con irinotecano e di altre terapie concomitanti per valutare eventuali interazioni farmacologiche a carico di UGT1A1.

In caso di analisi effettuate durante la terapia indicare le tossicità che si sono manifestate.

c. consenso informato, ove previsto dalle procedure interne delle Istituzioni richiedenti il test.

3. Esecuzione del test

L'estrazione e l'analisi del DNA devono essere effettuate con procedura validata per uso diagnostico e conforme alle normative in vigore (CE-IVD). La variante del gene UGT1A1 oggetto di analisi è (TA)₇TAA (UGT1A1*28, rs3064744). Pirosequenziamento, sequenziamento Sanger o analisi dei microsatelliti sono le piattaforme tecnologiche preferibili. È possibile eseguire l'analisi anche con PCR real-time anche se tale applicazione è da validare internamente e meno diffusa.

4. Refertazione

Il referto, conforme a modelli prestabiliti in uso nei laboratori eroganti le analisi, dovrebbe contenere le seguenti informazioni:

- anagrafica del paziente, indicazione della struttura e del medico richiedente l'analisi;
- matrice utilizzata per l'analisi, metodica impiegata per la sua esecuzione e indicazione della variante allelica esaminata;
- risultati dell'analisi.

Il referto deve essere firmato dal farmacologo clinico o, in sua assenza, dal direttore del laboratorio o suo delegato. Sarà aggiunta una nota interpretativa al test comprendente la riduzione di dose suggerita con riferimento alla raccomandazione (Tabella 2).

La modifica della dose dovrà, inoltre, considerare anche eventuali trattamenti concomitanti; l'entità delle interazioni farmaco-metaboliche sarà oggetto di consulenza da parte del farmacologo clinico o, in sua assenza, di professionista con comprovata esperienza.

5. Requisiti minimi dei laboratori

È richiesto quanto segue:

- strumentazione idonea per analisi di acidi nucleici da campioni;
- certificazione del laboratorio UNI EN ISO 9001:2015;
- comprovata esperienza e competenza del personale per l'esecuzione e interpretazione del test.

Tabella 1 - Raccomandazione DPD

Genotipo DPYD		Dose di fluoropirimidine consigliata
Wild-type	c.1236GG	100%
	c.1679TT	
	c.1905+1GG	
	c.2846AA	
	c.2194GG	
Eterozigote	c.1236GA	75%
	c.1679TG	50%
	c.1905+1GA	
	c.2846AT	
	c.2194GA	85%
Omozigote mutato	c.1236AA	50%
	c.1679GG	Non somministrare fluoropirimidine
	c.1905+1AA	
	c.2846TT	
	c.2194AA	70%

Tabella 2 - Raccomandazione UGT

Genotipo UGT1A1		
Wild-type	6/6	100%
Eterozigote	6/7	100%
Omozigote mutato	7/7	70%