

ABSTRACT

Introduzione: Le fluoropirimidine (FP) sono utilizzate nel trattamento dei tumori solidi e sono frequentemente associate a reazioni avverse (*Adverse Drug Reaction, ADR*) gravi. È raccomandata l'analisi di quattro polimorfismi (*Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs*) del gene DPYD (*DPYD*2A, DPYD*13, DPYD c.2846A>T e c.1129-5923C> G*) che sono associati allo sviluppo di tossicità anche letale da FP. Le Linee Guida del Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) e del Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) raccomandano di ridurre del 50% le dosi iniziali di FP negli eterozigoti e di somministrare farmaci alternativi negli omozigoti. Oltre alle varianti DPYD, sono stati proposti come fattori predittivi di tossicità da FP due SNPs nel gene codificante la MTHFR (*-C677T e -A1298C*) e uno SNP nella regione enhancer del gene codificante la TS (*TYMS-TSER*). La misurazione del rapporto plasmatico UH2/U e il Therapeutic Drug Monitoring (TDM) del 5FU possono essere esami fenotipici complementari alla genotipizzazione.

Obiettivi: Obiettivo primario è associare il programma di Oncovigilanza (raccolta delle ADR da FP) alla valutazione del valore predittivo di tossicità dei quattro SNPs DPYD raccomandati, dei due SNPs del gene MTHFR e di quello TYMS-TSER. Obiettivo secondario è analizzare il valore predittivo di tossicità delle analisi fenotipiche UH2/U e TDM.

Materiali e metodi: Soggetti in trattamento con FP sono stati reclutati da *Giugno 2017 a Gennaio 2020* presso l'UOC di Oncologia dell'AOU San Giovanni di Dio e Ruggi d'Aragona di Salerno e sono stati monitorati per almeno quattro cicli di terapia. Le ADR sono state classificate secondo i criteri (*Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTC-AE versione 5.0.*). Presso il Laboratorio di Farmacogenetica dell'UOC di Farmacologia Clinica è stato eseguito il test farmacogenetico per le varianti DPYD mediante *Real-time PCR* con discriminazione allelica, per gli SNPs MTHFR-C677T e -A1298C mediante pirosequenziamento e per la variante TYMS-TSER mediante PCR ed elettroforesi su gel di agarosio. Inoltre, presso il Laboratorio di Farmacocinetica della suddetta UOC, è stato misurato il rapporto plasmatico UH2/U mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) ed eseguito il TDM del 5FU mediante cromatografia liquida combinata con spettrometria di massa-tandem (UHPLC-MS/MS).

Risultati: Sono stati reclutati 150 pazienti (59% uomini e 41% donne, con un'età media di 64 anni) in trattamento con FP. Il carcinoma del colon era il più frequente (52,78%), seguito da quello gastrico e del retto. Le ADR di grado 3 e 4 maggiormente segnalate erano la neutropenia (13%) e diarrea (7%). I pazienti eterozigoti DPYD genotipizzati pretrattamento, dimezzata la dose iniziale di 5FU, non presentavano ADR gravi. Per MTHFR 1298, eterozigoti ed omozigoti registravano ADR gastrointestinali più severe rispetto ai wild-type (IC della differenza tra le medie al 95%: [-0,96; -0,13] p=0,0102). Per MTHFR 677, i pazienti con genotipo wild-type e omozigote presentavano gradi di tossicità più elevati rispetto agli eterozigoti (IC della differenza tra le medie al 95%: [-2,29; -0,75] p=0,0001 ADR ematologiche), (IC della differenza tra le medie al 95%: [-1,53; -0,76] p=0,0000 ADR gastrointestinali) e (IC della differenza tra le medie al 95%: [-1,58; -0,93] p=0,0000 ADR dermatologiche). Per TSER, i pazienti che manifestavano in media ADR più gravi erano quelli con genotipo 2R3R per le ADR neurologiche (IC della differenza tra le medie al 95%: [0,05; 0,44] p=0,0139) rispetto a quelli con genotipo 2R2R e 3R3R che, invece, avevano ADR gastrointestinali e dermatologiche più invalidanti (IC della differenza tra le medie al 95%: [-1,58; -0,85] p=0,0000) e (IC della differenza tra le medie al 95%: [-1,28; -0,58] p=0,0000). Per sei delle tossicità registrate (neutropenia, leucopenia, vomito, parestesia, disgeusia e mucosite) vi era evidenza di una relazione inversa tra i livelli di UH2/U e la gravità delle ADR (pazienti con valori del rapporto < 6 presentavano in media gradi di ADR più elevati).

Conclusioni: Questo studio sottolinea l'importanza di eseguire l'analisi farmacogenetica DPYD pretrattamento. I polimorfismi del gene MTHFR e TYM-TSER possono essere presi in considerazione come potenziali fattori predittivi di tossicità. Inoltre, un approccio combinato genotipizzazione/fenotipizzazione potrebbe essere un valido strumento per personalizzare la terapia con FP.

ABSTRACT

Introduction: Fluoropyridines (FP) are used in the treatment of solid tumors and are frequently associated with severe Adverse Drug Reactions (ADR). It is recommended to analyse four Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) of the DPYD gene (*DPYD*2A*, *DPYD*13*, *DPYD c.2846A>T* and *c.1129-5923C> G*) which are associated to the development of life-threatening FP-toxicity. The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) and the Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) Guidelines advise to reduce FP starting doses in heterozygotes by 50% and administer alternative drugs in homozygotes. Two SNPs of the MTHFR gene (*-C677T* and *-A1298C*) and another one in the enhancer region of the Thymidylate Synthetase gene (*TYM-TSER*) have been proposed as predictive factors of FP-toxicity. The UH2/U plasma ratio and the 5FU Therapeutic Drug Monitoring (TDM) can be complementary tests to the genotyping.

Objectives: The primary endpoint is the Oncovigilance action of FP-toxicity, and the analysis of the predictive toxicity value related to four DPYD, two MTHFR and another one TSER SNPs. The secondary endpoint is the evaluation of the predictive toxicity value of the UH2/U ratio and the TDM.

Materials and methods: The subjects treated with FP were recruited (June 2017-January 2020) at the Oncology Unit of San Giovanni di Dio and Ruggi d'Aragona Hospital in Salerno. ADRs have been classified according to the *Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTC-AE version 5.0*. DPYD variants were analysed by *Real-time PCR* with allelic discrimination, MTHFR-C677T and -A1298C by pyrosequencing and TYMS-TSER by PCR and agarose gel electrophoresis at the Pharmacogenetics Laboratory of the Clinical Pharmacology Unit. The UH2/U plasma ratio was evaluated by high performance liquid chromatography (HPLC) and the 5FU-TDM by high performance liquid chromatography combined with mass-tandem spectrometry (UHPLC-MS/MS) at the Pharmacokinetics Laboratory of the Clinical Pharmacology Unit.

Results: 150 patients treated with FP were enrolled (59% men, 41% women, average age 64 years). Colon cancer was the most frequent disease (52,78%), followed by gastric and rectal cancer. The most common grade 3 and 4 ADR was neutropenia (13%) and diarrhea (7%). Pre-treatment genotyping DPYD heterozygous patients, after the reduction of 50% 5FU starting dose, had no serious ADRs. Regarding to MTHFR 1298, heterozygous and homozygous patients registered more severe gastrointestinal ADR compared to wild-type (CI at 95% [-0,96; -0,13] p=0,0102). Furthermore, MTHFR 677 wild-type and homo patients showed higher toxicity degree than heterozygous ones (CI at 95%: [-2,29; -0,75] p= 0,0001 haematological ADR), (CI at 95%: [-1,53; -0,76] p= 0,0000 gastrointestinal ADR) and (CI at 95%: [-1,58; -0,93] p= 0,0000 dermatological ADR). Finally, about TSER, 2R3R patients had on average more serious neurological ADR (CI at 95%: [0,05; 0,44] p= 0,0139) compared to 2R2R and 3R3R patients which affected by gastrointestinal and dermatological more debilitating ADR (CI at 95%: [-1,58; -0,85] p= 0,0000) and (CI at 95%: [-1,28; -0,58] p= 0,0000). There was an evidence of an inverse relationship among UH2/U levels and severity degree of ADR regarding to six toxicities (neutropenia, leukopenia, vomiting, paraesthesia, dysgeusia and mucositis).

Conclusions: This study emphasizes the importance of the DPYD pharmacogenetic analysis in patients naïve. The MTHFR and TYM-TSER SNPs should be considered as potential toxicity predictors. A combined genotyping/phenotyping approach could be a valuable tool to personalize the FP therapy.