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

Henricks et al. European Journal of Cancer 107 (2019) 60e67

Knikman, et al. J Clin Oncol 41:5411-5421

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

Medwid, et al. Cancer Chemotherapy and Pharmacology (2023) 91:97–102

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

Estensori

Tiziana Pia Latiano – Marcello Tiseo – Filippo Pietrantonio

Marzia Del Re – Emilio Clementi – Giuseppe Toffoli

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

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE

A cura del Gruppo di Lavoro di AIOM – SIF

AIOM

SIF SOCIETÀ ITALIANA DI FARMACOLOGIA

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE

RACCOMANDAZIONI 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 DPYD a tutti i pazienti candidati a trattamento con fluoropirimidine. Sulla base di considerazioni di ordine funzionale ed epidemiologico, il gruppo di lavoro raccomanda 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)*. Sulla base dei dati della letteratura, in caso di buona tolleranza al trattamento, si suggerisce una titolazione del dosaggio in presenza della variante c.1236GA/AA (*Cancer Chemotherapy and Pharmacology (2023) 91:97–102; European Journal of Cancer 107 (2019) 60e67; J Clin Oncol 41:5411-5421*).
Qualora 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:

a. 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";
b. 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.

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:

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

Il referto deve essere firmato del farmacologo clinico o, in sua assenza, dal direttore del laboratorio. 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:

a. strumentazione idonea per analisi di acidi nucleici da campioni biologici;
b. certificazione del laboratorio UNI EN ISO 9001:2015 e/o partecipazione periodica a controlli di qualità nazionali/internazionali
c. comprovata esperienza e competenza del personale per l'esecuzione e interpretazione del test.

RACCOMANDAZIONI 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 per UGT1A1 è altamente polimorfico, e può determinare capacità metaboliche variabili tra gli individui. Le varianti genetiche dell'UGT1A1 meglio caratterizzate sono UGT1A1*28 e UGT1A1*6. Queste varianti e altri difetti congeniti di espressione dell'UGT1A1 sono associati ad una ridotta espressione ed attività di questo enzima.
Al fine di prevenire reazioni avverse potenzialmente molto gravi, l'analisi farmacogenetica UGT1A1 è raccomandabile:

a. 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;
b. 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:

a. 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" specificando se si tratta di richiesta per analisi pre- o durante trattamento;
b. 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.

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 varianti del gene UGT1A1 oggetto di analisi sono la UGT1A1*28 (rs8175347) e la UGT1A1*6 (rs4148323). 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:

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

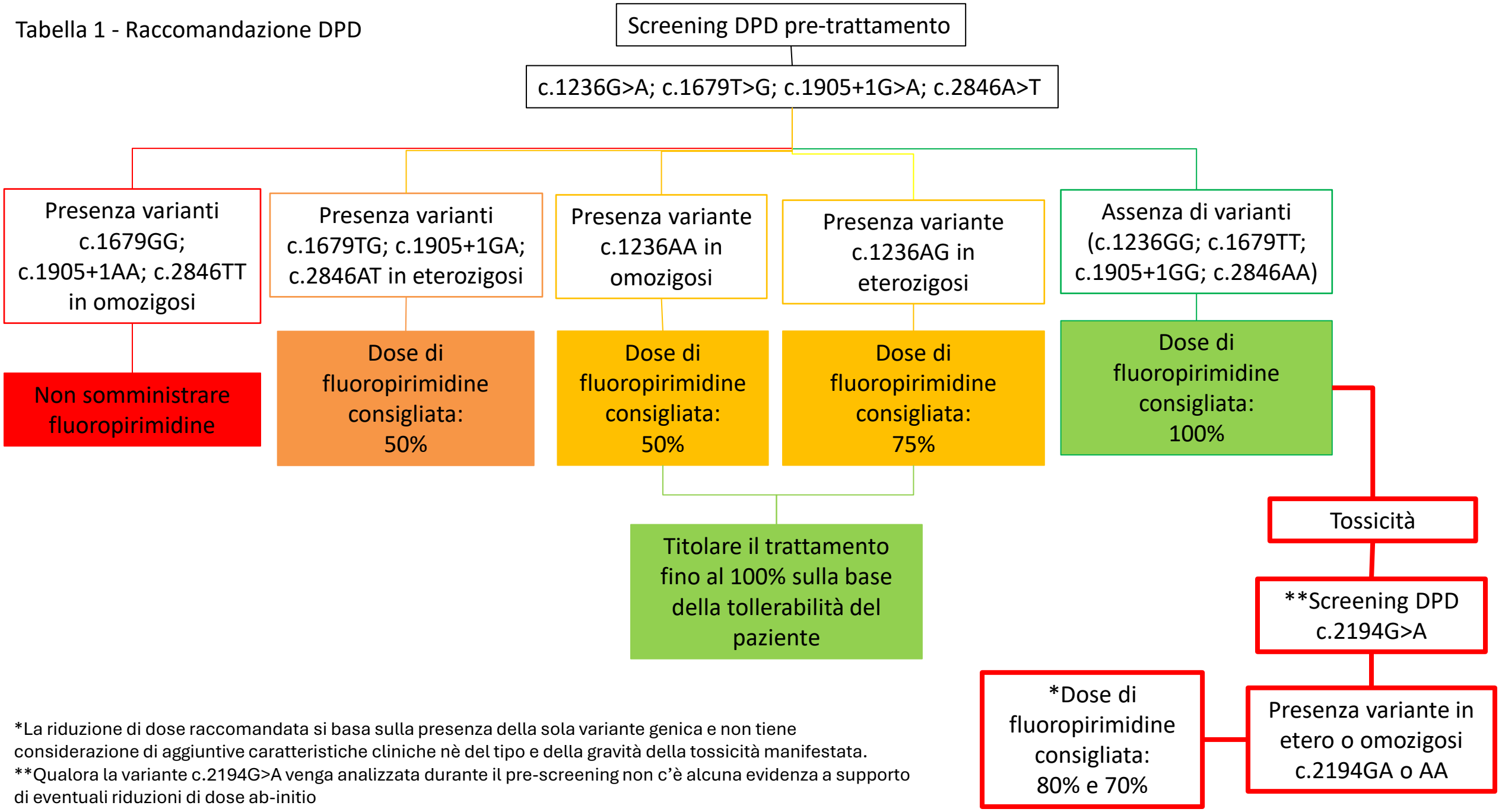
Il referto deve essere firmato dal farmacologo clinico o, in sua assenza, dal direttore del laboratorio. Sarà aggiunta una nota interpretativa al test comprendente la riduzione di dose suggerita con riferimento alla raccomandazione (Tabella 2).
La modifica della dose dovrà, inoltre, considerare anche 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:

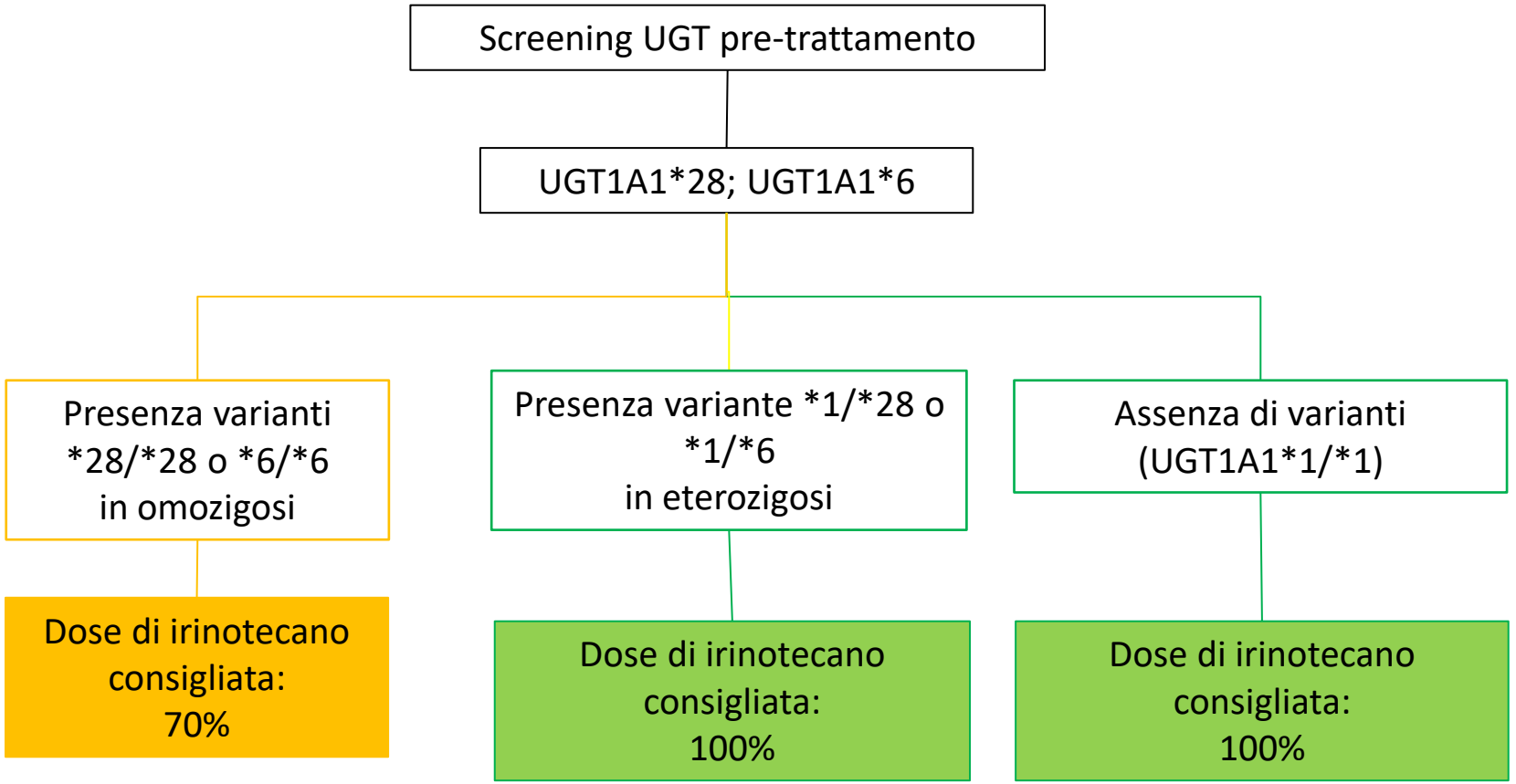
a. strumentazione idonea per analisi di acidi nucleici da campioni;
b. certificazione del laboratorio UNI EN ISO 9001:2015 e/o partecipazione periodica a controlli di qualità nazionali/internazionali
c. comprovata esperienza e competenza del personale per l'esecuzione e interpretazione del test.

Tabella 1 - Raccomandazione DPD



*La riduzione di dose raccomandata si basa sulla presenza della sola variante genica e non tiene considerazione di aggiuntive caratteristiche cliniche nè del tipo e della gravità della tossicità manifestata.
**Qualora la variante c.2194G>A venga analizzata durante il pre-screening non c'è alcuna evidenza a supporto di eventuali riduzioni di dose ab-initio

Tabella 2 - Raccomandazione UGT



**si raccomanda di richiedere consulenza farmacologica in presenza di genotipi composti o varianti non *28