

Dépistage du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de 5FU (fluorouracile®) ou de capécitabine (Xéloda®)

I- Problématique

- Le 5FU et son analogue, la capécitabine (prodrogue utilisée sous forme orale) sont deux fluoropyrimidines largement prescrites dans la prise en charge thérapeutique d'un grand nombre de tumeurs solides (cancers digestifs, sein, ORL).
- En France, on estime qu'environ 100 000 nouveaux patients par an reçoivent une fluoropyrimidine dans le cadre de leur traitement anticancéreux (Source INCa 2012).
- Le 5FU et la capécitabine induisent des toxicités sévères de grade 3-4 chez 10% à 30% des patients et des toxicités létales chez 0,3 à 2% des patients, selon les protocoles (Tsalic 2003).
- La clairance d'élimination du 5FU est majoritairement sous la dépendance d'une enzyme, la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) qui transforme le 5FU en dihydro-5FU inactif. On estime qu'après administration de 5FU, 90% de la dose sont dégradés au niveau hépatique par la DPD.
- L'activité DPD est extrêmement variable. Cette variabilité inter-individuelle s'explique en partie par des facteurs génétiques. Ainsi, toute diminution importante de l'activité DPD va se traduire, chez un patient recevant une dose standard de fluoropyrimidine, par un surdosage pouvant entraîner des toxicités, notamment hématologiques et digestives. Si les déficits complets en DPD sont relativement rares (0,1 à 0,5% dans la population générale), les déficits partiels sont retrouvés chez 3% à 10% des patients, selon les études publiées sur des populations Caucasiennes.
- Le déficit en DPD d'origine génétique est, depuis 30 ans, identifié comme un facteur de risque de toxicités potentiellement mortelles chez un patient déficitaire traité par 5FU à dose standard (Tuchman 1985). Le déficit en DPD a également été associé à un risque de surtoxicités sévères ou mortelles sous capécitabine (Mercier 2007).
- En France, le Résumé des Caractéristiques du Produit de la capécitabine inclut une contre-indication « en cas de déficit connu en DPD », et celle du 5FU mentionne une mise en garde en cas de déficit en DPD, sans expliciter comment le statut déficitaire doit être recherché.
- A ce jour, il n'existe pas de recommandation formelle émanant de sociétés savantes médicales sur le dépistage du déficit en DPD chez les patients devant recevoir un traitement à base de fluoropyrimidines. Des recommandations ont cependant été publiées par des sociétés savantes de pharmacologie (Swen 2011, Caudle 2013, Henricks 2015).
- Il n'existe pas de recommandation de la part des autorités sanitaires et réglementaires au niveau national ou européen. Le gène DPYD est toutefois listé par la F.D.A. nord-américaine comme un biomarqueur validé pour la capécitabine et le 5FU (*Table of Pharmacogenomic Biomarkers in Drug Labeling*, FDA website).
- Une récente étude hollandaise a validé cliniquement les recommandations d'adaptation des fluoropyrimidines en fonction du génotype du variant *2A et a également montré l'intérêt médico-économique du dépistage pré-thérapeutique de ce variant (Deenen 2015).

II- Recommandations du groupe GPCO-Uncancer et du RNPGx

Sur la base des éléments bibliographiques et des pratiques actuelles développées en France (voir Annexe jointe), le groupe GPCO-Uncancer et le réseau RNPGx préconisent les recommandations suivantes pour assurer la sécurisation des traitements anticancéreux à base de fluoropyrimidines :

1. Effectuer un dépistage du déficit en DPD avant la mise en route d'un traitement à base de 5FU ou de capécitabine, tout particulièrement chez les patients à risque élevé de toxicité (protocoles utilisant l'administration de bolus ou de fortes doses, toxicité aux fluoropyrimidines rapportée chez un membre de la famille, comorbidités ou fragilité particulière) ou en situation adjuvante. La présence à proximité d'un laboratoire effectuant le test est clairement en faveur d'une recherche systématique du déficit en DPD, quelle que soit l'approche méthodologique utilisée.
2. L'analyse du phénotype DPD par le dosage du dihydrouracile et de l'uracile plasmatique (calcul du rapport dihydro-uracile/uracile) et/ou la recherche des 3 variants *2A, D949V, I560S sur le gène *DPYD* sont les stratégies recommandées par le GPCO-Uncancer et par le RNPGx en raison de leur complémentarité sur les aspects de spécificité et sensibilité, ainsi que de leur facilité d'accès et de réalisation analytique. Ces techniques de screening présentent des caractéristiques techniques les rendant aisément implantables dans un maximum de laboratoires de biologie médicale dans la perspective d'une généralisation du dépistage du déficit en DPD chez tous les patients éligibles pour une chimiothérapie à base de 5FU ou de capécitabine.
3. En cas de déficit total (patient avec un phénotype de métaboliseur nul ou patient porteur de 2 allèles mutés parmi les variants *2A, D949V, I560S), une contre-indication de la fluoropyrimidine est préconisée.
4. En cas de déficit partiel (patient avec un phénotype partiellement déficient ou patient hétérozygote porteur d'un allèle *2A, D949V, ou I560S), une réduction de posologie de 25 à 50% doit être proposée à la première cure, en fonction des autres paramètres cliniques (âge, état général, comorbidités, protocoles suivis). Lorsque ce déficit est objectivé par une approche phénotypique, la réduction de dose doit également être discutée en fonction de la profondeur du déficit. Pour les cures suivantes, un ajustement progressif de la dose en fonction de la tolérance doit être envisagé.

III- ANNEXES

1) Approches de dépistage du déficit en DPD et performance des tests

- L'enzyme DPD est codée par un gène (*DPYD*) notoirement polymorphe, plusieurs centaines de mutations ayant été décrites jusqu'à présent. Parmi elles, seule une minorité de mutations, peu fréquentes, est associée à un déficit enzymatique en DPD pouvant expliquer la survenue de toxicités précoces sévères sous fluoropyrimidines (Offer 2014).
- A ce jour, 3 mutations consensuelles (variants *2A (c.1905+1G>A), D949V (c.2846A>T) et I560S) sont reconnues comme significativement associées à un risque de surtoxicité sous fluoropyrimidines (Caudle 2013). Dans l'étude la plus complète réalisée à ce jour (2594 cancers colorectaux évaluables), les auteurs ont conclu que la présence d'un allèle muté *DPYD**2A ou D949V était prédictive de la toxicité sous 5FU (Lee 2014). L'influence des variants*2A, D949V, I560S et HapB3 (pris individuellement) sur la toxicité sévère liée aux fluoropyrimidines a été confirmée dans deux méta-analyses (Terrazino 2013, Meulendijks 2015), bien que l'influence de HapB3 n'ait pas été confirmée dans une large étude monocentrique récente conduite sur 1228 patients (Lee 2016).
- Seuls 4 à 5% des Caucasiens sont porteurs d'une des 3 mutations consensuelles. En conséquence, la sensibilité d'un dépistage du déficit en DPD basé sur ces 3 mutations reste peu élevée (entre 5% et 40% des patients avec toxicité grade 3-4 portent une des 3 mutations). Le fait de ne pas être porteur d'une mutation ne garantit donc pas une bonne tolérance. En revanche, la spécificité du dépistage par une approche de génotypage est très élevée, >90% (Boisdron-Celle 2007, Saif 2013, Milano 2013, Lee 2014).
- Parallèlement au génotypage, différentes approches fonctionnelles de phénotypage de la DPD ont été développées: dosage de l'activité DPD lymphocytaire (Etienne 1994), dosage du rapport métabolique dihydrouracile/uracile (UH2/U) physiologique dans le plasma (Boisdron-Celle 2007, Ciccolini 2010, Coudoré 2012, Thomas 2016), dosage de l'uracile plasmatique seul (Meulendijks 2016), ou tests basés sur l'ingestion d'une dose-test d'uracile et mesure du ratio UH2/U (Carlsson 2014, Van Staveren 2016).
- L'approche phénotypique la plus fréquemment utilisée en France aujourd'hui est la mesure du rapport UH2/U plasmatique, en raison de sa relative simplicité par rapport à la mesure de l'activité DPD au niveau lymphocytaire. Sur la base de cette approche, une étude rétrospective française conduite chez des patients ayant présenté des toxicités sévères ou létales sous 5FU ou capécitabine a montré que 71% des toxicités sévères (57/80) et 80% des décès toxiques (4/5) étaient associés à un déficit en DPD identifiés par le rapport UH2/U, alors que la recherche limitée au variant *DPYD* *2A ne permettait pas de retrouver ce résultat. Le design de l'étude n'a toutefois pas permis d'évaluer la spécificité de cette approche (Ciccolini 2006). Une étude prospective du groupe GPCO conduite chez 286 patientes avec cancer du sein métastatique a montré que l'uracilémie plasmatique était prédictive de la toxicité sévère à la capécitabine (Milano 2013).
- Une alternative aux approches précédentes est d'administrer une dose test de 5FU (dose réduite) et de calculer les paramètres pharmacocinétiques individuels permettant d'identifier les patients déficitaires et d'ajuster la dose thérapeutique (Gamelin 2008, Bocci G 2006).

- Au total, les performances des approches de phénotypage de la DPD sont peu documentées (aucune méta-analyse dans la littérature), de même que les approches combinant phénotypage et génotypage. Il n'existe pas actuellement de consensus national ou international sur la stratégie optimale du dépistage du déficit en DPD (phénotypage et/ou génotypage, nature du phénotypage, suivi thérapeutique pharmacologique). Un programme de recherche national « FUSAFE » financé par l'INCa (PHRC 2014) coordonné par le GPCO-Unicancer et le Réseau National de Pharmacogénétique (RNPGx), visant notamment à clarifier les performances des différentes stratégies actuelles de dépistage du déficit en DPD à travers des méta-analyses sur données individuelles, est actuellement en cours (25 études sélectionnées totalisant plus de 10 000 patients).

2) Le dépistage du déficit en DPD en pratique en France

- Le programme national FUSAFE, à travers une enquête nationale de recensement des pratiques, permettra entre autre de faire un état des lieux exhaustif des laboratoires français proposant ces tests.
- De nombreux centres hospitalo-universitaires et centres anticancéreux français proposent et réalisent depuis plusieurs années le dépistage pré-thérapeutique du déficit en DPD. A ce jour, une douzaine de laboratoires publics répartis sur le territoire national réalisent ainsi la recherche du déficit en DPD, soit prospectivement avant l'initiation du traitement, soit en cas de survenue d'effets secondaires graves sous fluoropyrimidines. Le rendu du résultat se fait entre 4 et 15 jours, selon les centres.
- Le génotypage de la *DPYD* est soumis aux contraintes définies par la DGOS pour la réalisation d'un test génétique : agrément par l'Agence de la Biomédecine du laboratoire et des praticiens réalisant le test, accord signé du patient (consentement spécifique pour analyse génétique constitutionnelle). Cette analyse sur prélèvement sanguin peut être réalisée par n'importe quelle technique de biologie moléculaire conventionnelle. Le coût d'un génotypage (mutations consensuelles en première intention) par patient s'élève à 110 euros (BHN 410). En deuxième intention, un nombre limité de laboratoires français propose une recherche exhaustive des altérations de l'ensemble du gène *DPYD*
- Le phénotypage est essentiellement réalisé en France par le dosage plasmatique du rapport UH2/U. Cette analyse peut être réalisée dans tout laboratoire de biologie médicale disposant d'équipement HPLC ou UPLC (avec détection UV ou MS/MS). Le coût de ce phénotypage est de 40 euros (BHN 150).
- Le suivi thérapeutique pharmacologique du 5FU (dosage plasmatique du 5FU) peut être réalisé par une technique chromatographique (HPLC ou UPLC avec détection UV ou MS/MS) ou encore par une technique d'immunodosage récemment commercialisée et plus adaptée à une routine hospitalière. Le coût d'un tel dosage s'élève à 35 euros (B 150).
- Les stratégies décrites dans la littérature (génotypage, phénotypage) sont entièrement libres de droit et peuvent être implantées dans tout laboratoire disposant des agréments nécessaires.

3) Déficit en DPD et propositions d'adaptation des doses de fluoropyrimidines

- Il est admis que l'existence d'un déficit en DPD chez un patient, indépendamment de la stratégie utilisée pour le mettre en évidence (génotypage, phénotypage, test-dose), doit s'accompagner d'une réduction de posologie pour le 5FU ou la capécitabine.
- Des propositions de réduction de dose des fluoropyrimidines en fonction du génotype *DPYD*, incluant les 3 variants *2A, D949V et I560S, ont été émises par le groupe de travail en pharmacogénétique de la Royal Dutch Association for the Advancement of Pharmacy en 2011 (Swen 2011) ainsi que par le Consortium International pour l'implantation de la pharmacogénétique en pratique clinique (CPIC) en 2013 (Caudle 2013). Ces propositions préconisent une contre-indication formelle du 5FU ou de la capécitabine chez les patients présentant un génotype *DPYD* homozygote muté (déficit complet), et l'administration d'une dose réduite de 50% chez les patients porteurs d'un seul variant délétère (génotype hétérozygote, déficit partiel en activité enzymatique) suivi d'une augmentation progressive de la posologie en fonction de la tolérance.
- Le même groupe de travail hollandais (Henricks 2015) a récemment mis à jour ses recommandations en proposant un score d'activité DPD basé sur le génotypage des 3 variants consensuels, plus l'Haplotype B3, et en proposant 5 niveaux de recommandation en fonction de ce score (100% dose, 75% dose, 50% dose, 25% dose, contre-indication). Ce score n'a cependant pas encore fait l'objet d'une validation clinique prospective.
- A ce jour, une seule étude clinique prospective a validé l'adaptation de dose guidée par le génotypage du variant *2A ($\geq 50\%$ de réduction chez patients hétérozygotes) au plan de la tolérance (Deenen 2016). Dans cette étude, seuls 4 patients sur les 18 patients hétérozygotes ayant reçu une dose réduite, étaient évaluable pour la réponse.
- En France, deux études prospectives monocentriques chez des patients atteints de cancers ORL (Yang 2011) et digestifs (Launay 2015) ont montré qu'une réduction de posologie du 5FU sur la base d'un abaque géométrique par rapport à la valeur du ratio UH2/U permettait de réduire l'incidence des toxicités chimio-induites par ce médicament, tout en maintenant une efficacité comparable à celle observée chez les patients non déficitaires traités par une posologie standard en 5FU.

IV- Références

- Bocci G, Barbara C, Vannozzi F, Di Paolo A, Melosi A, Barsanti G, Allegrini G, Falcone A, Del Tacca M, Danesi R. A pharmacokinetic-based test to prevent severe 5-fluorouracil toxicity. *ClinPharmacolTher.* 2006 Oct;80(4):384-95.
- Boisdron-Celle M, Remaud G, Traore S, Poirier AL, Gamelin L, Morel A, et al. 5-Fluorouracil-related severe toxicity: a comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Cancer Lett.* 2007;249(2):271-82.
- Carlsson G, Odin E, Gustavsson B, Wettergren Y. Pretherapeutic uracil and dihydrouracil levels in saliva of colorectal cancer patients are associated with toxicity during adjuvant 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Cancer ChemotherPharmacol.* 2014 Oct;74(4):757-63
- Caudle KE, Thorn CF, Klein TE, Swen JJ, McLeod HL, Diasio RB, Schwab M. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *ClinPharmacolTher.* 2013 Dec;94(6):640-5.
- Ciccolini J, Mercier C, Evrard A, Dahan L, Boyer JC, Duffaud F, Richard K, Blanquicett C, Milano G, Blesius A, Durand A, Seitz JF, Favre R, Lacarelle B. A rapid and inexpensive method for anticipating severe toxicity to fluorouracil and fluorouracil-based chemotherapy. *Ther Drug Monit.* 2006 Oct;28(5):678-85.
- Ciccolini J, Gross E, Dahan L, Lacarelle B, Mercier C. Routine dihydropyrimidine dehydrogenase testing for anticipating 5-fluorouracil-related severe toxicities: hype or hope? *Clin Colorectal Cancer.* 2010 Oct;9(4):224-8.
- Coudoré F, Roche D, Lefeuvre S, Faussoit D, Billaud EM, Lorient M-A, et al. Validation of an Ultra-High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometric Method for Quantifying Uracil and 5,6-Dihydrouracil in Human Plasma. *J Chromatogr Sci.* 2012;50(10):877-84.
- eenen MJ, Meulendijks D, Cats A, Sechterberger MK, Severens JL, Boot H, Smits PH, Rosing H, Mandigers CM, Soesan M, Beijnen JH, Schellens JH. Upfront Genotyping of DPYD*2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *J Clin Oncol.* 2016 Jan 20;34(3):227-34.
- Etienne MC, Lagrange JL, Dassonville O, Fleming R, Thyss A, Renée N, Schneider M, Demard F, Milano G. Population study of dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer patients. *J Clin Oncol.* 1994 Nov;12(11):2248-53.
- FDA website: <http://www.fda.gov/drugs/scienceresearch/researchareas/pharmacogenetics/ucm083378.htm>
- Gamelin E, Delva R, Jacob J, Merrouche Y, Raoul JL, Pezet D, Dorval E, Piot G, Morel A, Boisdron-Celle M. Individual fluorouracil dose adjustment based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional dosage: results of a multicenter randomized trial of patients with metastatic colorectal cancer. *J ClinOncol.* 2008 May 1;26(13):2099-105.
- Henricks LM, Lunenburg CA, Meulendijks D, Gelderblom H, Cats A, Swen JJ, Schellens JH, Guchelaar HJ. Translating DPYD genotype into DPD phenotype: using the DPYD gene activity score. *Pharmacogenomics.* 2015;16(11):1277-86
- Launay M, Dahan L, Duval M, Rodallec A, Milano G, Duluc M, Lacarelle B, Ciccolini J, Seitz JF. Beating the odds: efficacy and toxicity of dihydropyrimidine dehydrogenase-driven adaptive dosing of 5-FU in patients with digestive cancer. *Br J ClinPharmacol.* 2016 Jan;81(1):124-30.
- Lee AM, Shi Q, Pavey E, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, Berenberg JL, Goldberg RM, Diasio RB. DPYD variants as predictors of 5-fluorouracil toxicity in adjuvant colon cancer treatment (NCCTG N0147). *J Natl Cancer Inst.* 2014 Nov 7;106(12).
- Lee AM, Shi Q, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, Berenberg JL, Grothey A, Polite B, Chan E, Gill S, Kahlenberg MS, Nair SG, Shields AF, Goldberg RM, Diasio RB. Association between DPYD c.1129-5923 C>G/hapB3 and severe toxicity to 5-fluorouracil-based chemotherapy in stage III colon cancer patients: NCCTG N0147 (Alliance). *Pharmacogenet Genomics.* 2016 Mar;26(3):133-7.
- Mercier C, Ciccolini J. Severe or lethal toxicities upon capecitabine intake: is DPYD genetic polymorphism the ideal culprit? *Trends Pharmacol Sci.* 2007 Dec;28(12):597-8.
- Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS, Deenen MJ, Froehlich TK, Amstutz U, Largiadèr CR, Jennings BA, Marinaki AM, Sanderson JD, Kleibl Z, Kleiblova P, Schwab M, Zanger UM, Palles C, Tomlinson I, Gross E, van Kuilenburg AB, Punt CJ, Koopman M, Beijnen JH, Cats A, Schellens JH. Clinical relevance of DPYD variants c.1679T>G, c.1236G>A/HapB3, and c.1601G>A as predictors of severe fluoropyrimidine-associated toxicity: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2015 Dec;16(16):1639-50.
- Meulendijks D, van Hasselt JG, Huitema AD, van Tinteren H, Deenen MJ, Beijnen JH, Cats A, Schellens JH. Renal function, body surface area, and age are associated with risk of early-onset fluoropyrimidine-associated toxicity in patients treated with capecitabine-based anticancer regimens in daily clinical care. *Eur J Cancer.* 2016 Feb;54:120-30.
- Milano G, Ferrero JM, Thomas F, Bobin-Dubigeon C, Merlin JL, Pinguet F, Ferrand C, Boyer JC, Romieu G, Bachelot T, Pivot X, Dieras V, Largillier R, Mousseau M, Goncalves A, Roché H, Bonnetterre J, De Clercq B, Etienne-Grimaldi MC. A French prospective pilot study to identify dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in breast cancer patients receiving capecitabine. *San Antonio Breast Cancer Symposium 2013 (abst 179).*
- Offer SM, Fossum CC, Wegner NJ, Stuflesser AJ, Butterfield GL, Diasio RB. Comparative functional analysis of DPYD variants of potential clinical relevance to dihydropyrimidine dehydrogenase activity. *Cancer Res.* 2014 May 1;74(9):2545-54.
- Saif MW. Dihydropyrimidine dehydrogenase gene (DPYD) polymorphism among Caucasian and non-Caucasian patients with 5-FU- and capecitabine-related toxicity using full sequencing of DPYD. *Cancer Genomics Proteomics.* 2013 Mar-Apr;10(2):89-92.
- Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee AH, Mulder H, Rongen GA, van Schaik RH, Schalekamp T, Touw DJ, van der Weide J, Wilffert B, Deneer VH, Guchelaar HJ. Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *ClinPharmacolTher.* 2011 May;89(5):662-73.
- Terrazzino S, Cargnin S, Del Re M, Danesi R, Canonico PL, Genazzani AA. DPYD IVS14+1G>A and 2846A>T genotyping for the prediction of severe fluoropyrimidine-related toxicity: a meta-analysis. *Pharmacogenomics.* 2013 Aug;14(11):1255-72. doi: 10.2217/pgs.13.116.

- Thomas F, Hennebelle I, Delmas C, Lochon I, Dhelens C, GarnierTixidre C, et al. Genotyping of a family with a novel deleterious DPYD mutation supports the pretherapeutic screening of DPD deficiency with dihydrouracil/uracil ratio. ClinPharmacolTher. 2016;99(2):235-42.
- Tsalic M, Bar-Sela G, Beny A, Visel B, Haim N. Severe toxicity related to the 5- fluorouracil/leucovorin combination (themayo clinic regimen): a prospective study in colorectal cancer patients. Am J ClinOncol 2003; 26: 103-6.
- Tuchman M, Stoeckeler JS, Kiang DT, O'Dea RF, Ramnaraine ML, Mirkin BL. Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluorouracil toxicity. N Engl J Med. 1985 Jul 25;313(4):245-9.
- van Staveren MC, van Kuilenburg AB, Guchelaar HJ, Meijer J, Punt CJ, de Jong RS, Gelderblom H, Maring JG. Evaluation of an oral uracil loading test to identify DPD-deficient patients using a limited sampling strategy. Br J ClinPharmacol. 2016 Mar;81(3):553-61. d
- Yang CG, Ciccolini J, Blesius A, Dahan L, Bagarry-Liegey D, Brunet C, Varoquaux A, Frances N, Marouani H, Giovanni A, Ferri-Dessens RM, Chefrour M, Favre R, Duffaud F, Seitz JF, Zanaret M, Lacarelle B, Mercier C. DPD-based adaptive dosing of 5-FU in patients with head and neck cancer: impact on treatment efficacy and toxicity. Cancer ChemotherPharmacol. 2011 Jan;67(1):49-56.

Le 15 Avril 2016,

Docteur Joseph CICCOLINI
Président du GPCO-Unicancer


J. ciccolini

Docteur Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI
Coordinatrice du projet FUSAFE



Professeuse Marie-Anne LORIOT
Présidente du Réseau National de Pharmacogénétique

