



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Personalised medicine of fluoropyrimidines using DPYD pharmacogenetics

Lunenburg, C.A.T.C.

Citation

Lunenburg, C. A. T. C. (2019, June 11). *Personalised medicine of fluoropyrimidines using DPYD pharmacogenetics*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/74404>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/74404>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:

<http://hdl.handle.net/1887/74404>

Author: Lunenburg, C.A.T.C.

Title: Personalised medicine of fluoropyrimidines using DPYD pharmacogenetics

Date: 2019-06-11

Fluoropyrimidines, zoals 5-fluorouracil (5-FU) en haar orale prodrug capecitabine, zijn veel gebruikte kankergeneesmiddelen voor de behandeling van verschillende tumortypen. Ondanks vele ervaring met deze geneesmiddelen, treden ernstige bijwerkingen op bij 30% van de patiënten die met fluoropyrimidines worden behandeld. Meer dan 80% van 5-FU wordt geïnactiveerd door het enzym dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), dat wordt gecodeerd door het gen *DPYD*. Hierdoor speelt DPD een belangrijke rol bij de ontwikkeling van bijwerkingen, hier toxiciteit genoemd. Om ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit te voorkomen, is het belangrijk om patiënten met een verhoogd risico op toxiciteit te identificeren en hen op een gepersonaliseerde manier te behandelen (therapie op maat). Met andere woorden, het is belangrijk om patiënten met een deficiënt DPD-enzym te identificeren en ze te behandelen met gereduceerde fluoropyrimidine-doseringen. DPD-deficiëntie, of varianten in het *DPYD*-gen, en de associatie met ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit zijn reeds onderzocht. Dit proefschrift richt zich op het verminderen van het risico op ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit door *DPYD*-genotypering te optimaliseren en de implementatie van *DPYD*-genotypering in de dagelijkse klinische zorg te verbeteren. Om ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit te voorkomen hebben we daarnaast ook DPD-fenotypering onderzocht en meer innovatieve technieken voor genotypering vergeleken met de huidige farmacogenetica van *DPYD*.

***DPYD*-genotypering: bewijs van het principe en implementatie in de klinische praktijk**

Ondanks substantieel bewijs over de associatie tussen *DPYD*-varianten en het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit, bleef de implementatie van prospectieve *DPYD*-genotypering in de klinische praktijk redelijk beperkt. Daarom werd een opiniërend review geschreven (hoofdstuk 2). In deze review vatten we het beschikbare bewijs over de associatie met ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit voor vier varianten in het *DPYD*-gen samen. We bespreken verschillende voordelen en nadelen van *DPYD*-genotypering. We onderbouwen waarom argumenten tegen genotypering ongegrond zijn en pleiten voor implementatie van prospectieve *DPYD*-genotypering. In hoofdstuk 3 wordt uitgebreide literatuur samengevat om het functionele effect van vier *DPYD*-varianten op de DPD-enzymactiviteit te bespreken. Dit wordt omgezet in een gen-activiteitscore voor elke *DPYD*-variant, die een verwachte resterende DPD-enzymactiviteit vertegenwoordigt. Deze zal worden gebruikt in farmacogenetica-richtlijnen om het *DPYD*-genotype in een DPD-fenotype te vertalen. Farmacogenetica-richtlijnen van de Nederlandse Farmacogenetica Werkgroep (DPWG) van de Koninklijke Nederlandse Maatschappij ter bevordering der Pharmacie (KNMP) waren reeds aanwezig in Nederland voor *DPYD* en fluoropyrimidines. Deze richtlijn wordt buiten het KNMP-netwerk in Nederland beschikbaar gesteld in hoofdstuk 4 en geeft een advies voor dosisreductie voor heterozygote dragers van *DPYD*-varianten van de volgende vier *DPYD*-varianten: *DPYD**2A, rs3918290, c.1905+1G>A, IVS14+1G>A; *DPYD**13, c.1679T>G, rs55886062, I560S; c.1236G>A/HapB3, rs56038477, E412E; en c.2846A>T, rs67376798, D949V. Naast doseringsrichtlijnen beschreef de DPWG ook een implicatiescore waarin *DPYD*-genotypering als 'essentieel' wordt beschouwd, waarbij *DPYD*-genotypering wordt geadviseerd voorafgaand aan de behandeling met fluoropyrimidines.

DPYD-genotypering werd prospectief toegepast in een landelijke klinische studie in

hoofdstuk 5. Patiënten met een intentie om te starten met fluoropyrimidines werden gegenotypeerd voor *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T en c.1236G>A. Heterozygote dragers van een *DPYD* variant werden bij de start van de therapie behandeld met een initieel gereduceerde dosis fluoropyrimidines volgens de farmacogenetica-richtlijnen van de DPWG. Deze studie heeft aangetoond dat het prospectief genotyperen van *DPYD* gevolgd door geïndividualiseerde dosisaanpassingen de veiligheid van de patiënt verbeterde door het risico op ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit te verminderen. Er zijn geen *DPYD*-variant dragers overleden naar aanleiding van een behandeling met een gereduceerde dosis. Ondanks de lage frequentie van *DPYD*-variant dragers, heeft het uitvoeren van prospectieve *DPYD*-genotypering de kosten niet verhoogd, maar de gemiddelde kosten licht zelfs verlaagd met €50,- per patiënt, zoals werd aangetoond in de kostenanalyse van het onderzoek (hoofdstuk 6).

De huidige farmacogenetica-richtlijnen maken geen onderscheid in fluoropyrimidine-doseringaanbevelingen tussen de verschillende type behandelingen. Fluoropyrimidine-doseringen in chemoradiotherapie zijn aanzienlijk lager in vergelijking met fluoropyrimidine-doseringen in andere type behandelingen. Daarom was het onduidelijk of verdere verlaging van de fluoropyrimidine-dosis zou kunnen leiden tot onderdosering bij *DPYD*-variant dragers die werden behandeld met chemoradiotherapie. In hoofdstuk 7 hebben we de ernstige toxiciteit tussen wildtype-patiënten en *DPYD*-variant dragers die chemoradiotherapie kregen vergeleken. De *DPYD*-variant dragers werden behandeld met standaard of gereduceerde fluoropyrimidine-doseringen. *DPYD*-variant dragers die met reguliere fluoropyrimidine-doseringen in chemoradiotherapie werden behandeld, hadden vaker ernstige toxiciteit vergeleken met *DPYD*-variant dragers die met verder gereduceerde fluoropyrimidine-doseringen in chemoradiotherapie werden behandeld. Dit toont aan dat dosisreducties ook in dit type behandeling nodig zijn.

De haalbaarheid van het implementeren van prospectieve *DPYD*-genotypering in de dagelijkse klinische zorg werd aangetoond in hoofdstuk 8 van dit proefschrift. De eerste 21 maanden *DPYD*-genotypering in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) werden onderzocht, te beginnen met de introductie als standaardzorg in april 2013 tot het einde van de observatieperiode in december 2014. Deze studie toonde aan dat de implementatie van *DPYD*-genotypering eerst gekenmerkt was door een leer- of acceptatiecurve, maar daarna haalbaar bleek te zijn in de dagelijkse klinische zorg, waarbij 90–100% van de patiënten die werden behandeld met fluoropyrimidines waren gegenotypeerd. Deze studie toonde ook aan dat 90% van de aanbevelingen voor een dosisreductie werden opgevolgd.

Een ander aspect van (*DPYD*)-genotypering is de betrouwbaarheid van een testresultaat en de gevolgen van een incorrect resultaat. In hoofdstuk 9 beschrijven we het dilemma om de resultaten van farmacogenetica testen te bevestigen als een aspect van de kwaliteitscontrole. We bespreken of het nodig zou moeten zijn om twee onafhankelijke genotyperingstesten te gebruiken om een genotype correct te bepalen. In deze studie ontdekten we dat, zelfs na uitgebreide validatie van de testen, incorrecte resultaten kunnen optreden als gevolg van misclassificatie van een genotype, bijvoorbeeld veroorzaakt door *dropout* van allelen. Ondanks de toename in kosten en werkzaamheden, kan het bevestigen van het resultaat van farmacogenetica testen nuttig zijn voor testen met een hoge klinische impact, zoals

DPYD-genotypering. Duidelijke richtlijnen zullen helpen om de praktijk in laboratoria gelijk te trekken wat betreft het bevestigen van resultaten van farmacogenetica testen. Deze richtlijnen zullen mogelijk per gen en test moeten worden gespecificeerd.

Buiten de huidige *DPYD*-farmacogenetica

In het eerste deel van dit proefschrift beschrijven we hoe ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit kan worden verminderd door middel van het uitvoeren van *DPYD*-genotypering voor *DPYD**2A, *DPYD**13, c.2846A>T en c.1236G>A. Het is bekend dat niet alle ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit wordt voorspeld door deze vier varianten alleen. Daarom onderzochten we andere opties, naast de genotypering van de huidige vier *DPYD*-varianten, om ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit te verminderen. Dit wordt toegelicht in het tweede deel van dit proefschrift, getiteld “buiten de huidige *DPYD*-farmacogenetica”.

In hoofdstuk 10 onderzochten we vier DPD-fenotyperingstesten voor het eerst in een vergelijking binnen dezelfde patiënten. Het cohort was niet geselecteerd, of verrijkt, met patiënten die (ernstige) toxiciteit hebben ervaren. Het doel van deze studie was om de klinische waarde van elke DPD-fenotyperingstest te bepalen door klinische validiteitsparameters (bijvoorbeeld sensitiviteit en specificiteit) te beoordelen voor DPD-deficiëntie en het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit. We konden geen relatie aantonen tussen de DPD-fenotyperingstesten en DPD-deficiëntie of het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit. Om de klinische waarde van DPD-fenotyperingstesten te bepalen is aanvullend onderzoek nodig.

In hoofdstuk 11 onderzochten we een speciale subgroep van *DPYD*-variant dragers, namelijk de samengestelde heterozygote patiënten. Deze patiënten dragen meerdere *DPYD*-varianten en het effect van de *DPYD*-varianten op de DPD-enzymactiviteit kan niet worden voorspeld met behulp van de gen-activiteitscore. Zonder een dosisreductie hebben deze patiënten een verhoogd risico om ernstige toxiciteit te ontwikkelen. We beschrijven zeven patiënten en onderzoeken diagnostische en therapeutische strategieën voor behandeling met fluoropyrimidines bij patiënten die meerdere *DPYD*-varianten dragen. De aanvullende onderzochte genotyperingmethoden uit deze studie bevinden zich nog in de ontwikkelingsfase of zijn momenteel te duur om in de klinische zorg te implementeren, in vergelijking met een reeds gevestigde DPD-fenotyperingstest. Daarom adviseren we om bij deze patiënten een fenotypetest uit te voeren om een veilige startdosis te bepalen.

Verwacht wordt dat andere enzymen naast DPD, en dus andere genen naast *DPYD*, betrokken zijn bij het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit. Met de genomwijde associatie studie in hoofdstuk 12 hebben we geprobeerd andere varianten te ontdekken, voornamelijk buiten het *DPYD*-gen, die geassocieerd zijn met het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit. Ongeveer 700,000 *single nucleotide polymorphisms* (SNP's) in verschillende genen werden gegenotypeerd en geïmputeerd tot meer dan vier miljoen SNP's. We hebben zes varianten gevonden die suggestief waren voor de associatie met ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit. Daarnaast laten we een optimistische analyse zien van een polygene risicoscore, wat duidt op een hoge polygene aard van het ontstaan van toxiciteit.

Vanwege de uitvoering van de klinische studie beschreven in hoofdstuk 5 pasten steeds meer ziekenhuizen in Nederland *DPYD*-genotypering toe voorafgaand aan het begin van de behandeling. Een toegenomen implementatie van *DPYD*-genotypering was dus zichtbaar, vooral in Nederland. Buiten Nederland bestaan er grote verschillen in de implementatie van *DPYD*-genotypering, al dan niet inclusief een DPD-fenotyperingstest. In sommige landen zijn initiatieven om prospectieve testen voor DPD-deficiëntie uit te voeren effectief, terwijl er in andere landen grote verschillen bestaan in de uitvoering van testen tussen verschillende centra in dat land. De implementatie van *DPYD*-genotypering zal profiteren van duidelijke richtlijnen, d.w.z. aanbevelingen wie en wanneer te genotyperen, en doseringsaanbevelingen voor *DPYD*-variant dragers.

Momenteel zijn vier *DPYD*-varianten opgenomen in het panel voor genotypering, maar het is bekend dat deze vier varianten niet alle patiënten kunnen voorspellen die ernstige toxiciteit zullen ontwikkelen. Het is waarschijnlijk dat andere varianten geassocieerd zullen zijn met het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit. Om de voorspelling van het genotypepanel verder te verbeteren, kunnen DPD-fenotyperingstesten worden gebruikt, of kunnen nieuwe varianten aan het genotypepanel worden toegevoegd. Nieuwe varianten kunnen bijvoorbeeld zeldzame varianten zijn in het *DPYD*-gen of varianten in andere genen.

De toekomst van fluoropyrimidines

5-FU wordt al tientallen jaren gebruikt in de behandeling van kanker. Inmiddels is capecitabine het voorkeursgeneesmiddel boven 5-FU in de behandeling van verschillende tumortypes in verschillende landen, waaronder Nederland. Om de effectiviteit van kankertherapie te verbeteren, worden fluoropyrimidines gecombineerd met verschillende andere middelen tegen kanker, maar ze zullen een standaard onderdeel van de therapie blijven voor een aanzienlijk aantal tumortypen. Veel onderzoek naar fluoropyrimidines en DPD(-deficiëntie) is reeds uitgevoerd. Op dit moment dient prospectieve *DPYD*-genotypering te worden toegepast voor alle patiënten die een behandeling met fluoropyrimidines beginnen. Aanvullend onderzoek zal worden uitgevoerd waarin de zoektocht naar andere factoren die het ontstaan van ernstige fluoropyrimidine-geïnduceerde toxiciteit zouden kunnen voorspellen verder gaat.