



Universiteit
Leiden
The Netherlands

DPD screening to prevent toxicity in fluoropyrimidine treated patients

Staveren, M.C. van

Citation

Staveren, M. C. van. (2016, November 23). *DPD screening to prevent toxicity in fluoropyrimidine treated patients*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/44387>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/44387>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



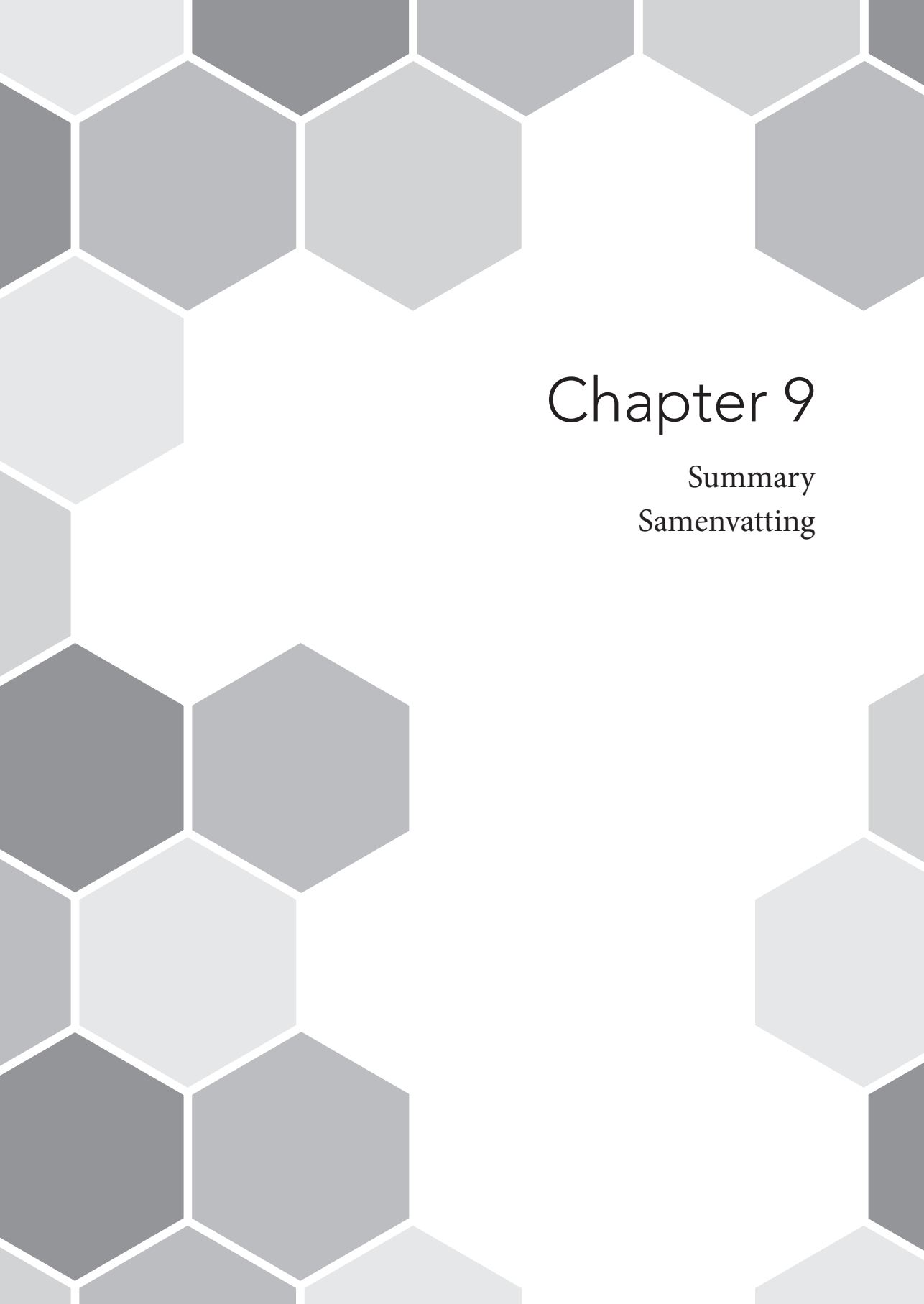
The handle <http://hdl.handle.net/1887/44387> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Staveren, M.C. van

Title: DPD screening to prevent toxicity in fluoropyrimidine treated patients

Issue Date: 2016-11-23





Chapter 9

Summary
Samenvatting

9.1 SUMMARY

Fluoropyrimidines have been used in the treatment of different types of cancer for many decades. The most common fluoropyrimidine is 5-fluorouracil (5-FU), which is administered intravenously as a bolus or as prolonged infusion. 5-FU itself is not available in an oral presentation form. It is, however, converted by thymidine phosphorylase in the metabolic pathway of the oral 5-FU prodrug capecitabine. Many tissues throughout the body express thymidine phosphorylase. Some human carcinomas express this enzyme in higher concentrations than surrounding normal tissues. Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) is involved in the degradation of endogenous pyrimidine bases uracil and thymine, but also in the degradation of 5-FU. More than 80% of the amount of 5-FU administered is catabolized primarily in the liver where DPD is abundantly expressed. DPD is encoded by the *DPYD* gene for which 567 coding variants are known to date, some of them being pathogenic by reducing enzyme capacity. Interindividual variability in the activity of DPD influences 5-FU pharmacokinetics and a reduced DPD activity can lead to severe toxicity and even death following administration of 5-FU or capecitabine. Knowledge regarding the clinical impact of reduced DPD activity on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of fluoropyrimidines may be useful to dose-individualized therapy of 5-FU and capecitabine. In this thesis, an in depth overview is provided of methods and their potential to optimize fluoropyrimidine dosing based on individual DPD enzyme activity. Furthermore an oral uracil loading dose as probe for DPD deficiency in cancer patients treated with fluoropyrimidines for this purpose is studied.

In **Chapter 2** an overview of the literature is presented on predictive tests that have been described until 2016 for screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Tests based on assessing DPD enzyme activity, genetic variants in *DPYD* and mRNA variants have been studied for screening for DPD deficiency, but only few are sparsely implemented into clinical practice in a prospective setting, or are only used in a retrospective setting. A problem with many tests is that they require expensive equipment that is not available in every hospital or that analytical procedures are laborious, and for that reason not applicable to screen large numbers of patients. Beside these practical drawbacks, there is no consensus about the definition of DPD deficiency and definition of selectivity and specificity of the tests. If determined, they are not related to the same endpoint, which makes it even harder to compare the efficacy of the various tests. Future studies should focus more on cost-effectiveness and sensitivity and specificity in order to determine which test or strategy

is most suitable to predict patients at risk of developing severe fluoropyrimidine related toxicity caused by DPD deficiency.

Like 5-FU, uracil is metabolised by DPD. The measurement of plasma uracil levels following administration of an oral uracil loading might be indicative for the DPD activity of an individual patient and might thus be able to prevent severe fluoropyrimidine related toxicity. In **Chapter 3** the Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD) for uracil is presented. The IMPD is the basis for approval of clinical trials by the competent authorities in the EU. It was used for the medical ethical approval of the studies that were performed with uracil powder since uracil is not registered for human use. All paragraphs of the IMPD were written for uracil and all tests considering impurities, assays and quality were performed by an analytical monograph with the use of liquid chromatography with UV photo diode array detection. Acceptance criteria were derived from the European Pharmacopeia General Monograph. The manufacturing of the uracil study medication was performed under Good Manufacturing Practice and Good Clinical Practice conditions.

The pharmacokinetics of uracil should only depend on DPD activity and should not be influenced by disease status or differ between healthy volunteers and cancer patients. In order to exclude this last aspect, in Chapter 4 the results of a pharmacokinetic study are described that investigates the differences in uracil pharmacokinetics in healthy volunteers and DPD deficient patients following administration of an oral uracil loading dose in two doses.

The use of higher uracil doses is expected to result in a more adequate discrimination between normal and deficient individuals due to a prolonged DPD enzyme saturation in DPD-deficient subjects compared with lower doses of uracil. Secondary objective of the study performed in **Chapter 4** was to investigate linearity of uracil pharmacokinetics at increased uracil dose and the intra- and interday variation in uracil pharmacokinetics. The conclusion of this study was that uracil administration at a single dose of 500 mg/m² Body Surface Area (BSA) leads to significant and reproducible differences in pharmacokinetics of uracil and dihydrouracil between volunteers with a normal DPD activity and DPD-deficient patients. Uracil doses above 500 mg/m² have no higher discriminating potential to distinguish between subjects with and without DPD deficiency. Uracil dose elevation will only result in a shift to the right of the uracil and dihydrouracil concentration curve and unnecessary longer exposition to high uracil levels.

Uracil metabolism by DPD takes mainly place in the liver. Hence, the presence of liver metastasis might influence uracil pharmacokinetics following administration of oral uracil. In **Chapter 5** the uracil dose of 500 mg/m² BSA was further studied and compared in adjuvantly treated colon cancer patients, and colorectal (CRC) patients with metastatic disease. The results of this study showed that in patients with a normal DPD activity, with the exception of $C_{\max}$, there is no difference in uracil pharmacokinetics in patients with metastatic CRC compared to colon cancer patients that are treated adjuvantly.

The pharmacokinetic profile of uracil in the former two studies were established with the use of an intensive blood sampling scheme that is not ideal for use in a clinical setting. Therefore in **Chapter 6** the oral uracil loading dose was further evaluated (i) to develop a limited sampling strategy, (ii) to detect decreased uracil elimination in patients with a DPD deficiency and (iii) to perform a more in-depth quantitative compartmental pharmacokinetic analysis of uracil plasma concentrations. In this study, several pharmacokinetic parameters were determined and compared to each other, leading to the conclusion that the uracil/dihydrouracil ratio at $t = 120$ min following the oral uracil loading dose is the most suitable parameter for identifying patients at risk of developing severe DPD related toxicity with a high sensitivity and specificity.

The Investigator Brochure of capecitabine states that its use is contraindicated in patients with a known DPD deficiency, that is defined as rare, unexpected and severe toxicity. For 5-FU, the investigator brochure indicates that when applicable, DPD enzyme activity should be measured prior 5-FU treatment. Until now, prospective DPD screening is not yet considered standard care in oncology practice and are not advocated in ESMO or Dutch guidelines. This may be a result of the fact that there is no consensus internationally about the optimal strategy to identify patient at risk of developing DPD based toxicity. Despite this, there are however well organised initiatives involving a prospective DPD test setting. **Chapter 7** describes a study that evaluates a routine *DPYD* screening programme in a Dutch academic center prior to prescription of 5-FU or capecitabine. In this study, the physician's acceptance of prospective *DPYD* screening for patients who were prescribed 5-FU or capecitabine and the adherence of the recommended dose reduction were evaluated. The number of patients in which screening was performed was relatively high with 86.9% of all eligible patients and follow-up of dose recommendations given by the pharmacist was possible in most cases. This study showed that implementation of prospective *DPYD* screening is feasible and can be implemented successfully in clinical practice.

In **Chapter 8** the results of the studies performed in this thesis are discussed in a broader setting and future perspectives are mentioned regarding improving the oral uracil loading dose and prospective DPD screening in general. Despite further improvements of the test procedure, the oral uracil loading dose in its present form has potential as a phenotyping probe for DPD deficiency in a prospective setting.

9.2 SAMENVATTING

Fluoropyrimidines worden al decennia lang gebruikt ter behandeling van verschillende soorten kanker. De meest bekende fluoropyrimidine is 5-fluorouracil (5-FU) dat intraveneus als bolus of langlopend infuus kan worden toegediend. 5-FU als stof zelf is niet beschikbaar in een orale toedieningsvorm, maar wordt gevormd door thymidine fosforylase uit de metabolieten van de orale 5-FU prodrug capecitabine. Veel weefselstructuren in het lichaam bevatten thymidine fosforylase. Sommige humane carcinomen bevatten dit enzym echter in hogere concentratie dan omliggend weefsel. Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) is betrokken bij de afbraak van de endogene pyrimidine basen uracil en thymine, maar ook bij de afbraak van fluoropyrimidines. Meer dan 80% van de hoeveelheid 5-FU toegediend, wordt voornamelijk afgebroken in de lever waar DPD voornamelijk aanwezig is. DPD wordt gevormd uit het *DPYD* gen waarvoor op dit moment 567 coderende varianten beschreven zijn en waarvan sommige pathogeen zijn doordat ze de enzymactiviteit verminderen.

Interindividuele variatie in DPD-activiteit beïnvloedt 5-FU farmacokinetiek en verminderde DPD-activiteit kan leiden tot ernstige toxiciteit en zelfs overlijden ten gevolge van 5-FU of capecitabinegebruik. Kennis over de klinische gevolgen van verminderde DPD-activiteit en de farmacodynamiek van fluoropyrimidinen kan behulpzaam zijn bij individueel doseren van 5-FU en capecitabine. In dit proefschrift wordt een dieper overzicht gegeven van methoden en het potentieel daarvan om het doseren van fluoropyrimidinen te optimaliseren op basis van de individuele DPD enzymactiviteit. Aanvullend wordt een orale uracil belastingtest bestudeerd die geschikt zou kunnen zijn om DPD-deficiëntie op te sporen in kankerpatiënten die behandeld worden met fluoropyrimidinen.

In **hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van beschikbare literatuur over voorspellende testen voor DPD-deficiëntie die beschreven zijn tot 2016. Er zijn testen bestudeerd die gebaseerd zijn op het schatten van de enzymactiviteit en genetische variaties in *DPYD* en mRNA, maar er zijn maar enkele testen spaarzaam geïmplementeerd in de kliniek in een prospectieve setting. Een probleem met veel testen is dat deze dure apparatuur vereisen die niet in elk ziekenhuis beschikbaar is, of dat de testmethode zeer bewerkelijk is en om die reden niet geschikt om grote aantallen patiënten te testen. Naast deze praktische nadelen is er ook geen consensus over de definitie van DPD-deficiëntie en zijn selectiviteit en specificiteit, indien bepaald, niet gecorreleerd aan dezelfde eindpunten waardoor het lastig is om testen qua effectiviteit onderling te vergelijken. Toekomstig onderzoek zou zich meer moeten richten op kosteneffectiviteit, sensitiviteit en specificiteit om te bepalen welke strategie het

meest geschikt is om te voorspellen welke patiënten het risico lopen om fluoropyrimidine-gerelateerde toxiciteit te ontwikkelen veroorzaakt door DPD-deficiëntie.

Uracil wordt net als 5-FU gemetaboliseerd door DPD. Het meten van uracil plasmaspiegels na toediening kan indicatief zijn voor de DPD-activiteit in een individuele patiënt en kan ernstige fluoropyrimidine-gerelateerde toxiciteit voorkomen. In **hoofdstuk 3** wordt het Investigational Medicinal Product dossier (IMPD) gepresenteerd dat de basis is voor het goedkeuren van klinisch onderzoek door bevoegde instanties in de Europese Unie. Het IMPD is gebruikt voor de medisch-ethische toetsing van de studies die met uracilpoeder zijn uitgevoerd, aangezien uracil niet geregistreerd is voor humaan gebruik. Alle paragrafen van het IMPD zijn toegespitst op uracil en alle testen met betrekking op onzuiverheden, gehalte-analyses en kwaliteit zijn uitgevoerd aan de hand van een analytische monografie met behulp van vloeistofchromatografie in combinatie met UV-foto diode array detectie. Acceptatiecriteria zijn afgeleid van de Europese farmacopee General Monograph. Het bereiden van de uracil studiemedicatie werd uitgevoerd onder Goede Manier van Produceren (GMP) en Good Clinical Practice (GCP) omstandigheden.

De farmacokinetiek van uracil zou alleen af moeten hangen van DPD-activiteit en niet worden beïnvloed door ziektebeeld of verschillen tussen gezonde vrijwilligers en patiënten. Om dit laatste uit te sluiten zijn in **hoofdstuk 4** de resultaten beschreven van een farmacokinetische studie waarin het verschil in uracil farmacokinetiek tussen gezonde vrijwilligers en DPD-deficiënte patiënten is onderzocht na toediening van een orale uracil belastingtest in twee doseringen.

De verwachting was dat het gebruik van een hogere dosis uracil tot een duidelijker onderscheid leidt tussen normale en deficiënte individuen als gevolg van verlengde DPD enzymverzadiging in DPD-deficiënte personen ten opzichte van de lagere uracildosis. Het tweede doel van de studie die in **hoofdstuk 4** is uitgevoerd was het onderzoeken van de lineariteit van uracil farmacokinetiek bij een verhoogde dosering uracil en de intra- en interdagvariatie van uracil farmacokinetiek.

De conclusie van deze studie is dat uraciltoediening op basis van een dosering van 500 mg/m² lichaamsoppervlak leidt tot significante en reproduceerbare verschillen in uracil en dihydrouracil farmacokinetiek tussen vrijwilligers met een normale DPD-activiteit en DPD-deficiënte patiënten. Uracildoseringen groter dan 500 mg/m² hebben geen beter onderscheidend vermogen om personen met en zonder DPD-deficiëntie te onderscheiden.

Verhoging van de uracildosering leidt alleen tot een rechtsverschuiving van de uracil- en dihydrouracil-concentratiecurve in de tijd en daardoor onnodige lange blootstelling aan hoge uracilconcentraties.

Uracil wordt voornamelijk in de lever gemetaboliseerd en om deze reden zou de aanwezigheid van metastasen in de lever de kinetiek van uracil na toediening van de orale uracil belastingtest kunnen beïnvloeden. In **hoofdstuk 5** wordt de uracildosering van 500 mg/m² lichaamsoppervlak verder bestudeerd en vergeleken in adjuvant behandelde patiënten met colonkanker en patiënten met colon/rectumkanker (CRC) met metastasen. De resultaten van deze studie laten zien dat in patiënten met normale DPD-activiteit, met de uitzondering van C_{max}, er geen verschil is in uracil farmacokinetiek tussen patiënten met gemetastaseerd CRC ten opzichte van adjuvant behandelde colonkankerpatiënten.

Het farmacokinetische profiel van uracil in deze twee studies is tot stand gekomen met behulp van een intensief bloedafnameschema dat niet ideaal is voor gebruik in een klinische setting. Om deze reden is in **hoofdstuk 6** de orale uracil belastingtest verder onderzocht (i) om een vereenvoudigd bloedafnameschema te ontwikkelen, (ii) om verminderde uracileliminatie aan te tonen in patiënten met DPD-deficiëntie, (iii) om een verdiepende, kwantitatieve compartimentele farmacokinetiekanalyse uit te voeren op basis van uracil plasmaconcentraties. In dit onderzoek zijn verscheidene farmacokinetische parameters bepaald en met elkaar vergeleken. Dit heeft tot de conclusie geleid dat de uracil/dihydrouracilratio op t = 120 min na de orale uracilname de meest geschikte parameter is om patiënten die het risico lopen ernstige DPD-gerelateerde toxiciteit te ontwikkelen, met een hoge sensitiviteit en specificiteit te identificeren.

De samenvatting van de productkenmerken van capecitabine vermeldt dat het gebruik gecontraïndiceerd is in patiënten met een bekende DPD-deficiëntie, gedefinieerd als zeldzame en onverwachte ernstige toxiciteit. Bij 5-FU geeft de samenvatting van de productkenmerken aan dat wanneer dat mogelijk is, de DPD enzymactiviteit gemeten zou moeten worden voor behandeling met 5-FU. Tot op heden wordt het vooraf screenen van DPD niet als standaardzorg beschouwd binnen de oncologie en wordt het niet beschreven in ESMO of Nederlandse richtlijnen. Dit kan een gevolg zijn van het feit dat er internationaal geen consensus is over de optimale strategie om patiënten te identificeren die het risico lopen ernstige DPD-gerelateerde toxiciteit te ontwikkelen. Desondanks zijn er goed georganiseerde initiatieven in een prospectieve setting waarbij DPD getest wordt. **Hoofdstuk 7** beschrijft een studie waarin een routinematig *DPYD* testprogramma werd

geëvalueerd in een Nederlands academisch centrum vooraf aan het voorschrijven van 5-FU of capecitabine. In deze studie werd de acceptatie van de voorschrijvers geëvalueerd om bij patiënten die 5-FU of capecitabine voorgeschreven kregen, prospectief *DPYD* te laten screenen en werd het opvolgen van de dosisadviezen onderzocht. Het aantal patiënten dat daadwerkelijk werd gescreend was met 86,9% relatief hoog en de dosisadviezen die door de apotheker werden afgegeven werden in de meeste gevallen opgevolgd. Deze studie toont aan dat het implementeren van *DPYD*-screenen in een prospectieve setting mogelijk is en dat implementatie in de dagelijkse praktijk succesvol kan plaatsvinden.

In **hoofdstuk 8** worden de resultaten van de studies in dit proefschrift bediscussieerd in een breed perspectief en worden toekomstige ontwikkelingen genoemd betreffende het verbeteren van de orale uracil belastingtest en het prospectief screenen van DPD in het algemeen. Los van de verdere ontwikkeling van de testprocedure, is de orale uracil belastingtest in de huidige vorm potentieel geschikt als een fenotyperende test om DPD-deficiëntie te voorspellen in een prospectieve setting.