

## Approccio combinato tra il monitoraggio terapeutico del farmaco (TDM) e farmacogenetica per l'applicazione della medicina personalizzata nella pratica clinica

Raffaele Simeoli<sup>1</sup>, Sara Cairoli<sup>1</sup>, Dario Cocciadiferro<sup>2</sup>, Emanuele Agolini<sup>2</sup>, Marco Marano<sup>3</sup>, Laura Lancella<sup>4</sup>, Laura Cursi<sup>4</sup>, Alessia Vitale<sup>1</sup>, Giacomo Antonetti<sup>1</sup>, Valeria Ventura<sup>1</sup>, Bianca Maria Goffredo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio di Malattie Metaboliche e Biologia del Farmaco, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

<sup>2</sup>Laboratorio di Genetica medica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

<sup>3</sup>Centro Antiveleni Pediatrico, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

<sup>4</sup>Malattie Infettive ad alta complessità, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

*Questo lavoro è stato in parte presentato al 53° Congresso SIBioC 11-13 Ottobre 2021, Virtual Edition, nella sessione Casi clinici*

### ABSTRACT

#### Combined approach of TDM and pharmacogenetics for application of personalized medicine in the clinical practice.

Therapeutic Drug Monitoring (TDM) can be defined as the assessing of the adequacy of the drug plasma concentrations to a target concentration or to a concentration window at a specific time in a dosing interval. Following appropriate clinical interpretation and according to the drug pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) properties, this evaluation can guide dosing optimization. However, finding the optimal dosing in order to guarantee a therapeutic exposure remains complicated. Sources of PK variability, including age, genetic heritage, and disease conditions, influence the chances of achieving adequate therapeutic outcomes. Another important aspect related to drug efficacy and safety is the Pharmacogenetics (PGx). Genetic variants or single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes encoding for metabolizing enzymes and membrane carriers, may affect drug response and/or toxicity. A combination of TDM and PGx could represent a personalized approach in clinical practice especially for off-label drugs used in polytherapy and characterized by a narrow therapeutic index. TDM combined to PGx represents an useful tool that could help clinicians in tailoring pharmacological therapies. We present here three case reports related to pediatric patients who have shown adverse drug reactions in response to therapies with phenytoin (PHT), voriconazole (VO) and isoniazid (INH).

**Parole chiave:** medicina personalizzata, farmacogenetica, TDM

### CASO 1

Un paziente di 5 anni con regolare sviluppo psicomotorio è stato condotto presso l'Ospedale della propria città di appartenenza con un severo trauma cranico caratterizzato da vomito e sonnolenza. Il paziente, valutato secondo la Glasgow Coma Scale, ha ricevuto un punteggio di 7. È stato quindi sedato, intubato e trasferito presso la Terapia Intensiva dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma. Dopo una TAC cerebrale, con esito negativo per emorragie e fratture, si è iniziata una terapia endovena con fenitoina (PHT) alla dose di 5 mg/kg, 2 volte al giorno come agente neuroprotettivo per i primi 5 giorni. La pressione intracranica e i segni vitali sono rimasti nella norma e stabili, senza evidenza di deficit

neurologici. Al quinto giorno il paziente era incosciente e la determinazione della PHT plasmatica era pari a 26,78 µg/mL (intervallo terapeutico plasmatico 10-20 µg/mL, con valore di tossicità >25 µg/mL) (1). Per questo motivo si è deciso di sospendere la somministrazione del farmaco. Non si è osservata nessuna alterazione del riflesso del tronco encefalico, eccetto il nistagmo orizzontale. Nei giorni successivi, nonostante la blanda sedazione, il paziente è rimasto incosciente mentre i livelli di PHT risultavano ancora superiori all'intervallo terapeutico. Nel sospetto di un accumulo del farmaco dovuto ad una potenziale interazione farmaco-metabolica, si è deciso di sospendere la concomitante somministrazione di omeprazolo che veniva assunto come gastroprotettore. In seguito a questa decisione, le condizioni cliniche

Corrispondenza a: Sara Cairoli, Laboratorio di Malattie Metaboliche e Biologia del Farmaco, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma; Email: sara.cairoli@opbg.net

Ricevuto: 18.05.2022

Revisionato: 09.06.2022

Accettato: 22.06.2022

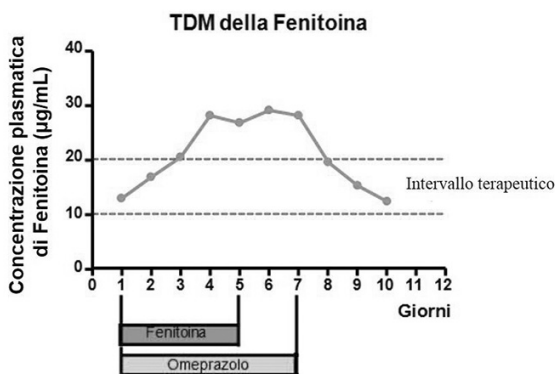
Publicato on-line: 06.07.2022

DOI: 10.19186/BC\_2022.045

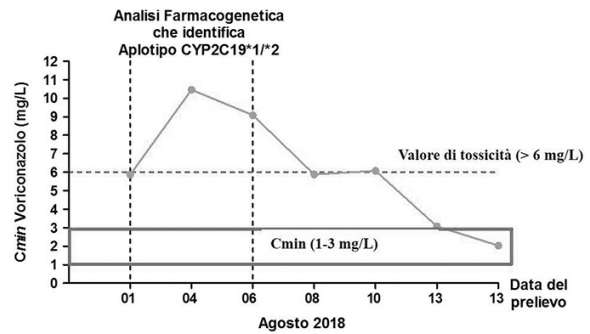
e neurologiche sono migliorate progressivamente e le concentrazioni plasmatiche di PHT si sono ridotte significativamente (Figura 1). Successivamente, sono state avviate indagini di farmacogenomica

**CASO 2**

Un paziente di 5 anni è stato ricoverato presso il reparto di Malattie Infettive dell’Ospedale Pediatrico Bambino Gesù per il trattamento di un ascesso epatico causato da malattia granulomatosa cronica correlata a malattia di Crohn. Durante il ricovero il paziente era febbrile (>38,5°C) e si è iniziata una terapia antibiotica con Meropenem e Linezolid. Successivamente a un’ecografia addominale è stata evidenziata una lesione epatica a livello del VII segmento; dopo biopsia epatica, la lesione è stata esaminata microbiologicamente e diagnosticata un’infezione da *Aspergillus fumigatus*. Si è iniziata dunque una terapia con voriconazolo (VO) e caspofungina. Durante la terapia antifungina, le concentrazioni plasmatiche di VO sono state monitorate periodicamente. In concomitanza alla comparsa di nausea e altri sintomi gastrointestinali, la concentrazione plasmatica di VO [misurata prima della successiva somministrazione del farmaco, ovvero alla concentrazione ematica minima di farmaco necessaria per avere un effetto terapeutico (Cmin)], è risultata 10,46 mg/L (intervallo terapeutico per Cmin 1-3 µg/mL, valore di tossicità >6 mg/L) (2). L’elettrocardiogramma mostrava tachicardia sinusale con frequenza cardiaca di 170 bpm ed alterazioni aspecifiche in fase di ripolarizzazione, mentre il QT rimaneva nei limiti. Alla luce degli evidenti effetti indesiderati, veniva ridotta la dose di VO, ma i livelli plasmatici rimanevano al di sopra del valore di tossicità (>6 mg/L) (Figura 2). Dal momento che il VO viene metabolizzato dal citocromo P450 (isoenzimi CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19), la cui attività è caratterizzata da una elevata variabilità inter-individuale, sono stati sospettati difetti genetici nel metabolismo di questo farmaco ed è stata avviata un’indagine farmacogenetica.



**Figura 1**  
Caso 1. Therapeutic drug monitoring (TDM) della fenitoina. Concentrazioni plasmatiche di fenitoina durante i giorni di trattamento e dopo sospensione di omeprazolo.



**Figura 2**  
Caso 2. Therapeutic drug monitoring (TDM) del voriconazolo. Concentrazioni plasmatiche di voriconazolo durante il trattamento con antifungino. Le linee continue indicano i valori di riferimento per la concentrazione minima di Voriconazolo tale da avere un effetto terapeutico (Cmin).

**CASO 3**

Una paziente di 14 anni è stata ricoverata presso il reparto di Malattie Infettive dell’Ospedale Pediatrico Bambino Gesù per tubercolosi linfonodale. All’ingresso l’esame obiettivo mostrava linfadenopatia bilaterale a livello angolomandibolare e laterocervicale. È stata dunque introdotta una terapia antitubercolare con isoniazide (INH), rifampicina e pirazinamide. Sette giorni dopo l’inizio della terapia antitubercolare, venivano segnalati vomito, nausea e valori elevati di transaminasi con aspartato-aminotrasferasi (AST) 165 U/L (v.r. <50 U/L) e alanino-aminotrasferasi (ALT) 184 U/L (v.r. <50 U/L). Si è deciso quindi di ridurre i dosaggi di INH e rifampicina e di effettuare un’ecografia addominale. L’indagine ecografica ha rilevato dimensioni epatiche entro i limiti con ecostruttura leggermente disomogenea ma senza alterazioni strutturali focali. Nel frattempo, in seguito ad un ulteriore aumento degli enzimi epatici (ALT 403 U/L e AST 295 U/L) e dell’acido urico, è stato sospeso il trattamento con rifampicina e si iniziata una terapia con allopurinolo. Dopo 30 giorni di trattamento la paziente presentava nuovamente vomito, dolori addominali e alterazione dei livelli di enzimi epatici con valori di ALT 417 U/L, AST 1390 U/L, gamma-glutaminttrasferasi (GGT) 91 U/L (v.r. 6-29 U/L). Nel sospetto di una reazione avversa all’INH si è proceduto alla misurazione delle concentrazioni plasmatiche del farmaco. La concentrazione plasmatica di INH era di 12,73 µg/mL (intervallo di riferimento per Cmin 3-6 µg/mL; valore di tossicità >12,73 µg/mL) (3). Si decideva quindi di sospendere il trattamento con INH. Dal momento che il metabolismo di questo farmaco è legato alla capacità individuale di acetilazione, che è determinata geneticamente, venivano avviate indagini farmacogenetiche.

## DISCUSSIONE

I pazienti pediatrici tendono a metabolizzare i farmaci in modo diverso rispetto alla popolazione adulta, in termini di tempo ed di enzimi coinvolti. Questo aspetto deve essere tenuto in considerazione per la determinazione del regime posologico; pertanto il monitoraggio dei livelli plasmatici dei farmaci (TDM) è particolarmente utile. Il citocromo epatico CYP 450 è maggiormente coinvolto nel metabolismo dei farmaci, le sue isoforme CYP2C9 e CYP2C19 sono enzimi particolarmente suscettibili all'azione inibitoria di diversi farmaci dando luogo a fenomeni di interazioni di tipo farmacocinetico in fase metabolica (4). L'inibizione del metabolismo della PHT ad esempio, può produrre aumenti significativi delle sue concentrazioni plasmatiche aumentando il rischio di fenomeni di tossicità. L'omeprazolo ha un'azione inibitoria sul CYP2C19, per cui durante l'utilizzo in politerapia, bisogna considerare la sua potenziale interazione con farmaci metabolizzati da questa isoforma del CYP450. In aggiunta, omeprazolo inibisce l'idrossilazione aromatica della PHT e ne modifica la cinetica, aumentandone le concentrazioni plasmatiche (5). Nel Caso 1, grazie al TDM della PHT, è stato possibile monitorarne le concentrazioni plasmatiche e, in presenza di valori al di sopra della soglia di tossicità (>25 µg/mL), è stato sospeso omeprazolo in quanto responsabile di un'interazione farmacocinetica che ha causato l'aumento dei livelli plasmatici di PHT. I polimorfismi a carico dei citocromi possono portare a proteine difettose o enzimi inattivi, mentre il tasso di eliminazione del farmaco dipende dall'attività metabolica dell'enzima (6). In caso di mancata capacità di metabolizzare i farmaci si parla di individui "metabolizzatori lenti"; al contrario i "metabolizzatori veloci" sono individui nei quali polimorfismi a carico dei citocromi possono portare a metabolizzare il farmaco più velocemente, mentre in caso di eterozigotità si parla di "metabolizzatori intermedi" (7). Nel Caso 2, le elevate concentrazioni di VO erano responsabili dell'insorgenza di effetti indesiderati, tuttavia la riduzione della dose non aveva portato ad una riduzione delle concentrazioni plasmatiche del farmaco. Il VO è un agente antimicotico triazolico ad ampio spettro indicato nel trattamento sistemico dell'aspergillosi. Nei pazienti in trattamento con VO, è fortemente consigliato eseguire il TDM del VO oltre che monitorare attentamente la tossicità epatica. Infatti, specialmente nella popolazione pediatrica, è stata osservata un'alta incidenza di aumento degli enzimi epatici (8).

Al fine di esplorare la componente farmaco genetica, per tutti i Casi presentati, è stata avviata un'analisi dei single nucleotide polymorphisms (SNPs), tramite tecniche di Next Generation Sequencing (NGS). Nel Caso 1 è stata rilevata una variante omozigote c.1075A>C (p.Ile359Leu) in CYP2C9, corrispondente al CYP2C9\*3 allele, classificando il paziente come "metabolizzatore lento". Per cui, dal momento che la velocità di metabolizzare il farmaco era ridotta, si è avuto un aumento delle concentrazioni plasmatiche del farmaco stesso. I risultati ottenuti dalle indagini di laboratorio

hanno confermato la presenza di elevati livelli plasmatici di PHT secondari sia ad un'interazione farmaco-farmaco (PHT e omeprazolo) che ad un difetto genetico; tali livelli sono stati poi responsabili di una reazione avversa da farmaco che si è manifestata con disordini neurologici.

Il CYP2C19 è responsabile del metabolismo del VO; nel Caso 2 sono stati analizzati gli SNPs per il gene codificante il CYP2C19 rilevando la variante NM\_000769.2 (CYP2C19): c.681G>A; p.Pro227Pro, che si identifica con l'aplotipo CYP2C19\*1/\*2. Questa variante classifica quindi il paziente come "metabolizzatore intermedio", giustificando l'accumulo del farmaco anche in seguito alla riduzione della dose. La dose di VO è stata dunque ulteriormente ridotta del 25-50% e le concentrazioni plasmatiche sono rientrate all'interno dell'intervallo terapeutico (C<sub>min</sub> 1-3 µg/mL).

Nel Caso 3 è stato affrontato il problema relativo all'epatotossicità in corso di terapia antitubercolare; il metabolismo dell'INH coinvolge l'enzima N-acetil trasferasi 2 (NAT-2), che è un enzima espresso prevalentemente nel fegato e nel tratto gastrointestinale. NAT-2 è un enzima altamente polimorfico, di cui sono state identificate e classificate numerose varianti genetiche. I polimorfismi che influenzano l'attività dell'enzima danno tre diversi fenotipi: acetilatori rapidi, intermedi e lenti. Le indagini farmacogenetiche in questo caso, avviate per valutare la capacità di acetilazione della paziente, hanno identificato un aplotipo NAT2\*5C/\*6B, che ha classificato la paziente come "metabolizzatore lento". Gli individui acetilatori lenti hanno una capacità ridotta di metabolizzare il farmaco rispetto agli acetilatori rapidi o intermedi. Gli acetilatori lenti possono perciò sviluppare epatotossicità a causa dell'accumulo di farmaco. Alla luce dei risultati di laboratorio, non vi erano indicazioni a re-introdurre l'INH, dunque dopo miglioramento del quadro epatico è stata re-introdotta la terapia antitubercolare con rifampicina, pirazinamide ed etambutolo.

I Casi presentati consentono di evidenziare come la combinazione di TDM e farmacogenetica possa rappresentare un approccio personalizzato nella pratica clinica per farmaci utilizzati in politerapia e con ristretti indici terapeutici. Avere a disposizione questo tipo di strumenti (TDM e analisi SNPs) permette di aiutare i clinici nel personalizzare la terapia e migliorare l'outcome clinico dei pazienti: il contributo del laboratorio clinico si rivela ancora una volta della massima rilevanza.

## CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

## BIBLIOGRAFIA

1. Marano M, Nicoletti F, Pro S, et al. Phenytoin intoxication associated with omeprazole administration in a child with defective CYP2C9. *Eur J Clin Pharmacol* 2020;76:731-2.
2. Yuki H, Yukihiro H, Toshimi K et al. Optimal trough concentration of voriconazole with therapeutic drug monitoring in children: A systematic review and meta analysis. *J Infect Chemother* 2021;27:151-60.

3. Cocciadiferro D, Cursi L, Cairoli S, et al. A case report of isoniazid adverse drug reaction in a pediatric patient with defective NAT2 gene. *Med Case Rep Study Protoc* 2021;2:2.
4. Silvado CE, Terra VC, Twardowschy C. ACYP2C19 polymorphisms in epilepsy: influence on phenytoin treatment. *Pharmgenomics Pers Med* 2018;11:51-8.
5. Wedemeyer RS, Blume H. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors: an update. *Drug Saf* 2014;37:201-11.
6. Chamorro J, Castagnino J, Musella R et al. Sex, ethnicity, and slow acetylator profile are the major causes of hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28:323-8.
7. Obeng AO, Egelund E, Alsultan A et al. CYP2C19 polymorphisms and therapeutic drug monitoring of voriconazole: are we ready for clinical implementation of Pharmacogenomics? *Pharmacotherapy* 2014;34:703-18.
8. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vfend-epar-product-information\\_it.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vfend-epar-product-information_it.pdf) (Ultimo accesso: maggio 2022).