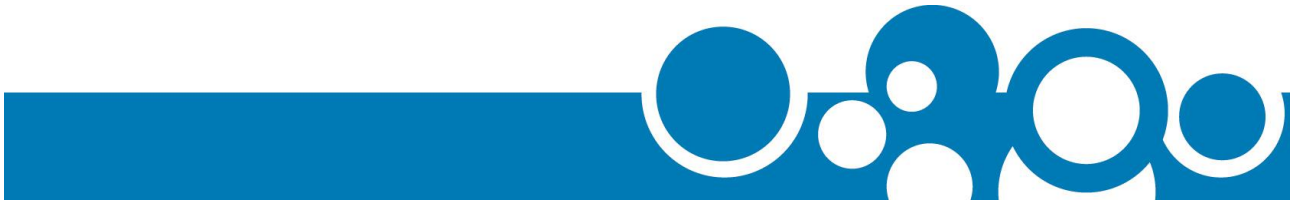
Raccomandazioni 2019
per analisi farmacogenetiche

Ottobre 2019

Associazione Italiana di Oncologia Medica

SOCIETÀ ITALIANA DI FARMACOLOGIA



A cura del Gruppo di lavoro AIOM - SIF

Stefania Gori, Giuseppe Aprile, Saverio Cinieri, Giuseppe Altavilla, Roberto Bordonaro, Marzia Del Re, Emilio Clementi, Giuseppe Toffoli

Ottobre 2019

RACCOMANDAZIONI PER ANALISI FARMACOGENETICHE *DPD E FLUOROPIRIMIDINE*

1. Indicazioni cliniche

Le fluoropirimidine (5-FU, capecitabina) 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'analisi farmacogenetica DPYD è raccomandabile:

a. prima della terapia con fluoropirimidine 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. L'analisi deve comprendere le 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)*.
b. Nei casi di tossicità gravi o inattese comparse durante la terapia con fluoropirimidine è consigliata l'analisi delle mutazioni c.1236G>A, c.1679T>G, c.1905+1G>A, c.2194G>A e c.2846A>T qualora il paziente non le abbia precedentemente eseguite *(JAMA Oncol 2016;2:655-62; Lancet Oncol 2018;19:1459-67; Pharmacogenomics J 2019 doi:10.1038/s41397-019-0077-1; 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" specificando se si tratta di richiesta per analisi pre- o durante trattamento;
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 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 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, da un esperto in farmacologia clinica e farmacogenetica, e dal responsabile dell'esecuzione dell'analisi. 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.
La variante c.2194G>A è associata a tossicità da fluoropirimidine prevalentemente ematologica e la sua valutazione è consigliata in caso di tossicità durante la terapia.
(JAMA Oncol 2016;2:655-62; Br J Cancer 2017;117:1269-77; Pharmacogenomics J 2019 doi:10.1038/s41397-019-0077-1; Br J Cancer 2019;120:834-9).

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.

Tabella 1 – *Raccomandazione DPD*

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

*Solo analisi per tossicità comparse durante il trattamento

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 (Cecchin E et al. 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:

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 pre-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). La variante del gene UGT1A1 oggetto di analisi è $(TA)_7TAA$ (UGT1A1*28, rs8175347). 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, da un esperto in farmacologia clinica e farmacogenetica, e dal responsabile dell'esecuzione dell'analisi. 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 2 – *Raccomandazione UGT*

Genotipo UGT1A1		**Dose di irinotecano consigliata**
Wild-type	6/6	100%
Eterozigote	6/7	100%
Omozigote mutato	7/7	70%

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 doi:10.1038/s41397-019-0077-1
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
http://www.pharmgkb.org/
http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm
http://www.mayomedicallaboratories.com/index.html

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.